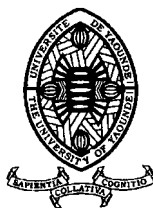


UNIVERSITE DE YAOUNDE I
THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCE



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES

DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE

LABORATORY OF ANIMAL PHYSIOLOGY

**Effets préventifs de l'extrait aqueux des graines de
Picralima nitida (Stapf) T. Durand & H. Durand
(Apocynaceae) contre la cardiomyopathie induite par la
doxorubicine chez le rat.**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie des
Organismes Animaux

Option: Physiologie Animale

Par

DJOUGUE ALEMAFACK Roussel Châtelain

Matricule : 17Y021

Licencié ès-Sciences

Président

DIMO Théophile

Professeur

Directeur

Examineur

DJIOGUE Séfirin

Maître de Conférences

**Metchi Donfack Mireille
Flaure**

Chargé de Cours



Superviseur

Ngo Lemba Tom Esther

Maître de Conférences

DEDICACE

A mes parents,

Monsieur ALEMAFACK Jean Marcel et Madame

ALEMAFACK née DONFACK SONGTIA Alida

Claurentine

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier particulièrement le Dr METCHI Mireille pour l'encadrement d'exception réalisé au cours de ce travail, ainsi que pour l'ensemble des sacrifices réalisés à mon égard.

J'exprime ma profonde gratitude au Pr NGO LEMBA TOM Esther pour avoir dirigé ce travail, pour tous les efforts consentis. Votre rigueur dans le travail et vos contributions matérielles m'ont été d'un très grand apport.

Mes sincères remerciements s'adressent également à tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales pour leur dévouement lors de mes années d'études. Il s'agit plus spécifiquement du Pr KAMTCHOUING Pierre pour le matériel mis à notre disposition au Laboratoire de Physiologie Animales ; du Pr DIMO Théophile et du Dr NKONO YA NKONO Barnabé Lucien de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé pour l'intérêt particulier qu'ils ont porté à ce travail;

Je tiens à adresser une reconnaissance particulière à mes aînés académiques, KENNE Jocelyne et NANKIA Florette pour leur présence, leur assistance sans réserve durant ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements au Dr FOUDA BEKONO Yannick pour son assistance technique, tout au long de ce travail.

Je tiens à témoigner ma reconnaissance à tous mes camarades de promotion pour leur amitié et leur soutien. Particulièrement à TCHEUDI TCHOUANKA Balthazar, ADINGA ABEGA Georges, KENMOE Mimosette.

Je remercie KAMDEM Lauriane Mégane pour son soutien moral inconditionnel et ses conseils durant ma dernière année de master en Faculté des Sciences

Je remercie mes frères, SONGTIA ALEMAFACK Marvin Anderson, LEKELEM ALEMAFACK Ronald Donovan et ALEMAFACK DONGMO Lilian Archange pour leur présence et leur soutien.

Je tiens à remercier tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à l'édification de ma personne et à la réalisation de ce travail. Particulièrement à LEUSSI TEPI Cédric qui m'a toujours motivé durant mes années de formation.

J'ai le plaisir de remercier les membres du jury pour l'honneur qu'ils m'accordent en acceptant d'évaluer ce travail.

SOMMAIRE

	Pages
DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS	ii
SOMMAIRE	iii
RESUME.....	v
ABSTRACT	vi
LISTE DES ABREVIATIONS	vii
LISTES DES FIGURES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
INTRODUCTION.....	2
CHAPITRE I. REVUE DE LITTÉRATURE	4
I.1. Anatomie et physiologie du cœur	4
I.1.1. Structure du cœur.....	4
I.1.2. Fonction cardiaque.....	5
I.2. Cardiomyopathies	9
I.2.1. Chiffres et classification	9
I.2.2. Manifestation des cardiomyopathies	9
I.2.3. Modèles animaux de cardiotoxicité	12
I.3. Doxorubicine et cardiotoxicité.....	12
I.3.1. Doxorubicine	12
I.3.2. Mécanismes de la cardiotoxicité induite par la doxorubicine.....	14
I.3.3. Prévention de la cardiotoxicité lors des traitements anticancéreux	15
I.4. <i>Picralima nitida</i>	16
I.4.1. Classification	16
I.4.2. Description.....	16
I.4.3. Ecologie et phytogéographie	17
I.4.4. Dissémination	17
I.4.5. Ethnobotanique et usages thérapeutiques	18
I.4.6. Phytochimie	18
CHAPITRE II. MATÉRIEL ET MÉTHODES	27
II.1. Matériel.....	19
II.1.1. Matériel végétal	19
II.1.2 Matériel animal.....	19
II.2. Méthodes	20

II.2.1. Préparation des différentes solutions de l'extrait	20
II.2.2. Groupage, traitement et induction de la cardiotoxicité chez les animaux	21
II.2.3. Evaluation des paramètres cardio-vasculaires	21
II.2.4. Collecte du sang	22
II.2.5. Autopsie et réalisation des homogénats	22
II.2.6 Evaluation des paramètres physiques	22
II.2.7. Evaluation de l'inflammation cardiaque.....	23
II.2.8. Evaluation de quelques marqueurs cardiaques du stress oxydant	25
II.2.9. Etude histologique	27
II.2.10. Analyses statistiques.....	29
CHAPITRE III. RÉSULTATS ET DISCUSSION	30
III.1. Résultats	30
III.1.1. Effets de l'extrait aqueux des graines de <i>P. nitida</i> sur le poids corporel, le poids relatif du cœur, du foie, des reins.....	30
III.1.2. Effets de l'extrait aqueux des graines de <i>P. nitida</i> sur l'activité électrique du cœur	31
III.1.3. Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de <i>P. nitida</i> sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque des rats.....	33
III.1.4. Effets de l'extrait aqueux des graines de <i>P. nitida</i> sur les taux sériques de quelques marqueurs de l'inflammation cardiaque.....	33
III.1.5. Effets de l'extrait aqueux des graines de <i>P. nitida</i> sur les taux tissulaires de quelques marqueurs du stress oxydant	35
III.1.6. Effets de l'extrait aqueux des graines de <i>P. nitida</i> sur les altérations cardiaques et hépatiques induites par la doxorubicine chez le rat.....	38
III.2. Discussion	40
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	42
REFERENCES.....	45

RESUME

L'utilisation des anthracyclines dans le traitement du cancer induit secondairement une cardiomyopathie. La présente étude a été réalisée dans le but d'évaluer les effets préventifs de l'extrait aqueux de *Picralima nitida* contre la cardiomyopathie induite par la doxorubicine, une anthracycline de référence.

Trente rats d'une masse comprise entre 180 et 200 g ont été répartis en 5 groupes de 6 rats chacun. Le groupe 1 a reçu par voie orale de l'eau distillée (10 ml/kg) pendant 31 jours. Les 4 autres groupes ont reçu de l'eau distillée (10 mL/kg, Groupe 2), du ramipril (10 mg/kg, Groupe 3) et l'extrait de *P. nitida* aux doses respectives de 100 et 200 mg/kg pendant 31 jours (Groupes 4 et 5). La doxorubicine a été administrée (10 mg/kg) un jour avant la fin de l'expérience c'est-à-dire au 30^{ème} jour aux animaux des groupes 2 à 5. Le jour suivant, les animaux ont été pesés puis anesthésiés. Un électrocardiogramme ainsi que la mesure de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque ont été réalisés grâce au dispositif BIOPAC Student Lab. Le cœur, le foie et les reins ont été ensuite prélevés et pesés. Les marqueurs sériques de l'inflammation cardiaque ainsi que les marqueurs du stress oxydant ont été évalués par dosage colorimétrique. L'histologie du cœur et du foie a par la suite été réalisée.

L'extrait aqueux des graines de *P. nitida* a induit une diminution significative de l'amplitude des ondes P, QRS et T ainsi que de la fréquence cardiaque comparativement au témoin négatif. L'extrait a diminué de façon significative l'activité des marqueurs cardiaques de l'inflammation (créatine kinase myocardial band et lactate déshydrogénase), de nitrites et augmenté l'activité de la super oxyde dismutase, de la catalase et du glutathion réduit. Les études histologiques ont montré chez les rats traités et au ramipril une protection du cœur contre la désorganisation des fibres musculaires, la dilatation du muscle et l'infiltration leucocytaire également observée au niveau du foie en comparaison avec le témoin négatif. Ces résultats montrent que l'extrait aqueux des graines de *P nitida* exerce des effets protecteurs contre les dommages cardiaques induits par la doxorubicine et ferait de cette plante un candidat pour la prise en charge des cardiomyopathies secondaires au traitement par les anthracyclines.

Mots clés : *Picralima nitida*, doxorubicine, cardiomyopathie, ECG, stress oxydatif.

ABSTRACT

The use of anthracyclines in cancer treatment secondarily induces cardiomyopathy. The present study was carried out to assess the preventive effects of *Picralima nitida* aqueous extract against cardiomyopathy induced by doxorubicin, a reference anthracycline.

Thirty rats weighing between 180 and 200 g were divided into 5 groups of 6 rats each. Group 1 received distilled water (10 ml/kg) orally for 31 days. The other 4 groups received distilled water (10 mL/kg, Group 2), ramipril (10 mg/kg, Group 3) and *P. nitida* extract at doses of 100 and 200 mg/kg respectively for 31 days (Groups 4 and 5). Doxorubicin (10 mg/kg) was administered one day before the end of the experiment, i.e. on day 30, to animals in groups 2 to 5. The following day, the animals were weighed and anaesthetised. An electrocardiogram and measurements of blood pressure and heart rate were taken using the BIOPAC Student Lab device. The heart, liver and kidneys were then sampled and weighed. Serum markers of cardiac inflammation and markers of oxidative stress were assessed by colorimetric assay. Histology of the heart and liver was then performed.

The aqueous extract of *P. nitida* seeds induced a significant decrease in the amplitude of P, QRS and T waves as well as heart rate compared with the negative control. The extract significantly decreased the activity of cardiac markers of inflammation (myocardial band creatine kinase and lactate dehydrogenase) and nitrites, and increased the activity of superoxide dismutase, catalase and reduced glutathione. Histological studies showed that rats treated with plant extract and ramipril protected the heart against muscle fibre disorganisation, muscle dilation and leukocyte infiltration, which was also observed in the liver compared with the negative control.

These results show that the aqueous extract of *P. nitida* seeds exerts protective effects against doxorubicin-induced cardiac damage, making this plant a candidate for the management of cardiomyopathy secondary to anthracycline treatment.

Key words: *Picralima nitida*, doxorubicin, cardiomyopathy, ECG, oxidative stress.

LISTE DES ABREVIATIONS

ASAT :	Aspartate aminotransférase
CaMKII :	Protéine kinase Ca^{2+} /Calmoduline dépendante
CICR :	“Calcium-Induce Calcium-Release”
CK-MB :	Iso enzyme MB de la créatine kinase
CMH :	Cardiomyopathie hypertrophique
CMP :	Cardiomyopathie
ECA :	Enzyme de conversion de l’angiotensine
ERA :	Espèces réactives de l’azote
ERO:	Espèces réactives de l’oxygène
LTCC:	“L-type calcium channel”
MCV:	Maladies cardiovasculaires
MDA :	Malondialdéhyde
OMS :	Organisation mondiale de la santé
PA:	Pression artérielle
PAD :	Pression artérielle diastolique
PAS :	Pression artérielle systolique
PKA:	Protéine kinase A
RL:	Radicaux libres
RS :	Réticulum sarcoplasmique
RyR:	Ryanodine
SERCA:	“Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase”
SOD :	Superoxyde dismutase

LISTES DES FIGURES

	Pages
FIGURE 1 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA COUPE FRONTALE DU CŒUR	4
FIGURE 2 : POTENTIEL D’ACTION VENTRICULAIRE	5
FIGURE 3 : ELECTROCARDIOGRAMME NORMAL MONTRANT LES CINQ ONDES ET LES INTERVALLES	6
FIGURE 4 : COUPLAGE EXCITATION-CONTRACTION.....	7
FIGURE 5 : LA REVOLUTION CARDIAQUE.....	8
FIGURE 6 : CARDIOMYOPATHIE HYPERTROPHIQUE	10
FIGURE 7 : DYSPLASIE ARYTHMOGENE DU VENTRICULE DROIT.....	10
FIGURE 8 : CARDIOMYOPATHIE DILATEE	11
FIGURE 9 : CARDIOMYOPATHIE RESTRICTIVE.....	11
FIGURE 10 : LES DIFFERENTES VOIES D’INDUCTION DU STRESS OXYDANT PAR LA DOXORUBICINE	14
FIGURE 11 : PREPARATION DE LA POUDRE DE <i>PICRALIMA NITIDA</i>	19
FIGURE 12 : PROTOCOLE DE PREPARATION DE L’EXTRAIT AQUEUX DES GRAINES DE <i>PICRALIMA NITIDA</i>	20
FIGURE 13 : SCHEMA DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL.....	21
FIGURE 14 : DISPOSITIF D’ENREGISTREMENT DE LA PRESSION ARTERIELLE, LA FREQUENCE CARDIAQUE ET L’ECG.	22
FIGURE 15 : COURBE D’ETALONNAGE DES NITRITES.	26
FIGURE 16 : EFFETS DE L’EXTRAIT AQUEUX DES GRAINES DE <i>P. NITIDA</i> SUR L’EVOLUTION PONDERALE.....	30
FIGURE 17 : TRACES ELECTROCARDIOGRAPHIQUES REPRESENTATIFS DES DIFFERENTS GROUPES	31
FIGURE 18 : EFFETS DE L’EXTRAIT DES GRAINES DE <i>PICRALIMA NITIDA</i> SUR L’AMPLITUDE DES ONDES DE L’ECG.	32
FIGURE 19 : EFFETS DE L’EXTRAIT AQUEUX DE <i>P. NITIDA</i> SUR L’ACTIVITE DE LA CK-MB.	34
FIGURE 20 : EFFETS DE L’EXTRAIT AQUEUX <i>P. NITIDA</i> SUR L’ACTIVITE DE LA LACTATE DESHYDROGENASE. ...	34
FIGURE 21 : EFFETS DE L’EXTRAIT AQUEUX DE <i>PICRALIMA NITIDA</i> SUR L’ACTIVITE DE L’ASAT.	35
FIGURE 22 : EFFETS DE L’EXTRAIT AQUEUX <i>P. NITIDA</i> SUR LA CONCENTRATION EN MDA AU NIVEAU DU COEU	35
FIGURE 23 : EFFETS DE L’EXTRAIT AQUEUX <i>PICRALIMA NITIDA</i> SUR LA CONCENTRATION DE NITRITES.	36
FIGURE 24 : EFFETS DE L’EXTRAIT AQUEUX <i>PICRALIMA NITIDA</i> SUR LA CONCENTRATION DE LA SOD	37
FIGURE 25 : EFFETS DE L’EXTRAIT DES GRAINES DE <i>PICRALIMA NITIDA</i> SUR L’ACTIVITE DE LA CATALASE	37
FIGURE 26 : PHOTOGRAPHIE DES COUPES HISTOLOGIQUES DU CŒUR	38
FIGURE 27 : PHOTOGRAPHIE DES COUPE HISTOLOGIQUES DU FOIE	39

LISTE DES TABLEAUX

	Pages
TABLEAU I : PROTOCOLE DE DOSAGE DES NITRITES.	26
TABLEAU II : PROTOCOLE D'UNE BATTERIE DE DEPARAFFINAGE	28
TABLEAU III : ÉTAPES DE LA COLORATION A L'HEMATOXYLINE ET A L'EOSINE.....	29
TABLEAU IV: EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DES GRAINES DE <i>P. NITIDA</i> SUR LES MASSES RELATIVES DU CŒUR, FOIE ET DES REINS DES DIFFERENTS GROUPES	30
TABLEAU V : EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DES GRAINES DE <i>P. NITIDA</i> SUR QUELQUES INTERVALLES ET ONDES DES DIFFERENTS ELECTROCARDIOGRAMMES	32
TABLEAU VI : EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DES GRAINES DE <i>P. NITIDA</i> SUR QUELQUES PARAMETRES HEMODYNAMIQUES DES DIFFERENTS GROUPES DE RATS	33

INTRODUCTION

Le développement exponentiel des procédés techniques et de la technologie durant la révolution industrielle au 18^e siècle a entraîné des modifications profondes des sociétés humaines. On assiste à une amélioration des conditions de vie et du travail des hommes. Les progrès en médecine ont permis le développement de traitements qui ont conduit à l'augmentation de l'espérance de vie et des maladies liées au vieillissement. Le mode de vie sédentaire, la mauvaise hygiène de vie et l'augmentation de l'espérance de vie ont contribué à l'émergence des affections dites non transmissibles telles que le diabète, l'obésité, les cancers et les maladies cardiovasculaires (MCV). Selon l'OMS, les MCV sont la principale cause de décès dans le monde et font environ 17,9 millions de morts chaque année, soit 31% de la mortalité mondiale totale (OMS, 2022). En Afrique subsaharienne les MCV étaient responsables en 2020 d'environ 13% de tous les décès et 37 % des décès résultants de maladies non transmissibles (Yuyun *et al.*, 2020). Au Cameroun selon Boombhi *et al.*, (2016) la mortalité globale des MCV était estimée à 12%. Parmi ces MCV l'on distingue l'athérosclérose, les troubles du rythme cardiaque, l'hypertension artérielle, l'infarctus du myocarde ainsi que l'insuffisance cardiaque (OMS, 2022).

