



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Nour Elhouda BEZZIOU & Selma ATHMANI
Le : jeudi 11 juillet 2019

Thème

**Etude de l'effet hépato-préventif de l'extrait aqueux
d'*Astragalus gombiformis* Pomel. contre la toxicité
induite par la Doxorubicine**

Jury :

Mme. Asma SAIDI	M.A.A Université de Biskra	Présidente
Mme. Leila BELLEBCIR	M.A.A Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Hayat TRABSA	M.C.B Université de Biskra	Examinatrice

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Pour commencer, parce qu'il existe toujours un début à tout, nous remercions notre Dieu, le tout puissant, qui nous a donné la force, la patience, ainsi que le courage pour dépasser toutes les difficultés.

*Nous tenons à remercier sincèrement notre encadreur **Mme. BELLEBCIR Leïla** pour accepter de diriger ce travail, ainsi que pour sa simplicité, son attention, sa prudence et sa générosité scientifique.*

*Nous adressons nos profonds remerciements à **Mme. TRABSA Hayat**, pour ses précieux conseils.*

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail.

Nous exprimons nos plus sincères remerciements

Nous exprimons nos plus sincères remerciements à tous les membres du Laboratoire de notre département, l'équipe de bibliothèque de biologie et tous les travailleurs de notre Département sans exception.


*Nous n'oublions pas de remercier vivement les membres de l'équipe laboratoire de l'hôpital Béchir ben Nasser (Biskra) et le laboratoire d'analyse des pathologies anatomiques, l'hôpital de gynécologie obstétrique et de pédiatrie (Biskra), en particulier **Fouzia, Oum Elkheir, Randa, Zineb, Nadjete et Dr. Mansar R.***

Sans oublier tous nos enseignants du département des Sciences de la Nature et de la Vie.

A toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

J'ai avec plaisir dédié ce modeste travail à :

*Mes chers parents mon père **Mostapha** et ma mère **Saida**, qui ont sacrifié leur
vie pour notre réussite. *

*Mes chers sœurs « **Nacira ; Yamina ; Yasmina ; Warda ; Fatiha** »*

*Mes chers frères « **Abd Elrezzak ; M^{ed} El Amine ; Walid ; Mostapha ;
Khaled ; Hamadi** »*

*Pour leur affection, compréhension et patience tous simplement je voudrais leur
dire je l'aime de tout mon cœur.*

*Mes très chers nièces « **Aridj ; Mostapha ; Fatima ; Djailani ; Mohsin El
Amine ; Zizo ; Monsif ; Abd Elrahman ; Lakhdari ; Ayoub** »*

*Mon beaux-frères « **Taher ; Mohamed ; Hachimi** »*

*Tous la famille **BEZZIOU** et **DIAHRA**.*

*Et spécialement mes chers amis « **Selma ; Hiba ; Madjda ; Hadjira ; Wissal ;
Nadia ; Layla ; Ilham ; Kenza ; Loubna ; Halima ; Somia ; Sawssen ; Manel ;
Haoua ; Meriem ; Asma ; Saadia ; Zineb ; Hakima ; Saida ; Meryouma ;
Rokaya** »*

À tous mes collègues de promotion de Biologie 2018-2019

Et à toute personne qui me connais.

Nour Elhouda

Dédicace

Je dédie ce travail à :

A mes parents sans lesquels je ne serai pas arrivée jusque-là.

A ma chère mère

A mon père, Les mots me manquent pour exprimer ce que vous représentez pour moi.

A ma petite cœur : ma sœur Kḥawla.

A mes chères frères: Hamoudi et Salim

A Tout la famille Athmani et surtout mon ancle Hmimi et la famille de Ghegali surtout mon ancle Djamai

A mes amies : Nour Elhouda, Hiba, Manel, Salsabil, Terkiya, Nadia,

Mariam, Asma, Amel, Roumaissa, Fatima,

Haoua, Afifa, Imen, Ibtissem, Mima, Touta, WAffa,

Ikḳlass, Saida, Mariem, Najoma, Basma, Mona, Chaima, Hind, Linda, Aicha.et Ahlem

A chaque personne qui me donne l'espoir de la vie

A Mes collègues de promotion de Biologie2018/2019

Selma

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralité sur la plante et le stress oxydatif

1.1. La famille des Fabacées.....	3
1.1.1. Genre d'Astragalus.....	3
1.1.2. L'espèce <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	3
1.2. Stress oxydatif.....	4
1.2.1. Les radicaux libres (RL).....	5
1.2.2. Les antioxydants).....	5
1.2.2.1. Les antioxydants enzymatiques.....	5
a. Superoxyde Dismutase (SOD).....	5
b. Catalase.....	5
c. Glutathion peroxydase.....	5
1.2.2.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	6
a. Vitamine E.....	6
b. Vitamine C (Acide ascorbique).....	6
c. Glutathion (GSH).....	6
d. Flavonoïdes.....	6

Chapitre 2 : Toxicité et Doxorubicine

2.1. La toxicité.....	7
2.1.1. La toxicité aiguë.....	7
2.1.2 Manifestations de la toxicité.....	7
2.2.La doxorubicine.....	8
2.2.1. Définition et origine.....	8
2.2.2. Structure et Propriétés chimiques.....	8
2.2.3. Pharmacocinétique de la doxorubicine.....	9
2.2.3.1. Absorption et distribution.....	9
2.2.3.2. Métabolisme.....	9
2.2.3.3. Elimination.....	10
2.2.4. Mode d'actions.....	10
2.2.4.1. Interaction avec les bases azotées de l'ADN.....	10
2.2.4.2. Inhibition de l'enzyme topo-isomérase II.....	11
2.2.4.3. Formation de radicaux libres.....	11
2.2.5. Toxicité induite par la doxorubicine.....	11
2.2.5.1. Cardiotoxicité.....	11
2.2.5.2. Hépatotoxicité.....	11

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre 3 : Matériels et méthodes

3.1. Matériels.....	12
3.1.1. Matériel végétal.....	12
3.1.2. Matériel animal.....	12
3.2. Méthodes.....	12
3.2.1. Préparation de l'extrait aqueux d' <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	12
3.2.2. Détermination du rendement.....	14
3.2.3. Evaluation de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux d' <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	14
3.2.4. Etude de l'effet hépato-préventif de l'extrait aqueux d' <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel. contre la toxicité aiguë induite par la doxorubicine.....	14

3.2.4.1. Traitement des animaux.....	15
3.2.4.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des échantillons biologiques.....	15
a. Préparation du sérum.....	16
b. Préparation des échantillons pour les coupes histologiques.....	16
c. Préparation de la fraction cytosolique de tissus 10% pour le foie.....	16
3.2.4.3. Dosage des paramètres biochimiques (AST, ALT).....	16
a. Evaluation de l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (AST).....	16
b. Evaluation de l'activité enzymatique de l'alanine aminotransférase (ALT).....	16
3.2.4.4. Dosage des paramètres du stress oxydant.....	17
a. Dosage des protéines tissulaire.....	17
b. Dosage du dialdéhydemalonique (MDA).....	18
c. Détermination d'activité enzymatique de la glutathion peroxydase GPx.....	19
3.2.4.5. Etude histopathologique.....	20
a. La fixation des échantillons.....	20
b. La déshydratation et l'éclaircissement des échantillons.....	20
c. L'inclusion des échantillons.....	21
d. La réalisation des coupes histopathologique.....	21
e. La coloration.....	21
f. Le montage.....	21
3.2.4.6. Analyse statistique des résultats.....	21

Chapitre 4 : Résultats et discussion

4.1. Résultats.....	23
4.1.1. Le rendement d'extraction.....	23
4.1.2. Evaluation de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux d' <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	23
4.1.3. Etude de l'effet hépato-préventif de l'extrait aqueux d' <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel. contre la toxicité aiguë induite par la doxorubicine.....	25
4.1.3.1. Changement de poids corporel.....	25
4.1.3.2 L'effet des différents traitements sur les marqueurs biochimiques.....	26
a. Dosage de l'activité de l'ALT.....	26
b. Dosage de l'activité de l'AST.....	26

4.1.3.3. L'effet des différents traitements sur le statut oxydant.....	27
a. L'effet sur la peroxydation lipidique (taux d'MDA) du foie.....	27
b. L'effet sur l'activité de la GPx du foie.....	28
4.1.3.4. Analyse histologique.....	29
4.2. Discussion.....	31
Conclusion.....	35
Bibliographie.....	36
Annexes	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 1. Systématique d' <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	4
Tableau 2. Mortalité après le traitement par les deux doses 2 et 5g/Kg Pc d'extrait aqueux d' <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	23
Tableau 3. Symptômes de la toxicité aiguë suivie lors de l'étude.....	24
Tableau 4. Changements du poids corporel de groupe T, E200, DXR et préventif (E200+DXR).....	25

Liste des figures

Figure 1. <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	4
Figure 2. La structure de la doxorubicine	8
Figure 3. Voie métabolique de la doxorubicine.....	10
Figure 4. Souris blanc dans des cages transparentes.....	13
Figure 5. Schéma général d'extraction aqueuse à partir de la partie aérienne d' <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	13
Figure 6. Gavage orale d'EAAg.....	15
Figure 7. Décapitation et prélèvement de sang.....	16
Figure 8. Réaction du malondialdéhyde avec l'acide thiobarbiturique.....	18
Figure 9. Rendement de l'extrait aqueux brut (%) de la plante <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	23
Figure 10. Variation de poids corporel (Pc) en g chez les souris témoins et souris traités par l'extrait aqueux d' <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	24
Figure 11. Effet de la doxorubicine (15 mg/kg i.p) et l'extrait aqueux de la plante <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel. (200mg/kg) sur l'activité enzymatique de l'ALT.....	26
Figure 12. Effet de la doxorubicine (15mg/kg i.p) et l'extrait aqueux de la plante <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel. (200mg/kg) sur l'activité enzymatique d'AST.....	26
Figure 13. Effet de la doxorubicine (15 mg/kg i.p) et l'extrait aqueux de la plante <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel. (200mg/kg) sur la concentration hépatique en MDA.....	27
Figure 14. Effet de la doxorubicine (15 mg/kg i.p) et l'extrait aqueux de la plante <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel. (200mg/kg) sur l'activité de la GPx dans le foie.....	28
Figure 15. Coupes histologiques du tissu hépatique de groupe T. Coloration hématoxyline éosine A (G×10) et B (G×40).....	29
Figure 16. Coupes histologiques du tissu hépatique de groupe DXR. Coloration hématoxyline éosine A (G×10) et B (G×40).....	29
Figure 17. Coupes histologiques du tissu du foie de groupe E200. Coloration hématoxyline éosine A (G ×10).....	30
Figure 18. Coupes histologiques du tissu hépatique de groupe E200+DXR. Coloration hématoxyline éosine A (G×10) B (G×40).....	30

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
ALT	Alanine aminotransférase
AST	Aspartate aminotransférase
BHT	Hydroxytoluène butyle
DL₅₀	Dose létale qui tue 50% de la population
DTNB	Acide 5,5-dithio2-nitrobenzoïque.
DXR	Doxorubicine
E200	Extrait 200mg/ Kg
E200 +DXR	Extrait 200mg/ Kg avec Doxorubicine
EAAg	Extrait aqueux d' <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.
ERO	Espèces Réactives Oxygénés
FDA	Food and Drug Administration
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathion oxydé
GTO	Transaminase glutamate oxaloacétique.
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
IP	Intra péritonéale
LDL	Low density lipoprotein
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide réduit
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
MDA	Dialdéhyde malonique
O₂⁻	Anion superoxyde
OH[·]	Radical hydroxyle
P/v	Poids par volume

Pc	Poids corporel
RL	Radicaux Libres
ROOH	Hydroperoxyde
T	Témoin
SOD	Superoxyde dismutase
TBS	Tris-buffered saline
TCA	Trichloracétique acide

Introduction

Introduction générale

L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement un intérêt progressif auprès du public, malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies souvent mortelles. Environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres (Ma *et al.*, 1997; El Rhaffari *et al.*, 2004). Cette utilisation est principalement fondée sur l'idée que les plantes sont un moyen naturel de traitement dénué de tout risque. Les consommateurs croient souvent que naturel est le synonyme d'inoffensif. Or une plante peut à la fois être utile et toxique. C'est une question de dose : "Potion et poison ont la même racine latine" (Zekkour, 2008).

Les Fabaceae ou légumineuses constituent troisième famille des angiospermes par le nombre de ses représentants (Shaiq *et al.*, 2001). Le genre *Astragalus* est bien documenté en tant qu'intéressante source de substances biologiquement actives telles que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les polysaccharides (Foudah *et al.*, 2017).

L'utilisation la plus commune d'astragale est comme fourrage pour le bétail et les animaux sauvages, bien que 32 aient été reconnus pour l'utilisation dans les aliments, les médicaments, les cosmétiques, comme substituts du thé ou du café ou comme sources des gommages végétales (Rios *et al.*, 1997).

Le traitement de chimiothérapie implique l'usage d'agents toxiques dans le but de tuer les cellules tumorales. Cependant, dans certains cas, le traitement peut aussi affecter les cellules saines. Par exemple, les anthracyclines qui sont des agents anti-tumoraux très largement utilisés en cancérologie pour le traitement d'une variété de tumeurs solides et hématologiques malignes (Andrieu-Abadie *et al.*, 1999; Tacar *et al.*, 2013; Judson *et al.*, 2014). La doxorubicine est l'un des membres les plus efficaces utilisés dans cette famille. Toutefois, son utilisation a été restreinte en chimiothérapie surtout en raison de son offre variée des toxicités y compris cardiaque, hépatique, rénale et testiculaire (Yilmaz *et al.*, 2006 ; Mohan *et al.*, 2010 ; Ahmed *et al.*, 2017).

Certaines réactions biochimiques dans le corps humain produisent des radicaux libres malfaisants à la santé à cause de leur pouvoir oxydant élevé (Georgieva *et al.*, 2010). Ces

radicaux sont impliqués dans le stress oxydant qui est caractérisé par un déséquilibre entre la production des ERO et l'élimination de ces espèces par le mécanisme de défense antioxydant (Sarr *et al.*, 2015). Le stress oxydant est impliqué dans diverses pathologies (LadohYemeda *et al.*, 2014). En effet, la plupart des études mettent en jeu le rôle du stress oxydatif dans ce processus qui est induit par la formation des radicaux libres de l'oxygène (RLO) découlant de la structure chimique de la doxorubicine ayant tendance à générer des espèces réactives de l'oxygène durant la métabolisation du médicament (Yarmohmmadia *et al.*, 2017).

De nos jours, nous comprenons que les plantes médicinales riches en antioxydants, jouent un rôle protecteur dans la santé, et leur consommation a abaissé le risque de plusieurs maladies (François *et al.*, 2009). Cela pourrait permettre à ces plantes d'être une source de nouvelles molécules médicamenteuses.

L'objectif principal de ce travail est consisté à évaluer *in vivo* l'effet préventif d'extrait aqueux de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel. contre la toxicité aiguë induite par la doxorubicine au niveau du foie. Pour évaluer les vertus thérapeutiques de cette dernière nous avons fixé les objectifs suivants:

-Etude de la toxicité aiguë d'extrait de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel.

-Evaluation de l'effet de la doxorubicine sur la fonction hépatique et l'action hépatopréventive de l'extrait aqueux de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel. chez des souris mâles de souche *Swiss albinos* par le dosage des paramètres biochimiques hépatique, la détermination des paramètres de stress oxydant dans le tissu hépatique et l'étude histologique du foie.

Première partie :
Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralité sur la plante et le stress oxydatif

1.1. La famille des Fabacées

La grande famille des Fabacées (faba, la fève) doit son unité à son fruit, appelé gousse ou légume, d'où l'autre dénomination de Légumineuses sous laquelle cette famille est plus connue (De Witt, 1963). Les Fabacées constituent une des plus grandes familles des plantes à fleurs, avec plus de 730 genres et 19 400 espèces, réparties aussi bien en milieu tempéré que tropical (Wojciechowski *et al.*, 2004), cette famille comprend les plantes ligneuses (zones tropicales) et herbacées (zones tempérées) avec quelques arbres et arbustes (Quezel et Santa, 1963), elle est composée de variétés horticoles et beaucoup d'espèces sont récoltées dans un but alimentaire, tant pour l'alimentation humaine (haricot, pois, fève, soja) qu'animale (trèfle, luzerne, sainfoin), pour leur huile (arachide, soja), leurs fibres, comme combustible, pour leur bois, leur utilisation en médecine (spartéine extraite du genêt à balais, réglisse) ou en chimie (Wojciechowski *et al.*, 2004).

