



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : 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 et santé*

Intitulé :

L'effet néphroprotecteur de la vitamine E dans la toxicité induite par le cisplatine chez les souris

Présenté et soutenu par :

Le : 15/06/2015

SEKRANI ibtissem

OULMI awatef

Jury d'évaluation :

Président du jury :	M ^{me} Amadeh Souad	Professeur	UFM Constantine
Rapporteur :	M ^f Benrebai Mouad	M.CA	UFM Constantine
Examineurs :	M ^{me} Tour Hanifa	M.A	UFM Constantine
	M ^{elle} Latreche Aicha	M.A	Université abd el hamid mehri Constantine

*Année universitaire
2014 - 2015*

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant tout nos remerciements à Dieu le tout puissant qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nos vifs remerciements s'adressent :

A notre encadreur monsieur *BENREBIA mouad* pour ton encadrement, ta disponibilité, ton efficacité et surtout ta rigueur scientifique. Merci de ton guidage lors de cette recherche.

Nos remerciements aussi au membre de jury :

Mme *AMADEH souad* présidente de jury d'avoir accepté de juger ce travail et de nous faire l'honneur de présider ce jury de mémoire.

Mme *TOUR hanifa* d'avoir accepté de juger ce travail comme examinateur. Soyez assurés de notre profonde reconnaissance.

Mlle *LATRECHE aicha* d'avoir accepté de juger ce travail. Soyez assurée de notre profonde gratitude.

Sans oublier de remercier Mlle *BAYOUD kenza* pour leur soutien moral et technique.

Nos remerciements aussi à toute personne qui a participé à la réalisation de ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail :

À mes parents :

Pour leur amour, sacrifices, aide et soutien ; qui n'ont
toujours encouragé tout au long de mes études.

À ma seule sœur :

SAMIRA

À mes frères :

ABDEL HALIM, RAMZI, RAGHEB

Merci pour vos encouragements

À mon frère :

CHAOUKI et sa femme SAMIHA

À mon neveu DAYAE EDDJINNE et mes nièces ARYEM, ANSEM, DJINANE

À mon fiancé :

BOUBAKER

À mes amies :

AWATEF, KENZA, HANEN, IMEN

À toute ma famille :

**A tous mes camarades de la promotion de
master toxicologie et santé.**

IBTISSEM



Je dédie ce modeste travail :

À mes parents :

Pour leur amour, sacrifices, aide et soutien ; qui n'ont
toujours encouragé tout au long de mes études.

À mes sœurs :

SOFIA et DOUNIA ; Et à ma grande mère WRIDA;

Merci pour vos encouragements

À mes neuves :

NASSIM et ABD EL RAHMEN

À mes amies :

IBTISSSEM, RAYENE, SALIHA, NARIMENE, MERJEM

, HADJER et WAHIDA.

À toute ma famille

**A tous mes camarades de la
toxicologie et santé.**

AWATEF



Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

	Page
Introduction	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
I. Rein	
1. Anatomie du rein	3
1.1. Le cortex périphérique	3
1.2. La médullaire profonde centrale	3
1.3. Le néphron	4
1.3.1. Corpuscule rénale (corpuscule de Malpighi)	5
1.3.1.1. Le glomérule	5
1.3.1.2. La capsule de Bowman	5
1.3.2. Le tubule rénal	6
1.3.2.1. Le tube contourné proximal (TCP)	6
1.3.2.2. L'anse de Henlé	7
1.3.2.3. Le tube contourné distal(TCD)	7
1.3.2.4. Le tube collecteur (TC)	7
1.4. Appareil juxtaglomérulaire	8
2. Physiologie du rein	8
3. Physiologie du néphron	9
3.1. La filtration glomérulaire	9
3.2. La réabsorption tubulaire	9
3.3. La sécrétion tubulaire	9
II. Néphrotoxicité médicamenteuse	
1. Les différents types de néphrotoxicité médicamenteuse	12
1.1. Atteinte pré-rénale	12
1.1.1. Exemple des AINS	13
1.1.2. Exemple de la ciclosporine	13
1.2. La nécrose tubulaire aiguë (NTA)	13
1.2.1. Exemple des aminosides	14

1.2.2. Exemple du foscarnet	14
1.3. La néphrite interstitielle aiguë (NIA)	14
1.4. Les néphropathies obstructives	15
1.5. Les néphropathies glomérulaires	15
1.6. Les néphropathies vasculaires	16
2. Les bio-marqueurs de la néphrotoxicité	16
III. Cisplatine	
1. Définition	18
2. Historique	18
3. Structure et propriétés physico-chimiques	18
3.1. Structure	18
3.2. Propriétés physico-chimiques	19
4. Propriétés pharmaceutiques	19
5. Pharmacodynamique	19
6. Pharmacocinétique	20
7. Mécanisme d'action	21
8. Mécanismes cellulaires de la néphrotoxicité	21
IV. Stress oxydatif et antioxydants	
1. Définition	23
2. Sources des espèces réactives oxygénées ROS	23
2.1. Sources exogènes	23
2.2. Sources endogènes	23
3. Les radicaux libres	24
3.1. Définition	24
3.2. Les différents radicaux libres oxygénés	24
3.2.1. L'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$	24
3.2.2. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2	25
3.2.3. Le radical hydroxyle OH^{\bullet}	25
3.2.4. L'oxygène singlet 1O_2	26
3.2.5. L'oxyde nitrique NO^{\bullet}	26
3.2.6. Le nitrique dioxyde NO_2^{\bullet}	26
4. Les cibles biologiques des ROS	28
4.1. Les lipides	28

4.2. Les protéines	30
4.3. Les acides nucléiques	31
5. Rôles des ROS	32
6. Les systèmes de défenses anti-oxydants	33
6.1. Les antioxydants enzymatiques	33
6.2. Les antioxydants non enzymatiques	34
6.2.1. Le glutathion	35
6.2.2. Les oligoéléments	35
6.2.2.1. Le zinc	35
6.2.2.2. Le cuivre	35
6.2.2.3. Le sélénium	35
6.2.3. Les polyphénols	36
6.2.3.1 Les flavonoïdes	36
6.2.4. La β -carotène	36
6.2.5. La vitamine C	36
6.2.6. La vitamine E	37
6.2.6.1. Structure de la VIT E	37
6.2.6.2. Propriétés physico-chimiques de la VIT E	37
6.2.6.3. Métabolisme de la VIT E	38
6.2.6.4. Rôle antioxydant de la VIT E	38

Partie II : Partie expérimentale

V. Matériels et Méthodes

1. Animaux	39
1.1. Induction de la néphrotoxicité	39
1.2. Traitement d'animaux	39
2. Dosages biochimiques	39
2.1. Les paramètres de néphrotoxicité	39
2.1.1. L'urée	39
2.1.2. La créatinine	40
3. Évaluation du statut oxydatif au niveau rénale	40
3.1. Préparation de l'homogénat et la fraction cytosolique rénale	40
3.2. Dosage du malondialdéhyde (MDA)	40
3.2.1. Principe de la méthode	41

3.2.2. Réactifs et solvants	41
3.2.3. Procédure	41
3.3. Dosage de glutathion (GSH)	42
3.3.1. Principe de la méthode	42
3.3.2. Réactifs et solvants	42
3.3.3. Procédure	42
3.4. Évaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)	43
3.4.1. Principe de la méthode	43
3.4.2. Réactifs et solvants	43
3.4.3. Procédure	43
VI. Résultats et Discussion	
1. Résultats	44
1.1. Dosage biochimique	44
1.2. Les marqueurs du stress oxydant	44
1.2.1. Le malondialdéhyde (MDA)	44
1.2.2. Le GSH cytosolique	45
1.2.3. La CAT cytosolique	46
2. Discussion	47
Conclusion	51
Résumé	
Références bibliographiques	

Liste des tableaux

	Page
Tableau 1 : Résumé les différentes parties du néphron.	11
Tableau 2 : Les différentes bio-marqueurs de la néphrotoxicité.	17
Tableau 3 : Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques.	27
Tableau 4 : Les antioxydants enzymatiques et leurs caractéristiques.	34
Tableau 5 : Structure des tocotriénols.	38
Tableau 6 : L'effet néphroprotecteur de la vitamine E (100 mg/Kg) sur la fonction rénale altérée par la cisplatine.	46

Liste des figures

	Page
Figure 1 : Coupe sagittale du rein.	3
Figure 2 : Anatomie du néphron et sa localisation dans le rein.	4
Figure 3 : Coupe sagittale du corpuscule de Malpighi permettant de voir les structures internes.	6
Figure 4 : Segmentation fonctionnelle du tubule rénal.	7
Figure 5 : Physiologie du néphron.	10
Figure 6: La structure de la cis-platine [(NH₃)₂Pt(OH)₂].	19
Figure 7: Hydrolyse du cis-platine.	21
Figure 8 : Origine et réponse cellulaire aux ROS.	24
Figure 9: Les différentes Espèces Réactives de l'Oxygène.	27
Figure 10 : Les étapes du mécanisme de la peroxydation lipidique.	29
Figure 11: Réactions en chaîne de la peroxydation lipidique et ses produits terminaux	30
Figure 12: Caractéristiques morphologiques de l'apoptose et de la nécrose.	31
Figure 13: Les différentes cibles d'espèces réactives de l'oxygène. .	32
Figure 14 : Pyramide des systèmes de défenses antioxydants.	33
Figure 15: Formation d'adduit MDA-TBA.	42
Figure 16: La réaction entre DTNB et le GSH.	43
Figure 17:L'effet protecteur de la vitamine E (100 mg/Kg, 10 jours) sur le taux du MDA induit par la cisplatine (8 mg/Kg. ip.).	46
Figure 18:L'effet protecteur de la vitamine E (100 mg/Kg, 10 jours) sur la réduction du GSH induite par le cisplatine (8 mg/Kg, ip.).	47
Figure 19 :L'effet protecteur de laVit E (100 mg/Kg, 10 jours) sur la reduction de l'activité de la CAT, induite par la cisplatine (8 mg/Kg, ip.).	48

Liste des abréviations

μl : Microlitre.

μmol: Micromole.

¹O₂: Oxygène singulet.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AG : Acide Gras.

AGPI : Acide Gras Polyinsature.

AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdienne.

ARN : Acide Ribonucléique.

Bcl2: B-cell Lymphoma 2.

BTP : β-Trace Protéine.

C°: Degré Celsius

CAT: Catalase.

CDDP : Cis-diaminedichloroplatine

CH₃ : Groupement methyl.

CO₂: Dioxyde de carbone

COX: Cyclo-Oxygénase.

Cu⁺²: Ion cuivre.

DFG : Débit de Filtration Glomérulaire.

DTNB: 5,5'-Dithiobis-(2-Nitrobenzoic Acid

e⁻ : Electron.

E.Coli : Escherichia Coli.

EDTA : Ethylene Diamine Tetraacetic.

EOA : Espèces Oxygénées Activées.

Fe : Fer.

Fe²⁺ : Fer Ferreux.

Fe³⁺ : Fer Ferrique.

FG : Filtration Glomérulaire.

g: gramme .

GLD : Glutamate Déshydrogénase.

GPx : Glutathion Peroxydase.

GR : Glutathion Reductase.

GSH : Glutathion Réduit.

GSSG : Glutathion Oxydé.

GST: Glutathionne-S-Transférase.

H⁺ : Ion Hydrogène.

H₂O : Molécule d'eau.

H₂O₂ : Peroxyde D'hydrogène (Eau oxygénée).

IECA : Inhibiteurs de l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine.

IL : Interleukine.

Ip : Intra-péritonéale.

IRA : Insuffisance Rénale Aigue.

KCl : Chlorure de potassium.

Kg : Killogramme.

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien.

LDL: Low Density Lipoprotein (Lipoprotéines de basse densité)

M : Molarité

MAT : Microangiopathie Thrombotique.

MDA: Malondialdéhyde.

Mg : Milligramme.

Min : Minute.

ml : Millilitre.

mm : Millimètre.

mmol: Milimole.

Mn : Manganèse.

Na⁺ : Ion de sodium.

NaCl : Chlorure de sodium.

NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide réduit.

NADP⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate oxydé.

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

NGAL : Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin

NH₃ : Ammoniac

NIA : Néphrite Interstitielle Aigue.

Nm : Nanomètre.

NO[•]: Nitric oxide.

NO₂: Dioxyde d'azote.

NO₂[•]: Nitrique Dioxyde.

NTA : Nécrose Tubulaire Aigue.

O₂: Dioxygène.

O₂⁻ : Anion Superoxyde.

OH⁻: Ion Hydroxyde.

OH[•]: Radical Hydroxyle.

ONOO⁻ : Peroxynitrite.

P53: Protéine 53.

PH: Potentiel d'Hydrogène

PL: Phospholipide.

PM : Poids Moléculaire.

Pt²⁺ : Ion de Platine

PTT: Purpura Thrombotique Thombocytopénique.

R[•]: Radical.

RBP: Retinol-Binding Protein.

RL: Radical Libre.

RPTECs : Cellules Epithéliales du Tubule Proximal.

ROO[•]: Radical proxy.

ROOH: Hydro-peroxyde.

ROS: Reactive oxygen species

Se : Sélénium

SH: Groupements Sulfhydryles

SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique.

SO₂ : Dioxyde De Sulfure

SOD: Superoxyde Dismutase

TBA: Thiobarbiturique acid.

TC: Tube Collecteur.

TCA: Tricholor-Acetic-Acid

TCD: Tube Contourné Distal.

TCP: Tube Contourné Proximal.

TNB: Thionitrobenzoïque.

TRx: Thiorédoxine.

TRxR : Thiorédoxine réductase.

UI : Unité internationale.

UV: Ultra-Violet.

VADS : Voies Aéro-Digestives Supérieures

Vit. C : Vitamine C.

Vit. E : Vitamine E.

Zn: Zinc.

Introduction

Introduction

Le rein joue un rôle capital dans le maintien de l'équilibre hydrique, électrolytique et acido-basique. Il assure aussi l'excrétion des déchets métaboliques et des produits exogènes, tout en conservant les éléments essentiels. Il possède également des fonctions endocriniennes primaires, en tant que site de synthèse d'hormones (érythropoïétine, rénine, prostaglandines, calcitriol), et secondaires en étant le site d'action d'hormones synthétisées ou activées ailleurs (aldostérone, angiotensine II, vasopressine) [1].

Le rein est particulièrement vulnérable à plusieurs substances toxiques comme (AINS, cyclosporine et cisplatine ...etc.) qui sont susceptibles de lui causer des dégâts à différents sites et de perturber ainsi certaines de ses fonctions [2].

Le cisplatine est l'un des agents chimio-thérapeutiques les plus efficaces utilisés dans la gestion d'une variété de tumeurs, y compris le cancer des testicules, tumeurs des cellules germinales de l'ovaire et le cancer du col de l'utérus [3]. Son activité thérapeutique est fonction de la dose dépendante, mais la réalisation de son plein potentiel thérapeutique est limitée principalement par sa néphrotoxicité [4].

La lésion néphrotoxique est un dégât qui peut toucher un ou les deux reins et résulte d'une exposition à une substance toxique qui peut se produire en de nombreuses manières différentes, en fonction du type de l'agent. La toxine a un effet direct sur le glomérule ou les tubules rénaux et conduit à la destruction des cellules [5 et 6].

Les mécanismes de cette dernière sont mal connus, cependant de plus en plus des preuves expérimentales apportent des éléments de réponses à la question. Le stress oxydatif fait partie de la liste des candidats ou plutôt des accusés [7,8].

Diverses études ont révélé que le cisplatine induit des dégâts rénaux dus à l'implication du stress oxydatif via la formation de radicaux libres qui à leurs tours provoquent des troubles de la réabsorption tubulaire proximale, des ions sodium (Na^+) de l'eau et de glucose [9]. Le mécanisme par lequel le médicament exerce son action toxique n'est pas encore systématiquement élucidé [10].

Plusieurs stratégies de prévention ont été testées pour atténuer expérimentalement la néphrotoxicité du cisplatine, en utilisant certains antioxydants comme (la vitamine E et le sélénium...etc.) [11, 12 et 13], aussi des modulateurs de l'oxyde nitrique comme (complexe de l'histidine de zinc) [14], ainsi que d'autres substances diurétiques comme (furosémide et le mannitol) [15] qui sont des agents cytoprotecteurs et anti-apoptotiques [16].

Introduction

Dans notre étude on a choisi la vitamine E comme substances de travail qu'est la molécule anti-oxydante liposoluble la plus abondante dans notre organisme. Elle est présente dans les membranes cellulaires et circule dans le sang liée aux lipoprotéines.

L'objectif essentiel de notre étude consiste à étudier l'activité anti-oxydante de la vitamine E dans la néphrotoxicité expérimentale induite par le cisplatine chez les souris.

Partie
Partie

Bibliographique
Bibliographique

Le rein

1. Anatomie du rein

Les reins sont des organes primordiaux, vitaux et doubles, qui se trouvent de part et d'autre de la colonne vertébrale à peu près à la hauteur des fausses côtes [17].

Un rein d'un individu sain adulte mesure en moyenne 12cm de longueur, 6 cm de largeur et 3cm d'épaisseur [18].

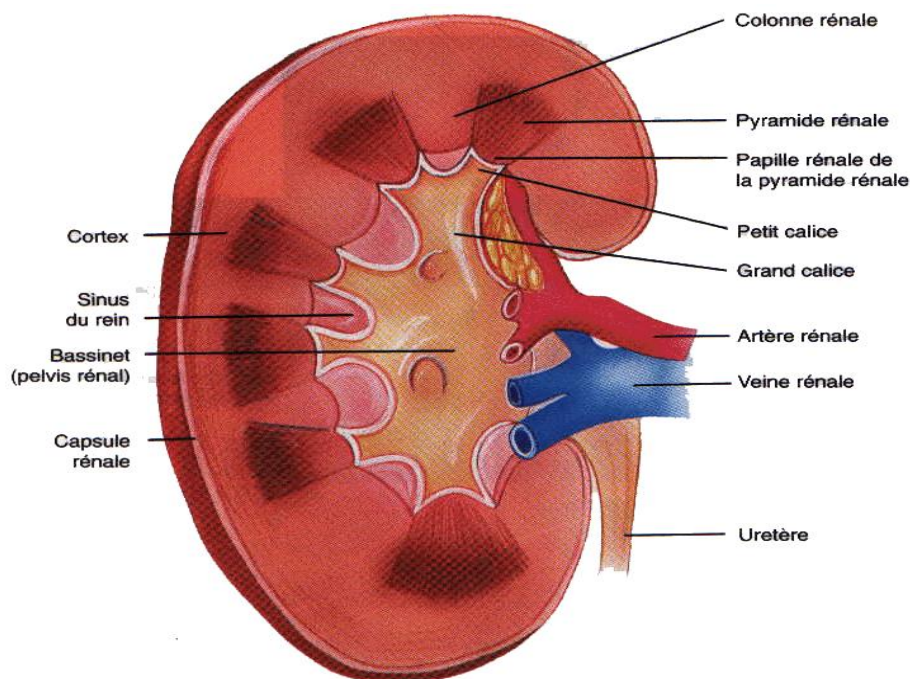


Figure 1 : Coupe sagittale du rein [18].

Le parenchyme rénal est divisé en deux zones distinctes: la médullaire interne et la corticale externe.

1.1. Le cortex périphérique

C'est la partie la plus externe du rein ; il est de couleur pâle, d'une épaisseur un centimètre environ, recouvre la médulla rénale, de couleur rouge brun. Le cortex contient tous les corpuscules rénaux [19].

1.2. La médulla profonde centrale

La médulle rénale présente de 8 à 18 régions à peu près triangulaires et d'aspect strié qui portent le nom de pyramides rénales, ou pyramides de Malpighi. La base de la pyramide rénale est orientée vers le cortex rénal, tandis que son sommet, appelé papille rénale, est

tourné vers l'intérieur du rein. Les pyramides sont séparées par des prolongements du tissu cortical appelés colonnes rénales (ou colonnes de Bertin) [19].

Cet aspect macroscopique du parenchyme rénal est dû à l'arrangement spatial des tubules rénaux qui constituent les unités morphologiques et fonctionnelles du rein [19].

1.3. Le néphron

Chaque rein contient plus d'un million de minuscules néphrons, les unités structurales et fonctionnelles des reins qui assurent la formation de l'urine [20]. La figure (2) montre leur anatomie et leur localisation relative dans chaque rein.

Le néphron comporte deux parties physiologiquement et anatomiquement distinctes ; une partie filtrante, portant le nom de glomérule, unité de filtration, et une partie tubulaire conduit l'ultra filtrat vers un urtère collecteur [21].