L'insuffisance cardiaque (IC) peut se définir comme l'incapacité du cœur à fournir un débit sanguin suffisant pour répondre aux besoins du corps en sang oxygéné pendant une activité régulière ou à le faire uniquement avec des pressions élevées dans le cœur (Colucci & Braunwald, 1995 ; Arena *et al.*, 2007). Elle peut survenir lorsque le muscle cardiaque présente un trouble de sa contraction (insuffisance systolique) ou de sa relaxation et incapable de se détendre normalement (insuffisance diastolique). Les cardiomyopathies (CMP) sont des états qui empêchent le muscle cardiaque de pomper le sang efficacement ; sont une cause d'insuffisance cardiaque. En 2017 le nombre de cas recensé d'IC était de 64,3 millions dont 29,5 millions étaient des hommes et 34,8 millions étaient des femmes. Ces chiffres risquent d'augmenter les décennies à venir (Bragazzi *et al.*, 2021). Le traitement de l'IC et donc des CMP repose sur l'administration en fonction du stade de la maladie des médicaments tels que les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) (Captopril, Ramipril, Lisinopril) ; des bloqueurs des récepteurs de l'angiotensine II (Candésartan, Losartan, Valsartan) ; des β -bloquants (Bisoprolol, Carvédilol), des antagonistes de l'aldostérone (Spironolactone, Eplérénone) et des diurétiques (Girardin & Perchère-Bertschi, 2005). L'origine des CMP est multifactorielle. Elles peuvent être secondaires à l'administration des anthracyclines utilisées dans le traitement des cancers : c'est le cas de la doxorubicine.

La doxorubicine (ou adriamycine) est un antibiotique anticancéreux de la famille des anthracyclines. Découverte en 1950, les essais cliniques ont débuté une dizaine d'années plus tard et le médicament a connu un succès en chimiothérapie (Chahine, 2014). Toutefois, la doxorubicine induit secondairement une cardiomyopathie dilatée (Willis *et al.*, 2019) avec une incidence d'environ 11% lors d'une administration aiguë. L'incidence d'une administration chronique (30 jours d'administration environ) dépend principalement de la dose. Elle est de 4% pour une dose de 500-550 mg/m² ; 18% pour une dose de 551-600 mg/m² et de 36% pour une dose supérieure à 600 mg/m² (Chatterjee *et al.*, 2010). Les mécanismes thérapeutiques de la doxorubicine sur les cellules tumorales sont différents de ceux de sa cardiotoxicité. Parmi ces mécanismes anticancéreux figurent l'intercalation dans l'ADN conduisant à l'inhibition de la synthèse des macromolécules, l'induction de l'apoptose par inhibition de la topoisomérase II (Minotti *et al.*, 2004 ; Chatterjee *et al.*, 2010) ; tandis que les principaux mécanismes proposés de la cardiotoxicité de la doxorubicine sont l'augmentation du stress oxydant (SO) avec peroxydation lipidique, la diminution des niveaux d'antioxydants et de groupes sulfhydriles et la libération des facteurs vasoactifs (Singal *et al.*, 1985 ; Minotti *et al.*, 2004 ; Takemura *et al.*, 2007). A l'heure actuelle l'utilisation d'analogues de la doxorubicine, de méthodes alternatives d'administration, la perfusion lente continue et la limitation de la dose cumulative à 450 mg/m² sont utilisés pour prévenir ou réduire la cardiotoxicité de la doxorubicine (Swain *et al.*, 2003 ; Takemura *et al.*, 2007). Les agents pharmacologiques qui ont été testés pour réduire la cardiotoxicité de la doxorubicine et dont les résultats ont été concluants ont des propriétés antioxydantes. C'est le cas de la dexrazoxane ou de la mercaptopropionylglycine (Singal & Illiskovic, 1998 ; El-Missiry *et al.*, 2001). Par ailleurs, la phytothérapie constituant une source potentielle de substances bioactives, plusieurs plantes se sont révélées bénéfiques contre les dommages cardiaques induits par la doxorubicine (Singh *et al.*, 2012 ; Komolafe *et al.*, 2013 ; Nasser *et al.*, 2016). *Picralima nitida* est une plante de la famille des Apocynaceae originaire d'Afrique de l'Ouest. Elle est utilisée en médecine traditionnelle africaine pour le traitement de nombreuses maladies comme la typhoïde, les douleurs musculaires (Ubulom *et al.*, 2011), le paludisme, les troubles gastros intestinaux, la fièvre et la jaunisse (Kouitchou *et al.*, 2008). *Picralima nitida* a fait l'objet d'études précédentes avec comme résultats des effets cardioprotecteurs contre les dommages cardiovasculaires induits chez les rats insulino-résistants et des effets anti-hyperglycémiques et anti-hypercholestérolémiques (Mawout *et al.*, 2020). D'autres études ont montré ses propriétés antioxydantes et antiinflammatoires (Akinwunmi & Amadi, 2018). L'hypothèse principale du travail est que l'extrait aqueux des graines de *Picralima*

nitida pourrait de par ses propriétés antioxydantes, cardioprotectrices et hypocholestérolémiantes réduire les effets du stress oxydant qui provoquent des dommages myocardiques suite à l'administration de la doxorubicine. L'extrait aqueux des graines de *Picralima nitida* peut-il être utilisé pour prévenir la cardiomyopathie induite par la doxorubicine ? Ainsi l'objectif principal de cette étude a été d'évaluer les effets préventifs de l'extrait aqueux des graines de *Picralima nitida* contre la cardiomyopathie induite par la doxorubicine chez le rat. Pour atteindre cet objectif il a été question plus spécifiquement :

- de déterminer les effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur les paramètres physiques tels que l'évolution pondérale et la masse relative de certains organes internes;
- de mesurer les effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur les paramètres hémodynamiques (la fréquence cardiaque, la pression artérielle) et l'électrocardiogramme (ECG);
- d'évaluer les effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur les marqueurs biochimiques de l'inflammation cardiaque et du stress oxydant;
- d'évaluer les effets de l'extrait aqueux de *P. nitida* sur l'architecture du tissu cardiaque des rats traités à la doxorubicine.

CHAPITRE I. REVUE DE LITTÉRATURE

I.1. Anatomie et physiologie du cœur

I.1.1. Structure du cœur

Le cœur est un organe qui pompe le sang à travers le réseau de vaisseaux sanguins. Il est logé à l'intérieur du médiastin (Lacour, 2016). Il est constitué d'une paroi comportant de l'extérieur vers l'intérieur trois couches tissulaires à savoir :

- le péricarde constitué d'un sac externe fibreux et d'un sac interne composé d'une double couche de membrane séreuse ;
- le myocarde, tissu musculaire strié constitué principalement de cardiomyocytes ;
- l'endocarde, membrane fine et lisse qui recouvre la face interne du myocarde et des valves cardiaques permettant au flux sanguin de s'écouler facilement à l'intérieur du cœur (Tortora, 2017).

Le cœur est divisé en deux parties : le cœur droit et le cœur gauche séparés par le septum cardiaque. Chaque partie comprend une oreillette et un ventricule. Ces deux compartiments sont séparés entre eux et entre le réseau artériel par des valves qui permettent une circulation du sang dans un seul sens. Ce sont les valves tricuspide, pulmonaire, mitrale et aortique. Ainsi, la valve tricuspide empêche le reflux de sang depuis le ventricule droit vers l'oreillette droite. La valve pulmonaire depuis l'artère pulmonaire vers le ventricule droit, la valve mitrale depuis le ventricule gauche vers l'oreillette gauche et la valve aortique depuis l'aorte vers le ventricule gauche (Figure 1) (Marieb, 2019).

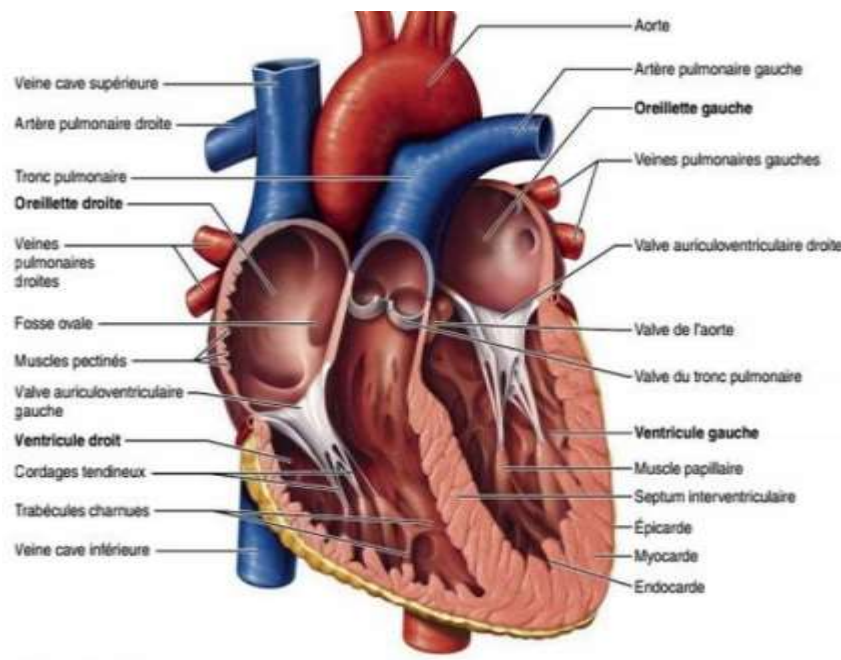


Figure 1 : Représentation schématique de la coupe frontale du cœur (Marieb, 2019).

I.1.2. Fonction cardiaque

I.1.2.1. Activités électriques

Le cœur possède la propriété d'autorhythmicité permettant la coordination de la contraction des cardiomyocytes et donc le maintien du cycle cardiaque. Tous les cardiomyocytes sont excitables ; en revanche, seules les cellules cardionectrices ont la capacité de s'auto-dépolariser. Parmi ces cellules, celles du nœud sinusal ont une fréquence de génération des PA plus élevée permettant ainsi d'imposer leur rythme à l'ensemble du cœur (Marieb, 2019). Ainsi, la dépolarisation membranaire générée par le nœud sinusal est transmise aux cellules auriculaires qui se contractent par le biais du couplage excitation-contraction. Ces impulsions électriques vont ensuite se propager de façon retardée au niveau du nœud auriculo-ventriculaire puis sont conduites au niveau des cellules ventriculaires par le biais du faisceau de His et des fibres de Purkinje (Sherwood, 2014). Cette stimulation électrique va entraîner la naissance d'un potentiel d'action au niveau des myocytes ventriculaires et induire une contraction (Figure 2).

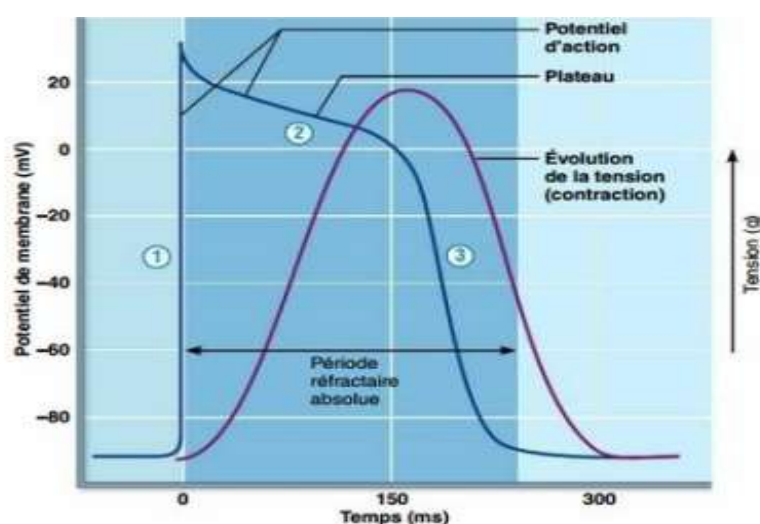


Figure 2 : Potentiel d'action ventriculaire (Marieb, 2019).

L'activation des cardiomyocytes par l'arrivée de l'influx électrique entraîne l'ouverture immédiate des canaux Na^+ rapides voltage-dépendants d'où la dépolarisation (phase 1). La dépolarisation brutale de la cellule entraîne aussi l'ouverture des canaux K^+ à activité précoce, transitoire, qui n'existe qu'en tout début de plateau. En se déplaçant le long du sarcomère et dans les tubules T, le potentiel d'action ouvre des canaux Ca^{2+} lents voltage-dépendants, sensibles à la dihydropyridine permettant une entrée passive d'ions Ca^{2+} dans le cytosol d'où le plateau observé (phase 2). Ces derniers vont progressivement se fermer ; les canaux K^+ voltage-dépendants vont s'ouvrir et entraîner la repolarisation du myocyte (phase 3) (Figure2) (Lacour, 2016).

Les courants électriques engendrés et propagés dans le cœur se transmettent facilement dans les liquides (eau et ions) de l'organisme et peuvent être enregistrés au moyen d'un instrument appelé électrocardiographe. Le tracé obtenu est appelé électrocardiogramme (ECG). Un ECG typique est composé de cinq ondes (Figure 3) :

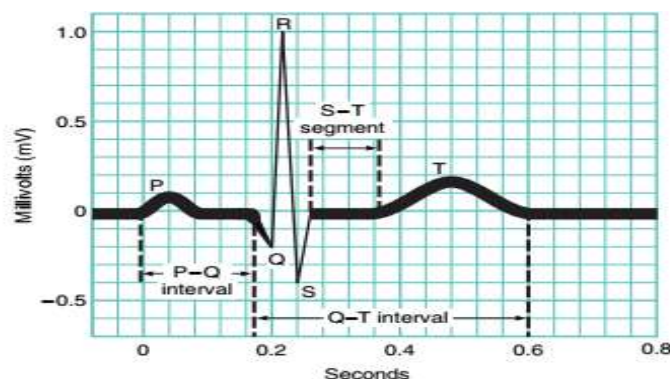


Figure 3 : Electrocardiogramme normal montrant les cinq ondes et les intervalles (Tortora & Grabowski, 1994).

- La première, l'onde P, est de faible amplitude et dure environ 0,08 s. Elle résulte de la dépolarisation des oreillettes engendrée par le nœud sinusal. Environ 0,1 s après le début de l'onde P, les oreillettes se contractent (Lorenzi *et al.*, 2009). Une augmentation de son amplitude traduit une dilatation ou une hypertrophie des oreillettes (Tortora, 2017 ; Johner *et al.*, 2018)
- Le complexe QRS est formé des ondes Q, R et S. Il est lié à la dépolarisation ventriculaire et précède la contraction des ventricules. Il dure en moyenne 0,08 s (Lorenzi *et al.*, 2009). L'élargissement de l'onde Q peut indiquer un infarctus du myocarde et un élargissement de l'onde R indique généralement un élargissement des ventricules (Tortora, 2017).
- L'onde T est causée par la repolarisation ventriculaire et dure généralement 0,16 s. Une diminution de l'amplitude de l'onde T par rapport à la normale s'observe lorsque le myocarde reçoit moins d'oxygène comme dans les cas de coronopathies (Tortora, 2017).

L'analyse d'un ECG implique également la mesure des intervalles de temps entre les ondes, appelés intervalles ou segments.