1.1.1. Genre d'Astragalus

Le genre *Astragalus* est considéré comme le plus grand genre de la famille des fabacées avec environ 2500 à 3000 espèces (Foudah *et al.*, 2017), essentiellement pérennes et largement répandues dans la région tempérée de le monde (Pistelli *et al.*, 2003), il est réparti partout dans le monde mais majoritairement dans l'hémisphère Nord du globe terrestre (Chouana, 2017). Une cinquantaine d'espèces sont retrouvées en Afrique du Nord et quinze environ au Sahara (Tayeb *et al.*, 2012). Il est bien documenté en tant qu'intéressant source de substances biologiquement actives telles que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les polysaccharides (Foudah *et al.*, 2017).

Les espèces du genre *Astragalus* sont valorisées dans la médecine traditionnelle à travers le monde et utilisées comme herbes médicinales contre les ulcères d'estomac, la toux, la bronchite chronique, l'hypertension, les troubles gynécologiques, le diabète et les morsures venimeuses du scorpion. Certaines plantes du même genre ont été signalé comme ayant des activités immunostimulantes, cardiovasculaires et antivirales (Benchadi *et al.*, 2013).

1.1.2. L'espèce *Astragalus gombiformis* Pomel.

Astragalus gombiformis Pomel. est une espèce de plante psammophyte du désert sauvage appartenant à la famille des Fabacées. Il s'agit d'une plante herbacée pérenne, d'un sous-arbuste ou d'un arbuste qui contribue grandement à l'alimentation des dromadaires et des chèvres élevées par les agriculteurs de la région aride du Maroc oriental, de l'Algérie et de la Tunisie, où la production animale repose presque exclusivement sur le pâturage de plantes indigènes. Cette légumineuse fourragère est bien adaptée aux conditions arides, notamment

aux sols sablonneux, et est considérée comme ayant une plus grande valeur nutritive que de nombreuses espèces de fougères et de buissons. *Astragalus gombiformis* est également utilisé traditionnellement contre les morsures de serpents et de scorpions (Guerrouj *et al.*, 2013).

Tableau 1. Systématique d'*Astragalus gombiformis* Pomel. (Quezel et Santa, 1963).

Règne	Plante
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Rosale
Famille	Fabaceae
Sous famille	Papilionaceae
Genre	<i>Astragalus</i>
Espèce	<i>gombiformis</i> Pomel.
Noms vernaculaire	Djelban el hamir, Foul el hamir, Gelga



Figure1. *Astragalus gombiformis* Pomel.

1.2. Stress oxydatif

Le stress oxydant représente l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression d'espèces réactives oxygénées (ERO) (Cheeseman et Salter, 1993), il est défini comme un déséquilibre entre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les systèmes de défenses antioxydants, que se soit par déficit en antioxydants, par suite d'une surproduction de radicaux libres ou une combinaison de ces deux facteurs (Ece *et al.*, 2007).

Ce déséquilibre endommage des macromolécules, des cellules, des tissus, des organes et l'organisme dans l'ensemble. Une fois qu'il y a des dégâts à ces macromolécules, leurs fonctions essentielles dans le métabolisme cellulaire sont changées aboutissant à la manifestation de beaucoup de maladies (Kumar *et al.*, 2017).

1.2.1. Les radicaux libres (RL)

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbital en captant un électron pour devenir plus stable, il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Joëlle et Allain, 1997; Merouane *et al.*, 2014).

1.2.2. Les antioxydants

Un antioxydant est défini comme étant toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Berger, 2006).

1.2.2.1. Les antioxydants enzymatiques

a. Superoxyde Dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase (SOD) constitue la première ligne de protection contre les dérivés radicalaires de l'oxygène (Vergely *et al.*, 2003). Chez l'homme, les plus hauts niveaux de SOD se trouvent dans le foie, la glande surrénale, les reins et la rate (Scheibmeir *et al.*, 2005). Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en O_2 et peroxyde d'hydrogène (Droillard et Paulin, 1990; Valko *et al.* 2006).

b. Catalase

La catalase est présente dans de nombreux tissus et particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. Elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Valko *et al.*, 2006).

c. Glutathion peroxydase

Elle est l'un des principaux systèmes de protection capables de réduire le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes organiques (ROOH) toxiques formés par l'oxydation des acides gras ou du cholestérol (Ganther, 1999; Favier, 2003), elle utilise le glutathion réduit comme cofacteur (Vitoux *et al.*, 1996).

1.2.2.2. Les antioxydants non enzymatiques**a. Vitamine E**

Elle est considérée comme le principal antioxydant attaché à la membrane utilisé par la cellule pour inhiber la peroxydation lipidique (Proyor, 2000). L' α -tocophérol est le principal antioxydant contenu dans les LDLs (López *et al.*, 2005).

b. Vitamine C (Acide ascorbique)

Elle est un antioxydant puissant hydrosoluble, capable de piéger à des concentrations très faibles les espèces réactives de l'oxygène (Carr et Frei, 1999). Elle est un réducteur susceptible de limiter la peroxydation lipidique et intervient dans la régénération des autres antioxydants tels que les α -tocophérol (Greff, 2011).

c. Glutathion (GSH)

Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation (Stamler et Slivka, 1996). En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GPx (Gérard-Monnier et Chaudière, 1996).

d. Flavonoïdes

Ils peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation de régulation du stress oxydant par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation de métaux de transition comme le fer, le cuivre ou par inhibition de l'activité de certains enzymes responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène comme la xanthine oxydase (Lahouel *et al.*, 2006).

Chapitre 2 :

Toxicité et Doxorubicine

2.1. La toxicité

La toxicologie est depuis longtemps reconnue comme étant la science des poisons. Elle étudie les effets nocifs des substances chimiques sur les organismes vivants. Elle fait appel à une multitude de connaissances scientifiques et s'intéresse à plusieurs secteurs de l'activité humaine: l'agriculture, l'alimentation, l'industrie pharmaceutique, l'environnement...etc (Lapointe, 2004).

La toxicité d'une substance varie selon la dose, la fréquence, la durée d'exposition, et le temps d'apparition des signes cliniques (Bensakhria, 2018).

2.1.1. La toxicité aiguë

La toxicité aiguë est une forme de toxicité qui résulte d'une exposition de court durée suite à une absorption rapide du toxique par concerne une seule dose d'une ou de plusieurs substance administrées sur une période n'excédant pas 24 heures, et Les manifestations d'intoxication se développent rapidement en général, la mort ou la guérison survient sans retard.

L'évaluation de la toxicité aiguë est une étude qualitative et quantitative des phénomènes toxique résultant d'une administration unique d'un xénobiotique (Bensakhria, 2018).

L'étude qualitative et quantitative de la toxicité aiguë permet la détermination de la dose qui provoque une mortalité de 50% dans une population d'animaux (DL50). On administre généralement le produit à des rats ou à des souris répartis en plusieurs groupes. Chaque animal d'un même lot reçoit une dose identique, mais la dose administrée est différent d'un lot à l'autre. Après l'administration, les animaux sont observés pendant 24 heures à 14 jours, afin que le pourcentage de mortalité varie entre 0 % et 100 % (Viala et Botta, 2005; Wallace Hayes, 2008).

2.1.2 Manifestations de la toxicité

L'expression des effets toxiques ou la manifestation toxique provoquée d'une toxine peut être très différente dans l'organisme vivant d'un modèle animal à un autre. En effet, les manifestations de la toxicité dépendent à la quantité du toxique et son affinité à se lier au site d'action d'enzyme, du récepteur cytoplasmique, d'ADN...etc (Lauwerys, 2003). L'action d'une substance toxique est évaluée en fonction de plusieurs paramètres entre autres son mode d'administration (voie orale, intraveineuse, intra péritonéale), la dose administrée, le taux de mortalité observée, l'évolution pondérale, l'histologie de certains organes, la modification de

certaines paramètres biochimiques du sang appelés marqueurs de toxicité tels que les transaminases (ALT, AST), la bilirubine, la créatinine, l'urée (Etame *et al.*, 2017).

2.2. La doxorubicine

2.2.1. Définition et origine

La doxorubicine (ou adriamycine) est un médicament antibiotique anticancéreux de la famille des anthracyclines. Elle a été isolée pour la première fois en 1960 à partir des actinobactéries mutantes de genre *Streptomyces peucetius* var. *caesieus* et approuvée par la Food and Drug Administration (FDA) en 1974. Leur suffixe rubicine rappelle leur couleur rouge intense bien visible dans les flacons de poudre pour solution injectable (Zhou et Chowbay, 2002; Minotti *et al.*, 2004; Mizutani *et al.*, 2005; Kara Ali, 2017).

2.2.2. Structure et Propriétés chimiques

La formule chimique brute de la doxorubicine est $C_{27}H_{29}NO_{11}$ et sa masse moléculaire est de 543,52 g/mol (Gallani, 2016).

La doxorubicine possède une structure poly-aromatique plane. Elle est composée d'une fraction chromophore aglycone (adriamycinone: $C_{21}H_{18}O_9$), tétracycle avec des groupements adjacents quinone-hydroquinone, qui leur permet de fonctionner comme accepteur et donneur d'électrons, un substituant méthoxy et une chaîne courte avec un groupement carbonyle se terminant par un alcool primaire, reliés par une liaison glycosidique avec un aminosucre (daunosamine: $C_6H_{13}NO_3$) (Bakker *et al.*, 1995; Hortobágyi, 1997; Sheela *et al.*, 2005).

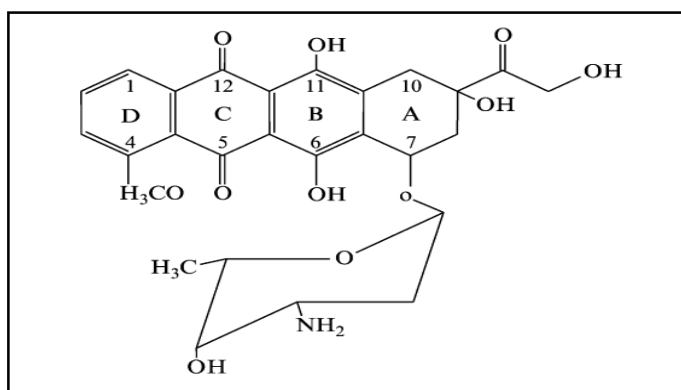


Figure 2. La structure de la doxorubicine (Sheela *et al.*, 2005).

2.2.3. Pharmacocinétique de la doxorubicine

2.2.3.1. Absorption et distribution

La doxorubicine comme toutes les autres anthracyclines, est habituellement administrée par voie intraveineuse afin d'atteindre rapidement la tumeur sans être trop dégradée, et en injection rapide, pour éviter une extravasation à côté de la veine qui endommagerait les tissus. Ces substances possèdent une importante diffusion tissulaire et sont rapidement captées par différents organes: cœur, reins, poumons, foie et rate, mais ne traversent pas la barrière hémato-encéphalique (Hande, 1998).

La doxorubicine est liée aux protéines plasmatiques, surtout l'albumine. La demi-vie de distribution initiale d'environ 5 minutes, tandis que son élimination est lente à partir des tissus qui se traduisent par une demi-vie terminale de 20 à 48 heures (Speth *et al.*, 1988; Campos *et al.*, 2012).

2.2.3.2. Métabolisme

Le métabolisme de la doxorubicine se déroule principalement au niveau du foie et est un processus très complexe et comprend plusieurs interactions :

-Réduction de la fonction carbonyle (C = O) de l'atome de carbone numéro 13 dans la chaîne latérale de la Doxorubicine à un groupement alcoolique (OH) et cela par stimulation de l'enzyme cytoplasmique (NADPH-dépendent Aldo-céto réductase) et formation du métabolite hydroxy doxorubicine, nommé doxorubicinol qui est le principal métabolite actif de ce médicament.

-Déglycosylation en activant l'enzyme cytochrome P450 réductase et formation de hydroxy aglycones ou déoxy aglycones.

-Ensuite la doxorubicine et ses métabolites sont excrétés par la bile sous forme de doxorubicine ou doxorubicinol après 24heures d'absorption ou bien sous forme de sulfates et glucoronides après 48heures (Zhou et Chowbay, 2002).

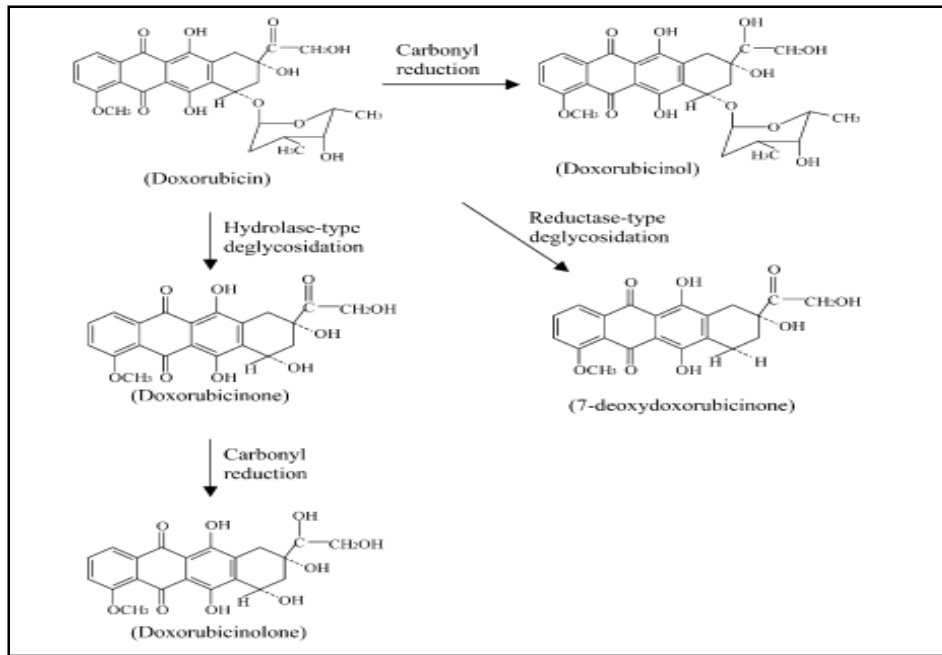


Figure 3. Voie métabolique de la doxorubicine (Sheela *et al.*, 2005).

2.2.3.3. Elimination

L'élimination est biliaire. Environ 40% de la dose apparaît dans la bile en 5 jours, alors que seulement 5 à 12% du médicament et de ses métabolites apparaît au cours de la même période de temps dans l'urine (Zhou et Chowbay, 2002), ce qui explique la coloration rouge de l'urine, quelques jours après le traitement (Speth *et al.*, 1988).

2.2.4. Mode d'actions

2.2.4.1. L'interaction avec les bases azotées de l'ADN

La doxorubicine s'intercale entre deux paires de bases azotées de la double hélice de l'ADN, modifiant ainsi la structure de l'ADN (Phillips *et al.*, 1996). Ce changement conduit à entraver la corrélation enzymatique, les enzymes de réplication de l'ADN polymérase, des enzymes de clonage ARN polymérase, les enzymes de réparation de l'ADN, ce qui inhibent la réplication de l'ADN ainsi que sa transcription en ARN. Cette interruption du cycle cellulaire conduit à la mort de la cellule (Outomuro *et al.*, 2007; Tacar *et al.*, 2012).

2.2.4.2. Inhibition de l'enzyme topo-isomérase II

La doxorubicine est capable d'inhiber les topo-isomérases II. Ces enzymes nucléaires assurent la torsion et la détorsion de la molécule d'ADN au fur et à mesure de la réplication et de la transcription via des coupures transitoires des deux brins d'ADN suivies de re-ligations de ces mêmes brins. En stabilisant le complexe de clivage ADN-topo-isomérase II obtenu après la coupure des brins d'ADN par l'enzyme, la doxorubicine empêche l'étape de religation, ce qui conduit à une coupure définitive des brins d'ADN et à la mort cellulaire (Lansiaux et Pourquier, 2011).

2.2.4.3. Formation de radicaux libres

Les composés de dégradation de la doxorubicine entraîneraient la formation de radicaux libres tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le radical hydroxyle (OH^{\bullet}). Ces radicaux libres endommageraient l'ADN, les protéines et les constituants des membranes cellulaires (Iarussi *et al.*, 2001).

2.2.5. Toxicité induite par la doxorubicine

2.2.5.1. Cardiotoxicité

Le développement des problèmes cardiaques de la doxorubicine, comme toute autre anthracycline, peut apparaître sous deux formes cliniques bien différentes dans leurs manifestations et leurs conséquences; soit une cardiotoxicité aiguë ou chronique (Kara Ali, 2017). La cardiotoxicité aiguë survient immédiatement pendant l'administration de la doxorubicine ou dans les heures et jours après l'injection, principalement représentée par des troubles du rythme cardiaque et des tachycardies sinusales (Nousiainen *et al.*, 2002; Guglin *et al.*, 2009).