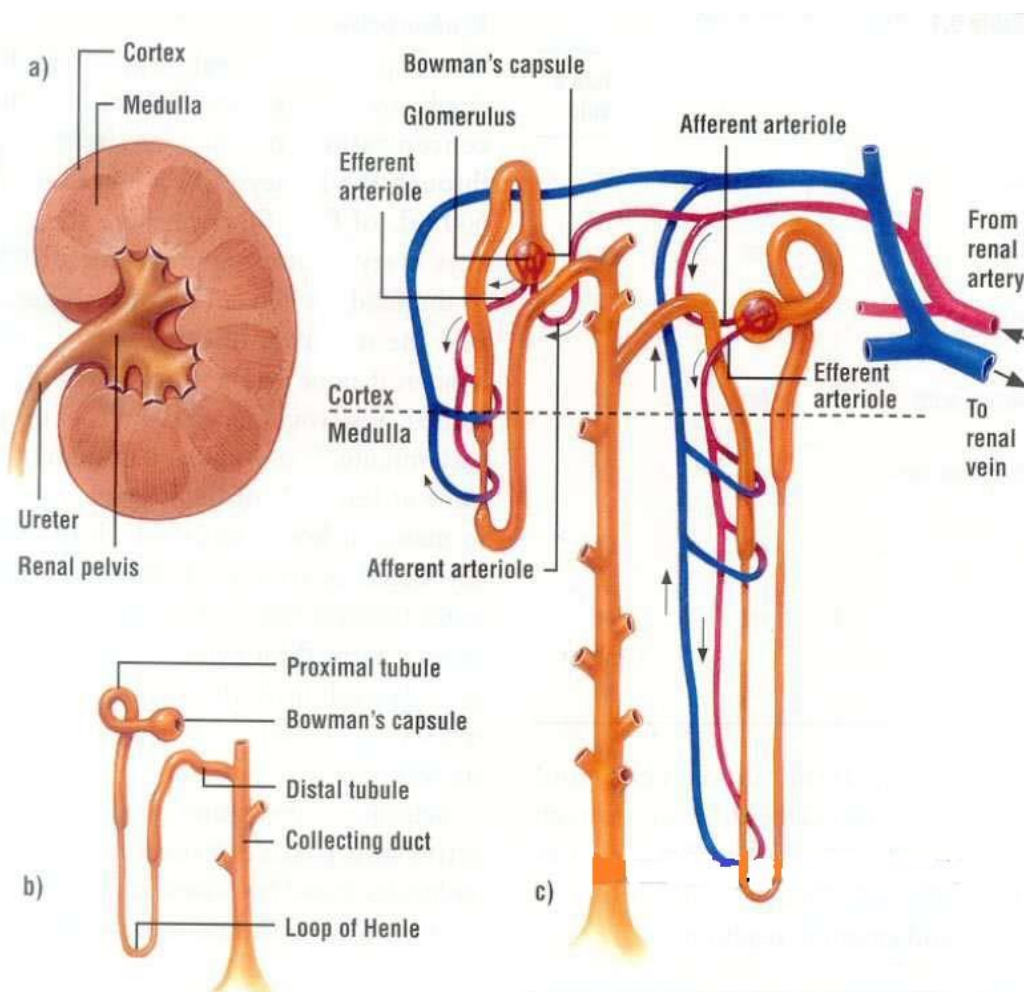


Figure 2 : Anatomie du néphron et sa localisation dans le rein [21].

1.3.1. Corpuscule rénal (corpuscule de Malpighi)

Chaque corpuscule rénal est constitué d'une touffe compacte d'anses capillaires interconnectées appelées **glomérule** ou **capillaires glomérulaires**. Chaque glomérule reçoit du sang par une artériole appelée **artériole afférente**. Le glomérule fait saillie dans une capsule remplie de liquide appelée **capsule de Bowman**.

Le couple glomérule et capsule de Bowman forme le corpuscule rénal. Quand le sang traverse le glomérule près de 20% du plasma est filtré dans la capsule de Bowman. Le reste quitte le glomérule par l'**artériole efférente** [22].

1.3.1.1. Le glomérule

Un glomérule est un réseau de petits vaisseaux sanguins (bouquet de capillaires) [22].

1.3.1.2. La capsule de Bowman

La capsule glomérulaire rénale (capsule de Bowman) est formée de deux (2) feuillets : viscéral (interne), pariétal (externe) [22].

- ✚ La couche interne (feuillelet viscéral) de la capsule est composée de cellules très modifiées en forme de pieuvre appelées **podocytes**. Les podocytes possèdent de longs prolongements ramifiés et enchevêtrés, appelés *pédicelles* « petits pieds », qui s'attachent au glomérule. Comme il y a des ouvertures, ou fentes de filtration, entre leurs prolongements, les podocytes forment une membrane poreuse autour du glomérule [20].
- ✚ La couche externe (feuillelet pariétal) est constituée de l'endothélium capillaire formé d'une seule couche de cellules, et une membrane basale constituée d'une couche protéique non cellulaire également appelée (*lame basale*) séparant l'endothélium de la couche interne [23].

Entre les deux couches de la capsule se trouve un espace, *la chambre glomérulaire* (chambre urinaire) contenant l'ultra filtrat glomérulaire ou l'urine primitive.

Le **mésangium** est un tissu situé au centre du capillaire glomérulaire. Il est formé principalement par des cellules mésangiales entouré par une matrice mésangiale extracellulaire [24].

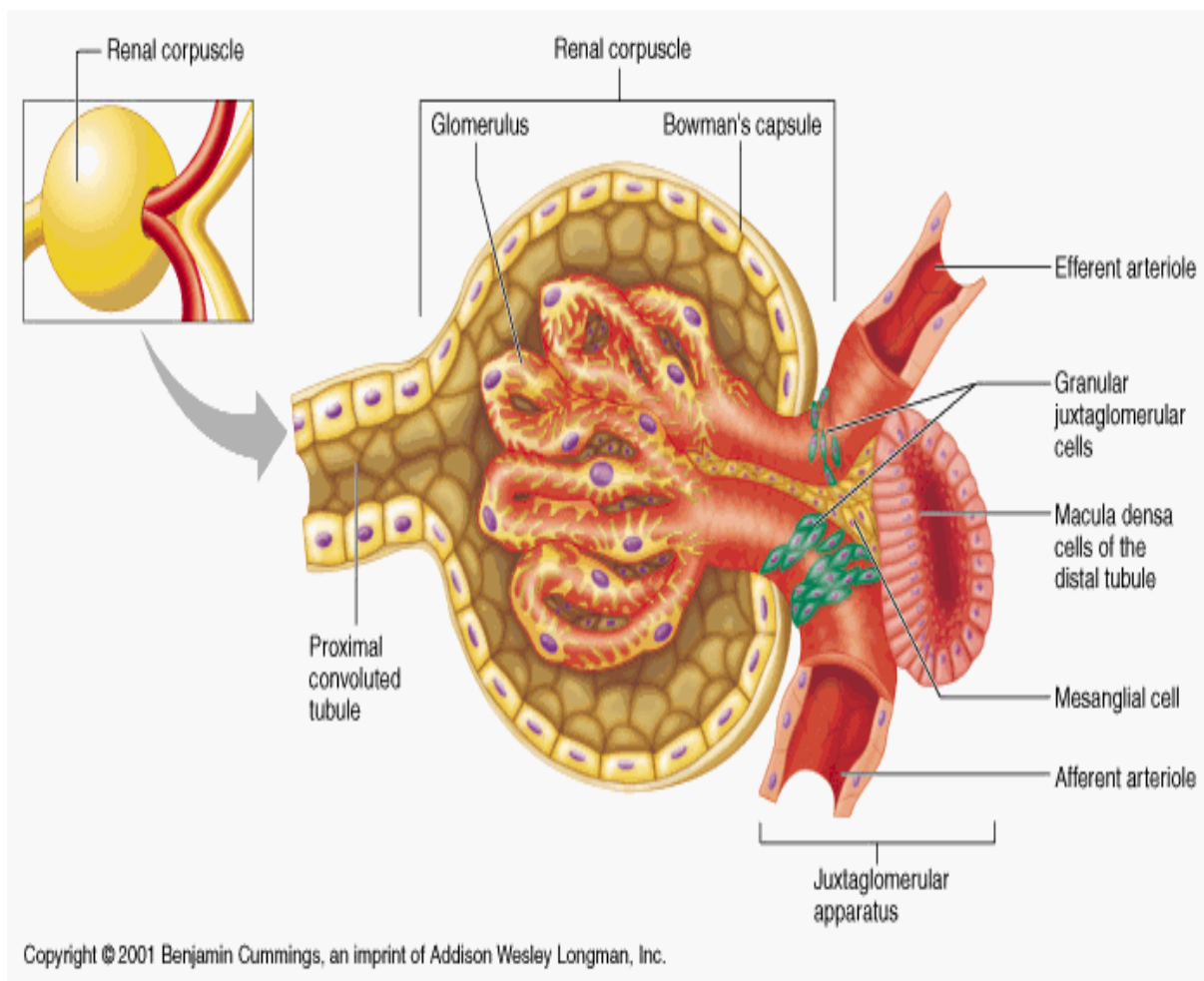


Figure 3 : Coupe sagittale du corpuscule de Malpighi permettant de voir les structures internes [24].

1.3.2. Le tubule rénal

C'est un conduit long d'environ 6 cm très fin, de 0,1 mm de large où va cheminer le liquide filtré par le glomérule pour déboucher dans un calice jusqu'au bassinnet [25].

Le tubule se subdivise en quatre parties fonctionnelles : le tubule proximal, l'anse de Henlé, tubule distal et le tubule collecteur [26]. Sur toute sa longueur, chaque tubule est entouré de capillaires, appelés **capillaires péri-tubulaires** [27].

1.3.2.1. Le tube contourné proximal (TCP)

Le TCP fait suite à la capsule de Bowman, c'est le plus long segment du néphron, il est situé uniquement dans la corticale rénale [28]. La partie apicale des cellules porte des microvillosités denses (bordure en brosse) ce qui augmente considérablement la surface de contact des cellules avec le filtrat [20].

1.3.2.2. L'anse de Henlé

L'anse de Henlé fait suite au TCP [28], c'est un segment en forme d'épingle à cheveux qui s'enfonce en profondeur dans la médullaire et revient ensuite dans la corticale.

L'anse de Henlé est divisée en deux branches, une **branche descendante** étroite et une **branche ascendante** comprenant une partie étroite et une partie large [29].

1.3.2.3. Le tube contourné distal(TCD)

Le TCD est le prolongement de la branche large de l'anse de Henlé après son retour de la médullaire, plus court et moins pelotonné [26]. Les cellules épithéliales de TCD sont cubiques et possèdent peu de microvillosités, au pôle apicale pas de bordure (en brosse) [30].

1.3.2.4. Le tube collecteur (TC)

Le TC est la portion dite terminale de TCD, plusieurs tubules collecteurs convergent pour former **un canal collecteur**, les canaux collecteurs descendent à travers le cortex dans des faisceaux parallèles appelés rayons médullaires ou **pyramides de ferrein** [26].

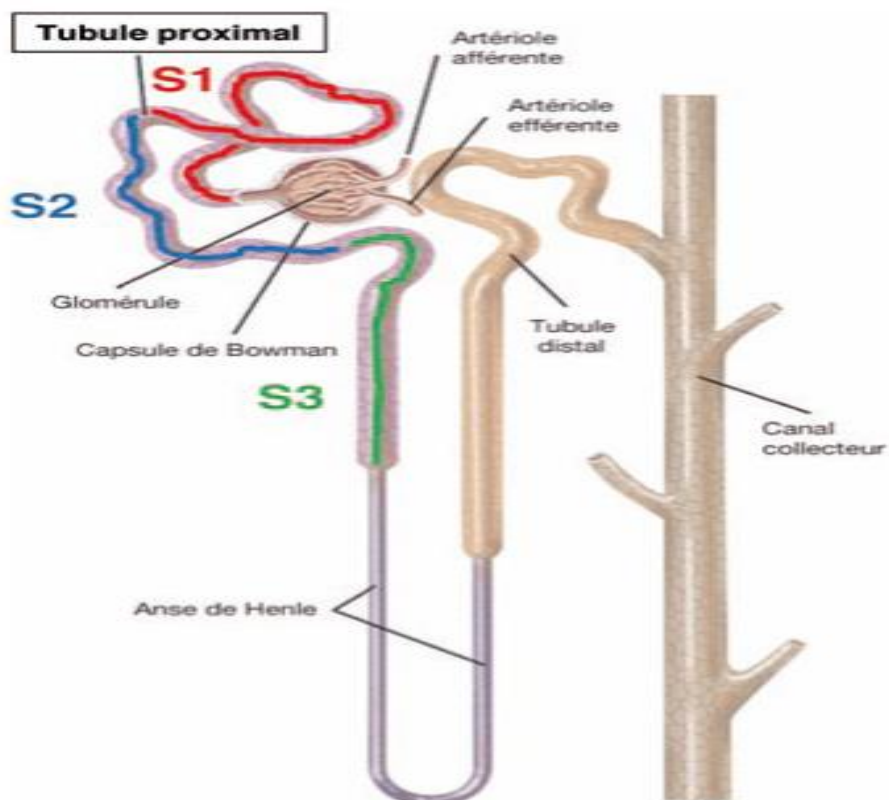


Figure 4 : Segmentation fonctionnelle du tubule rénal [26].

On distingue deux types généraux de néphrons :

- ✓ **Néphrons corticaux** : sont situés presque entièrement dans le cortex rénal.
- ✓ **Néphrons juxta-médullaires** : sont situés très près de la jonction du cortex rénal et de la médulla rénale, et que leurs anses s'enfoncent profondément dans la médulla rénale [30].

1.4. Appareil juxta-glomérulaire

L'appareil juxta glomérulaire est composé d'un amas, *la macula densa*, du mésangium extra-glomérulaire et des artérioles afférente et efférente, il est localisé au pôle vasculaire du corpuscule rénal [31].

2. Physiologie du rein

Les reins sont les organes d'élimination les plus importants du corps, ils reçoivent le sang par les artères rénales droite et gauche. Les veines rénales se jettent dans la veine cave inférieure et ramènent le sang qui a traversé le parenchyme rénal. Les urètres représentent les conduits des voies urinaires, qui vont rejoindre la vessie.

Les reins assurent plusieurs fonctions :

- L'élimination des déchets endogène provenant des différents métabolismes essentiellement des produits azotés, urée (catabolisme des protides), créatinine, bilirubine ; hormones.
- Le maintien de l'homéostasie c.à.d. le maintien de l'équilibre hydro-électrolytique et acido-basique de l'organisme (contrôler les concentrations des électrolytes telles que : sodium, calcium, potassium, chlore, réabsorber des petites molécules telles que : acides aminés, glucose, peptide).
- La détoxification et élimination de déchets exogènes comme les toxines, les antibiotiques, les médicaments et leurs métabolites.
- La sécrétion de certaines hormones (fonction endocrinienne) telles que :
 - Rénine qui participe à la régulation du volume extracellulaire et ainsi de la pression artérielle (la rénine provoque une augmentation du taux d'angiotensine « globuline synthétisée par le foie »).
 - Erythropoïétine est une glycoprotéine produite dans le stroma rénal qui stimule la maturation des globules rouge dans la moelle osseuse
 - Prostaglandine, calcitriol.

- Fonction métabolique : néoglucogenèse (20%). Au cours d'un jeûne prolongé, les reins synthétisent du glucose à partir d'acides aminés et d'autres précurseurs, et le libèrent dans le sang [17].

3. Physiologie du néphron

3.1. La filtration glomérulaire

La filtration est le mouvement du sang vers la lumière du néphron. La filtration a lieu uniquement dans le corpuscule rénal, où les parois des capillaires glomérulaires et de la capsule de Bowman sont agencées de manière à permettre le flux net du liquide [32].

Au passage du sang dans le glomérule, de l'eau et des substances dissoutes, à l'exception des protéines, normalement près de 20% du plasma qui entre dans le glomérule est filtré, la filtration glomérulaire est la 1^{ère} étape de la formation de l'urine [33].

3.2. La réabsorption tubulaire

La réabsorption est le retour vers le sang capillaire péri-tubulaire de substances contenues à l'intérieur de la lumière du tubule, dans l'urine primitive [32].

La majeure partie de la réabsorption a lieu dans les tubules proximaux. Une petite partie de la réabsorption s'effectue dans les segments distaux des néphrons. Cette dernière est régulée, ce qui permet aux reins de renvoyer des ions et de l'eau dans le plasma de façon sélective pour maintenir l'homéostasie [33].

En second lieu, le passage massif des ions et de l'eau dans le tubule par filtration simplifie leur régulation. Si les substances filtrées qui atteignent le néphron distal ne sont pas nécessaires pour maintenir l'homéostasie, elles passent rapidement dans l'urine [33].

La réabsorption peut être active ou passive :

- Passive : elle s'effectue par simple diffusion à travers la paroi tubulaire en fonction du gradient de concentration, exemple : la réabsorption de l'urée.
- Active : elle exige une dépense d'énergie avec consommation d'oxygène, exemple : la réabsorption sodique [34].

3.3. La sécrétion tubulaire

La sécrétion est au contraire l'extraction de molécules particulières contenues dans le sang et leur passage dans l'urine primitive du tubule. Bien que la sécrétion soit, comme la filtration glomérulaire, un passage de substances du sang vers le tubule, c'est un processus

plus sélectif, qui utilise habituellement des transporteurs membranaires pour déplacer des molécules à travers l'épithélium du tubule [32].

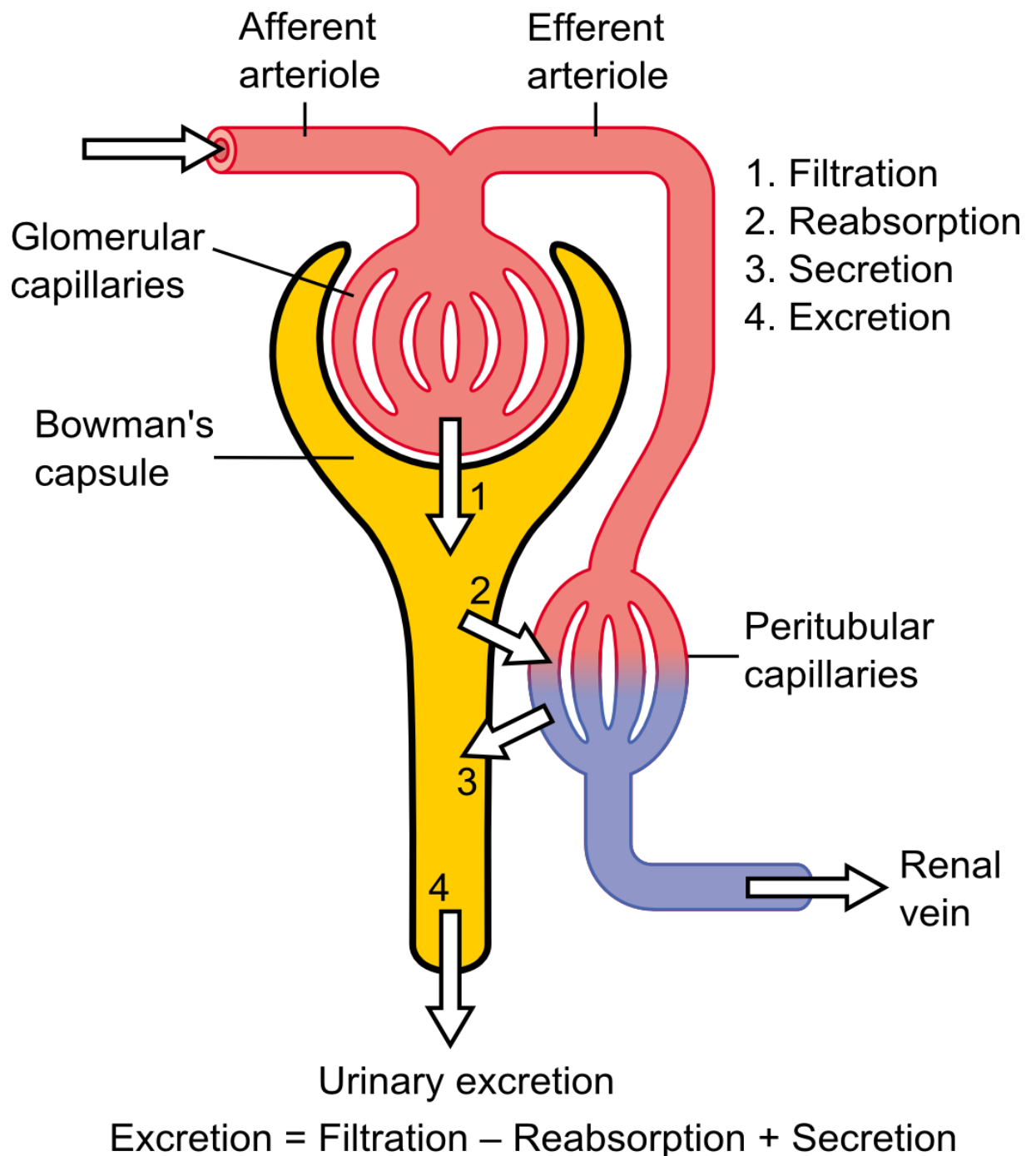


Figure 5 : Physiologie du néphron [32].

Tableau 1 : Résumé les différentes parties du néphron [17].

Le néphron	Le glomérule	Réseau de capillaire très perméable.
	La capsule glomérulaire	Structure en forme de coupe à double paroi composé d'un double épithélium pavimenteux. La couche interne est composée de cellules spécialisées, les podocytes, étroitement associés aux capillaires. Site de la filtration glomérulaire.
	Le tube contourné proximal	Epithélium cubique simple comprenant des microvillosités pour augmenter la surface d'échange. Site principale de réabsorption et de la sécrétion tubulaire.
	L'anse de néphron (anse de Henlé)	Branches ascendante et descendante Rôle dans le mécanisme de concentration de l'urine.
	Le tube contourné distal	Plus court que le tube contourné proximal. Contient des cellules sensorielles spécialisées sensible à la concentration de NaCl, et qui forment la macula densa. Réalisé une partie de la réabsorption et de la sécrétion tubulaire. Rejoint le canal collecteur qui draine la pyramide rénale.

