



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : de Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Impact de l'extrait phénolique de *Centaurea sp.* sur la toxicité rénale induite par le cyclophosphamide : modèle expérimental chez le rat

Présenté par : Betina Dounia

Le : 24/06/2025

Jury d'évaluation :

Présidente : Pr. Amrani Amel (Prof - U Constantine 1 Frères Mentouri)

Encadrant : Dr. Boubekri Nassima (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri)

Examinateur : Dr. Kabouche Sami (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri)

Examinatrice : M^{me} Dehili Nedjoua (MAA- U Constantine 1 Frères Mentouri)

**Année universitaire
2024 - 2025**

Remerciements

Avant tout, je rends grâce à Dieu Tout-Puissant, dont le soutien m'a accompagné tout au long de ce parcours et m'a permis de surmonter chaque difficulté avec foi et persévérance.

Je remercie tout d'abord Madame Boubekri, mon encadreur de mémoire, pour sa disponibilité, son accompagnement attentif et ses orientations précieuses tout au long de ce travail.

Je tiens aussi à exprimer ma gratitude aux membres du jury pour le temps qu'ils dédient à l'examen de ce mémoire et pour l'attention qu'ils accordent à mon travail.

Un grand merci à mes collègues et amis pour leur soutien, leur esprit de partage et les moments précieux que nous avons partagés ensemble.

Je n'oublie pas ma famille, surtout Ma mère et mes sœurs, pour leur amour, leur patience, leur appui moral tout au long de mon parcours. Sans leur présence, rien de tout cela n'aurait pu se réaliser.

Enfin, je tiens à exprimer ma gratitude envers toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont participé à l'élaboration de ce mémoire.

Dédicace

Je dédie ce mémoire

À celle qui a semé en moi les valeurs les plus nobles, qui m'a entourée de son amour et de sa tendresse, et qui a veillé sur moi jour et nuit...
À **ma mère**, symbole d'amour et de sacrifice, je te dédie ce travail avec tout mon amour et ma reconnaissance.

À celui qui a toujours été mon soutien, mon modèle et ma source de force...

Que dieu la protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

À mes sœurs Mira ;Lina et mon frère HAMZA

À toute ma famille

Et A toutes mes amies, et surtout Mouna , Youssra....

À tous ceux qui me sont chers, aux personnes qui m'ont aidé et encouragé de près ou de loin, qui étaient toujours à mes côtés et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études.

إهداه إلى روح والدي رحمه الله

إلي روح أبي الراحل.... الذي علمني كيف أمسك بالقلم وكيف أخط الكلمات،

أهدى تخرجي لروح أبي الذي غادر الدنيا قبل أن يرى ثمرة جهدي،

لكن دعمه وحبه ما زال ينبع في قلبي ويقويني في كل خطوة.

إليك يا من علمتني الصبر والكفاح، وغرست في داخلي حب التعلم والنجاح،

كنت أتمنى أن تكون بقريبي في هذا اليوم،

أن ترى ابتسامتي وأنا أرتدي قبعة التخرج، ثم أركض إليك لأقبل جبينك،

تعبيراً عن امتناني لكل ما بذلته من أجلني، ولكل تضحية صنعت بها طريقي.

لكن إرادة الله كانت فوق كل شيء، فاختارك إلى جواره.

رحمك الله يا أبي، وجزاك عنك خير الجزاء.

Impact de l'extrait phénolique de *Centaurea sp.* sur la toxicité rénale induite par le cyclophosphamide : modèle expérimental chez le rat.

Résumé

Le cyclophosphamide (CP) est un agent antinéoplasique largement utilisé, dont l'efficacité clinique est démontrée dans le traitement de divers types de cancers. Cette étude vise à déterminer l'effet protecteur de la vitamine E ou de l'extrait de la plante contre les effets néphrotoxiques induits par le CP.

Ce travail de recherche a porté sur l'investigation de l'effet protecteur de l'extrait *n*-butanolique de *Centaurea sp.* (200 mg/kg, par gavage pendant 6 jours) contre la toxicité rénale induite par le cyclophosphamide (200 mg/kg, le 4^{ème} jour par voie intrapéritonéale) chez des rats mâles de souche *Wistar Albinos*. La créatinine, l'urée, cholestérol, triglycérides et LDH ont été estimés. Une étude histopathologique a été déterminée.

Les résultats de l'étude ont révélé des effets toxiques, caractérisés par une augmentation des taux de créatinine et d'urée sériques, indiquant une néphrotoxicité. En outre, des changements significatifs de l'activité enzymatique LDH et de la concentration de cholestérol et de triglycérides ont été observés. Ce dysfonctionnement a été accompagné par des altérations et des changements de l'architecture rénale.

Le prétraitement par l'extrait de butanolique ou la vitamine E a significativement atténué les altérations biochimiques induites, suggérant un effet nephroprotecteur potentiel. Ces observations ont été confirmées par l'analyse histologique, qui a montré que, contrairement au groupe traité uniquement par le cyclophosphamide, les groupes co-traités ont conservé une architecture rénale relativement préservée.

Les résultats montrent également que la vitamine E ou l'extrait de centaurée améliorent le déséquilibre des paramètres biochimiques, réduisant la sévérité du stress oxydatif et la toxicité induite par le cyclophosphamide.

Mots clés : Cyclophosphamide, *Centaurea sp.*, Nephrotoxicité, Activité antioxydante, Polyphénols.

Impact of the phenolic extract of *Centaurea sp.* on cyclophosphamide-induced renal toxicity: experimental model in rats.

Abstract

Cyclophosphamide (CP) is a widely used antineoplastic agent with demonstrated clinical efficacy in the treatment of various types of cancer. The aim of this study is to determine the protective effect of vitamin E or the plant extract against the nephrotoxic effects induced by CP.

This research investigated the protective effect of *n*-butanol extract of *Centaurea sp.* (200 mg/kg, by gavage for 6 days) against renal toxicity induced by cyclophosphamide (200 mg/kg, on day 4th by intraperitoneal route) in male *Wistar Albino* rats. Creatinine, urea, cholesterol, triglycerides and LDH were estimated. A histopathological study was carried out.

The results of the study revealed toxic effects, characterised by an increase in serum creatinine and urea levels, indicating nephrotoxicity. In addition, significant changes in LDH enzyme activity and cholesterol and triglyceride concentrations were observed. This dysfunction was accompanied by alterations and changes in kidney architecture.

Pre-treatment with butanol extract or vitamin E significantly attenuated the biochemical changes induced, suggesting a potential nephroprotective effect. These observations were confirmed by histological analysis, which showed that, unlike the group treated with cyclophosphamide alone, the co-treated groups retained a relatively preserved renal architecture.

The results also show that vitamin E or centaury extract improves the imbalance in biochemical parameters, reducing the severity of oxidative stress and toxicity induced by cyclophosphamide.

Keywords: Cyclophosphamide, *Centaurea sp.*, Nephrotoxicity, Antioxidant activity, Polyphenols.

ملخص

السيكلوفوسفاميد (CP) هو عامل مضاد للأورام يستخدم على نطاق واسع مع فعالية سريرية مثبتة في علاج أنواع مختلفة من السرطان. والهدف من هذه الدراسة هو تحديد التأثير الوقائي لفيتامين E أو المستخلص النباتي ضد التأثيرات السمية الكلوية الناجمة عن CP.

تناول هذا البحث التأثير الوقائي المستخلص بيوتانيولي من نبات *Centaurea sp.* (200 ملغم/كغم، عن طريق الفم لمدة 6 أيام) ضد السمية الكلوية التي يسببها السيكلوفوسفاميد (200 ملغم/كغم، داخل الصفاق في اليوم الرابع) عند ذكور جرذان. تم تقدير الكرياتينينين والليوريا والكوليسترون والدهون الثلاثية و LDH وأجريت دراسة نسيجية مرضية.

كشفت نتائج الدراسة عن وجود تأثيرات سمية تميزت بزيادة في مستويات الكرياتينين في الدم والليوريا، مما يشير إلى السمية الكلوية. بالإضافة إلى ذلك، لوحظت تغيرات كبيرة في نشاط إنزيم LDH وتركيزات الكوليسترون والدهون الثلاثية. ورافق هذا الخلل الوظيفي تغيرات في بنية الكلية.

خففت المعاملة المسبقة بخلاصة البوتانول أو فيتامين E بشكل ملحوظ من التغيرات الكيميائية الحيوية المستحثة، مما يشير إلى تأثير محتمل لحماية الكلى. تم تأكيد هذه الملاحظات من خلال التحليل النسيجي الذي أظهر أنه على عكس المجموعة التي عولجت بالسيكلوفوسفاميد وحده، احتفظت المجموعات التي عولجت معًا بنية كلوية محفوظة نسبيًا.

كما أظهرت النتائج أيضًا أن مستخلص فيتامين E أو مستخلص السنوري يحسن الخلل في المؤشرات الكيميائية الحيوية، مما يقلل من شدة الإجهاد التأكسدي والسمية التي يسببها السيكلوفوسفاميد.

الكلمات المفتاحية: السيكلوفوسفاميد، *Centaurea sp.*، السمية الكلوية، النشاط المضاد للأكسدة، البوليفينول.

Liste des abréviations

Liste des figures

Sommaire

Introduction 1

Chapitre 1

I-Le Cancer 3

I-1-La chimiothérapie 4

I-2-Le Cyclophosphamide : 5

I-2-1-Pharmacocinétique 6

I-2-1-1-Absorption 6

I-2-1-2-Distribubution 6

I-2-1-3-Metaboliseme de Cyclophosphamide 7

I-2-1-4-Éliminations 8

I-4-Mecaniseme d'action de Cyclophosphamide 9

I-4-1- Effet sur l'ADN 9

I-4-1-1 -La formation de l'ion aziridinium 9

I-4-1-2-Alkylattion et effets sur l'ADN 9

II - Les reins 11

II - 1-Position et anatomie externe des reins 11

II - 1-1-Localisation et relations anatomiques 11

II - 1-2-Organisation interne : cortex et médulla 11

 12

II - 1-3- Le néphron : unité fonctionnelle du rein 13

II -1-4-Le glomérule 14

II -1-5-Le système tubulaire 15

a-Tubule proximale 15

b-L'anse de Henlé 15

c-Tubule distal 15

d-Tube collecteur 15

e-Appareil juxta-glomérulaire 16

II -2-La physiologie rénale 16

II -2-1-La transformation du sang en urine 16

II - 2-2-Fonction endocrine 17

II - 2-2-1-Érythropoïétine	18
II - 2-2-2-Vitamine D	18
II - 2-2-3- Aldostéron.....	18
II - 2-2-4-La rénine	18
II -3- Néphrotoxicité des médicaments	19
II -3-1-Mécanismes de la néphrotoxicité médicamenteuse	20
II -3-1-1- Nécrose tubulaire aiguë	20
.....	21
II -3-1-2- Néphropathie cristalline	22
II -3-1-3- Néphrite tubulo-interstitielle aiguë (NTIA)	24
II-3-2-Mécanismes cellulaires et moléculaires de la néphrotoxicité induite par le CP	25
II -3-2-2- Mécanismes biochimiques de la néphrotoxicité	26
II -3-2-2-1-Provoque le stress oxydatif	26
4-1-1-2-Réduire l'activité antioxydant.....	27
II -3-2-2-1-1-L'insuffisance rénale aiguë liée au stress oxydatif.....	29
II -3-2-2-1-1-1-Dysfonctionnement mitochondrial lié à l'IRA	29
II -3-2-2-1-1-2-Voie inflammatoire et la régulation des facteurs de transcription	33
II -3-2-2-1-1-3-Activation immunitaire et de signalisation apoptotique.....	34
III- La famille des Asteraceae.....	38
III-1-Le genre <i>Centaurea</i>	38
III 1-1-Les espaces de <i>centaurea</i> (<i>centaurea sp</i>).....	39
III-1-1-1- <i>Centaurea Cyanus</i>	39
III-1-1-2-<i>Centaurea Lopholoma</i>.....	40
III-1-1-3-<i>Centaurea africana</i>.....	41
III-1-1-4-<i>Centaurea parviflora Desf</i>.....	42
III-1-1-5-<i>Centaurea nigra</i>.....	42
III-1-1-6-<i>Centaurea benicata</i>.....	43
III -1-2-Les activités biologiques	45
III -1-2-1-Les flavonoïdes.....	45
III -1-2-1-1-Activités biologiques des flavonoïdes.....	46
III -1-2-1-1-1-Activité Antioxydant.....	46
III -1-2-1-1-2- Activité Anti-inflammatoire.....	46
III-1-2-2-Les polyphénols	46
III -1-2-2-1-Biodisponibilité des polyphénols.....	47
III -1-2-2-2Activités biologiques des polyphénols.....	47
III -1-2-2-2-1-Activité Antioxydant.....	47

Chapitre 2

1. Matériel végétal	49
2. Expérimentation animale	49
2.1. Animaux et conditions d'hébergements	49
2.2. Induction de la toxicité et traitement des rats	50
2.2.1. Effet préventif de la fraction n-butanolique de <i>Centaurea sp.</i> Contre la toxicité aiguë induite par le cyclophosphamide (200 mg/kg)	50
2.2.2. Dissection des rats, prélèvement du sang et des organes	51
2.2.3. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques	52
2.2.3.1. Dosage de l'urée plasmatique	52
2.2.3.2. Dosage de la créatinine plasmatique	52
2.2.3.3. Evaluation de l'activité enzymatique de LDH	53
2.2.3.4. Dosage du cholestérol plasmatique	53
2.2.3.5. Dosage des triglycérides plasmatiques	53
2.2.4. Examens d'anatomie-pathologiques	54
3. Evaluation statistique	56

Chapitre 3

I-Résultats	57
I-1-Effets de l'extrait de plant, de cyclophosphamide et de la vitamine E sur la fonction rénale	57
I-1-1- L'effet sur les taux de la créatinine et de l'urée	57
I-2-L'effet sur les taux des triglycérides et le cholestérol	58
I-3-L'effet sur les taux LDH	60
I-2-Etude Histopathologique	60
II- Discussion	62
III-Conclusion et perspective	67
IV-Références bibliographiques	68

Liste des abréviations

4-OHCy	4-hydroxycyclophosphamide
ADH	Alcool Déshydrogénase
ALDH1A1	Enzyme Aldéhyde Déshydrogénase 1A1
ALDH3A1	Enzyme Aldéhyde Déshydrogénase 3A1
ALDH5A1	Enzyme Aldéhyde Déshydrogénase 5A1
Aldo	Aldophosphamide
CP	Cyclophosphamide
CYP P450	Cytochromes P450
CYP2A6	Cytochromes P450 2A6
CYP2C18	Cytochromes P450 2C18
CYP2C19	Cytochromes P450 2C19
CYP2C9	Cytochromes P450 2C9
CYP3A4	Cytochromes P450 3A4
CYP3A5	Cytochromes P450 3A5
GSH	Glutathion
GSTP	Glutathion S-transférase Pi
L3	Troisième vertèbre lombaire
NCI	National Cancer Institute
PM	Moutarde phosphoramide
T12	Douzième vertèbre thoracique
kD	Kilodalton
EPO	L'érythropoïétine
NIA	Néphrite interstitielle aiguë
OAT	Transporteurs d'anions organiques
OCT	Transporteurs de cations organiques
MRP4	Multidrug Resistance-associated Protein 4
MRP2	Multidrug Resistance-associated Protein 2
NTIA	Néphrite tubulo-interstitielle aiguë
ROS	Espèces Réactives de l'Oxygène
NO	Nitric oxide NO
O2	Dioxygen O2
RNS	Espèces réactives de l'azote
O2•-	Anion superoxyde
H2O2	Peroxyde d'hydrogène
HO•	Radical hydroxyle
ONOO•-	Peroxynitrite
RO•	Radical alcoxyle
ROO•	Radical peroxyl
CAT	Chloramphénicol acétyltransférase

SOD	Superoxyde dismutase
GSH-Px	Glutathion peroxydase
GPA	Glutathionyl propionaldéhyde
ATP	Adenosine Triphosphate
NOX	NADPH Oxidase
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NO₂•	Radical dioxyde d'azote
NO•	Radical oxyde nitrique
mtROS	Espèces réactives de l'oxygène mitochondrial
IRC	Insuffisance Rénale Chronique
JNK	la kinase N-terminale c-Jun
TNF-α	Facteur de Nécrose Tumorale alpha (Tumor Necrosis Factor)
TNF-α	Facteur de Nécrose Tumorale alpha (Tumor Necrosis Factor) type A
Nrf2	facteur nucléaire lié à l'érythroïde 2
NF-κB	facteur nucléaire kappa-chaîne lumineuse-enhancer des cellules B activées
IL-1β	Interleukine-1 β
l'IL-6	Interleukines-6
COX-2	Cyclo-oxygénase 2
iNOS-	Synthase inducible de l'oxyde nitrique
Bax	protéine pro-apoptotique (protéine associée à l'apoptose)
Bcl-2	protéine anti-apoptotique (protéine associée à l'apoptose)
caspases 3	Protéase cystéine-aspartique 3
caspases 9	Protéase cystéine-acide aspartique 9
LDH	Lactate déshydrogénas
EXT	Extrait

Liste des figures

<i>Figure 1: Structures chimiques du cyclophosphamide</i>	5
<i>Figure 2: Les voies complexes d'activation et d'inactivation du cyclophosphamide</i>	7
<i>Figure 3: Formation de l'ion aziridinium à partir de la moutarde azotée et son activité alkylante sur l'ADN</i>	10
<i>Figure 4: Coupe sagittale du rein</i>	12
<i>Figure 5: Anatomie microscopique du néphron montrant la relation entre les structures vasculaires et tubulaires</i>	13
<i>Figure 6: Structure et fonction du glomérule et diagramme schématique du glomérule sur puce</i>	14
<i>Figure 7: La structure et la fonction du néphron et le schéma du néphron sur puce</i>	17
<i>Figure 8: L'effet rénal sur d'autres système</i>	19
<i>Figure 9: Mécanismes des lésions tubulaires aiguës induites par les médicaments</i>	21
<i>Figure 10: Les mécanismes sous-jacents à la lésion des cellules tubulaires liée aux cristaux et à la nécroinflammation</i>	23
<i>Figure 11: Pathogenèse de la DI-AIN</i>	25
<i>Figure 12: Mécanisme du cyclophosphamide dans la synthèse des radicaux libres dans les cellules rénales conduisant à un stress oxydatif</i>	27
<i>Figure 13: Néphrotoxicité induite par la cyclophosphamide par le biais du stress oxydatif, des cytokines inflammatoires</i>	29
<i>Figure 14: Génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans la cellule</i>	30
<i>Figure 15: mtROS et OS dans l'IRC</i>	32
<i>Figure 16 : Mécanismes impliqués dans la pathogenèse de l'inflammation rénale</i>	34
<i>Figure 17: Activation de la voie apoptotique dans la néphrotoxicité du cyclophosphamide</i>	36
<i>Figure 18: Stress oxydatif et inflammation dans les reins</i>	37
<i>Figure 19: Plante Centaurea cyanus</i>	40
<i>Figure 20: Plante Centaurea africana</i>	41
<i>Figure 21: Plante Centaurea nigra</i>	43
<i>Figure 22: C. benedicta (a) plante entière et (b) examen plus détaillé des feuilles</i>	44
<i>Figure 23: Les lots de rats</i>	50
<i>Figure 24: Un rat reçoit l'extrait de la plante par gavage</i>	51
<i>Figure 25: Un rat reçoit sa dose de cyclophosphamide par voie intrapéritonéale</i>	51
<i>Figure 26: Échantillons d'organes en solution physiologique</i>	52
<i>Figure 27: Un rat sur la planche de dissection</i>	52
<i>Figure 28: Préparation de lames pour l'étude anatomique</i>	56
<i>Figure 29: Effet de la cyclophosphamide et l'extrait sur la concentration de la créatinine</i>	57
<i>Figure 30: Effet de la cyclophosphamide et l'extrait sur la concentration de l'urée</i>	58
<i>Figure 31: Effet de la cyclophosphamide et l'extrait sur la concentration du cholestérol</i>	58
<i>Figure 32: Effet de la cyclophosphamide et l'extrait sur la concentration des triglycérides</i>	59
<i>Figure 33: Effet de la cyclophosphamide et l'extrait sur le taux d'LDH chez les différents groupes</i>	60
<i>Figure 34: Histologie des reins des rats témoins</i>	61
<i>Figure 35: Histologie des reins des rats traités avec l'extrait de la plante Centaurea sp</i>	61

<i>Figure 36: Histologie des reins des rats du groupe toxique ; groupe traité par cyclophosphamide</i>	61
<i>Figure 37: Histologie des reins des rats traités par CP et l'extrait butanolique</i>	62
<i>Figure 38: Histologie du foie des rats traités par CP et la vitamine E</i>	62

Introduction

Le cancer est la deuxième cause de mort dans le monde, après les maladies du cœur. Il se caractérise par une multiplication de cellules qui ne meurent pas. Cela provoque une masse de cellules anormales ou une tumeur (Pérez-Herrero & Fernández-Medarde, 2015). Le cancer se développe lorsque des cellules normales d'une partie du corps se développent de manière incontrôlée. Les cellules cancéreuses continuent de croître et de se diviser au lieu de mourir et de former de nouvelles cellules. Certains cancers se répandent dans le corps par le sang ou la lymphe. Il existe différents types de cancer (Sudhakar, 2009). Pour les cancers locaux et non métastatiques, on utilise surtout la chirurgie et la radiothérapie. Pour les cancers métastatiques, ce sont les médicaments anticancéreux (chimio, hormonothérapie et thérapies biologiques) qui sont utilisés. La chimiothérapie empêche les cellules cancéreuses de se diviser, mais elle affecte aussi les cellules normales qui se divisent rapidement, comme les cheveux, la moelle osseuse et les cellules de l'intestin. Cela provoque les effets secondaires de la chimiothérapie (Pérez-Herrero & Fernández-Medarde, 2015).

Une classification des agents chimio thérapeutiques peut être établie en deux catégories distinctes, en fonction de leur origine. Ces substances peuvent être d'origine végétale, ou d'origine synthétique. En fonction de leur mécanisme d'action, ces agents peuvent être classés en différentes catégories, notamment les agents alkylants, l'anti métabolites, les inhibiteurs du topo isomérase, les inhibiteurs du fuseau mitotique, et autres (Bukowski et al., 2020). Les médicaments anticancéreux sont associés à des effets indésirables graves, les organes les plus fréquemment touchés étant le foie, les reins, le myocarde et la vessie. L'un des agents chimiothérapeutiques les plus couramment utilisés est le cyclophosphamide (CP) (Refaie et al., 2020).

Le cyclophosphamide est une moutarde azotée synthétique. Elle a été créée pour traiter les tumeurs malignes. Il est utilisé seul ou avec d'autres traitements pour soigner les lymphomes et les tumeurs solides, et dans les protocoles de conditionnement. On l'utilise aussi pour traiter le syndrome néphrotique, la polyarthrite rhumatoïde, le lupus érythémateux disséminé, la vascularite systémique et d'autres maladies rhumatologiques et auto-immunes (DeChiara et al., 2023). Malgré son grand intérêt médical, le CP présente des toxicités graves, notamment une cardiotoxicité, une hépatotoxicité, une néphrotoxicité et une toxicité pulmonaire (Refaie et al., 2020). La néphrotoxicité dose-dépendante est l'un des principaux effets secondaires qui peuvent entraîner une fibrose et une apoptosis des cellules rénales, et donc une insuffisance rénale (Wanas et al., 2021). Le stress oxydatif et l'apoptose jouent un rôle central dans ces toxicités (Refaie et al., 2020).

La prise en charge de la néphrotoxicité représente un défi majeur pour la communauté scientifique contemporaine. Il est à déplorer que les médicaments ne procurent qu'un soulagement limité en cas d'affections rénales. Cette dynamique a conduit à des investigations approfondies visant à identifier des alternatives sûres, peu coûteuses et disponibles à partir de ressources naturelles. Cette propriété est attribuable à la présence de divers composés bioactifs dans les plantes médicinales, qui ont été identifiées comme une source significative de substances pharmacologiquement actives (Mansoury, 2020). Les plantes médicinales sont une ressource inestimable pour la découverte de nouvelles substances chimiques aux effets thérapeutiques prometteurs (Kalantar et al., 2016).

L'Algérie a une situation géographique et un climat divers. Cela fait qu'elle a une végétation riche et variée. Il y a plus de 3 000 espèces de plantes, dont 15 % ne se trouvent qu'ici. Plusieurs plantes de la famille des Astéracées sont cultivées pour leur valeur nutritionnelle. On a découvert que les fleurs et les feuilles de cette famille avaient des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, anti-inflammatoires et antiproliférantes. Les plantes de la famille des Astéracées ont de nombreuses activités pharmacologiques. Cela s'explique par la diversité de leurs métabolites secondaires. C'est pourquoi de nombreuses espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle. Il y a plus de 500 espèces de centaurées, 45 poussent naturellement en Algérie, dont sept dans le Sahara, désert. Plusieurs espèces de centauree sont utilisées en médecine traditionnelle pour soigner divers maux et maladies. Les polyphénols sont de plus en plus populaires, car ils sont bons pour la santé. Les plantes contiennent souvent des composés phénoliques. Ces composés ont plusieurs activités biologiques : ils sont contre le diabète, le cancer, les microbes, les allergies, les mutations et l'inflammation (Hechaichi et al., 2023).

Des études épidémiologiques ont mis en évidence un lien entre la consommation d'aliments phénoliques et une protection accrue contre diverses pathologies. Ces composés phénoliques sont dotés de propriétés antioxydantes et chimioprotectrices *in vivo* extrêmement performantes. Dans le secteur des plantes, les composés phénoliques sont identifiés comme les agents anticancérigènes les plus prometteurs (Rehman et al., 2012).

Notre étude vise à évaluer l'efficacité de l'extrait phénolique de *Centaurea sp.* dans la prévention de la néphrotoxicité induite par le cyclophosphamide.

*Synthèse
bibliographique*

I-Le Cancer

Le cancer est la deuxième cause de mortalité dans le monde, après les maladies cardiovasculaires. Il constitue un problème majeur de santé publique à l'échelle planétaire. Le terme 'cancer' provient du mot grec Korkino, utilisé par Hippocrate (460–370 av. J.-C.) pour désigner des tumeurs à l'aspect de crabe, en raison de leur forme et de leur propagation (Sudhakar, 2009).

La plupart des définitions du cancer sont en adéquation avec la définition actuelle du NCI : « Selon le National Cancer Institute (NCI), le cancer est une maladie dans laquelle certaines cellules du corps se multiplient de façon incontrôlée et peuvent envahir d'autres tissus. ». Le cancer a d'abord été identifié comme une masse de tissu en croissance, ou tumeur. Les chercheurs ont étudié les caractéristiques des cellules tumorales, notamment leur croissance rapide, leur morphologie anormale et leur capacité à envahir les tissus. Certaines tumeurs ont la capacité de se propager à distance par le sang ou les voies lymphatiques, un phénomène appelé métastase (Brown et al., 2023).

Le cancer est une pathologie multifactorielle. Divers facteurs, incluant l'alimentation, le mode de vie, la présence d'agents vitaux, les caractéristiques génétiques, l'exposition à certains agents chimiques et les facteurs professionnels, peuvent contribuer à la genèse ou à la progression d'une tumeur (Clapp et al., 2008).

Le développement du cancer est caractérisé par la prolifération incontrôlée de cellules normales au sein d'un organisme. Il existe différents types de cancers ; tous les types de cellules cancéreuses continuent de croître, de se diviser et de se redoubler au lieu de mourir et de former de nouvelles cellules anormales. Il a été observé que certaines cellules cancéreuses présentent une tendance à la migration vers d'autres zones du corps par le biais de la circulation sanguine ou des vaisseaux lymphatiques, un processus connu sous le nom de métastase, où elles initiaient leur prolifération. Le développement d'un cancer résulte généralement de mutations de l'ADN cellulaire. Bien que l'organisme dispose de mécanismes de réparation, ceux-ci sont souvent défaillants dans les cellules cancéreuses. Dans la plupart des cas, l'organisme possède la capacité d'auto-régénération de l'ADN endommagé. Cependant, dans les cellules cancéreuses, cette capacité s'avère inopérante, conduisant à une incapacité à réparer l'ADN endommagé (Sudhakar, 2009).