2.2.5.2. Hépatotoxicité

La structure chimique de la doxorubicine qui est de base quinone, son métabolisme hépatique, ainsi son mécanisme d'action induisent la formation des radicaux libres qui sont à l'origine de l'hépatotoxicité induite par ce médicament. L'induction du stress oxydatif causée par la génération des radicaux libres, provoque un déséquilibre aux niveaux des enzymes antioxydantes endogènes (Durak *et al.*, 1998). Cette perturbation dans le système enzymatique (antioxydant), se manifeste par la peroxydation lipidique et l'oxydation des protéines ce qui conduit à une lésion tissulaire hépatique (Bagchi *et al.*, 1995).

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre 3 :

Matériels et méthodes

3.1. Matériels

3.1.1. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur la partie aérienne (tige, feuille, fleurs, gousse) de la plante médicinale spontanée *Astragalus gombiformis* Pomel. est une Fabacée récoltée dans la région de Elhadjeb wilaya de Biskra début d'Avril 2018, l'identification botanique d'espèce végétale a été effectuée au niveau du laboratoire de physiologie végétale à ITDAS par l'ingénieure chef de filière oléiculture (Diab Nassima).

Après séchage à température ambiante et à l'abri de la lumière solaire pendant quelques jours, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, la partie aérienne sont broyées grossièrement à l'aide d'un mortier pour obtenir une poudre puis stockées au réfrigérateur jusqu'à l'utilisation.

3.1.2. Matériel animal

Les animaux d'expérience sont des souris blanc mâles de souche *Swiss albinos*, âgés de 12 semaines et pesant entre 25 et 35g, procurés aux près de l'Institut Pasteur d'Alger. Dès leur réception, les souris ont été placées dans des cages en plastique transparent, tapissées d'une litière en copeaux de bois. Ces souris sont nourries quotidiennement, par granules d'aliments secs commerciaux, et ont eu à disposition, de l'eau sans discontinuité dans des biberons. Les souris sont utilisés après une période d'adaptation de 15 jours avant l'expérimentation au niveau de l'animalerie du département de Biologie, Université de Biskra, à une température de 22°C ($\pm 3^\circ\text{C}$), à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h.



Figure 4. Souris blanc dans des cages transparentes.

3.2. Méthodes

3.2.1. Préparation de l'extrait aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel.

L'extrait aqueux de la plante a été obtenu à partir de 20 g de poudre d'*Astragalus gombiformis* Pomel. a été porté à reflux pendant 30 min dans 200 ml d'eau distillée dans un

ballon monocolle, surmonté d'un réfrigérant. Le mélange est filtré, le filtrat a ensuite été évaporé à sec sous pression réduite à 60°C au Rotavapor (Heidolphe) pour éliminer maximal de l'eau, puis gratté après séchage (dans des boîtes pétrie en verre) a été conservée dans un réfrigérateur 4°C (Majhenic *et al.*, 2007).

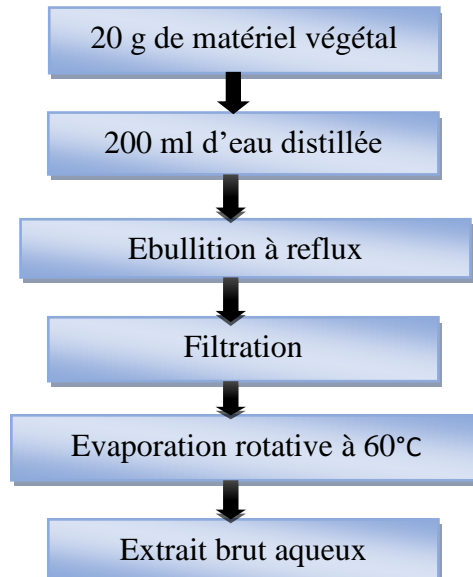


Figure 5. Schéma général d'extraction aqueuse à partir de la partie aérienne d'*Astragalus gombiformis* Pomel.

3.2.2. Détermination du rendement

Le pourcentage en extrait brut aqueux a été calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (M2 - M1) / M0 \times 100$$

R(%) rendement de l'extrait exprimé en %.

M2 Masse en gramme de boîte pétrie plein par l'extrait.

M1 Masse en gramme de boîte pétrie vide.

M0 Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

3.2.3. Evaluation de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel.

Les essais de la toxicité aiguë permettent d'évaluer les effets toxiques qui apparaissent dans un temps court (de 1 à 14 jours) après l'administration de l'extrait.

La détermination de la DL50 a été menée chez les souris en utilisant l'essai limite à 5000 mg/kg de poids corporel (Pc) de la méthode de « l'ajustement des doses » du protocole

425 de l'OCDE (Organisation pour Coopération et Développement Economique, Guideline-425, adopté le 03 octobre, 2008).

L'essai limite à 5000 mg/kg de poids corporel a été réalisé après l'essai préliminaire à 2000 mg/kg de poids corporel.

Avant l'administration de l'extrait aqueux, 1 souris a été privée de nourriture mais alimentée en eau pendant 3 heures, puis pesée. A l'aide d'une sonde intra-gastrique, l'extrait a été administré en une seule dose à raison de 2 ml/100 g de poids corporel.

Après administration, l'animal a toujours été privé de nourriture pendant 1 heure. Quatre (4) animaux ont été traités 1 à 1 à des intervalles de 48 heures et ont été observés pendant 14 jours.

3.2.4. Etude de l'effet hépato-préventif de l'extrait aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel. contre la toxicité aiguë induite par la doxorubicine

Le médicament anticancéreux que nous avons utilisé pour provoquer la toxicité chez les souris est la doxorubicine (50mg/25ml); il nous a été fourni gracieusement par l'hôpital Hakim Saadan (Biskra).

3.2.4.1. Traitement des animaux

Pour cette étude qui a duré 15 jours, on a divisé les souris dans 4 groupes de 8 souris chacun et qui sont tous gardé dans les mêmes conditions.

- **Groupe T** : (control ou témoin) non traités.
- **Groupe DXR** : le traitement se fait par l'injection intra-péritonéale (IP) de la doxorubicine avec une dose de 15mg/kg/jour pendant les trois derniers jours du traitement.
- **Groupe E200**:le traitement se fait par l'extrait aqueux de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel., avec une dose de 200mg/kg/jour par gavage gastrique pendant 15 jours.
- **Groupe E200+DXR** : traiter par l'extrait aqueux de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel., à la dose 200mg/kg/jour par gavage gastrique pendant 15 jours, combiner par l'injection intra-péritonéale de la doxorubicine (15 mg/kg/jour) avant les trois derniers jours du traitement.



Figure 6. Gavage orale d'EAAG.

3.2.4.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des échantillons biologiques

Après les différents traitements, les souris sont décapitées, le sang collecté dans des tubes secs pour les études des paramètres biochimiques et après la dissection le foie de chaque souris a été prélevés pour le dosage tissulaire et pour les coupes histologiques.



Figure 7. Décapitation et prélèvement de sang.

a. Préparation du sérum

Le sérum est préparé par la centrifugation du sang à 3000 tours/minute pendant 15 minutes puis stocké à -20°C jusqu'à l'utilisation pour l'analyse des paramètres biochimiques (l'aspartate aminotransférase (AST) et l'alanine aminotransférase (ALT)).

b. Préparation des échantillons pour les coupes histologiques

Pour l'étude histologique, des échantillons du foie sont immédiatement fixés dans une solution de formol à 10%.

c. Préparation de la fraction cytosolique de tissus 10% pour le foie

Les organes (foie) sont coupés en petits morceaux puis pesés et broyés à froid (4°C) en utilisant l'azote liquide avec une solution tampon phosphate 0.1M pH 7.4 à raison de 10% p/v.

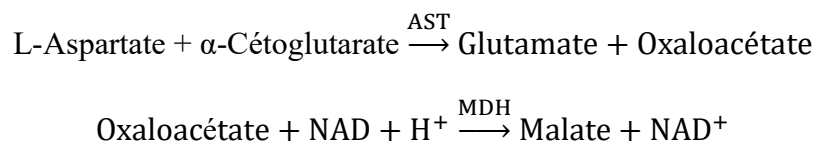
L'homogénat est centrifugé à 4000 tours /minute pendant 10 minutes à 4°C. La fraction cytosolique est récupérée et utilisée pour les dosages du taux de malondialdéhyde (MDA) et la concentration de glutathion peroxydase (GPx).

3.2.4.3. Dosage des paramètres biochimiques (AST, ALT)

Les paramètres biochimiques (AST, ALT) sont déterminés par cinétique, en utilisant des Kits du commerce (SPINREACT), sur un automate multiparamétrique (Diatron PICTUS 200) au niveau de laboratoire de biochimie, l'hôpital de gynécologie obstétrique et de pédiatrie (Biskra).

a. Evaluation de l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (AST)

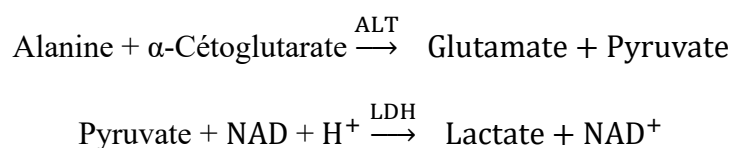
L'aspartate amino transférase (AST), initialement appelée transaminase glutamate oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe animique de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit est réduit en malate en présence de déshydrogénées (MDH) et NADH :



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans l'échantillon testé.

b. Evaluation de l'activité enzymatique de l'alanine aminotransférase (ALT)

L'alanine aminotransférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe animique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et NADH :



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon.

3.2.4.4. Dosage des paramètres du stress oxydant

a. Dosage des protéines tissulaire

➤ Principe

Le dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976) permet de déterminer des concentrations tissulaires de protéines. C'est une méthode colorimétrique, qui utilise le bleu de coomassie comme réactif qui s'associe au groupement amine (-NH₂) des résidus protéiques pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines). L'absorption est mesurée à 595nm (Bradford, 1976).

➤ Mode opératoire de dosage

- ✓ Prélever 0,1 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 5 ml du réactif de Bradford.
- ✓ Agiter et laisser reposer 5 min.
- ✓ Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc.

➤ Calcule de la concentration des protéines

La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines dans l'homogénat est déterminée par comparaison à une gamme étalon BSA (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions. (Annexe 2)

b. Dosage du dialdéhyde malonique (MDA)

➤ Principe

La peroxydation lipidique est la dégradation membranaire des lipides surtout ceux formés par les acides gras insaturés par les ERO. Parmi les produits générés au cours de la peroxydation lipidique le dialdéhyde malonique (MDA) qui a une demi-vie plus longue que celle des radicaux libres et diffuse facilement et peut donc être considéré comme un marqueur du stress. Le dosage de cet aldéhyde paraît donc efficace pour révéler le niveau du stress provoqué par agents toxique.

Le dosage de l'MDA repose sur développement de la coloration rose en milieu acide et à chaud (100°C), après la formation d'une complexe entre une molécule d'MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA).

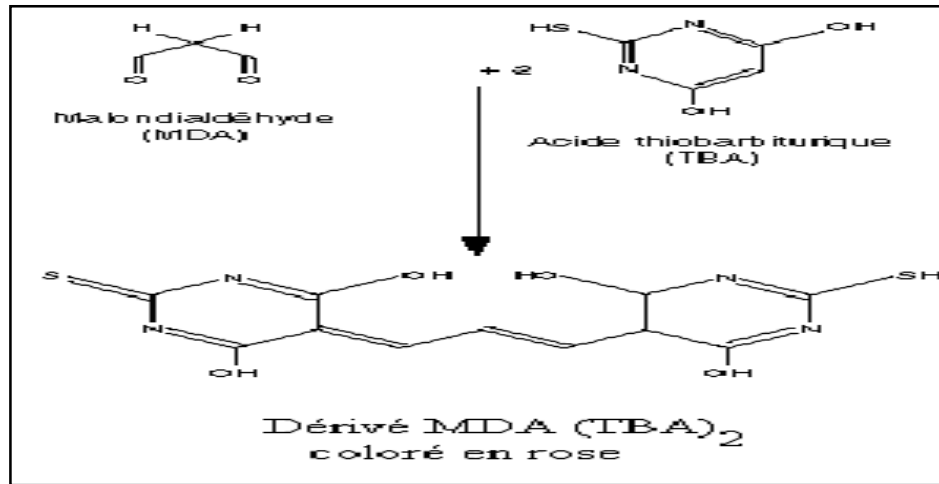


Figure 8. Réaction du malondialdéhyde avec l'acide thiobarbiturique.

➤ **Mode opératoire**

- ✓ Pipeter dans les tube à essai en verre et à vis 125 µl d'homogénat et 500µl des réactifs (175µl de TBS, 125µl de TCA-BHT, 40µl de HCl (1 N) et 160µl du Tris-TBA).
- ✓ Chauffer le mélange au bain marie à 100°C Pendant 15 minutes.
- ✓ Refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction.
- ✓ Centrifuger à 3000 tours /minutes pendant 5 minutes.
- ✓ Lire l'absorbance du surnagent à 532 nm.

➤ **Calcule de la concentration du MDA**

La quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nM/gramme de tissu (foie).

$$\text{MDA(nmoles MDA/mg protéines)} = \frac{\text{DO} \times 10^6}{\text{E} \times \text{L} \times \text{X} \times \text{F}_d}$$

DO: densité optique lue à 530 nm; E: Coefficient d'extinction molaire du MDA (E = $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$); X : Concentration en protéines (mg/ml); L: longueur du trajet optique L : 1cm,

F_d : facteur de dilution, $F_d = (V_{S1} \times V_S) / (V_f \times V_F)$ avec V_{S1} : volume de prise de l'échantillon (250 μ l) ; V_S : volume prélevé du surnageant (450 μ l) ; V_f : volume final à l'incubation à 80 °C (1000 μ l) V_F : volume final intermédiaire à la centrifugation (1000 μ l) ; ici $F_d = 0,1125$

c. Détermination d'activité enzymatique de la glutathion peroxydase GPx

➤ Principe

Le glutathion peroxydase catalyse la réduction de peroxyde d'hydrogène en utilisant le GSH comme un réducteur. L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohé et Günzler (1984). Cette méthode est basé sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de glutathion (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



➤ Protocole

- ✓ Prélever 0.2 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 0.2 ml de TBS (Ph7.4).
- ✓ Mélanger et ajouter 0.4 ml GSH (0.1 mM).
- ✓ Laisser 5 min à 25°C.
- ✓ Initier la réaction par addition 0.2 ml de H_2O_2 (1,3 mM).
- ✓ Laisser réagir pendant 10 minutes à température ambiante.
- ✓ Stopper la réaction par addition 1 ml de TCA (1 %).
- ✓ Centrifuger les tubes à 3000 tours /minutes pendant 5 minutes.
- ✓ Prélever 0,48 ml du surnageant.
- ✓ Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (pH 7.4).
- ✓ Ajouter 0,32 ml de DTNB (1 mM).
- ✓ Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
- ✓ Lire les densités optiques de l'échantillon à 412 nm.
- ✓ Etablir un tube blanc subir le même protocole et dépourvu de l'homogénat (source d'enzyme).

➤ Calcul de l'activité enzymatique

$$\text{GPx } (\mu\text{moles GSH oxydé}/\text{min}/\text{mg de protéines}) = \frac{(\text{DO}_{\text{Echantillon}} - \text{DO}_{\text{blanc}}) \times 0.04 \times 5}{\text{DO}_{\text{Blanc}} \times X \times 10}$$

0,04: quantité initiale de glutathion par tube; 5 : Facteur de conversion de l'activité par 1ml ; X: Concentration de protéines (mg/ml) ; 10 : temps de la réaction en min.

3.2.4.5. Etude histo-pathologique

L'étude histopathologique a été effectuée dans le laboratoire d'analyse des pathologies anatomiques, l'hôpital de gynécologie obstétrique et de pédiatrie (Biskra). La technique comporte les étapes principales:

a. La fixation des échantillons

Après la décapitation des souris, les cœurs et les foies ont été rapidement fixés dans le formaldéhyde 10% afin d'immobiliser les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies et entraînant leur insolubilité.

b. La déshydratation et l'éclaircissement des échantillons

Après avoir fixés les échantillons dans du formol (10%), on les coupe en petits morceaux ensuite, ils sont placés dans des cassettes spéciales à parois trouées. La déshydratation se fait en utilisant un automate (Leica TP 1020) qui fait immerger les cassettes des échantillons dans des bains successifs d'éthanol à concentration croissante (70 %, 80 %, 90 % et 100 %), puis dans des bains de xylène pour l'éclaircissement des tissus et en fin les pièces sont plongées dans des bains de paraffine liquide qui va peu à peu pénétrer les tissus en remplaçant le solvant.

c. L'inclusion des échantillons

Après la saturation des échantillons par la paraffine liquide ils sont inclus par la paraffine dans de petits moules à fond plat afin de construire des blocs, pour faciliter sa coupe en utilisant l'appareil à inclusion (Leica EG 1150 C) refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, et une plaque métallique réfrigérée pour obtenir la solidification rapide du bloc de paraffine contenant le tissu.

d. La réalisation des coupes histopathologique

Après l'étape d'inclusion, Les blocs de paraffine sont coupés en tranches minces grâce à un microtome (Leica RM2235). Les coupes sont étalées à la surface d'un bain chaud (Leica, Allemande) à 40°C pour déparaffiner les coupes puis déposées sur des lames en verre. Les lames sont ensuite placées dans l'étuve à 75°C pendant environ 1 heure pour sécher.

e. La coloration

Les coupes sont colorées par l'utilisation de la technique à l'Hématoxyline-Eosine selon les étapes suivantes:

-Le déparaffinage : l'enlèvement de la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer. Le réactif le plus utilisé est le xylène.