Néphrotoxicité
Néphrotoxicité
médicamenteuse

Néphrotoxicité médicamenteuse

Le rein est un organe particulièrement exposé à la toxicité des médicaments car bon nombre de ceux-ci sont éliminés par voie rénale, soit par filtration glomérulaire (FG), soit par sécrétion tubulaire proximale. Dans le rein mature, la FG représente 20 % du débit plasmatique rénal [35].

Un médicament peut donc atteindre les cellules rénales et leur membrane, soit par le filtrat glomérulaire, soit par le sang péri-tubulaire [35].

Les effets rénaux des médicaments se manifestent par divers mécanismes et peuvent potentiellement toucher toutes les parties du rein (glomérule, tubule, interstitium et vaisseaux) [36].

Les médicaments peuvent provoquer une insuffisance rénale aiguë (IRA) par atteinte directe des tubules rénaux (aminosides), par diminution de l'irrigation rénale (anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)), inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA), cyclosporine, ou par néphrite interstitielle aiguë. Les médicaments peuvent aussi provoquer une insuffisance rénale chronique par néphrite interstitielle chronique et nécrose capillaire (AINS) [37,38].

La majorité des médicaments peuvent provoquer une insuffisance rénale s'ils sont ingérés en quantité toxique. De même, toute insuffisance rénale aiguë peut aussi devenir chronique si l'on n'intervient pas à temps [37].

Plusieurs classes de médicaments ont été associées à une incidence accrue de néphrotoxicité. Les plus fréquentes sont les analgésiques (AINS, acétaminophène), les antibiotiques (aminosides et vancomycine en particulier), les IECA et les agents de contraste [39].

1. Les différents types de néphrotoxicité médicamenteuse

1.1. Atteinte pré-rénale

Lorsqu'il existe une hypoperfusion rénale, la réponse physiologique normale consiste en une augmentation de la synthèse de prostaglandines par le rein [40].

L'enzyme responsable de la biotransformation de l'acide arachidonique en prostaglandine est la cyclo-oxygénase (COX) [40].

Dans conditions physiologiques, l'augmentation de la production de prostaglandines permet une vasodilatation des artérioles afférentes et une meilleure irrigation au niveau glomérulaire. Toutefois, chez les patients présentant une hypoperfusion rénale (maladie rénale

préexistante, sepsis, insuffisance cardiaque...etc), cette réponse physiologique peut être insuffisante pour maintenir le flux sanguin rénal. Cette réponse peut en outre être altérée par des médicaments capables d'inhiber la synthèse de prostaglandines, c'est le cas des AINS [40].

Cette hypoperfusion rénale associée à un traitement favorisant l'hypovolémie peut ainsi entraîner une IRA dite pré-rénale. Celle-ci est caractérisée par une réversibilité rapide de l'atteinte rénale [40].

1.1.1. Exemple des AINS

L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS entraîne une diminution du flux sanguin rénal et de la filtration glomérulaire. C'est essentiellement au cours des situations pathologiques où le système rénine-angiotensine est fortement stimulé que l'action des AINS favorise l'apparition d'une insuffisance rénale. Ces insuffisances rénales ne se traduisent en règle générale que par une élévation de l'urée et de la créatinine sanguines, sans protéinurie ni anomalies du sédiment urinaire [41].

1.1.2. Exemple de la ciclosporine

Une des formes de toxicité rénale de la ciclosporine est liée au déséquilibre entre les médiateurs vasoconstricteurs et vasodilatateurs, menant à une vasoconstriction intrarénale intense et à une baisse du débit sanguin rénal, une augmentation de la résistance vasculaire et une dégradation du DFG. La vasoconstriction survient principalement dans l'artéiole afférente [42].

1.2. La nécrose tubulaire aiguë (NTA)

Il existe plusieurs types de NTA. Celle induite par les médicaments est dite NTA toxique. Elle est caractérisée, en histopathologie, par une nécrose de l'épithélium tubulaire proximal. Les cellules nécrotiques tombent dans la lumière tubulaire, l'obstruent et provoquent une IRA. La membrane basale est intacte, de sorte que la régénération de l'épithélium tubulaire est possible. Les glomérules ne sont pas affectés [43].

Les médicaments classiquement responsables des NTA toxiques sont les aminosides, les produits de contraste iodés et l'amphotéricine B sous forme nue. Des antiviraux peuvent également être à l'origine de NTA, tels que l'adéfovir, le foscarnet, le ténofovir etc [43].

1.2.1. Exemple des aminosides

Le mécanisme de la toxicité rénale des aminosides est lié à un effet cytotoxique direct, dose-dépendant, dû à l'accumulation excessive de ces médicaments dans le cortex rénal [43]. Cette accumulation est par ailleurs corrélée aux concentrations sériques de l'aminoside [44].

Les atteintes tubulaires sont prédominantes secondaires à une fixation de l'aminoside sur les récepteurs de la bordure en brosse des cellules tubulaires rénales et à son accumulation dans les lysosomes. Cette accumulation entraîne une libération d'enzymes qui détruisent les cellules tubulaires [45].

Les tubules perdent leur bordure en brosse, l'épithélium tubulaire est en partie nécrosé, les lumières sont élargies et encombrées de débris cellulaires. En plus de l'atteinte tubulaire, il a été rapporté une atteinte glomérulaire ainsi qu'une atteinte vasculaire pouvant expliquer la baisse du débit de filtration glomérulaire et de l'excrétion rénale [45,46].

1.2.2. Exemple du foscarnet

La néphrotoxicité au foscarnet, quant à elle, concerne environ 2/3 des malades traités par ce médicament. En l'absence de mesures préventives, les patients peuvent présenter une augmentation de la créatinine d'au moins 25% par rapport aux chiffres de base [47].

L'IRA s'explique par un effet néphrotoxique direct essentiellement sur les cellules tubulaires proximales avec vacuolisation et nécrose. Les manifestations rénales sont observées en général entre la 2^{ème} et la 3^{ème} semaine du traitement et corrélées à la dose cumulative du médicament qui est en rapport avec les concentrations plasmatiques du foscarnet et la durée du traitement [47].

1.3. La néphrite interstitielle aiguë (NIA)

Les NIA sont en règle générale secondaires à un mécanisme immuno-allergique. Les manifestations extrarénales (fièvre, éruption cutanée, éosinophilie) sont alors très caractéristiques de ce type d'atteinte rénale et surviennent après plusieurs semaines suivant la mise en place du traitement ou bien dans les 3 à 5 jours suivant une seconde administration [38].

Les manifestations rénales peuvent être une éosinophilurie et une pyurie stérile. L'atteinte rénale est habituellement réversible en quelques jours à quelques mois, excepté dans le cas

des anticalcineurines pour lesquelles la néphrite interstitielle est chronique et généralement irréversible [38]. La famille médicamenteuse classiquement responsable de NIA sont les pénicillines [48].

1.4. Les néphropathies obstructives

La néphropathie obstructive est objectivée par l'existence d'un obstacle sur la voie excrétrice. Une obstruction tubulaire peut être induite par divers médicaments tels que l'aciclovir, le methotrexate, la sulfadiazine...ect.L'obstruction créée par le médicament ou bien par ses métabolites peut être située au niveau tubulaire ou bien plus bas dans l'appareil urinaire et provoquer des lithiases. Les facteurs de risque les plus fréquents sont une insuffisance rénale préexistante, des antécédents lithiasiques et un manque d'hydratation [49].

L'aciclovir (antiviral) est un produit cristallin, relativement insoluble dans les urines en particulier dans la partie distale des tubules où le flux urinaire est diminué. Ce phénomène peut être à l'origine d'une insuffisance rénale de type obstructif suite à la précipitation de cristaux d'aciclovir dans la lumière tubulaire dont plusieurs cas ont été rapportés dans la littérature et dont la fréquence est d'environ 10 % chez l'adulte [49].En dehors d'une insuffisance rénale de type obstructif, l'aciclovir peut entraîner une atteinte interstitielle aiguë [50, 51] et une nécrose tubulaire aiguë [52].Une cristallurie isolée est un signe précoce de néphropathie cristalline à l'aciclovir [53].

La rhabdomyolyse, effet indésirable potentiellement grave provoqué par certains surdosages en médicaments comme les statines [54], peut également entraîner une IRA de type obstructif. La physiopathologie de l'IRA induite par la rhabdomyolyse est multiple et comprend également une cytotoxicité tubulaire directe de la myoglobine et une vasoconstriction [55].

1.5. Les néphropathies glomérulaires

Une atteinte glomérulaire ne se manifeste pas nécessairement par une baisse du débit de filtration glomérulaire. En effet, il existe des mécanismes de compensation du rein permettant un maintien de la filtration glomérulaire normale par les néphrons sains restants, même si une part importante des néphrons est lésée de façon irréversible. C'est ce que l'on nomme la capacité de réserve fonctionnelle rénale.Un des marqueurs de toxicité glomérulaire est une protéinurie de masse moléculaire élevée, par opposition aux atteintes tubulaires pour

lesquelles la protéinurie est de masse moléculaire faible. La présence d'une hématurie est également caractéristique d'une atteinte glomérulaire [56].

Les médicaments classiquement mis en cause dans le développement d'une atteinte glomérulaire sont les sels d'or et la D-pénicillamine. La toxicité rénale de la D-pénicillamine peut se manifester par un syndrome néphrotique, défini par une protéinurie > 3 g/24 h ; une hypo-albuminémie < 30 g/L ; des œdèmes et une hyperlipidémie [56].

1.6. Les néphropathies vasculaires

Les néphropathies vasculaires sont caractérisées par des éléments cliniques communs, une hypertension artérielle, une absence d'anomalie majeure à l'examen du sédiment urinaire et une insuffisance rénale souvent sévère et rapidement progressive [57].

Il existe deux types de néphropathies vasculaires selon le mode d'évolution aigu ou chronique. Les médicaments entraînant des néphropathies vasculaires sont principalement responsables de forme aiguë telle que la microangiopathie thrombotique (MAT). Les MAT ont une définition histologique : il s'agit d'une occlusion des lumières artériolaires par des thrombi fibrineux. Les deux principales formes de MAT sont le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) et le syndrome hémolytique et urémique (SHU). Les médicaments classiquement responsables de MAT iatrogènes sont les thérapies ciblées dont la mitomycine C, la ciclosporine, le tacrolimus, la quinine, la ticlopidine, et le clopidogrel [57].

2. Les bio-marqueurs de la néphrotoxicité

Un bio-marqueur est une substance trouvée dans le sang, les sécrétions ou les tissus et qui fournit une mesure de l'état biologique normal, pathologique ou d'une réponse à un médicament ou une autre substance étrangère. Il existe un vaste choix de bio-marqueurs comprenant des ARN messagers, des protéines, des peptides et des molécules lipidiques. Ils peuvent aussi être classés selon le type d'atteinte qu'ils identifient, fonctionnelle (marqueurs de fonction) ou organique (marqueurs d'intégrité tissulaire). Ces derniers peuvent encore être subdivisés selon la structure touchée : on parlera de marqueurs glomérulaires et de marqueurs tubulaires [58].

Néphrotoxicité médicamenteuse

Tableau 2 : Les différentes bio-marqueurs de la néphrotoxicité [58].

bio-marqueur	Fonction ou structure cible	Utilisation expérimentale/clinique
Marqueurs classiques -créatinine -Urée -électrolytes, glucose, pH et volume urinaire	-La clairance de la créatinine permet d'estimer le débit de filtration glomérulaire -Fonction tubulaire (réabsorption) évaluée même en cas de faible altération	-Marqueur de référence pour classer les atteintes rénales en clinique mais déficit de sensibilité et de spécificité -Utilisation clinique malgré un manque de spécificité
Protéines de haut PM -Albumine - Immunoglobuline - Transferrine	-Excrétion élevée de protéines qui indique une altération glomérulaire	-Marqueur d'atteinte aigue ou chronique en clinique (micro-albuminurie), degré d'atteinte glomérulaire
Protéines de bas PM - α 1-micro-globuline - β 2-micro-globuline - β –trace protein - retinol binding protein	- Marqueurs précoces de dysfonction tubulaire -La BTP et la RBP permettent une meilleure estimation du débit de filtration glomérulaire	- Utilisation pour prévoir si une greffe rénale est nécessaire
Enzymes -N-acétyl-b-glucosaminidase. - phosphatase alcaline	- Tubule proximal, papille rénale, glomérule. - Tubule proximal	- Utilisation comme marqueur tubulaire peut être limitée car augmentation lors de pathologies glomérulaires chroniques
Marqueurs de l'inflammation - NGAL - IL-18	- Tubule distal et proximal	- Marqueurs de diagnostic et pronostic masqué en cas d'atteinte glomérulaire chronique - Utilisation clinique comme marqueur précoce de dysfonction rénale

Cisplatine

1. Définition

Le cisplatine (cis-diaminedichloroplatine) est un agent antinéoplasique efficace dans le traitement de plusieurs tumeurs solides. C'est un agent alkylant qui agit en se liant à l'ADN et en y établissant des ponts inter-caténaire et intra-caténaire [59]. En plus de sa néphrotoxicité, il connu aussi par ses effets secondaires dont la myélosuppression, l'ototoxicité, les nausées, les vomissements et les neuropathies. Cependant la néphrotoxicité est l'effet secondaire principal, qui est souvent irréversible, et le facteur limitant du traitement [60,61].

2. Historique

Le cisplatine a été synthétisé pour la première fois en 1844 par un chimiste italien, Michel Peyrone (1813-1883), et sa structure chimique identifiée en 1893 par le suisse Alfred Werner [62].

Le cisplatine a été le premier dérivé de platine découvert, en 1965 par [62]. Lors de la mise en contact des bactéries (*E. coli*) avec une électrode de platine, il observa, une inhibition de la division. Il a conclu que cette activité pouvait être due au platine de l'électrode. Son équipe fut la première à mettre en évidence que cet effet était dû au cisdiamine-dichloroplatinum libéré par l'électrode de platine et à apporter la preuve de son activité anticancéreuse chez l'animal. La néphrotoxicité du cisplatine apparut très vite comme un facteur limitant et malgré l'instauration de l'hyperhydratation, cet effet indésirable ne fut jamais totalement maîtrisé. Néanmoins, l'hyperhydratation permit d'augmenter la marge thérapeutique du cisplatine [63].

Depuis sa mise sur le marché, les indications du cisplatine n'ont cessé de s'élargir. Il est utilisé dans des protocoles de mono-ou poly-chimiothérapie, pour les cancers de l'ovaire, des voies aéro-digestives supérieures (VADS), du poumon et notamment du testicule.

3. Structure et propriétés physico-chimiques

3.1. Structure :

Le cisplatine est un complexe de métal lourd renfermant un atome central de platine, à l'état d'oxydation II, Pt^{2+} , entouré de 4 ligands deux ligands chlore, de nature anionique et facilement échangeables par divers nucléophiles, et deux groupements amines inertes non échangeables. Sa formule brute est $Cl_2H_6N_2Pt$ [64].

La molécule est plane et carrée, la disposition cis de la molécule est essentielle à son activité car c'est elle qui lui assure une certaine planéarité. La forme *trans* est totalement inactive [64].

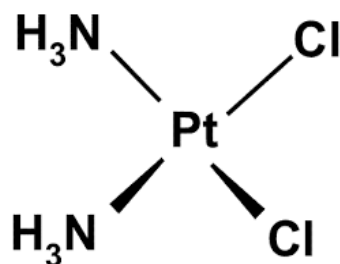


Figure 6 : La structure de la cisplatine $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(\text{OH})_2]$ [64].

3.2. Propriétés physico-chimiques

Le cisplatine est une fine poudre jaune qui se décompose à haute température, à partir de 180°C et de façon complète à 270°C. Les principaux produits de dégradation sont le chlorure d'ammonium et l'acide chlorhydrique [65].

Le cisplatine est peu soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool et l'acétone mais soluble dans le diméthylformamide. Le cisplatine est très sensible à la lumière. Il peut être identifié et dosé par spectrophotométrie dans l'ultraviolet à (190-400nm) et dans le visible à (400-750nm) [65]

Le cisplatine possède des propriétés biochimiques semblables à celles des agents alkylants bi-fonctionnels produisant des liaisons croisées intra-brins et inter-brins dans l'ADN, il n'est apparemment pas spécifique au cycle cellulaire [65].

4. Propriétés pharmaceutiques

Initialement commercialisé sous le nom Cisplatyl[®] par le laboratoire Bristol-MeyerSquibb. Il est conditionné dans des flacons en verre brun (type I) de 5, 15,45 et 60 ml à la concentration unique de 1 mg/ml, sous la forme de solutions pour perfusion intraveineuse. Le cisplatine ne doit pas être administré à l'aide d'une aiguille en aluminium, ce dernier inactivant le produit [66].

5. Pharmacodynamique

Le cisplatine est un cytotoxique appartenant à la famille des agents alkylants et forme donc des liaisons covalentes avec l'acide désoxyribonucléique (ADN). Sa structure plane lui permet d'entrer en contact de part et d'autre du plan avec les molécules environnantes. Comme évoqué précédemment, le cisplatine interagit avec des molécules nucléophiles, c'est-à-dire ayant beaucoup d'affinité pour les sites chargés positivement. Elles tendent à former avec lui des liaisons covalentes entraînant le départ de substituant chlore très mobiles. Le

cisplatine est ainsi capable d'interagir avec de multiples constituants cellulaires, les phospholipides membranaires, le cytosquelette, l'acide ribonucléique (ARN), l'ADN mitochondrial mais surtout avec l'ADN nucléaire, ce qui constitue le fondement de son activité thérapeutique [64].

Le cisplatine est capable de se lier à toutes les bases de l'ADN, avec une liaison préférentielle pour la position N7 des guanines et des adénines. Ces adduits peuvent être monofonctionnels (liés à une seule base) ou bi-fonctionnels (liés à deux bases) [67].

Du fait de la liaison importante du cisplatine avec l'ARN et les protéines, certains autres mécanismes d'action conduisant à la mort cellulaire ont été proposés, tels qu'une inhibition de la chaîne respiratoire des mitochondries [68], une interaction avec des protéines du cytosquelette comme la tubuline [69] ou encore le déclenchement d'un stress au niveau du réticulum endoplasmique [70].

Enfin, plusieurs travaux ont rapporté que le dernier événement de la mort d'une cellule sous l'effet des dérivés du platine est l'apoptose, sous le contrôle de gènes comme le p53 ou comme la famille de gènes bcl-2 [71,72]. Certaines protéines ayant une activité anti-apoptotique ont un rôle potentiel dans la résistance au cisplatine de certaines lignées de cancer du sein [73].

6. Pharmacocinétique

La pharmacocinétique du cisplatine est compliquée par la présence concomitante de formes libres et de formes liées aux protéines. La platine plasmatique est hautement liée aux protéines. Cependant la majorité du cisplatine présent dans la cellule n'est pas liée aux protéines mais localisée dans le cytosol.

Le platine total (libre +fixé sur les protéines) a une cinétique bi ou tri-phasique.

▪ Distribution

- Faible passage dans le LCR.
- Liaison avec les protéines plasmatiques : très forte (90-95 %).

▪ Élimination

- Faible élimination biliaire (<10 %).
- Élimination rénale (30 % par 24 heures) par sécrétion tubulaire sous forme métabolisée, d'abord rapide, puis très lente.
- La demi-vie terminale peut être très longue (3 à 8 jours) par contre la demi-vie du platine ultra filtrable est très courte, elle est de l'ordre de 30 minutes [74].

7. Mécanisme d'action

De nombreuses études ont porté sur le mécanisme d'action du cisplatine [75 et 76]. Il a tout d'abord été montré que le complexe reste dans son état neutre tant qu'il circule dans les voies sanguines. La concentration en ions chlorures y est relativement forte (100 mM), et empêche l'hydrolyse du composé. Le cisplatine entre ensuite dans la cellule par diffusion passive à travers la membrane, la diminution de la concentration en ions chlorure facilite alors l'hydrolyse en complexes très réactifs [77].

Dans une solution saline riche en ions chlorures tels que le plasma, le cis-platine est inactif et stable, mais dans le cytoplasme des cellules, pauvres en ions chlorures, il se produit une dissociation du cis-platine en ses différents composants [78].

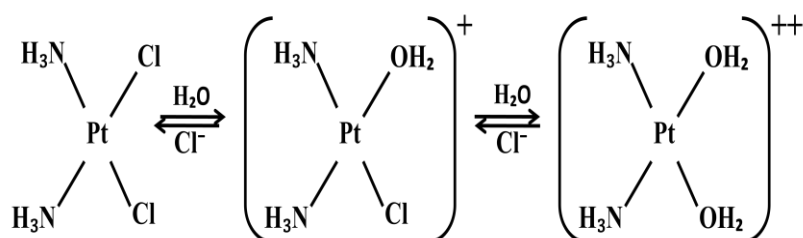


Figure 7 : Hydrolyse du cisplatine [78].