Le traitement du cancer repose sur quatre approches principales : la chirurgie, la radiothérapie (traitements locaux), la chimiothérapie, et les thérapies ciblées ou agents biologiques (Anjos & Zago, 2006).

I-1-La chimiothérapie

La chimiothérapie est un pilier du traitement du cancer, que ce soit en monothérapie ou en association avec d'autres traitements. Les effets physiques indésirables associés à la chimiothérapie sont les suivants : nausées, vomissements, anorexie, constipation, diarrhée, fatigue, mucosité, névrite et dépression de la moelle osseuse (Anjos & Zago, 2006).

Les médicaments cytotoxiques sont des classes de traitements utilisés pour traiter le cancer en empêchant la division ou la prolifération des cellules. L'une des substances anticancéreuses les plus performantes jamais développées est le Cyclophosphamide (CP). Le CP a été synthétisé et a fait l'objet des premiers essais cliniques pour le traitement du cancer en 1958, et la FDA l'a approuvé en tant que huitième médicament anticancéreux cytotoxique. La PC est un analogue de l'oxazaphosphorine de la moutarde azotée. Le concept de la synthèse de la CP s'articulait autour de la conversion enzymatique du pro médicament non toxique en la forme active de moutarde phosphoramide (PM) (Dabbish et al., s. d.).

Le CP appartient à la sous-classe des médicaments anticancéreux de la moutarde azotée, désignés sous le terme d'agents alkylants. Le succès clinique de la méchloréthamine a conduit à la synthèse de nombreux analogues de la moutarde azotée. Parmi ceux-ci, la CP s'est révélée être le médicament le plus bénéfique contre le plus grand nombre de cancers humains.

À l'époque du développement de la CP, le seul médicament chimio thérapeutique disponible était la moutarde azotée. La CP est un produit qui présente des caractéristiques similaires à l'oxazaphosphorine de la moutarde azotée. Le concept de la synthèse de la CP s'articulait autour de la conversion enzymatique du promédicament non toxique en la forme active de moutarde phosphoramide (PM) (Dabbish et al., s. d.)

I-2-Le Cyclophosphamide :

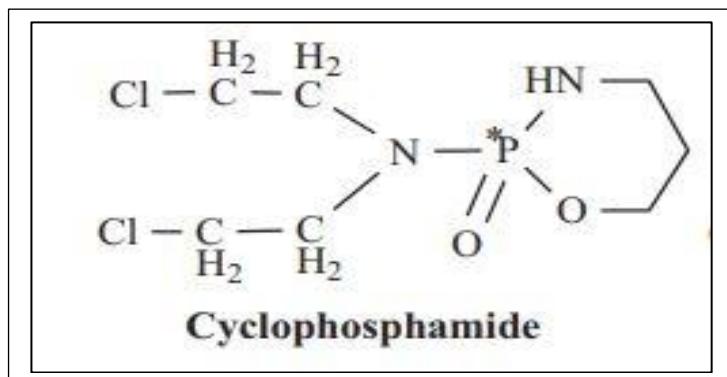


Figure 1 : Structures chimiques du cyclophosphamide (Zhang et al., 2006)

La cyclophosphamide (CP appartient à la sous-classe des médicaments anticancéreux de la moutarde azotée, désignés sous le terme d'agents alkylants. Le succès clinique de la méchloréthamine a conduit à la synthèse de nombreux analogues de la moutarde azotée. Parmi ceux-ci, la CP s'est révélée être le médicament le plus bénéfique contre le plus grand nombre de cancers humains (Ludeman, 1999).

Synthétisé pour la première fois il y a plus de 60 ans, le CP (N,N-bis(2chloroéthyl)-2-oxo-1,3,2λ5-oxazaphosphinan-2-amine) est un agent chimio thérapeutique essentiel pour le traitement d'un certain nombre de cancers (Helsby et al., 2019).

Le CP est un agent alkylant oxazaphosphorique de la classe des moutardes azotées (Ayza et al., 2022) cytotoxique qui a été largement utilisé comme agent antinéoplasique pour le traitement de plusieurs tumeurs telles que les sarcomes et les carcinomes du poumon et de la glande mammaire (Alkan et al., 2012). Il a de puissants effets cytotoxiques et immunsupresseurs. Ce produit pharmaceutique est un traitement de référence pour les tumeurs malignes et les maladies auto-immunes, telles que le lupus, la sclérose systémique et plusieurs types de vascularites (Ayza et al., 2022). Cependant, ce médicament présente des risques potentiels pour la santé, notamment des effets génotoxiques et des lésions rénales et hépatiques, ce qui restreint son utilisation thérapeutique. Les effets cytotoxiques de ce produit sont attribuables à ses métabolites réactifs. Ces métabolites alkylent l'ADN et forment une variété d'adduits à l'ADN. Ces adduits altèrent suffisamment la structure ou la fonction de l'ADN (Alkan et al., 2012).

I-2-1-Pharmacocinétique

I-2-1-1-Absorption

Le CP se caractérise par sa solubilité dans l'eau, la solution saline ou l'alcool sous forme de monohydrate. Cette propriété confère à l'administration par voie orale une facilité d'exécution (Zhang et al., 2006). Il peut être administré quotidiennement à des doses de 100 à 200 mg par voie orale. Lorsque de plus fortes doses sont requises, des injections intraveineuses multiples de 600 à 100 mg/m² peuvent être administrées, à des intervalles de quelques semaines. Pour une même dose, peu importe la route d'absorption, la concentration plasmatique maximale ne diffère pas significativement et serait atteinte environ quatre heures après l'administration (Desmeules, 2006). Par ailleurs, il convient de préciser que le CP présente une biodisponibilité orale qui se situe entre 85 et 100 % (Zhang et al., 2006).

I-2-1-2-Distribubution

Le transport du CP et de ses métabolites à travers les membranes cellulaires : le CP présente un fort hydrophile et une faible capacité de diffusion à travers la bicouche lipidique des cellules. Par ailleurs, la moutarde phosphoramido, métabolite cytotoxique du cyclophosphamide, présente une charge négative avec un pKa de 4,5 à 4,8 au pH physiologique. Cette instabilité a pour conséquence de limiter la capacité de la molécule à traverser la membrane cellulaire (Zhang et al., 2006). Il a été constaté que 20 % du CP et 67 % de ses métabolites sont liés à des protéines. Par ailleurs, le temps d'action du CP est relativement court, avec une demi-vie s'étendant de 5 à 8 heures (Desmeules, 2006).

I-2-1-3-Métabolisme de Cyclophosphamide

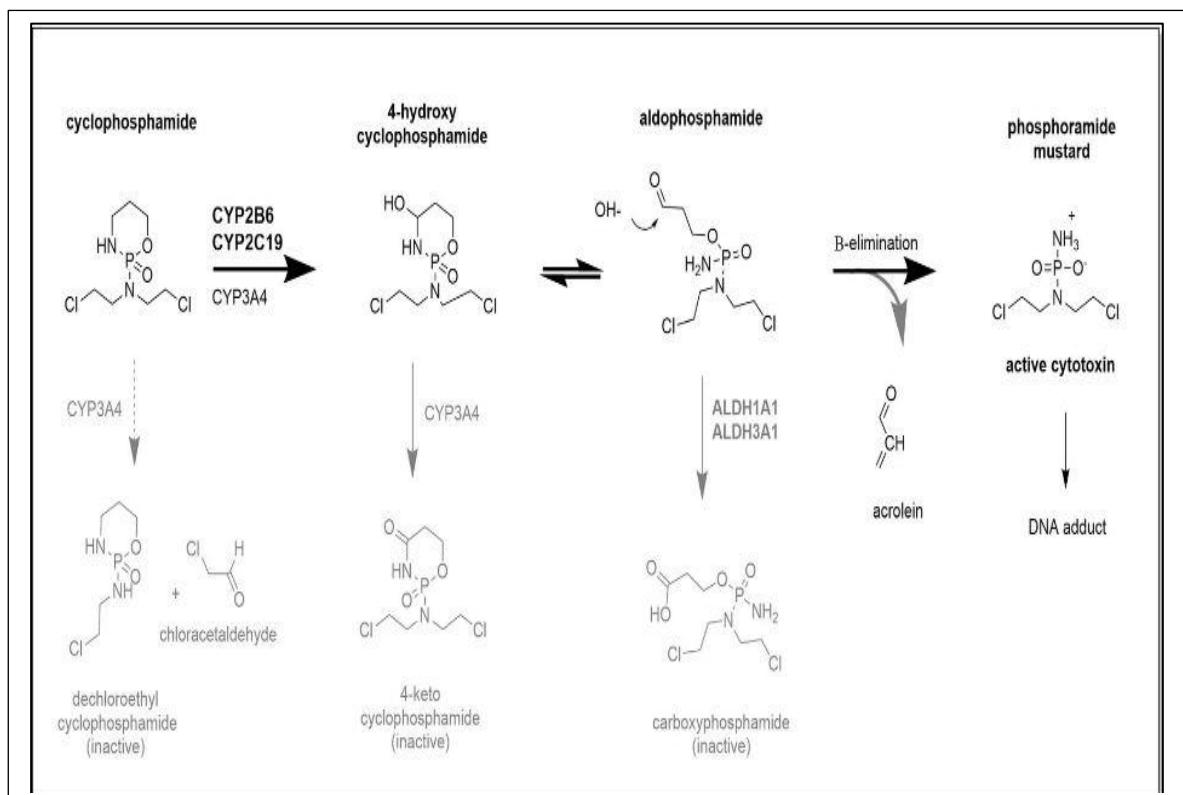


Figure 2 : Les voies complexes d'activation et d'inactivation du cyclophosphamide. Ces voies impliquent des enzymes telles que le cytochrome P450 (CYP) et l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH). Seuls les principaux produits métaboliques sont représentés, les voies d'inactivation étant indiquées en gris. La principale voie de biotransformation du cyclophosphamide est la 4-hydroxylation6, tandis que la N-déchloroéthylation catalysée par le CYP3A4 est une voie mineure qui contribue en moyenne à 19 % de la clairance métabolique (Helsby et al., 2019)

Le CP est largement métabolisé en métabolites actifs et inactifs. Son profil métabolique, y compris les métabolites les plus abondants, est présenté dans la figure 2 (De Jonge et al., 2002) .

- Métabolites actifs :

Le foie est le principal site d'activation du CP. Environ 70 à 80 % de la dose administrée sont activés par les oxydases microsomaux hépatiques à fonction mixte (système enzymatique du cytochrome P450 ; CP) pour former du 4-hydroxycyclophosphamide. Il a été démontré que plusieurs isoenzymes CP sont impliqués dans la bioactivation du CP

Chez l'homme, notamment les CYP2A6, 2B6, 3A4, 3A5, 2C9, 2C18 et 2C19. Le CYP2B6 présente l'activité 4-hydroxylase la plus élevée (De Jonge et al., 2002), correspondant à plus de 80 % de la dose totale de CP. La plupart des métabolites terminaux du CP sont des substances cytotoxiques, telles que le 4-hydroxycyclophosphamide, qui est dégradé en phosphoramide mustard (PM) et en acroléine, responsable de l'urotoxicité (cystite hémorragique) (El-Serafi & Steele, 2024)

Le 4-hydroxycyclophosphamide se diffuse facilement dans les cellules et se transforme en aldophosphamide (Aldo) par ouverture de cycle. Il est très instable et se décompose spontanément en moutarde phosphoramide par β -élimination de l'acroléine. La libération des PM et de l'acroléine de l'Aldo par β -élimination est soumise à la catalyse générale des bases et peut également être catalysée par les 3'-5' exonucléases intracellulaires. Cette conversion peut être en partie catalysée par l'albumine ou d'autres protéines (Jain et al., 2004).

- Métabolites inactifs :

L'une des principales voies de désactivation du cyclophosphamide (CP) résulte de l'oxydation de l'aldophosphamide en carboxyphosphamide (la moutarde Ocarboxyéthylcyclophosphoramide), qui devient inactif par l'action de l'enzyme aldéhyde déshydrogénase (ALDH1A1), et dans un bien moindre mesure par les ALDH3A1 et ALDH5A1. Le 4-hydroxycyclophosphamide est également oxydé par l'alcool déshydrogénase (ADH) pour former le 4-ketocyclophosphamide. L'acroléine est détoxifiée par conjugaison avec le glutathion (GSH) (De Jonge et al. 2002).

Le GSH réagit avec le métabolite actif, le 4-OHCy, ainsi qu'avec son métabolite toxique, l'acroléine. L'acroléine est ensuite métabolisée et détoxifiée par la GSTP via la conjugaison avec le GSH (Zhang et al., 2006).

I-2-1-4-Éliminations

La présence du CP et de ses métabolites dans les urines. L'élimination urinaire du CP et de ses métabolites est presque complète 24 heures après le début du traitement. Moins de 20 % de la dose administrée est éliminée sous forme inchangée dans les urines. Selon les dernières analyses, le taux d'élimination du CP par les reins se situe entre 30 et 60 % de la dose totale. Cette élimination se fait sous forme de CP ou de métabolites. une très petite fraction de la dose de CP est éliminée par les fèces et l'air expiré (De Jonge et al., 2002).

I-4-Mécanisme d'action de Cyclophosphamide

I-4-1- Effet sur l'ADN

Le CP est un pro médicament qui, pour devenir actif, doit subir une activation enzymatique et chimique (Emadi et al., 2009) pour produire un métabolite. Le métabolite est un composé de moutarde azotée connu sous le nom de moutarde phosphoramide. Il est considéré comme le métabolite thérapeutiquement actif, car il possède une importante activité d'alkylation de l'ADN. En glissant entre les deux brins de l'ADN, il l'endommage (Ibrahim et al., 2024)

Dans la plupart des cas, il s'agit de la molécule (MP) qui se lierait de façon covalente à l'acide désoxyribonucléique (ADN) afin d'exercer l'action cytotoxique recherchée. Il s'agit d'une molécule au potentiel bis-alkylant qui réagit par un processus divisé en plusieurs étapes (Desmeules, 2006) .

MP caractérisée par la présence de deux groupements chloroéthyles au sein de leur structure et adoptent ainsi un mécanisme réactionnel passant par la formation d'un intermédiaire de type aziridinium (Caron, s. d.).

I-4-1-1 -La formation de l'ion aziridinium

L'efficacité de la moutarde azotée repose sur la réactivité des deux groupes chloroéthyle attachés à l'atome d'azote central, un élément clé de sa formule. Dans des conditions physiologiques, la moutarde azotée subit des cyclisations intramoléculaires par élimination du chlorure pour former un cation aziridinium (éthylèneminium) cyclique (Emadi et al., 2009)

I-4-1-2-Alkylattion et effets sur l'ADN

Ce cation, dont la stabilité est faible, est facilement attaqué sur l'un des atomes de carbone de l'anneau aziridine à trois membres par plusieurs nucléophiles, tels que les résidus de guanine de l'ADN (Emadi et al., 2009). Le processus nécessite une attaque intermoléculaire par un nucléophile sur l'ion aziridinium intermédiaire; cela mène à l'ouverture du cycle et à l'alkylation du nucléophile (Desmeules, 2006). Cette réaction permet de libérer l'azote de l'agent alkylant et de le rendre disponible pour réagir avec la deuxième chaîne latérale chloroéthyle. Cela forme une deuxième liaison covalente avec un autre nucléophile et interfère avec la réPLICATION de l'ADN. Cela permet de former des liaisons transversales intrastrand et interstrand de l'ADN (figure 3) (Emadi et al., 2009). La formation de ponts interbrins sur l'ADN s'effectue en général lorsque les deux nucléophiles sont sur la position N7 de résidus de désoxyguanosine sur des brins complémentaires.

De telles adduits peuvent entraîner des cassures du brin d'ADN. L'acroléine, qui est produite en quantité équimolaire à la MP, peut également former des adduits avec l'ADN (Desmeules, 2006).

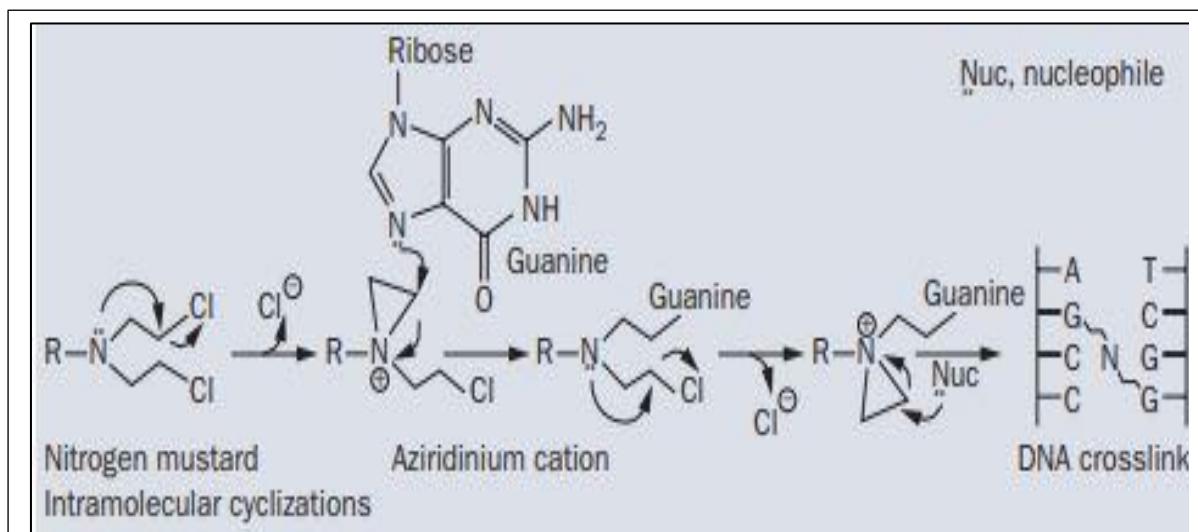


Figure 3 : Formation de l'ion aziridinium à partir de la moutarde azotée et son activité alkylante sur l'ADN.

Dans l'ypérite, l'atome d'azote déplace le chlorure pour donner naissance à un cation intermédiaire à trois chaînons, appelé aziridinium. Cet ion réagit facilement avec les nucléophiles. La position N-7 de la guanine dans l'ADN est fortement nucléophile et peut être facilement alkylée par le cation aziridinium. La deuxième transformation chimique de la moutarde azotée fournit un autre ion aziridinium qui, en réagissant avec un autre nucléophile de l'ADN, forme une liaison transversale de l'ADN (Emadi et al., 2009)

II - Les reins

Le rein est un organe d'une grande diversité cellulaire, se classant parmi les plus complexes du corps humain en termes de complexité spatiale, juste après le cerveau (Hansen et al, s. d.).

II - 1-Position et anatomie externe des reins

Les reins sont des organes rétropéritonéaux, pairs, dotés d'un bord latéral convexe et d'un bord médial concave. Ils présentent des dimensions de 10 à 12 cm de long, 3 à 5 cm de large et un poids d'environ 150 g. Au niveau du hile rénal, la veine est en avant, l'artère au centre, le bassinet à l'arrière. (Cortes, 2025).

II - 1-1-Localisation et relations anatomiques

Les reins sont des organes pairs, en forme de haricot, situés à côté de la colonne vertébrale dans la cavité rétro-péritonéale (Kinter & Short, 1993a). Ils s'étendent de la douzième vertèbre thoracique (T12) à la troisième vertèbre lombaire (L3). Le positionnement du rein droit par rapport au rein gauche est déterminé par la présence du foie. En effet, le rein droit est situé en position inférieure par rapport au rein gauche. Chaque rein est recouvert d'une capsule fibreuse. Cette dernière est ensuite entourée par la graisse périnéphrique, puis par le fascia rénal, qui renferme également la glande surrénale (O'Callaghan, 2016).

II - 1-2-Organisation interne : cortex et médulla

En coupe, le cortex externe pâle et la médulla interne foncée sont aisément discernables. La médulla se compose de 8 à 12 masses coniques, appelées pyramides. La base de la pyramide se situe à la jonction cortico-médullaire et le sommet s'étend vers le bassin rénal, formant une papille. Chaque papille est composée de 10 à 25 petites ouvertures, qui correspondent aux extrémités distales des canaux collecteurs. Dans le rein adulte, le cortex, d'une épaisseur d'environ 1 cm, recouvre la base des pyramides rénales et s'étend entre les pyramides individuelles pour former les colonnes de Bertini (Bagga et al., 2016).

Le cortex rénal représente la zone externe du rein, tandis que la médulla rénale correspond à la zone interne, constituée des pyramides rénales. Le cortex contient tous les glomérules, et la médulla contient les boucles de Henle, le vasa recta et les portions finales des canaux collecteurs (Figure 4) (O'Callaghan, 2016).

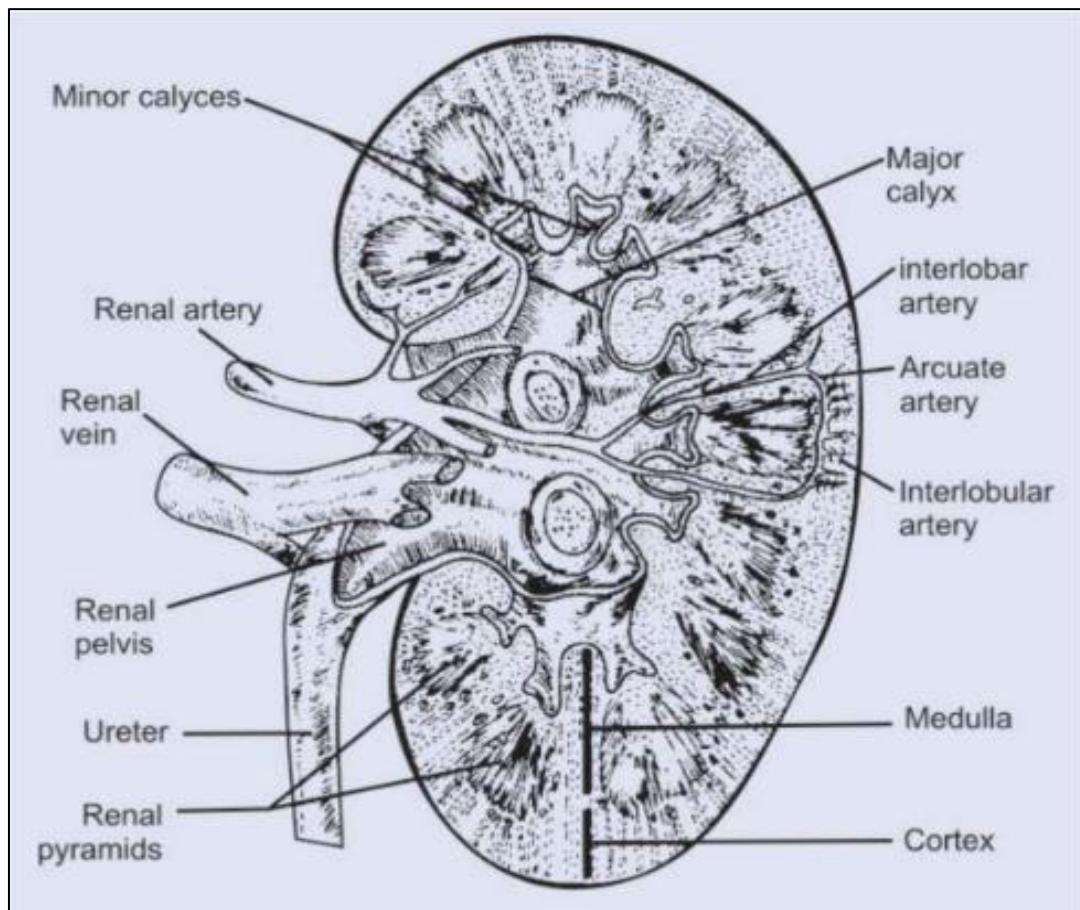


Figure 5: Coupe sagittale du rein (Bagga et al. 2016)

II - 1-3- Le néphron : unité fonctionnelle du rein

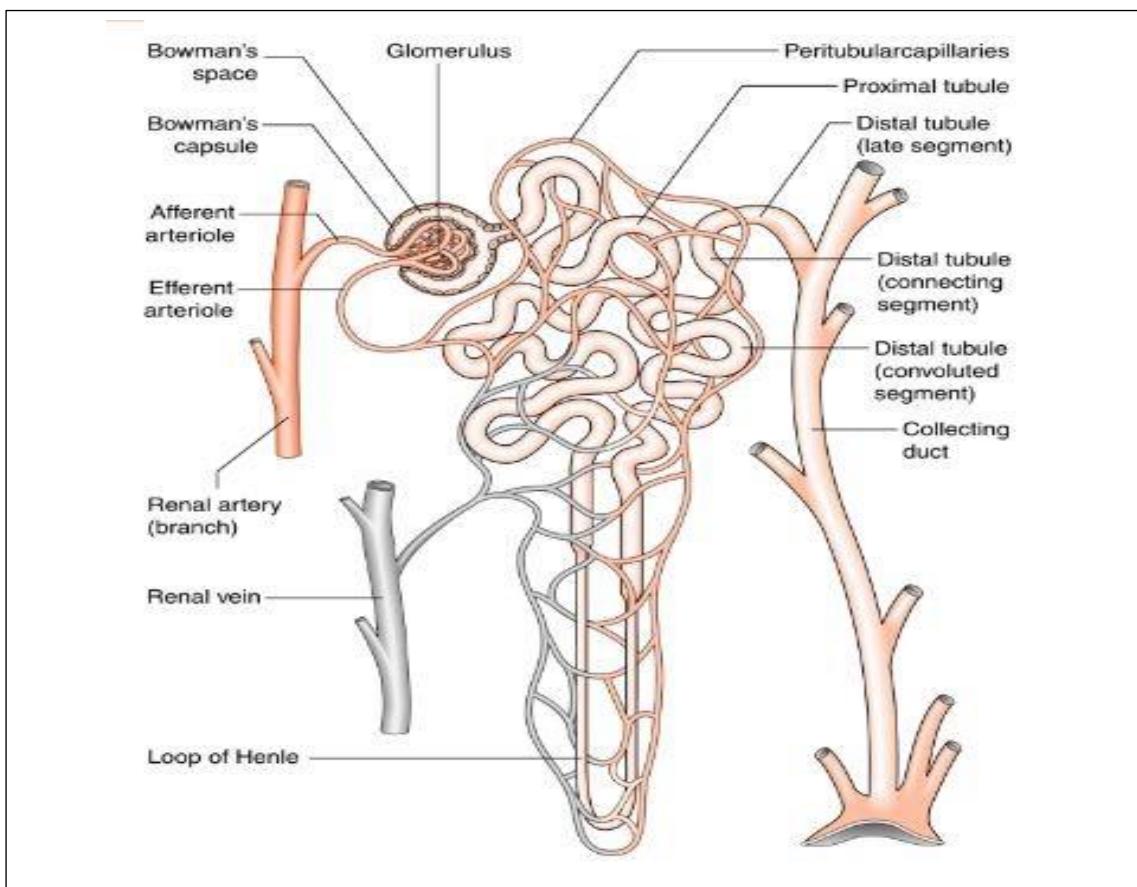


Figure 5 : Anatomie microscopique du néphron montrant la relation entre les structures vasculaires et tubulaires. Notez que la disposition anatomique de l'appareil juxtaglomérulaire n'est pas illustrée ici (Lee et Mather, 2022)

Les reins sont constituésEnviron un million de néphrons chez l'adulte. Chaque néphron est en contact avec le flux sanguin rénal à son extrémité proximale (le glomérule) et fusionne à son extrémité distale avec d'autres néphrons avant de se terminer à l'extrémité de la papille rénale dans le bassinet du rein (Kinter & Short, 1993b).Le néphron est défini comme l'unité structurelle et fonctionnelle essentielle du rein. Sur le plan structurel, chaque néphron est composé d'un corpuscule rénal comprenant le glomérule, qui contient un réseau de capillaires et la capsule de

Bowman, et d'une unité tubulaire comprenant le tubule proximal, l'anse de Henlé, le tubule distal, le tubule collecteur et éventuellement le canal collecteur (Figure 5) (Zhuo et Li, 2013).

II -1-4-Le glomérule

Le néphron se compose d'une unité de filtration, le glomérule, qui est relié à un long tubule segmenté en une partie proximale responsable de la récupération des nutriments importants, une section intermédiaire, importante pour la régulation de l'osmolarité, et le segment final, responsable de l'ajustement fin et de l'équilibre électrolytique. Le réseau intime de cellules épithéliales, de cellules endothéliales, de cellules interstitielles et de cellules immunitaires est essentiel pour atteindre une fonction optimale et maintenir le milieu intérieur. En plus des différences régionales proximales et distales, il existe des différences spatiales cortico-médullaires (Balzer et al., 2022).