-L'hydratation : par l'utilisation de l'éthanol, et on termine l'hydratation par l'eau courante.

-Coloration : Hématoxyline (noyau couleur bleue), Eosine (cytoplasme couleur rose). Entre les colorants on fait un lavage par l'eau.

-La déshydratation : avec l'éthanol.

-L'éclaircissement : par l'utilisation de xylène.

f. Le montage

L'opération qui consiste à fixer, à l'aide d'une substance appropriée, une lamelle de verre sur des échantillons histologiques après la coloration coller lame et lamelle avec le eukit.

La lecture des lames a été réalisée par Dr. MANSAR R., un médecin spécialiste en anatomie pathologique -Biskra-. En premier temps aux faibles grossissements en utilisant impérativement des objectifs plans pour avoir une bonne vue d'ensemble des tissus, les grossissements finaux (**x40**) sont nettement plus importants. Des captures de quelques observations microscopiques ont été réalisées à l'aide d'un appareil photos (caméra téléphone).

3.2.4.6. Analyse statistique des résultats

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type. L'évaluation statistique est effectuée en utilisant le test ANOVA à un seul critère suivie par le test Post Hoc Tukey et les résultats sont menés par le logiciel Statistica 8.0.

Chapitre 4 :

Résultats et discussion

4.1. Résultats

4.1.1 Le rendement d'extraction

Le rendement obtenu de l'extrait aqueux est de 26.58 %, a été déterminé par rapport à la matière végétale sèche (la partie aérienne de l'*Astragalus gombiformis* Pomel.) qui est présenté dans la Figure 9.

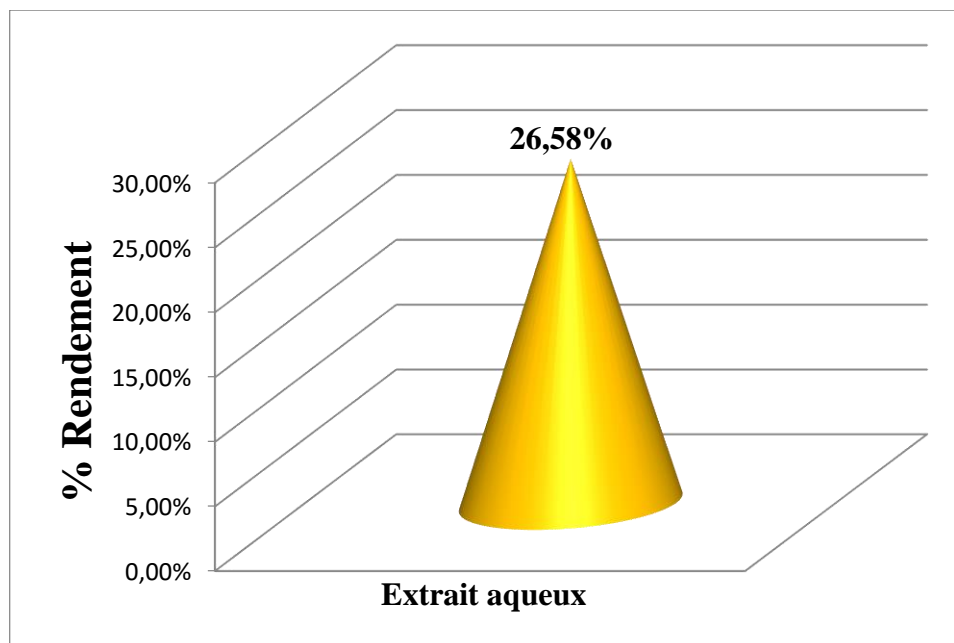


Figure9. Rendement de l'extrait aqueux brut (%) de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel.

4.1.2 Evaluation de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel.

Tableau 2. Mortalité après le traitement par les deux doses 2 et 5g/Kg Pc d'extrait aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel.

Dose (mg/kg)	Mortalité	Latence de mortalité
0	0/5	0
2000	0/5	0
5000	0/5	0

Tableau 3. Symptômes de la toxicité aiguë suivie lors de l'étude

symptômes	Lot témoin		Lots traités(2g/kg et 5g/kg Pc)	
	4h	48h	4h	48h
Peau et fourrure	Normal	Normal	Normal	Normal
Yeux	Normal	Normal	Normal	Normal
Muqueuse	Normal	Normal	Normal	Normal
Comportement anormaux	/	/	/	/
Salivation	Normal	Normal	Normal	Normal
Léthargie	/	/	/	/
Somnolence	/	/	/	/
Diarrhé	/	/	/	/

L'étude de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel. (EAAg) chez les souris mâles de la souche *Swiss albinos* a montré que l'EAAg administré par voie orale aux doses de 2000 et 5000 mg/kg Pc, ne provoque aucun cas de mortalité et autant plus qu'aucun signe (symptômes) de toxicité n'ait été observé pendant les 14 jours suivis après l'administration de l'extrait par une dose orale.

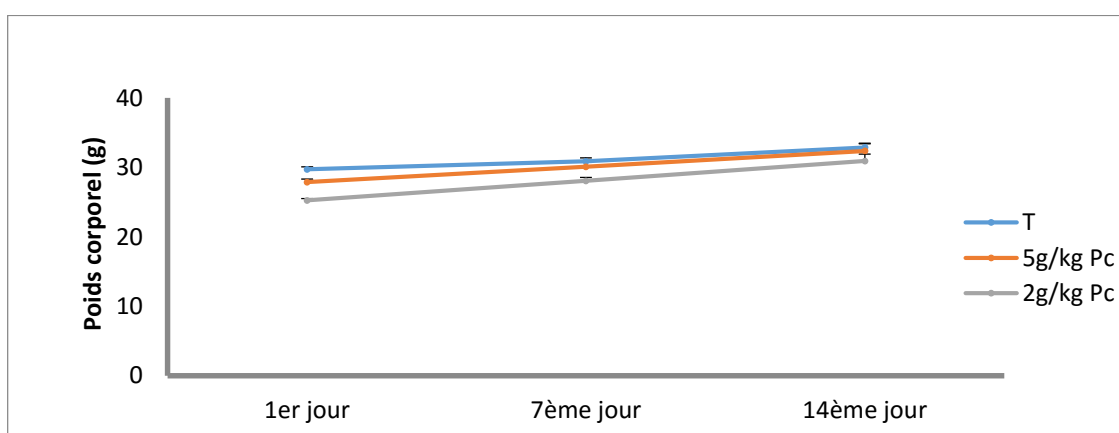


Figure 10. Variation de poids corporel (Pc) en g chez les souris témoins et souris traités par l'extrait aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel.

Les valeurs sont exprimées en Moyenne \pm Ecart. Moyen, n = 5 ($p > 0.05$)

La figure montre que l'évaluation de la variation du poids corporel pendant deux semaines au cours de l'essai de la toxicité aiguë par l'extrait aqueux de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel. qu'il y a une augmentation du poids pour tous les groupes et il n'a révélé aucune variation significative de poids par rapport aux témoins ($p > 0,05$).

4.1.3. Etude de l'effet hépato-préventif de l'extrait aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel. contre la toxicité aiguë induite par la doxorubicine

4.1.3.1. Changement de poids corporel

Tableau 4. Changements du poids corporel de groupe T, E200, DXR et préventif (E200+DXR)

Paramètre	Témoins	DXR	E200mg/kg/Pc	E200mg/kg/Pc +DXR
Poids initial(g)	29,54±0,35	29,55±0,38	28,70±0,48	30,65±0,61
Poids final(g)	31,4±0,7	27,92±0,66	29,51±0,84	30,18±0,69
Variation du poids (g)	+1,86±0,35	-1,63±0,28	+0,81±0,36	-0,47±0,08

Le tableau 4 montre qu'il y a une augmentation de poids corporel a été constatée chez les animaux du groupe témoin par 1.86 g et le groupe traité par EAAg par 0.81g; tandis que les deux groupes DXR et E200+D ont marqué une diminution (1.63 et 0.8 g), respectivement. Néanmoins la perte du poids chez le groupe préventive était moins considérable par rapport au groupe DXR.

4.1.3.2 L'effet des différents traitements sur les marqueurs biochimiques

a. Dosage de l'activité de l'ALT

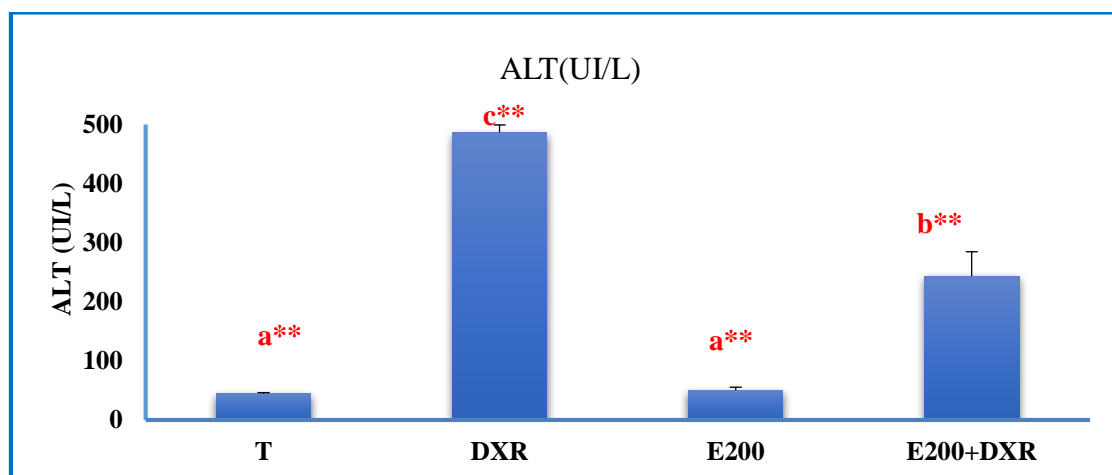


Figure 11. Effet de la doxorubicine (15 mg/kg i.p) et l'extrait aqueux de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel. (200mg/kg) sur l'activité enzymatique de l'ALT. ($P < 0,01$), n=8

Les résultats de la figure, ci-dessus montrent que l'administration de la doxorubicine (15mg/kg) provoque une augmentation hautement significative de la teneur plasmatique de l'enzyme ALT chez le groupe DXR ($476,76 \pm 12,18$ UI/l) comparés aux souris du groupe T ($44,63 \pm 1,85$ UI/l). Tandis que il n'y a pas de différence significative de l'activité enzymatique de l'ALT chez le groupe E200 ($50,50 \pm 5,13$ UI/l) parallèle au témoin. Cependant l'activité de l'ALT le groupe E200+DXR ($243,76 \pm 40,78$ UI/l) a montré une diminution hautement significative comparés au groupe DXR.

b. Dosage de l'activité de l'AST

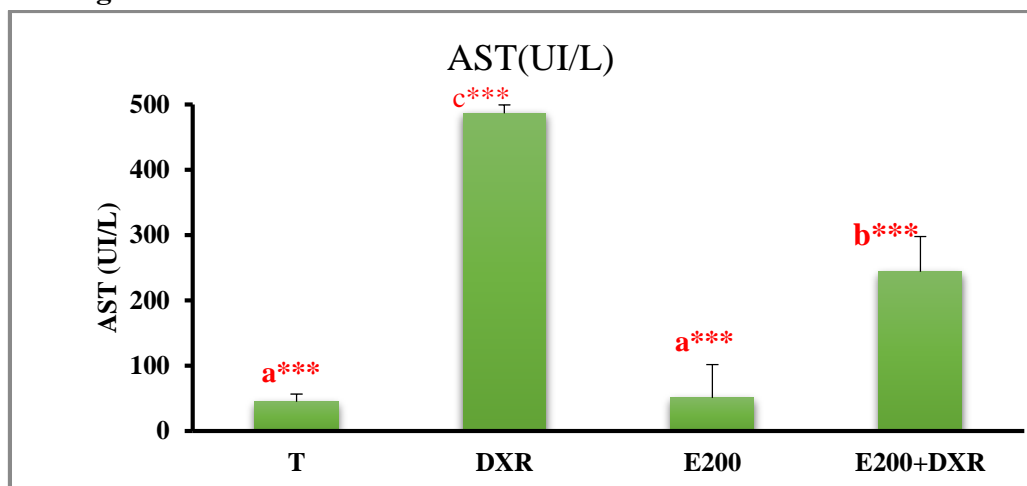


Figure 12. Effet de la doxorubicine (15mg/kg i.p) et l'extrait aqueux de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel. (200mg/kg) sur l'activité enzymatique d'AST. ($P < 0,001$), $n=8$.

Sur la figure ci-dessus on constate une augmentation hautement significative du niveau plasmatique d'AST chez les groupes DXR par rapport au groupe T ($685,62 \pm 12,66$ et $225,69 \pm 11,99$ UI/ml), respectivement. Par ailleurs, le groupe E200+DXR a montré une diminution significative de la teneur plasmatique de l'enzyme ($419,18 \pm 54,16$ UI/ml) comparés au groupe DXR. Par contre, l'activité d'AST augmente d'une façon non significative chez les souris du groupe E200 ($307,45 \pm 51,03$ UI/ml) par rapport au groupe T.

4.1.3.3. L'effet des différents traitements sur le statut oxydant a. L'effet sur la peroxydation lipidique (taux d'MDA) du foie

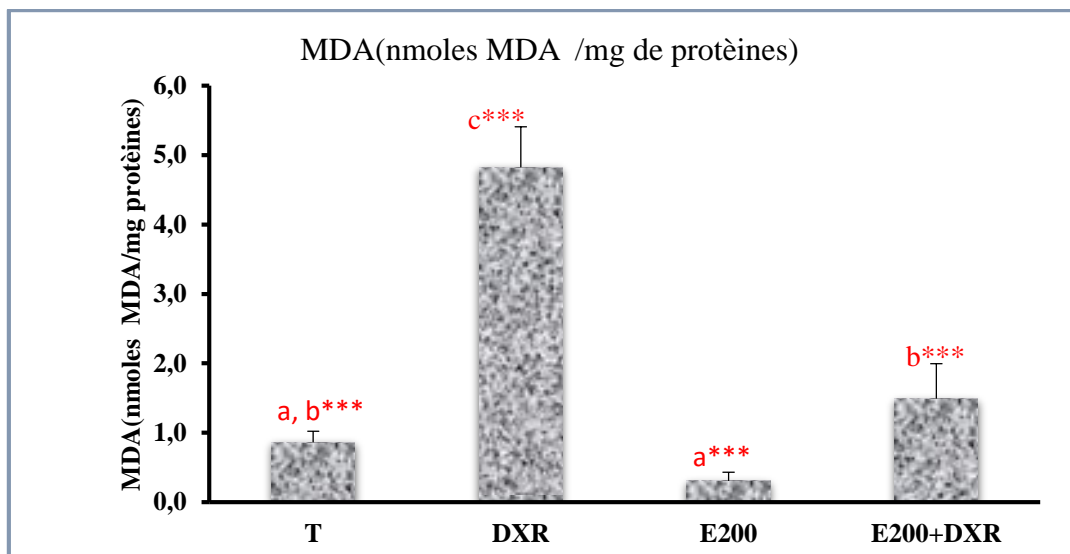


Figure 13. Effet de la doxorubicine (15 mg/kg i.p) et l'extrait aqueux de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel. (200mg/kg) sur la concentration hépatique en MDA. ($P < 0,001$), $n=8$.