Les complexes très électrophiles obtenus par l'hydrolyse peuvent réagir avec divers nucléophiles cellulaires, comme l'ARN, les protéines, le glutathion ou la méthionine. Plus particulier le platine se fixe alors de façon covalente sur l'ADN au niveau des bases de la guanine et les liaisons intra et inter brins qu'il provoque empêchent la réplication de l'ADN lors du cycle cellulaire [78].

8. Mécanismes cellulaires de la néphrotoxicité

Dans le plasma, où la concentration en chlore est d'environ 103 mM, le cisplatine reste électriquement neutre puisqu'il conserve ses groupements chlorures. La concentration intracellulaire en chlore étant d'environ 4 mM, le déplacement des deux groupements chlorures par des molécules d'eau est favorisé, formant ainsi une molécule hydratée plus toxique à cause des charges positives qui réagissent avec les sites nucléophiles. Ces charges positives sont responsables à la fois de l'activité antinéoplasique et de la néphrotoxicité du cisplatine [62].

Le cisplatine est filtré librement par le glomérule dû à son faible poids moléculaire (300,01 g/mol) et à l'absence de charges [62]. Il a été démontré que les cellules épithéliales du

tubule proximal peuvent accumuler le cisplatine jusqu'à 5 fois le niveau sérique grâce en partie à un processus de transport actif. Les dégâts rénaux sont présents dans les tubules proximal, distal et collecteur alors que le glomérule est relativement bien préservé [62].

La néphrotoxicité du cisplatine s'accompagne de changements structuraux au niveau du tubule proximal (nécrose tubulaire, perte des villosités, altérations cellulaires dans le nombre et la taille des lysosomes et vacuolisation des mitochondries). Ces changements structuraux s'accompagnent de changements fonctionnels [64 et 79] faisant appel à des mécanismes physiopathologiques primaires (inhibition de la synthèse des protéines et déplétion du glutathion), causant ainsi des séquelles secondaires (altérations au niveau des mitochondries, inhibition du transport membranaire et peroxydation lipidique) [79].

L'inhibition de la synthèse des protéines est la manifestation biochimique la plus précoce suite à un traitement au cisplatine. Ce médicament agirait sur le nucléole et causerait une diminution de la formation des ribosomes inhibant ainsi la synthèse protéique.

Une autre explication serait que le cisplatine interfère avec l'assemblage des sous-unités 48S et 60S des ribosomes conduisant à une diminution des protéines de transport et à certains dommages mitochondriaux [79].

Le cisplatine interagit avec le radical sulfhydryl des protéines et avec le glutathion pour former des adduits stables résultant en un dysfonctionnement de plusieurs protéines membranaire et cytoplasmique. Par exemple, les transporteurs de Na-phosphate et Na-glucose, les glutathion-S-transférase, réductase et peroxydase se retrouvent tous avec une activité diminuée [79], de plus, la diminution du glutathion disponible pour éliminer les radicaux libres mène à leur augmentation et à la peroxydation des lipides [79, 80].

Stress oxydatif

Stress oxydatif

et

Antioxydant

Antioxydant

1. Définition

Le stress oxydant est devenu un sujet d'actualité, en effet, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par ce concept qui est, de nos jours, jugé, comme une situation physiologique impliquée dans la plupart des pathologies humaines [81].

Le stress oxydant correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire. Il se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre du rapport entre les radicaux libres et les systèmes de défense antioxydants dont dispose la cellule, avec comme conséquence l'apparition des dégâts souvent irréversibles pour la cellule [81].

Lorsque l'un des systèmes protectifs de l'organisme contre la toxicité des radicaux libres (RL) montre un échec, l'action des radicaux libres devient incontrôlable, ce qui conduit à des dommages au niveau des molécules, des cellules, des organes et potentiellement à la mort de l'organisme [82].

2. Sources des espèces réactives oxygénées ROS

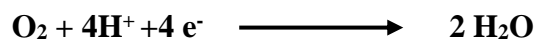
Les ROS sont produits dans l'organisme par de nombreux mécanismes tant exogènes qu'endogènes [83].

2.1. Sources exogènes

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des espèces réactives oxygénées. Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux [84].

2.2. Sources endogènes

L'une des sources endogènes majeures des ROS est la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette production résulte de l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire. Une telle réaction est catalysée par le cytochrome oxydase mitochondrial [85].



D'autre part l'inflammation est également considérée comme une source importante de ROS. Il a été montré qu'une grande quantité de ROS est produit par les cellules immunitaires, plus particulièrement les cellules phagocytaires. Ces cellules produisent des $\text{O}_2^{\cdot-}$, des OH^{\cdot} et du H_2O_2 pour éliminer les microorganismes pathogènes et les cellules cancéreuses. En effet, afin d'assurer la défense de l'organisme, les phagocytes utilisent le phénomène d'explosion oxydative, qui consiste à l'activation du complexe NADPH oxydase. Cette enzyme utilise

l'oxygène pour produire des $O_2^{\cdot-}$ en grande quantité au niveau de la membrane cytoplasmique et ceux-ci sont libérés à la face externe de cette membrane [86, 87].

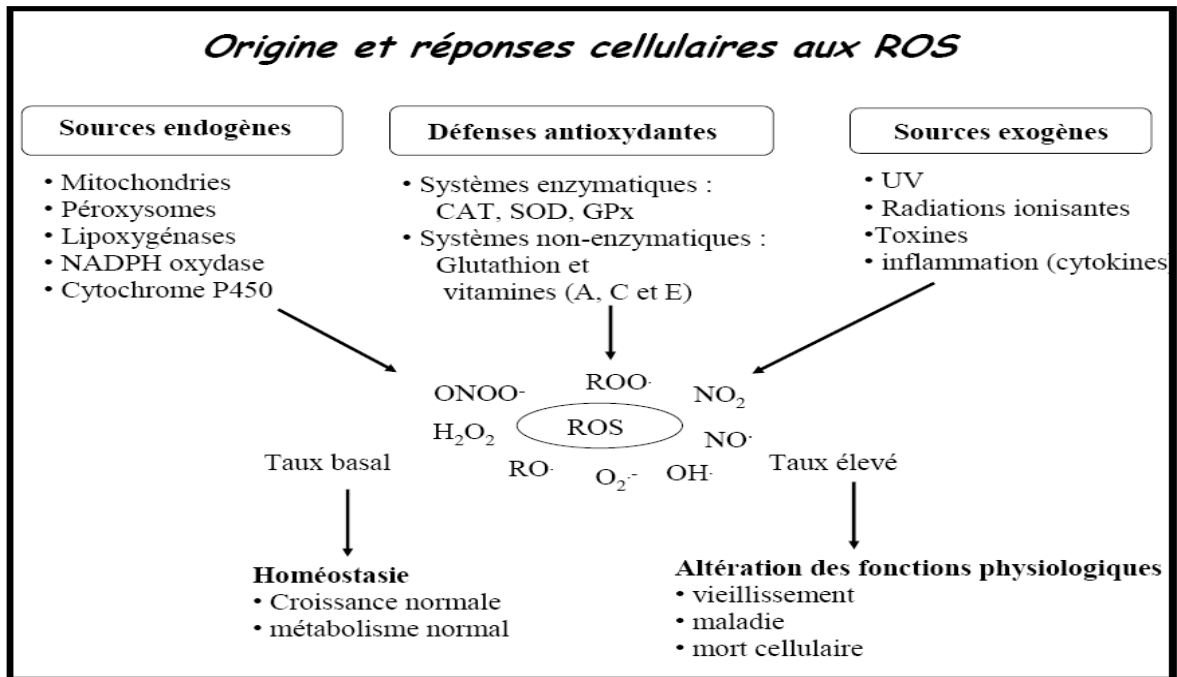


Figure 8 : Origine et réponse cellulaire aux ROS [88].

3. Les radicaux libres

3.1. Définition

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés (célibataires) sur l'orbitale externe. Cette caractéristique lui confère une réactivité importante, les radicaux libres réagissent avec des molécules plus stables pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade [89].

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène [90].

3.2. Les différents radicaux libres oxygénés

3.2.1. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$

Est la forme réduite de l'oxygène moléculaire par la réception d'un électron, c'est le premier radical formé lors du transport des électrons au niveau de la chaîne respiratoire [91].

Le cytochrome oxydase qui se trouve dans la mitochondrie peut également catalyser une telle réaction selon l'équation suivante :

Cytochrome oxydase



L'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ peut se former aussi lors de la phagocytose grâce à la NADPH oxydase qui se trouve à la surface des membranes plasmiques des phagocytes [92].

NADPH oxydase



L'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ joue un rôle très important dans la génération d'autres radicaux libres tels que le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le radical hydroxyle OH^{\cdot} , et l'oxygène singlet $\text{O}_2^{\cdot-}$ [93].

L'anion superoxyde capable de réagir avec l'oxyde nitrique pour former le peroxynitrite (ONOO^-) qui est capable de donner par la suite des composés très toxiques comme le radical hydroxyle et le dioxyde nitrique [94].



3.2.2. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Il n'a pas d'électrons non appariés et n'est donc pas un radical. Le peroxyde d'hydrogène se forme par la dismutation du radical superoxyde, catalysée par le superoxyde dismutase (SOD) selon la réaction suivante [95]:

SOD



Le peroxyde d'hydrogène est un produit plus stable que les produits qui lui donnent naissance, ainsi sa réactivité est moins importante. La nature non ionique de cette molécule lui permet de traverser facilement les membranes cellulaires et ainsi de diffuser très facilement d'où une possibilité d'action à distance [94].

3.2.3. Le radical hydroxyle OH^{\cdot}

Est le radical le plus dangereux dans l'organisme. Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique. Il est formé par la dégradation du (H_2O_2) en présence de métaux de transition sous leur forme réduite comme le fer. Ainsi, (H_2O_2) associé au fer ferreux conduit à la réaction de Fenton suivante :



Le (H₂O₂) peut également réagir avec (O₂^{•-}), aboutissant là encore à la production du (OH[•]), ce mécanisme réactionnel se nomme la réaction *d'Haber-Weiss* [96].



3.2.4. L'oxygène singlet ¹O₂

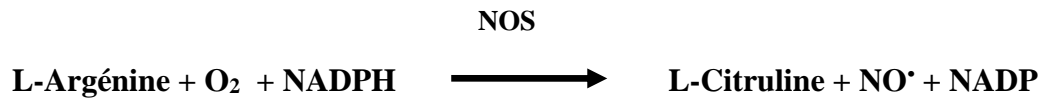
La forme excitée (O₂) est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité, réagit avec les macromolécules biologiques (ADN, Protéines, etc....) [97].

3.2.5. L'oxyde nitrique NO

Le monoxyde d'azote NO[•] est un radical avec un électron non apparié, il est formé par l'action du NO synthétase sur L-arginine [98].

L'oxyde nitrique lui-même moins réactif que les autres radicaux libres, mais sa surproduction dans des conditions spécifiques capable de provoquer la déplétion des principaux antioxydants au niveau du plasma, tel que l'acide ascorbique et l'acide urique.

Ce radical est capable d'entamer la peroxydation lipidique [94].



3.2.6. Le nitrique dioxyde NO₂

Le dioxyde d'azote (NO₂[•]) est formé à partir de la réaction du radical peroxy avec NO. Le (NO₂[•]) est un puissant déclencheur du lipide peroxydation par sa capacité d'arracher un atome d'hydrogène d'une double liaison au niveau des acides gras polyinsaturés [98].

Stress oxydatif et antioxydants

Tableau 3 : Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques [99]

Espèces réactives de l'oxygène radicalaires		Espèces réactives de l'oxygène non radicalaires	
Nom	Formule chimique	Nom	Formule chimique
anion superoxyde	$O_2^{\cdot -}$	Le peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Le radical hydroxyle	OH^{\cdot}	Nitrique dioxyde	NO_2^{\cdot}
Oxyde nitrique	NO^{\cdot}	l'oxygène singlet	1O_2

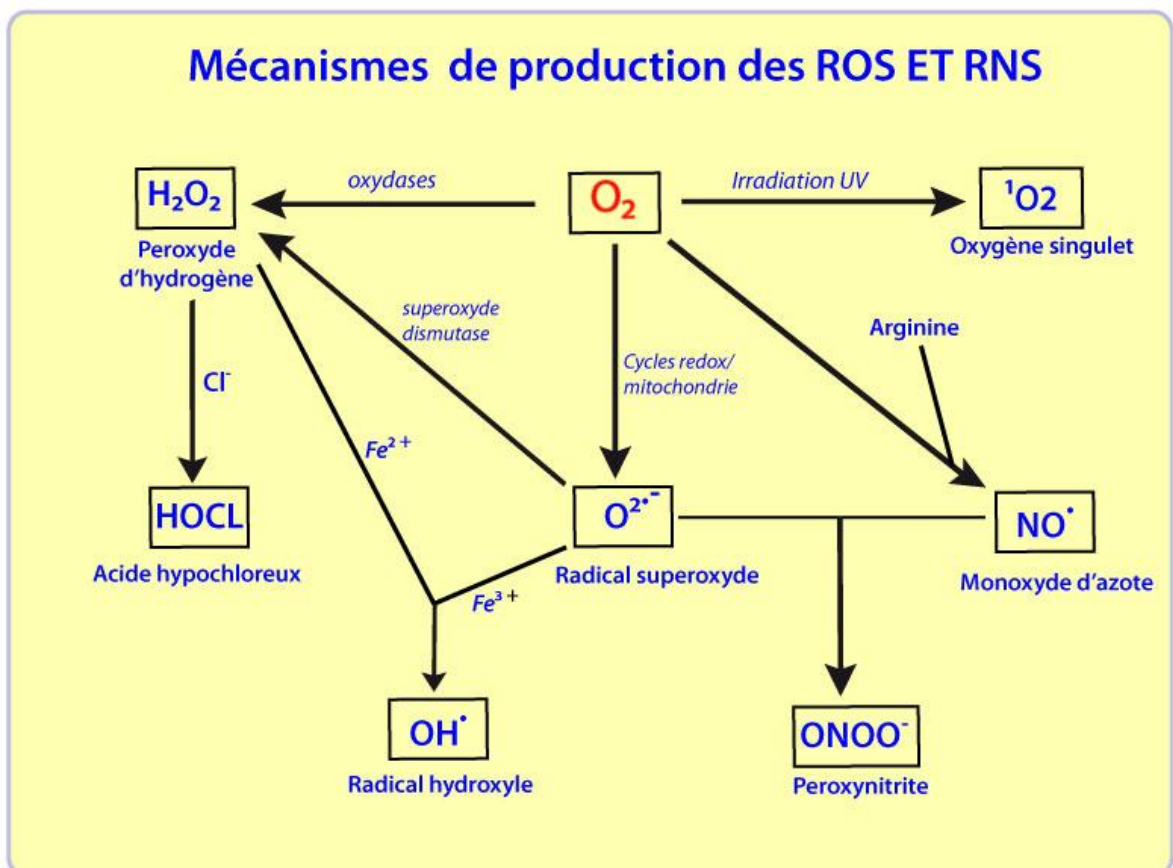


Figure 9: Les différentes Espèces Réactives de l'Oxygène [99].

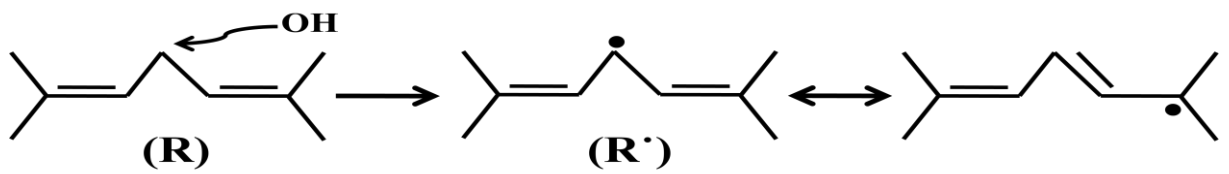
4. Les cibles biologiques des ROS

Plusieurs études [90, 100, 101,102] ont bien montré le rôle des radicaux libres et des espèces oxygénées réactives dans la genèse de nombreuses maladies. En effet, la production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides [90]. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique [90 et 102]. Toutes ces cascades vont avoir des répercussions sur les biomolécules [102].

4.1. Les lipides

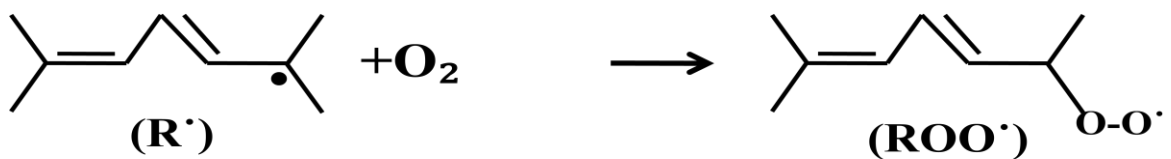
Les lipides, en particulier les acides gras polyinsaturés, sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxy. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxy formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué. Les hydro-peroxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution exemple être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides et en alcanes (éthane, éthylène, pentane) qui, de par leur volatilité, sont éliminés par voie pulmonaire. Le radical peroxy, après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule, peut libérer différentes aldéhydes toxiques dont le malonaldaldéhyde ou l'hydroxynonenal. La transmission en chaîne de la réaction de peroxydation lipidique est stoppée par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes. On peut détailler le mécanisme de cette peroxydation en trois étapes consécutives, figure 10, [103].

Étape 1 : Initiation



Le radical formé (R•) subit un réarrangement interne, dû à une tautomérie liée au déplacement de la double liaison la plus proche de l'électron célibataire, et existe donc sous 2 formes en équilibre.

Étape 2 : Addition de l'oxygène



En présence d'une molécule d'oxygène, il se forme un radical peroxyde (ROO•).

Étape 3 : Propagation et amplification

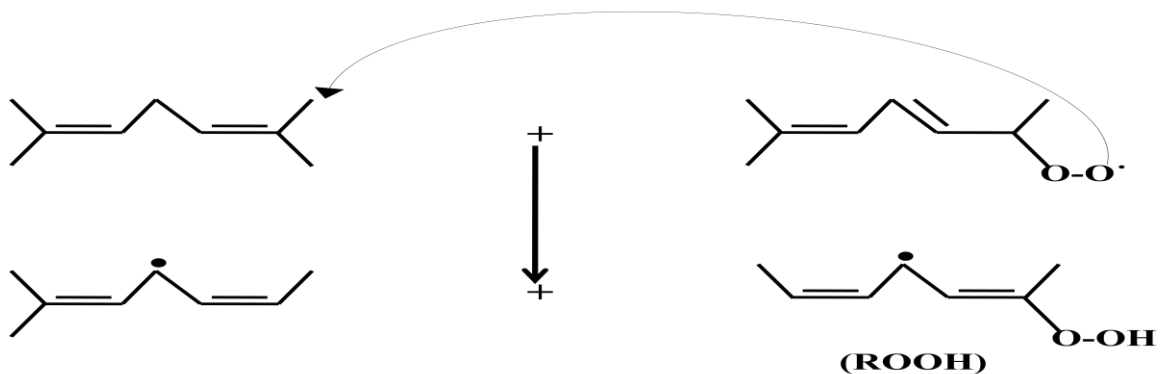


Figure 10 : Les étapes du mécanisme de la peroxydation lipidique [103].

Le radical peroxyde (ROO•) qui déstabilise une deuxième molécule d'AGPI et conduit à un hydro-peroxyde lipidique (ROOH) et à un nouveau radical (R•). Cette auto-oxydation se propage et s'amplifie d'un acide gras à l'autre. Les implications chimiques et les différents produits engendrés par ce mécanisme sont résumés dans la figure, 11 [92].

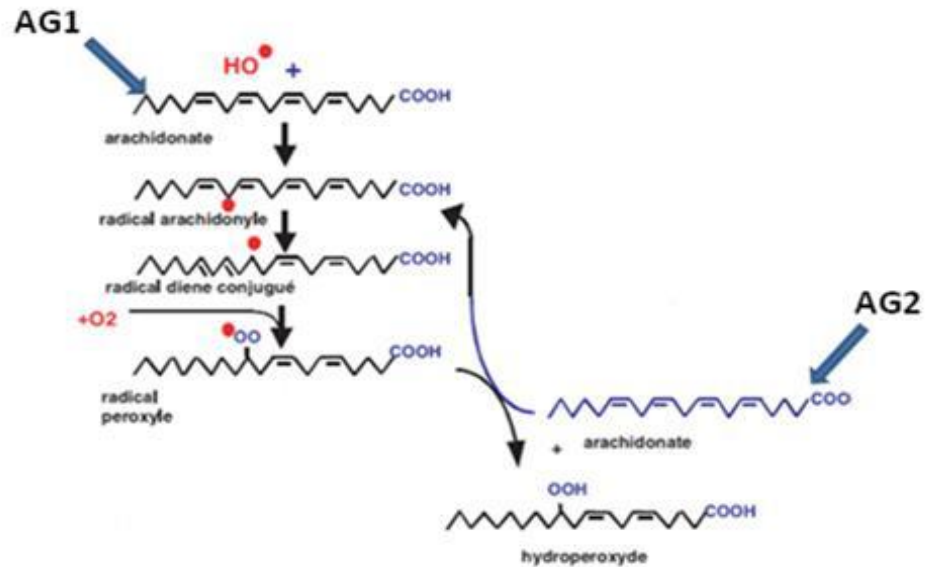


Figure 11: Réactions en chaîne de la peroxydation lipidique et ses produits terminaux [92].