La barrière de filtration glomérulaire est constituée de cellules endothéliales fenêtrées (Figure 6), d'une membrane basale élaborée et d'une couche complexe formée par les processus de pied de cellules épithéliales hautement différenciées appelées podocytes. La barrière de filtration est un dispositif de pointe qui permet de contrôler sélectivement la circulation des molécules d'eau, des petits solutés et des protéines de faible poids moléculaire. Elle est conçue pour bloquer efficacement la filtration des protéines plasmatiques d'une masse supérieure à 60-70 kD, notamment celles chargées négativement (Eckardt et al., 2013).

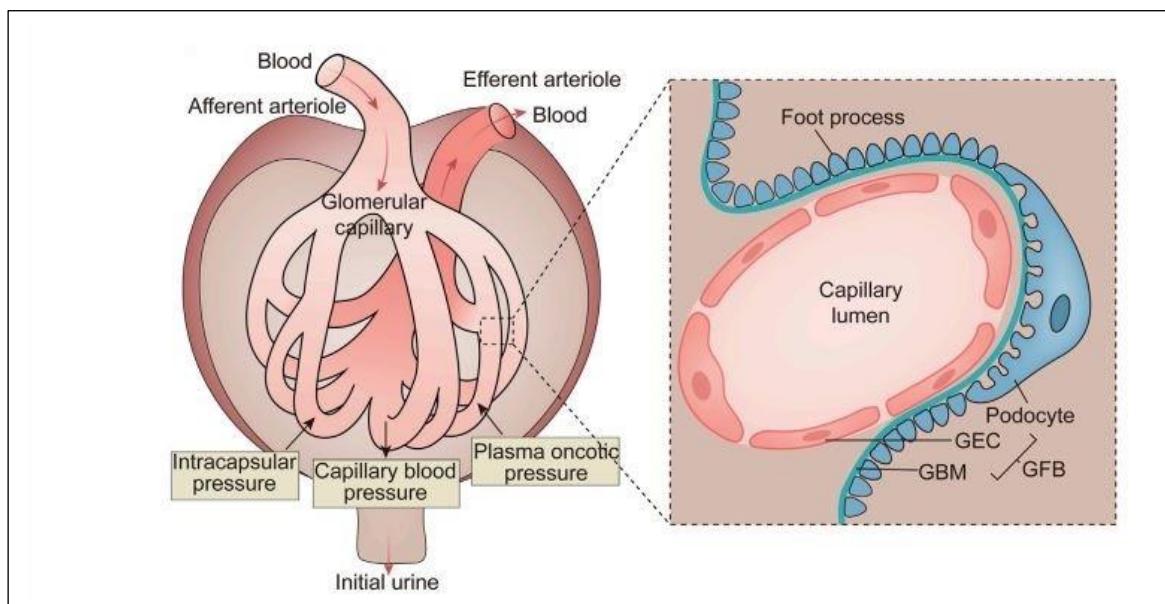


Figure 6 : Structure et fonction du glomérule et diagramme schématique du glomérule sur puce (Huang et al., 2024)

II -1-5-Le système tubulaire

a-Tubule proximale

La partie du néphron appelée Tubule proximale a le diamètre le plus large. Elle est faite de grandes cellules qui ont un gros noyau rond et qui sont situées à la base (Smith, 1951). Ces cellules ont une bordure en brosse de microvillosités. Elles ont aussi de nombreuses mitochondries longues et fines bordant le pôle basal de la cellule. Et de nombreuses vésicules impliquées dans le transport Trans cellulaire de 60 à 80 % de l'ultrafiltrat. Les capillaires péri tubulaires entourent la Tubule proximale. Ce réseau de petits vaisseaux transporte le sang vers les reins et récupère l'eau, les ions et d'autres substances du sang, comme les acides aminés et le glucose (Madrazo-Ibarra & Vaitla, 2023).

b-L'anse de Henlé

Les branches fines de l'anse de Henlé, qui comprennent le segment intermédiaire, assurent la liaison entre le tubule proximal et le tubule distal, et se situent exclusivement dans la médullaire rénale. Le segment mince descendant est constitué d'au moins deux ou trois sous-segments morphologiquement et fonctionnellement distincts. Il participe au transport Trans épithéial du NaCl, de l'urée et de l'eau (Pannabecker, 2012).

c-Tubule distal

Le Tubule distal englobe la partie du néphron localisée entre la macula densa et le tubule collecteur cortical. Les cellules du Tubule distal se caractérisent par leur grande taille et leur forte concentration en mitochondries, ce qui les distingue des autres cellules du néphron. Elles présentent une amplification basolatérale étendue qui renferme de multiples mitochondries (Madrazo-Ibarra & Vaitla, 2023).

d-Tube collecteur

À partir de la base de la pyramide, à la jonction cortico-médullaire, des rayons médullaires longitudinaux, constitués des canaux collecteurs et des segments droits des tubules proximaux et distaux, s'étendent dans le cortex. L'uretère, élément essentiel du système urinaire, trouve son origine dans la partie inférieure du bassin, à la jonction pelvi-urétérale, et s'étend jusqu'à son ouverture dans le fond de la vessie (Bagga et al. 2016).

e-Appareil juxta-glomérulaire

La première partie du tubule distal, dans son ascension de la moelle vers le cortex, se trouve à proximité du glomérule du même néphron. L'appareil juxta glomérulaire est composé des artéries afférentes et efférentes, de la macula densa et des cellules lacis situées dans l'espace triangulaire entre ces structures. Il joue un rôle clé dans la régulation de la pression artérielle systémique, l'homéostasie électrolytique et les mécanismes de rétroaction tubuloglomérulaire (Bagga et al. 2016).

II -2-La physiologie rénale

Le rein est un organe clé du système urinaire. Il joue un rôle essentiel dans l'élimination des métabolites. Ils contribuent également à maintenir l'équilibre hydrique et électrolytique. (Meng et al. 2025). Il remplit une fonction essentielle dans le maintien de l'homéostasie, assurant la régulation de l'environnement interne et la préservation des conditions physiologiques nécessaires au fonctionnement optimal de près de 100 billions de cellules dans l'organisme (Younes-Ibrahim 2021).

Le rein a deux fonctions : La transformation du sang en urine et la fonction endocrinienne.

II -2-1-La transformation du sang en urine

Les processus physiologiques du rein se déclinent en trois fonctions principales : la filtration, la réabsorption et la sécrétion :

II - 2-1-1-La filtration glomérulaire : Les glomérules assurent la fonction de filtrage du sang qui a été acheminé vers les reins par les artères rénales. Le glomérule joue un rôle de filtre, permettant aux plus grosses molécules, telles que les protéines et les cellules sanguines, de demeurer dans la circulation sanguine, tandis que les plus petites molécules, à l'instar de l'eau, des électrolytes et des déchets, sont perméées et pénètrent dans la capsule de Bowman pour constituer le premier filtrat (ALMALKI et ALSHAMMARI, s. d.).

II - 2-1-2-Réabsorption tubulaire : le filtrat est réinséré dans la circulation sanguine lors de son passage à travers les tubules rénaux. Cette procédure est essentielle pour l'organisme. Car elle permet l'absorption de composants essentiels tels que le glucose, les acides aminés et les électrolytes. Ce processus, qui s'effectue principalement dans le tubule proximal et l'anse de Henlé, vise à optimiser l'élimination des fluides et des substances indésirables dans l'urine, tout en

préservant l'intégrité des nutriments et des ions critiques. Enfin, pour la préservation de l'homéostasie électrolytique et de l'équilibre acido-basique (ALMALKI et ALSHAMMARI, s. d.).

II - 2-1-3-La sécrétion tubulaire :les tubules rénaux jouent un rôle actif dans la sécrétion de substances chimiques spécifiques, notamment des ions potassium et hydrogène, au sein du filtrat.Ces fonctions assurent la régulation du pH, de la pression artérielle et de l'équilibre hydrique (Figure 7) (ALMALKI et ALSHAMMARI, s. d.).

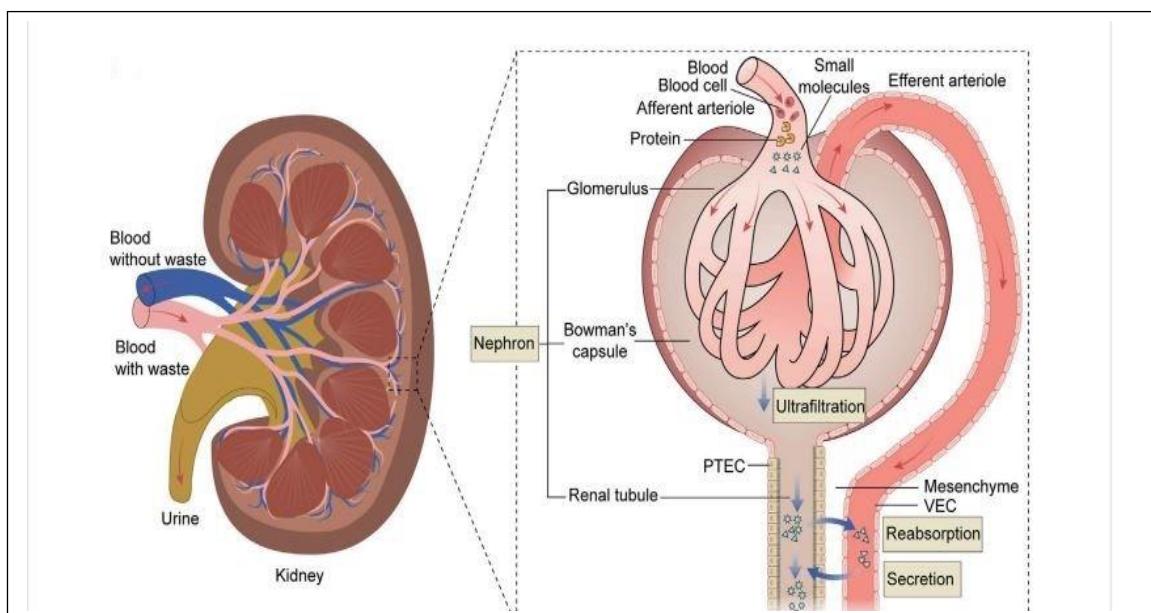


Figure 7 : La structure et la fonction du néphron et le schéma du néphron sur puce (Huang et al., 2024)

II - 2-2-Fonction endocrine

Le rein remplit de multiples fonctions endocrines. Il sécrète diverses hormones et facteurs humoraux, dont l'érythropoïétine (EPO) et la 1,25-dihydroxy vitamine D3. Le rein joue un rôle clé dans la production d'« hormones locales » ou autocrines (Figure 8). Par ailleurs, le rein est l'organe cible principal de diverses hormones telles que l'aldostérone, l'angiotensine et les peptides urétiques (Sahay et al., 2012).

II - 2-2-1-Érythropoïétine

L'érythropoïétine est une protéine produite dans les reins qui joue un rôle essentiel dans la production de globules rouges dans la moelle osseuse (O'Callaghan, 2016).

II - 2-2-2-Vitamine D

La forme active de vitamine D, 1,25 (OH) 2-vitamine D3, qui est le métabolite le plus biologiquement actif, est synthétisée dans les mitochondries des tubules rénaux proximaux. Un autre métabolite, les 24,25 (OH) 2 vitamines D3, est également formé dans les reins, À l'instar des autres familles d'hormones, le rein joue un double rôle de producteur et de cible de la vitamine D. La 1,25(OH) 2vitamine D3 a pour effet de diminuer la calciurie et la phosphaturie en augmentant la réabsorption des électrolytes au niveau des tubules proximaux (Sahay et al., 2012).

II - 2-2-3- Aldostérone

Cette hormone stéroïde, produite par le cortex adrénal, joue un rôle clé dans la régulation du sodium, favorisant sa réabsorption dans les canaux collecteurs (O'Callaghan, 2016).

II - 2-2-4-La rénine

La rénine est une protéine sécrétée par l'appareil juxtaglomérulaire, qui joue un rôle clé dans la synthèse de l'angiotensine II. L'angiotensine II agit directement sur les tubules proximaux et, par l'intermédiaire de l'aldostérone, sur les tubules distaux pour favoriser la rétention du sodium. Elle est également un puissant vasoconstricteur (O'Callaghan, 2016)

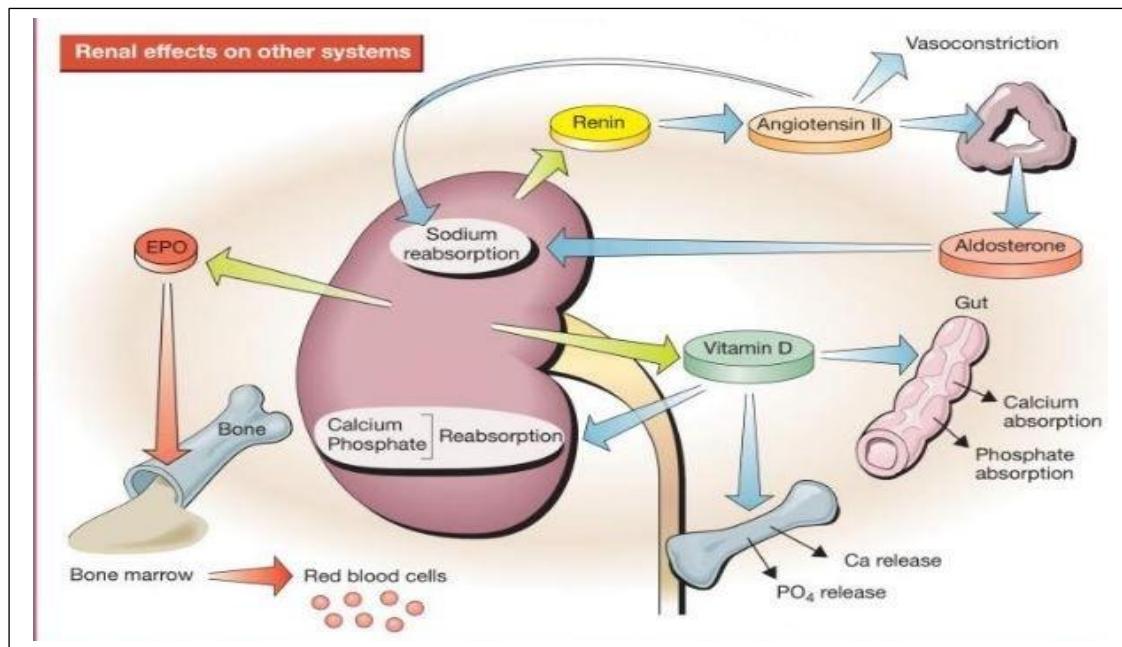


Figure 8 : L'effet rénal sur d'autres systèmes (O'Callaghan, 2016)

II -3- Néphrotoxicité des médicaments

Le rein est composé de néphrons, de vaisseaux, de nerfs et de tissu interstitiel. Les néphrons, qui comprennent les glomérules, les tubules rénaux, sont les principales unités structurelles et fonctionnelles du rein. Ils assurent la filtration, la réabsorption et la sécrétion, contribuant ainsi à l'homéostasie de l'organisme (Meng et al., 2025). La néphrotoxicité, ou l'altération de la fonction rénale induite par des médicaments anticancéreux, se caractérise par une perte de la capacité des reins à filtrer, à éliminer des métabolites nocifs et à les excréter. La toxicité rénale induite par les médicaments est un phénomène qui peut affecter différents types de cellules dans les reins, notamment les cellules glomérulaires, tubulaires, interstitielles ou vasculaires. Il a été démontré que la chimiothérapie conventionnelle et les agents ciblés peuvent induire diverses complications rénales, parmi lesquelles on peut citer la protéinurie, le déséquilibre électrolytique, la glomérulopathie, l'hypertension, la néphrite interstitielle et les lésions tubulo-interstitielles (C. Chen et al., 2022). Les résultats de plusieurs grandes études épidémiologiques récentes indiquent que les médicaments néphrotoxiques sont des facteurs contributifs dans 19 à 25 % des cas d'insuffisance rénale aiguë sévère chez les patients gravement malades (Pannu & Nadim, 2008).

L'insuffisance rénale aiguës, la taxinomie de cette pathologie se décline en trois grandes catégories, en fonction de l'étiologie : les étiologies pré rénales (fonctionnelles), les étiologies intra rénales (intrinsèques), les étiologies post rénales (extrinsèques) (Molitoris, 2022).

II -3-1-Mécanismes de la néphrotoxicité médicamenteuse

Les médicaments présentant une toxicité directe sur les reins peuvent causer des lésions rénales par divers mécanismes. Les médicaments excrétés par les reins peuvent avoir des effets toxiques directs sur les tubules rénaux, entraînant des lésions et la mort des cellules dans le cas d'une nécrose tubulaire aiguë, ou provoquant une inflammation de l'interstitium rénal dans le cadre d'une néphrite interstitielle aiguë (NIA). Parmi les autres types de lésions tubulaires néphrotoxiques, on peut citer la néphrose osmotique induite par des solutions hypertoniques et l'obstruction tubulaire due à la précipitation des médicaments (par exemple, la néphropathie cristalline). Les médicaments peuvent également avoir un impact néfaste sur les reins en agissant sur le flux sanguin intra rénal, ce qui peut augmenter le risque d'ischémie et de lésions rénales en cas de diminution du flux sanguin rénal (Pannu & Nadim, 2008).

II -3-1-1- Nécrose tubulaire aiguë

L'introduction de médicaments ou de métabolites dans l'espace luminal des tubules proximaux post-filtratif expose la surface apicale des cellules tubulaires à diverses néphrotoxines. Plusieurs médicaments sont absorbés par le rein via le système basolatéral. L'administration de médicaments potentiellement néphrotoxiques par les capillaires péri tubulaires, suivie de l'absorption dans les cellules tubulaires proximales, s'effectue par l'intermédiaire d'une famille de transporteurs actifs. Ce processus constitue la première étape de l'excrétion rénale. Il existe un éventail de transporteurs basolatéraux, dont deux transporteurs de médicaments d'importance majeure : les transporteurs d'anions organiques (OAT) pour les médicaments chargés négativement et les transporteurs de cations organiques (OCT) pour les médicaments chargés positivement (figure 9) (Perazella, 2019).

Par la suite, le médicament est sécrété dans la lumière tubulaire par des protéines de résistance multi drogue (MRP2 et MRP4), qui sont des transporteurs de la membrane apicale (Perazella & Rosner, 2022).

Lorsque l'efflux hors des cellules est atténué (mutations de perte de fonction dans les transporteurs d'efflux ou concurrence d'autres substances endogènes), ce qui favorise une augmentation des concentrations intracellulaires des médicaments. Les niveaux élevés de

médicament favorisent le dysfonctionnement mitochondrial (Perazella, 2019). ces médicaments ont pour effet de réduire la concentration en ADN mitochondrial. Cette réduction entraîne des changements structurels au niveau des mitochondries, (Perazella et Rosner 2022), et, en fin de compte, les lésions aiguës des cellules tubulaires dues à l'apoptose et à la nécrose (Perazella, 2019).

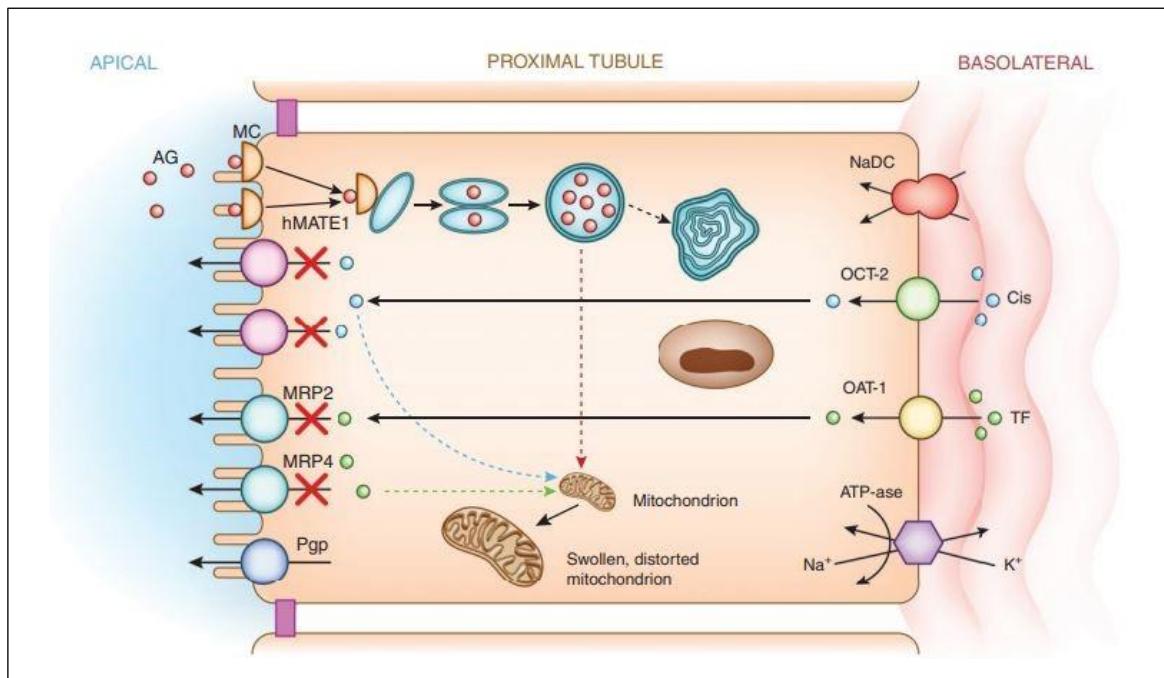


Figure 9 : Mécanismes des lésions tubulaires aiguës induites par les médicaments. Les aminoglycosides polycationiques filtrés (verts) sont attirés vers les membranes phospholipidiques anioniques où ils interagissent avec les récepteurs mégaline-cubilin à la surface apicale. Les aminoglycosides sont endocytés et pénètrent dans la cellule où ils sont transférés vers les lysosomes. Les lésions lysosomales avec formation de corps myéloïdes et les lésions mitochondrielles entraînent l'apoptose et/ou la nécrose des cellules tubulaires. Le cisplatine (rouge) est acheminé vers la membrane basolatérale, transporté dans la cellule via hOCT2, puis excrété par divers transporteurs apicaux, dont hMATE1, dans l'espace urinaire. L'accumulation intracellulaire de cisplatine due à une augmentation de l'absorption basolatérale ou à un efflux déficient par les transporteurs hMATE1 dans l'urine entraîne une lésion tubulaire via la production d'un certain nombre de substances (TNF- α , TGF- β et ROS) qui favorisent la toxicité mitochondriale. Le ténofovir (bleu) est acheminé vers la membrane basolatérale, transporté dans la cellule via hOAT1, puis excrété par divers transporteurs apicaux, notamment MRP2 et -4, dans l'espace urinaire. Lorsque le transport par MRP est inhibé ou dysfonctionnel, une accumulation intracellulaire du médicament et une lésion tubulaire se développent en raison de la toxicité mitochondriale et de la réduction de la synthèse de l'ADN mitochondrial. AG, aminoglycosides ; Cis, cisplatine ; hMATE1, transporteur protéique humain multidrogue et toxine ; hOCT2, transporteur cationique organique humain-2 ; K1, potassium ; MC, mégaline-cubilin ; MRP, transporteur protéique multidrogue ; Na1, sodium ; NaDC, transporteur dicarboxylate de sodium ; Pgp, transporteur de la glycoprotéine P ; ROS, espèces réactives de l'oxygène ; TF, ténofovir. (Perazella et Rosner, 2022)

II -3-1-2- Néphropathie cristalline

Les lésions rénales peuvent aussi être causées par la formation de cristaux et de petites concrétions dans les tubes du rein. Ces cristaux se forment lorsque des composés chimiques se déposent et deviennent insolubles. Cela dépend de la quantité de médicaments ou de leurs métabolites (les produits créés quand un médicament est décomposé dans le corps) dans l'urine, ainsi que de son acidité. Ce phénomène se produit surtout dans les tubules distaux et provoque des changements dans la partie du rein qui s'appelle l'interstitium rénal (Dobrek, 2023).

Divers médicaments et leurs métabolites excrétés par les reins sont insolubles dans l'urine, ce qui provoque une « néphropathie cristalline » (Figure 10). La diminution du débit urinaire, un dosage excessif de médicaments et des vitesses de perfusion rapides peuvent augmenter l'insolubilité des médicaments/métabolites dans la lumière tubulaire. Par exemple, une déplétion volumique efficace induit une hypo perfusion rénale et une néphrotoxicité accrue. Cette dernière est favorisée par le surdosage de médicaments et l'augmentation de la précipitation des cristaux de médicaments/métabolites dans les lumières tubulaires distales. Ces phénomènes se produisent dans un contexte de débit urinaire lent des médicaments insolubles. Par ailleurs, il a été constaté que les troubles métaboliques, qui modifient le pH urinaire en fonction du pKa du médicament, augmentent également le risque de dépôt de cristaux intra tubulaires avec certains médicaments. Un pH urinaire inférieur à 5,5 favorise l'accumulation de cristaux intra tubulaires, tandis qu'un pH supérieur à 6,0 peut augmenter la précipitation de ces mêmes cristaux dans les lumières tubulaires, affectant ainsi la biodisponibilité des médicaments. Le processus de précipitation des cristaux dans les lumières tubulaires distales entraîne une obstruction du flux tubulaire et le développement d'une réponse inflammatoire interstitielle environnante, conduisant à une lésion rénale (Perazella, 2019).