Les présents résultats montrent une augmentation hautement significative du taux du MDA chez le groupe DXR ($4,828 \pm 0,578$ nmol MDA/mg protéines) par rapport au groupe T ($0,866 \pm 0,155$ nmol MDA/mg protéines). En effet, nous constatons que le taux de l'MDA était significativement diminué chez le groupe E200+DXR ($1,491 \pm 0,505$ nmol MDA/mg protéines). Parallèle au groupe DXR ($4,828 \pm 0,578$ nmol MDA/mg protéines). Toutefois, le taux du MDA diminue d'une façon non significative chez le groupe E200 ($0,306 \pm 0,126$ nmol MDA/mg protéines) par rapport au lot témoin. Par contre, nous avons remarqué une augmentation de taux du MDA chez les animaux prétraités par l'extrait aqueux (200 mg/kg) par rapport au groupe T, mais d'une manière non significative.

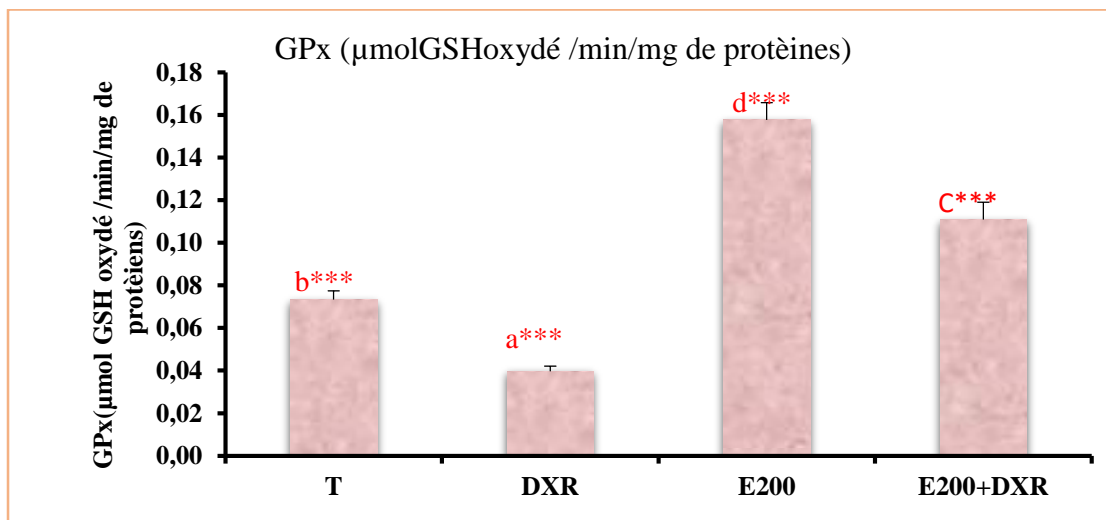
b. L'effet sur l'activité de la GPx du foie

Figure 14. Effet de la doxorubicine (15 mg/kg i.p) et l'extrait aqueux de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel. (200mg/kg) sur l'activité de la GPx dans le foie. ($P < 0,001$), $n=8$.

Le dosage de l'activité de GPx a montré qu'il a subi une baisse significative au niveau du foie, chez le groupe DXR ($0,040 \pm 0,002$ μmoles GSH oxydé/min/mg de protéines) par rapport le groupe T ($0,073 \pm 0,004$ μmoles GSH oxydé/min/mg de protéines). Alors que le traitement des souris avec l'extrait aqueux (200 mg/kg) a augmenté de façon hautement significative le taux de GPx ($0,158 \pm 0,008$ μmoles GSH oxydé/min/mg de protéines) au niveau du foie par rapport au groupe témoin. Cependant le tissu hépatique du groupe E200+DXR a montré une augmentation hautement significative de la concentration du GPx ($0,111 \pm 0,008$ μmoles GSH oxydé/min/mg de protéines) comparés au groupe DXR.

4.1.3.4. Analyse histologique

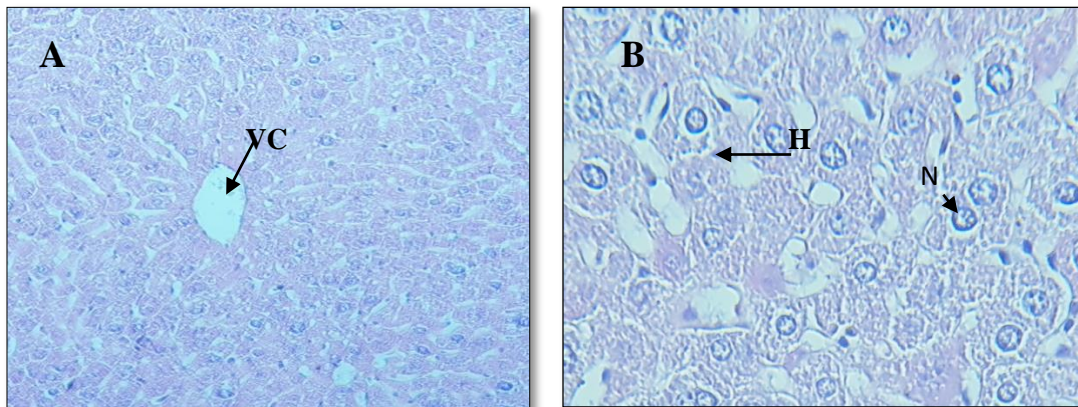


Figure 15. Coupes histologiques du tissu hépatique de groupe T. Coloration hématoxyline éosine A (G×10) et B (G×40).

VC : veine centrolobulaire ; H : hépatocyte ; N : noyaux

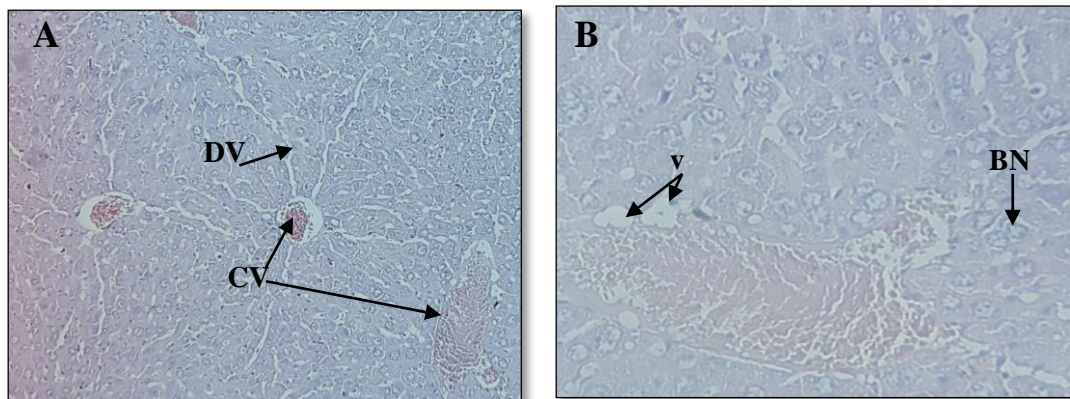


Figure 16. Coupes l'histologique du tissu hépatique de groupe DXR. Coloration hématoxyline éosine A (G×10) et B (G×40).

CV : congestion vasculaire au niveau de la veine centrolobulaire; DV : dilatation veineuse ; BN : bi-nucléation;
V : vacuolisation

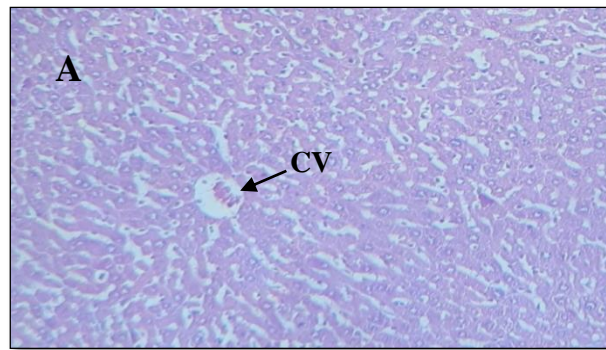


Figure 17. Coupes histologique du tissu du foie de groupe E200. Coloration hématoxyline éosine A (G \times 10)

CV : congestion vasculaire au niveau veine de la centrolobulaire

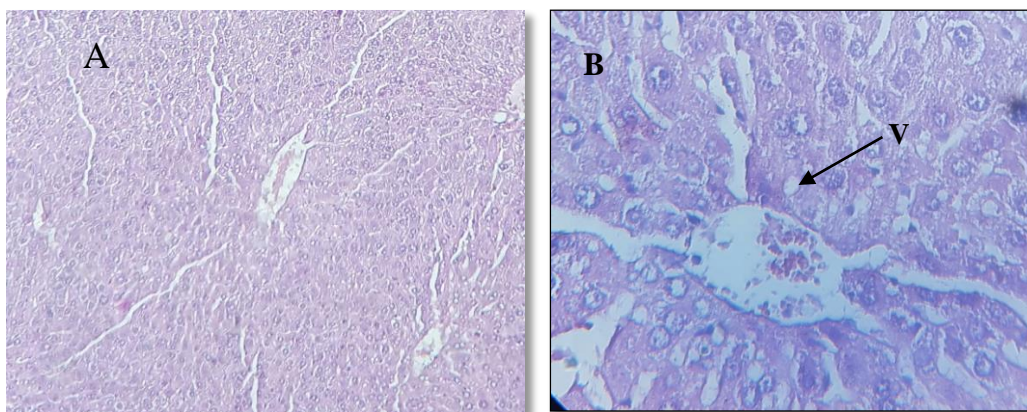


Figure 18. Coupes histologique du tissu hépatique de groupe E200+DXR. Coloration hématoxyline éosine A (G \times 10) B (G \times 40).

V : vacuolisation

Les coupes histologiques du foie des souris de groupe témoin non traité apparaissent sans modification où la forme structurelle normale du foie. C'est-à-dire, l'architecture du parenchyme hépatique est conservée. L'hépatocyte de cytologie normale qui fait d'un cytoplasme éosinophile avec un noyau central et se disposant de façon radiale aux alentours de la veine centrolobulaire. Toutefois les résultats obtenus du groupe traité par la doxorubicine (15mg/kg) présentent un changement morphologique au niveau du foie. On constate la présence d'une dilatation veineuse avec une congestion vasculaire franche au niveau de la veine centrolobulaire, des signes de souffrance hépatocytaire notamment plusieurs vacuolisations cytoplasmiques (V) et la bi-nucléation des noyaux.

L'aspect morphologique du tissu hépatique du groupe E200+DXR a marqué une légère correction par rapport au tissu hépatique du groupe DXR. Où on observe une atténuation de la congestion vasculaire au niveau de la veine centrolobulaire, une conservation de l'architecture et de la cytologie.

Alors que l'architecture de parenchyme hépatique des souris traités par l'extrait aqueux de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel. apparait avec un aspect sensiblement normal.

4.2. Discussion

L'étude menée par Boussahel (2010) a montré que l'extrait aqueux de la plante *Retama sphaerocarpa* à un rendement de 18.68 % inférieur à celui présentés pour l'EAAg (26,58%).

D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à autre de la même famille mais également en fonction des conditions environnementales, climatiques et période de collecte ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales.

Pour l'extrait aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel., la DL50 est déterminé par la méthode décrite dans la Ligne Directrice Européenne de l'OCDE code 425.

Dans ce travaille aucun signe de toxicité ou de mortalité n'a été observé pendant les 14 jours qui ont suivi l'administration orale de l'extrait de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel. avec les dose d'étude (2g/kg et 5g/kg)

D'après Hodge et Sterner (1949), l'échelle de toxicité d'une substance chimique en fonction de la DL50 chez les souris de laboratoire, et dont laquelle une DL50 orale > 5000 mg/kg ($5000 < DL50 < 15000$ mg/kg) signifie une substance presque non toxique (Etame *et al.*, 2017), donc on s'aperçoit que notre extrait aqueux de la plante *Astragalus gombiformis* Pomel. presque non toxique.

Notre résultats sont en bon accord avec autres travaux sur les étude de toxicité des extraits aqueux de la famille de fabaceae (Lebri *et al.*, 2015; Dongmo *et al.*, 2019). De plus l'évaluation de la toxicité sur le poids corporel pendant deux semaines n'a révélé aucune variation significative par rapport aux témoins, des autres études sont en accord avec les résultats présents (Ugbogu *et al.*, 2016).

L'administration d'une seule dose de 15 mg / kg de doxorubicine a induit des signes de toxicité générale, et un déficit pondéral significatif. On sait que les anticancéreux tels que la

doxorubicine et la daunorubicine provoquent une perte pondérale (Kavutcu *et al.*, 1996; Kalender *et al.*, 2001).

La réduction de poids corporel du groupe traité par la doxorubicine par rapport au groupe témoins est utilisée comme indicateur de la détérioration de l'état de santé générale des souris (Djeffal, 2014).

Les résultats obtenus corroborent les travaux de (Rašković, 2001) sur la toxicité provoquée par la doxorubicine et l'effet préventif d'une plante.

La toxicité hépatique induite par les médicaments peut revêtir tous les aspects de la pathologie hépatique aiguë et chroniques (Nadir *et al.*, 2004; Hussaini, 2007; Biour, 2011). Pendant le traitement avec la doxorubicine, le foie reçoit, accumule et métabolise des concentrations élevées de ce médicament. Par conséquent, il est prévisible que le foie est l'un des organes les plus affectés par le traitement avec la doxorubicine.

Afin d'évaluer l'hépatotoxicité engendrée par la doxorubicine sur des souris, le médicament est administré à une dose unique de 15mg/kg par voie intra péritonéale pour assurer une toxicité aiguë (Durak *et al.*, 1998; Mohan *et al.*, 2011).

Le dosage des transaminases sériques est l'une des prescriptions biologiques les plus fréquentes, en raison des informations diagnostiques qu'il peut fournir dans des circonstances cliniques très variées (Green et Flamm, 2002). En effet, une lésion des hépatocytes modifie leur fonction de transport et leur perméabilité membranaire, ce qui conduit une fuite des enzymes des cellules donc à la diminution des taux d'ALT et d'AST à l'intérieure des cellules et à l'augmentation de ces taux dans le sérum (Mohan *et al.*, 2011). Il a été constaté que la doxorubicine provoque une perturbation du métabolisme basal en montrant un effet toxique, en particulier dans le foie (Amandeep *et al.*, 2012).

Dans la présente étude les résultats ont révélé une augmentation hautement significative de l'activité enzymatique de l'ALT et l'AST chez les souris traités par la doxorubicine (15 mg/kg) comparé avec le lot témoin. Alors que les taux de (ALT et AST) chez le groupe (E200 +DXR) ont révélé une diminution significative par rapport au lot traité par la doxorubicine. Nos résultats sont en bon accord avec ceux rapportés précédemment (Bagachi *et al.*, 1995; Mohan *et al.*, 2011; Rašković *et al.*, 2011).

Le stress oxydant est le mécanisme par lequel la doxorubicine provoque une toxicité (Sou *et al.*, 2017) qui est généralement médiée par la production des radicaux libres (Beshay *et al.*, 2011).

Dans le cas d'une toxicité rénale, hépatique et cardiaque, les radicaux libres causent la peroxydation lipidique qui conduisant à la dégradation oxydative des acides gras polyinsaturés des membranes et la génération des aldéhydes réactifs comme le malondialdéhyde (MDA) qui est cytotoxique et peut donc être considéré comme biomarqueur principal du stress oxydant (Favier, 2003; Milane, 2004; Mazunder *et al.*, 2005).

En effet, la peroxydation lipidique peut refléter le degré du stress oxydant qui affecte ces trois organes (Kakkar *et al.*, 1997).

Le résultat de groupe traité par la doxorubicine a révélé une augmentation hautement significative du niveau de l'MDA par rapport au groupe témoin normale et cela peut être un indicateur des dommages au niveau des tissus hépatiques. Le groupe (E200+DXR) a révélé une diminution significative du taux de MDA, ces résultats prouvés l'effet préventif de l'extrait sur la peroxydation lipidique par sa propriété anti radicalaire et captation des radicaux libres. Cela est contrairement au taux du GPx du foie qui a subi une diminution significative et qui peut être un signe d'excès des radicaux libres produits par la doxorubicine. L'augmentation de la peroxydation lipidique affaiblit le fonctionnement des membranes par la baisse de la fluidité membranaire et par la diminution de l'activité des enzymes ainsi que des récepteurs liés aux membranes (Kuka *et al.*, 2012).

En outre, le pouvoir chimioprotecteur de l'extrait aqueux de notre plante peut être dû à l'augmentation du statut antioxydant, car l'extrait de la plante a présenté une augmentation de la concentration du GPx par rapport aux groupes témoins, ou à la richesse de l'extrait de plante par les polyphénols totaux et les flavonoïdes de *Astragalus gombiformis* Tunisien (Tayeb *et al.*, 2012). Les extraits des plantes connus pour leur propriétés anti-radicalaire ou bien à la captation des molécules du MDA par les métabolites secondaires de l'extrait (Lahouel *et al.*, 2004; Al-Snafi, 2005).