- L'intervalle P-Q est le temps nécessaire pour parcourir à travers les oreillettes, le nœud auriculo-ventriculaire et les autres fibres du système de conduction. Lorsque le potentiel d'action est obligé de contourner le tissu cicatriciel causé par des troubles tels que les maladies coronariennes et le rhumatisme articulaire aigu, l'intervalle P-Q s'allonge.
- L'intervalle S-T va de la fin de l'onde S au début de l'onde T et représente le temps de dépolarisation des myocytes ventriculaires pendant la phase de plateau. Un sus décalage du

segment S-T peut être observé en cas d'infarctus aigu du myocarde et sous décalage survient lors d'une ischémie

- L'intervalle Q-T s'étend depuis le début du complexe QRS jusqu'à la fin de l'onde T. Il matérialise le temps entre le début de la dépolarisation ventriculaire jusqu'à la fin de la repolarisation. Ce segment peut être allongé en cas de dommages myocardiques, d'une ischémie cardiaque ou de défauts de conductions (Tortora, 2017)

I.1.2.2. Couplage excitation-contraction

L'évènement déclenchant la contraction musculaire est l'augmentation de Ca^{2+} intracellulaire. Le couplage excitation-contraction est l'ensemble des mécanismes permettant cette augmentation. En effet, la membrane plasmique des cardiomyocytes ou sarcolemme est constituée de longues invaginations appelées tubules T (transverses). Le point de contact entre un tubule T et une citerne du réticulum sarcoplasmique (RS) constitue une diade et permet la conversion du potentiel d'action en réponse mécanique par le biais d'un médiateur chimique : le calcium. En effet, à chaque battement, la dépolarisation de la membrane des cardiomyocytes pendant le potentiel d'action permet l'activation des canaux calciques de type L (LTCC). L'entrée du calcium par les LTCC et donc l'élévation locale du calcium induit l'activation des récepteurs à la ryanodine (RyR) entraînant une sortie massive de calcium du réticulum sarcoplasmique (RS) dans un mécanisme appelé "calcium induced-calcium release" (CICR) (Figure 4). Le calcium libéré du RS permet l'activation de la contraction des myofibrilles (Bers, 2002).

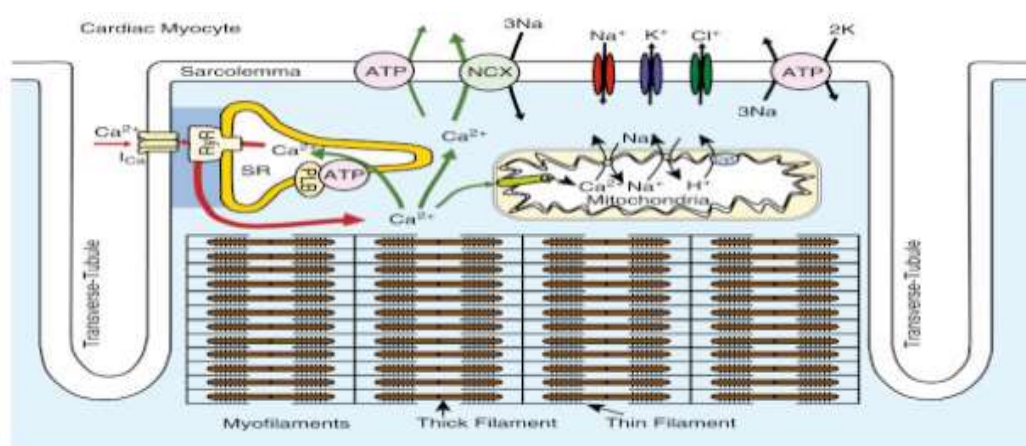


Figure 4 : Couplage excitation-contraction (Bers, 2002)

I.1.2.3. Mécanisme de contraction

Le calcium libéré du RS permet l'augmentation de la concentration intracellulaire en calcium. Le calcium se fixe alors à la troponine C et entraîne un changement de conformation des complexes tropomyosine-troponine permettant l'interaction des filaments d'actine avec ceux

de myosine. Le raccourcissement des sarcomères qui en résulte est responsable de la contraction cardiaque (Marieb, 2019).

I.1.2.4. Mécanisme de relaxation

Pour permettre la relaxation cardiaque, la concentration de calcium cytosolique doit diminuer rapidement. Le calcium est ainsi libéré par la troponine C et expulsé du cytosol pour le RS par la Ca^{2+} ATPase (SERCA). Ce phénomène est accéléré par la phosphorylation du phospholamban (PLB) par la protéine kinase A (PKA) ou la protéine kinase Ca^{2+} /Calmoduline dépendante (CaMKII), qui lève l'inhibition qu'il exerce sur la SERCA. Environ 70 à 80 % du calcium est ainsi recapté dans le réticulum sarcoplasmique. Le calcium restant (20 à 30 %) est expulsé de la cellule par l'échangeur sodium/calcium (NCX) présent au niveau de la membrane plasmique (Li *et al.*, 2000).

I.1.2.5. Révolution cardiaque

L'activité électrique périodique sus-décrite engendre l'activité mécanique du cœur dominée par la contraction ou systole et la relaxation ou diastole. Il se résume en plusieurs phases comme suit (Figure 5) :

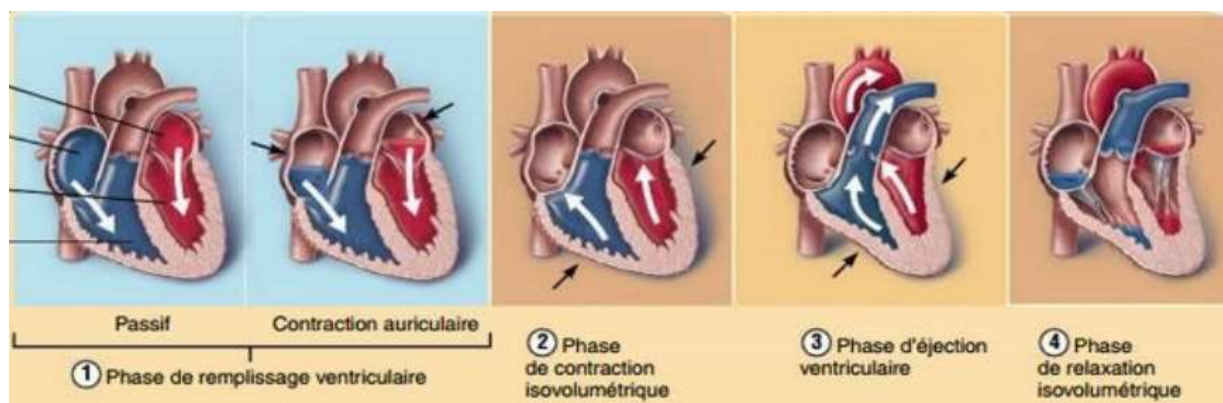


Figure 5 : La révolution cardiaque (Marieb, 2019).

- **la phase de relaxation** : Suite à l'éjection, la pression à l'intérieur des ventricules devient rapidement inférieure à la pression dans les artères (aortique et pulmonaire). À cet instant, le sang reflue et provoque la fermeture des valves sigmoïdes responsable d'un bruit sec « tac ». Après la fermeture de ces valves, on a un bref intervalle de temps pendant lequel les quatre valves se retrouvent fermées simultanément : c'est la relaxation isovolumétrique. Ainsi, la pression ventriculaire continue à diminuer et il arrive un moment où elle devient inférieure à la pression atriale. À ce moment, les valves auriculo-ventriculaires s'ouvrent permettant le remplissage ventriculaire (Lacour, 2016).

- **le remplissage ventriculaire** : Suite à l'ouverture des valves auriculo-ventriculaires, le sang descend dans les ventricules permettant un remplissage d'environ 80%. La systole auriculaire va permettre le remplissage des 20% restant (Marieb, 2019).
- **la contraction isovolumétrique** : L'onde de dépolarisation entraîne une contraction ventriculaire. L'augmentation de pression entraîne la fermeture des valves auriculo-ventriculaires responsable d'un bruit « Toum ». À ce moment précis, les quatre valves sont fermées, car la pression dans le ventricule reste pour l'instant inférieure à la pression dans l'aorte. C'est la contraction isovolumétrique.
- **l'éjection ventriculaire** : L'augmentation de la pression ventriculaire entraîne l'ouverture des valves sigmoïdes permettant ainsi la sortie du sang vers les artères et le cycle recommence.

I.2. Cardiomyopathies

La société Européenne de cardiologie définit les cardiomyopathies comme un groupe hétérogène de pathologies caractérisées par des altérations structurelles (fibrose, adipeuse) et fonctionnelles (canalopathies ioniques, altérations métaboliques) du cœur (Ciarambino *et al.*, 2021), excluant l'hypertension, les valvulopathies et les maladies cardiaques congénitales (William *et al.*, 2017).

I.2.1. Chiffres et classification

Selon la société Européenne de cardiologie, il existe 5 classes de cardiomyopathies. Il s'agit des cardiomyopathies hypertrophiques, dilatées, arythmogènes ventriculaires, relaxées et celles non-classées. Elles ont ensuite été sous-classées en deux catégories, familiale et non familiale (William *et al.*, 2017). Les cardiomyopathies familiales sont caractérisées par l'apparition chez plus d'un membre de la famille ou d'un phénotype qui pourrait être causé par la même mutation génétique. La cardiomyopathie génétique sporadique est définie lorsque la mutation apparaît pour la première fois. Les cardiomyopathies non-familiales sont caractérisées par l'absence d'antécédents familiaux pertinents (Salemi *et al.*, 2021).

I.2.2. Manifestation des cardiomyopathies

I.2.2.1. Cardiomyopathie hypertrophique

La cardiomyopathie hypertrophique (CMH) est la cardiomyopathie primaire la plus répandue (1/500 personnes) (Argulian *et al.*, 2016). Elle se caractérise par une hypertrophie ventriculaire gauche non accompagnée d'une dilatation de la cavité ventriculaire, ainsi qu'une diminution de l'épaisseur du septum interventriculaire (Figure 6). Ces modifications structurales peuvent entraîner une dysfonction de la valvule mitrale ou une obstruction de l'orifice aortique.

Cette pathologie est causée par des mutations autosomales dominantes des gènes codants pour les protéines sarcomériques. (William *et al.*, 2017).



Figure 6 : Cardiomyopathie hypertrophique (William *et al.*, 2017).

A : Schéma d'une vue longitudinale du cœur montrant une hypertrophie asymétrique sub-aortique ; B : coupe longitudinale d'un cœur hypertrophique ; C : Coupe histologique du myocarde montrant la disposition anarchique des fibres musculaires

La CMH est asymptomatique chez la plupart des patients. Celle-ci est diagnostiquée par analyse des antécédents familiaux, par auscultation et par analyse de l'électrocardiogramme. Toutefois la CMH peut se manifester par des douleurs de poitrine ainsi que des crises cardiaques (Maron *et al.*, 2006).

1.2.2.2. Dysplasie arythmogène du ventricule droit

La dysplasie ventriculaire droite arythmogène (DVDA) est une cardiomyopathie héréditaire caractérisée par un remplacement progressif des myocytes par les adipocytes et de la fibrose, prédominant en sous-épicaire et peut être associé à des infiltrats inflammatoires cardiolymphocytaires (Figure 7). Elle touche rarement le ventricule gauche mais avant tout le ventricule droit au niveau du triangle de dysplasie situé entre la partie antérieure de l'infundibulum pulmonaire, l'apex et la paroi inféro-postérieure. La prévalence de la DVDA est estimée entre 1/2000 et 1/5000. La maladie se manifeste plus fréquemment chez les hommes que chez les femmes (ratio 3/1) (Gandjbakhch *et al.*, 2018).

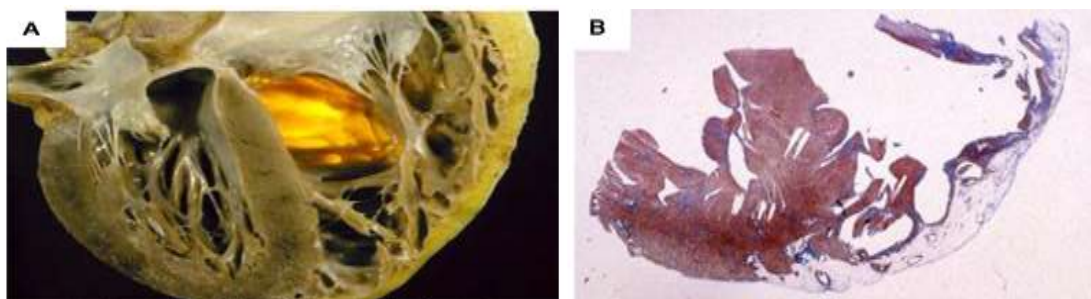


Figure 7 : Dysplasie arythmogène du ventricule droit (William *et al.*, 2017).

A : Section longitudinale d'un cœur montrant le myocarde translucide résultant du remplacement par les adipocytes des cellules myocardiques ; B : Coupe histologique d'un cœur montrant la présence des adipocytes et du tissu fibreux

I.2.2.3. Cardiomyopathie dilatée

La cardiomyopathie dilatée (CMD) est caractérisée par un élargissement de la cavité ventriculaire, une diminution de l'épaisseur de la paroi ventriculaire gauche (Figure 8) et une dysfonction systolique. La CMD a une prévalence de 1/2500 avec 25 à 30% de cas héréditaire se transmettant de façon autosomale dominante (Luk *et al.*, 2009).



Figure 8 : Cardiomyopathie dilatée (William *et al.*, 2017).

A : Schéma d'une vue longitudinale du cœur en absence de valvulopathie, en bleu le ventricule gauche normal et en rouge le ventricule gauche dilaté ; B : Coupe longitudinale du cœur montrant le ventricule dilaté ; C : Coupe histologique montrant la myocytolyse

I.2.2.4. Cardiomyopathie restrictive

Les cardiomyopathies restrictives (CMR) sont les plus rares des cardiomyopathies et représentent 2 à 5% des cas (Kushwaha *et al.*, 1997). Elles sont caractérisées par un profil de remplissage restrictif et une réduction du volume diastolique des deux ventricules, avec une épaisseur pariétale et une fonction systolique à peu près conservée (Figure 9). Une augmentation de la fibrose interstitielle peut-être présente. La CMR est parfois familiale ou associée à une autre maladie (amylose, pathologie endomyocardique avec ou sans hyperéosinophilie) (Langlard, 2010).

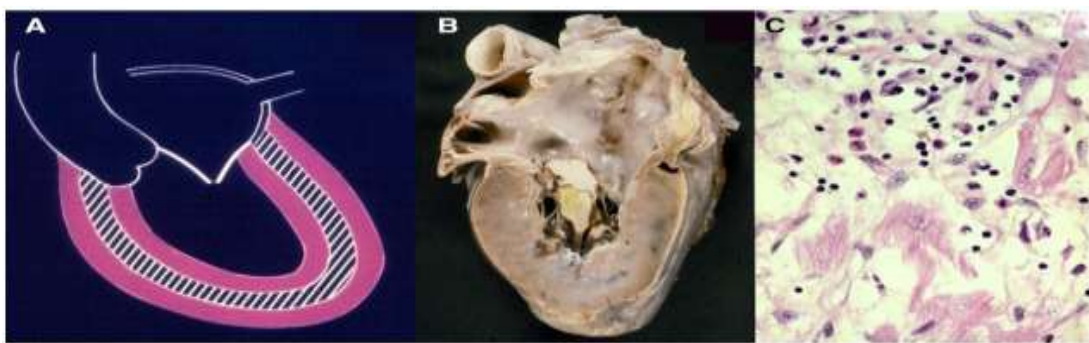


Figure 9 : Cardiomyopathie restrictive (William *et al.*, 2017).

A : Schéma d'un cœur, en bleu hachuré de blanc le ventricule normal et en rouge le ventricule anormal ; B : Coupe longitudinale d'un cœur montrant l'oblitération de la cavité ventriculaire par le tissu fibreux ; C : Coupe histologique du tissu sub-endocardique montrant une inflammation

Les cardiomyopathies peuvent également être d'origine iatrogène : c'est le cas du traitement par la doxorubicine.

I.2.3. Modèles animaux de cardiotoxicité

D'une manière générale les traitements anticancéreux induisent à des concentrations élevées (cardiotoxicité aiguë) ou sur une longue période (cardiotoxicité chronique) des atteintes cardiaques (Schlitt *et al.*, 2014). Ils sont par conséquent utilisés en laboratoire comme modèles expérimentaux chez les rongeurs. C'est le cas :

- des anthracyclines comme la doxorubicine (Singh *et al.*, 2012 ; El-Sayed *et al.*, 2013) ;
- des antimétabolites comme la 5-fluorouracile utilisées dans de nombreuses études (Hala, 2012 ; Sengul *et al.*, 2021) ;
- des agents alkylants comme la cyclophosphamide et l'ifosfamide (Heba *et al.*, 2015 ; Clelia *et al.*, 2016) ;
- des taxanes (Pellegrini *et al.*, 2020) ;

I.3. Doxorubicine et cardiotoxicité

I.3.1. Doxorubicine

La doxorubicine (ou adriamycine) est un médicament antibiotique anticancéreux de la famille des anthracyclines. Il est connu pour son succès dans le traitement des leucémies aiguës et des lymphomes, cependant il présente une toxicité cardiaque fatale (Chahine, 2014).