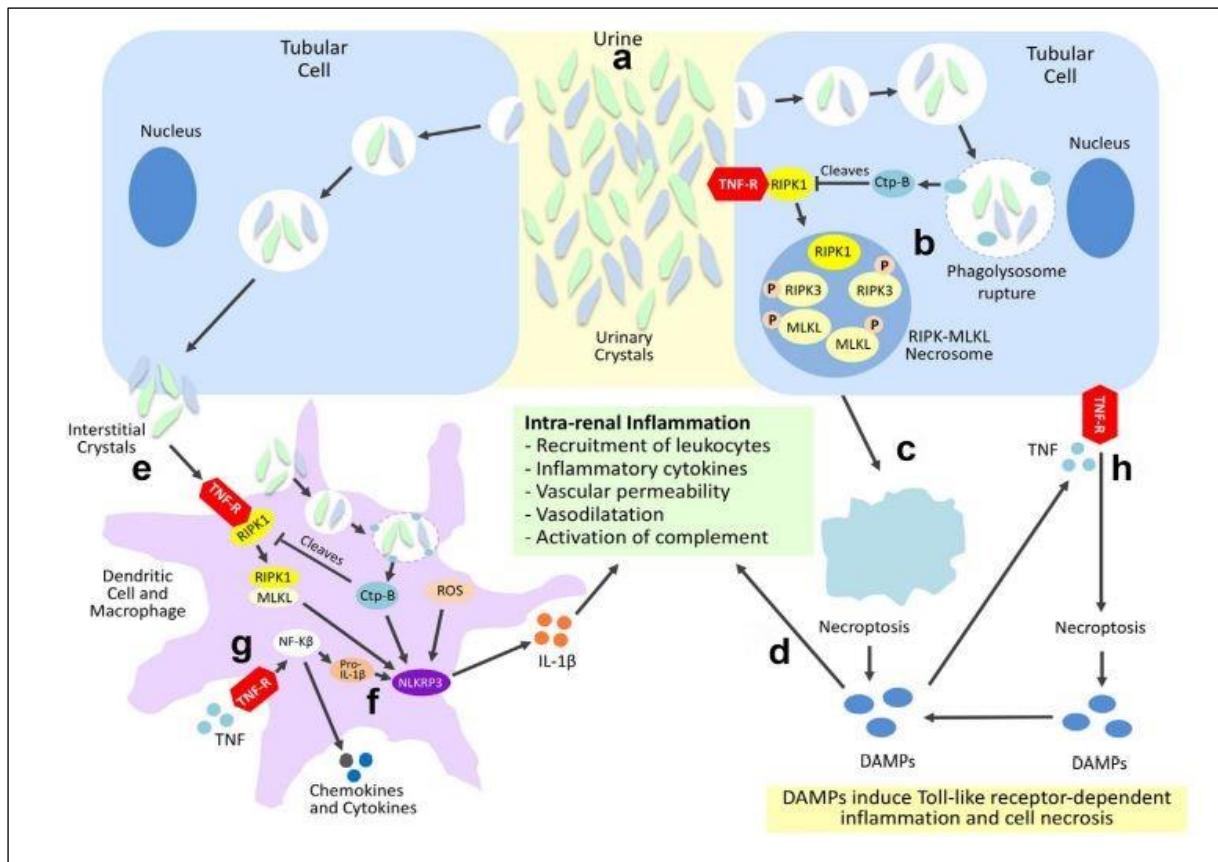


Figure 10 : Les mécanismes sous-jacents à la lésion des cellules tubulaires liée aux cristaux et à la nécroinflammation. Les cristaux qui se précipitent dans la lumière tubulaire (A) favorisent la nécroptose des cellules tubulaires en activant plusieurs voies. (B) L'absorption des cristaux dans les lysosomes et les phagolysosomes est associée à la libération de ctp-B lorsque les lysosomes sont déstabilisés. (C) La ctp-B clive et dégrade le régulateur négatif de la nécroptose RIPK1, ce qui déclenche la formation du complexe nécrosome RIPK3-MLKL, responsable de la nécroptose des cellules tubulaires. (D) L'inflammation est provoquée par les DAMP libérés par les cellules tubulaires nécrosées. (E) Les cellules dendritiques phagocytent les cristaux présents dans l'interstitium et (F) déclenchent un processus similaire de dégradation lysosomale avec libération de cat-B et formation de ROS, ce qui active l'inflammasome NLRP3 et la sécrétion d'IL-1 β par les cellules dendritiques. (G) Cela conduit à une inflammation dépendante de l'IL-1R dans le rein. La voie TNF-R active également le NF- κ B, activant davantage l'inflammasome. (H) Les cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF, déclenchent la nécrose des cellules tubulaires en activant le TNF-R, ce qui conduit à une libération supplémentaire de DAMP. Dans l'ensemble, ces voies favorisent une boucle d'autoamplification de la nécroinflammation induite par les cristaux. ctp-B, cathepsine-B ; DAMPs, motifs moléculaires associés aux dommages ; IL-1R, récepteur de l'interleukine-1 ; IL-1 β , interleukine-1 β ; ROS, espèces réactives de l'oxygène ; TNF, facteur de nécrose tumorale ; TNF-R, récepteur du facteur de nécrose tumorale (Perazella et Herlitz, 2021)

II -3-1-3- Néphrite tubulo-interstitielle aiguë (NTIA)

La NTIA d'origine médicamenteuse se développe généralement dans les dix jours suivant la prise du médicament. La réponse inflammatoire se caractérise par l'existence de trois phases distinctes :

Dans la première phase: le médicament ou son métabolite agit comme une haptène ou un pro haptène. Il s'agit d'une petite molécule qui stimule la production de molécules d'anticorps. Cependant, cette stimulation n'a lieu que lorsqu'elle est conjuguée à une molécule plus grande, appelée molécule porteuse (Figure 11). Les haptènes ou pro haptènes, quant à eux, interagissent avec les protéines rénales, conduisant à la formation de néoantigènes. Dans le contexte des reins, il est important de noter que trois types de cellules peuvent jouer un rôle spécifique dans la présentation des antigènes : les cellules dendritiques, les cellules épithéliales tubulaires et les macrophages interstitiels (Kwiatkowska et al., 2021).

Dans la deuxième phase : l'antigène est présenté aux cellules T. Dans le cadre de cette phase, les médicaments qui altèrent la régulation du système immunitaire, jouent un rôle crucial (Kwiatkowska et al., 2021).

Cette phase est suivie par la phase effectrice, qui correspond à l'infiltration interstitielle par les lymphocytes T, les macrophages, les éosinophiles et les mastocytes. Ces cellules induisent une infiltration inflammatoire au sein de l'interstitium (Kwiatkowska et al., 2021).

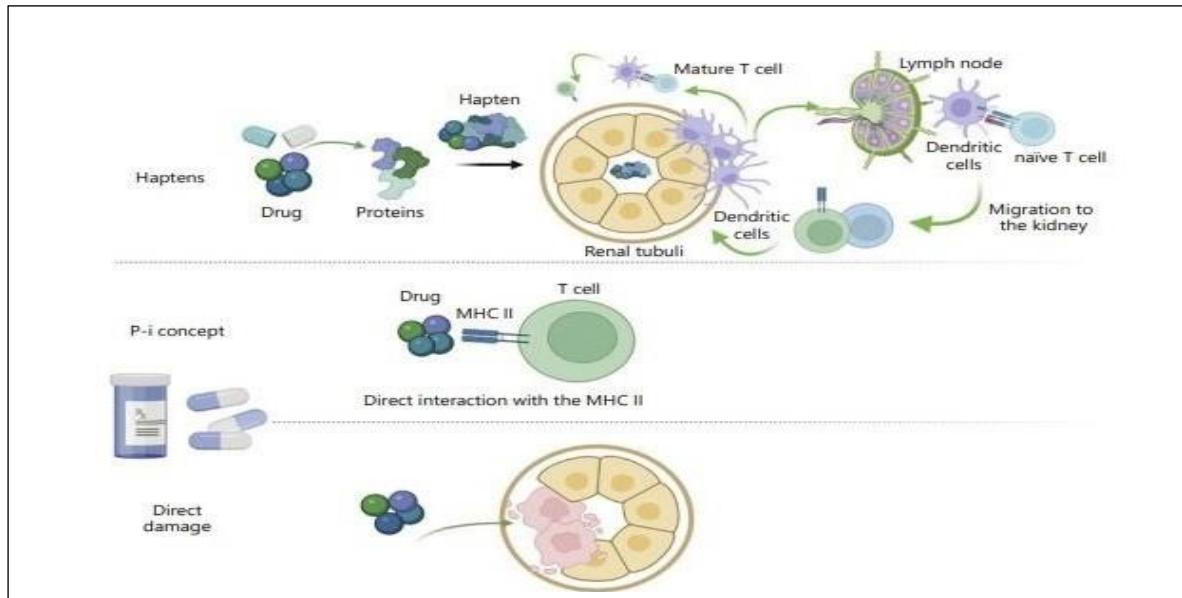


Figure 11 : Pathogenèse de la DI-AIN.

La pathogenèse de la DI-AIN repose sur différents mécanismes. Haptènes : les médicaments peuvent avoir la capacité de former des complexes protéiques appelés « haptènes » qui provoquent des lésions rénales après leur reconnaissance par les CD et une toxicité subséquente médieée par les lymphocytes T. Concept P-i : Certains médicaments présentant des caractéristiques structurelles particulières peuvent stimuler les cellules T en se liant de manière non covalente au complexe peptidique majeur d'histocompatibilité. Cette méthode présente certaines similitudes avec les stimulations par superantigènes. Lésions directes : les médicaments peuvent provoquer des lésions tubulaires directes. Anticorps : même si les lésions des lymphocytes T cytotoxiques cytotoxiques est le plus souvent impliquée dans la pathogenèse de la NIA, il existe quelques cas liés à des lésions médiées par des anticorps (Sanchez-Alamo et al., 2023)

II-3-2-Mécanismes cellulaires et moléculaires de la néphrotoxicité induite par le CP

II -3-2-1- Rôle du rein dans le métabolisme et l'élimination des agents antinéoplasiques

L'effet cytotoxique de la PC est attribuable à sa capacité à inhiber la division cellulaire en endommageant l'ADN des cellules cancéreuses en prolifération. Cependant, il est important de

noter que l'impact sur l'ADN des tissus sains, notamment ceux présentant un taux élevé d'acides gras oméga-3 et d'acides gras polyinsaturés, peut être significatif (D. N. Tripathi & Jena, 2009).

II -3-2-2- Mécanismes biochimiques de la néphrotoxicité

L'ROS peut provoquer une mort cellulaire apoptotique en activant des voies apoptotiques dépendantes et indépendantes de la mitochondrie. L'exposition au CP peut provoquer une nécrose tubulaire des cellules épithéliales rénales, une fibrose tubulaire, une congestion glomérulaire, la libération de facteurs inflammatoires et la médiation d'une réponse inflammatoire qui, en fin de compte, provoque un dysfonctionnement rénal (Ijaz et al. 2022).

II -3-2-2-1-Provoque le stress oxydatif

Des études antérieures ont établi que le stress oxydatif constitue l'un des principaux mécanismes de la néphrotoxicité induite par le CP. Le CP est un médicament alkylant cytotoxique qui requiert l'activation par le cytochrome P450 en métabolites actifs (El- Shabrawy et al., 2020). Lors de l'activation, le CP génère des métabolites alkylants actifs tels que le 4-hydroxycyclophosphamide, l'acroléine et la moutarde d'aldophosphamide (Ayza et al., 2022a). Ces derniers inhibent la division cellulaire en induisant des liaisons croisées dans l'ADN (El-Shabrawy et al., 2020). Ces métabolites provoquent la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) comprenant des anions superoxydes, des radicaux hydroxyles et du peroxyde (Ayza et al., 2022a).

La toxicité de la CP s'explique par l'interaction cumulative de deux mécanismes : d'une part, l'affaiblissement des niveaux de nucléophiles, tels que le GSH, par l'interaction avec l'acroléine, et d'autre part, la production de peroxynitrite par la réaction entre l' O_2^- et l'oxyde nitrique (Gunes et al., 2017).

Le CP interfère avec les réactions métaboliques normales impliquant le fer, un métal de transition redox-actif. Cela conduit à la génération de ROS (figure 12). Il a été constaté que la PC, l' O_2^- et leur sous-produit H_2O_2 peuvent déclencher la libération du fer de la ferritine, une protéine de stockage du fer à forte valeur ajoutée (Y. Chen et al., 2007).

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les espèces réactives de l'azote (RNS) sont générées *in vivo* à partir du dioxygène (O_2) et de l'oxyde nitrique (NO), respectivement. Ils engendrent également des dérivés (c'est-à-dire certains ROS et RNS) qui peuvent être nocifs, notamment le radical superoxyde ($\text{O}_2\cdot^-$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle ($\text{HO}\cdot$), les radicaux alcoxyle/peroxyle ($\text{RO}\cdot/\text{ROO}\cdot$) et le peroxynitrite (ONOO^-). Il apparaît que

O_2^- est principalement produit par la réduction incomplète de l' O_2 . En ce qui concerne la génération de NO, elle s'effectue à partir de la L-arginine via une réaction catalysée par l'oxyde nitrique synthase (Y. Chen et al., 2007).

4-1-1-2-Réduire l'activité antioxydant

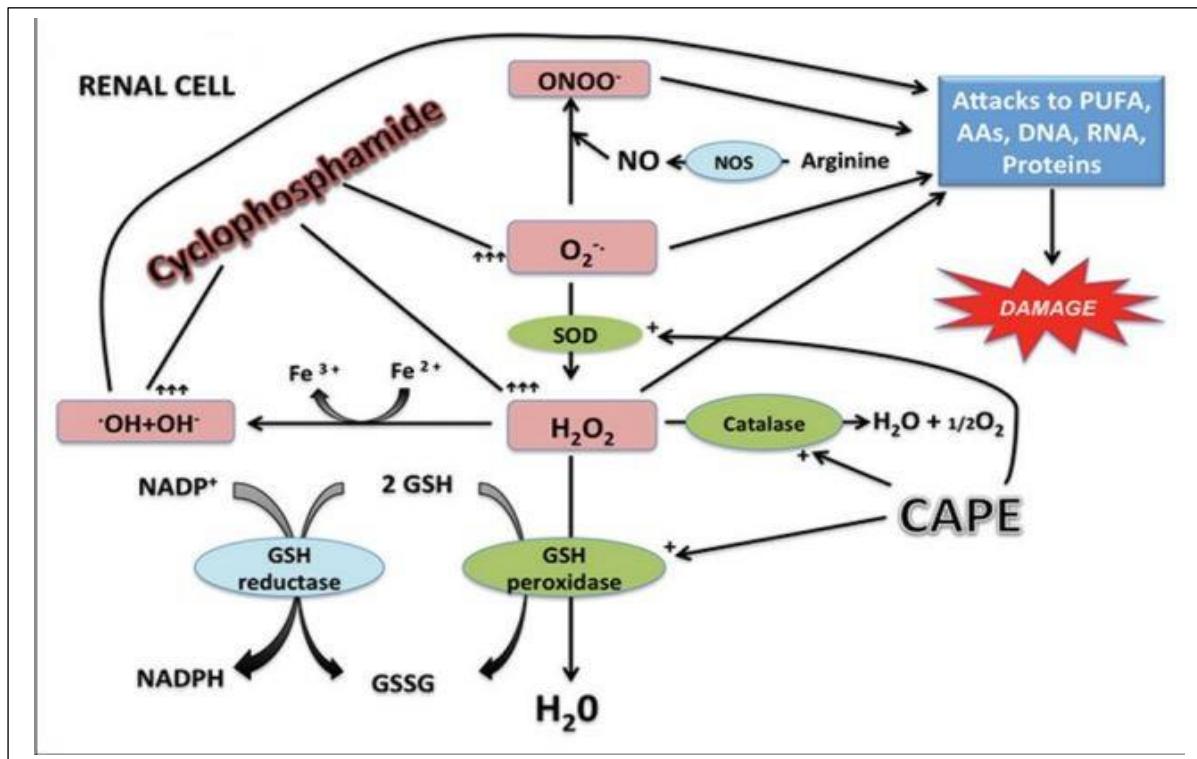


Figure 12 : Mécanisme du cyclophosphamide dans la synthèse des radicaux libres dans les cellules rénales conduisant à un stress oxydatif (Akyol et al., 2016)

Ces éléments ont pour conséquence directe d'engendrer un stress oxydatif et de limiter l'activité des enzymes antioxydants au sein de divers tissus. (Alkan et al., 2012). Le phosphoramide, en raison de sa capacité à se lier à l'ADN pour former un adduit qui rompt la liaison croisée des bases puriques de l'ADN. Cette interaction inhibe la synthèse des protéines et entraîne la destruction des cellules en division. En revanche (Elwakeel & Abdel Rahman, 2021), l'acroléine, quant à elle, altère le système de défense antioxydant des tissus. Cette dernière a été identifiée comme un agent stimulant la libération de radicaux libres d'oxygène réactifs nocifs. En outre, elle interagit avec les acides aminés des protéines, induisant des modifications structurelles et fonctionnelles des enzymes (El- Shabrawy et al., 2020).

Des études récentes ont mis en évidence le rôle crucial des espèces réactives de l'oxygène dans la néphrotoxicité induite par le CP(Gunes et al., 2017). Les recherches montrent une augmentation du stress oxydatif, avec une élévation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et une diminution des marqueurs des niveaux d'antioxydants, tels que le glutathion (GSH), la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT)(Figure 13), ainsi qu'une augmentation du niveau de malondialdéhyde (MDA) (Mohsin et al., 2024).

Le traitement par CP a engendré des augmentations de la MDA rénale, associées à une réduction du GSH (thiols libres). Le GSH est un produit qui présente des propriétés antioxydants non enzymatiques. Il agit directement avec les ROS par interaction du groupe -SH. Il peut également intervenir dans la réaction enzymatique de détoxification des ROS, en tant que cofacteur ou coenzyme. L'épuisement de la teneur en GSH peut être attribué à la conjugaison directe du CP et de ses métabolites avec des groupes -SH libres ou liés aux protéines et à des diminutions significatives de l'activité de la GSH-Px et de la CAT (Rehman et al., 2012).

La glutamine est un atout majeur pour le métabolisme du GSH. Selon une étude de Welbourne, lorsque le rein est soumis à un stress oxydant, la glutamine limite la vitesse de synthèse du GSH. Le GSH, un antioxydant puissant et ubiquitaire, joue également un rôle important dans le métabolisme de nombreux médicaments et substances endogènes (Abraham & Isaac, 2011).

IL intervient sur les radicaux superoxydes, les radicaux peroxydes et l'oxygène singulet, conduisant à la production de GSH oxydé et d'autres disulfures (Gunes et al., 2017).

L'acroléine, une fois diffusé à l'intérieur de la cellule, stimule la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et d'oxyde nitrique (NO). Ces processus biochimiques induisent la formation de peroxynitrite, qui altère les lipides, les protéines et l'ADN cellulaire. Il réagit directement avec le GSH et forme un adduit, le glutathionylpropionaldéhyde (GPA), qui induit la formation de radicaux d'oxygène. Les enzymes xanthine oxydase et aldéhyde déshydrogénase interagissent avec le GPA et produisent des radicaux O₂° et HO° (D. N. Tripathi & Jena, 2009).

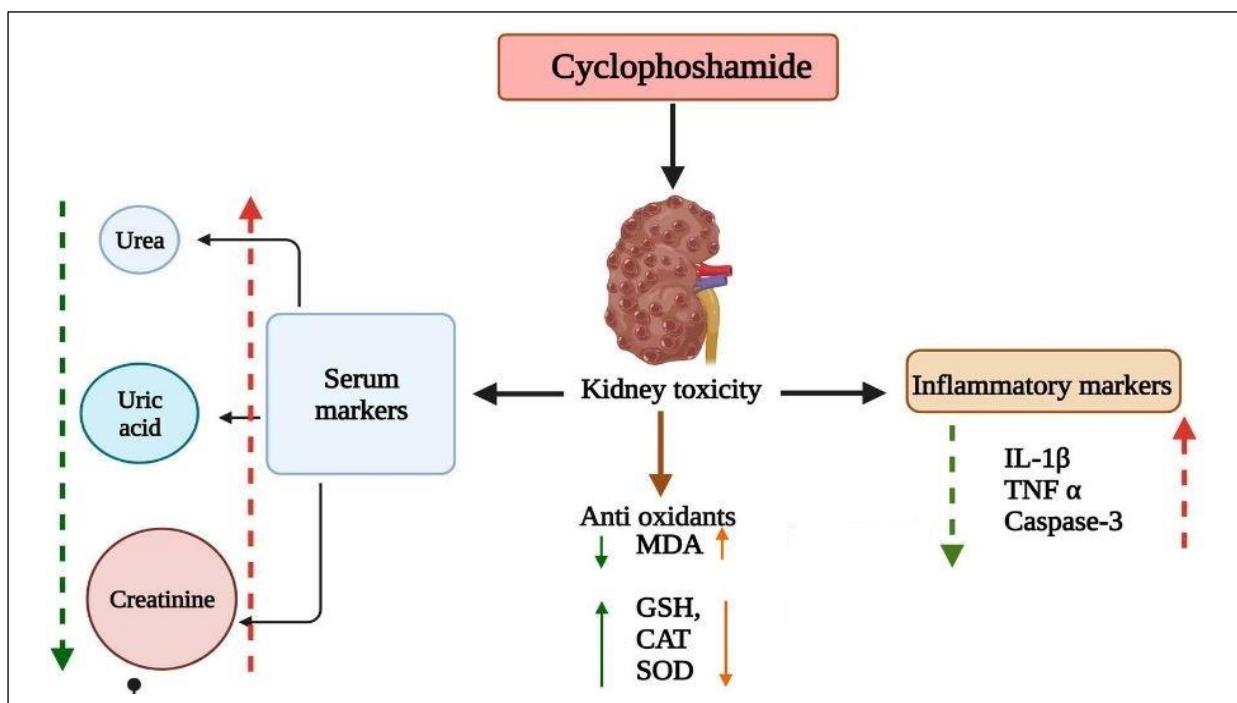


Figure 13 : Néphrotoxicité induite par la cyclophosphamide par le biais du stress oxydatif, des cytokines inflammatoires (Alshahrani et al., 2022)

II -3-2-2-1-1-L'insuffisance rénale aiguë liée au stress oxydatif

II -3-2-2-1-1-1-Dysfonctionnement mitochondrial lié à l'IRA

Les cellules tubulaires proximales et distales, qui résident dans le cortex, sont riches en mitochondries et produisent de l'ATP principalement à partir de la β -oxydation des acides gras dans la matrice mitochondriale. En plus d'être la centrale électrique de ces cellules, les mitochondries sont également au centre de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Y. Chen et al., 2007).

Les mitochondries sont l'une des sources d' $\text{O}_2^{\bullet-}$ dans les cellules vivantes. Dans le processus qui permet à la cellule de produire de l'énergie, les complexes I et III sont les premières étapes de la création d'un composé qui libère de l'oxygène. L' $\text{O}_2^{\bullet-}$ est formé quand des électrons sont transférés vers l'oxygène moléculaire. Cette réaction est catalysée par la famille NOX des NADPH oxydases, qui sont liées à la membrane. L'enzyme xanthine oxydase produit des ROS. Elle convertit la xanthine et l'hypoxanthine en acide urique et donne un électron à l'oxygène pour produire de l' $\text{O}_2^{\bullet-}$. Une fois créé, l' $\text{O}_2^{\bullet-}$ aide à la formation d'autres ROS dans la cellule (voir la

figure 1). La SOD convertit l' $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 , qui peut générer des OH^{\bullet} hautement réactifs en interagissant avec des ions de métaux de transition (tels que Fe et Cu). En plus des ROS, les cellules produisent aussi des RNS. Les principaux RNS sont les radicaux d'oxyde nitrique ($\bullet NO$), le peroxynitrite ($ONOO^-$) et le dioxyde d'azote ($\bullet NO_2$). Le radical NO est produit par trois sortes d'enzymes (Figure 14) (Kaushal et al., 2019).

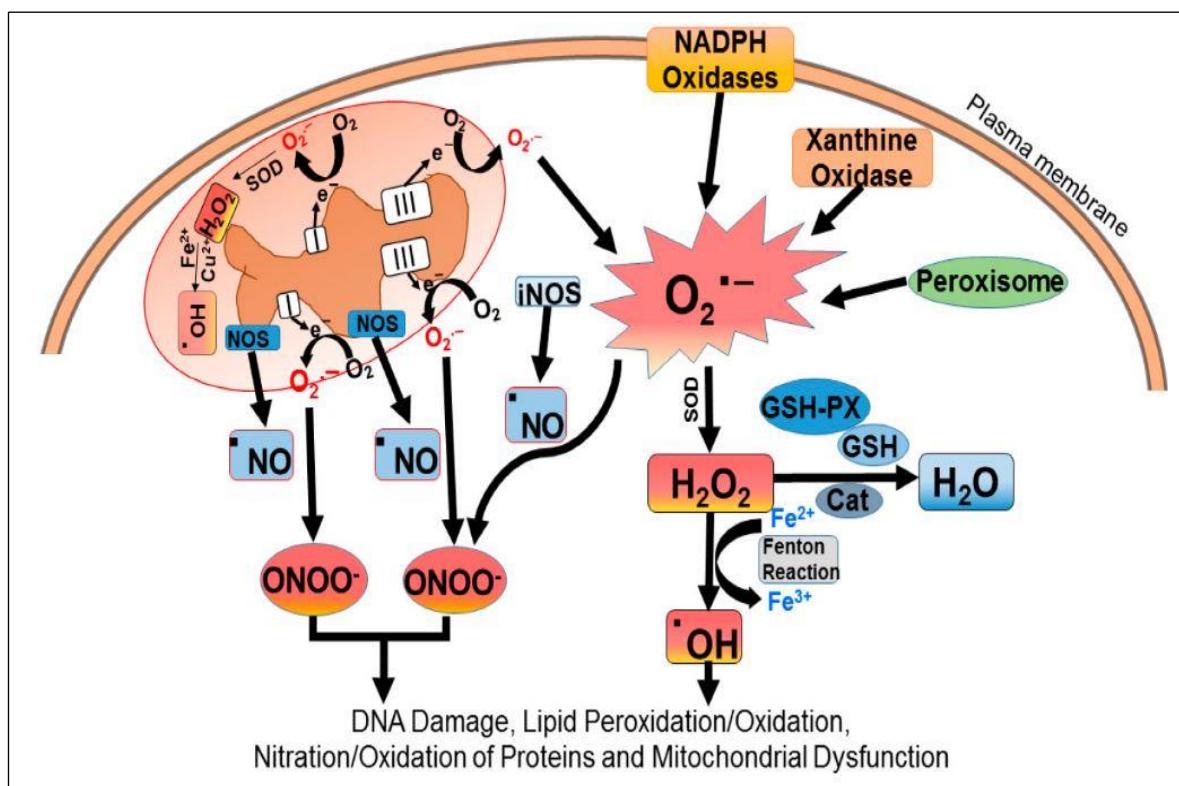


Figure 14 : Génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans la cellule. Les ERO sont générées par des réactions redox enzymatiques et non enzymatiques au cours du métabolisme cellulaire dans des conditions normales et pathologiques. Les mitochondries, la membrane plasmique, les peroxysomes et le cytosol génèrent d'abord l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), qui devient le radical libre précurseur de la génération d'autres molécules ERO. La superoxyde dismutase cytosolique CuZN (SOD) et la MnSOD mitochondriale, qui sont exprimées dans les reins, dismutent $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 , qui produit des radicaux hydroxyles hautement réactifs (OH^{\bullet}) par interaction avec des ions métalliques de transition réduits (tels que Fe et Cu) dans une réaction de Fenton. En plus des ROS, les cellules génèrent également des espèces réactives de l'azote (RNS). Les principales RNS comprennent l'oxyde nitrique ($\bullet NO$), le peroxynitrite ($ONOO^-$) et le dioxyde d'azote ($\bullet NO_2$). L'oxyde nitrique ($\bullet NO$) est produit par trois isoformes de l'oxyde nitrique synthase (NOS), qui sont toutes exprimées dans les reins. Les ROS produites causent des dommages oxydatifs, notamment des dommages à l'ADN, l'oxydation des lipides et des protéines, la nitration des protéines et le dysfonctionnement mitochondrial (Kaushal et al., 2019)

Ces dernières sont inoffensives à de faibles concentrations, mais deviennent toxiques pour les mitochondries et la cellule à des concentrations élevées. Le segment proximal du tubule, qui est le site de sécrétion et de réabsorption d'environ 80 % du filtrat glomérulaire, est celui qui en contient le plus (Gai et al., 2020).

Le rein a besoin de beaucoup d'énergie pour contrôler la composition des fluides du corps. La réabsorption dépend de l'ATP. La plupart de l'ATP vient des mitochondries. Si les mitochondries ne fonctionnent pas bien, cela aura un impact sur les reins. La surproduction de mtROS est liée à un problème dans les mitochondries, qui survient avant l'apparition de lésions rénales. Le problème des mitochondries fait que les reins sont abîmés, et que l'IRC s'aggrave. Cela arrive parce que les mitochondries fabriquent moins d'ADN, que les membranes sont abîmées et que la production d'énergie est réduite. Ces changements dans la fonction mitochondriale sont dus aux mtROS. Le radical hydroxyle peut endommager les grosses molécules au sein des mitochondries, y compris l'ADN. Si l'ADN mitochondrial est abîmé et ne peut pas être réparé, cela peut causer des problèmes au niveau des complexes I et III. Cela fait que l'organisme utilise plus d'oxygène pour produire de l'énergie. Les espèces réactives de l'oxygène dans les mitochondries peuvent changer la perméabilité de la membrane interne, ce qui permet aux petites molécules de passer à travers. En plus, quand il y a plus de dommages oxydatifs dans les mitochondries, des protéines peuvent sortir dans le cytoplasme, comme le cytochrome c. Quand il y a une altération mitochondriale, il y a beaucoup plus de mtROS. Cela amplifie le stress oxydatif dans les maladies rénales chroniques. Cela provoque un cercle vicieux : il y a trop de mtROS et de dérégulation mitochondriale. Cela déclenche l'apoptose cellulaire (Figure 15) (Tirichen et al., 2021).