La peroxydation lipidique provoque une augmentation croissante de la perméabilité des membranes cellulaires induisant une altération irréversible des propriétés fonctionnelles de la cellule, pouvant aller jusqu'à la lyse complète des membranes cellulaires. La réaction en chaîne prolonge les effets intra-membranaires des radicaux libres, même si l'agression radicalaire s'estompe. La peroxydation lipidique aboutit à la formation de nombreux dérivés toxiques comme les hydro-péroxydes et leurs dérivés [102]. Les hydro-péroxydes lipidiques sont relativement stables; en présence de fer, ils sont transformés en radicaux alkoxyles (RO^\bullet). Parmi leurs dérivés, le MDA (malondialdéhyde) a une demi-vie plus longue que celle des radicaux libres et diffuse facilement et peut donc être considéré comme un marqueur de la peroxydation lipidique et peut également former des liaisons avec les bases de l'ADN et devenir un mutagène [91].

4.2. Les protéines

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent une fonction thiol (SH) comme (l'histidine, la proline, l'arginine et la lysine) Comme les protéines de transport qui deviennent inactivées suite à leur oxydation [91]. Les protéines peuvent alors soit subir des réticulations par formation notamment de ponts bi-tyrosine détectables par leur fluorescence, soit subir des coupures en cas d'agression forte, soit des modifications de certains acides aminés en cas d'agressions modérées [102]. Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, antienzyme,

transporteurs, récepteurs. etc..) et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome [90].

Les conséquences biologiques du stress oxydatif seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que des stress importants provoquent une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates [104] (figure 12).

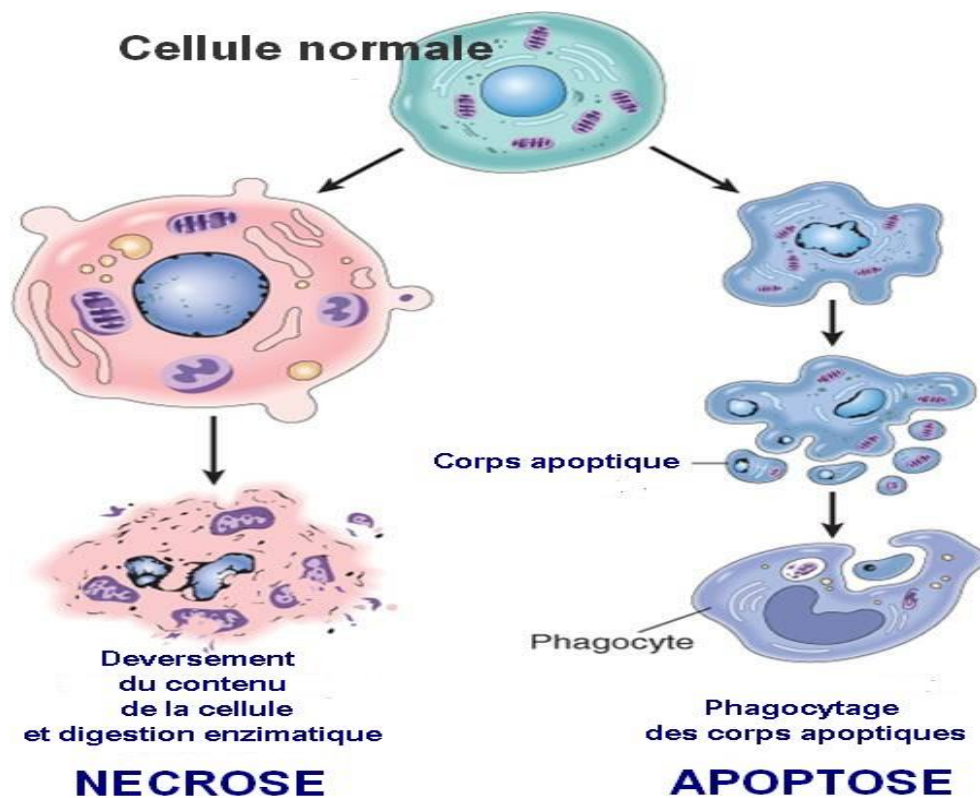


Figure 12: Caractéristiques morphologiques de l'apoptose et de la nécrose [104].

4.3. Les acides nucléiques

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène. Au minimum, cinq classes principales de dommages oxydatifs médiés par $\text{OH}\cdot$ peuvent être générées, parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténaux, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines [90 et 105].

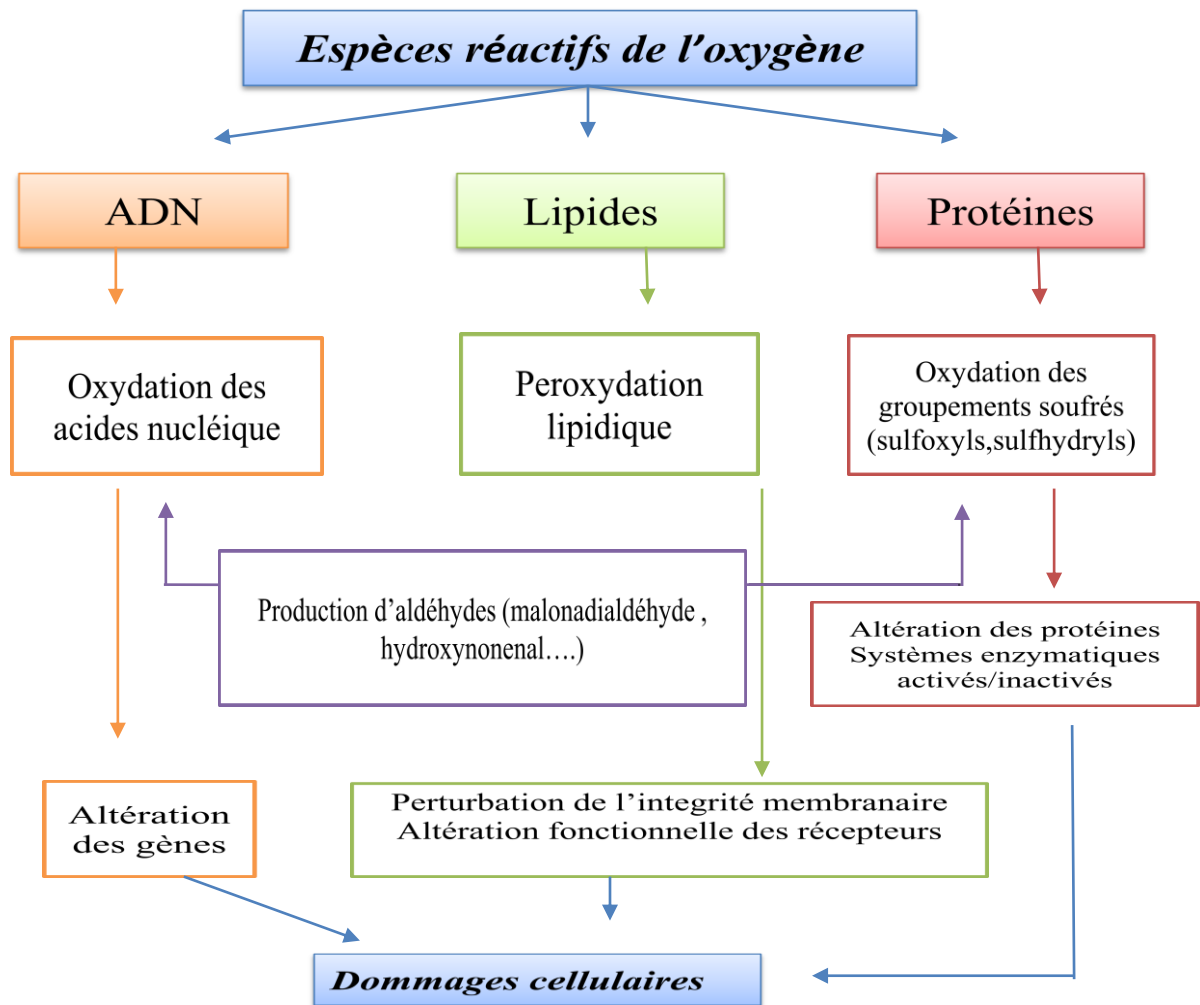


Figure 13: Les différentes cibles d'espèces réactives de l'oxygène [106].

5. Rôles des ROS

En effet, Ils remplissent de très nombreuses fonctions utiles qui, à part la phagocytose, ont été découvertes récemment les fonctions ci-dessous :

- ✚ Le fonctionnement de certaines enzymes.
- ✚ La différenciation cellulaire et la transduction des signaux cellulaires
- ✚ La défense immunitaire contre les agents pathogènes.
- ✚ La destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire.
- ✚ La régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones notamment ceux de la mémoire.
- ✚ La régulation des gènes, (phénomène appelé contrôle redox des gènes) [90].

6. Les systèmes de défenses antioxydants

Les antioxydants ont été prouvés pour jouer un rôle important dans la régulation d'une vaste gamme physiologique et des processus pathologique, ils contribuent principalement à la protection des cellules et des tissus contre les effets délétères des ROS et d'autres RL [107].

Du point de vue biologique, les antioxydants sont toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat [108], et dont les produits de la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant ne doivent pas être toxiques et ne branchent pas la réaction radicalaire [82].

Les antioxydants peuvent agir en réduisant les ROS, en les piégeant pour former des composés stables, en séquestrant le fer libre, ou en générant du glutathion [90,109].

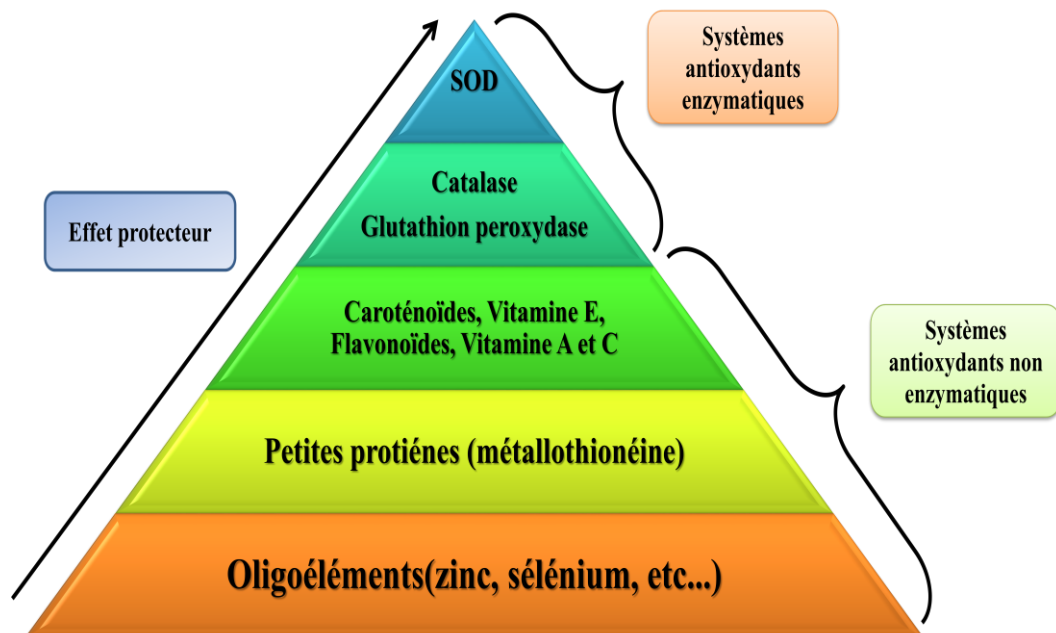


Figure 14: Pyramide des systèmes de défenses antioxydants [107].

6.1. Les antioxydants enzymatiques :

Les antioxydants les plus efficaces sont des enzymes qui catalysent la réduction du ROS [110]. Les enzymes antioxydants ont une signification négligeable dans l'espace extracellulaire alors qu'ils jouent un rôle très significatif dans l'espace intracellulaire [82].

Stress oxydatif et antioxydants

Tableau 4 : Les antioxydants enzymatiques et leurs caractéristiques [111].

Antioxydants enzymatiques	Caractéristiques et réaction catalysée.
<p>Superoxyde dismutase SOD :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Cu, Zn SOD1 - Mn SOD2 - Cu, Zn SOD3 	<p>-Appartient à la famille des métallo-enzymes, possède trois iso-enzymes : SOD1, SOD2 intracellulaires et SOD3 extracellulaire, catalyse la dismutation de l'ion superoxyde</p> <p>SOD</p> $2\text{O}_2^{\cdot-} + 2\text{H}^+ \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$
<p>La catalase :</p>	<p>-C'est une enzyme hémique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.</p> $2\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
<p>Les glutathion peroxydases :</p> <ul style="list-style-type: none"> -GPx sélénium- indépendant -GPx sélénium-dépendant 	<p>-La GPx catalyse les réactions de détoxification des xénobiotiques.</p> <p>- Présente sous forme de 5 iso-enzymes tétramériques, agissant sur les peroxydes d'hydrogène et les hydroperoxydes lipidiques par l'intermédiaire de GSH.</p> $2\text{GSH} + \text{ROS} \xrightarrow{\text{GPX}} \text{GSSG}$ $\text{GSSG} \xrightarrow[\text{NADPH.H}^+]{\text{GR}} 2\text{GSH} + \text{NADP}^+$
<p>La thiorédoxine TRX</p>	<p>-Séléno-protéine, à activité oxydoréductase, protectrice des protéines à fonction thiol :</p> $\text{Trx-S}_2 + \text{NADPH.H}^+ \xrightarrow{\text{TrxR}} \text{Trx-(SH)}_2 + \text{NADP}^+$ $\text{Protéine-S}_2 + \text{Trx-(SH)}_2 \longrightarrow \text{Protéine-SH}_2 + \text{Trx-S}$

6.2. Les antioxydants non enzymatiques

Ce sont des nutriments naturellement amenés par des composés endogènes ou par l'alimentation, ils ont la capacité de trapper les espèces oxydantes en captant leur électron libre et en formant ainsi des espèces plus stables qui pourront être éliminées par d'autres systèmes antioxydants. Dans cette catégorie d'antioxydant les principales molécules sont les

oligoéléments, le glutathion réduit, l'ubiquinone, le cytochrome c et les vitamines E et C, elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres [92].

6.2.1. Le glutathion (GSH)

Le glutathion est un tri-peptide, dont les propriétés réductrices et nucléophiles jouent un rôle majeur dans la protection contre les altérations oxydantes des lipides, des protéines et des acides nucléiques.

En situation du stress oxydant, son rôle protecteur de détoxifiant, réside principalement dans sa fonction de Co-substrat des glutathion peroxydases. Mais il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydant tels que la vit C, la vit E et les SOD [112].

6.2.2. Les oligoéléments

6.2.2.1. Le zinc

Cet oligoélément est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il protège également les groupements thiols des protéines. Le zinc peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre [113].

6.2.2.2. Le cuivre

Cet oligoélément est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il joue, en tant que métal dit de transition, un rôle important dans le déclenchement des réactions conduisant à la formation d'espèces oxygénées activées, par ses propriétés anti-oxydantes. Une concentration trop élevée en cuivre pourra donc refléter la présence d'un stress oxydant [114].

6.2.2.4. Le sélénium

Le sélénium alimentaire est incorporé sous forme de séléno-cystéine (Se-Cys) dans les séléno-protéines [115]. Les séléno-protéines jouent un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire [116].

Les séléno-protéines assurent, en synergie avec d'autres molécules de nature enzymatique (SOD, catalase) ou non enzymatique (vitamine E, et C, caroténoïdes, polyphénols) l'équilibre intra et extracellulaire de la balance pro et antioxydant [115].

6.2.3. Les polyphénols

Les polyphénols, groupe de molécules de structures variées [117], et ce sont, par ailleurs, les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation [118]. Ils sont classés en flavonoïdes, anthocyanes, tanins et stilbènes. [119]. Ce sont d'excellents piègeurs des ROS et de très bons chélateurs de métaux de transition comme le cuivre et le fer.

6.2.3.1. Les flavonoïdes

Le terme « flavonoïde » est dû à leur couleur jaune (= *flavus* en latin) [120]. Les flavonoïdes désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols.

Tous les flavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluant, infections etc.....) ingérés avec nos aliments, ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants cellulaires (lipides et macromolécules) contre le stress oxydant [121]. Ils sont susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique [103].

En effet, les flavonoïdes apportent une protection contre les radicaux libres en empêchant leur liaison avec les lipides membranaires des cellules [122].

6.2.5. La β -carotène

La β -carotène est un précurseur de la Vit A. Il possède une activité anti-oxydante totalement indépendante de son rôle pro-vitaminique ; il agit en désactivant l'oxygène singlet et possède la propriété de piéger les RL [123].

6.2.6. La vitamine C

Appelé aussi l'acide L-ascorbique et c'est un antioxydant hydrosoluble, qui se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire. Elle peut piéger directement l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), l'oxygène singlet et réduit le peroxyde d'hydrogène en eau via l'ascorbate peroxydase [124]. En plus, Elle permet la régénération de la forme non radicalaire de la vitamine E. La vit C a notamment un rôle antioxydant au niveau des tissus oculaires, en particulier la rétine, ou elle participe à la dégradation du H_2O_2 [125]. Elle peut recycler l' α -tocophérol pour aider à prévenir l'oxydation des lipides [126]. L'acide ascorbique peut agir en tant qu'antioxydant seulement en absence de métaux de transition sous forme libre [124].

Matériels
Matériels

et

Méthodes
Méthodes

1. Animaux

Notre étude expérimentale a porté sur des souris mâles de souche *Wistar Albinos*. (25-30 g) issus d'un élevage au niveau de l'animalerie de l'institut de Pharmacie. et sont maintenus dans une animalerie acclimatées à une température constante de 22 C°. Les souris ont un accès libre à la nourriture et l'eau servie dans des biberons *ad libitum*. Les souris sont réparties en 3 lots à raison de 6 souris par lot

1.1. Induction de la néphrotoxicité

Le médicament anticancéreux que nous avons utilisé pour provoquer la toxicité expérimentale (néphrotoxicité) est le cis-platine qui est injecté par voie intra-péritonéale (ip) avec une seule dose de 8mg/kg dissous dans l'eau physiologique (NaCl 0.9%).

1.2. Traitement d'animaux

- **Lot N°1 (Témoin : 6 souris)** : animaux recevant quotidiennement par gavage de l'eau physiologique (NaCl 0.9%) pendant 10 jours.
- **Lot N°2 (Cis-platine : 6 souris)** : animaux recevant durant 10 jours par gavage l'eau physiologique (NaCl 0.9%), le dernier elles sont injectées par le cis-platine à la dose unique 8mg/kg.
- **Lot N°3 (Cisplatine + vitamine E : 6 souris)** : animaux recevant quotidiennement pendant 10 jours de la vitamine E à la dose unique 100mg/kg, Le dernier jour, après une demi-heure du gavage par la vitamine E, elles ont reçu par injection intra-péritonéale le cisplatine à une dose de 8 mg/kg.

Après la dissection, le sang prélevé fut centrifugé à 4000 tours/min pendant 15 minutes, puis conservé pour les dosages biochimiques (créatinine, et urée). Les fragments des reins récupérés sont conservés à -80° C pour les dosages des paramètres du stress oxydatif. Ces étapes sont effectuées par la doctorante Bayouhd Kenza. Notre travail a été effectué sur les échantillons déjà préparés (Les fragments rénaux et le plasma).

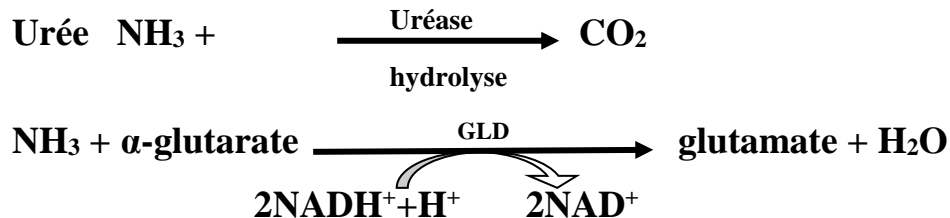
2. Dosages biochimiques

2.1. Les paramètres de néphrotoxicité

2.1.1. L'urée

L'évaluation de l'urémie a été effectuée par la méthode enzymatique en deux étapes. La première est une hydrolyse de l'urée en ammoniacque (NH₃) et le dioxyde de carbone

(CO₂) par l'intermédiaire d'une enzyme uréase. La deuxième étape est une transformation de l'ammoniaque et le α -Glutarate par la glutamate déshydrogénase en glutamate et H₂O₂. Cette réaction est accompagnée d'une oxydation du NADH⁺+H⁺ en NAD⁺. La diminution de l'absorbance à une longueur d'onde de 340 nm est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon.



2.1.2. La créatinine

La créatininémie a été évaluée en utilisant des Kits spécifiques dont le principe 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.