I.3.1.1. Pharmacocinétique

Les anthracyclines sont administrées par voie intraveineuse afin d'atteindre rapidement la tumeur sans être trop dégradées, et en injection rapide, pour éviter une extravasation à côté de la veine qui endommagerait les tissus (Chahine, 2014). La doxorubicine ainsi administrée quitte rapidement le plasma pour se concentrer dans les organes tels que le foie, la rate, les reins, les poumons et le cœur sans toutefois traverser la barrière hématoencéphalique. L'excrétion du médicament est lente et s'effectue surtout par l'intermédiaire du foie. (Pfizer, 2019).

La doxorubicine est métabolisée principalement dans le foie et est convertie en adriamycinol ainsi qu'en plusieurs dérivés aglycones ; environ la moitié de la dose de doxorubicine est excrétée dans la bile sous forme inchangée, tandis que 30 % de la dose l'est sous forme conjuguée. Environ 10 à 15% de la dose administrée est éliminée dans les urines sous forme inchangée et sous sa forme convertie en adriamycinol ; entraînant une coloration rouge de l'urine quelques jours après le début du traitement (Hortobágyi, 1997 ; Tannock *et al.*, 2004 ; Pfizer 2019).

I.3.1.2. Mécanismes d'action des anthracyclines

La toxicité des anthracyclines en général se fait suivant plusieurs mécanismes :

➤ Intercalation dans la molécule d'ADN : les anthracyclines se lient de façon covalente aux doubles-brins de l'ADN et forment un complexe ADN-anthracycline. Ces liaisons se font principalement sur les résidus guanine de l'ADN et sont réversibles. En s'intercalant dans l'ADN, les anthracyclines inhibent la réplication, la transcription et donc la synthèse protéique (Szulawska *et al.*, 2006).

➤ Inhibition de l'enzyme topoisomérase II : La topoisomérase est une enzyme nucléaire qui permet de supprimer les superenroulements de l'ADN qui se mettent en place lors de son déploiement (Bruce, 2019). Les topoisomérases II induisent des cassures doubles brins transitoires de l'ADN afin de permettre à un segment de l'ADN de passer à travers un autre et ensuite ressouder les segments coupés. Les anthracyclines en s'insérant dans l'ADN stabilisent le complexe transitoire de clivage ADN-enzyme et empêchent la resoudure des brins par les topoisomérases II (Szulawska *et al.*, 2006).

➤ Inhibition de la synthèse d'ADN : La doxorubicine active l'apoptose par activation indirecte du gène Bax (médiateur pro-apoptotique) et par une inhibition du gène Bcl-xL (médiateur anti-apoptotique). Ceci entraîne une inhibition de la synthèse d'ADN (Minotti *et al.*, 2004).

➤ Interaction avec les membranes plasmiques : la doxorubicine et les anthracyclines en général ont une très forte affinité pour les membranes lipidiques à travers lesquelles elles diffusent passivement. Elles s'associent directement avec les phospholipides par interactions ioniques. La présence d'anthracyclines au sein de la bicouche lipidique peut altérer la structure et la fonction membranaire en modifiant les interactions lipides-lipides et lipides-protéines, notamment les protéines membranaires impliquées dans les voies de signalisation cellulaires (Lubgan *et al.*, 2006).

➤ Formation de radicaux libres : la réduction enzymatique de l'anneau anthracycline produit un radical libre semiquinone qui à son tour conduit à la production d'un radical libre hydroxyle ; de plus, la conjugaison de la partie hydroquinone de la molécule d'anthracycline avec le fer ferrique intracellulaire peut conduire à la production non-enzymatique de radicaux libres (Donatiello, 2002).

I.3.1.3. Indications thérapeutiques de la doxorubicine

Le schéma d'administration de la doxorubicine est modulé par la dose, selon la toxicité cardiaque potentielle. Généralement les anthracyclines sont utilisées en association ou en relais avec d'autres agents chimiothérapeutiques comme par exemple, le 5-fluorouracile, le cyclophosphamide, le paclitaxel ou la vincristine. La posologie moyenne est de 40 à 75 mg/m²

toutes les 3 à 4 semaines. Les cycles sont répétés jusqu'à une dose totale maximale de 550 mg/m². On administre la dose de doxorubicine en 3 à 5 min dans la tubulure d'une perfusion intraveineuse de solution de chlorure de sodium isotonique ou de solution de glucose à 5% en une ou deux fois au cours de la journée (Chahine, 2014).

I.3.2. Mécanismes de la cardiotoxicité induite par la doxorubicine

I.3.2.1. Induction du stress oxydatif

L'hypothèse du développement d'un stress oxydatif induit par les anthracyclines est communément admise. L'augmentation de la production des radicaux libres (RL) et la diminution des systèmes de défenses anti-oxydants seraient à l'origine des atteintes irréversibles observées au niveau des cellules cardiaques (Susana *et al.*, 1990 ; Dalloz *et al.*, 1999). Lors de sa métabolisation la doxorubicine produit des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERA) (Kim *et al.*, 2006). Ces molécules chargées négativement sont très instables et responsables de l'oxydation des lipides polyinsaturés, avec désorganisation membranaire et dysfonctionnement de la respiration mitochondriale. Les cellules myocardiques sont particulièrement sensibles aux RL car elles sont pauvres en anti-oxydants comme la catalase et la superoxyde dismutase (Olson & Mushlin, 1990). Ces espèces radicalaires sont créés par deux mécanismes différents :

- La réduction par les flavine-réductases placées au niveau de la membrane mitochondriale avec transformation de l'anthracycline en dérivé semi-quinone puis hydroquinone en cédant des électrons. (Figure 10).
- La production des ROS via la formation des complexes anthracyclines-Fe (ANT-Fe). (Martin *et al.*, 2013).

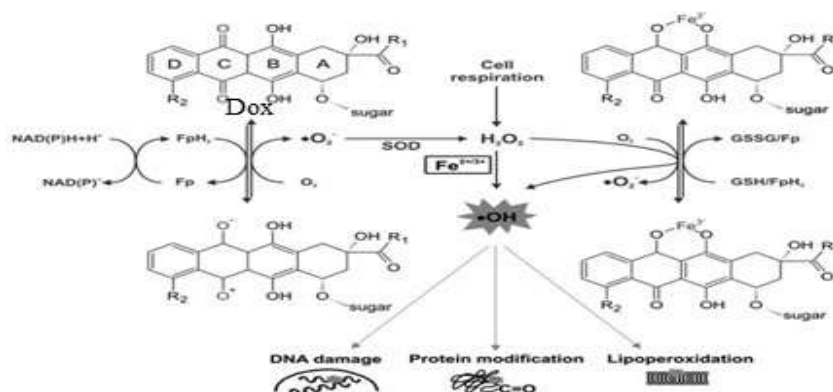


Figure 10 : Les différentes voies d'induction du stress oxydant par la doxorubicine (Martin *et al.*, 2013).

Fe : Fer, **Fp**: Flavoprotéine, **GSH** : Glutathion réduit, **GSSG** : Glutathion oxydé, **H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène, **NAD(P)** : Nicotine-amine adénine dinucléotide (Phosphate), **O₂⁻**: Anion superoxyde, **OH•** : Radical hydroxyle, **SOD** : Superoxyde dismutase. **Dox** : Doxorubicine.

I.3.2.2. Altérations des mitochondries et du métabolisme énergétique

Les mitochondries, qui représentent 40% du volume du cardiomyocyte, sont la source la plus importante de ROS en conditions physiopathologiques (Murphy, 2009). Elles sont donc une des cibles de la doxorubicine. En effet, la doxorubicine possède une forte affinité pour la cardiolipine, un phospholipide de la membrane interne mitochondriale (Arial & Rao, 2016). La doxorubicine est donc fortement concentrée dans la mitochondrie et plus particulièrement au niveau des protéines associées à la cardiolipine dont la NADH déshydrogénase, complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale. Les complexes III et IV de la chaîne respiratoire mitochondriale sont également altérés par la doxorubicine ce qui conduit à la réduction du gradient électrochimique de protons et donc à une diminution de la synthèse d'ATP par l'ATP synthase (Güven *et al.*, 2018).

I.3.3. Prévention de la cardiotoxicité lors des traitements anticancéreux

Les stratégies de prévention de la cardiomyopathie lors des traitements anticancéreux repose sur une prévention primaire et une prévention secondaire (HAS, 2021).

I.3.3.1. Prévention primaire

La prévention primaire se fait avant et pendant le traitement anticancéreux et consiste :

- au respect des règles hygiéno-diététiques permettant d'éliminer les facteurs favorisant la décompensation cardiaque (Delemasure *et al.*, 2006) ;
- l'administration de médicaments tels que la dexrazoxane dont l'effet préventif a été montré (Chatterjee *et al.*, 2010).

I.3.3.2. Prévention secondaire

Elle consiste en l'administration :

- d'un traitement diurétique indispensable en présence de signes congestifs ;
- d'un vasodilatateur : inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II, afin de diminuer la postcharge et d'améliorer le débit cardiaque ; antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II, en cas d'intolérance aux IEC, et dérivés nitrés afin de diminuer la précharge et soulager la dyspnée ;
- de β -bloquants, jusqu'alors déconseillés et même contre-indiqués dans l'IC, sont devenus la seconde thérapeutique recommandée à tous les stades, même les plus sévères, en raison de leur efficacité sur la morbi-mortalité (Delemasure *et al.*, 2006).

I.3.3.3. Phytothérapie et cardiotoxicité

Dans le but d'améliorer la prise en charge des cardiomyopathies secondaires aux traitements par la doxorubicine, plusieurs recherches ont été faites sur les plantes médicinales. Ainsi, des plantes telles que *Lagenaria siceraria* (Singh *et al.*, 2012) *Parkia biglobosa* (Komolafe *et al.*, 2013) et *Vitis vinifera* (Nasser *et al.*, 2016) se sont révélées efficaces dans la prévention de la cardiotoxicité induite par la doxorubicine.

Picralima nitida a fait l'objet d'études préliminaires antérieures démontrant des propriétés cardioprotectrices contre les dommages cardiovasculaires induites par la dexaméthasone, hypoglycémiantes et anti-hypercholestérolémiantes (Mawout *et al.*, 2020).

I.4. *Picralima nitida*

I.4.1. Classification

Picralima nitida occupe la place suivante dans le règne végétal selon la classification de l'APG IV (Angiosperm Phylogeny Group, 2016) :

Règne : Plantae

Sous-règne : Viridiplantae

Infra-règne : Streptophyta

Super-division : Embryophyta

Division : Tracheophyta

Sous-division : Spermatophytes

Ordre : Gentianales

Famille : Apocynaceae

Sous-famille : Rauvolfioideae

Tribu : Hunterieae

Genre : *Picralima*

Espèce : *Picralima nitida*

I.4.2. Description

En fonction du pays et des localités *Picralima nitida* possède plusieurs dénominations. Il est connu sous le nom de « Ekere » en République démocratique du Congo, « Akuamma plant » au Nigeria (Nkere & Iroegbu, 2005). Au Cameroun *Picralima nitida* possède plusieurs noms locaux. Il est appelé « eban » en langue boulou dans la région du Sud ; « eban » en langue ewondo dans la région du Centre; « matokoto » en langue Baka dans la région de l'Est (Chauvet, 2015) ; et « kinkéliba » en langue bamiléké dans la région de l'Ouest (Kouitchou *et al.*, 2008).

Picralima nitida est un arbre atteignant 15 mètres de haut contenant du latex blanc dans toutes ses parties. Le diamètre du tronc peut atteindre 60 cm, son écorce est dure et fragile, de teinte noire grisâtre ou brune, pale ou foncée. Les feuilles sont opposées simples et entières avec un limbe elliptique à oblong. Les fleurs sont de couleurs blanches à jaunes s'organisant en inflorescence de type cyme ombelliforme. Son fruit est constitué de 2 follicules libres obovoïdes à ellipsoïdes de 11 à 20 cm de long d'aspect lisse de couleur jaune à maturité contenant plusieurs graines. Ces graines sont obliquement ovales, obovales à oblongues aplaties de 2.5 à 4.5 cm de long, lisses, brunes à oranges enveloppées dans une pulpe molle blanche à orange (Schmelzer *et al.*, 2008).



Figure 11 : *Picralima nitida* dans le jardin botanique de Limbé

(http://fr.wikipedia.org/wiki/Picralima_nitida?wprov=sfla1 consulté le 22/11/2023)

I.4.3. Ecologie et phytogéographie

Picralima nitida est un arbre de sous étage des forêts pluviales, que l'on retrouve également dans les forêts secondaires matures et des forêts semi caducifoliées sur les berges des rivières (Schmelzer *et al.*, 2008). Cette espèce s'étend de la cote d'ivoire jusqu'en Ouganda, de l'Afrique du Sud jusqu'en République Démocratique du Congo. (Akabassi *et al.*, 2017).

I.4.4. Dissémination

Les arbres qui poussent en un même lieu ont généralement la même hauteur et sont probablement du même âge. Les jeunes plantes ont une forte capacité de compétition. *Picralima nitida* fructifie et fleurit toute l'année. Les fleurs sont visitées par les insectes au cours des jours

ensoleillés. Les fruits de *Picralima nitida* sont consommés par les éléphants, qui en disséminent les graines (Schmelzer *et al.*, 2008).

I.4.5. Usages thérapeutiques

La plante *Picralima nitida* est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies (Nwakile *et al.*, 2011). Les parties utilisées sont les racines, les graines, les écorces et les feuilles (Erharuyi *et al.*, 2014). La plante est utilisée dans le traitement du paludisme, l'impuissance sexuelle masculine, la dysménorrhée, les troubles gastro intestinaux et la dysenterie. Elle a été démontré anti-trypanosomiaux, anti-inflammatoires, anti-pyrétiques et anti- plasmodiques. Elle a également une activité contre la diarrhée induite par l'huile de ricin (Kouitcheu *et al.*, 2013). Des propriétés anti hypertensives, anti-inflammatoires et hypoglycémiantes lui ont aussi été attribuées (Mawout *et al.*, 2020).

I.4.6. Phytochimie

L'analyse phytochimique de *Picralima nitida* montre la présence de groupes phytochimiques tels que les alcaloïdes, phénols, tannins, saponines, flavonoïdes, terpénoïdes, stéroïdes et glycosides, oxalates, phytates, sucres réduits, hydrates de carbones, graisses et huiles dans toutes les parties de la plantes (kouitcheu *et al.*, 2013 ; Osualaa *et al.*, 2018). Les alcaloïdes constituent la première classe de composés phytochimiques isolés et la classe la plus importante (Erharuyi & Falodun, 2012). Le nom de ces composés dérive du nom vernaculaire de *Picralima nitida* au Ghana Akuamma (Akuammidine, Akuammine, Akuammicine, Akuammigine, Pseudoakuammigine... (Moller *et al.*, 1972)).

CHAPITRE II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

Les fruits de *Picralima nitida* ont été achetées au marché du Mfoundi dans la ville de Yaoundé. Ceux-ci ont été identifiés en comparaison avec le matériel de MPOM Benoit N° 149 08-12-1955 du spécimen de la collection d'herbier N° 1942 HNC (Figure 12).



Figure 12 : Préparation de la poudre de *Picralima nitida*

(<http://herbalzooservices.com/product/picralima-nitida-fruits/> consulté le 02/05/2022)

A : fruits, B : fruit fendu, C : graines séchées, D : poudre des graines de *Picralima nitida*

II.1.2 Matériel animal

Cette étude a été menée sur des rats albinos de souche *Wistar* (*Rattus norvegicus*) de masse comprise entre 140 et 200g au début de l'expérience. Ils ont été nourris avec de la provende de composition standard : 26 kg de maïs, 5 kg de tourteau de blé, 4 kg de soja, 5kg de farine de poisson, 1 kg de farine d'os, 3 kg de tourteau d'arachide, 5kg de tourteau de palmiste

Les rats ont reçu de l'eau du robinet comme boisson et étaient soumis à la variation journalière de luminosité.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de l'extrait brut et des différentes solutions de l'extrait

Les fruits de *Picralima nitida* ont été fendus et les graines ont été extraites puis étalées et séchées à l'ombre. Celles-ci ont ensuite été déulpées et moulues pour obtenir 1130 g de poudre. La poudre obtenue a été mélangée à 3700 mL d'eau distillée. La solution obtenue a été macérée et remuée chaque jour pendant trois jours. Elle a ensuite été filtrée grâce au papier Whatman N°4 et le filtrat obtenu a été lyophilisé à l'Institut de Recherche Médicale et d'Etudes des Plantes Médicinales (IMPM). 120 g de lyophilisat de couleur marron clair ont été obtenus, soit un rendement d'extraction de 10,61 % (Figure 13).