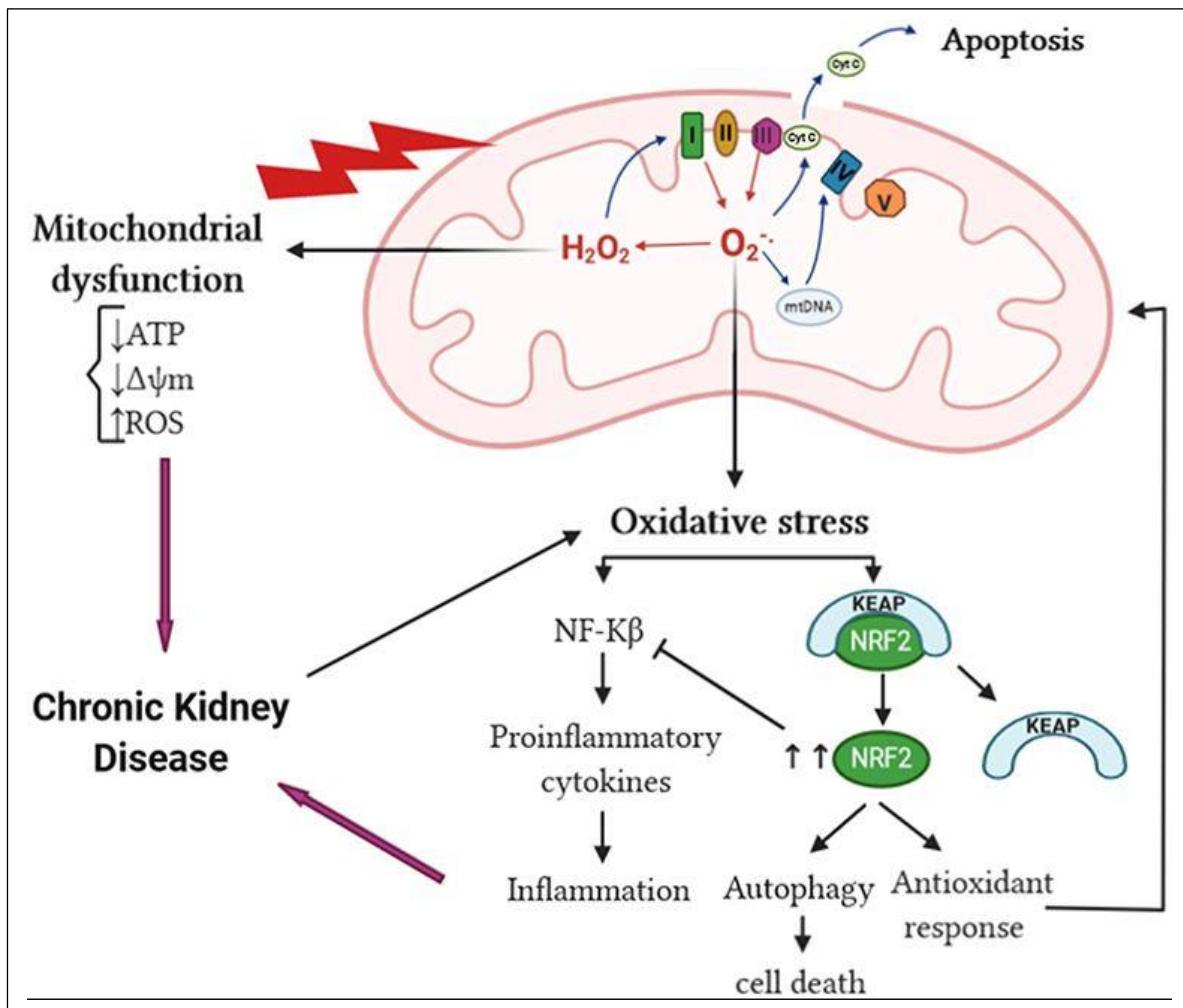


Figure 15: mtROS et OS dans l'IRC. L'augmentation des mtROS peut entraîner des dommages aux protéines, à l'ADN et à la membrane mitochondriale, en plus d'une altération de la capacité de production d'ATP et de l'oxydation des lipides, conduisant finalement à un dysfonctionnement mitochondrial. Les dommages mitochondriaux peuvent augmenter la tendance des mitochondries à libérer du cytochrome c dans le cytosol et ainsi activer le mécanisme d'apoptose de la cellule. La surproduction d'anions superoxydes peut entraîner un stress oxydatif, qui à son tour active le NF- κ B et renforce la réponse inflammatoire, entraînant la progression de l'IRC. L'interaction entre Keap1 et Nrf2 est modifiée par le stress oxydatif, qui libère l'activité de Nrf2 de l'répression exercée par Keap1. Dans le noyau, Nrf2 se dimérisé avec d'autres facteurs de transcription et favorise l'activation transcriptionnelle des enzymes antioxydantes et détoxifiantes, atténuant ainsi la production de cytokines pro-inflammatoires. cyt c, cytochrome c ; NF- κ B, facteur nucléaire kappa B ; Keap1, protéine associée à ECH de type Kelch1 ; Nrf2, facteur nucléaire de type 2 dérivé de l'érythroïde 2 ; mtROS, espèces réactives de l'oxygène mitochondrial ; OS, stress oxydatif ; CKD, maladie rénale chronique (Tirichen et al., 2021)

II -3-2-2-1-1-2-Voie inflammatoire et la régulation des facteurs de transcription

Dans le contexte, la voie de la kinase N-terminale c-Jun (JNK) est activée. Cette activation conduit à la phosphorylation de c-Jun, qui initie la transcription de gènes régissant la réponse inflammatoire, notamment le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α). L'activation de la voie JNK/c-Jun cellulaires, est associée à la fibrose rénale, résultant d'une stimulation conjointe de l'inflammation et de l'apoptose (Ayza et al., 2022b).

En outre, des altérations du niveau d'expression du facteur nucléaire lié à l'érythroïde 2 (Nrf2) et de la protéine associée. Par ailleurs, une augmentation de l'expression du facteur nucléaire kappa-chaîne lumineuse-enhancer des cellules B activées (NF- κ B) (Figure 16) (Mohsin et al., 2024).

NF- κ B est un facteur de transcription qui régule les réponses immunitaires et diverses maladies inflammatoires dans de nombreux tissus. La voie NF- κ B joue un rôle crucial dans l'activation des cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-1 β , la COX-2, l'IL-6 et l'iNOS. Dans les tissus induits par le CP, NF- κ B est activé en raison du stress oxydatif et augmente les lésions tissulaires en générant des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β , le TNF- α et l'IL-6. Par ailleurs, les enzymes iNOS et COX-2 sont deux agents inflammatoires majeurs qui régulent le processus inflammatoire en produisant respectivement de l'oxyde nitrique et de la prostaglandine E2. La surexpression de l'oxyde nitrique a pour conséquence de rendre la cellule sensible aux espèces réactives de l'oxygène. Ce phénomène est dû à la réduction du niveau intracellulaire de GSH (Temel et al., 2020).

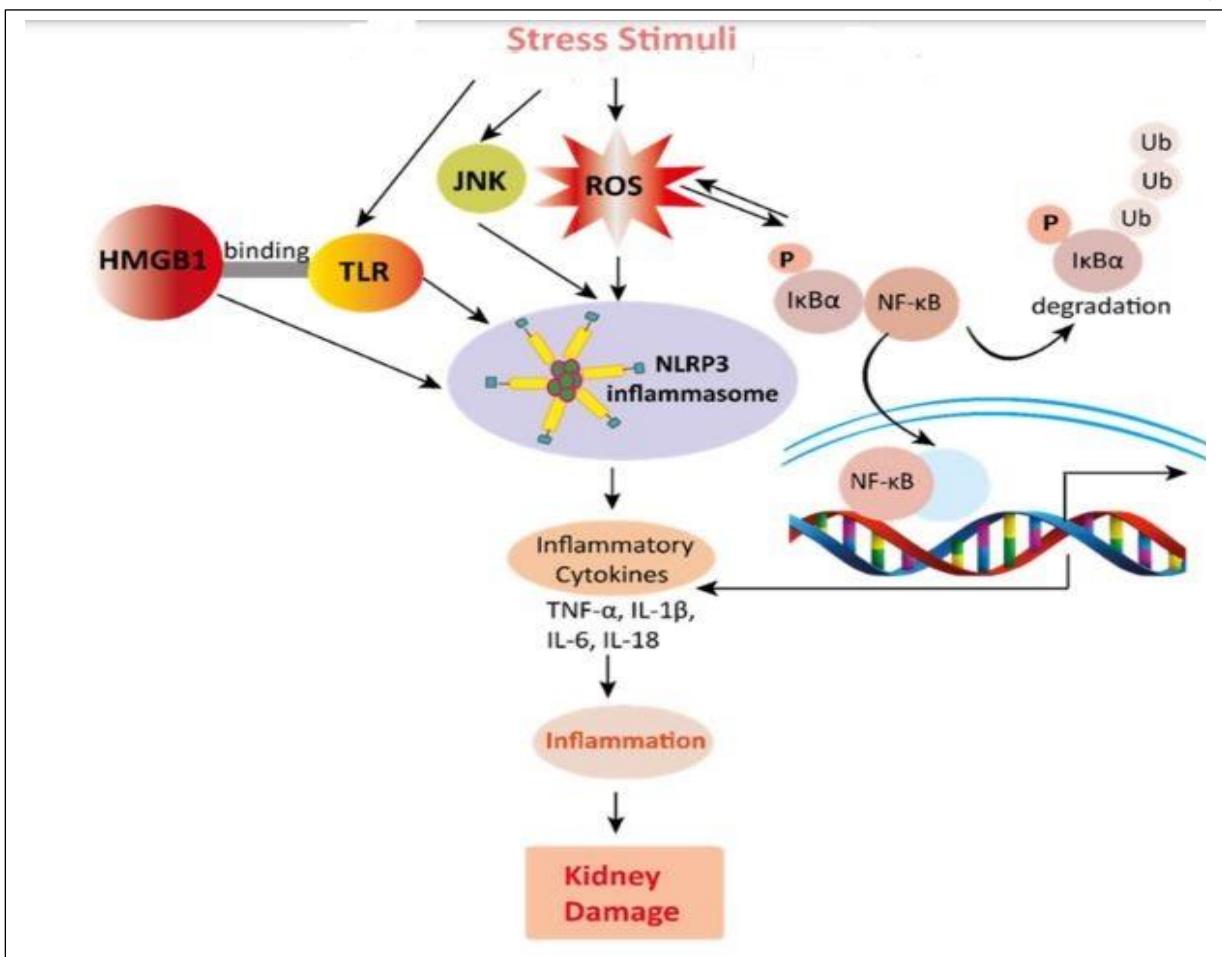


Figure 16 : Mécanismes impliqués dans la pathogenèse de l'inflammation rénale.

L'accumulation de ROS induit une inflammation par l'activation de l'inflammasome NLRP3. Le NLRP3 implique un complexe multiprotéique connu sous le nom d'inflammasome, qui déclenche la voie de signalisation NF-κB. La protéine HMGB1 est un composé déclenchant une inflammation tardive qui active la voie de signalisation NF-κB en se liant aux récepteurs Toll-like. La voie NF-κB favorise davantage une tempête inflammatoire en libérant des cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-18), ce qui entraîne finalement des lésions rénales. High-mobility group box 1 ; HMGB1, D (+) galactosamine ; DGal, ostéopontine ; OPN, streptozotocine ; STZ, espèces réactives de l'oxygène ; ROS, IL-6 ; interleukine-6, IL-1 β ; interleukine 1 β , TNF α ; facteur de nécrose tumorale- α (Akter et al., 2022)

II -3-2-2-1-1-3-Activation immunitaire et de signalisation apoptotique

Des études récentes ont mis en évidence le rôle crucial de l'apoptose dans la néphrotoxicité induite par le CP. Le CP provoque un déséquilibre au niveau des protéines associées à l'apoptose, comme la protéine pro-apoptotique Bax et la protéine anti-apoptotique Bcl-2. Dans le cadre du processus d'apoptose, le point de départ de la voie fondamentale est marqué par la libération du

cytochrome c par les mitochondries. Cette étape est régulée par la protéine pro-apoptotique Bax et la protéine anti-apoptotique Bcl-2, qui jouent un rôle clé dans la gestion de cette procédure. Des études antérieures ont démontré que la production excessive de Bax conduisait à l'apoptose cellulaire (Temel et al., 2020).

Les dommages pro-inflammatoires augmentent la production de cytokines dans les tissus rénaux, un événement immunologique bien accepté dans le cadre de la néphrotoxicité. Les principaux médiateurs majeurs identifiés sont l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF- α . En plus des ROS et des médiateurs pro-inflammatoires, la CP induit la mort cellulaire apoptotique dans les tubules rénaux par l'activation de voies dépendant des caspases, notamment (P. Tripathi & Alshahrani, 2021).

L'apoptose, processus physiologique essentiel au maintien de l'homéostasie tissulaire, joue un rôle déterminant dans l'élimination des cellules endommagées ou infectées. Les caspases, enzymes sensibles à l'état d'oxydoréduction cellulaire, sont des acteurs clés de cette processivité cellulaire. La protéine codée par le gène PC augmente l'expression de la casse-3. Le stress oxydatif induit par la PC entraîne l'apoptose dans les tissus rénaux (Ozcan Metin et al., 2023).

Le CP a pour conséquence directe un déséquilibre des protéines associées à l'apoptose, telles que la protéine pro apoptotique Bax et la protéine anti-apoptotique Bcl-2. Dans le cadre du processus apoptosis (Temel et al., 2020), l'ensemble du processus est classé en voies intrinsèques et extrinsèques. Une classe de protéines appartenant à la famille Bcl-2 régule l'ensemble des facteurs impliqués dans cette voie. Cette famille de protéines est classée en protéines pro apoptotiques (Bax) et anti-apoptotiques (Bcl-2). Bax déclenche la libération du cytochrome c dans le cytosol via la perméabilité inter membranaire mitochondriale, tandis que Bcl2 inhibe la libération du cytochrome C. Ainsi, Bcl-2 joue un rôle essentiel dans le processus d'apoptose en régulant l'induction et la prévention de la libération du cytochrome C. La réduction de Bcl-2 et l'augmentation de Bax altèrent négativement la perméabilité inter membranaire mitochondriale, entraînant une augmentation de la libération de cytochrome C dans le cytosol (Figure 17). Cette augmentation du cytochrome C dans le cytosol active finalement l'expression de la caspase-3. La caspase-3 est une protéase à cystéine hautement activée de la famille des caspases, qui joue un rôle essentiel dans les deux voies apoptotiques, y compris les voies extrinsèques ou intrinsèques (Ijaz et al., 2022).

Les lésions rénales induites par la CP comprennent l'apoptose et la nécrose des cellules épithéliales tubulaires, l'inflammation, la fibrose et la diminution de l'activité des enzymes lysosomales. Ces effets sont dus à ses métabolites principaux, la moutarde phosphoramido et l'acroléine, qui induisent une production accrue de radicaux libres. Notamment le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) et les interleukines (IL), telles que (IL-1 β et IL-6). Ces métabolites, cette causent aussi un dysfonctionnement mitochondrial et du réticulum endoplasmique, ainsi qu'une rupture de la membrane cellulaire, conduisant à l'apoptose (Ozcan Metin et al., 2023).

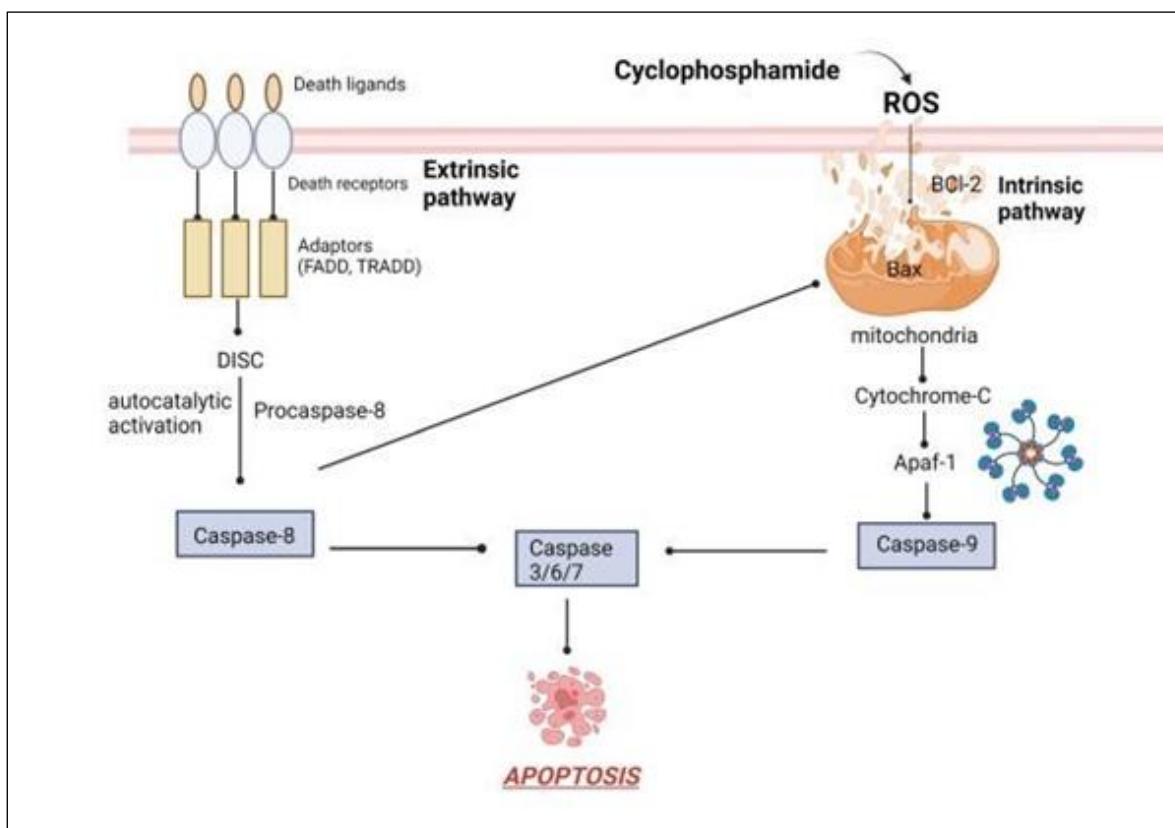


Figure 17 : Activation de la voie apoptotique dans la néphrotoxicité du cyclophosphamide.
FADD : FADD : Fas-associated death domain protein, **TRADD :** Tumor necrosis factor receptor type 1-associated DEATH domain protein, **DISC :** The death-inducing signalling complex, **BID :** The BH3 interacting-domain death agonist, **BAX :** Bcl-2-associated X protein, **BCL-2 :** B-cell lymphoma 2, **Apaf-1 :** Apoptotic protease activating factor-1 (Ibrahim et al., 2024)

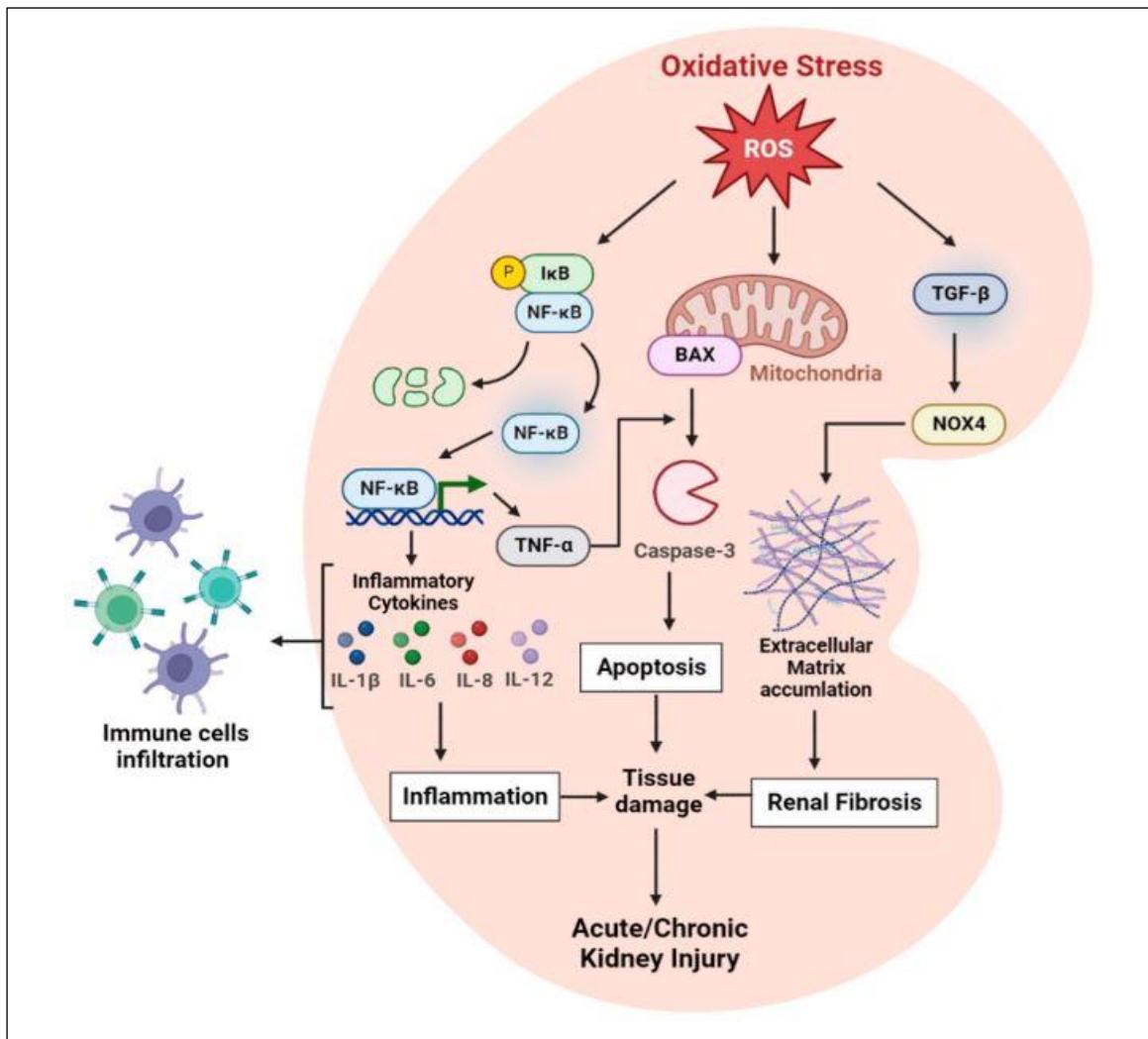


Figure 18 : Stress oxydatif et inflammation dans les reins. Le stress oxydatif dans les reins est induit par des espèces réactives de l'oxygène (ERO) provenant de sources mitochondrielles, cytoplasmiques et extracellulaires. Sous l'effet du stress ERO, la voie NF-κB est activée, induisant une réponse pro-inflammatoire avec sécrétion de cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-8 et IL-12). Les cytokines entraînent une infiltration leucocytaire, provoquant une poussée supplémentaire de stress oxydatif. Les ROS augmentent également le rapport Bax/Bcl2 dans la membrane mitochondriale, ce qui active la caspase-3 et entraîne l'apoptose. De plus, l'expression accrue du TNF- α par la voie NF-κB induit l'apoptose en formant un complexe de signalisation induisant la mort qui conduit au clivage de la caspase-3. Une augmentation du niveau de ROS active la voie TGF- β , ce qui entraîne une accumulation de la matrice extracellulaire, provoquant une fibrose rénale, évoluant vers des lésions du tissu rénal et des lésions rénales aiguës/chroniques.

III- La famille des Asteraceae

Les astéracées, ou plus communément appelées « la famille des tournesols » ou « la famille des marguerites », constituent l'une des trois familles d'angiospermes les plus diversifiées. Ensemble, ces trois familles représentent plus de 25 % de la totalité des espèces d'angiospermes existantes à l'heure actuelle. Cette famille, dont on évalue le nombre d'espèces entre 25 000 et 35 000, correspond à 10 % du total des espèces de plantes à fleurs. Les membres de la famille des Astéracées, plus communément appelés « tournesols », sont présents sur tous les continents, y compris l'Antarctique. Ils occupent une grande diversité d'habitats à travers le monde, avec une concentration significative d'espèces dans les déserts, les prairies, les steppes, les régions montagneuses et les zones au climat de type (Mandel et al., 2019).

Avec un portefeuille de 1 600 genres et plus de 23 000 espèces à l'échelle mondiale, le secteur des Astéracées se positionne comme l'une des familles les plus diversifiées du règne végétal. Dans la région du Maghreb, cette famille de plantes se compose de 512 genres et 1 898 taxons, dont environ la moitié est représentée par le Maroc et l'Algérie. Selon les derniers rapports, cette famille en Algérie se compose de 136 genres et 557 taxons, dont 53 sont endémiques. Les astéracées sont en tête avec plus de 117 taxons, démontrant une forte présence et une diversité significative dans cette catégorie (Gordo et al., 2021).

III-1-Le genre *Centaurea*

Les plantes du genre *Centaurea* (Asteraceae) offrent un potentiel intéressant en raison de la diversité de leurs composés chimiques et de leur activité biologique. Le genre *Centaurea* compte plus de 700 espèces, dont 45 sont présentes en Algérie (Medjroubi et al., 2003). Ces plantes sont généralement herbacées, annuelles, bisannuelles ou vivaces, avec des tiges érigées souvent ramifiées. Les feuilles sont alternes et varient en forme, allant de linéaires à pinnatilobées. Les capitules, solitaires ou groupés, sont composés de fleurons tubulés, avec des bractées involucrales présentant souvent des appendices caractéristiques tels que des franges ou des épines, utiles pour l'identification des espèces (Hellwig, 2004).

De nombreuses espèces de *Centaurea* sont utilisées pour le traitement de diverses pathologies, notamment la toux, le renforcement du foie, l'ulcère gastroduodénal, ainsi que la malaria. Les propriétés médicinales de cette plante sont multiples et couvrent un large éventail d'affections,

allant des cas de rhume et de maux d'estomac aux douleurs abdominales, en passant par les infections herpétiques autour des lèvres, la toux et les affections ophtalmiques. En outre, elle est également employée dans le cadre de traitements antirhumatismaux, astringents, hypoglycémiques, hypotensifs, digestifs, toniques, expectorants, stomachiques, entre autres. Les propriétés pharmacologiques du produit comprennent des effets antipyrétiques, anti diarrhéiques, stomachiques, antipyrétiques et anti-diarrhéiques, ainsi qu'antipelliculaires. En outre, il est efficace dans le traitement des hémorroïdes et des abcès. De plus, le produit agit comme un diurétique, un anti-inflammatoire, un antimicrobien, un antibactérien, un cholérétique, un cytotoxique, un agent immunologique et un antidiabétique (Baatouche et al., 2019).

III 1-1-Les espaces de *centaurea* (*centaurea* sp)

III-1-1-1- Centaurea Cyanus

Le groupe *Cyanus* a été mentionné pour la première fois par Miller en 1754, qui l'a classé dans la catégorie genre, *Cyanus Mill*. Comme l'ont souligné plusieurs auteurs, De Candolle (1838) a été le premier à considérer cette plante comme une section au sein du genre *Centaurea*. Il est communément admis, dans le cadre de la taxinomie des plantes, qu'à l'heure actuelle, il est considéré comme un sous-genre ou comme un groupe informel au sein du genre *Centaurea* (Boršić et al., 2011).

Le groupe se distingue par des caractéristiques morphologiques bien définies, notamment la couleur des fleurons, qui a été la première à être observée. Les anthères sont de couleur bleue ou bleu violacé (Figure 19), avec quelques exceptions rares de taxons à fleurs crème ou rose pâle. Cette caractéristique est des plus inhabituelles pour la sous-tribu des *Centaureinae*. À savoir la présence d'une barbe marquée sur les bords de l'aréole d'insertion. Cependant, il convient de noter que la structure des phyllaires constitue un élément d'identification majeur et unique. Des études en botanique démontrent que les spécimens en question sont pourvus d'appendices pectinés-ciliés dépourvus d'épines. Ces appendices s'étendent presque jusqu'à la base du phyllaire (Boršić et al., 2011).



Figure 19: Plante *Centaurea cyanus* (Pinke et al., 2022)

Les autres caractéristiques de l'espèce incluent la présence de deux types de pollen et d'appendices pectinés-ciliés, non armés et décurrents des phyllaires. L'espèce en question, objet de cette étude, regroupe environ quarante espèces. Celles-ci sont également concentrées dans la région méditerranéenne, s'étendant jusqu'en Asie centrale et au Caucase (Hilpold et al., 2014). Outre ses caractéristiques morphologiques, le groupe *Cyanus* se distingue par la présence de deux types de pollen. Il a été établi que deux des huit types de pollen de *Centaurea* s.l. se classent dans deux sous-groupes distincts de *Cyanus*. Une classification taxinomique établit que les plantes annuelles forment un sous-groupe avec le type de pollen *Cyanus*, tandis que les plantes vivaces forment l'autre sous-groupe avec le type de pollen *Montana* (ŞiRiN et al., 2019).