3. Évaluation du statut oxydatif au niveau rénale

3.1. Préparation de l'homogénat et la fraction cytosolique rénale

Après la dissection, les reins récupérés sont rincés avec de l'eau physiologique. puis coupés en petits morceaux et pesés; 0.25 g du rein sont homogénéisés à l'aide d'un homogénéiseur dans 2.5 ml de solution tampon Tris-EDTA (0,1 mM, pH 7,6) contenant du KCl (1.15%) puis destiné après centrifugation (1000 tours/min pendant 15 minutes) pour le dosage du MDA.

Le surnageant collecté est centrifugé une deuxième fois à 9600 tours/min pendant 45 minutes. La fraction cytosolique récupérée est utilisée pour le dosage du glutathion réduit (GSH) et l'activité enzymatique de la catalase (CAT).

3.2. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

La peroxydation lipidique dans le rein est évaluée par le dosage de malondialdéhyde (MDA) selon la méthode de [136]. Le MDA est l'un des produits terminaux de la décomposition des acides gras polyinsaturés sous l'effet des radicaux libres libérés au cours du stress.

3.2.1. Principe de la méthode

Le dosage du MDA repose sur la formation, en milieu acide et à chaud à pH 2 à 3 et 100°C), entre une molécule de MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment de couleur rose ayant une absorbance maximale à 530 nm et extractible par les solvants organiques comme le n butanol.

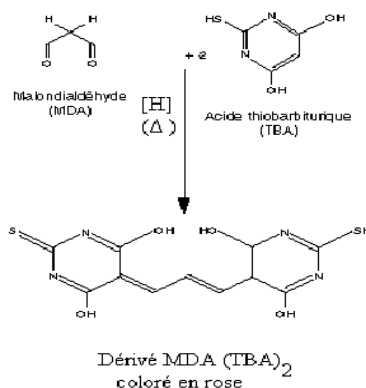


Figure 15 : Formation d'adduit MDA-TBA [136]

3.2.2. Réactifs et solvants

- ✓ L'acide thiobarbiturique TBA 0.67 %.
- ✓ L'acide trichloroacétique TCA 20%.
- ✓ Le n-butanol.

3.2.3. Procédure

À 0.5 ml de l'homogénat, on a additionné 0.5ml de TCA 20% et 1ml de TBA 0.67 %. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 45 min, refroidi puis additionné de 4 ml de n-butanol. Après centrifugation pendant 10 minutes à 3000 tours /minute à 4°C, la densité optique est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 530 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

Le MDA est exprimé en nmol/g de tissu de l'organe étudié et calculé à partir d'une gamme préparée sous les mêmes conditions avec une solution de « 1, 1, 3,3-tetraetoxypropane » qui donne le MDA après son hydrolyse.

3.3. Dosage de glutathion (GSH)

Le dosage de glutathion réduit est effectué selon la méthode de [137] au niveau des reins.

3.3.1. Principe de la méthode

La méthode du dosage de glutathion est basée sur l'évaluation de la réduction du réactif d'Ellman par les groupes (SH) en formant l'acide thionitrobenzoïque (TNB) ; ce dernier est caractérisé par une coloration jaune intense à pH basique (8 à 9), ce qui permet sa quantification spectrophotométrique à 412 nm.

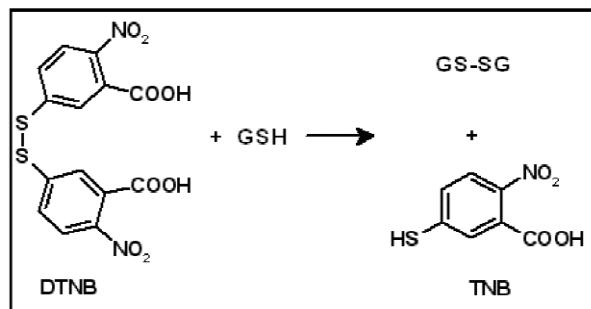


Figure 16 : La réaction entre DTNB et le GSH [137].

3.3.2 Réactifs et solvants

- ✓ L'acide trichloracétique 10%.
- ✓ Tampon phosphate de potassium pH8 (0.1M).
- ✓ Réactif d'Ellman ; 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque) 0.8g/100ml de sodium citrate 1%.

3.3.3. Procédure

Le dosage du glutathion réduit dans les tissus s'effectue selon les étapes suivantes :

- 0.5 ml de TCA à 10% sont mélangés avec 0.5 ml d'échantillon, le mélange est, de temps en temps, agité pendant 15 minutes.
- Après 15 minutes, les tubes sont centrifugés à 2000 tours/min pendant 5min à 4°C.
- D'autres tubes sont préparés pour le mélange réactionnel : 100µl de réactif d'Ellman (DTNB) sont ajoutés à 1.7 ml de tampon, ensuite, 200 µl de surnageant sont additionnés et la lecture a été effectuée après 5 minutes à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

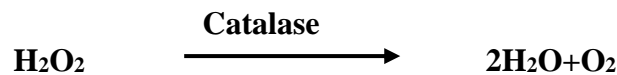
Les concentrations du glutathion réduit sont exprimées en μmol par gramme de tissu. Elles sont déduites à partir d'une gamme étalon de glutathion préparée dans les mêmes conditions que le dosage.

3.4. Évaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

L'activité enzymatique de la catalase est déterminée dans les tissus des reins selon la méthode de [138].

3.4.1. Principe de la méthode

Le dosage de l'activité enzymatique de la catalase est basé sur le changement de l'absorbance à 240 nm qui est due à la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par la catalase.



3.4.2 Réactifs et solvants

- ✓ Tampon phosphate de potassium pH 7.4 (0.1M).
- ✓ Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) 19mmol/ml.

3.4.3. Procédure

Dans une cuvette en quartz de 3 ml, 20 μl de l'homogénat sont mélangés avec 200 μl d'une solution de H_2O_2 à 19mmol/ml préparée dans le tampon phosphate de potassium pH 7.4 (0.1M). L'absorbance est lue à 240 nm chaque minute contre le blanc (H_2O_2) dans un intervalle de temps de 2 minutes.

L'activité enzymatique de la catalase est exprimée en U/mg de protéine rénale.

$$K = \frac{2.303}{T} \times \log \frac{A_1}{A_2}$$

K : Constant de vitesse,

T : Intervalle de temps,

A_1 : Absorbance dans le temps zéro,

A_2 : Absorbance après une minute

U/mg de protéine : μmol d' H_2O_2 consommé par minute par mg de protéines.

Résultats

1. Résultats

1.1. Dosage biochimique

Tableau 6 : L'effet néphroprotecteur de la vitamine E (100 mg/Kg) sur la fonction rénale altérée par la cisplatine

Groupes	Urée (mg/dl)	Créatinine (mg/dl)
Control	17,99±0,94	0,62±0,047
Cisplatine	79,86±4,89**	1,96±0,61**
Cisplatine+ vit E	33,92±2,85 (74,24 %) **	0,826±0,049 (84,61 %) **

n=3 ± Ecart type, * P<0.05, **P<0.01 (% de protection)

On remarque d'après les résultats du tableau ci-dessus, que :

La néphrotoxicité induite par une seule dose (8 mg/kg) de cisplatine se manifeste par une augmentation significative (p<0.01) de la créatinémie 1,96±0,61 mg/dl comparativement au témoin (0,62±0,047 61 mg/dl). Le taux de la créatinine a diminué significativement (p<0.01) (84,61 %) en utilisant de la Vit E (100 mg/Kg) (Tableau 6).

L'administration du cisplatine (8 mg/kg) a provoqué chez les souris une augmentation de l'urémie (79,86±4,89 mg/dl) hautement significative (p<0.01) en comparaison au témoin (17,99±0,94 mg/dl). L'introduction de la vitamine E (100 mg/Kg) chez les souris a diminué significativement l'urémie (p<0.01) (74,24 %) (Tableau N° 6).

1.2. Les marqueurs du stress oxydant

1.2.1. Le malondialdéhyde (MDA)

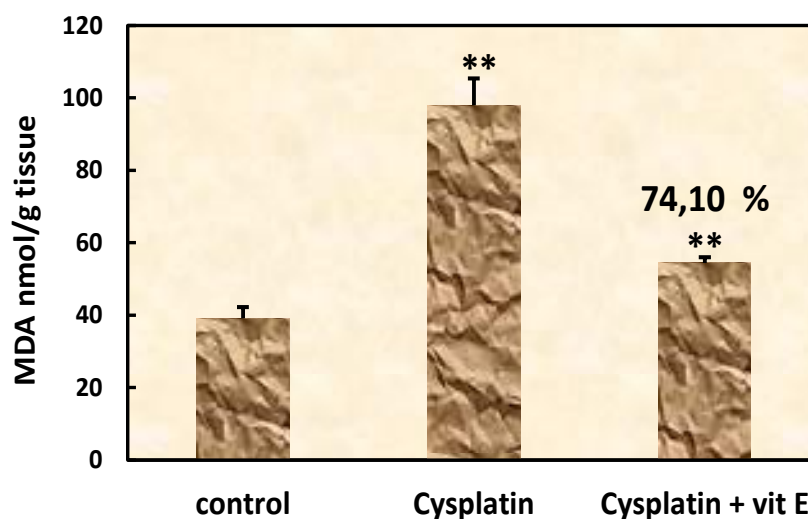


Figure 17 : L'effet protecteur de la vitamine E (100 mg/Kg, 10 jours) sur le taux du MDA induit par le cisplatine (8 mg/Kg. IP.), n=3 ± Ecart type, * P<0.05, **P<0.01

À partir de ces résultats, on remarque que la néphrotoxicité provoquée chez les souris traitées par le cisplatine est associée à une peroxydation lipidique exprimée par l'augmentation du taux du MDA. Le gavage des souris par la vitamine E (100 mg/Kg) a inhibé la peroxydation lipidique par un taux de 74.10 % (Figure N°17).

1.2.2 Le GSH cytosolique

La figure.N°18 illustre l'effet protecteur de la vitamine E sur la réduction du GSH induite par le cisplatine.

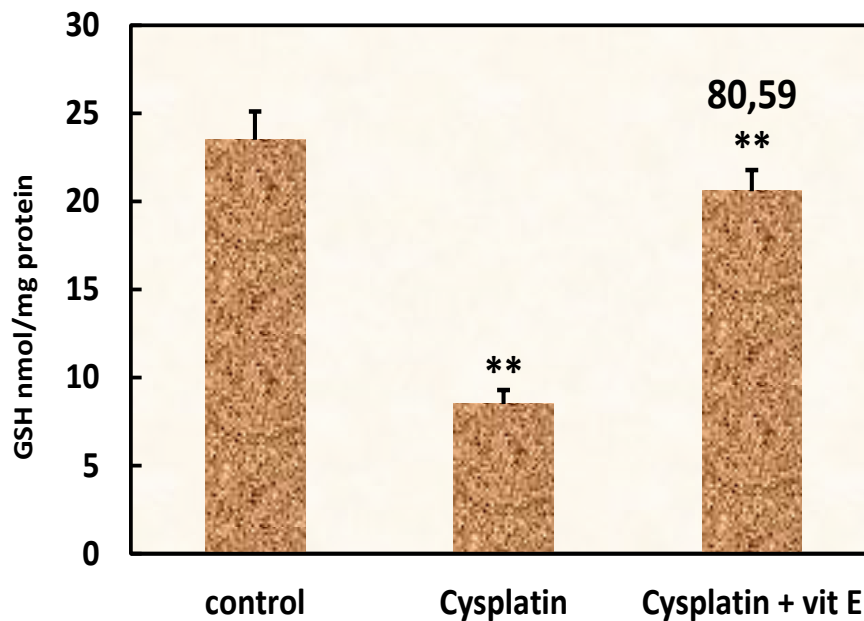


Figure 18 : L'effet protecteur de la vitamine E (100 mg/Kg, 10 jours) sur la réduction du GSH induite par le cisplatine (8 mg/Kg, IP.), $n=3 \pm$ Ecart type, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

La déplétion (diminution) du glutathion réduit (GSH) rénale par le cisplatine (8mg/Kg. ip) est restaurée significativement par l'administration de la vitamine E (100 mg/Kg) à 80.59% (FigureN°18)

1.2.3 La CAT cytosolique

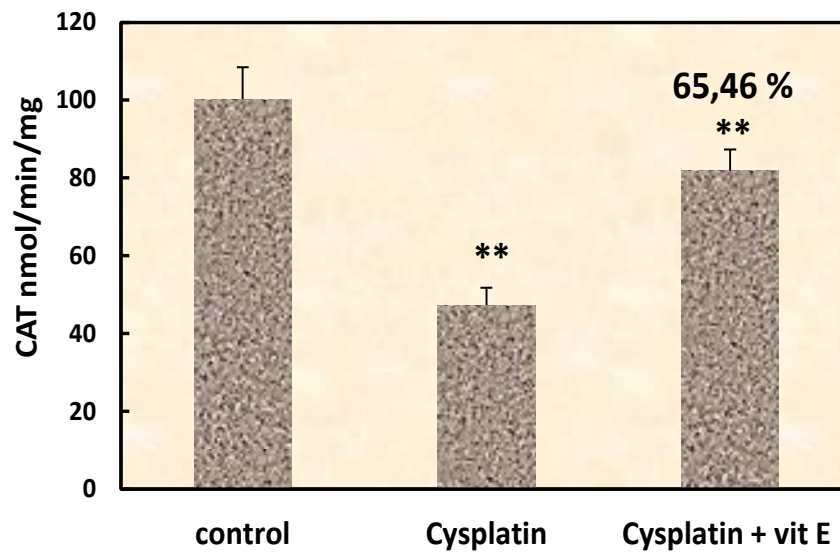


Figure 19 : L'effet protecteur de la Vit E (100 mg/Kg, 10 jours) sur la réduction de l'activité de la CAT, induite par le cisplatine (8 mg/Kg, IP.), $n=3 \pm$ Ecart type, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

D'après ces résultats, on remarque que l'administration de la vitamine E (100 mg/Kg) pendant 10 jours a préservé (65.46%) l'activité de la catalase cytosolique réduite par la toxicité aiguë engendrée par le cisplatine (8 mg/Kg. ip) (Figure 19).

Discussion

2. Discussion

Le traitement des cancers repose, actuellement, sur la chirurgie, la radiothérapie et les traitements médicaux, notamment, la chimiothérapie. Parmi les agents chimio-thérapeutiques les plus efficaces on a le cisplatine [140]. Le cisplatine (CDDP) est l'un des médicaments anticancéreux les plus utilisés pour le traitement de divers cancers et des tumeurs solides [141].

La présente étude a été conduite pour évaluer le stress oxydant au niveau rénal après traitement des souris par le cisplatine avec une dose unique de 8mg/kg de poids corporel par voie intra-péritonéale, ainsi que l'évaluation du potentiel antioxydant de la vitamine E.

La dépendance de la toxicité du cisplatine de la dose administrée et de la durée, est une réalité indiscutable. À forte dose, la toxicité aiguë du cisplatine s'installe dès la première heure de son administration [142].

Il a été rapporté que, le cisplatine s'accumule de manière préférentielle dans les cellules du segment S3 des tubules rénaux proximaux pour former un métabolite réactif intracellulaire par hydratation [143]. Les fortes doses de cisplatine peuvent conduire à la mort cellulaire contrôlée (l'apoptose) [144].

Afin d'explorer la fonction rénale et évaluer les atteintes subies par les animaux suite à l'injection du cisplatine ainsi que l'intensité des dégâts oxydatifs, de même pour estimer l'effet protecteur présumé de la vitamine E, différents dosages des bio-marqueurs de la néphrotoxicité et du stress oxydant ont été effectués.

Le dosage des concentrations de la créatinine et de l'urée sont des outils puissants permettant le suivi de la fonction rénale. Alors que l'estimation du MDA est le reflet de l'étendue des dégâts oxydatifs ; le dosage du glutathion (GSH) et de l'activité de l'enzyme catalase renseigne sur l'état du système de défense antioxydant.

La fonction rénale peut également être déterminée par l'interprétation au niveau de l'urée dans le sang. Au cours du métabolisme des protéines dans le corps, le foie génère de l'ammoniac, qui est transformé en un sous-produit appelé urée. Les reins filtrent un excès d'urée au niveau du glomérule qui est ensuite éliminé dans l'urine, mais en raison d'un dysfonctionnement rénal, l'urée est libérée dans la circulation sanguine. Par conséquent, la concentration la plus élevée de l'urée dans le sang est proportionnelle à la gravité de l'atteinte rénale. La créatinine est principalement filtrée par les reins (filtration glomérulaire et la sécrétion tubulaire proximale) [145].

D'après les résultats du tableau N°6, on a remarqué qu'il y a une augmentation significative de la créatininémie et de l'urémie chez les souris traitées par le cisplatine en comparaison avec le lot témoin.

[146] ont également signalé une augmentation des concentrations de l'urée et de la créatinine sanguine chez les animaux traités par le cisplatine.

L'urée et la créatinine sont des bio-marqueurs classiques de la néphrotoxicité ; dont l'urée est le premier soluté détecté dans le sang, qui permet de mesurer le débit de filtration glomérulaire (DFG) [147,148]. La concentration de la créatinine est utilisée pour l'estimation de la fonction rénale [149].

Ces résultats peuvent être expliqués par la diminution du débit de filtration glomérulaire (DFG) ce qui explique une réduction de la fonction rénale [150].

Donc la néphrotoxicité induite par le cisplatine chez les souris est marquée par l'augmentation significative des concentrations de la créatinine et de l'urée sanguine qui peuvent être en raison du taux de la diminution de la filtration glomérulaire ou peut être secondaire dû à l'augmentation des espèces réactives de l'oxygène [151] cela induit une contraction des cellules mésangiales, une modification de la surface de filtration et de modifier les cofacteurs efficaces d'ultrafiltration qui réduisent ainsi le taux de filtration glomérulaire [152].

Une diminution significative du taux d'urémie et de créatininémie a été observée chez les souris prétraitées avec la vitamine E.

Dans la présente étude, cette réduction d'urémie semble être due à sa capacité à réduire la dysfonction rénale. Les mesures de l'urée et de la créatinine avec le prétraitement de la vitamine E montrent une concordance avec ceux cités par [153, 154, 155, 156 et 157].

Le MDA

Le MDA cytosolique est dosé à la fin de l'expérimentation, les résultats de la figure N°17 montrent clairement une élévation significative du MDA cytosolique qui est le résultat de l'augmentation des ROS qui attaquent les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire et provoque la peroxydation lipidique [158]. Les acides gras polyinsaturés comme les acides linoléiques ou arachidoniques sont les cibles privilégiées des ROS et plus particulièrement des radicaux libres. Dans une première étape, ils se transforment en peroxydes lipidiques (ROOH) [159].

Le cisplatine génère les espèces réactives de l'oxygène, telles que l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et des radicaux hydroxyles (OH^{\cdot}), et stimule la peroxydation lipidique rénale [160].

L'augmentation du taux du MDA montre une concordance avec les résultats obtenus par [11, 161, 162, 163 et 164].

[165] ont suggéré que, la production des radicaux libres ne soit pas la cause directe de la lésion rénale induite par le cisplatine, puisque l'administration *in vivo* d'antioxydants chez les animaux traités avec le cisplatine peut atténuer ou inhiber les lésions rénales.

Le gavage des souris par la vitamine E (100 mg/Kg) de poids corporel a inhibé la peroxydation lipidique de 74.10 % (Figure 17).

La vitamine E arrête la chaîne de propagation radicalaire dans les membranes en limitant la peroxydation des acides gras polyinsaturés [166]. En effet, la cinétique de cette étape de propagation étant lente, la vitamine E peut l'arrêter, en réparant le radical peroxy ($AGPIOO^{\cdot}$) par la formation d'hydro-péroxyde ($AGPI-OOH$). Dans cette réaction de piégeage, la vitamine E devient à son tour radicalaire et la vitamine C ou le GSH peuvent la régénérer [167].

Nos résultats sont donc en accord avec ceux de [168 et 169] qui ont montré que la vitamine E réduit le taux du MDA dans : le plasma, les érythrocytes, les reins et le foie mais avec combinaison de la vitamines C et du GSH et d'autres substances (aminoguanidine).

Après avoir eu une idée générale sur l'étendue de la peroxydation lipidique que peut causer le cisplatine, il serait très utile de vérifier la performance du système de défense antioxydant rénal. Pour cela, on a procédé à la mesure des taux du GSH cytosolique qu'est un antioxydant non enzymatique, il constitue la première ligne de défense anti-radicalaire [170], ainsi que l'activité enzymatique de la catalase (CAT).

Le GSH

Les résultats représentés dans la figure N°18 montrent une déplétion du glutathion réduit (GSH) rénale par le cisplatine. La diminution du GSH pourrait être expliquée par la capacité du platine à se lier spontanément au GSH, formant un conjugué qui pourra être éliminé plus facilement par les cellules épithéliales du tubule proximal (RPTECs). Cette conjugaison est assortie d'une déplétion en glutathion qui affaiblit les défenses anti-oxydantes de la cellule [171].

Il a été rapporté que, l'administration du cisplatine à des souris normales a donné lieu à la réduction du GSH et la potentialisation ultérieure de la peroxydation des lipides dans les tranches corticales rénales [172].

La déplétion en glutathion réduit (GSH) rénale par le cisplatine est restaurée significativement par l'administration de la vitamine E (100 mg/Kg) comme le montre la Figure 18.