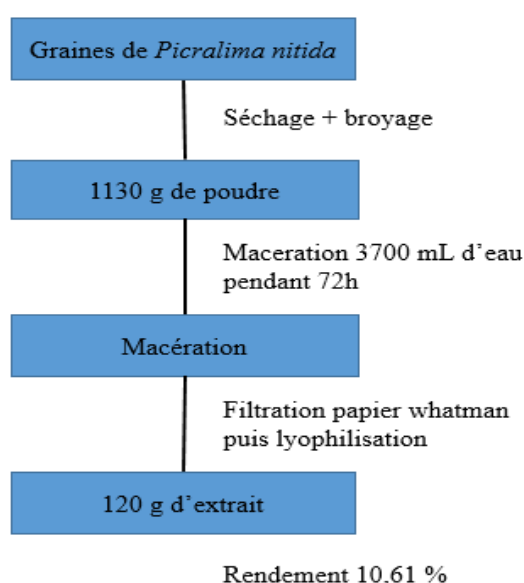


Figure 13 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux des graines de *Picralima nitida*.

A partir de l'extrait brut, deux solutions de concentrations respectives 10 et 20 mg/mL ont été préparées quotidiennement grâce à la formule suivante :

$$Cm(mg/mL) = \frac{m(mg)}{V(mL)}$$

Cm : concentration massique ; m : masse de l'extrait ; V : volume d'eau distillée.

Connaissant la dose D (mg/kg) à administrer, le poids P (kg) de l'animal et la concentration Cm (mg/mL) de l'extrait, le volume V (mL) à administrer par gavage à un animal a été déterminé à partir de la formule suivante :

$$V(mL) = \frac{D(mg/kg) \times P(kg)}{Cm(mg/mL)}$$

II.2.2. Répartition, traitement et induction de la cardiotoxicité chez les animaux

Nous disposons de 30 animaux qui ont été répartis en 5 groupes de 6 rats chacun. Ceux-ci ont reçu pendant une durée de 30 jours entre 8h et 10h du matin de l'eau distillée (Groupes 1 et 2), du Ramipril (Groupe 3) et la solution d'extrait aux doses respectives de 100 et 200 mg/kg (Groupes 4 et 5) (Mawout *et al.*, 2020 ; Adeolu *et al.*, 2022). Au 29^{ème} jour de traitement, les groupes 2 à 5 ont reçu entre 8h et 10h une solution injectable de doxorubicine par voie intrapéritonéale à la dose de 10 mg/kg en plus du traitement quotidien (Abdelatty *et al.*, 2021) (Figure 14).

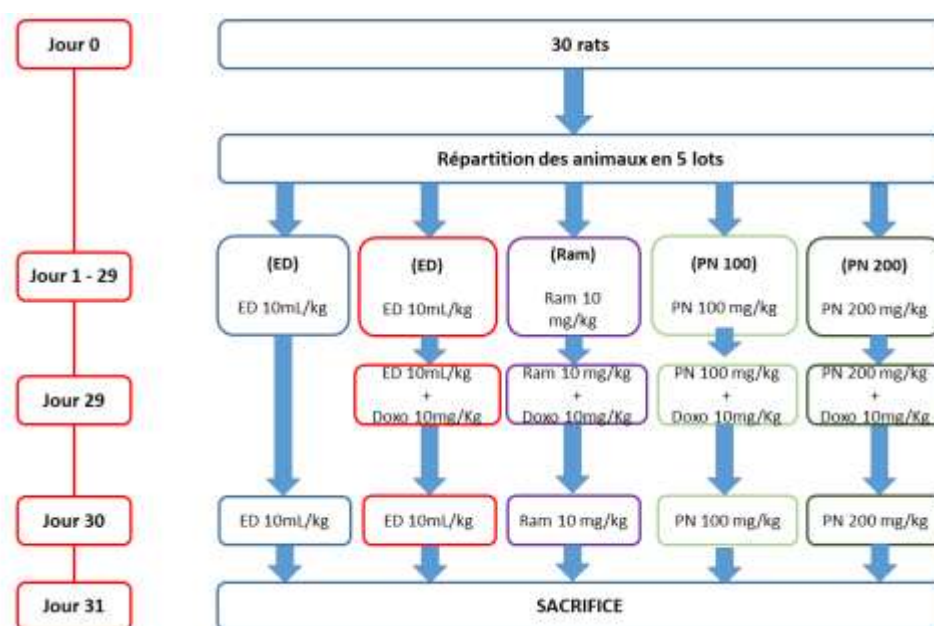


Figure 14 : Répartition et traitement des animaux

Ram : Ramipril (10 mg/kg) ; **PN100** : Extrait aqueux de *P. nitida* (100 mg/kg) ; **PN200** : Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/kg).

II.2.3. Evaluation des paramètres cardio-vasculaires

Deux jours après l'administration de la doxorubicine, les animaux ont été anesthésiés par injection intrapéritonéale d'uréthane (15% ; 10 mL/kg) puis l'animal a été placé en décubitus dorsal. Le liquide physiologique hépariné à 1% a été administré à l'animal par la veine caudale (1 mL/kg). Après ligature du bout céphalique de l'une des deux branches de la carotide, cette dernière a été canulée par un cathéter rempli de liquide physiologique hépariné à 1% et relié au transducteur connecté à l'enregistreur "Biopac Student Lab" de type MP 35 (Figure 15). Une période d'équilibration d'au moins 10 minutes a été nécessaire, puis la pression artérielle et la fréquence cardiaque de chaque rat ont été enregistrées pendant une dizaine de minutes. La mesure de l'électrocardiogramme a été réalisée en même temps à travers 3 électrodes placées sur l'animal en dérivation D II de Einthoven comme suit : électrode positive (+) fixée sur la patte

postérieure gauche ; électrode négative (-) fixée sur la patte antérieure droite et électrode neutre fixée sous la portion médiane de la queue de l'animal.

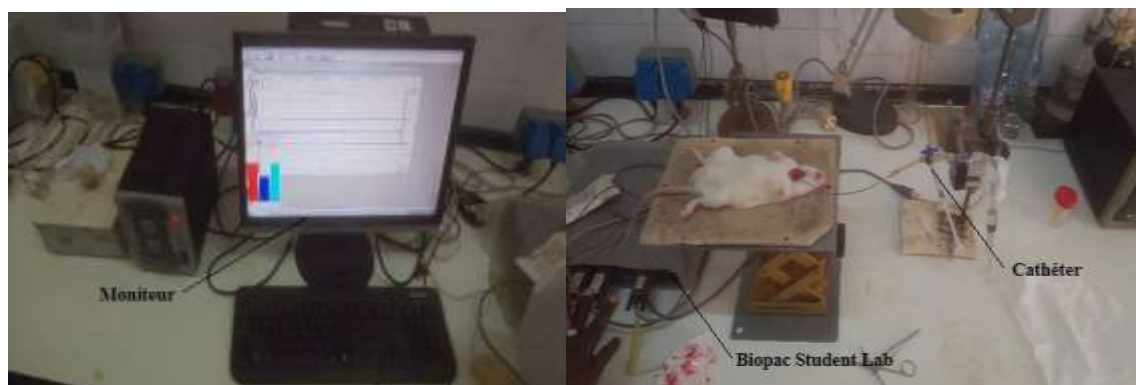


Figure 15 : Dispositif d'enregistrement de la pression artérielle, la fréquence cardiaque et l'ECG (Photo prise par Djougue Alemafack Roussel Chatelain le 10 janvier 2022).

II.2.4. Collecte du sang

Les échantillons de sang ont été collectés à partir de la carotide et recueillis dans des tubes à hémolyse. Après 30 minutes le sang collecté a été centrifugé à 4000 tr /min pendant 10 minutes à 4°C. Les séra obtenus ont été prélevés à l'aide d'une micropipette puis repartis dans des microtubes eppendorf et conservés à -20°C pour le dosage ultérieur de quelques paramètres biochimiques.

II.2.5. Autopsie et réalisation des homogénats

Suite au prélèvement sanguin, l'abdomen et le thorax des rats ont été incisés, le cœur, le foie, et les reins ont été prélevés. Ceux-ci ont été par la suite rincés dans du NaCl 0,9 %, essorés sur du papier essuie-tout puis pesés à l'aide d'une microbalance. Le cœur a été coupé transversalement en deux parties ; la partie inférieure a été conservé dans le formol 10% tamponné en vue des analyses histologiques.

La partie supérieure du cœur (0,2 g) a été broyée dans un mortier, puis 1,8 mL de Mac Ewen a été ajouté en vue de la préparation d'homogénats (10%). Les broyats obtenus ont été introduits dans des tubes secs puis centrifugés à 10000g pendant 10 minutes à 4°C. Les liquides surnageants ont été prélevés, aliquotés et conservés à -20°C pour des analyses des marqueurs de la fonction cardiaque.

II.2.6 Evaluation des paramètres anthropométriques

II.2.6.1. Poids corporel des animaux

Les poids des animaux ont été mesurés quotidiennement pendant toute la période expérimentale (31 jours).

II.2.6.2. Poids relatifs des organes

Les poids relatifs du cœur, foie et reins ont été calculés suivant la formule qui suit :

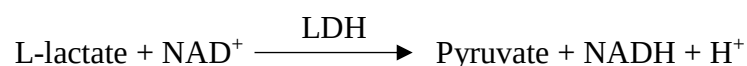
$$Poids\ relatif\ (\%) = \frac{Poids\ de\ l'organe}{Poids\ de\ l'animal} \times 100$$

II.2.7. Evaluation de l'inflammation cardiaque

II.2.7.1. Dosage de la lactate déshydrogénase

Principe

La lactate déshydrogénase est une enzyme qui catalyse l'oxydation du L-lactate pour produire en présence du NAD^+ de l'acide pyruvique et du $NADH, H^+$. L'activité de la LDH mesurée dans l'échantillon par spectrophotométrie, est proportionnelle à la concentration du $NADH$ formé.



Mode opératoire

Le dosage de l'activité de la lactate déshydrogénase été réalisé selon le protocole décrit par le kit de dosage "Lactate Dehydrogenase Assay" fournit par la compagnie BioSino biotechnology and science inc.

Dans un tube à essai a été introduit 0,1 mL d'échantillon et 1mL de réactif. La solution a été ensuite mélangée et incubée à la température de 30°C. Le tube à essai a été ensuite introduit dans le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 340nm et l'absorbance a été mesurée à chaque minute pendant 3 minutes pour déterminer la différence d'absorbance de l'échantillon ($\Delta A_{\text{échantillon}}$). Ensuite a été déterminée la différence d'absorbance d'un tube à essai contenant 0,1 mL d'eau distillée et 1mL de réactif (ΔA_{blanc}) en respectant la procédure précédente. La concentration de la lactate déshydrogénase est donnée par la formule suivante :

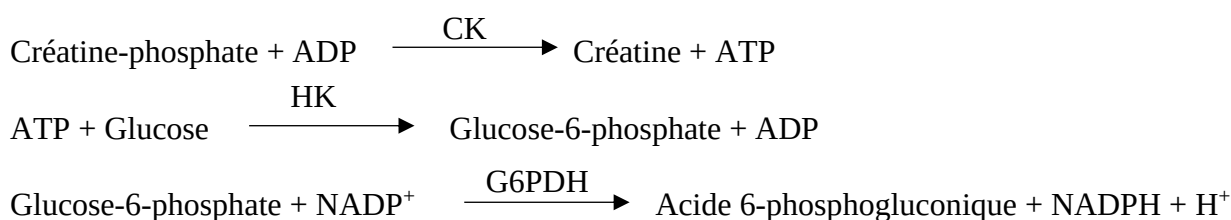
$$LDH\text{-L conc} = (\Delta A_{\text{échantillon}}/\text{min} - \Delta A_{\text{blanc}}/\text{min}) \times K$$

$$\text{Avec } K = \frac{V_{\text{blanc}}}{V_{\text{échantillon}} \times \text{coefficient d'extinction}} \times 1000$$

II.2.7.2. Dosage de la créatine kinase MB

Principe

La créatine kinase MB est constituée de 2 sous-unités, la sous unité M et la sous unité B. Les anticorps contenus dans les réactifs se fixent et inhibent l'activité de la sous-unité M. Ainsi, seule l'activité de la sous unité B sera mesurée. Si l'activité de celle-ci est multipliée par 2, alors nous pouvons déterminer l'activité de la créatine kinase MB (CK-MB) dans le sérum.



Mode opératoire

Le dosage de l'activité de la CK-MB a été réalisé à l'aide du kit Créatine Kinase MB Assay fourni par la compagnie BioSino biotechnology and science inc.

Dans un tube à essai a été introduit 0,1 mL d'échantillon et 1mL de réactif. La solution a été ensuite mélangée et incubée à la température de 30°C. Le tube à essai a été ensuite introduit dans le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 340nm et l'absorbance a été mesurée à chaque minute pendant 3 minutes pour déterminer la différence d'absorbance de l'échantillon ($\Delta A_{\text{échantillon}}$). Ensuite a été déterminée la différence d'absorbance d'un tube à essai contenant 0,1 mL d'eau distillée et 1mL de réactif (ΔA_{blanc}) en respectant la procédure précédente. La concentration de CK-MB a été déterminée par la formule ci-contre fournie :

$$\text{CK-MB concentration} = (\Delta A_{\text{échantillon}}/\text{min} - \Delta A_{\text{blanc}}/\text{min}) \times K$$

$$\text{Avec } K = \frac{V_{\text{blanc}}}{V_{\text{échantillon}} \times \text{coefficient d'extinction}} \times 1000$$

II.2.7.3. Dosage de l'aspartate aminotransférase

Principe

L'aspartate aminotransférase (ASAT) encore appelée glutamate oxaloacétate catalyse le transfert réversible du groupement amine de l'aspartate à l'alpha cétooglutarate pour former le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate produite est réduite par la malate déshydrogénase (MDH) en malate et en NAD^+ .



L'activité de l'ASAT est déterminée indirectement par la production de NAD^+ déterminée elle-même par photométrie.

Mode opératoire

Le dosage de l'ASAT a été effectuée à l'aide d'un kit de dosage fourni par la compagnie CHEMELEX S.A. sous le nom de LABKIT.

Dans un tube à essai a été introduite 0,1 mL de sérum et 1 ml de réactif. La solution a été ensuite mélangée et incubée pendant une minute à une température de 37°C. Le tube à essai a

été introduit par la suite dans le spectrophotomètre, l'absorbance a été calculée à chaque minute pendant 3 minutes. La différence d'absorbance par minute a été calculée ($\Delta A/\text{min}$) et l'activité de l'ASAT a été calculée.

$$[\text{ASAT}] (\text{U/L}) = (\Delta A/\text{min}) * 1750$$

II.2.8. Evaluation de quelques marqueurs cardiaques du statut oxydant

II.2.8.1. Dosage du malondialdéhyde

Principe

Au cours des phases finales, les peroxydes se décomposent en composés volatiles responsables de l'odeur de rance. Il y'a notamment formation d'aldéhydes dont l'aldéhyde malonique (MDA) qui réagit avec l'acide thiobarbiturique pour former un complexe coloré rose qui absorbe à 530 nm. Ce complexe rend compte de la quantité de malondialdéhyde.

Mode opératoire

Dans des tubes à essai a été introduit 1 mL de l'homogénat du cœur. Le tube témoin a reçu 1 mL de tampon Tris-HCl 50 mM, KCl 150 mM ; pH 7,4. Dans chaque tube a été ajouté 0,5 mL d'acide trichloracétique (TCA 20 %) et 1 mL d'acide thiobarbiturique (TBA 0,67 %). Les tubes ont été bouchés à l'aide des billes de verre et chauffés pendant 10 minutes à 90 °C au bain-marie. Ils ont ensuite été refroidis à l'eau de robinet et centrifugés à 3000 trs/min pendant 15 minutes à température ambiante. Le surnageant a été décanté et la densité optique lue à 530 nm contre le blanc. La concentration en malondialdéhyde (MDA) a été calculée à l'aide du coefficient d'extinction molaire ϵ à partir de la formule :

$$DO = \epsilon \times C \times L$$

DO : densité optique ; ϵ : coefficient d'extinction molaire ($1,56 \times 10^5 \text{ cm}^2/\text{mmol}$) ; C : concentration en malondialdéhyde ; L : trajet optique de la cuve (1 cm).