III-1-1-2-*Centaurea Lopholoma*

Cette espèce, qui comprend environ 100 espèces, est présente dans l'ensemble de la région méditerranéenne. L'analyse de la distribution géographique de l'espèce *Centaurea scabiosa* L. Les capitules de *Lopholoma* se caractérisent par leur taille supérieure à celle des autres espèces, et les appendices des bractées se terminent fréquemment par une longue épine. Par ailleurs, il convient

de noter que le sujet se distingue par un type de pollen singulier, désigné sous le taxon *Centaurea scabiosa*, qui confère à ce groupe une identité morphologique distincte (Hilpold et al., 2014).

Dans le cadre de notre étude, nous avons identifié la présence de nombreux constituants bioactifs dans les plantes étudiées. Ces composés comprennent des terpènes, des composés phénoliques, des coumarines et des lignanes (Zengin et al., 2016). Nos analyses ont révélé que les groupes les plus importants de composés actifs trouvés dans les espèces de *Centaurea* sont les polyphénols, y compris les flavonoïdes et les lignanes, ainsi que les lactones sesquiterpéniques (Salachna et al., 2021).

III-1-1-3-Centaurea africana

La plante *Centaurea africana* fait l'objet de cultures depuis plus de 350 ans. Cependant, il est rare de la trouver sur le marché, que ce soit sous forme de graines ou de plants. Les capitules de *C. africana* sont considérés comme hétérogènes, avec une forme discoïde, et non rayonnante, et comportent quelques fleurs marginales de longueur égale, certainement peu voyantes, des lobes de corolle et contenant généralement des staminodes (Figure 20). Une utilisation potentielle d'un flavonoïde extrait des parties fleuries de la plante, l'algérianine, pour lutter contre la leucémie myéloïde humaine. Cette découverte pourrait représenter une avancée significative dans notre combat contre cette maladie (Hind, 2019).



Figure 20 : Plante *Centaurea africana* (Hind, 2019)

III-1-1-4-Centaurea parviflora Desf

C. parviflora, appartenant à la famille des Asteraceae, est une plante médicinale algérienne utilisée en médecine traditionnelle pour traiter différentes pathologies liées à l'hyperglycémie et aux troubles inflammatoires, ainsi que dans l'alimentation. Contient des composés phénoliques et possède une activité antioxydant et antimicrobienne. Il présente également un profil photochimique intéressant pour les extraits de *C. parviflora*. C'est une plante de 40 à 60 cm de haut qui pousse en buissons denses et complexes. L'appendice des bractées n'a pas de partie blanchâtre ou a une partie peu marquée avec 8 à 12 lignes latérales. Les feuilles les plus hautes ne poussent pas sur la tige. La plante est différente des autres centaurées parce que son capitule (5 mm de large, 15 mm de long) pousse seul. Les appendices ont une épine médiane fortement recouverte. Les fleurs sont pourpres avec des akènes noirs, ventrus et pubescents avec quatre stries marquées. Le *C. parviflora* est originaire d'Algérie et de Tunisie, deux pays où il est parfaitement adapté à son environnement. En Algérie, cette espèce végétale est peu commune, mais présente dans différents environnements biogéographiques, de l'ouest à l'est du pays et des zones côtières aux hauts plateaux (Hechaichi et al., 2023).

Au cours de l'histoire, *Centaurea parviflora* a été utilisée dans le cadre de la médecine traditionnelle en raison de ses propriétés thérapeutiques supposées. Il est plusieurs composants botaniques pertinents pour le traitement des maladies gastriques, des infections et des inflammations. Le potentiel thérapeutique de *Centaurea parviflora* est attribué à sa composition photochimique complète. Se distingue par sa richesse en composés bioactifs, incluant des lactones sesquiterpéniques, des flavonoïdes, des acides phénoliques et des huiles essentielles. Les composés en question possèdent des propriétés génétiques à large spectre, incluant des propriétés anticancéreuses, antimicrobiennes et antibactériennes, qui sont largement reconnues (Mittal, s. d.).

III-1-1-5-Centaurea nigra

La centaurée noire (*Centaurea nigra*), également appelée « petite centaurée » ou « boutons d'Espagne », est une plante vivace ligneuse érigée, appartenant à la famille des Astéracées. Elle mesure entre 20 et 100 cm de haut et est originaire du Royaume-Uni et d'autres pays d'Europe occidentale (Kumarasamy et al., 2003).



Figure 21: Plante *Centaurea nigra* (Basbag et al., 2014)

III-1-1-6-Centaurea benedicta

C.benedicta (Le chardon béni) est une plante herbacée annuelle appartenant à la famille des Asteraceae (Figure 22). Elle est originaire de la région méditerranéenne et de l'Asie occidentale. Les parties végétales de la *Centaurea benedicta*, à savoir les sommités, les feuilles et les tiges, sont utilisées pour une large gamme d'usages thérapeutiques. Actuellement, *C.benedicta* est couramment préparée et consommée sous forme d'infusion pour stimuler l'appétit et traiter la dyspepsie. Le chardon béni est un produit naturel aux multiples bienfaits thérapeutiques. Ses propriétés diurétiques, galactagogues, antioxydants et cicatrisantes font de lui un allié précieux pour le traitement de diverses pathologies. On utilisait les tiges, les feuilles et les fleurs pour préparer des boissons amères. On les buvait pour traiter les plaies de la peste et pour soulager les symptômes du paludisme (Tiwana et al., 2021).

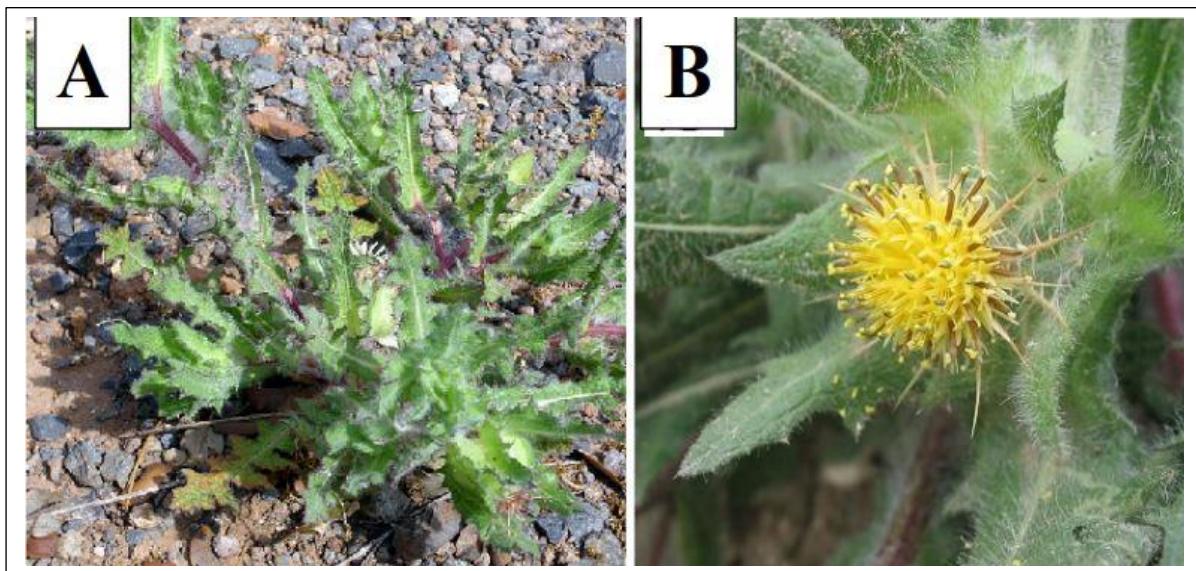


Figure 22: *C. benedicta* (a) plante entière et (b) examen plus détaillé des feuilles (Tiwana et al., 2021a)

L'infusion de *C. benedictus* est un tonique général, elle aide à mieux respirer et à digérer. On utilise traditionnellement *C. benedictus* pour soigner les problèmes d'estomac. Il stimule la production de suc gastrique et de salive, réduit les ballonnements et les indigestions, améliore l'appétit et favorise la production et la sécrétion de bile par le foie. Les produits à base de *C. benedictus* sont utilisés depuis longtemps pour la perte temporaire d'appétit et pour soulager les problèmes d'estomac et les petits troubles du système digestif. Il aide à augmenter la production de lait chez les femmes et soulage les douleurs des règles (Ziętal et al., 2024). Des études ont montré ce qu'il fait ont des propriétés antibiotiques, anti-inflammatoires et anticancéreuses (Tiwana et al., 2021).

Des études ont démontré que les extraits et les huiles essentielles obtenus à partir de certaines espèces de *Centaurea* présentent des propriétés anticancéreuses, antidiabétiques, anti-inflammatoires, analgésiques, hépato protectrices, antioxydants et antimicrobiennes. (Salachna et al., 2021).

Il a été constaté la présence de nombreux constituants bioactifs dans les plantes étudiées, ces composés comprennent des terpènes, des composés phénoliques, des coumarines et des lignanes (Zengin et al., 2016). les groupes les plus importants de composés actifs trouvés dans les espèces de *Centaurea* sont les polyphénols (Salachna et al., 2021). Dans le cadre de notre activité,

nous nous concentrons sur les composés phénoliques, un large groupe de métabolites secondaires présents dans les plantes. inclut des phénols simples, des acides phénoliques, des flavonoïdes, des coumarines et des tanins, entre autres (Azzouzi et al., 2016).

III -1-2-Les activités biologiques

L'activité biologique des extraits et des huiles essentielles de différents types de *Centaurea* sp. a été analysée et se révèle posséder des propriétés anti tumorales, antidiabétiques, anti-inflammatoires, analgésiques, antidépressives, antispasmodiques, antirhumatismales, antioxydants, antimicrobiennes et enzymatiques (Sharonova et al., 2021).

La composition chimique des plantes de *Centaurea* sp. Présente des variations notables en fonction de l'espèce et de son aire de répartition. Parmi les composants biologiquement actifs les plus caractéristiques, nous pouvons citer les lactones sesquiterpéniques, les flavonoïdes, les lignanes, les alcaloïdes, les composés phénoliques, les stéroïdes et les terpènes (Sharonova et al., 2021). Ces espèces sont largement utilisées comme expectorant, antidiabétique, antipyrrétique et anti diarrhéique. Les espèces de *Centaurea* se distinguent par leurs multiples activités biologiques, notamment leurs propriétés antimicrobiennes, antifongiques, anti-inflammatoires, antiulcéreuses, antioxydants, antispasmodiques, anti protozoaires, cytotoxiques et anticancéreuses (Boğa et al., 2016).

III -1-2-1-Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont font partie d'une famille de métabolites secondaires végétaux à structure polyphénolique, abondamment présents dans les fruits, les légumes et certaines boissons. Ils présentent des bénéfices biochimiques et antioxydants notables, associés à diverses pathologies telles que le cancer, la maladie d'Alzheimer, l'athérosclérose, etc. Les flavonoïdes offrent un éventail d'effets bénéfiques pour la santé et sont un composant essentiel dans diverses applications nutraceutiques, pharmaceutiques, médicinales et cosmétiques. Ces effets sont attribuables à leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimutagènes et anti cancérogènes, ainsi qu'à leur capacité à moduler les fonctions enzymatiques cellulaires clés. Ils sont également reconnus pour leur efficacité en tant qu'inhibiteurs de plusieurs enzymes, ce qui en fait des acteurs clés dans le secteur pharmaceutique (Panche et al., 2016).

Les flavones et les flavonols sont des composés flavonoïdiques courants. On y trouve notamment la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'apigénine. Les flavanones (naringénine) et les

flavanols (catéchine) sont des flavonoïdes moins courants, car ils se trouvent dans des endroits où peu de plantes poussent (Ghedira, 2005).

III -1-2-1-1-Activités biologiques des flavonoïdes

III -1-2-1-1-1-Activité Antioxydant

Les flavonoïdes sont des composés qui possèdent la capacité d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C3-OH) hautement réactif. En outre, ils sont dotés d'une forte capacité de chélation des ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport), ce qui peut renforcer les effets délétères de ces derniers par la production de radicaux hydroxyles (OH[·]). En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogenèse, et inhibe l'angiogenèse et la prolifération cellulaire, tout en affectant le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales. Il s'agit d'un inhibiteur enzymatique de l'aldose réductase, de la phospholipase A2 et des enzymes de l'inflammation, telles que la cyclooxygénase et la lipoxygénase donc il est une l'activité anti-inflammatoire (Ghedira, 2005).

III -1-2-1-1-2- Activité Anti-inflammatoire

Des études récentes ont révélé que les flavonoïdes, composés naturels présents dans certains aliments et plantes, possèdent des propriétés anti-inflammatoires. Ils peuvent inhiber les enzymes ou les facteurs de transcription impliqués dans l'inflammation, ce qui pourrait ouvrir de nouvelles voies de recherche pour le développement de traitements anti-inflammatoires. Les flavonoïdes préviennent efficacement l'apparition et le développement de maladies inflammatoires. Les lactones sesquiterpéniques sont des métabolites secondaires à la structure à 15 atomes de carbone. Les composés présentent des propriétés anti-inflammatoires remarquables, attribuables à leur capacité à réduire ou à prévenir les lésions inflammatoires des tissus et à inhiber les principales molécules pro-inflammatoires en les ciblant avec précision (Yıldırım et al., 2024).

III-1-2-2-Les polyphénols

Les polyphénols sont des composés naturellement synthétisés par le métabolisme secondaire des plantes. Leurs effets biologiques sont principalement attribués à leur capacité à séquestrer ou à inhiber les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, à transférer des électrons aux radicaux libres, ainsi qu'à activer les enzymes antioxydants, à améliorer le stress oxydatif,(De Araújo et al., 2021)qui présentent des propriétés antioxydants .En outre, l'activité antioxydant des extraits de plantes est généralement en corrélation avec la teneur en polyphénols (Salachna et al., 2021). Ces effets prometteurs démontrent un potentiel intéressant dans la prévention de diverses

pathologies telles que le diabète, l'obésité, le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'ostéoporose, les maladies neurodégénératives, entre autres. En plus de leurs propriétés biologiques, les composés phénoliques présentent un fort potentiel pour être utilisés dans des applications commerciales liées aux colorants alimentaires, aux emballages bioactifs, aux produits cosmétiques, à la production de peintures, etc. il apparaît que les polyphénols sont classés dans une catégorie spécifique de composés chimiques, caractérisés par la présence d'un ou plusieurs cycles aromatiques, et par la présence de deux ou plusieurs groupes hydroxylées (De Araújo et al., 2021).

III -1-2-2-1-Biodisponibilité des polyphénols

Certains polyphénols possèdent une bio activité et sont absorbés par l'intestin, que ce soit sous leur forme native ou modifiée. Les formes absorbées sont ensuite métabolisées, et les produits finaux peuvent être détectés dans le plasma à l'échelle nanomolaire. Il a été démontré que les formes plasmatiques des polyphénols conservent une capacité antioxydant significative avant leur excrétion. Cependant, ces composés subissent rapidement une transformation en dérivés méthylés, glucuronidés ou sulfatés. Les bactéries coliques, ou bacilles de l'intestin, jouent un rôle essentiel dans le métabolisme et l'absorption des polyphénols au niveau intestinal. Il a été observé que les dérivés obtenus ne présentent pas nécessairement une activité biologique équivalente à celle des polyphénols de départ (Rahman et al., 2006).

III -1-2-2-2Activités biologiques des polyphénols

III -1-2-2-2-1-Activité Antioxydant

Les polyphénols, considérés comme l'un des principaux composés photochimiques, se distinguent par leurs propriétés antioxydants et leurs multiples applications industrielles (Azzouzi et al., 2016). Ces propriétés résultent de la présence du groupe -OH (hydroxyle) qui permet de piéger les radicaux libres. En plus de cette activité antioxydant, les composés polyphénols possèdent également des propriétés antiprolifératives, anti-inflammatoires et antiallergiques. En outre, l'activité antioxydant des extraits de plantes est généralement en corrélation avec la teneur en polyphénols (Salachna et al., 2021). Le potentiel antioxydant de ces substances est attribuable à leurs propriétés d'oxydoréduction. Les extraits bruts de plantes riches en phénols représentent un axe de développement stratégique pour l'industrie alimentaire, car ils permettent de ralentir les dommages oxydatifs des lipides et d'améliorer la qualité et la valeur nutritionnelle de ces derniers (Albayrak et al., 2017).

Les polyphénols offrent une sécurité et une efficacité biologique supérieures aux antioxydants synthétiques. Ils interviennent également dans la modulation des enzymes impliquées dans les processus de vieillissement de la peau et de protection contre les rayons du soleil. Les polyphénols, et plus particulièrement les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins, possèdent la capacité d'inhiber l'a-glucosidase et l'a-amylase, des enzymes essentielles au processus de digestion des glucides. Cette inhibition entraîne une diminution du taux de sucre dans le sang. Les plantes sont donc des sources d'agents hypoglycémiant (Yırtıcı et al., 2022).

III -1-2-2-2-Activité Antimicrobien etAntibactérienne

Les composés phénoliques ont fait l'objet d'études qui ont démontré leur efficacité antibactérienne. Ils sont en mesure de neutraliser les bactéries résistantes aux antibiotiques traditionnels, en agissant de concert avec ces derniers et en affaiblissant les bactéries pathogènes. Ils préviennent le développement de la résistance aux antibiotiques, notamment chez les bactéries. De plus, ils inhibent la synthèse des mycotoxines, neutralisent les systèmes enzymatiques fongiques impliqués dans la production d'énergie et synthétisent des composants structurels (Yırtıcı et al., 2022). L'extrait de méthanol a fait la preuve de son efficacité antibactérienne à l'encontre d'une large variété de pathogènes, dont des représentants des genres *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Acétobacter*, *Entérobactérie*, *Enterococcus* et *E. coli* (Mekky et al., 2024).



Protocoles

expérimentaux

1. Matériel végétal

La plante *Centaurea* sp. a été acquise auprès d'un herboriste. Seules les parties aériennes ont été utilisées pour l'étude. Le matériel végétal a été séché à l'abri de la lumière, de l'humidité et à température ambiante, puis finement broyé. Après séchage, la poudre obtenue a été soigneusement conservée dans des conditions optimales afin de préserver ses propriétés. La préparation de l'extrait a été réalisée au sein de l'unité de recherche « Valorisation des ressources naturelles, molécules bioactives et analyses physico-chimiques et biologiques », relevant du département de chimie de l'Université Frères Mentouri Constantine 1, par la doctorante Keltoum Boudraa.

2. Expérimentation animale

2.1. Animaux et conditions d'hébergements

Dans le cadre de l'évaluation de l'activité protectrice et antioxydante *in vivo*, des rats mâles de souche Wistar albinos, dont le poids varie entre 200 et 250 g, ont été utilisés. Ces animaux ont été obtenus par élevage au sein de l'animalerie du Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mentouri Constantine 1.

À leur réception, les animaux ont été répartis aléatoirement en cinq groupes expérimentaux, chacun hébergé dans des cages standards. Une période d'acclimatation de deux semaines a été observée avant le début des traitements expérimentaux. Durant cette période, les rats ont bénéficié d'un accès *ad libitum* à une alimentation standard et à l'eau potable. Les conditions d'hébergement ont été strictement contrôlées, avec une température ambiante constante et un cycle nycthéméral de 12 heures de lumière alternant avec 12 heures d'obscurité.



Figure 23 : Les lots de rats

2.2. Induction de la toxicité et traitement des rats

2.2.1. Effet préventif de la fraction *n*-butanolique de *Centaurea* sp. Contre la toxicité aiguë induite par le cyclophosphamide (200 mg/kg)

Pour évaluer l'effet protecteur de l'extrait butanolique sur les rats durant 06 jours. Les rats sont répartis en cinq groupes de 6 rats chacun de la manière suivante :

- **Groupe témoin (T)** : les animaux ont reçu par voie orale de l'eau distillée (véhicule) pendant six jours. Une injection intrapéritonéale (i.p.) de solution saline (NaCl 0,9 %) a été administrée le quatrième jour.
- **Groupe extrait (EXT)** : les animaux ont été traités par voie orale avec une dose quotidienne de 200 mg/kg de l'extrait butanolique de *Centaurea* sp. pendant six jours.
- **Groupe cyclophosphamide (CP)** : les rats ont reçu une injection unique intrapéritonéale de cyclophosphamide à la dose de 200 mg/kg le quatrième jour.
- **Groupe prétraité à l'extrait butanolique + cyclophosphamide (EXT+CP)** : les rats ont reçu l'extrait butanolique (200 mg/kg/jour, par voie orale) du premier au sixième jour, suivi d'une injection intrapéritonéale de cyclophosphamide (200 mg/kg) le quatrième jour.
- **Groupe prétraité à la vitamine E + cyclophosphamide (Vit E+CP)** : les animaux ont été prétraités par voie orale avec de la vitamine E (300 mg/kg/jour) pendant six jours, et ont reçu une injection intrapéritonéale de cyclophosphamide (200 mg/kg) le quatrième jour.

La dose de l'extrait butanolique de la plante *Centaurea* sp. a été choisie sur la base des observations *in vivo* et des recherches menées dans notre laboratoire sur l'effet de différents extraits de plantes sur la toxicité hépatiques et rénales induite par des xénobiotiques (Amrani et al., 2019; Zehani et al., 2022; Mecheri et al., 2024), tandis que la dose de toxine a été choisie sur la base d'études antérieures (Hasan et al., 2020; Ayza et al., 2022).



Figure 24 : Un rat reçoit l'extrait de la plante par gavage



Figure 26: Un rat reçoit sa dose de cyclophosphamide par voie intraperitoneale

2.2.2. Dissection des rats, prélèvement du sang et des organes

À la fin de la période de traitement, les animaux ont été mis à jeun pendant la nuit. Le lendemain, ils ont été anesthésiés à l'aide de chloroforme. Le sang a été prélevé au niveau de la veine porte à l'aide de seringues stériles, puis recueilli dans des tubes appropriés. Les échantillons ont ensuite été centrifugés à 3000 tours par minute pendant 10 minutes afin de séparer le plasma, lequel a été conservé à -20 °C jusqu'à son utilisation pour l'analyse des paramètres biochimiques. Les dosages ont porté notamment sur l'uree, créatinine, acide urique, cholestérol total, HDL, LDL, triglycérides. Une portion des reins a été fixée dans une solution de formol à 10 % en vue de la réalisation d'un examen histopathologique.



Figure 26 : Échantillons d'organes en solution physiologique

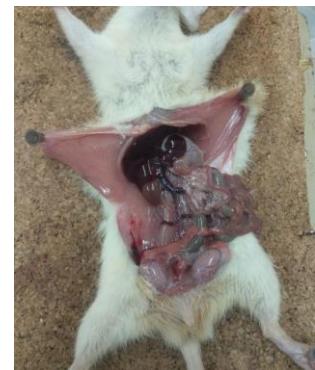
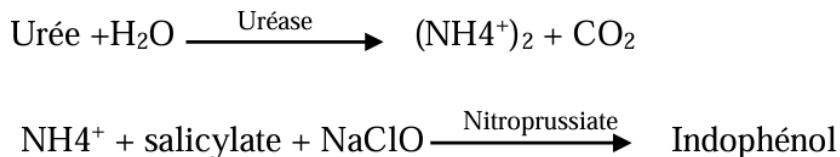


Figure 27 : Un rat sur la planche de dissection

2.2.3. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques

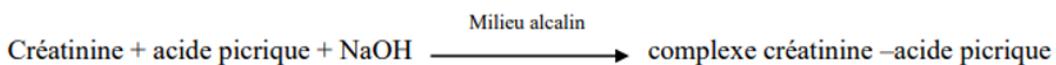
2.2.3.1. Dosage de l'urée plasmatique

L'uréase hydrolyse l'urée en ammoniacal (NH_4^+) et dioxyde de carbone (CO_2). L'ion ammonium réagit ensuite avec le salicylate et l'hypochlorite dans une réaction catalysée par le Nitroprusside pour donner un composé appelé indophénol de couleur verte. Cette coloration permet de déterminer la présence de l'urée dans les échantillons.



2.2.3.2. Dosage de la créatinine plasmatique

C'est la formation d'un complexe créatinine-picrate par la réaction de la créatinine de l'échantillon avec le picrate dans un milieu basique, l'augmentation de l'absorbance à 500 nm est proportionnelle à la concentration de la créatinine dans l'échantillon.



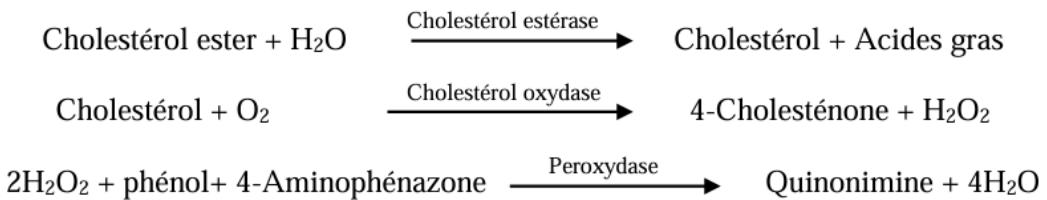
2.2.3.3. Evaluation de l'activité enzymatique de LDH

La lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme intracellulaire catalyse la transformation réversible du pyruvate en lactate par le NADH. Le taux de la diminution de NADH est proportionnel à la concentration catalytique du LDH présent dans l'échantillon.



2.2.3.4. Dosage du cholestérol plasmatique

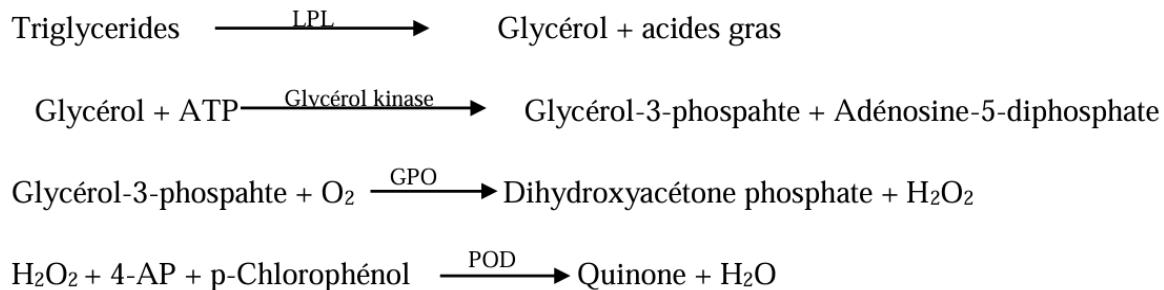
Le dosage de cholestérol plasmatique est une méthode colorimétrique utilisée pour évaluer les niveaux de cholestérol dans le sang. Le principe de la méthode est basé sur la transformation des esters de cholestérol en cholestérol libre, l'oxydation de ce produit donne la naissance de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 qui réagit avec le phénol et 4-Aminophénazole sous l'action de la peroxydase pour donner un complexe « Quinone imine » de couleur rose mesurable par spectrophotométrie à 500 nm. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans le plasma sanguin.



2.2.3.5. Dosage des triglycérides plasmatiques

L'incubation des triglycérides contenus dans l'échantillon avec la lipoprotéinlipase (LPL) libère le glycérol et les acides gras. Le glycérol est converti en glycérol-3-phosphate (G3P) et adénosine diphosphate (ADP) par la glycérol kinase et l'ATP. Le glycérol-3-phosphate (3GP) est en suite converti par la glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Dans la réaction finale, le peroxyde d'hydrogène réagit avec 4-aminophénazole (4-AP) et le p-chlorophénol en

présence de peroxydase (POD) pour donner un composé de couleur rouge. L'intensité de cette couleur est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.



2.2.4. Examens d'anatomie-pathologiques

L'étude histologique est réalisée dans les laboratoires d'anatomie pathologique de la Clinique d'Urologie, de Néphrologie et de Transplantation Rénale (Daksi), à Constantine, à l'aide d'un microscope photonique Leica ICC 50 HD. Elle repose sur une analyse sémiologique visant à comparer les tissus normaux aux tissus pathologiques, dans le but de détecter d'éventuelles altérations de l'architecture des organes après l'administration de la plante *Centaurea* sp. et l'injection de cyclophosphamide.

Après le sacrifice des animaux et leurs dissections, une perfusion aura lieu avec une solution de NaCl (0.9%) afin de drainer tout le sang restant dans les organes. Un morceau d'organe visé (reins) de chaque rat est immédiatement prélevé, coupé en petits morceaux, et conservé dans le fixateur formol (10%).