L'activité de la catalase (CAT)

L'activité de la CAT a également diminué chez les souris traitées par le cisplatine, ce qui peut augmenter la peroxydation lipidique, d'où l'augmentation de la concentration du MDA [173].

Les ROS, par une vie très courte et une réactivité élevée, sont analysés indirectement par l'évaluation de l'activité de la CAT. Cette enzyme décompose la molécule H_2O_2 en O_2 et H_2O [174]. Cette réaction constitue un ensemble soutenu contre les ROS [102, 175], la CAT est très efficace dans l'inhibition de diverses lésions causées par les ROS et pourrait protéger le rein de la néphrotoxicité induite par le cisplatine [176].

Ce résultat peut expliquer une production intense de H_2O_2 suite au traitement des animaux par le cisplatine, par contre, le prétraitement des animaux par la vitamine E atténue complètement ces effets puisque l'activité de la CAT est revenu à la normale.

La vitamine E chargée de neutraliser les radicaux libres en excès, peut agir à de deux façons différentes, soit en piégeant directement les ROS, soit en régulant la hausse des activités de l'enzyme anti-oxydante [177].

Ainsi [178] ont interprété la réduction de l'activité de la CAT dans les reins par l'effet néfaste direct des radicaux libres sur l'enzyme.

Ces résultats expliquent donc la propriété anti-oxydante de la vitamine E qui est démontrée dans plusieurs travaux [81, 90, 176 et 179].

Chez les patients atteints de cancer, on prescrit des suppléments d'antioxydants pour améliorer les bénéfices du traitement [180]. La vitamine E est prescrite pour jouer un rôle dans la protection contre la néphrotoxicité induite par le cisplatine [168,169].

Conclusion

Conclusion

Dans notre étude, le prétraitement des souris par la vitamine E permet la mise en évidence d'un effet néphroprotecteur et préventif de cette substance contre la toxicité du cisplatine. Les résultats de la recherche de mécanismes d'action de ce composé montrent une activité anti-oxydante permettant la neutralisation des radicaux libres oxygénés générés par le cisplatine au niveau des cellules rénales. Effectivement le statut redox cellulaire est maintenu à son équilibre en normalisant le taux et l'activité des systèmes antioxydants des cellules rénales comme la catalase (CAT) et le glutathion (GSH) chez les souris ayant reçu du cisplatine et prétraités par la vitamine E, ce qui empêche une lipoperoxydation excessive et protège ainsi la mort des cellules tubulaires proximales.

La néphrotoxicité induite par le cisplatine est caractérisée par une nécrose tubulaire aiguë au niveau du segment S3 du tubule proximal dans la région cortico-médullaire associée à une fibrose interstitielle.

On conclut que la vitamine E a un effet protecteur dans la néphrotoxicité causée par le cisplatine, du profil lipidique et du stress oxydant au niveau rénale. Ces résultats soutiennent plus ou moins son utilisation.

Références
Références

Bibliographiques
Bibliographiques

Références

- [1] **Newman D.J., Price CP. (1999).** Renal Function and Nitrogen Metabolites. Dans: Burtis CA, Ashwood ER, éditeurs. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3^e ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; p. 1204-70.
- [2] **Cronin R.E., Henrich W.L. (2000).** Toxic Nephropathies. Dans: Brenner BM, éditeur. The Kidney. 6^e Ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; p. 1563-96.
- [3] **Taguchi T., Nazneen A., Abid MR., Razzaque MS. (2005).** Cisplatin associated nephrotoxicity and pathological events. *Contrib Nephrol*; 148:107–21.
- [4] **Cvitkovic E. (1998).** Cumulative toxicities from cisplatin therapy and current cytoprotective measures. *Cancer Treat Rev*; 24:265–81.
- [5] **Schetz M., Dasta J., Goldstein S., Golper T. (2005).** Drug-induced acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care*; 11: 555–565.
- [6] **Zager R.A. (1997).** Pathogenetic mechanisms in nephrotoxic acute renal failure. *Semin Nephrol*; 17: 3–14.
- [7] **Santos N.A.G. (2007).** Cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria *Arch Toxicol*; 81:495-504.
- [8] **Barabas K., Milner D. Lurie R., Adin C. (2008).** Cisplatin a review of toxicities and therapeutic applications. *Veterinary and comparative oncology*. 6, 1, 1-18. Blackwell Publishing Ltd.
- [9] **Dobyn D.C., Levi J., Jacobs C., Kosek J., Weiner M.W (1980).** Mechanism of cisplatin nephrotoxicity: Morphologic observations, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 213: 551-556.
- [10] **Goldstein R.S., Noordewier B., Bond J.T., Hook A.B., Mayor G.H (1981).** Cis-dichloro-diammine platinum nephrotoxicity: time course and dose response of renal functional impairment, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 60: 163-175.
- [11] **Saad S.Y., Al-Rikabi A.C. (2002).** Protection effects of taurine supplementation against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Chemotherapy*; 48:42–8.

- [12] **Naziroglu M., Karaoglu A., Aksoy A.O. (2004).** Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology*;195:221–30.
- [13] **Hu Y.J., Chen Y., Zhang Y.Q., Zhou M.Z., Song X.M., Zhang B.Z., et al. (1997).** The protective role of selenium on the toxicity of cisplatin-contained chemotherapy regimen in cancer patients. *Biol Trace Elem Res*; 56:331–41.
- [14] **Saleh S., El-Demerdash E. (2005).** Protective effects of l-arginine against cisplatin-induced renal oxidative stress and toxicity: role of nitric oxide. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*; 97:91–7.
- [15] **Santoso J.T, Lucci 3rd J.A, Coleman R.L., Schafer I., Hannigan E.V. (2003).** Saline, mannitol, and furosemide hydration in acute cisplatin nephrotoxicity: a randomized trial. *Cancer ChemotherPharmacol*; 52:13–8.
- [16] **Hartmann J.T., Fels L.M., Knop S., Stolt H., Kanz L., Bokemeyer C. (2000).** A randomized trial comparing the nephrotoxicity of cisplatin/ ifosfamide-based combination chemotherapy with or without amifostine in patients with solid tumors. *Invest New Drugs*;18:281–9.
- [17] **Alain R., Sylvie T (2007).** Anatomie et physiologie. l'appareil urinaire. Paris : masson, 4^{ème} édition. p251.
- [18] **Elaine N. Marieb. (2008)** Biologie humaine. Principes d'anatomie et physiologie. Pearson éducation. 8^{ème} édition. France. P545.
- [19] **Elaine N. Marieb. (2008).** Biologie humaine. Principes d'anatomie et physiologie. Pearson éducation. 8^{ème} édition. France. P546.
- [20] **Elaine N. Marieb. (2008)** Biologie humaine. Principes d'anatomie et physiologie. Pearson éducation. 8^{ème} édition. France. P547.
- [21] **Raymond G., Michel A., Fernan B., Guy CH., André P., Philip S. (2004).** Physiologie animale. ISBN-2-8041-4893-9.
- [22] **Eric P. Widmaier., Hershel Raff., Kevin T. Strang (2013).** Vander Physiologie humaine. Les mécanismes du fonctionnement de l'organisme. Edition Maloine. 6^{ème} édition. France. P477.

Références

- [23] **Eric P. Widmaier., Hershel Raff., Kevin T. Strang (2013).** Vander Physiologie humaine. Les mécanismes du fonctionnement de l'organisme. Edition Maloine. 6^{ème} édition. France. P478.
- [24] **Gougoux A. (1942).** Physiologie des reins et des liquides corporels. Éditions Multimondes. p68.
- [25] **Alain M., coll. (1994)** Maladie rénale de l'adulte compréhension, diagnostic, traitement. EDITION Ellipses. Paris. p30.
- [26] **Blanchard A., Rosa P., Pascal H. (2008).** Exploration des fonctions tubulaires rénales. Néphrologie & Thérapeutique 5 :68-83.
- [27] **Dee Unglaud Silverthorn. (2007)** Physiologie humaine. Une approche intégrée. Pearson éducation. 4^{ème} édition. France. P586.
- [28] **Hélarlot D., Berl M., Rébillon M., Roussely B. (2006).** Guide concours infirmier(e) anesthésiste Spécialisation santé 3^{ème} édition. Masson, p64.
- [29] **Martin C., Jean-Michel A., Jacques P. (2007-2008).** Histologie : organes, systèmes et appareils, p96.
- [30] **Osborne C.A., Fletcher T.F. (1995).** Applied anatomy of the urinary system with clinicopathologic correlation. In: OSBORNE C.A., FINCO D.R. editors. Canine and feline nephrology and urology. Philadelphia: Williams and Wilkins, 3-28. 2007-2008 p97.
- [31] **Dee Unglaud Silverthorn. (2007).** Physiologie humaine. Une approche intégrée. Pearson éducation. 4^{ème} édition. France. P588.
- [32] **Sherwood. (2006).** Physiologie humaine. 2^{ème} édition. deboeck, P408.
- [33] **Dee Unglaud Silverthorn. (2007).** Physiologie humaine. Une approche intégrée. Pearson éducation. 4^{ème} édition. France. P590.
- [34] **Liliane. B. (1987).** Anatomie physiologique microbiologie. France : aubin imprimeur p177.
- [35] **Guignard J.P., Gouyon J.B., Simeoni U. (2001).** Médicaments. Néphrotoxicité. Insuffisance rénale aiguë chez le nouveau-né. Elsevier, Paris, p 111-122.

- [36] Svetlana K., Vincent L., Isnard-Bagnis C. (2010). Toxicité rénale des médicaments. *Néphrologie & Thérapeutique*. Elsevier Masson SAS 6: 58-74.
- [37] Matzke G.R, Frye R.F. (1997) Drug administration in patients with renal insufficiency: minimizing renal and extra renal toxicity. *Drug Safety*; 16 (3): 205-31.
- [38] Bennett W.M. (1997). Drug nephrotoxicity: an overview. *Renal failure*; 19 (2): 221-4.
- [39] Devasmita C., Ziauddin A. (1997). Drug-induced nephrotoxicity. *Med Clin North Am*; 81 (3): 705-17.
- [40] Bentley M.L., Corwin H.L., Dasta J. (2010). Drug-induced acute kidney injury in the critically ill adult: recognition and prevention strategies. *Crit Care Med*; 38:S169-74.
- [41] Deray G. (2004). Renal and cardiovascular effects of non-steroidal anti-inflammatories and selective cox 2 inhibitors. *Presse Méd*; 33(7):483-9.
- [42] Cattaneo D., Perico N., Gaspari F., et al. (2004). Nephrotoxic aspects of cyclosporine. *Transplant Proc*; 36:234S-39S.
- [43] Swan S.K. (1997). Aminoglycoside nephrotoxicity. *Semin Nephrol*; 17:27-33.
- [44] Rybak M.J., Abate B.J., Kang S.L., et al. (1999). Prospective evaluation of the effect of an aminoglycoside dosing regimen on rates of observed nephrotoxicity and ototoxicity. *Antimicrob Agents Chem other*;43:1549-55.
- [45] Lopez-Novoa J.M., Quiros Y., Vicente L., et al. (2011). new insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney Int*; 79:33-45.
- [46] Ali B.H., Al Za'abi M., Blunden G., et al. (2011). Experimental gentamicin nephrotoxicity and agents that modify it: a mini-review of recent research. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*; 109:225-32.
- [47] Karie S., Launay-Vacher V., Deray G., et al. (2010). Drugs renal toxicity. *NéphrolThér*; 6:58-74.
- [48] Appel G.B., Garvey G., Silva F., et al. (1981). Acute interstitial nephritis due to amoxicillin therapy. *Nephron*; 27:313-5.

Références

- [49] **Berns J.S., Cohen R.M., Stumacher R.J., et al. (1991).** Renal aspects of therapy for human immunodeficiency virus and associated opportunistic infections. *J Am Soc Nephrol*; 1:1061-80.
- [50] **Rashed A., Azadeh B., Abu Romeh S.H. (1990).** Acyclovir-induced acute tubulo-interstitial nephritis. *Nephron*; 56:436-8.
- [51] **Giustina A., Romanelli G., Cimino A., et al. (1988).** Low-dose acyclovir and acute renal failure. *Ann Intern Med*; 108:312.
- [52] **Becker B.N., Fall P., Hall C., et al. (1993).** Rapidly progressive acute renal failure due to acyclovir: case report and review of the literature. *Am J Kidney Dis*; 22:611-5.
- [53] **Peterslund N.A., Larsen M.L., Mygind H. (1988).** Acyclovir crystalluria. *Scand J Infect Dis*; 20:225-8.
- [54] **Waness A., Bahlas S., Al Shohaib S. (2008).** Simvastatin-induced rhabdomyolysis and acute renal injury. *Blood Purif*; 26:394-8.
- [55] **El-Abdellati E., Eyselbergs M., Sirimsi H., et al. (2013).** An observational study on rhabdomyolysis in the intensive care unit. Exploring its risk factors and main complication: acute kidney injury. *Ann Intensive Care*; 3:8.
- [56] **Habib G.S., Saliba W., Nashashibi M., et al. (2006).** Penicillamine and nephrotic syndrome. *Eur J Intern Med*; 7:343-8.
- [57] **Choi H.K., Merkel A.M., Walker A.M., Niles J.L. (2000).** Drug-induced antineutrophil cytoplasmic antibody-positive vasculitis. *Arthritis Rheum*; 43:405–413.
- [58] **Parikh C.R., Devarajan P. (2008).** New biomarkers of acute kidney injury. *Crit Care Med*; 36:S159–65.
- [59] **Rosenberg B., Vancamp L., Krigas T. (1965).** Inhibition of Cell Division in *Escherichia Coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. *Nature* 205:698-9, PMID: 14287410.
- [60] **Rosenberg B., Van Camp L., Trosko J.E., et al. (1969).** Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. *Nature* 222:385-6; PMID: 5782119.

- [61] **Ozols R.F., Young R.C. (1984).** Chemotherapy of ovarian cancer. *Semin Oncol* 11:251-63; PMID: 6435250.
- [62] **Weinberg J.M. (1993).** The Cellular Basis of Nephrotoxicity. Dans: Schrier RW, Gottschalk CW, editors. *Diseases of the Kidney*. 5e Ed. Boston: Little, Brown and Company. p. 1031-97.
- [63] **Arany I., Safirstein R.L. (2003).** Cisplatin nephrotoxicity. *Semin Nephrol*; 23:460-664.
- [64] **ALDERDEN R., HALL M., HAMBLEY T., et al. (2006).** The discovery and development of cisplatin. *Journal of chemical education*; vol. 83, n°5, p. 728-734.
- [65] **Kelman A.D et al. (1976).** An analysis of the modes of binding of antitumor platinum complexes to DNA. *Wadely Med Bull*; 7(1):440-448.
- [66] **Connors T.A., Jones M., Ross W.C., et al. (1972).** New platinum complexes with anti-tumour activity. *Chem Biol Interact* 5:415-24; PMID: 4652593.
- [67] **Eastman A. (1986).** Reevaluation of interaction of cis-dichloro (ethylenediamine) platinum (II) with DNA. *Biochemistry* 25:3912-5; PMID: 3741840.
- [68] **Andrews P.A., Albright K.D. (1992).** Mitochondrial defects in cis-diammine-dichloroplatinum (II)-resistant human ovarian carcinoma cells. *Cancer Res* 52:1895-901; PMID: 1551118.
- [69] **Peyrot V., Briand C., Momburg R., et al. (1986).** In vitro mechanism study of microtubule assembly inhibition by cis-dichlorodiammine-platinum (II). *Biochem. Pharmacol* 35:371-5; PMID: 3947376.
- [70] **Mandic A., Hansson J., Linder S., et al. (2003).** Cisplatin induces endoplasmic reticulum stress and nucleus-independent apoptotic signaling. *J Biol Chem* 278:9100-6; PMID: 12509415.
- [71] **Desoize B. (1994).** Anticancer drug resistance and inhibition of apoptosis. *Anticancer Res* 14:2291-4; PMID: 7825961.
- [72] **Simonian P.L., Grillot D.A., Nunez G. (1997).** Bcl-2 and Bcl-XL can differentially block chemotherapy-induced cell death. *Blood* 90:1208-16; PMID: 9242554 48.

- [73] **Li J., Feng Q., Kim J.M., et al. (2001).** Human ovarian cancer and cisplatin resistance: possible role of inhibitor of apoptosis proteins. *Endocrinology* 142:370-80; PMID: 11145600.
- [74] **Jacobs C., Kalman S.M., Tretton M., Weiner MW. (1980).** Renal handling of cis-diamine-dichloroplatinum (II). *Cancer Treatment Reports*; 64: 1223-1226.
- [75] **Rosenberg B (1978).** Platinum complex-DNA interactions and anticancer activity; *Biochimie*, 60: 859-867.
- [76] **Jamieson E.R., Lippard S.J (1999).** Structure, recognition and processing of cisplatin-DNA Adducts; *Chem Rev*, 99: 2467-2498.
- [77] **Bentefrit F. (1996).** Analogues du cisplatine: quelques composés formés par le platine (II) et (IV) ou palladium (II) avec deux médicaments de la famille des biguanides (metformine et proguanil), thèse de l'Université PARIS XI.
- [78] **Scott J., Bradbury R. (1994).** Pharmacokinetic dosing of carboplatine; *Fla J Hosp Pharm*, 14: 17-18.
- [79] **Kuhlmann M.K., Burkhardt G., Kohler H. (1997).** Insights into potential cellular mechanisms of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application. *Nephrol Dial Transplant*; 12: 2478-80.
- [80] **Baliga R., Ueda N., Walker P.D., Shah S.V. (1999).** Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. *Drug Metab Rev*;31:971-97.
- [81] **Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J.O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et Métabolisme*, 16 : 233-239.
- [82] **Durackova Z., Djrolo F., Hougbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N., Avimadj M. (2008).** Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. *Mitochondrial medicine*. Gvozdjakova A (ed). P: 19-43.
- [83] **Halliwell B. (2006).** Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide. *Trends in biochemical sciences*.31 (9):509-515.
- [84] **Priyadarsini K.I., (2005).** Molecular Mechanisms Involving Free Radical Reactions of Antioxidants and Radio protector. *Founder's Day Special Issue*.15:1-6.

- [85] **Marfak A., (2003).** Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec les Radicaux issus des Alcools: Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES. p 187.
- [86] **Favier A. (2006).**Oxydative stress in human diseases. *Ann.Pharm.Fr.* 64: 390-396.
- [87] **Salganik R.I. (2001).**The benefits and hazards of antioxidants: controlling apoptosis and other protective mechanisms in cancer patients and the human population. *J. Am. Coll. Nutr.* 20: 464S-472S.
- [88] **Petropoulos I. (2003).** Stress oxydant et vieillissement modifications oxydatives des protéines au cours du vieillissement.Diderat.Paris.p5.
- [89] **Gardès A. (2006).** Aspect physico-chimiques des espèces réactives de l'oxygène. *Ann. Pharm Fr*, 64 : 365-372.
- [90] **Favier A. (2003).**Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*.pp: 108-115.
- [91] **Harman D. (2000).** Aging: overview. *Ann N Y Acad Sci...*Vol 928:1–21.
- [92] **Koechlin-Ramonatxo., C. (2006).** Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et métabolique.* 20:165-177.
- [93] **Stief T.W. (2003).** The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Med Hypoth.* Vol 60:567–572.
- [94] **Halliwell., B. (1997).** Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutr Rev* .Vol 55:44–49.
- [95] **Pal Yu. B. (1994).** Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiopathological Reviews.* 74: 139-155.
- [96] **Sorg O. (2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies.* 327: 649-662.
- [97] **Borg J.M., Reeber A. (2008).**Biochimie métabolique, Ellipses, France, pp: 257-269.

- [98] **Fang Y., Yang Z., Wu S.G. (2002).**Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. Vol 18:872–879.
- [99] **Bartosz., G. (2003).** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*. 9: 5-21.
- [100] **Halliwell B., Cross C.E. (1994).** Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ. Health Persp.* 102 (Suppl. 10): 5-12.
- [101] **Cadet J., Bellon S., Berger M., Bourdat A.G., Douki T., Duarte V., Frelon S., Crompton M. (1999).**The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *J. Biochem.*, 341: 233-249.
- [102] **Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (2007).** Free Radicals in Biology and Medicine. 4 th ed. Oxford University Press, pp: 20-31.
- [103] **Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique,- novembre-décembrepp: 91-96.
- [104] **Duvall E., Wyllie A.H. (1986).**Death and cell. *Immunol. Today*; 7:115-119.
- [105] **Von Sonntag C. (1987).** Enzymes (chap. 14), *The Chemical Basis of Radiation Biology*, Taylor& Francis, Londres, p. 429.
- [106] **Feng Z., Hu W., Tang Ms. (2004).** Trans-4-hydroxy-2-nonenal inhibits nucleotide excision repair in human cells: A possible mechanism for lipid peroxidation-induced carcinogenesis. 8598–8602 _ *PNAS*. vol. 101 _ no. 23: 8598-860.
- [107] **Barber D.A., Harris S.R. (1994).** Oxygen free radicals and antioxidants :A review.*J.Am.Pharmacol.*534,26-35.
- [108] **Abuja P.M., Albertini R. (2001).** Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica ChimicaActa* 306 (1-17).
- [109] **Dan Y. (2008).** Biological functions of antioxidants in plant transformation. *In vitro Cell. Dev. Biol-Plant*, 44:149-161.
- [110] **Biewenga G.P., Haenen G.R., .Bast A.(1997).** The pharmacology of the antioxidant-lipoic acid, *Gen.Pharmacol.*29 (3), 345-331.