II.2.8.2. Dosage des nitrites

Principe

En présence de l' amino-4-benzène sulfonamide et du dichlorure de N-(naphtyl-1)-diamino-1,2-éthane (N-1-naphtyl éthylènediamine) en milieu acide, les nitrites subissent une réaction de diazotation. Le produit obtenu est proportionnel à la quantité de nitrite présente dans l'échantillon (Seal alaytical, 1994)

Mode opératoire

Les tubes ont été remplis suivant le protocole de dosage des nitrites (Tableau 1).

Tableau I : Protocole de dosage des nitrites.

	Blanc			Etalons				Echantillon
Tubes	0	1	2	3	4	5	6	X ₁X ₂
Concentration de NaNO ₂ (µM)	0	0,03	0,06	0,12	0,25	0,50	1	-
Volume de NaNO ₂ (µL)	-	100	100	100	100	100	100	-
Echantillon (µL)	-	-	-	-	-	-	-	100
Eau distillée (µL)	500	400	400	400	400	400	400	400
Réactif de Griess (µL)	500	500	500	500	500	500	500	500
Absorbances obtenues	0	0,06	0,13	0,22	0,45	1,02	2,05	-

Les étalons (tubes 1 à 6) ont permis de réaliser la courbe d'étalonnage (Figure 15). La concentration des nitrites a été déterminée à partir de l'équation de droite $y = 2,0355x$.

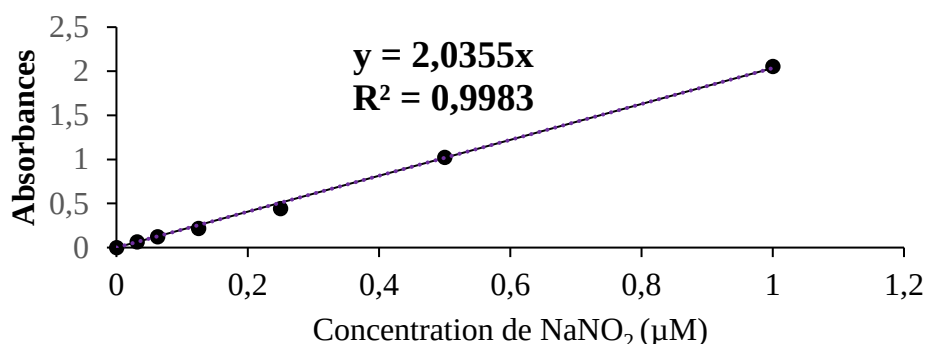


Figure 16 : Courbe d'étalonnage des nitrites.

II.2.8.3. Dosage d'une enzyme antioxydante : la superoxyde dismutase

L'activité de SOD tissulaire a été déterminée par la méthode décrite par

Principe

La présence de la superoxyde dismutase (SOD) dans l'échantillon inhibe l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome. L'augmentation de l'absorbance qui est proportionnelle à l'activité de la SOD est mesurée entre 20 et 80 secondes à 480 nm.

Mode opératoire

L'homogénat du cœur (134 µL) ont été introduits dans une cuve à spectrophotomètre pour les essais et 1666 µL de tampon carbonate dans la cuve témoin. L'adrénaline (0,3 mM, 200 µL) a été ajoutée dans chaque cuve pour déclencher la réaction. Le mélange a été homogénéisé par inversion rapide de la cuve. La densité optique (DO) a été déterminée à 480 nm après 20 et 80 secondes. L'activité spécifique de la SOD a été exprimée en unité de SOD/mg de protéines.

Une unité de l'activité de la SOD est définie comme la quantité de la SOD nécessaire pour causer une inhibition de 50 % de l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome pendant une minute.

La variation de la DO : $\Delta DO \text{ (min)} = DO \text{ 20s} - DO \text{ 80s}$

% inhibition = $100 - (\Delta DO \text{ essai} \times 100 / \Delta DO \text{ blanc})$

50 % d'inhibition correspond à 1 unité ; X % d'inhibition correspond à n unités.

L'activité spécifique de la SOD (unités de SOD/mg de protéines) = (nombre d'unités SOD/mL)/mg de protéine x facteur de dilution.

II.2.9. Etude histologique

L'histologie est une technique qui permet de préparer un organe ou un tissu en vue de son observation au microscope. L'analyse histologique avec inclusion en paraffine réalisée dans le cadre de ce travail a été faite en différentes étapes dont la fixation, la recoupe ou « trimming », la déshydratation, l'inclusion, la coupe, la coloration, le montage et l'observation.

- ❖ **Fixation** : L'objectif de la fixation est de préserver les cellules et les constituants tissulaires dans un état aussi proche que possible de celui du vivant. Ainsi, après le sacrifice des animaux, le rein gauche, le cœur ont été prélevées et introduits dans du formol 4 % tamponné, puis conservées.
- ❖ **« Trimming »** : Après la fixation, les tissus ont été taillés de manière à avoir une épaisseur inférieure à celle des cassettes de déshydratation. Les tissus taillés ont été déposés dans ces cassettes étiquetées.
- ❖ **Déshydratation** : L'analyse histologique d'un tissu avec inclusion en paraffine nécessite une étape de déshydratation indispensable car, la paraffine n'est pas miscible à l'eau. Cette étape a été faite en trois sous-étapes dont la déshydratation proprement dite, l'éclaircissement et l'imprégnation.
- **Déshydratation proprement dite** : après avoir séjourné dans un premier bain d'alcool 70° pendant 1 heure, les tissus dans les cassettes de déshydratation ont successivement été passés dans d'autres bains d'éthanol de concentration croissante comme suit : un deuxième bain d'éthanol 95° (1h) ; un troisième bain d'éthanol 95° (1h30 min) ; un quatrième bain d'éthanol absolu (1h) ; un cinquième bain d'éthanol absolu (1h30 min) et un sixième bain d'éthanol absolu (2h).
- **Éclaircissement** : cette étape transitoire a été réalisée par un hydrocarbure benzénique, le xylène. Il est utilisé pour remplacer la solution de déshydratation car, étant miscibles dans la paraffine. Pour ce faire, immédiatement après les différents bains d'éthanol, les cassettes ont séjourné dans deux bains de xylène soit 1h dans le premier bain et 1h 30 min dans le second.
- **Imprégnation** : cette étape a consisté à faire séjourner les pièces dans des bains de paraffine en fusion afin qu'elle pénètre parfaitement à l'intérieur des tissus. Les pièces de tissus à l'intérieur

des cassettes ont séjourné dans trois bains de paraffine en fusion pendant une durée respective de 1h, 1h30, 2h dans la station d'enrobage de marque Microm Heidelberg.

- ❖ **Inclusion** : C'est le procédé qui fournit un support externe aux tissus, ce qui permet la réalisation de fines coupes au microtome. Les tissus ont été placés dans des moules en inox, qui ont par la suite été remplis de paraffine en fusion. L'ensemble a été mis à solidifier sur de la glace pour obtenir des blocs.
- ❖ **Coupe** : Les blocs de paraffine contenant les tissus ont été coupés à l'aide d'un microtome de marque Reichert-Jung 2030. L'épaisseur des rubans après coupe était de 5 µm. Une fois coupées, les sections de rubans ont été mises à déplier dans un bain-marie contenant de l'eau gélatinée à environ 45 °C. Elles ont été récupérées sur des lames de verre étiquetées et séchées à l'étuve à 45 °C pendant 24 heures avant le début de l'étape de coloration.
- ❖ **Coloration** : Les colorations ne pouvant être effectuées sur une coupe paraffinée car la plupart des colorants sont des milieux aqueux et la paraffine est non miscible à l'eau, les lames ont d'abord été déparaffinées en les faisant passer dans des bains successifs de xylène, d'éthanol et d'eau distillée.

Immédiatement après l'étape de déparaffinage, les lames portant les coupes de tissus ont été colorées à l'hématoxyline et à l'éosine.

Tableau II : Protocole d'une batterie de déparaffinage

Ordre	Solution	Temps de séjour	Ordre	Solution	Temps de séjour
1	Xylène	10 minutes	5	Ethanol 100°	3 minutes
2	Xylène	10 minutes	6	Ethanol 100°	3 minutes
3	Xylène	10 minutes	7	Eau distillée	10 minutes
4	Ethanol 100	3 minutes			

Tableau III : Etapes de la coloration à l'hématoxyline et à l'éosine

Ordre	Solution	Temps	Ordre	Solution	Temps
1	Hématoxyline de Mayer	10 minutes	7	Ethanol 100%	1 minute
2	Rinçage à l'eau courante	10 minutes	8	Ethanol 100%	1 minute
3	Carbonate de sodium 0,5%	15 secondes	9	Xylène	5 minutes
4	Rinçage à l'eau distillée	5 minutes	10	Xylène	5 minutes
5	Eosine à l'alcool 0,5%	5 minutes	11	Xylène	5 minutes
6	Ethanol 100%	1 minute	12	Montage sous résine	

❖ **Montage et observation :** L'étape de montage entre lame et lamelle s'est enchaînée directement à la suite de la coloration. Pour ce faire, quelques gouttes de résine synthétique, de marque eukit, ont été déposées sur la lame portant la coupe colorée, avant apposition d'une lamelle. Les coupes de tissus sur les lames ont ainsi été protégées et conservées. Les lames colorées et montées ont été observées aux grossissements 25x, 40x, et 100x à l'aide d'un microscope optique de marque *Scientico STM-50*, d'une caméra digitale de marque *ASTROMICROSCIENCE MA411101*, elle-même connectée à un ordinateur.

II.2.10. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne $\pm$ SEM. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Graph Pad Prism 8.0. Les comparaisons simples et multiples ainsi que la détermination des taux de signification sont faites par le test ANOVA et le t test. Les différences ont été considérées statistiquement significatives au seuil de 0.05 ($p < 0.05$).

CHAPITRE III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur le poids corporel, le poids relatif de quelques organes

La Figure 17 illustre la variation pondérale des rats des différents groupes pendant la durée de l'expérience. A partir du 16^{ème} jour, le groupe RAM+Doxo (Témoin positif) a présenté une diminution significative du poids corporel par rapport au groupe ED (Témoin normal) et au groupe ED+Doxo (Témoin négatif) ($p < 0,001$) qui s'est étendue jusqu'au dernier jour de l'expérimentation. Bien que l'évolution pondérale des autres groupes ne soit pas identique, aucune différence significative n'est observée.

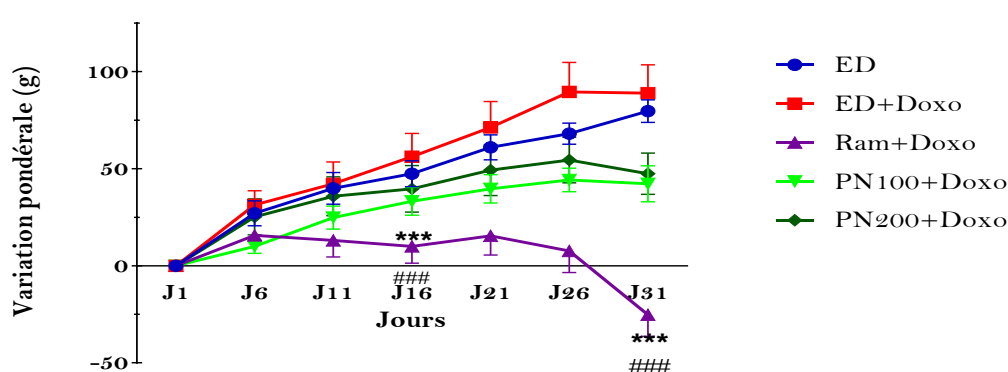


Figure 17 : Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur l'évolution pondérale.

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ESM, *** $p < 0,001$, différence significative par rapport au lot ED. #### $p < 0,001$, différence significative par rapport au lot ED+Doxo. **ED** : Eau distillée (10mL/kg) ; **Doxo** : Doxorubicine (10 mg/kg) ; **Ram** : Ramipril (10 mg/kg) ; **PN100** : Extrait aqueux de *P. nitida* (100 mg/kg) ; **PN 200** : Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/kg)

Le Tableau IV présente le poids relatif du cœur, du foie et des reins des rats de chaque groupe.. Une augmentation significative de la masse relative du foie a été observée après administration de la doxorubicine ($p < 0,001$), du Ramipril ($p < 0,05$), de l'extrait à la dose 100 mg/Kg ($p < 0,001$) et 200 mg/Kg ($p < 0,05$) par rapport au groupe normal. Le Ramipril a également entraîné une augmentation significative du poids relatif des reins ($p < 0,05$) par rapport au témoin normal. C'est également le cas pour l'extrait à la dose 100 mg/kg ($p < 0,05$).

Tableau IV: Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur les masses relatives du cœur, foie et des reins des différents groupes

	ED	ED+Doxo	Ram+Doxo	PN100+Doxo	PN200+Doxo
Cœur	0,26 $\pm$ 0,03	0,27 $\pm$ 0,03	0,26 $\pm$ 0,04	0,25 $\pm$ 0,04	0,25 $\pm$ 0,04
Foie	3,06 $\pm$ 0,42	3,57 $\pm$ 0,49 **	3,35 $\pm$ 0,51 *	3,48 $\pm$ 0,56 **	3,35 $\pm$ 0,54*
Reins	0,52 $\pm$ 0,07	0,57 $\pm$ 0,07	0,82 $\pm$ 0,12 *	0,57 $\pm$ 0,09	0,6 $\pm$ 0,09

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ESM, n = 6. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, différence significative par rapport au lot ED. **ED** : Eau distillée (10mL/kg) ; **Doxo** : Doxorubicine (10 mg/kg) ; **Ram+DOXO** : Ramipril (10 mg/kg) ; **PN100** : Extrait aqueux de *P. nitida* (100 mg/kg) ; **PN 200** : Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/kg)

III.1.2. Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur l'activité électrique globale du coeur

La Figure 18 et le Tableau V présentent quelques paramètres électrocardiographiques des différents groupes d'animaux enregistrés en dérivation bipolaire d'Einthoven. L'administration de la doxorubicine a entraîné une augmentation significative de l'intervalle QT (15,34% ; $P < 0,01$) ; de l'intervalle ST (37,63% ; $P < 0,01$) (Tableau 3) ; de l'amplitude de l'onde P (35,03% ; $P < 0,05$) et de l'amplitude l'onde T (52,91% ; $P < 0,001$) (Figure 17) par rapport aux animaux normaux (Groupe ED). Le traitement au ramipril a réduit de façon significative l'intervalle QT (12,07% ; $P < 0,01$) par rapport au groupe de rats traités uniquement à la doxorubicine (Tableau 3).