Les différentes étapes de la préparation des blocs de paraffine sont résumées ci-dessous :

- La fixation consiste à protéger les tissus prélevés de toute hydrolyse due à la libération des enzymes contenues dans les lysosomes cellulaires. La fixation se fait par une solution du formol tamponné (10 %) qui favorise la polymérisation des protéines et, dans certains cas les lipides présents dans l'organe.
- Les fragments des tissus sont mis en cassettes puis plonger dans un récipient fermé de formol 10%.

- La déshydratation on passe les tissus dans des bains d'alcool de degré croissant (70°, 80°, 90°, 95°, 99°, puis enfin 100°). L'intérêt de la déshydratation est d'éliminer l'eau. Juste après la déshydratation, les cassettes sont mises dans un bain de xylène (éclaircissant) ce qui permet d'apprécier le degré de pénétration par la transparence acquise par la pièce.
- Les tissus sont inclus dans du paraffine fondu qui s'incorpore avec l'échantillon et conserve ces tissus permettant ainsi de faire des coupes histologiques fines.
- Les coupes fines (5 μM) sous forme d'un ruban sont réalisées à partir du bloc de paraffine à l'aide d'un microtome. Le ruban obtenu de la microtomie est étalé sur des lames en verre, ces lames passent sur une plaque chauffante pour assurer la fixation de la paraffine contenant la coupe histologique sur la lame.
- Pour faciliter la pénétration des colorants à l'intérieur de la coupe, on commence d'abord par une réhydratation. On passe les lames dans des bains d'alcool de degrés décroissants (de 100°, 90°, 70°C) puis dans de l'eau distillée.
- La coloration est effectuée pour reconnaître les différents composants tissulaires qui sont généralement transparents. La coloration hématoxyline éosine (HE) est la coloration bichromatique standard utilisée en premier temps, elle nous donne une vue globale sur les morphologies tissulaires et les lésions pathologiques.
- L'hématoxyline, qui colore en bleu violacé les structures basophiles (noyaux).
- L'éosine, qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasme).
- Pour une meilleure visualisation microscopique et une conservation à longue durée contre la décoloration, une résine synthétique est placée entre une lame portante la coupe

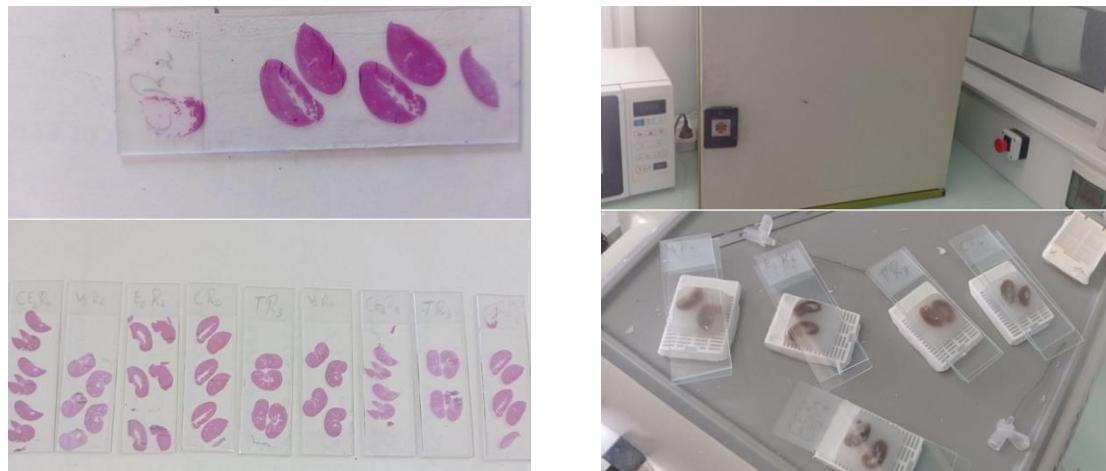


Figure 29: Préparation de lames pour l'étude anatomique

- histologique et une lamelle. Les lames sont prêtes pour la lecture microscopique qui est effectuée par un microscope photonique Leica et photographiées à l'aide d'un appareil photo numérique.

3. Evaluation statistique

Les résultats des différents tests effectués *in vivo* sont exprimés en moyenne plus ou moins l'écart type (moyenne \pm SD). L'évaluation statistique des résultats est effectuée par l'analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) suivie du test post-hoc de Tukey's, en utilisant le logiciel Graph Pad Prism Version 5.

Résultats et Discussion

I-Résultats

I-1-Effets de l'extrait de plant, de cyclophosphamide et de la vitamine E sur la fonction rénale

I-1-1- L'effet sur les taux de la créatinine et de l'urée

L'effet de cyclophosphamide sur les fonctions rénales avec Vitamine E et avec ou sans l'extrait de la plante est illustré par la figure 29. Sur cette figure on constate une élévation très significative ($p < 0.001$) du taux la créatinine, cette augmentation est due à l'altération de la fonction rénale cause par le cyclophosphamide. Par contre chez les rats traités par CP+l'extrait 200mg/kg, et par la Vitamine E (300mg/kg), l'administration de l'extraits et vit E temporise ($p < 0.01$) l'effet de CP et normalise la valeur de la créatinine.

Les résultats obtenus dans notre travail ont montré que l'administration journalière de le cyclophosphamide (200 mg / Kg) a provoqué une augmentation significative ($p < 0.001$) dans la concentration de l'urée sérique (Figure30) par rapport au groupe témoin (T). Une diminution significative ($p < 0.01$) de l'Urée chez les groupes (CP+EXT) et (CP+Vit E) par rapport au groupe (CP). Concernent le groupe des rats sains, l'administration journalière de la même dose de l'extrait pendant 6 jours n'a pas altéré la concentration sérique de l'urée.

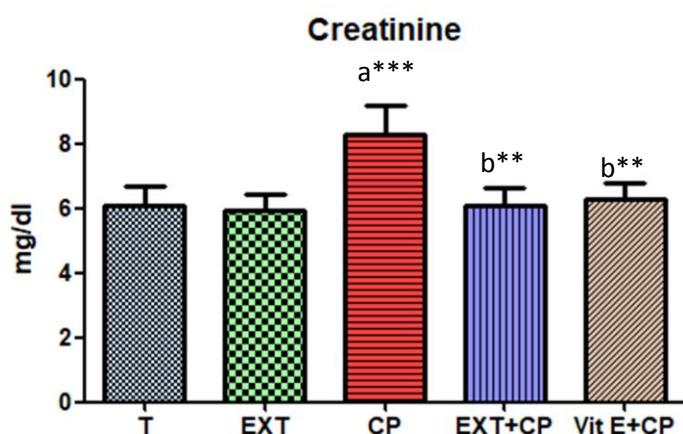


Figure 29 : Effet de la cyclophosphamide et l'extrait sur la concentration de la créatinine. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, * : $P < 0.001$,**
a : Groupes comparés au groupe témoin
b : Groupes comparés au groupe CP

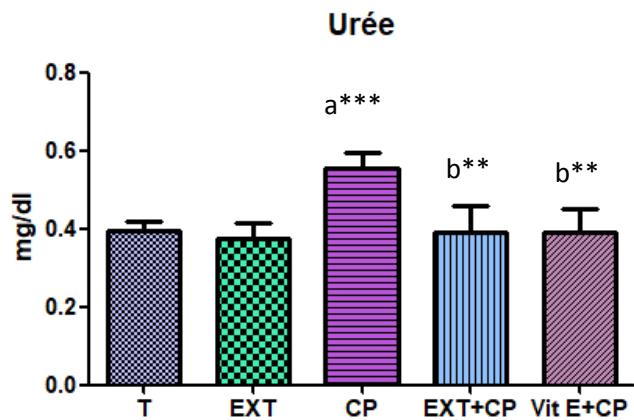


Figure 30 : Effet de la cyclophosphamide et l'extrait sur la concentration de l'urée. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$,
 a : Groupes comparés au groupe témoin
 b : Groupes comparés au groupe CP

1-2-L'effet sur les taux des triglycérides et le cholestérol

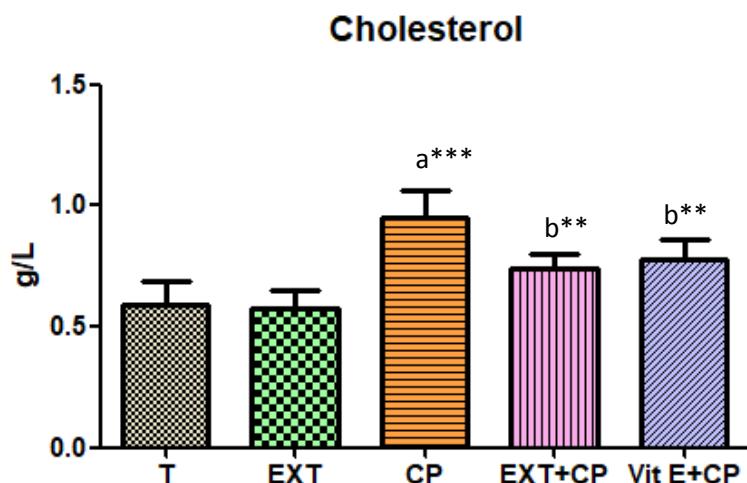


Figure 31 : Effet de la cyclophosphamide et l'extrait sur la concentration du cholestérol. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$,
 a : Groupes comparés au groupe témoin
 b : Groupes comparés au groupe CP

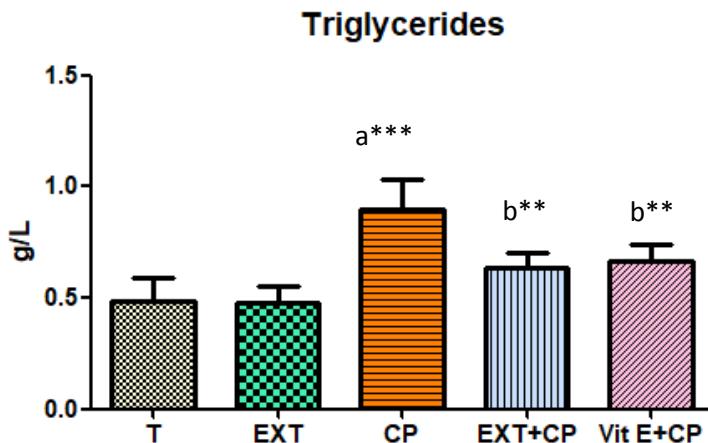


Figure 32 : Effet de la cyclophosphamide et l'extrait sur la concentration des triglycérides.

Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$,

a : Groupes comparés au groupe témoin

b : Groupes comparés au groupe CP

La figure (32) montre que les taux sériques de Triglycérides sont significativement élevés ($p < 0,001$) dans le groupe traité par le cyclophosphamide par rapport au groupe témoin, qui indique des troubles métaboliques. Cependant, le prétraitement par l'extrait de la plante ou la vitamine E a réduit significativement les niveaux de Triglycérides par rapport au groupe traité par le cyclophosphamide ($p < 0,01$). Ces résultats suggèrent que l'extrait de plant et vitamine E et la vitamine E jouent un rôle protecteur dans la régulation des déséquilibres lipidiques induits par la cyclophosphamide.

Comme le montre la figure (31), l'exposition au cyclophosphamide (200mg/kg, injection intrapéritonéale) une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de Cholestérol par rapport au groupe témoin. Qui indique à nouveau des troubles du métabolisme des lipides.

De plus, Le groupe prétraité avec l'extrait de la plante (200 mg/kg) et avec la vitamine E diminution significative ($p < 0,01$) du taux de Cholestérol, par rapport au groupe exposé au cyclophosphamide. Ces résultats suggèrent que l'extrait végétal et la vitamine E pourraient avoir une action bénéfique sur les anomalies lipidiques induites par la CP, la vitamine E démontrant une légère supériorité par rapport à l'extrait végétal.

1-3-L'effet sur les taux LDH

Les résultats obtenus dans notre étude montrent une augmentation significative ($p < 0.001$) du taux du LDH dans le groupe traité par la Cyclophosphamide (Figure 33), par rapport à celui enregistré chez les témoins, indiquant des dommages cellulaires causés par le stress oxydatif, qui provoqués par le cyclophosphamide. Par contre chez les rats traités par l'extrait+CP (200 mg/kg) et CP+Vit E, nous avons constaté une diminution significative ($p < 0.01$) du taux de la LDH par rapport le groupe traité par le CP .Ces résultats suggèrent un effet antioxydant protecteur significatif de l'EXT et de la vitamine E contre les effets toxiques de la PC.

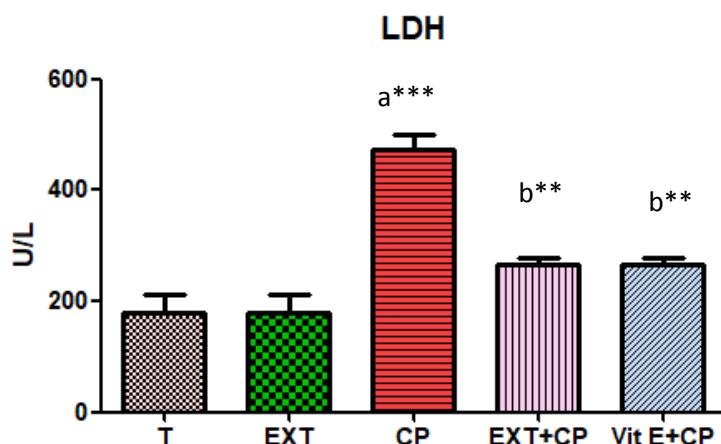


Figure 33 : Effet de la cyclophosphamide et l'extrait sur le taux d'LDH chez les différents groupes.

Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$,

a : Groupes comparés au groupe témoin

b : Groupes comparés au groupe CP

I-2-Etude Histopathologique

Les coupes histologiques des reins des rats du groupe témoin ont révélé une architecture morphologique normale (figure34). De même, l'examen microscopique des reins du groupe traité uniquement avec l'extrait butanolique n'a montré aucune altération morphologique significative (figure35). En revanche, les reins des rats ayant reçu du cyclophosphamide (200 mg/kg) ont présenté des lésions histopathologiques notables, telles qu'une atrophie glomérulaire modérée, une nécrose des tubules proximaux, ainsi qu'un infiltrat inflammatoire lymphocytaire au niveau interstitiel (figure36). Toutefois, chez les rats prétraités avec l'extrait à la dose de 200 mg/kg avant l'administration du CP, les coupes histologiques ont montré une

préservation quasi normale des structures tubulaires et glomérulaires (figure37). Les mêmes résultats observés chez les rats traités par la vitamine E et le CP (figure38).



Figure 35: Histologie des reins des rats témoins (400x)

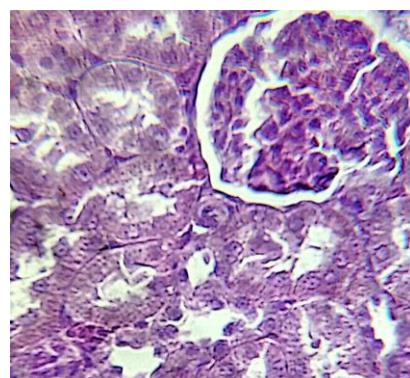


Figure 35 : Histologie des reins des rats traités avec l'extrait de la plante *Centaurea* sp. (200 mg / kg) (400x)

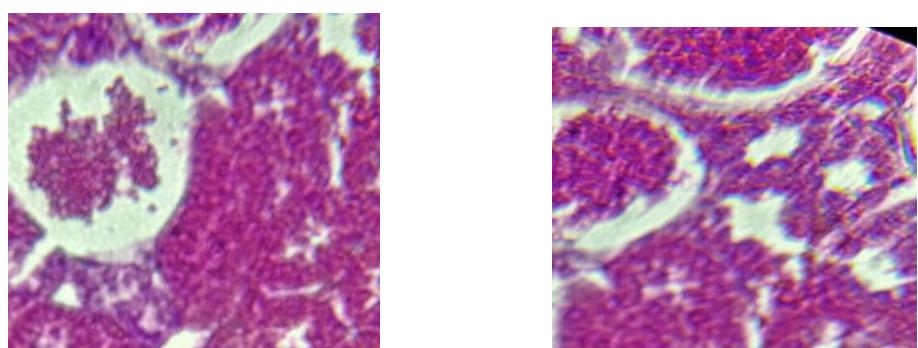


Figure 36 : Histologie des reins des rats du groupe toxique ; groupe traité par cyclophosphamide (200 mg/kg) : atrophie glomérulaire modérée ; début de nécrose ; infiltrat inflammatoire lymphocytaire interstitiel (400x)

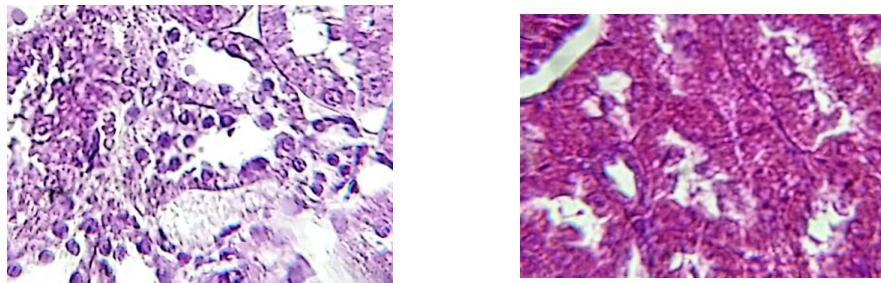


Figure 37 : Histologie des reins des rats traités par CP (200 mg/kg) et l'extrait butanolique(200 mg / kg) montré un tableau histologique comparable à celui du groupe témoin

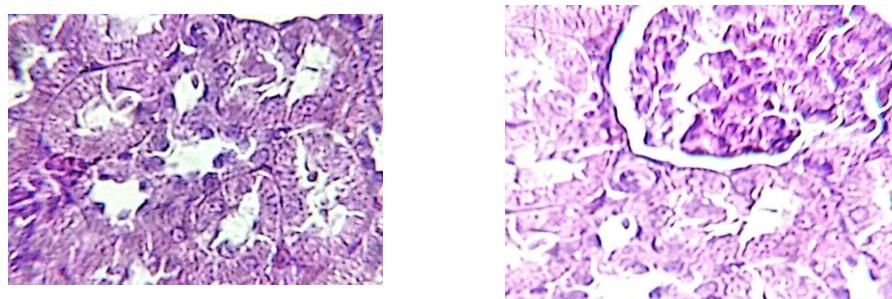


Figure 38 : Histologie du foie des rats traités par CP (200 mg/kg) et la vitamine E(300 mg / kg) montré un tableau histologique comparable à celui du groupe témoin avec un dommage minimal (400 x)

II- Discussion

Le cyclophosphamide est un produit pharmaceutique à fort potentiel, avec un large éventail d'applications médicales (Sadeghi et al., 2017). Le CP est l'un des médicaments anticancéreux, comme le sarcome, le lymphome, le neuroblastome, le myélome multiple, la leucémie, le cancer du sein, le cancer de l'ovaire et du poumon (Alshahrani et al., 2022). Il s'agit d'un agent alkylant bi-fonctionnel de référence qui transfère les résidus d'alkyle dans une liaison covalente avec l'ADN. Ce produit est largement utilisé dans la chimiothérapie du cancer et exprime sa génotoxicité lorsqu'il est activé par le métabolisme. Comme vous le savez, l'utilisation de la PC est limitée par la lésion ou l'endommagement des tissus normaux. Cela entraîne de nombreux effets secondaires (Sadeghi et al., 2017).

Les effets secondaires les plus communément observés dans le cadre de ce traitement sont des complications multiples, notamment une néphrotoxicité (Alshahrani et al., 2022). La néphrotoxicité induite par les médicaments est un effet secondaire courant des chimiothérapies anticancéreuses. Les anomalies de perfusion, la production excessive de ROS (Réactive Oxygène Species) et l'inflammation sont les principaux mécanismes responsables des lésions rénales induites par les médicaments. Dans le cadre de la production de ROS, la peroxydation des lipides membranaires, la dénaturation des protéines et les lésions de l'ADN induites par la PC sont à l'origine de lésions cellulaires et d'une nécrose. La toxicité de cette substance est attribuable à ses métabolites toxiques, qui conduisent à une augmentation de la quantité de radicaux libres et à une perturbation du système antioxydant. Des recherches ont été menées afin d'évaluer l'efficacité des effets protecteurs de certains produits naturels contre la néphrotoxicité induite par la CP (Uyumlu et al., 2023).

Les plantes sont une source potentielle d'antioxydants qui peuvent être utilisés pour produire de nouvelles molécules et prévenir le stress oxydatif dans un cadre thérapeutique. Certaines plantes médicinales présentent un potentiel exceptionnel en tant qu'antioxydants naturels et peuvent être employées comme protecteurs contre les troubles liés au stress oxydatif. Cependant, face à la demande croissante en antioxydants naturels, la nécessité de découvrir de puissants piègeurs de radicaux libres issus de plantes s'est imposée comme une priorité stratégique (Lahneche et al., 2019).

A partir de ces données, on s'est fixé ces objectifs :

- Etude de la néphrotoxicité induite par le cyclophosphamide chez le rat de type Wistar Albino.
- Etude de l'effet néphroprotecteur et antioxydant de l'extrait phénolique de *Centaurea sp* après 06 jours de traitement en association avec le cyclophosphamide en mesurant l'activité de l'urée, créatinine, cholestérol, triglycérides et LDH dans le sang.

Dans le cadre de notre étude, nous avons constaté que le traitement par le CP à une dose de 200 mg/kg pendant six jours induit une néphrotoxicité. Cette néphrotoxicité se caractérise par une élévation significative ($p < 0,001$) de l'activité sérique de l'urée et de la créatinine. Ces deux marqueurs sont associés à une atteinte rénale. Nous avons constaté que nos résultats sont cohérents avec ceux apportés par (Alabi et al., 2021; El-Shabrawy et al., 2020) qui explique que la augmentation significative des marqueurs du test de la fonction rénale, à savoir la créatinine

plasmatique et le taux d'urée dans le groupe traité avec le CP seul (Alabi et al., 2021). L'augmentation de ces marqueurs pourrait ROS induits par la PC et plus encore par son sous-produit métabolique toxique, l'acroléine (Galal et al., 2020). D'autres ont rapporté (Olayinka et al., 2015; Bokolo and Adikwu, 2018; Ayza et al., 2020 and Aladaileh et al., 2021) une hausse significative des taux plasmatiques d'urée et de créatinine suite à l'injection intrapéritonéale de CP chez des rats, suggérant des lésions importantes au niveau des néphrons fonctionnels (Elwakeel et Abdel Rahman, 2021).

Les résultats de l'étude ont démontré que l'ingestion d'extrait à une posologie de 200 mg/kg a engendré une réduction significative de la néphrotoxicité induite par le CP. Cette hypothèse est corroborée par l'élévation du taux de créatinine et d'urée dans le sang. Les résultats de l'étude ont révélé que l'association de l'EX avec le CP présentait des avantages significatifs en matière de protection du rein. Cette observation est soutenue par une diminution notable des niveaux de créatinine et d'urée par rapport au groupe CP, suggérant une action néphroprotectrice de l'EX (Alaqeel et Al-Hariri, 2023). Selon l'étude menée par (Ayman M, 2016), les reins sont sensibles aux dommages causés par les ROS, notamment en raison de la présence d'acides gras polyinsaturés à longue chaîne dans la composition de leurs lipides membranaires dans les cellules rénaux. L'amélioration de l'augmentation de l'azote uréique sanguin, de l'urée et de la créatinine induite par le traitement au CP par l'administration d'extrait s'explique probablement par le maintien de l'intégrité de la membrane cellulaire rénale. Cette capacité de protection du néphron, proposée par le extrait, se révèle supérieure à celle du groupe intoxiqué par la CP (Galal et al., 2020).

Par ailleurs, les résultats de l'étude ont mis en évidence que l'administration de vitamine E à une posologie de 300 mg/kg a conduit à une baisse notable de la néphrotoxicité induite par le CP. Suite à notre analyse, il apparaît que nos résultats sont en adéquation avec ceux communiqués par (Eskakhri et al., 2013), qui a expliqué que L'association de la vitamine E avec le CP est un atout majeur pour la protection du rein. La vitamine E, étant liposoluble, joue un rôle de premier plan en tant que capteur de radicaux libres. Elle permet ainsi d'empêcher efficacement la peroxydation des acides gras polyinsaturés et la formation de nitrosamines. La vitamine E est un antioxydant essentiel dans les systèmes biologiques. Elle joue un rôle clé en agissant comme un puissant agent de rupture de chaîne, en piégeant les radicaux peroxydes. Ainsi, la vitamine E protège les membranes lipidiques contre l'oxydation, ce qui est crucial pour maintenir leur intégrité et leur fonctionnalité (Eskakhri et al., 2013). Cette observation est

soutenue par une diminution significative des niveaux de créatinine et d'urée par rapport au groupe CP. Ces résultats suggèrent une action néphroprotectrice de la vitamine E.

L'administration intrapéritonéale de cyclophosphamide a induit une augmentation significative des taux de lipides sériques. Les concentrations de cholestérol et de triglycérides dans le sérum des rongeurs traités par cyclophosphamide augmenter de façon notable ($P < 0,001$) en comparaison avec le groupe témoin Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (Souza et al., 2021).

L'étude a révélé une augmentation significative ($p < 0,001$) de l'activité sérique de cholestérol suite à l'administration d'une dose de 200 mg/kg de CP. La CP peut augmenter le taux de cholestérol. Cela serait dû à une hausse de sa production et à une baisse de son utilisation. Nos résultats sont pareils que ceux de (Elsayed Azab, 2022) .Le CP, induit un stress oxydatif par l'intermédiaire de son métabolite toxique, l'acroléine. Ce composé chimique est susceptible de provoquer une dyslipidémie, c'est-à-dire un dérèglement du métabolisme des lipides dans l'organisme. Ce dérèglement peut être provoqué par plusieurs mécanismes : l'augmentation de la biosynthèse du cholestérol, la diminution de l'hydrolyse des esters de cholestérol et la réduction de l'efflux de cholestérol. Ces derniers peuvent contribuer à l'accumulation du cholestérol cellulaire. La transformation du cholestérol en acides biliaires représente le processus de dégradation du cholestérol le plus significatif en termes de quantité. Cependant, (McClure et Stupans, 1992) ont précédemment rapporté qu'après 06 jours suivant l'administration d'une dose unique de CP (200 mg/kg de poids corporel), il y avait une diminution de l'activité du cytochrome P450 chez les rats mâles. Cette diminution peut, à son tour, induire une dépression de l'activité du cholestérol 7-hydroxylase, l'enzyme clé dans la conversion du cholestérol en acides biliaires. (Libya et Azab, 2020). Ceci explique le taux élevé de cholestérol et est cohérent avec les résultats obtenus.

Dans le cadre du suivi de l'administration de cyclophosphamide, l'ajout d'EX ou de vitamine E s'est révélé efficace pour empêcher l'augmentation des lipides sériques. Cette observation confirme le rôle déterminant de l'EX dans la réduction du taux de lipides sanguins (Elsayed Azab et al., 2022).

La CP a également provoqué des lésions rénales, comme l'augmentation significative ($P < 0,001$) du taux de LDH. Les résultats de notre étude montrent que l'élévation du taux de LDH due à la CP est en accord avec les rapports précédemment publiés par (Caglar et al., 2002). L'élévation de l'activité de ces enzymes dans le sérum pourrait être due à la fuite de ces enzymes

cytosoliques dans le système circulatoire, résultant des lésions rénales après l'administration de la CP, Ce qui conduit à l'apparition de lésions rénales attribuables à un dysfonctionnement des reins et à une perturbation de la biosynthèse de ces enzymes. Ces lésions sont associées à une altération de la perméabilité de la membrane (Rehman et al., 2012).

Conclusion et perspective

III-Conclusion et perspective

L'étude a été menée dans le cadre d'un projet de recherche visant à identifier un nouvel agent thérapeutique efficace, issu de plantes médicinales, pour contrer les effets indésirables des médicaments anticancéreux sur les reins. Pour ce faire, une intoxication au cyclophosphamide a été provoquée chez des animaux selon un modèle préétabli.