Références

- [111] **Beaudeau J.L., Dominique B.R. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Edition médicales. Internationales p : 550.
- [112] **Gerard-Monnier D., Chaudiere J. (1996).** Metabolism and antioxidant function of glutathione. *Pathol Biol.* Vol 44: 77-85.
- [113] **Mezzetti A., Pierdomenico S.D., Costantini, F et al. (1998).** Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases *Free. Rad Biol Med*, 25,676-681
- [114] **Del Corso L., Pastine F., Protti M.A., Romanelli A.M., Moruzzo D., Ruocco L., Pentimone F. (2000).** Blood zinc, copper and magnesium in aging. A study in healthy home-living elderly. *Panminerva Med.* 42:273-7.
- [115] **Combs G.F. (2001).** Selenium in global food systems. *Br J Nutr*; 85:517-47).
- [116] **Breinneisen P., Steinbrenner H., Sies H. (2005).** Selenium, oxidative stress and health aspects. *Mol Aspects Med* ; 26:256-67.
- [117] **Derbel S., Ghedirak. (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, 1, 28-34
- [118] **Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif, 1, 3-6
- [119] **Scalbert A., Williamson G. (2000).** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr*, 130, 85-2073.
- [120] **Wilson A. (1987).** Flavonoids pigments in chalkhill blue (*Lysandra coridon*) and other lycaenid butterflies. *J. Chem. Ecol*; 13 (3): 473-493.
- [121] **Bors W., Michel C., Stettmaier K. (1997).** Antioxidant effects of flavonoids. *Biofactors* 6: 399-402.
- [122] **Chandana Venkateswara R., Vijayakumar M. (2008).** Effect of quercetin, flavonoids and α -tocopherol, an antioxidant vitamin on experimental reflux oesophagitis in rats. *Eur. J. Pharmacol*; 589 (1-3): 233-8.
- [123] **Steven C. (2006).** Antioxidants in veterinary nutrition, *Veterinary Clinics Small Animal Practice*. 36, 1183-1198.

- [124] **Evans W.J. (2000).** Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr.*; 72: 647S-652S.
- [125] **OHIA S.E., OPERE C.A., LEDAY A.M. (2005).** Pharmacological consequences of oxidative stress in ocular tissues, *Mutation Research* 579 22-3623, 100.
- [126] **Chandan K., SENS M.A., OSMO H. (1994).**Exercise-induced oxidative stress: glutathione supplementation and deficiency, *Journal of applied physiology* , 77 (5),2177-87.
- [127] **Haleng J.,Pincemail J.,Defraigne J.O.,Charlier C.,Chapelle J.P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue médicale de liège* 62,628-638.
- [128] **Burton G.W.,Traber M.G., Acuff R.V.et al. (1998).** Human plasma and tissue alpha-tocopherol concentrations in response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E.*Am J Clin nutr.*67: 669-684.
- [129] **Claude Bourgeois. (mars 2003).**Les Vitamines dans les Industries Agroalimentaires ; Editions TEC & DOC, pages 11, 74, 86 à 90, 274 à 277, 636 à 656.
- [130] **Maydani M. (2000).** Vitamin E and prevention of heart disease in high-risk patients. *Nutr Rev.*58, 278-281.
- [131] **De Kumar A., RukmimiD.(1988).**Physiological antioxidants andantioxydativeenzymes in vitamin E-deficient rats. *Toxicology Letters* 44: 47-54.
- [132] **Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne JO. (1998).** Espèces oxygénées activées en médecine humaine: une approche didactique. *Vaisseaux, Cœur, Poumon*; 3:133-8.
- [133] **Biesalski H.K., Bischoff S.C., Puchstein C. (2010).** Ernährungsmmedizin, 4 Auflage, Georg Thieme. Verlag, Stuttgart.
- [134] **Pieroni A.,Janiak V.,Durr C.M.,Ludeke S.,Trachsel E., Heinrich M.(2002).**In vitro antioxidant activity of non-cultivated vegetables of ethnic albanians in southern italy.*Phytother.Res*16:467-473.
- [135] **Combs G.F.Jr., Bunk M.J.,Lavorgnam.,W.(1981).**Vitamin E and seleniim important in chick diet .*Feedstuffs USA* 53 :19,p20.
- [136] **Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. (1979).** Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annals of Biochemistry*, 95: 351- 358.

- [137] **Ellman G.L. (1959).** Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*; 82: 70-77.
- [138] **Claiborne A. (1985).** Catalase activity. In: *Handbook of methods for oxygen radical research* (R. A. Greenwald, Ed). Boca Raton, FL, pp. 283-284.
- [139] **Roberts J.J., Fraval H N A. (1980).** Repair of c/s-platinum (II)diammine dichloride-induced DNA damage and cell sensitivity, in Prestayko A W, C rooke S T, Catrter S K(eds): *Cisplatin: current Status and New Developments* .New York, Academic Press p.57.
- [140] **Sweetman S.C. (2002).** Antineoplastic and immunosuppressant. *The Complete Drug Reference*, 33rd ed. Pharmaceutical Press, London, UK. pp. 516–517.
- [141] **Gaedeka J., Fels L.M., Bokemeyer C., Mengs U., Stolte H., entzen H. (1996).** Cisplatin nephrotoxicity and protection by silibinin. *Nephrol Dial Transplant* 11 :55-62.
- [142]. **Kim Y.H., Kim Y.W., Oh Y.J., Chung S.A., Chung H.G., (2006).** Protective effect of the ethanolic extract of the roots of *Brassica Rapa* on cisplatin induced nephrotoxicity in LLC-PK1 cells and rats. *Biol. Pharm. Bull.* 29: 2436–2441.
- [143] **Baek S.M., Kwon C.H., Kim J.H., Woo J.S., Jung J.S., Kim Y.K. (2003).** Differential roles of hydrogen peroxide and hydroxyl radical in cisplatin -induced cell death in renal proximal tubular epithelial cells. *J Lab Clin Med*; 142: 178–186.
- [144] **Dickey D.T., Muldoon L.L., Doolittle N.D., Peterson D.R., Kraemer D.F., Neuwelt E.A. (2008).** Effect of N-acetylcysteine route of administration on chemoprotection against cisplatin induced toxicity in rat models. *Cancer Chemother Pharmacol*; 62: 235–241.
- [145] **Silici S., Ekmekcioglu O., Kanbur M., Deniz K. (2010).** The protective effect of royal jelly against cisplatin -induced renal oxidative stress in rats. *World J Urol*; 29: 127–132.
- [146] **National Research Council. (1995).** Commission on Life Sciences Board on Environmental Studies and Toxicology. Committee on Biological Markers, Subcommittee on Biologic Markers in Urinary Toxicology. In: *Biologic Markers in Urinary Toxicology*. National Academy Press, Washington DC; p 16-21.
- [147] **George A. PORTER. (2008).** Clinical relevance IN: *Clinical Nephrotoxins Renal Injury from Drugs and Chemicals*, Third Edition. Springer Science+Business Media, LLC. 1-27.

- [148] **Stevens L.A., Levey A.S. (2005).** Measurement of kidney function. *Med Clin North Am*; 89: 457-473.
- [149] **PAGE R., LEIFER C.E. (1985).** Cisplatin, a new antineoplastic drug in veterinary medicine- *J.Am.Vet.Med.Assoc.*186,3: 288-290.
- [150] **Noori S., Mahboobc T. (2010).** Antioxidant effect of carnosine pretreatment on cisplatin -induced renal oxidative stress in rats. *Ind. J. Clin. Biochem.* 25: 86-91.
- [151] **Aydogan S., Yapislar H., Artis S., Aydogan B. (2008).** Impaired erythrocytes deformability in H₂O₂-induced oxidative stress: protective effect of L-carnosine. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 39: 93–98.
- [152] **Ali B.H., Al Moundhri M.S. (2006).** Agents ameliorating or augmenting the nephrotoxicity of cisplatin and other platinum compounds: a review of some recent research. *Food Chem Toxicol* 44: 1173-1183.
- [153] **Abdelrahmane A.M., Al Salam S., AlMahruqi A.S., Al husseni I.S., Mansour M.A., Ali B.H. (2010).** N-acetylcysteine improves renal hemodynamics in rats with cisplatin - induced nephrotoxicity. *J Appl Toxicol* 30: 15-21.
- [154] **Carvalho Rodrigues M.A., Gobe G., Santos N.A., Santos A.C. (2012).** Carvedilol protects against apoptotic cell death induced by cisplatin in renal tubular epithelial cells. *J Toxicol Environ Health A* 75: 981-990.
- [155] **Carvalho Rodrigues M.A., Silva Faria M.C., Santos N.A., Gobe G.C., dos Santos A.C. (2013).** Carvedilol efficiently protects kidneys without affecting the antitumor efficacy of cisplatin in mice. *ChemBiol Interact* 206: 90-99.
- [156] **Nematbakhsh M., Nasri H. (2013).** The effects of vitamin E and selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity in cancer patients treated with cisplatin -based chemotherapy: A randomized, placebo-controlled study. *J Res Med Sci* 18: 626-627.
- [157] **Battacharya S.K., Satyan K.S., Ghosal S (1997).** Antioxidant activity of glycowithanolides from *Withaniasomnifera*. *Indian Journal of Experimental Biology*, 35: 236 - 239.

- [158] **Fukunaga K., et al. (1998).** A simple, rapid, highly sensitive and reproducible quantification method for plasma malondialdehyde by high-performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr*; 12:300-3.
- [159] **Matsushima H., Yonemura K., Ohishi K., Hishida A. (1998).** The role of oxygen free radicals in cisplatin-induced acute renal failure in rats. *J Lab Clin Med*; 131:518–26.
- [160] **Sugihara K., Nakano S., Koda M., Tanaka K., Fukuishi N., Gemba M. (1987).** Stimulatory effect of cisplatin on lipid peroxidation in renal tissues. *Jpn J Pharmacol*; 43:247–52.
- [161] **Davis C.A., Nick H.S., Agarwal A. (2001).** Manganese superoxide dismutase attenuates cisplatin-induced renal injury: importance of superoxide. *J. Am. Soc. Nephrol.* 12: 2683–2690.
- [162] **Borrego A., Zamora Z.B., Gonzalez R., Romay C., Menedez S., Hernandez F., Montero T., Rojas E. (2004).** Protection by ozone pre-conditioning is mediated by the antioxidant system in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Mediat. Inflamm.* 13(1): 13-19.
- [163] **Gonzalez R., Borrego A., Zamora Z., Romay C., Hernandez F., Menendez S., Montero T., Rojas E., (2004).** Reversion by ozone treatment of acute nephrotoxicity induced by cisplatin in rats. *Mediat. Inflamm.* 13 (5/6): 307–312.
- [164] **Somani S.M., Husain K., Whitworth C., Trammel G.L., Malafa M., Rybak L.P. (2000).** Dose-dependent protection by lipoic acid against cisplatin -induced nephrotoxicity in rats: antioxidant defense system. *Pharmacol. Toxicol.* 86 (5): 234–241.
- [165] **Kruidering M., van de Water B., de Heer E., Mulder G.J., Nagelkerke J.F. (1997).** Cisplatin -induced nephrotoxicity in porcine proximal tubular cells: mitochondrial dysfunction by inhibition of complexes I to IV of the respiratory chain. *J PharmacolExpTher*; 280:638-49.
- [166] **Burton G.W., Joyce A., Ingold K.U. (1982).** First proof that vitamin E is major lipid-soluble, chain breaking antioxidant in human blood plasma, *Lancet* 320, 327
- [167] **Appenroth D., Frob S., Kersten L., Splinter F.K., Winnefeld K. (1997).** Protective effects of vitamin E and C on cisplatin nephrotoxicity in developing rats. *Arch. Toxicol.* 71: 677-683.

- [168] Mansour M.A., Mostafa A.M., Nagi M.N., Khattab M.M., AlShabanah O.A. (2002). Protective effect of aminoguanidine against nephrotoxicity induced by cisplatin in normal rats. *Comp Biochem Physiol Part C*; 132:123-8.
- [169] Raja S., NazeerAhamed K.F.H., Kumar V., Mukherjee K., Bandyopadhyay A., Mukherjee P.K. (2007). Antioxidant effect of *Cytisus scoparius* against carbon tetrachloride treated liver injury in rats. *Journal of ethnopharmacology* 109: 41-47.
- [170] Multiple authors. (2008). *Clinical nephrotoxins: Renal injury from drugs and chemicals*. 3rd ed. New York: Springer.
- [171] Lalila A., Ola H., Hossam A., Mohamed M., Sayed A. (2001). Effect of cremophor-EL on cisplatin -induced organ toxicity in normal rat. *J. Egypt. Natl. Cancer Inst.* 13, 139 – 145.
- [172] Antunes L.M.G., Darin J.D.C., Bianchi M.L.P. (2000). Protective effects of Vitamin C against cisplatin -induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats, a dose-dependent study. *PharmacolRes*; 41:405–11.
- [173] Chirino Y.I., Hernández-Pando R, Pedraza-Chaverri J. (2004). Peroxynitrite decomposition catalyst ameliorates renal damage and protein nitration in cisplatin -induced nephrotoxicity in rats. *BMC Pharmacology*; 4, 20.
- [174] Venukumar, M.R., Latha M.S. (2002). Antioxidant activity of *Curculigo orchioides* in carbon tetrachloride induced hepatopathy in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 17, 80-87
- [175] Ma S.F., Nishikawa M., Hyoudou K., Takahashi R, Ikemura M., Kobayashi Y., Yamashita F., Hashida M. (2007). Combining cisplatin with cationized catalase decreases nephrotoxicity while improving antitumor activity. *Kidney Int*; 72: 1474–1482.
- [176] Wohaieb S.A., Godin D.V (1987). Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozotocin-induced diabetes in rat: effects of insulin treatment. *Diabetes*, 36 : 1014-1022.
- [177] Milane, H. (2004). *La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques*. Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur, 13-36.

Références

- [178] Ladas EJ., Jacobson J.S, Kennedy D.D, Teel K., Fleischauer A., Kelly K.M. (2004). Antioxidants and cancer therapy: a systematic review. *J ClinOncol*; 22:517–28.

Résumé

Le cisplatine (CDDP) est l'un des agents chimiothérapeutiques les plus fréquemment utilisés dans le traitement de plusieurs tumeurs humaines. Cependant, son utilité clinique est limitée par sa toxicité au niveau des néphrons (néphrotoxicité). Le but de notre étude est d'étudier l'effet protecteur et antioxydant de la vitamine E pour atténuer la néphrotoxicité induite par le cisplatine chez des souris. Souris *Wistar Albinos* (25-30 g) recevant quotidiennement pendant 10 jours de la vitamine E à la dose unique 100mg/kg, Le dernier jour, après une demi-heure du gavage par la vitamine E, elles ont reçu une dose de cisplatine de 8 mg/kg de poids corporel. La néphrotoxicité a été confirmée biochimiquement par l'augmentation significative de la créatininémie et de l'urémie.

Le stress oxydatif induit par le cisplatine a été mis en évidence par l'augmentation de la peroxydation des lipides déterminée par l'estimation du malondialdéhyde et la variation du taux du GSH et l'activité de la catalase ; Les changements reviennent à la normale chez les souris après avoir administré la vitamine E qui constitue une protection significative à l'égard du tissu rénal.

Les résultats obtenus montrent que la dose (100 mg / kg) de poids corporel de la vitamine E a assuré une protection significative contre les dégâts causés par le stress oxydatifs induit par le cisplatine au niveau des néphrons.

On a conclu donc, que la vitamine E est un antioxydant naturel efficace contre la néphrotoxicité causée par le cisplatine via le stress oxydatif.

Mots clés : Rein, Néphrotoxicité, Cisplatine, Stress oxydant, Vitamine E, Souris.

Abstract

Cisplatin is one of the most widely used chemotherapeutic agents for the treatment of several human cancers. However, its clinical utility is limited by its nephrotoxicity. The aim of our study is to investigate the protective effect of vitamin E to protect against cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. Wistar albino mice (25-30 g) receiving daily for 10 days vitamin E in a single dose 100 mg / kg, the last day, after half an hour of feeding with vitamin E, they received by intraperitoneal injection cisplatin at a dose of 8 mg / kg body weight. The nephrotoxicity was confirmed biochemically by a significant elevation of the créatininémia and uremia.

The oxidative stress induced by cisplatin was evidenced by the increase in lipid peroxidation determined by MDA and depletion of GSH levels and activity of CAT. The changes were reversed to normal in pre-treated mice with vitamin E which produces a significant protection of renal function.

These results suggest that the dose of (100 mg / kg) of α -tocopherol have a significant protection against renal oxidative damage induced by cisplatin.

According to this study we concluded that vitamin E is a natural antioxidant, fighting oxidative stress induced by the use of cisplatin.

Key words: Kidney, Nephrotoxicity, Cisplatin, Oxidant stress, Vitamin E, Mice.

الملخص

يعتبر cisplatin العقار الكيميائي الأكثر شيوعاً الذي يستخدم في علاج العديد من الأورام الخبيثة للإنسان لكن استعماله الطبي المحدود راجع إلى سميته الكلوية. تهدف هذه الدراسة للتعرف على التأثير الوقائي للفيتامين E ضد السمية الكلوية المحرصة بـ cisplatin لدى الفئران. عوملت الفئران بالفيتامين E لمدة 10 أيام، وفي اليوم الأخير بعد نصف ساعة تم حقنها بـ cisplatin تحت الصفاق بجرعة 8 ملغ/كغ من وزن الجسم و ترجمت السمية الكلوية كيميائياً بارتفاع معنوي في معدل اليوريا و الكرياتينين.

أما الإجهاد التأكسدي الناتج عن استعمال cisplatin ظهر في صورة زيادة معنوية للأكسدة الدهنية التي يستدل عنها بارتفاع في تركيز MDA إضافة إلى هبوط معنوي في تركيز GSH و انخفاض في نشاط أنزيم الكاتالاز المضاد للأكسدة. أدت المعالجة المسبقة بالفيتامين E إلى عودة هذه التغيرات إلى الوضع الطبيعي و حدوث حماية للوظيفة الكلوية. تشير هذه النتائج إلى أن الجرعة 100 ملغ/كغ من الفيتامين E فعالة لحماية الكلى من الضرر التأكسدي الناجم عن العلاج بـ cisplatin.

استنتجنا من هذه الدراسة أن الفيتامين E يعتبر أحد مضادات الأكسدة الطبيعية الفعالة ضد السمية الكلوية عند الفئران المعالجة بـ Cisplatin.

الكلمات الدالة : الكلية، السمية الكلوية، سيسبلاتين ، التوتر التأكسدي ، فيتامين E ، فئران.

SEKRANI ibtissem& OULMI awatef	Date de soutenance : 15/06/2015
Thème :L'effet néphroprotecteur de la vitamine E dans la toxicité induite par le cisplatine chez les souris.	
Nature du diplôme : Master. Domaine : science de la nature et de la vie. Mention : Toxicologie et Santé.	
Résumé : Le cisplatine (CDDP) est l'un des agents chimio-thérapeutiques les plus fréquemment utilisés dans le traitement de plusieurs tumeurs humaines. Cependant, son utilité clinique est limitée par sa toxicité au niveau des néphrons (néphrotoxicité). Le but de notre étude est d'étudier l'effet protecteur et antioxydant de la vitamine E pour atténuer la néphrotoxicité induite par le cisplatine chez des souris. Souris <i>WistarAlbinos</i> (25-30 g) recevant quotidiennement pendant 10 jours de la vitamine E à la dose unique 100mg/kg, Le dernier jour, après une demi-heure du gavage par la vitamine E, elles ont reçu une dose de cisplatine de 8 mg/kg de poids corporel. La néphrotoxicité a été confirmée biochimiquement par l'augmentation significative de la créatininémie et de l'urémie. Le stress oxydatif induit par le cisplatine a été mis en évidence par l'augmentation de la peroxydation des lipides déterminée par l'estimation du malondialdéhyde et la variation du taux du GSH et l'activité de la catalase ; Les changements reviennent à la normale chez les souris après avoir administré la vitamine E qui constitue une protection significative à l'égard du tissu rénal. Les résultats obtenus montrent que la dose (100 mg / kg) de poids corporel de la vitamine E a assuré une protection significative contre les dégâts causés par le stress oxydatifs induit par le cisplatine au niveau des néphrons. On conclut donc que la vitamine E est un antioxydant naturel efficace contre la néphrotoxicité causée par le cisplatine via le stress oxydatif.	
Mots clés : Rein, Néphrotoxicité, Cisplatine, Stress oxydant, Vitamine E, Souris.	
Lieu de travail : laboratoire de Biologie et environnement UFM Constantine	
Jury d'évaluation :	
Président :	M ^{me} Amadeh Souad Professeur UFM Constantine.
Rapporteur :	M ^f Benrebai Mouad M.CA UFM Constantine.
Examineurs :	M ^{me} Tour Hanifa M.A UFM Constantine.
	M ^{elle} Latreche Aicha M.A Université abd el Hamid mehri Constantine