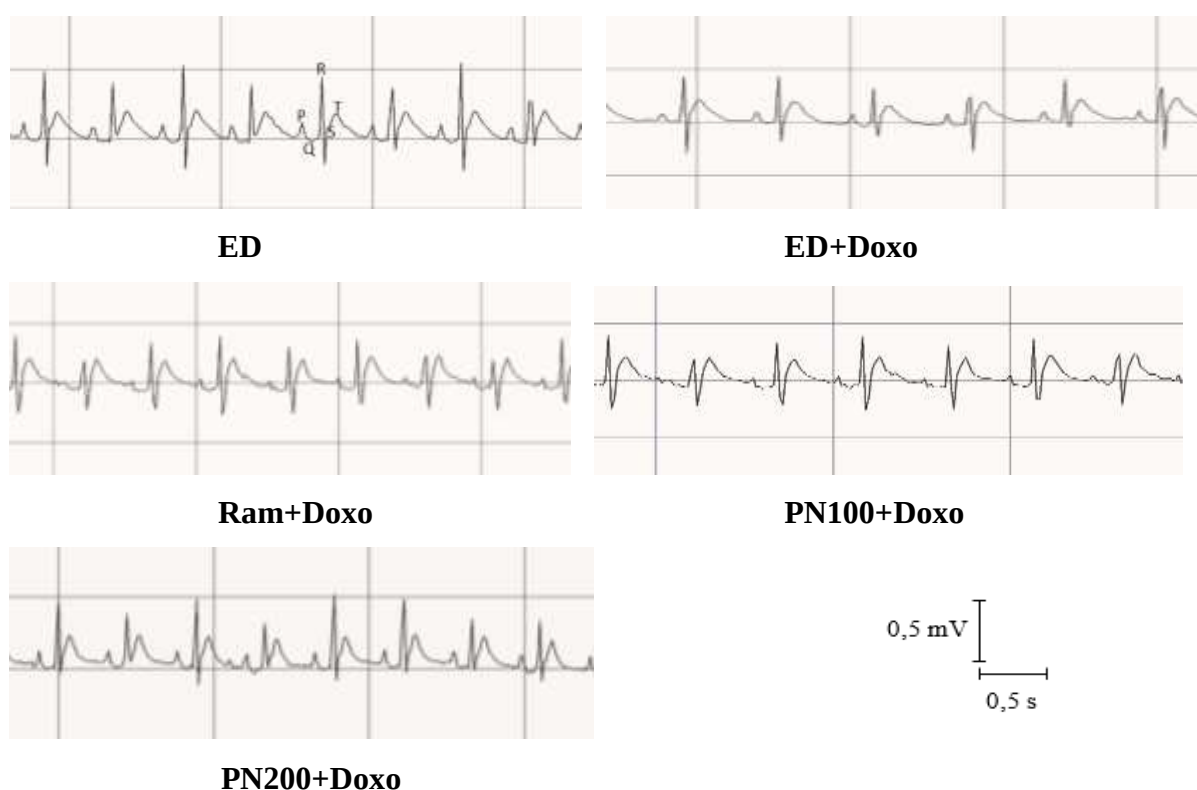


Figure 18 : Tracés électrocardiographiques représentatifs des différents groupes

ED : Eau distillée (10mL/kg) ; **Doxo :** Doxorubicine (10 mg/kg) ; **Ram+DOXO :** Ramipril (10 mg/kg) ; **PN100 :** Extrait aqueux de *P.* (100 mg/kg) ; **PN 200 :** Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/kg)

Tableau V : Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur quelques intervalles et ondes des différents électrocardiogrammes

	<i>ED</i>	<i>ED+Doxo</i>	<i>Ram+Doxo</i>	<i>PN100+Doxo</i>	<i>PN200+Doxo</i>
PR (s)	0,0438±0,14*10 ⁻²	0,0464±0,12*10 ⁻²	0,0404±0,02*10 ⁻²	0,04475±0,10*10 ⁻²	0,0472±0,12*10 ⁻² **
QT (s)	0,0567±0,05*10 ⁻²	0,0654±0,10*10 ⁻² ***	0,0575±0,03*10 ⁻² ###	0,065±0,18*10 ⁻² ***	0,0661±0,13*10 ⁻² ***
ST (s)	0,0186±0,074*10 ⁻²	0,0226±0,10*10 ⁻² **	0,0196±0,02*10 ⁻²	0,024±0,057*10 ⁻² **	0,0254±0,07*10 ⁻² ***
QRS (s)	0,0254±0,13*10 ⁻²	0,025±0,03*10 ⁻²	0,024±0,05*10 ⁻²	0,026±0,14*10 ⁻²	0,025±0,10*10 ⁻²

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM, n = 6. * p < 0,05 ; *** p < 0,001, différence significative par rapport au lot ED. ## p < 0,01, différence significative par rapport au lot ED+Doxo. **ED** : Eau distillée (10 mL/kg) ; **Doxo** : Doxorubicine (10 mg/kg) ; **Ram** : Ramipril (10 mg/kg) ; **PN100** : Extrait aqueux de *P. nitida* (100 mg/kg) ; **PN200** : Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/kg).

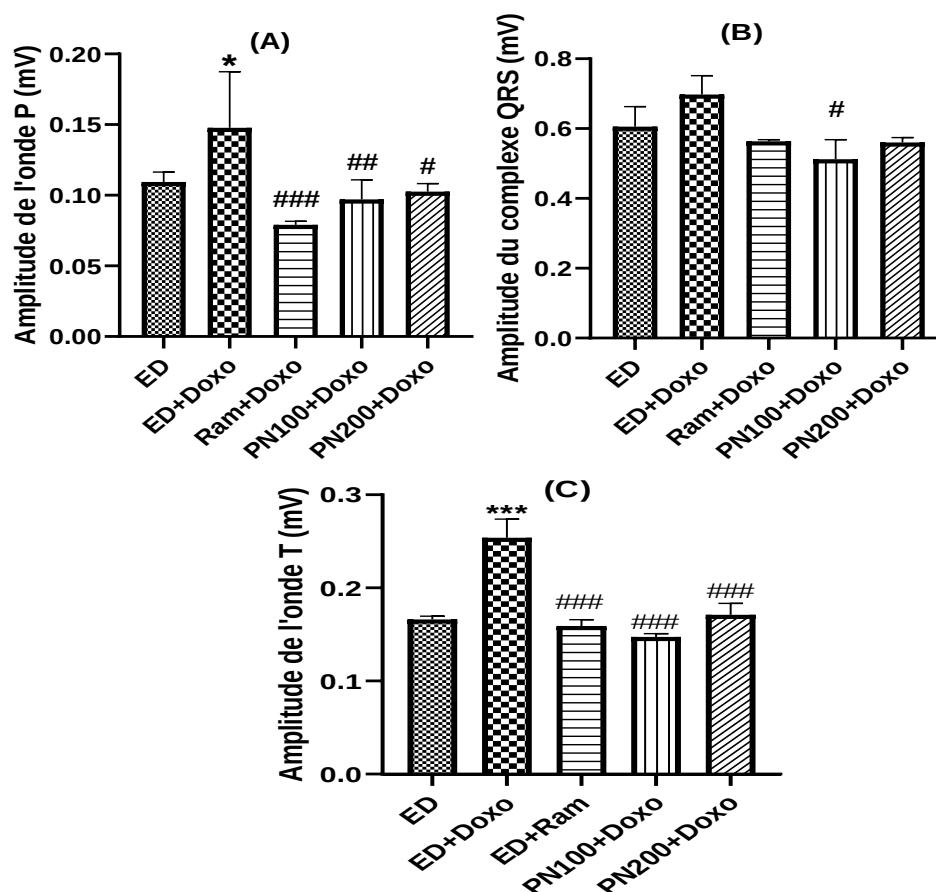


Figure 19 : Effets de l'extrait des graines de *Picralima nitida* sur l'amplitude des ondes de l'ECG.

Chaque barre représente la moyenne ± ESM, n = 6. * p < 0,05 ; *** p < 0,001, différence significative par rapport au lot ED. # p < 0,05, ## p < 0,01, ### p < 0,001 différence significative par rapport au lot ED+Doxo. **ED** : Eau distillée (10 mL/kg) ; **Doxo** : Doxorubicine (10 mg/kg) ; **Ram** : Ramipril (10 mg/kg) ; **PN100** : Extrait aqueux de *P. nitida* (100 mg/kg) ; **PN200** : Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/kg). **ECG** : Electrocardiogramme

III.1.3. Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque des rats

Le tableau VI présente la pression artérielle et la fréquence cardiaque des différents groupes de rats. Il en ressort que la doxorubicine chez le groupe témoin négatif n'a entraîné aucune modification significative de la fréquence cardiaque par rapport aux rats normaux. Il a été noté une augmentation de 20,77% de la PAS par rapport aux rats normaux et de la PAD de 44,5% par rapport au groupe ED+Doxo. L'administration du ramipril a induit une baisse significative de la fréquence cardiaque et de la PAD par rapport aux rats normaux. L'extrait à la dose 100 a entraîné cependant une baisse significative de la fréquence cardiaque et de la PAD par rapport aux rats traités à la doxorubicine.

Tableau VI : Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur quelques paramètres hémodynamiques des différents groupes de rats

	<i>ED</i>	<i>ED+Doxo</i>	<i>Ram+Doxo</i>	<i>PN100+Doxo</i>	<i>PN200+Doxo</i>
FC (BPM)	401,0± 14,42	391,3± 8,730	340,6± 17,16 *	306,8± 5,60 ***###	368,2± 12,54
PAS (mmHg)	101,5± 4,37	122,6± 6,16	77,36± 7,23	98,49± 2,04	104,8± 3,08
PAD (mmHg)	75,79± 3,57	109,6± 7,06 *	68,21± 6,97 ###	71,83± 0,60 ##	84,53± 5,10

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM, n = 6. * p < 0,05, différence significative par rapport au lot ED. ## p < 0,01 ; ### p < 0,001, différence significative par rapport au lot ED+Doxo. **ED** : Eau distillée (10mL/kg) ; **Doxo** : Doxorubicine (10 mg/kg) ; **Ram** : Ramipril (10 mg/kg) ; **PN100** : Extrait aqueux de *P. nitida* (100 mg/kg) ; **PN200** : Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/kg) ; **PAS** : pression artérielle systolique ; **PAD** : pression artérielle diastolique. **BPM** : Battements par minute

III.1.4. Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur les taux sériques de quelques marqueurs de l'inflammation cardiaque

III.1.4.1. Effets de l'extrait aqueux de *P. nitida* sur l'activité de la créatine kinase MB

La Figure 20 présente les résultats du dosage de la créatine kinase MB (CK-MB) sérique. L'activité de la CK-MB a significativement augmenté chez les rats traités à la doxorubicine (ED+Doxo) (P<0,05) ainsi que chez les rats traités à l'extrait de plante (200 mg/Kg) (p<0,01) par rapport au groupe témoin normal (ED). Elle est passée de 182,9 ± 24,95 UI/L chez le groupe témoin normal à 257,8 ± 29,72 UI/L chez le groupe témoin négatif soit une augmentation de 40,88 % ; et à 292,6 ± 16,19 UI/L chez le groupe PN 200, soit une augmentation de 60,47 % par rapport au témoin normal. Par ailleurs, en référence au groupe témoin négatif (ED+Doxo), il a été observé une diminution significative (p<0,05) de l'activité de la CK-MB chez les rats traités

au ramipril ($p < 0,05$) ainsi que chez le groupe ayant reçu l'extrait à la dose 100 mg/kg (PN100+Doxo).

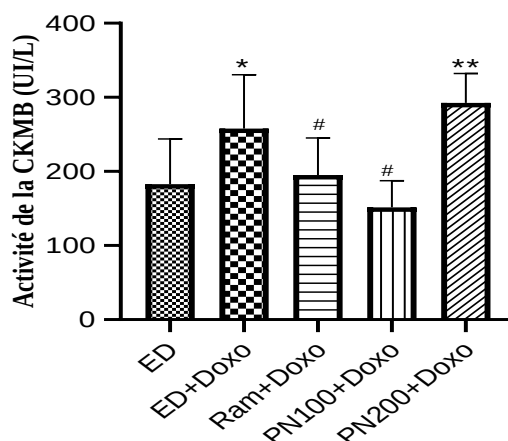


Figure 20 : Effets de l'extrait aqueux de *P. nitida* sur l'activité de la CK-MB.

Chaque barre représente la moyenne $\pm$ ESM, $n = 6$. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, différence significative par rapport au lot ED. # $p < 0,05$, différence significative par rapport au lot ED+Doxo. **ED** : Eau distillée (10 mL/kg) ; **Doxo** : Doxorubicine (10 mg/kg) ; **Ram** : Ramipril (10 mg/kg) ; **PN100** : Extrait aqueux de *P. nitida* (100 mg/kg) ; **PN200** : Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/kg).

III.1.4.2. Effets de l'extrait aqueux *P. nitida* sur l'activité de la lactate déshydrogénase

La Figure 21 présente les résultats du dosage de la lactate déshydrogénase (LDH) sérique chez les différents groupes. En référence au groupe témoin normal, il a été observé une augmentation significative de l'activité de la LDH chez les animaux traités à la doxorubicine (ED+Doxo) ($p < 0,001$). Le traitement à l'extrait de plante (100 mg/kg) tout comme au ramipril (10 mg/kg) a significativement ($p < 0,001$) diminué l'augmentation de l'activité de la LDH comparé au groupe ED+Doxo. Des baisses respectives de 40% et de 39 % ont été notées respectivement en présence du ramipril et de la plante à 100 mg/kg.

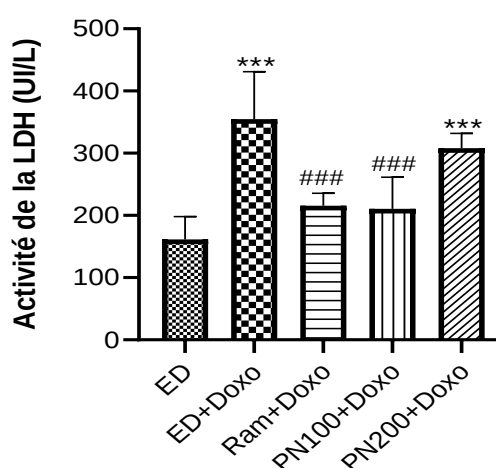


Figure 21 : Effets de l'extrait aqueux *P. nitida* sur l'activité de la lactate deshydrogénase.

Chaque barre représente la moyenne $\pm$ ESM, $n = 6$. *** $p < 0,001$, différence significative par rapport au lot ED. ### $p < 0,001$, différence significative par rapport au lot ED+Doxo. **ED** : Eau distillée (10mL/kg) ; **Doxo** : Doxorubicine (10 mg/kg) ; **Ram** : Ramipril (10 mg/kg) ; **PN100** : Extrait aqueux de *P. nitida* (100 mg/kg) ; **PN200** : Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/kg).

III.1.4.3. Effets de l'extrait aqueux *P. nitida* sur l'activité de l'aspartate aminotransférase

La Figure 22 présente l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT) chez les différents groupes. Aucune différence significative n'a été observée entre ces différents groupes.

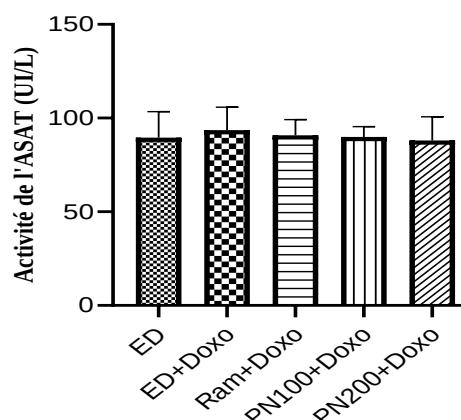


Figure 22 : Effets de l'extrait aqueux de *Picralima nitida* sur l'activité de l'ASAT.

Chaque barre représente la moyenne $\pm$ ESM, $n = 6$. **ED** : Eau distillée (10 mL/kg) ; **Doxo** : Doxorubicine (10 mg/kg) ; **Ram** : Ramipril (10 mg/kg) ; **PN100** : Extrait aqueux de *P. nitida* (100 mg/kg) ; **PN200** : Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/kg).

III.1.5. Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur les taux tissulaires de quelques marqueurs du stress oxydant

III.1.5.1. Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur la concentration cardiaque de malondialdéhyde

L'administration de la doxorubicine a entraîné une augmentation significative de la concentration du malondialdéhyde chez le groupe ED+Doxo ($p < 0,001$) ainsi que ceux ayant reçu les différentes doses de l'extrait de plante ($p < 0,001$) par rapport au groupe témoin normale (Figure 23). L'administration du ramipril a inhibé l'augmentation de la concentration de MDA par rapport au groupe témoin négatif.

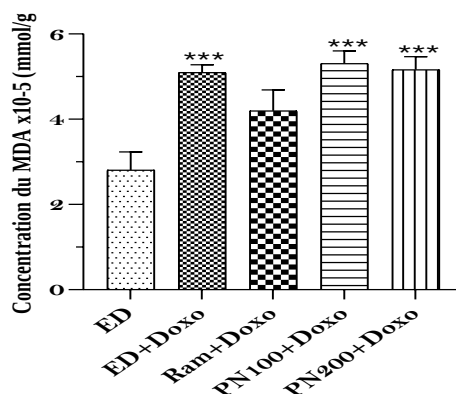


Figure 23 : Effets de l'extrait aqueux *P. nitida* sur la concentration en MDA au niveau du coeur.