L'utilisation du cyclophosphamide (200 mg/kg) entraîne une augmentation significative des taux d'urée, de créatinine, de cholestérol et de triglycérides dans le sérum sanguin, ainsi que du taux d'enzyme LDH. Dans le cadre de l'étude, l'association de l'extraitbutanolique de *Centaurea sp* (200 mg/kg) et du cyclophosphamide a permis de réduire significativement les effets néfastes sur les critères de stress oxydatif et biochimiques. Ces résultats démontrent l'efficacité de l'extrait dans la protection du rein contre la toxicité induite par le cyclophosphamide. Ces résultats ont été confirmés par l'étude histologique. L'extraitbutanolique de *Centaurea sp* présente un effet attribué à la présence de composés phénoliques. Selon plusieurs études, ces composés présentent une activité anti-inflammatoire et anti-oxydante.

L'ensemble des résultats obtenus constitue une justification scientifique de l'usage traditionnel de la plante étudiée et confirme encore une fois la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreuses maladies. Toutefois, nos résultats ne constituent qu'une ébauche dans le domaine de recherche et nécessite des études ultérieures qui devraient être orientées vers l'établissement des posologies efficaces, l'isolement et la caractérisation des molécules ainsi que la recherche des mécanismes d'action des extraits de cette plantes dans le but de corréler les activités pharmacologiques aux constituants chimiques qu'elles renferment.

Références bibliographiques

IV-Références bibliographiques

- Abraham, P., & Isaac, B. (2011).** The effects of oral glutamine on cyclophosphamide-induced nephrotoxicity in rats. *Human & Experimental Toxicology*, 30(7), 616-623. <https://doi.org/10.1177/0960327110376552>
- Akter, S., Moni, A., Faisal, G. M., Uddin, M. R., Jahan, N., Hannan, M. A., Rahman, A., & Uddin, M. J. (2022).** Renoprotective Effects of Mangiferin : Pharmacological Advances and Future Perspectives. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(3), 1864. <https://doi.org/10.3390/ijerph19031864>
- Alabi, Q. K., Akomolafe, R. O., Omole, J. G., Aturamu, A., Ige, M. S., Kayode, O. O., & Kajewole-Alabi, D. (2021).** Polyphenol-rich extract of *Ocimum gratissimum* leaves prevented toxic effects of cyclophosphamide on the kidney function of Wistar rats. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03447-3>
- Alqaqeel, N. K., & Al-Hariri, M. T. (2023).** Naringenin ameliorates Cyclophosphamide-induced nephrotoxicity in experimental model. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(6), 103674. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103674>
- Alkan, F. Ü., Gürsel, F. E., Ateş, A., Özyürek, M., Güçlü, K., & Altun, M. (2012).** Protective effects of *Salvia officinalis* extract against cyclophosphamide-induced genotoxicity and oxidative stress in rats. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. <https://doi.org/10.3906/vet-1105-36>
- Alshahrani, S., Ali Thubab, H. M., Ali Zaeri, A. M., Anwer, T., Ahmed, R. A., Jali, A. M., Qadri, M., Nomier, Y., Moni, S. S., & Alam, M. F. (2022).** The protective effects of sesamin against cyclophosphamide-induced nephrotoxicity through modulation of oxidative stress, inflammatory-cytokines and apoptosis in rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11615.
- Amrani, A., Mecheri, A., Bensouici, C., Boubekri, N., Benaissa, O., Zama, D., Benayache, F., & Benayache, S. (2019).** Evaluation of antidiabetic, dermatoprotective, neuroprotective and antioxidant activities of *Chrysanthemum fontanesii* flowers and leaves extracts. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 20, 101209. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101209>

Anjos, A. C. Y. dos, & Zago, M. M. F. (2006). The cancer chemotherapy experience in a patient's view. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 14, 33-40.

Anjos, A. C. Y. dos, & Zago, M. M. F. (2006). The cancer chemotherapy experience in a patient's view. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 14, 33-40.

Ayman M, M. (2016). Ruta graveolens Protects Against Isoniazid/Rifampicin-Induced Nephrotoxicity through Modulation of Oxidative Stress and Inflammation. *Global Journal of Biotechnology and Biomaterial Science*, 017-022. <https://doi.org/10.17352/gjbbs.000005>

Ayza, M. A., Zewdie, K. A., Yigzaw, E. F., Ayele, S. G., Tesfaye, B. A., Tafere, G. G., & Abrha, M. G. (2022). Potential Protective Effects of Antioxidants against Cyclophosphamide-Induced Nephrotoxicity. *International Journal of Nephrology*, 2022(1), 5096825.

Ayza, M. A., Zewdie, K. A., Yigzaw, E. F., Ayele, S. G., Tesfaye, B. A., Tafere, G. G., & Abrha, M. G. (2022). Potential Protective Effects of Antioxidants against Cyclophosphamide-Induced Nephrotoxicity. *International Journal of Nephrology*, 2022, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2022/5096825>

Bagga, A., Srivastava, R., Gupta, A. K., Jana, M., Bal, C., Thergaonkar, R., & Khandelwal, P. (2016). Renal Anatomy and Physiology. *Paediatric Nephrology*, 1.

Bagga, A., Srivastava, R., Gupta, A. K., Jana, M., Bal, C., Thergaonkar, R., & Khandelwal, P. (2016). Renal Anatomy and Physiology. *Paediatric Nephrology*, 1.

Balzer, M. S., Rohacs, T., & Susztak, K. (2022). How Many Cell Types Are in the Kidney and What Do They Do? *Annual Review of Physiology*, 84(1), 507-531. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-052521-121841>

Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., & Pienta, K. J. (2023). Updating the Definition of Cancer. *Molecular Cancer Research*, 21(11), 1142-1147. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0411>

Bukowski, K., Kciuk, M., & Kontek, R. (2020). Mechanisms of Multidrug Resistance in Cancer Chemotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 3233. <https://doi.org/10.3390/ijms21093233>

Caglar, K., Kinalp, C., Arpacı, F., Turan, M., Saglam, K., Ozturk, B., Komurcu, S., Yavuz, İ., Yenicesu, M., & Ozet, A. (2002). Cumulative prior dose of cisplatin as a cause of

the nephrotoxicity of high-dose chemotherapy followed by autologous stem-cell transplantation. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 17(11), 1931-1935.

Caron, C. (s. d.). Ligands macrocycliques de sites abasiques en tant qu'inhibiteurs de la réparation de l'ADN: Synthèse, études biochimiques et biologiques.

Chen, C., Xie, D., Gewirtz, D. A., & Li, N. (2022). Nephrotoxicity in cancer treatment : An update. In *Advances in Cancer Research* (Vol. 155, p. 77-129). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2022.03.005>

Chen, Y., Jungsuwadee, P., Vore, M., Butterfield, D. A., & St Clair, D. K. (2007). Collateral damage in cancer chemotherapy: Oxidative stress in nontargeted tissues. *Molecular interventions*, 7(3), 147.

Clapp, R. W., Jacobs, M. M., & Loechler, E. L. (2008). Environmental and Occupational Causes of Cancer : New Evidence 2005-2007. *Reviews on Environmental Health*, 23(1), 1-38. <https://doi.org/10.1515/REVEH.2008.23.1.1>

Côrtes, M. A. (2025). Advances in upper urinary tract anatomy through imaging techniques.

Dabbish, E., Scoditti, S., Shehata, M. N. I., Ritacco, I., Ibrahim, M. A. A., Shoeib, T., & Sicilia, E. (s. d.). Insights on cyclophosphamide metabolism and anticancer mechanism of action : A computational study.

De Jonge, M., Mathôt, R., Van Dam, S., Beijnen, J., & Rodenhuis, S. (2002). Extremely high exposures in an obese patient receiving high-dose cyclophosphamide, thiotepa and carboplatin. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 50(3), 251-255. <https://doi.org/10.1007/s00280-002-0494-7>

DeChiara, J. R., Birch, E. M., & Harper, H. (2023). Low-Dose Cyclophosphamide Associated With Hyponatremia and Hepatotoxicity. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.45375>

Desmeules, P. (2006). Caractérisation de la toxicité ovarienne de métabolites du cyclophosphamide.

Dobrek, L. (2023). A Synopsis of Current Theories on Drug-Induced Nephrotoxicity. *Life*, 13(2), 325. <https://doi.org/10.3390/life13020325>

Eckardt, K.-U., Coresh, J., Devuyst, O., Johnson, R. J., Köttgen, A., Levey, A. S., & Levin, A. (2013). Evolving importance of kidney disease : From subspecialty to global health burden. *The Lancet*, 382(9887), 158-169. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60439-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60439-0)

Elsayed Azab, A. (2022). Antidyslipidemic Effect of 5-Fluorouracil against Cyclophosphamide induced Dyslipidemia in Male Albino Rats. *International Journal of Clinical Case Reports*, 1(1), 01-07. <https://doi.org/10.31579/2834-8389/003>

Elsayed Azab, A., A M Yahya, R., M. Attia, A., El.M.Shkal, K., & A. Yehia, M. (2022). Antidyslipidemic Effect of 5-Fluorouracil against Cyclophosphamide-Induced Dyslipidemia in Male Albino Rats. *Journal of Clinical Research and Reports*, 12(2), 01-07. <https://doi.org/10.31579/2690-1919/276>

El-Serafi, I., & Steele, S. (2024). Cyclophosphamide Pharmacogenomic Variation in Cancer Treatment and Its Effect on Bioactivation and Pharmacokinetics. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2024(1), 4862706. <https://doi.org/10.1155/2024/4862706>

El-Serafi, I., & Steele, S. (2024). Cyclophosphamide Pharmacogenomic Variation in Cancer Treatment and Its Effect on Bioactivation and Pharmacokinetics. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2024(1), 4862706. <https://doi.org/10.1155/2024/4862706>

El-Shabrawy, M., Mishriki, A., Attia, H., Emad Aboulhoda, B., Emam, M., & Wanas, H. (2020). Protective effect of tolvaptan against cyclophosphamide-induced nephrotoxicity in rat models. *Pharmacology Research & Perspectives*, 8(5), e00659. <https://doi.org/10.1002/prp2.659>

Elwakeel, S., & Abdel Rahman, A. (2021). Protective Effect of Gallic Acid on Cyclophosphamide-Induced Nephrotoxicity, Oxidative Stress, Genotoxicity, and Histopathological Alterations in Male Albino Rats. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, B. Zoology*, 13(2), 225-244. <https://doi.org/10.21608/eajbsz.2021.207518>

Emadi, A., Jones, R. J., & Brodsky, R. A. (2009). Cyclophosphamide and cancer : Golden anniversary. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 6(11), 638-647. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2009.146>

Gai, Z., Gui, T., Kullak-Ublick, G. A., Li, Y., & Visentin, M. (2020). The Role of Mitochondria in Drug-Induced Kidney Injury. *Frontiers in Physiology*, 11, 1079. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.01079>

Gai, Z., Gui, T., Kullak-Ublick, G. A., Li, Y., & Visentin, M. (2020). The Role of Mitochondria in Drug-Induced Kidney Injury. *Frontiers in Physiology*, 11, 1079. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.01079>

Galal, S. M., Mansour, H. H., & Elkhoely, A. A. (2020). Diallyl sulfide alleviates cyclophosphamide-induced nephropathic encephalopathy in rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 30(3), 208-218. <https://doi.org/10.1080/15376516.2019.1695991>

Gunes, S., Ayhanci, A., Sahinturk, V., Altay, D. U., & Uyar, R. (2017). Carvacrol attenuates cyclophosphamide-induced oxidative stress in rat kidney. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 95(7), 844-849. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2016-0450>

Gunes, S., Ayhanci, A., Sahinturk, V., Altay, D. U., & Uyar, R. (2017). Carvacrol attenuates cyclophosphamide-induced oxidative stress in rat kidney. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 95(7), 844-849. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2016-0450>

Hansen, J., Sealfon, R., Menon, R., Eadon, M. T., Steck, B., Dobi, D., Parikh, S., Sidgel, T. K., Alexandrov, T., Otto, E. A., Anderton, C. R., Barwinska, D., Zheng, G., Rose, M. P., Shapiro, J. P., Velickovic, D., Pamreddy, A., He, Y., de Boer, I. H., ... Azeloglu, E. U. (s. d.). Towards Building a Smart Kidney Atlas : Network-based integration of multimodal transcriptomic, proteomic, metabolomic and imaging data in the Kidney Precision Medicine Project.

Hasan, H. F., Abdel-Hamid, G. R., & Ebrahim, S. I. (2020). Antioxidant and anti-inflammatory effects of diallyl disulfide on hepatotoxicity induced by cyclophosphamide in rats. *Natural Product Communications*, 15(10), 1934578X20969083.

Hechaichi, F. Z., Bendif, H., Bensouici, C., Alsalamah, S. A., Zaidi, B., Bouhenna, M. M., Souilah, N., Alghonaim, M. I., Benslama, A., Medjekal, S., Qurtam, A. A., Miara, M. D., & Boufahja, F. (2023). Phytochemicals, Antioxidant and Antimicrobial Potentials and LC-MS Analysis of *Centaurea parviflora* Desf. Extracts. *Molecules*, 28(5), 2263. <https://doi.org/10.3390/molecules28052263>

Hechaichi, F. Z., Bendif, H., Bensouici, C., Alsalamah, S. A., Zaidi, B., Bouhenna, M. M., Souilah, N., Alghonaim, M. I., Benslama, A., Medjekal, S., Qurtam, A. A., Miara, M. D., & Boufahja, F. (2023). Phytochemicals, Antioxidant and Antimicrobial Potentials and LC-MS Analysis of *Centaurea parviflora* Desf. Extracts. *Molecules*, 28(5), 2263. <https://doi.org/10.3390/molecules28052263>

Helsby, N. A., Yong, M., Van Kan, M., De Zoysa, J. R., & Burns, K. E. (2019). The importance of both CYP2C19 and CYP2B6 germline variations in cyclophosphamide pharmacokinetics and clinical outcomes. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 85(9), 1925 - 1934. <https://doi.org/10.1111/bcp.14031>

Ibrahim, K. M., Darwish, S. F., Mantawy, E. M., & El-demerdash, E. (2024). Molecular mechanisms underlying cyclophosphamide-induced cognitive impairment and strategies for neuroprotection in preclinical models. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 479(8), 1873 - 1893. <https://doi.org/10.1007/s11010-023-04805-0>

Ijaz, M. U., Mustafa, S., Batool, R., Naz, H., Ahmed, H., & Anwar, H. (2022). Ameliorative effect of herbacetin against cyclophosphamide-induced nephrotoxicity in rats via attenuation of oxidative stress, inflammation, apoptosis and mitochondrial dysfunction. *Human & Experimental Toxicology*, 41, 09603271221132140. <https://doi.org/10.1177/09603271221132140>

Jain, M., Fan, J., Baturay, N. Z., & Kwon, C.-H. (2004). Sulfonyl-Containing Aldophosphamide Analogues as Novel Anticancer Prodrugs Targeted against Cyclophosphamide-Resistant Tumor Cell Lines. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(15), 3843 - 3852. <https://doi.org/10.1021/jm0304764>

Kalantar, M., Goudarzi, M., Khodayar, M. J., Babaei, J., Forouzandeh, H., Bakhtiari, N., & Alidadi, H. (2016). Protective Effects of the Hydroalcoholic Extract of Capparis spinosa L. Against Cyclophosphamide-Induced Nephrotoxicity in Mice. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 11(4). <https://doi.org/10.17795/jjnpp-37240>

Kalantar, M., Goudarzi, M., Khodayar, M. J., Babaei, J., Forouzandeh, H., Bakhtiari, N., & Alidadi, H. (2016). Protective Effects of the Hydroalcoholic Extract of Capparis spinosa L. Against Cyclophosphamide-Induced Nephrotoxicity in Mice. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 11(4). <https://doi.org/10.17795/jjnpp-37240>

Kaushal, G. P., Chandrashekhar, K., & Juncos, L. A. (2019). Molecular interactions between reactive oxygen species and autophagy in kidney disease. *International journal of molecular sciences*, 20(15), 3791.

Kinter, L. B., & Short, B. G. (1993a). Anatomy and physiology of the kidney. *Toxicology of the Kidney* (Hook JB, Goldstein RS, eds). New York: Raven Press, 1 - 36.

Kwiatkowska, E., Domański, L., Dziedziejko, V., Kajdy, A., Stefańska, K., & Kwiatkowski, S. (2021). The mechanism of drug nephrotoxicity and the methods for preventing kidney damage. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 6109.

Lahneche, A. M., Boucheham, R., Ozen, T., Altun, M., Boubekri, N., Demirtas, I., Bicha, S., Bentamene, A., Benayache, F., Benayache, S., & Zama, D. (2019). In vitro antioxidant, DNA-damaged protection and antiproliferative activities of ethyl acetate and n-butanol extracts of *Centaurea sphaerocephala*L. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 91(3), e20180462. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920180462>

Ludeman, S. M. (1999). The chemistry of the metabolites of cyclophosphamide. *Current pharmaceutical design*, 5, 627-644.

Madrazo-Ibarra, A., & Vaitla, P. (2023). Histology, nephron. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.

Mansoury, M. (2020). Renoprotective influence of *Teucrium polium* leaf extract on Rats Intoxicated by Cyclophosphamide.

McClure, M. T., & Stupans, I. (1992). Investigation of the mechanism by which cyclophosphamide alters cytochrome P450 in male rats. *Biochemical pharmacology*, 43(12), 2655-2658.

Mecheri, A., Hammoud, L., Belahcene, S., Boubekri, N., Kout, M., Benayache, F., & Amrani, A. (2024). In Vitro Antioxidant Activity of *Asteriscus Graveolens* (Forsk.) and Its Protective Effect on Doxorubicin-Induced Hepatotoxicity and Testicular Oxidative Damage in Rats. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 57(12), 1956–1966. <https://doi.org/10.1007/s11094-024-03102-4>

Meng, Y., Sui, L., Xu, T., Zhao, H., Yuan, Q., & Sun, L. (2025). Research and Application Prospect of Nanomedicine in Kidney Disease : A Bibliometric Analysis From 2003 to 2024. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 20, 3007-3030. <https://doi.org/10.2147/IJN.S510016>

Mohsin, N., Akhtar, M. S., Alkahtani, S. A., Walbi, I. A., Alhazmi, Y., Alam, Md. N., & Bhardwaj, A. (2024). Nephroprotective Effect of Bergapten Against Cyclophosphamide-Mediated Renal Stress, Inflammation, and Fibrosis in Wistar Rats : Probable Role of NF- κ B

and TGF- β 1 Signaling Molecules. ACS Omega, 9(16), 18296-18303.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.4c00124>

Molitoris, B. A. (2022). Low-Flow Acute Kidney Injury : The Pathophysiology of Prerenal Azotemia, Abdominal Compartment Syndrome, and Obstructive Uropathy. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 17(7), 1039-1049.
<https://doi.org/10.2215/CJN.15341121>

O'Callaghan, C. (2016). The renal system at a glance. John Wiley & Sons.

Ozcan Metin, T., Turk, A., Yalcin, A., & Adanir, I. (2023). Anti-inflammatory and anti-apoptotic potential of beta-glucan on chemotherapy-induced nephrotoxicity in rats : β -glucan on cyclophosphamide-induced nephrotoxicity. Journal of Surgery and Medicine, 7(1), 35-39.
<https://doi.org/10.28982/josam.7459>

Pannabecker, T. L. (2012). Structure and function of the thin limbs of the loop of Henle. Comprehensive physiology, 2(3), 2063-2086.

Pannu, N., & Nadim, M. K. (2008). An overview of drug-induced acute kidney injury: Critical Care Medicine, 36(Suppl), S216-S223. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e318168e375>

Pannu, N., & Nadim, M. K. (2008). An overview of drug-induced acute kidney injury: Critical Care Medicine, 36(Suppl), S216-S223. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e318168e375>

Perazella, M. A. (2019). Drug-induced acute kidney injury : Diverse mechanisms of tubular injury. Current opinion in critical care, 25(6), 550-557.

Perazella, M. A., & Rosner, M. H. (2022). Drug-Induced Acute Kidney Injury. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 17(8), 1220-1233.
<https://doi.org/10.2215/CJN.11290821>

Perazella, M. A., & Rosner, M. H. (2022). Drug-Induced Acute Kidney Injury. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 17(8), 1220-1233.
<https://doi.org/10.2215/CJN.11290821>

Pérez-Herrero, E., & Fernández-Medarde, A. (2015). Advanced targeted therapies in cancer : Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 93, 52-79. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.03.018>

Pharmacology Department, Faculty of Medicine, Sabratha University, Libya, & Azab, A. E. (2020). Anti-dyslipidemic effect of zinc oxide nanoparticles against cyclophosphamide induced dyslipidemia in male albino rats. *The Gazette of Medical Sciences*, 1(1), 055-063. <https://doi.org/10.46766/thegms.pharmaco.20050901>

Potential Protective Effects of Antioxidants against Cyclophosphamide-Induced Nephrotoxicity. International Journal of Nephrology, 2022, 1-12.
<https://doi.org/10.1155/2022/5096825>

Refaie, M. M. M., Shehata, S., El-Hussieny, M., Abdelraheem, W. M., & Bayoumi, A. M. A. (2020). Role of ATP-Sensitive Potassium Channel (KATP) and eNOS in Mediating the Protective Effect of Nicorandil in Cyclophosphamide-Induced Cardiotoxicity. *Cardiovascular Toxicology*, 20(1), 71-81. <https://doi.org/10.1007/s12012-019-09535-8>

Rehman, M. U., Tahir, M., Ali, F., Qamar, W., Lateef, A., Khan, R., Quaiyoom, A., Oday-O-Hamiza, & Sultana, S. (2012). Cyclophosphamide-induced nephrotoxicity, genotoxicity, and damage in kidney genomic DNA of Swiss albino mice : The protective effect of Ellagic acid. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 365(1-2), 119-127. <https://doi.org/10.1007/s11010-012-1250-x>

Sadeghi, A., Kalantar, M., Molavinia, S., Houshmand, G., Bahadoram, M., Esmaeilizadeh, M., & Goudarzi, M. (2017). Ameliorative effects of hydroalcoholic extract of *Lavandula officinalis* L. on cyclophosphamide-induced nephrotoxicity in mice. *Journal of Nephropathology*, 6(4), 324-332. <https://doi.org/10.15171/jnp.2017.52>

Sahay, M., Kalra, S., & Bandgar, T. (2012). Renal endocrinology : The new frontier. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16(2), 154. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.93729>

Salachna, P., Pietrak, A., & Łopusiewicz, Ł. (2021). Antioxidant Potential of Flower Extracts from *Centaurea* spp. Depends on Their Content of Phenolics, Flavonoids and Free Amino Acids. *Molecules*, 26(24), 7465. <https://doi.org/10.3390/molecules26247465>

Schultz, A. (1984). Uric acid. *Clin. Chem*, The CV Mosby Co. St. Louis. Toronto. Princeton, 16(10), 1261-1266.

Smith, H. W. (1951). The kidney : Structure and function in health and disease. Oxford University Press.

- Souza, L. da C. M., Fernandes, F. H., Presti, P. T., Ferreira, A. L. A., & Salvadori, D. M. F. (2021).** Effect of doxorubicin on cardiac lipid metabolism-related transcriptome and the protective activity of Alda-1. *European Journal of Pharmacology*, 898, 173955.
- Sudhakar, A. (2009).** History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *Journal of Cancer Science & Therapy*, 01(02), i-iv. <https://doi.org/10.4172/1948-5956.100000e2>
- Temel, Y., Kucukler, S., Yıldırım, S., Caglayan, C., & Kandemir, F. M. (2020).** Protective effect of chrysins on cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity via the inhibition of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 393(3), 325-337. <https://doi.org/10.1007/s00210-019-01741-z>
- Tirichen, H., Yaigoub, H., Xu, W., Wu, C., Li, R., & Li, Y. (2021).** Mitochondrial Reactive Oxygen Species and Their Contribution in Chronic Kidney Disease Progression Through Oxidative Stress. *Frontiers in Physiology*, 12, 627837. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.627837>
- Tripathi, D. N., & Jena, G. B. (2009).** Intervention of astaxanthin against cyclophosphamide-induced oxidative stress and DNA damage : A study in mice. *Chemico-Biological Interactions*, 180(3), 398-406. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2009.03.017>
- Tripathi, P., & Alshahrani, S. (2021).** Mitigation of IL-1 β , IL-6, TNF- α , and markers of apoptosis by ursolic acid against cisplatin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Human & Experimental Toxicology*, 40(12_suppl), S397-S405. <https://doi.org/10.1177/09603271211045953>
- Uyumlu, A. B., Satılmış, B., Atıcı, B., & Taşlıdere, A. (2023).** Phenethyl isothiocyanate protects against cyclophosphamide-induced nephrotoxicity via nuclear factor E2-related factor 2 pathway in rats. *Experimental Biology and Medicine*, 248(2), 157-164. <https://doi.org/10.1177/15353702221139206>
- Wanas, H., El-Shabrawy, M., Mishriki, A., Attia, H., Emam, M., & Aboulhoda, B. E. (2021).** Nebivolol protects against cyclophosphamide-induced nephrotoxicity through modulation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 48(5), 811-819. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13481>
- Zehani, L., Kerkatou, W., Hamdouche, S., Lassed, S., Boumaza, O., Benayache, F., Benayache, S., & Zama, D. (2022).** Protective Effect of Algerian Genista vepres Pomel Plant

Against Isoniazid and Rifampicin Induced Liver Injury in Wistar Albino Rats. *Current Bioactive Compounds*, 18(4), 72–80. <https://doi.org/10.2174/1573407217666210922113300>

Zhang, J., Tian, Q., & Zhou, S.-F. (2006). Clinical Pharmacology of Cyclophosphamide and Ifosfamide. *Current Drug Therapy*, 1(1), 55–84. <https://doi.org/10.2174/157488506775268515>

Zhuo, J. L., & Li, X. C. (2013). Proximal Nephron. In R. Terjung (Éd.), *Comprehensive Physiology* (1reéd., p. 1079–1123). Wiley. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110061>

Impact de l'extrait phénolique de *Centaurea sp.* sur la toxicité rénale induite par le cyclophosphamide : modèle expérimental chez le rat**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Toxicologie****Résumé**

Le cyclophosphamide (CP) est un agent antinéoplasique largement utilisé, dont l'efficacité clinique est démontrée dans le traitement de divers types de cancers. Cette étude vise à déterminer l'effet protecteur de la vitamine E ou de l'extrait de la plante contre les effets néphrotoxiques induits par le CP.

Ce travail de recherche a porté sur l'investigation de l'effet protecteur de l'extrait *n*-butanolique de *Centaurea sp.* (200 mg/kg, par gavage pendant 6 jours) contre la toxicité rénale induite par le cyclophosphamide (200 mg/kg, le 4^{ème} jour par voie intrapéritonéale) chez des rats mâles de souche *Wistar Albinos*. La créatinine, l'urée, cholestérol, triglycérides et LDH ont été estimés. Une étude histopathologique a été déterminée.

Les résultats de l'étude ont révélé des effets toxiques, caractérisés par une augmentation des taux de créatinine et d'urée sériques, indiquant une néphrotoxicité. En outre, des changements significatifs de l'activité enzymatique LDH et de la concentration de cholestérol et de triglycérides ont été observés. Ce dysfonctionnement a été accompagné par des altérations et des changements de l'architecture rénale.

Le prétraitement par l'extrait de butanolique ou la vitamine E a significativement atténué les altérations biochimiques induites, suggérant un effet nephroprotecteur potentiel. Ces observations ont été confirmées par l'analyse histologique, qui a montré que, contrairement au groupe traité uniquement par le cyclophosphamide, les groupes co-traités ont conservé une architecture rénale relativement préservée.

Les résultats montrent également que la vitamine E ou l'extrait de centaurée améliorent le déséquilibre des paramètres biochimiques, réduisant la sévérité du stress oxydatif et la toxicité induite par le cyclophosphamide.

Mots clés : Cyclophosphamide, *Centaurea sp.*, Nephrotoxicité, Activité antioxydante, Polyphénols.

Laboratoires de recherche : laboratoire de VARENBIOMOL (U Constantine 1 Frères Mentouri)

Présidente du jury : Pr. Amrani Amel (PROF - U Constantine 1 Frères Mentouri)

Encadrant : Dr. Boubekri Nassima (MC(A) - U Constantine 1 Frères Mentouri)

Examinateur : Dr. Kabouche Sami (MC(A) - U Constantine 1 Frères Mentouri)

Examinateuse : M^{me} Dehili Nedjoua (MAA- U Constantine 1 Frères Mentouri)