Les résultats de cette présente étude suggèrent que l'extrait aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel. a pu protégé le tissu hépatique contre le stress oxydant et l'action cytotoxique induite par le médicament et maintient l'équilibre du système redox intra-hépatocytaire par inhibition de la peroxydation lipidique et le piégeage des radicaux libres, ce qui protège contre les altérations pathologiques causées par ces derniers.

Autres études (Saad *et al.*, 2001; Kalender *et al.*, 2005; Raskovic *et al.*, 2011; Mohan *et al.*, 2011), sur des rats mâles qui ont subis une toxicité par la doxorubicine a provoqué une augmentation significative du taux d'MDA.

Zolfagharzadeh et Valiollah montrent (2013) que l'administration de la doxorubicine augmente le taux d'MDA et diminue le taux de l'activité d'enzyme antioxydant GPx au niveau du foie.

Afin de confirmer les résultats des dosages plasmatiques et tissulaires des biomarqueurs de la toxicité hépatique de la doxorubicine. Une étude hépato-histologique a été réalisée pour les quatre groupes. Les résultats ont montré que l'administration de la doxorubicine en une dose unique aux souris a provoqué des altérations sévères accompagnées par des changements histologiques. En effet, ces derniers se manifestent par une congestion vasculaire au niveau de la veine centrolobulaire et des signes de souffrance hépatocytaire notamment les vacuolisations cytoplasmiques et la bi-nucléation des noyaux.

Par contre le prétraitement par l'EAAg a pu diminuer les lésions remarquables chez les souris traitées par la doxorubicine seule.

Les résultats obtenus sont conformes avec les recherches de (Rašković *et al.*, 2011; Sakr et Abo-El-Yazid, 2011; Summya *et al.*, 2013).

Conclusion

Conclusion

Astragalus gombiformis Pomel. est une plante médicinale spontanée ; ayant révélé des pouvoirs antioxydants, antibactérien liés à sa richesse en différentes métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes et les Polyphénols.

L'extrait de la plante administré par voie orale avec les doses 2 et 5 g/kg de Pc. Tous les animaux en survécu à l'issue des 14 jours d'observation, ce qui implique que la DL50 est supérieure à 5g/kg de Pc.

La doxorubicine non seulement un médicament anticancéreux utilisé en chimiothérapie, mais aussi est un agent producteur des radicaux libres dans le tissu hépatique qui sont susceptible de provoquer une toxicité.

Les plantes médicinale sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médical. Notre travail est proposé afin d'étudier l'effet protecteur de l'extrait aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel. contre l'hépatotoxicité induite par la doxorubicine. D'après les résultats obtenus; on constate que la doxorubicine a provoqué une hépatotoxicité chez des souris mâles par injection intrapéritonéal à une dose de 15 mg/kg. Les résultats des dosages biochimiques des transaminases (ALT et AST) et l'évaluation du (MDA et GPx) ont révélé une amélioration significative sur le plan biochimique ainsi que le hépato-tissulaire. D'autre part, les résultats de l'étude histologique montrent clairement que le prétraitement par l'extrait a pu minimiser les dommages hépato-tissulaire provoqué par la doxorubicine.

En conclusion, l'ensemble de nos travaux a permis de mettre l'accent sur l'effet préventif de l'extrait d'*Astragalus gombiformis* Pomel. contre l'hépatotoxicité provoqué par la doxorubicine

Par ailleurs, les résultats de cette étude reste préliminaire et ne constituent qu'une première étape dans la recherche des substances d'origine naturelle biologiquement active, donc, de nombreuse perspective expérimentales écoulent de cette recherche. En fait, des études plus approfondies nécessaires concluant plusieurs points à savoir:

-Il serait souhaitable de développer cette étude en mesurant d'autres paramètres du statut antioxydant (SOD, catalase,...).

-L'identification et la caractérisation des extraits montrant l'intérêt pharmacologique en vue d'une application thérapeutique.

Bibliographie



Ahmed O. M., Mohamed B. A., Alaa S. A. 2017. The Preventive Effects of Navel Orange Peel Ethanolic Extract and Naringin On Doxorubicin-Induced Nephrocardiotoxicity in Male Albino Rats. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research* 7 (7):109-125.

Al-Snafi A. E. 2015. CHEMICAL CONSTITUENTS AND PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF ASTRAGALUS HAMOSUS AND ASTRAGALUS TRIBULOIDES GROWN IN IRAQ. *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 5(4):321-328.

Amandeep K., Manpreet K. R. S. S. K. 2012. Doxorubicin: a critical review on toxicity *Journal of Pharmacy Research* 5(5):2890-2894.

Andrieu-Abadie N., Levade T., Laurent G., Hatem S., Mercadier J. 1999. Le céramide à l'origine de la cardiotoxicité de la doxorubicin? *Médecine/sciences* 15:1322-4.



Bagchi D., Bagchi M., Hassoun E. A., Kelly J., Stohs S. J. 1995. Adriamycin-induced hepatic and myocardial lipid-peroxidation and DNA-damage, and enhanced excretion of urinary lipid metabolites in rats. *Toxicology* 95:1-9.

BAKKER M., GRAAF W. T. A. V. D., GROEN H. J. M., SMIT E. F., VRIES E. G. E. D. 1995. Anthracyclines Pharmacology and resistance, a review. *ResearchGate* 1(1): 133-144.

Bensakhria A. 2018. TOXICITÉ AIGUË. Chapitre II. *Research Gate*.

Berger M. M. 2006. Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutr. Clin. Métabolisme* 20:48-53.

Boussahel S. 2010. Etude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif. *Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbes, Sétif* p54.



Campos F. C., Panis C., De Rossi T, Victorino V. J., Cecchini A., Cecchini A., Cecchini R. 2012. Aspects related to oxidative stress-mediated toxicity of doxorubicin during chemotherapy treatment. *Applied Cancer Research* 32(1).

Carr A., Frei B. 1999. Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological conditions *FASEB J* 13(9):1007-1024.

Cheeseman K. H. et Slater T. F. 1993. An Introduction To Free Radical Biochemistry. *Br.Med. Bull* 49: 481-493.

Chouana T. 2017. Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'*Astragalus gombo bunge*. Thèse de doctorat. Université KasdiMerbah d'Ouargla 189 p.



De wit H. 1963. *Les plantes du monde* .Ed Hachette, Paris, 308-323

Djeffal A. 2014. Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate « méthomyl » chez le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C, Université Badji Mokhtar-Annaba. 225p.

Droillard M. J. et Paulin A. 1990. Isozymes of Superoxide Dismutase in Mitochondria and Peroxisomes Isolated from Petals of Carnation (*Dianthus caryophyllus*) during Senescence. *Plant Physiology* 94 (3):1187-1192.

Durak I., Ozturk H. S., Kavutcu M., Birey M., Yel M., Guven T., Olcay E., Kacmaz M., Canbolat O. 1998. Protective role of antioxidant vitamins on Adriamycin induced free radical production and cardiotoxicity in guinea pigs. *Cancer Res. Ther. Cont* 5:133–141.

Durak I., Ozturk H. S., Kavutcu M., Birey M., Yel M., Guven T., Olcay E., Kacmaz M., Canbolat O. 1998. Protective role of antioxidant vitamins on adriamycin-induced free radical production and cardiotoxicity in guinea pigs. *Cancer Res. Ther. Cont.* 5:133–141.



Ece A., Gurkan F., Celik F., Boşnak M., Yel S., Balik H., Erel O. 2007. Paraoxonase, total antioxidant activity and peroxide levels in marasmic children: relationships with leptin. Clin Biochem 40 (9-10): 634-9.

El Rhaffari, L.;Zaid, A. 2002. Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Actes du 4ème congrès Européen d'Ethnopharmacologie : origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes, Montpellier, France, ; Publiés par le CRD pp 293-318.

Etame L. G., Yinyang J., Okalla E., Ebongue C., Makondo B.V., Ngaba G. P., Mpondo M. E., Dibong S. D. 2017.Étude de la toxicité aigue et subaigüe de l'extrait au vin des graines de Caricapapaya Linn. Journal of Applied Biosciences 120: 12077-12085.



Favier A. 2003. Le Stress Oxydant. Intérêt Conceptuel Et Expérimental Dans La Compréhension Des Mécanismes Des Maladies Et Potentiel Thérapeutique. L'actualité Chimique-Novembre-Décembre. P: 108-115.

Favier A. 2003. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique, 108 - 115.

Foudah A. I., Soliman G. A., Abdel-Rahman R. F., Alankuş- Çalışkan Ö., Yusufoglu H. 2017. ANTIOXIDANT AND HEPATOPROTECTIVE EFFECTS OF ASTRAGALUS ECHINOPS AND ASTRAGALUS LOGOPODIOIDES ETHANOLIC EXTRACTS ON PARACETAMOL-INDUCED LIVER INJURY IN RATS. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine 14(5):31-40.

François M., Donatien K., Amadou D., Rachid S., Chafique Y. 2009. Phytochemical Composition and Antioxidant Capacity of Three Malian Medicinal Plant Parts. JournaleCAM 2011(2011) : p1.



Ganther H. E. 1999. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxinreductase. Carcinogenesis 20 (19): 1657- 1666

Georgieva S., Boyadzhiev L., George Angelov. 2010. Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydante. *Revue de génie industriel* 5:124-132.

Gérard-Monnier D., Chaudière J. 1996. Métabolisme et fonction antioxydante du glutathion. *Path Biol* 44:77-85.

Greff M. 2011. *Post'U FMC-HGE*, Springer Edition. 39.

Guerrouj K., Pérez-Valera E., Chahboune R., Abdelmoumen H., Bedmar E. J., El Idrissi M. M. 2013. Identification of the rhizobial symbiont of *Astragalus gombiformis* in Eastern Morocco as *Mesorhizobium camelthorni*. *Antonie van Leeuwenhoek Journal of Microbiology* 104(2):187–198.

Guglin M., Aljayeh M., Saiyad S., Rias A., Anne B., Curtis. 2009. Introducing a new entity: chemotherapy-induced arrhythmia. *Europace* 11(12):1579-1586.



Hande K. R. 1998. Clinical applications of anticancer drugs targeted to topoisomerase II. *BiochimBiophysActa*, 1400: 173-184.

Hortobàgyi G. N. 1997. Anthracyclines in the treatment of cancer. *Drugs* 54 : 1-4

Iarussi D., Indolfi P., Casale F., Coppolino P., Tedesco M. A., Tullio M. T. 2001. Di Recent advances in the Prevention of Anthracycline Cardiotoxicity in Childhood *Current Medicinal Chemistry*. *RecentAdvances* 8(13):1649-1660.



Joëlle G., Allain F. 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Métabol* (11):115-20.

Judson I., Verweij J., Gelderblom H., Hartmann J.T., Schöffski P., Blay J.Y. 2014. Doxorubicin alone versus intensified doxorubicin plus ifosfamide for first-line treatment of advanced or metastatic soft-tissue sarcoma: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol* 15(4):415-23.



Kara Ali W. 2017. Effet des extraits de la plantemédicinale *Ruta montana* (الفيجل) sur la cardiotoxicité induite par la doxorubicine et sur la multi-drug résistances (MDR) des cellules

cancéreuses ovarien (A2780). Université des Frères Mentouri-Constantine Thèse de Doctorat en Science 157p.

Kumar R. S., Narasingappa R. B., Joshi C. G., Girish T.K. 2017. Prasada Rao U.J., Danagoudar A. Evaluation of *Cassia tora* Linn. against Oxidative Stress-induced DNA and Cell Membrane Damage/J Pharm BioalliedSci 9(1):33-43.



Ladoh Yemeda C. F., Dibong S. D., Nyegue M. A., Djembissi Talla R. P., Lenta Ndjakou B., Mpondo Mpondo E., Yinyang J., Wansi J D. 2014. Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmantheracapitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. Journal of Applied Biosciences 84: 7636-7643.

Lahouel M., Amedah S., Zellaoui A., Touil A., Rhouati S., Benayache F., Lghouchi E., Bousseboua H. 2006. The interaction of plant flavonoides with rat liver mitochondria. *therapie* 61(4):347-355.

Lahouel M., Boulkour S., Segueni N., Fillastre J.P. 2004. Effet protecteur des flavonoides contre la toxicité de la vinblastine, du cyclophosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *Pathologie Biologie* 52:314-322.

Lansiaux A. et Pourquier P. 2011. Mécanismes moléculaires et déterminants de la réponse aux inhibiteurs de topo-isomérases II. *Bulletin du cancer* 98(11):1299-1310.

Lapointe G. 2004. Notions de toxicologie. 2^{ème} édition, Bibliothèque nationale du Québec, P.8.

Lauwerys R. R. 2003. Toxicologie industrielle et intoxication professionnelles. Ed Masson, Paris, p. 12

Lebri M., Bahi C., Fofie N. B. B., Gnahoue S. M., Achibat H., Yapi A., Zirihi G.N., Coulibaly A., Hafid A., Khouili M. 2015. Analyse phytochimique et évaluation de la toxicité aiguë par voie orale chez des rats de l'extrait total aqueux des feuilles de *Abrus precatorius* Linn (Fabaceae). *J. Biol. Chem. Sci.* 9(3): 1470-1476.

López G. V., Batthyány C., Blanco F., Botti H., Trostchansky A., Migliaro, E., Rubbo H. 2005. Design, synthesis, and biological characterization of potential antiatherogenic nitric oxide releasing tocopherol analogs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 13(20): 5787–5796.



MA B., Hieter P. et Boeke J.D. 1997. Petits cadres de lecture ouverts: de belles aiguilles dans la palette de foin. *GenomeRes* 7(8):768-71

Merouane A., Noui A., Medjahed H., NedjariBenhadj Ali K., Saadi A. 2014. Activité antioxydante des composés phénoliques d’huile d’olive extraite par méthode traditionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci* 8(4):1865-1870.

Minotti G., Menna P., Salvatorelli E., Cairo G., Gianni L. 2004. Antracyclines : molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev* 56:185-229.

Mizutani H., Tada-Oikawa S., Hiraku Y., Kojima M. , Kawanishi S. 2005. Mechanism of apoptosis induced by doxorubicin through the generation of hydrogen peroxide. *Life Sei*, 76 (13):1439-1453.

Mobaraki M. A., Faraji A., Zare M., Dolati P., Ataei M., Manshadi H. R. 2017. Molecular Mechanisms of Cardiotoxicity: A Review on Major Side-effect of Doxorubicin. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 79(3):335-344.

Mohan M., Kamble S., Satyanarayana J., Nageshwar M., Niranjan Reddy. 2011. Protective effect of Solanum torvum on Doxorubicin- induced hepatotoxicity in rats , *Int. J. Drug Dev. & Res.* 3(3):131-138.

Mohan M., Kamble S., Gadhi P., Kasture S. 2010. Protective effect of Solanum torvum on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Food ChemToxicol* 4:436-40.



Nousiainen T., Jantunen E., Vanninen E., Hartikainen J. 2002. Early decline in left ventricular ejection fraction predicts doxorubicin cardiotoxicity in lymphoma patients. *British Journal of Cancer* 86:1697.



Outomuro D., Grana D. R., Azzato F., Milei J. 2007. Adriamycin-induced myocardial toxicity: New solutions for an old problem. *International journal of cardiology* 117: 6-15.



Phillips D. R., Sturm R. A., Parsons P. G., Cutts S. M. 1996. Adriamycin-induced DNA Adducts Inhibit the DNA Interactions of Transcription Factors and RNA Polymerase. *The Journal of Biological Chemistry*, 271:5422-5429.

Pryor W. A. 2000. Vitamine E and heart disease basic science to chemical intervention trials. *free Rad .Biol. Med* 28:141-164.



Quézel P., Santa S. 1963. *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. CNRS, Paris, 2^{ème} vol. 1170 p.



Raškovi A., Stilinović N., Kolarović J., Vasović V., Vukmirović S., Mikov M. 2011. The Protective Effects of Silymarin against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity and Hepatotoxicity in Rats. *Molecules* 16:8601-8613.

Rios J.L., Waterman P.G. 1997. *A review of the pharmacology and toxicology of Astragalus*. *Phytother. Res.* 11:411-418.

Teyeb H., Houta O., Najjaa H., Lamari A., Neffati M., Doukia W., Fadhel N. M. 2012. Biological and Chemical Study of *Astragalus gombiformis*. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, Tübingen: 367 – 374.



Sakr S. A. et Abo-El-Yazid S. M. 2011. Effect of fenugreek seed extract on adriamycin-induced hepatotoxicity and oxidative stress in albino rats. *Toxicology and Industrial Health* 28(10):876-885.

Sarr S. O., Fall A. D., Gueye R., Diop A., Diatta K., Diop N., Ndiaye B., Diop Y. M. 2015. Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitexdoniana* (Verbenaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci* 9(3):1263-1269.

Shaiq ALI M., Farman A., Viqar Uddin A., 2001. Unusual Chemical Constituents of *Lotus garcinii* (Fabaceae). *Turk J Chem* 25 :107-112

Sheela A. A., Dawn N. W., Lawrence D. M., Pieter R. C., Thomas D. M., Marcel B. B. The Liposomal Formulation of Doxorubicin. *METHODS IN ENZYMOLOGY* 391:71-97.

Stamler J. S., et Slivka A. 1996. Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related disease. *Nutr Rev* 54:1-30.

Summya R., Nemat A., Sana N., ShiekhTanveer A., Wani A., Syed K. H., Sarwat Sultana D. 2013. Alleviation of doxorubicin-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity by chrysin in Wistar rats *ToxicolMech Methods* 23(5): 337-345



Tacar O., Sriamornsak P., Dass C. R. 2013. Doxorubicin : an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *Journal of pharmacy and pharmacology* 65:157-170.



Ugbogu A.E., Okezie E., Ucheikonne., Duru M., Atasié O. C. 2016. Toxicity Evaluation of the Aqueous Stem Extract of *Senna alata* in Wistar Rats. *American journal of biomedical Research*. 4:80-86.



Valko M., Rhodes C. J., Moncol J., Izakovic, M., Mazur M. 2006. "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." *ChemBiolInteract* 160(1):1-40.

Vergely C., Rochette L. 2003. Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire/médecine thérapeutique cardiologique 1(1).

Viala A., Botta A. 2005. Toxicologie. 2^{ème} édition, Lavoisier, pp13-14.

Vitoux D., Chappuis P., Arnaud J., Bost M., Accominotti M., Roussel A. M. 1996. Sélénium, glutathion peroxydase, peroxydes et fonctions plaquettaires. *Ann Biol Clin* 54:181-187.



Wallace Hayes A. 2008. Principle and methods of toxicology. Ed Tayer Francis, New York, p. 1134.

Wojciechowski M. F., Lavin M., Sanderson M. J. 2004. A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany* 91(11):1846-62.



Yarmohmmadi F., Nastaran R., Hedyeh F.G., Nina J., Alireza A., Parvin P., Farahnaz J., Shahram E., Ahmad RD. (2017). Protective effects of agmatine on doxorubicin-induced chronic cardiotoxicity in rat. *European Journal of Pharmacology*. 796: 39–44.

Yilmaz S., Atessahin A., Sahna E. 2006. Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Toxicology* 218:164–71.



Zhou Q., Chowbay B. 2002. Determination of doxorubicin and its metabolites in rat serum and bile by LC: application to preclinical pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 30:1063-1074.

Zolfaghardah F., Roshan V. D. 2013. Pretreatment Hepatoprotective Effect of Regular Aerobic Trainig Against Hepatic Induced by Doxorubicin InRats. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 14(5): 2931-2936.

Annexes

Annexe 1 : Les réactifs pour stress oxydatif

Le réactif utilisé pour préparation du tampon phosphate 0.1M pH 7.4

- Phosphate sodique monobasique.
- Phosphate sodique dibasique.
- L'eau distillée.

Les réactifs de dosage d'activité de GPx

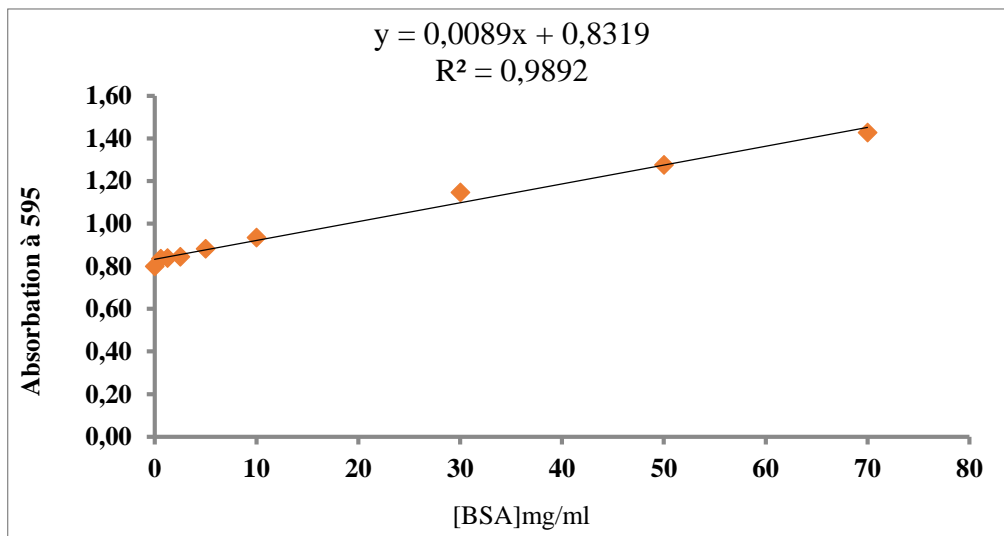
- Solution du GSH –*Glutathion 0.1mM*.
- Solution TBS-Tris-buffered saline 50 mM, NaCL (150 mM).
- H₂O₂(Le peroxyde d'hydrogène) 1.3mM.
- Solution TCA-Trichloracétique acide 1%
- DTNB (2.6-Di-tert-butyl-4-methylphenol) 1mM.

Les réactifs de dosage de MDA

- Solution TBS-Tris-buffered saline 50 mM, NaCL (150 mM).
- TCA-BHT (Trichloracétique acide- L'hydroxy toluène butyle) TCA 20% et BHT 1%.
- HCL 0.6M.
- Tris-TBA (2-amino-2-hydroxyméthylpropane-1,3-diol)-Tris base 26mM/L et TBA 120 mM/L.

Annexe 2 : Dosage des protéines

Gamme étalonnage du dosage des protéines :



Résultats de dosage des protéines

ECH	Blan	DO ech	DO	F	C(µg/ml)	C(mg/ml)	Poid d'ore	lg dissou	C prot/1g(mg/ml)
TF5	0,141	1,183	1,042	1000	948,528	0,949	1,860	1935,484	3,672
TF6	0,107	1,354	1,247	1000	1153,528	1,154	1,400	2571,429	5,931
TF7	0,097	1,212	1,115	1000	1021,528	1,022	1,300	2769,231	5,660
TF8	0,097	1,511	1,414	1000	1320,528	1,321	1,300	2796,231	7,316
DF5	0,099	1,175	1,076	1000	982,528	0,983	1,290	2790,698	5,024
DF6	0,307	1,038	0,731	1000	637,528	0,638	1,120	3214,286	4,979
DF7	0,291	1,017	0,726	300	124,328	0,124	1,370	2627,737	0,687
DF8	0,115	1,018	0,903	1000	809,528	0,810	0,900	4000,000	6,474
E200F1G	0,102	1,25	1,148	1000	1054,528	1,055	1,650	2181,818	4,600
E200F4G	0,102	1,096	0,994	1000	900,528	0,901	1,560	2307,692	4,156
E200F8G	0,103	1,044	0,941	1000	847,528	0,848	1,450	2482,759	4,207
E200+DF5G	0,101	0,953	0,852	1000	758,528	0,759	0,800	4500,000	6,827
E200+DF7G	0,12	1,209	1,089	1000	995,528	0,996	1,310	2748,092	5,473
E200+DF8G	0,122	0,957	0,835	1000	741,528	0,742	1,300	2769,231	4,105

Annexe 03 Analyse statistique

ANOVA a un seul critère des paramètres biochimiques du Foie : GTO et GTP

Univariate Results for Each DV (Spreads NOUR)
Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

Effect	Degr. of Freedom	GTO SS	GTO MS	GTO F	GTO p	GTP SS	GTP MS	GTP F	GTP p
Intercept	1	5357083	5357083	1453,731	0,000000	1361250	1361250	1748,816	0,00
groupe	3	963533	321178	87,157	0,000000	1044933	348311	447,480	0,00
Error	28	103182	3685			21795	778		
Total	31	1066714				1066728			

Test Tukey du variable GTO

Tukey HSD test: variable GTO (Spreads NOUR)
Homogenous Groups, alpha = ,05000
Error: Between MS = 3685,1, df = 28,000

Cell No.	groupe	Mean	1	2	3
1	GTO	225,3750	****		
3	E200	307,1250	****		
4	E200D	419,0000	****		
2	D	685,1250	****	****	

Test Tukey du variable GTP

Tukey HSD test; variable GTP (Spreads NOUR)
Homogenous Groups, alpha = ,05000
Error: Between MS = 778,38, df = 28,000

Cell No.	groupe	GTP Mean	1	2	3
1	T	44,3750	****		
3	E200	50,2500	****		
4	E200D	243,6250	****		
2	D	486,7500		****	

ANOVA a un seul critère des indicateurs de stress oxydatif du Foie : MDA et GPx

Univariate Results for Each DV (Spreadsheet1)
Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

Effect	Degr. of Freedom	MDA SS	MDA MS	MDA F	MDA p	GPx SS	GPx MS	GPx F	GPx p
Univariate Results for Each DV (Spreadsheet1)	3	48,27034	16,09011	65,8460	0,000000	0,145542	0,145542	1178,082	0,000000
GROUP	3	48,27034	16,09011	65,8460	0,000000	0,030985	0,010328	83,603	0,000000
Error	12	2,93232	0,24436			0,001483	0,000124		
Tukey									
Total	15	51,20266				0,032468			

Test Tukey du variable MDA du Foie

Tukey HSD test; variable MDA (Spreads
Homogenous Groups, alpha = ,05000
Error: Between MS = ,24436, df = 12,00

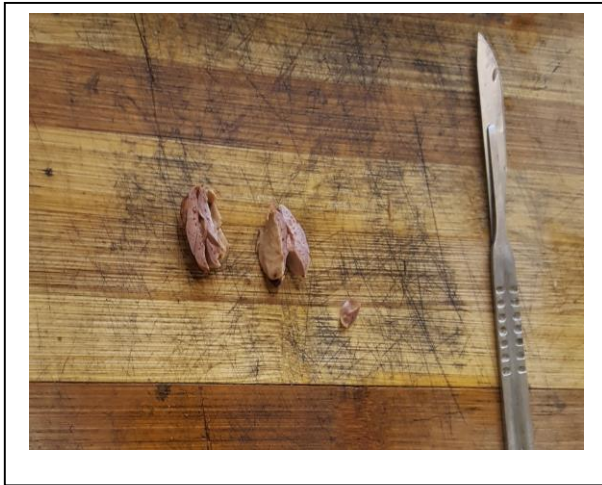
Cell No.	GROUP	MDA Mean	1	2	3
3	E200	0,306000	****		
1	T	1,014000	****	****	
4	E200D	1,490750		****	
2	D	4,828250			****

Test Tukey du variable GPx du Foie

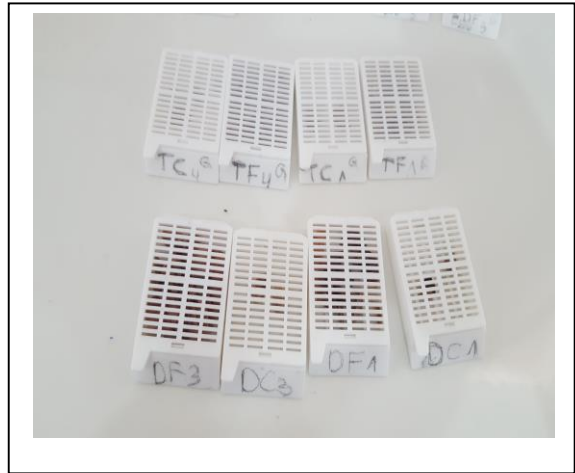
Tukey HSD test; variable GPx (Spreadsheet1)
Homogenous Groups, alpha = ,05000
Error: Between MS = ,00015, df = 10,000

Cell No.	GROUP	GPx Mean	1	2	3	4
2	D	0,039500	****			
1	T	0,073250		****		
4	E200D	0,111000			****	
3	E200	0,157667				****

Annexe 4 : Les étapes utilisées dans l'étude histologique



Coupe les organes en petites pièces



Les cassettes conservées des pièces



La circulation automatique



Enrobage



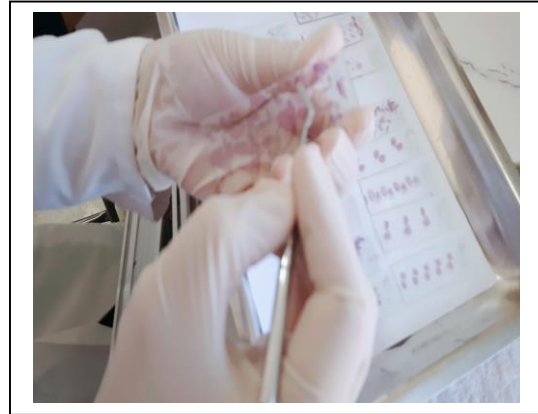
Inclusion du tissu à l'aide de cassette



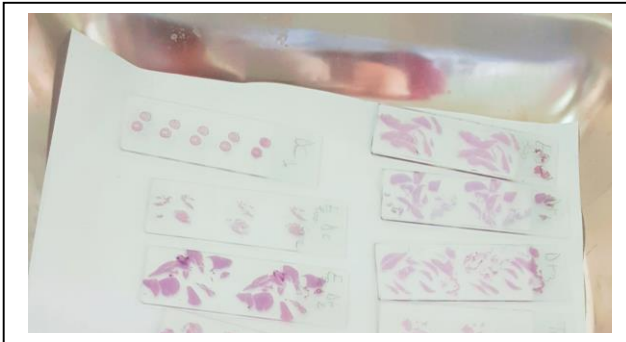
Les coupes au microtome



Les étapes de la coloration



Montage (coller lame et lamelle avec L'eukitt)



Les lames préparées des différents échantillons



La lecture microscopique

RUBIDEX®

Doxorubicine Chlorhydrate

Solution Injectable

Composition du produit :

Principe actif :2mg/ml
 Doxorubicine Chlorhydrate.....

Excipients :

Chlorure de sodium, acide chlorhydrique et eau pour
 préparation injectable

Excipient à effet notoire : Sodium

Classe pharmaco thérapeutique :

Cytostatique, agent intercalant.
 Antitumorale cytotaxique antibiotique de la famille des
 anthracyclines.

Indications :

Rubidex® solution injectable est indiqué pour :

- Carcinomes du sein.
- Sarcomes des os et des parties molles.
- Maladie de Hodgkin, lymphomes non hodgkiniens.
- Tumeurs solides de l'enfant.
- Cancers du poumon.
- Leucémies aiguës et chroniques.
- Cancers de la vessie, de l'ovaire, de l'estomac.

Posologie :

La posologie moyenne est de 40 à 75 mg/m² par cycle.
 Chaque cycle est séparé du précédent par un intervalle de
 3 à 4 semaines. Les cycles sont répétés jusqu'à une dose
 totale maximale de 550 mg/m².

Voie et mode d'administration :

Voie intraveineuse. Administration en perfusion

Contre-indications :

- Sa prescription doit être évitée chez les sujets présentant
 une cardiopathie avec insuffisance myocardique.
- Grossesse.
- Allaitement.
- En association avec le vaccin de la fièvre jaune.

Effets indésirables :

Comme avec d'autres agents anticancéreux altérant l'ADN,
 des syndromes myéloplasiques et des leucémies aiguës
 myéloïdes ont été observés après traitement combiné
 incluant la doxorubicine.

Avec les inhibiteurs de la topoisomérase II, il a été
 rapporté une incidence plus élevée qu'attendue de
 leucémies secondaires et présentées comme des leucémies
 de novo LAM2, LAM3, LAM4. De telles formes peuvent
 présenter une longue période de latence (de 1 à 3 ans). Ces
 formes, accessibles à un traitement curateur, nécessitent
 un diagnostic précoce et un traitement adapté à visée
 curative.

Rubidex® peut donner lieu à des effets indésirables :

- stomatites.
- hypoplasie médullaire chez environ deux tiers des
 malades.
- immunodépression rapidement réversible,
- alopécie dans 90 % des cas, mais réversible à l'arrêt du
 traitement.
- aménorrhée, azoospermie.

On a également signalé l'apparition d'accès fébriles, de
 nausées, de vomissements, de douleurs abdominales et de
 diarrhées. Mais ces manifestations sont transitoires et ne
 posent pas de problème thérapeutique sérieux.

Quelques modifications de l'ECG peuvent apparaître :
 troubles du rythme, allongement de l'espace QT en
 particulier, des troubles aigus du rythme peuvent survenir
 dans les heures qui suivent l'injection. Des contrôles ECG
 fréquents, éventuellement complétés par un
 enregistrement sur 24 heures (méthodes de Holter),
 doivent permettre d'en préciser la signification. Des
 troubles électrolytiques associés éventuels (hypokaliémie,
 hyponatrémie) doivent être corrigés. Dans certains cas,
 une insuffisance cardiaque sévère, rebelle aux traitements
 habituels, peut survenir. Ces réactions sont rares chez les
 malades ayant reçu une dose totale inférieure à
 550 mg/m², elles sont plus fréquentes au-delà de cette
 dose et peuvent dans ce cas atteindre 27 % des malades.

Précautions d'emploi et mises en garde spéciales :

-Une surveillance hématologique et cardiaque stricte doit
 permettre de contrôler efficacement des éventuelles
 modifications toxiques.

-Doxorubicine sous forme injectable à administrer par voie
 intraveineuse stricte.

-Il semble indispensable de diminuer les doses chez les
 sujets présentant une insuffisance hépatique sévère : chez
 ces sujets, en effet, les taux sanguins de Doxorubicine et la
 demi-vie plasmatique de ce produit sont augmentés, d'où
 majoration des effets secondaires (administrer alors 15 à
 30 mg/m² toutes les 4 semaines).

-L'administration de la dose en une injection réduit
 considérablement l'incidence des stomatites.

-L'espacement des cycles par un intervalle de 3 ou 4
 semaines permet la réparation des cellules sanguines et
 des cellules immuno-compétentes.

-Le respect de la dose totale maximale de 550 mg/m²
 limite l'apparition des myélocarcinomes congénitifs.

-Il est évident qu'il faut néanmoins surveiller
 régulièrement, avant chaque cycle, la numération, la
 formule sanguine et l'électrocardiogramme (effectuer un
 bilan cardiovasculaire avant l'administration du produit,
 surtout chez les sujets soumis à une radiothérapie
 thoracique).

-La cryolyse entraîne une hyperuricémie qu'il convient de
 surveiller et de prévenir.

-Ce médicament contient du sodium. Rubidex®10mg/5ml
 contient 45 mg de sodium par dose administrée,
 Rubidex® 50mg/25ml contient 225 mg de sodium par
 dose administrée. A prendre en compte chez les patients
 suivant un régime hyposodé strict.

Grossesse et allaitement :

Grossesse :
 La doxorubicine est susceptible d'être à l'origine de
 malformations graves pour l'enfant lorsqu'elle est
 administrée pendant la grossesse. Par conséquent, ce
 médicament ne doit pas être utilisé pendant la grossesse,
 à moins d'une nécessité absolue. Les femmes doivent
 éviter une grossesse si elles, ou leur partenaire, sont traités
 par doxorubicine et dans les six mois suivant la fin du
 traitement.

Allaitement :
 On ne dispose pas de données sur l'excrétion de la
 doxorubicine dans le lait maternel. Du fait que de
 nombreux médicaments, comprenant les anthracyclines,
 sont excrétés dans le lait maternel, et en raison de la
 potentialité d'effets indésirables sérieux chez l'enfant
 allaité, les femmes doivent donc interrompre l'allaitement
 avant de débiter le traitement par doxorubicine.

Surdosages :

-L'hémodialyse est inutile, la doxorubicine étant excrétée
 en majorité par voie biliaire et intestinale.

-En cas de surdosage, on doit s'attendre à ce que les effets
 secondaires soient exagérés. Il faut donc surveiller de
 façon très stricte la fonction cardiaque et effectuer
 quotidiennement des numérations formules sanguines
 pour guider d'éventuelles transfusions.

Interactions médicamenteuses/alimentaires :

Majoration des effets cardio-toxiques du cyclophosphamide
 Ne pas mélanger Rubidex® avec un autre produit,
 notamment l'héparine (risque de précipité), ou des
 solutions alcalines (entraînant l'hydrolyse de la
 doxorubicine).

La doxorubicine ne doit pas être mélangée avec le
 fluorouracile (par exemple dans la même poche de
 perfusion ou au site d'injection en Y d'une tubulure de
 perfusion IV) depuis qu'il a été rapporté que ces
 médicaments sont incompatibles car un précipité pourrait
 se former. Si une association de la doxorubicine avec le
 fluorouracile est nécessaire, il est recommandé de rincer la
 tubulure IV entre l'administration de ces deux
 médicaments.

Utilisation d'autres médicaments :

Ce médicament est contre-indiqué en association avec :
 - Le vaccin contre la fièvre jaune.

- Le médicament est déconseillé en association avec :
 - Les vaccins vivants atténués (rougeole, rubéole, oreillons,
 poliomyélite, tuberculose, varicelle).

- La phénytoïne et la fosphénytoïne (médicaments utilisés
 dans le traitement de l'épilepsie).

Autres interactions : l'association avec d'autres
 cytotaxiques de même indication peut majorer les effets
 recherchés et gênants de ce médicament.

Utilisation des véhicules/machines :

Par d'effets particuliers sur l'appétitude à conduire ou à
 utiliser des machines.

Conditionnement :

Rubidex® 10mg/5ml : Boîte de 1 flacon en verre de 5ml +
 notice
 Rubidex® 50mg/25ml : Boîte de 1 flacon en verre de 25ml
 + notice.

DE Algérie : 16 /05 G 180/ 323

Conditions de conservation :

A conserver dans le conditionnement d'origine et à une
 température entre 2°C et 8°C, à l'abri de la lumière.

Prescription : Liste I

Détenteur D.E et conditionneur secondaire :

Laboratoires Continental Pharm

Lot N°21/129, ZI En Nedjma, Oran, Algérie 31 101

Fabricant et conditionneur primaire :GENEPHARM

18th Km, Marathon Ave, 15351 Pallini, Grèce.

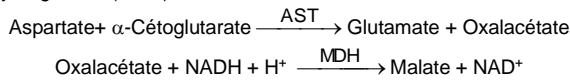
Date de révision de la notice : Septembre 2017

Détermination quantitative d'aspartate amino transférase GOT (AST) IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'aspartate amino transférase (AST), initialement appelée transaminase glutamate oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amonique de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit est réduit en malate en présence de déshydrogénées (MDH) et NADH:



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photo numériquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans l'échantillon¹.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'AST est une enzyme intracellulaire, qui se trouve en grandes quantités dans les muscles du cœur, les cellules du foie, les cellules du muscle squelettique et en plus faibles quantités dans les autres tissus.

Bien qu'un niveau élevé d'AST dans le sérum ne soit pas caractéristique d'une maladie hépatique, elle s'emploie principalement pour les diagnostics et le suivi, avec d'autres enzymes telles que l'ALT et l'ALP. Elle s'utilise également dans le cadre du contrôle post-infarctus, chez les patients souffrant de troubles musculaires du squelette et dans certains autres cas^{1, 4,5}.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en prenant en compte les données cliniques et les données de laboratoire.

REACTIFS

R 1	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
Tampon	L-aspartate	200 mmol/L
R 2	NADH	0,18 mmol/L
Substrats	Lactate déshydrogéné (LDH)	800 U/L
	Malate déshydrogéné (MDH)	600 U/L
	α -cétoglutarate	12 mmol/L

PREPARATION

Réactif de travail (RT):

Réf: 1001160 Dissoudre (→) une tablette de substrats R2 dans une dose (ampoule) R1.

Réf: 1001161 Dissoudre (→) une tablette de substrats R2 dans 15 mL de R1.

Réf: 1001162 Dissoudre (→) une tablette de substrats de R2 dans 50 mL de R1.

Refermer et mélanger doucement, jusqu'à ce que le contenu soit totalement dissout.

Stabilité: 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination.

Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Ne pas utiliser les tablettes si elles sont fragmentées.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbation du blanc à 340 nm < 1,00.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 340 nm.
- Bain thermostaté à 25°C, 30°C ó 37°C (\pm 0,1°C)
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma¹. Stabilité de l'échantillon: 7 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 340 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température 25°C/30°C/37°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée ou air.
- Pipetter dans une cuvette:

RT (mL)	1,0
Echantillon (μ L)	100
- Mélanger et incubé pendant 1 minute

- Lire l'absorbation (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbation à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorbation par minute ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULS

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de AST}$$

Unités: L'unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes qui converti 1 μ mol de substrats par minute, dans des conditions standard. La concentration est exprimée en unité/litre (U/L).

Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent se transformer à d'autres températures, en multipliant par:

Température de mesure	Facteur de conversion à		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,37	2,08
30°C	0,73	1,00	1,54
37°C	0,48	0,65	1,00

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

	25°C	30°C	37°C
Hommes	Jusqu'à 19 U/L	26 U/L	38 U/L
Femmes	Jusqu'à 16 U/L	22 U/L	31 U/L

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection 0 U/L jusqu'à la limite de linéarité 360 U/L.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité diluer 1/10 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 10.

Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	Moyenne (U/L)	SD	CV (%)	
Moyenne (U/L)	55,5	165	55,0	162
SD	1,30	3,44	0,92	2,52
CV (%)	2,35	2,07	1,68	1,55

Sensibilité analytique: 1 U/L = 0,00051 $\Delta A/\text{min}$

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r^2): 0,98277.

Equation de la Courbe de régression: $y = 0,9259x - 5,1685$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Les anticoagulants à utilisation courante tels que l'héparine, l'EDTA oxalate ou le fluorure n'ont aucune incidence sur les résultats. L'hémolyse interfère avec les résultats¹.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de l'AST^{2, 3}.

REMARQUES

SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-1116.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001160	Cont.	R1: 20 x 2 mL, R2: 20 → 2 mL
Ref: 1001161		R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL
Ref: 1001162		R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL



GPT (ALT)-LQ

GPT (ALT)

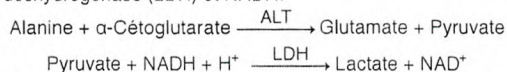
NADH. Cinétique UV. IFCC rec. liquide

Détermination quantitative d'alanine amino transférase GPT (ALT)**IVD**

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'alanine amino transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et NADH:



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon¹.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'ALT est une enzyme intracellulaire, qui se trouve principalement dans les cellules du foie et des reins.

Son meilleur avantage est le diagnostic de maladies du foie.

On l'observe en grandes quantités dans le cadre de maladies hépatiques, telles que l'hépatite, les maladies du muscles et des infarctus du cœur, étant donné que la valeur de l'ALT reste dans les limites standards et augmente dans les niveaux de AST^{1, 4, 5}.

La diagnostique clinique doit être réalisée en prenant en compte les données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1 Tampon	TRIS pH 7,8	100 mmol/L
	Lactate déshydrogénase (LDH)	1200 U/L
	L-Alanine	500 mmol/L
R 2 Substrats	NADH	0,18 mmol/L
	α-Cétoglutarate	15 mmol/L

PRÉCAUTIONS

R1: H290- Peut être corrosif pour les métaux.

Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PREPARATION

Réactif de travail (RT):

Mélanger: 1 vol. de (R2) Substrats + 4 vol. (R1) Tampon.

Stabilité: 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption du blanc à 340 nm < 1,00.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 340 nm.
- Bain thermostable à 25°C, 30°C ó 37°C (± 0,1°C).
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma¹. Stabilité de l'échantillon: 7 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 340 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 25°C / 30°C / 37°C
 - Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée ou air.
 - Pipetter dans une cuvette:
- | | |
|------------------|-----|
| RT (mL) | 1,0 |
| Échantillon (μL) | 100 |
- Mélanger et incubé pendant 1 minute.
 - Lire l'absorption (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorption à chaque minute pendant 3 minutes.
 - Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorption par minute (ΔA/min).

CALCULS

ΔA/min x 1750 = U/L d'ALT

Unités: L'unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes qui converti 1 μmol de substrats par minute, dans des conditions standard. La concentration est exprimée en unité/litre (U/L).

Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent se transformer à d'autres températures, en multipliant par:

Température de mesure	Facteur de conversion à		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,32	1,82
30°C	0,76	1,00	1,39
37°C	0,55	0,72	1,00

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE^{4, 5}

	25°C	30°C	37°C
Hommes	Jusqu'à 22 U/L	29 U/L	40 U/L
Femmes	Jusqu'à 18 U/L	22 U/L	32 U/L

Chez les nouveau-nés en bon état de santé, on a détecté des valeurs presque doublés par rapport à celle relevées chez les adultes, état donné leur maturité hépatique, ces valeurs redeviennent normales dans les trois mois.

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0 U/L, jusqu'à la limite de linéarité de 400 U/L.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/10 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 10.

Précision:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Moyenne (U/L)	42,0	116	41,1	115
SD	0,47	0,42	0,76	1,61
CV (%)	1,11	0,36	1,85	1,40

Sensibilité analytique: 1 U/L = 0,00052 ΔA/min.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r)²: 0,99597.

Equation de la Coubre de régression: y=1,1209x + 1,390.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Les anticoagulants à utilisation courante tels que l'héparine, l'EDTA oxalate ou le fluorure n'ont aucune incidence sur les résultats. L'hémolyse interfère avec les résultats¹.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de l'AST^{2, 3}.

REMARQUES

SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Murray R. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1088-1090.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. AACC 1999.
- Tietz N. W. et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

PRESENTATION

Réf: 41280		R1: 1 x 60 mL
		R2: 1 x 15 mL
Réf: 41282	Cont.	R1: 1 x 240 mL
		R2: 1 x 60 mL
Réf: 41283		R1: 1 x 480 mL
		R2: 1 x 120 mL



ملخص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو دراسة التأثير الوقائي للمستخلص المائي للنبات *Astragalus gombiformis* Pomel. ضد السمية الكبدية التي يسببها doxorubicine، بعدما تأكدنا أنه ليس له تأثير سام (DL50 أكبر من 5 غ/كغ من وزن الجسم). تعرضت الفئران من سلالة *Swiss albinos* للعلاج عن طريق الفم بواسطة المستخلص المائي (200مغ /كغ) ضد التسمم الكبدى الناتج عن الحقن داخل الصفاق بواسطة doxorubicine (15مغ/كغ). تم تقدير السمية الحادة للكبد من خلال قياس مستويات ALT ، AST قياس نشاطات انزيمات مضادات الأوكسدة GPx وقياس نشاط MDA بالإضافة للمقاطع النسيجية. وفقا للنتائج، المستخلص المائي للنبات *Astragalus gombiformis* Pomel. (E200mg/kg Pc) يمكن أن يحمي الكبد ضد سمية doxorubicine عن طريق زيادة مستوى انزيمات المضادة للأوكسدة GPx وتنشيط فوق الأوكسدة الليبيدية و هو ما يمنع إفراز transaminases وقد تم تأكيد هذه النتائج من خلال الدراسات النسيجية للكبد.

الكلمات المفتاحية : دوكتوروبيسين، سمية الكبد ، الجهد التأكسدي ، *Astragalus gombiformis* Pomel.

Résumé

L'objectif principal de cette étude est l'évaluation de l'effet préventif de la plante médicinale *Astragalus gombiformis* Pomel. sur la toxicité hépatique induite par la doxorubicine, après avoir confirmé qu'il est sans effet toxique (DL50 supérieure 5g/Kg de poids corporel). Les souris de souche *Swiss albinos* ont été soumises à un traitement oral de l'extrait aqueux (2g/kg Pc) contre l'hépatotoxicité induite par une injection intrapéritonéale unique de doxorubicine (15 mg/kg). L'hépatotoxicité a été évaluée en mesurant le taux sérique (AST et ALT), les activités des enzymes antioxydants (GPx et MDA) et des études histologiques. D'après les résultats, on constate que EAAg (200mg/kg Pc) peut protéger le foie contre la toxicité provoqué par la doxorubicine en augmentant le niveau des enzymes antioxydants GPx, et l'inhibition de la peroxydation lipidique ce qui empêche la libération des transaminases dans le sang. Ces résultats ont été confirmés par les études histologiques.

Mots clés : *Astragalus gombiformis* Pomel. , doxorubicine, hépatotoxicité, stress oxydant

Abstract

The main objective of this study was evaluating *in vivo* the preventive effect of the aqueous extract of the plant *Astragalus gombiformis* Pomel. against the hepatotoxicity induced by doxorubicin ,after confirming that it has not toxic effect (LD50 greater than 5g /Kg of body weight). *Swiss albinos* mice were subjected to oral treatment by gavages with the aqueous extract (2g / kg Pc) against hepatotoxicity induced by single intra-peritoneal injection of doxorubicine (15 mg/kg).Hepatotoxicity was assessed by measuring the level of serum (AST, ALT), the activities of antioxidant enzymes (GPx and the level of MDA) and histological study. According to the results, it appears that the aqueous extract of *Astragalus gombiformis* Pomel. (200mg/kg Pc) can protect the liver against the acute toxicity of doxorubicin by increasing the level of antioxidant enzymes GPx and the inhibition of lipid peroxidation which prevents the release of transaminases in the blood. These results have been confirmed by histological studies.

Keywords: *Astragalus gombiformis* Pomel., doxorubicine, hepatotoxicity, oxidative stress