Chaque barre représente la moyenne $\pm$ ESM, $n = 6$. *** $p < 0,001$, différence significative par rapport au lot ED. **ED** : Eau distillée (10 mL/kg) ; **Doxo** : Doxorubicine (10 mg/kg) ; **Ram** : Ramipril (10 mg/kg) ; **PN100** : Extrait aqueux de *P. nitida* (100 mg/kg) ; **PN200** : Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/kg). **MDA** : Malondialdéhyde

III.1.5.2. Effets de l'extrait aqueux de *P. nitida* sur la concentration cardiaque en nitrites

La production du monoxyde d'azote (NO) a été évalué par la mesure du taux de nitrites (comme indicateur du NO), l'un des produits finaux de la voie du NO. Le groupe témoin négatif ayant reçu de l'eau distillée (10 mL/kg) et de la doxorubicine (10 mg/kg) a présenté une augmentation significative de la concentration en nitrites ($p < 0,01$) par rapport au groupe témoin ayant reçu uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg). La plante aux différentes doses a entraîné une baisse significative des nitrites ($p < 0,001$) par rapport aux animaux ayant reçu la doxorubicine (Figure 24).

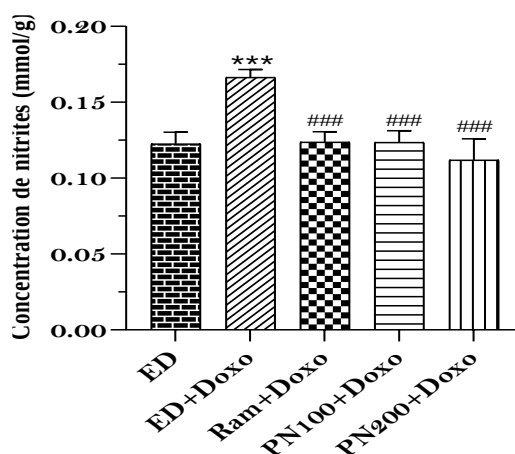


Figure 24 : Effets de l'extrait aqueux *Picralima nitida* sur la concentration de nitrites.

Chaque barre représente la moyenne $\pm$ ESM, $n = 6$. *** $p < 0,001$, différence significative par rapport au lot ED. ### $p < 0,001$, différence significative par rapport au lot ED+Doxo. **ED** : Eau distillée (10 mL/kg) ; **Doxo** : Doxorubicine (10 mg/kg) ; **Ram** : Ramipril (10 mg/kg) ; **PN100** : Extrait aqueux de *P. nitida* (100 mg/kg) ; **PN200** : Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/kg.)

III.1.5.3. Effets de l'extrait aqueux de *P. nitida* sur l'activité tissulaire de la superoxyde dismutase

Le groupe ayant reçu l'eau distillée et la doxorubicine a présenté une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'activité de la superoxyde dismutase par rapport au groupe témoin normale. L'extrait de plante a induit une baisse dose-dépendante de l'activité de la SOD, par rapport aux rats traités à la doxorubicine, avec des pourcentages de 41,64% et de 71,23% ($P < 0,05$) respectivement aux doses 100 et 200 mg/kg (Figure 25).

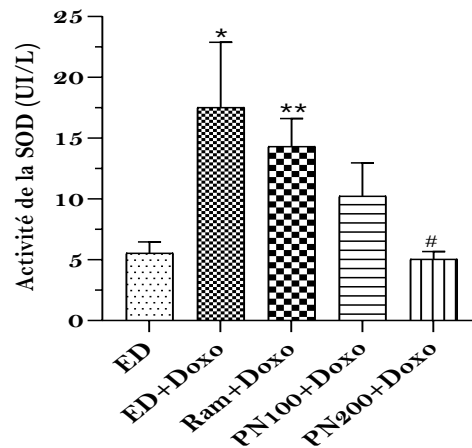


Figure 25 : Effets de l'extrait aqueux *Picralima nitida* sur la concentration de la SOD.

Chaque barre représente la moyenne $\pm$ ESM, $n = 6$. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, différence significative par rapport au lot ED. # $p < 0,05$, différence significative par rapport au lot ED+Doxo. **ED** : Eau distillée (10 ml/Kg) ; **Doxo** : Doxorubicine (10 mg/Kg) ; **Ram** : Ramipril (10 mg/Kg) ; **PN100** : Extrait aqueux de *P. nitida* (100 mg/Kg) ; **PN200** : Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/Kg). **SOD** : Superoxyde dismutase

III.1.5.4. Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur l'activité de la catalase

L'administration de la doxorubicine au groupe témoin négatif a entraîné une élévation significative de l'activité de la catalase par rapport aux rats normaux ($p < 0,001$). L'administration du Ramipril a entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) de celle-ci vis-à-vis des rats malades. L'administration de l'extrait a entraîné une diminution non significative de cette activité par rapport au témoin négatif (Figure 26).

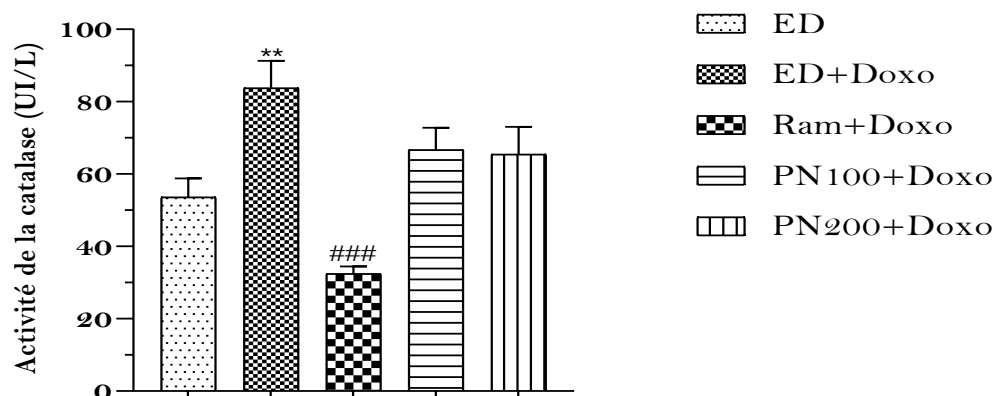


Figure 26 : Effets de l'extrait des graines de *Picralima nitida* sur l'activité de la catalase

Chaque barre représente la moyenne $\pm$ ESM, $n = 6$. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, différence significative par rapport au lot ED. ### $p < 0,001$, différence significative par rapport au lot ED+Doxo. **ED** : Eau distillée (10mL/kg) ; **Doxo** : Doxorubicine (10 mg/kg) ; **Ram** : Ramipril (10 mg/kg) ; **PN100** : Extrait aqueux de *P. nitida* (100 mg /kg) ; **PN200** : Extrait aqueux de *P. nitida* (200 mg/kg).

III.1.6. Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur les altérations tissulaires cardiaques et hépatiques induites par la doxorubicine chez le rat

III.1.6.1. Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur les modifications pathologiques du tissu cardiaque des rats

Les changements histopathologiques dans le myocarde des rats de tous les groupes d'étude sont illustrés sur la Figure 27. Le groupe témoin (ED) présente des caractéristiques normales du myocarde. L'examen des coupes de rats traités à la doxorubicine (ED+Dox), a révélé une infiltration leucocytaire entre les cardiomyocytes s'accompagnant d'une perte de l'uniformité tissulaire, révélatrice d'un début de myolyse. Le prétraitement au Ramipril a significativement amélioré la structure du myocarde, ainsi que celui à l'extrait de plante, surtout la dose de 100 mg/kg qui a maintenu l'apparence histologique normale du tissu cardiaque chez les rats soumis à la doxorubicine.

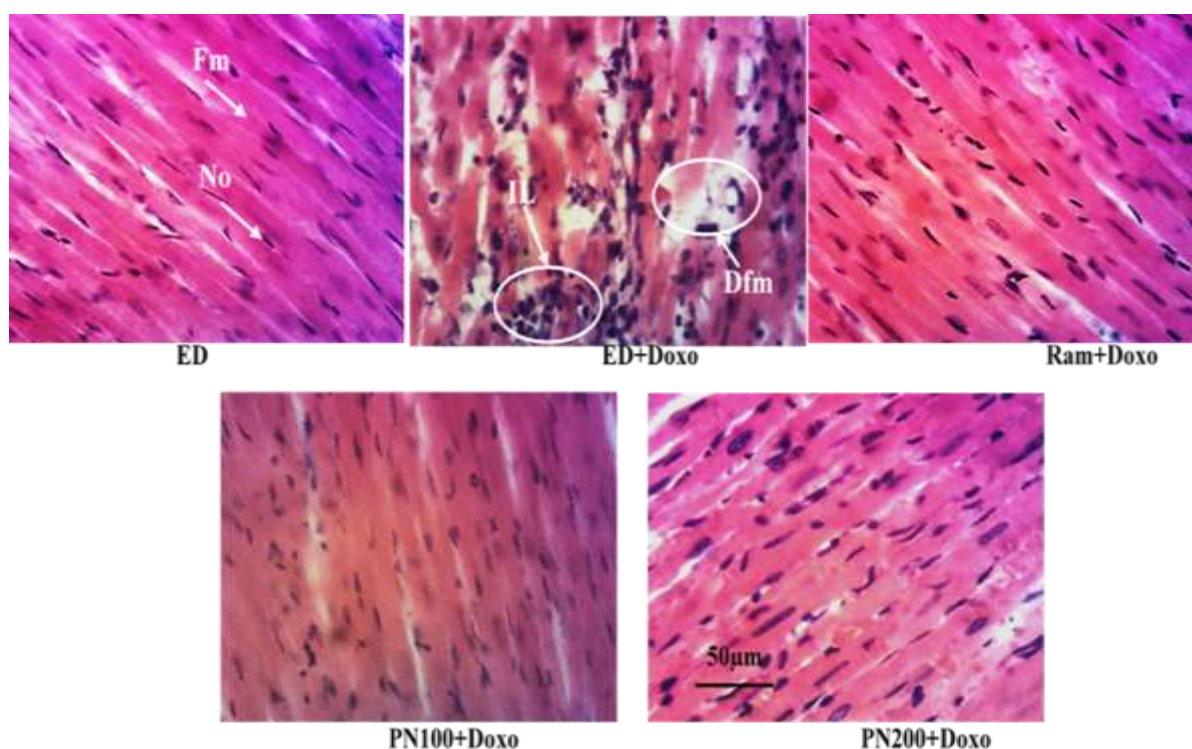


Figure 27 : Photographie des coupes histologiques du cœur (Hématoxyline-éosine x 100)

III.1.6.2. Effets de l'extrait aqueux des graines de *P. nitida* sur les modifications pathologiques du tissu hépatique des rats

Les changements histopathologies du foie des rats sont illustrés sur la Figure 28. Celle-ci laisse voir qu'en comparaison aux animaux normaux (ED), le groupe témoin négatif (ED+Doxo) présente une infiltration leucocytaire hépatique. L'administration de l'extrait a permis de

corriger cette altération en normalisant la microarchitecture du foie avec une veine centro-lobulaire et des hépatocytes bien différenciés.

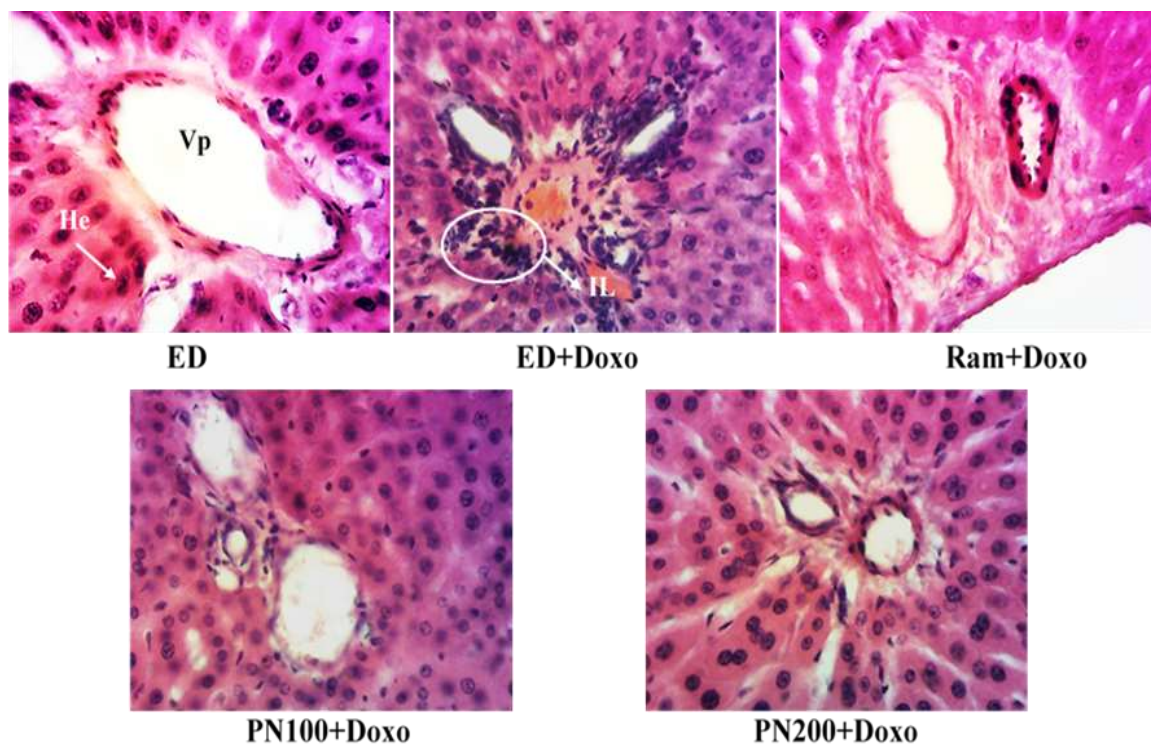


Figure 28 : Photographie des coupes histologiques du foie (Hématoxyline-éosine x 100)

Foie ; Vp : Veine porte, **He :** Hépatocyte, **Cb :** Canalicule biliaire, **IL :** Infiltration leucocytaire, **Ah :** Artère hépatique, **ED :** Eau distillée (10ml/Kg) ; **Doxo :** Doxorubicine (10 mg/Kg) ; **Ram :** Ramipril (10 mg/Kg) ; **PN100 :** Extrait aqueux de *Picralima nitida* (100 mg/Kg) ; **PN 200 :** Extrait aqueux de *Picralima nitida* (200 mg/Kg).

III.2. Discussion

La présente étude avait pour objectif d'évaluer les effets préventifs de l'extrait aqueux des graines de *Picralima nitida* contre la cardiomyopathie secondaire à l'administration de la doxorubicine, une anthracycline couramment utilisée en chimiothérapie.

La doxorubicine à la dose administrée a induit des modifications structurales et fonctionnelles remarquables du myocarde. Ceci a été montré dans notre étude à la suite d'une évaluation de l'activité électrique cardiaque (amplitudes et durées des ondes P, T, QRS, QT, ST), du statut oxydatif (MDA, NO₃⁻, SOD, catalase), des marqueurs de l'inflammation cardiaque (CK-MB, LDH, ASAT) et l'analyse histologique des tissus cardiaque et hépatique.

La doxorubicine est un médicament de la classe des anthracyclines dont les effets cardiotoxiques (Chahine, 2014) et hépatotoxiques (Prasanna *et al.*, 2020) ont été démontrées. Les mécanismes mis en jeu sont l'intercalation de l'ADN, la perturbation du métabolisme mitochondrial et la génération des espèces réactives de l'oxygène qui concourent à la mise en place de dommages cardiomyocytaires (Lacopo *et al.*, 2021 ; Rawat *et al.*, 2021 ; Huang *et al.*, 2022). La dose de 10 mg/kg utilisée dans ce travail induit un degré de dysfonctionnement cardiaque similaire à la dose 15 mg/kg, d'où son utilisation. De plus, elle équivaut à la dose toxique cumulée chez l'homme qui est de 550 mg/m² (Abdelatty *et al.*, 2021).

Il est bien établi que la doxorubicine est associée à la toxicité cardiaque, c'est pourquoi lors de la prise en charge des carcinomes, le contrôle de la fonction cardiaque est fortement recommandé (Jensen *et al.*, 2002 ; Renske *et al.*, 2009). L'évaluation de la toxicité myocardique est basée sur la mesure de la fonction ventriculaire gauche, de la fonction électrocardiographique et de l'hémodynamie (Tao *et al.*, 2018). Dans cette étude, la doxorubicine a entraîné un allongement de l'intervalle QT, de l'intervalle PR et du segment ST, ainsi qu'une élévation significative de l'amplitude des ondes P et T. Plusieurs études ont montré des anomalies de l'ECG résultant de l'administration aiguë ou subchronique de la doxorubicine (Jensen *et al.*, 2002 ; Renske *et al.*, 2009 ; Singh *et al.*, 2012). Ces résultats traduisent une altération des impulsions électriques et de la conduction cardiaque résultant des lésions des régions atriales et ventriculaires du cœur. L'extrait de plante et le ramipril ont prévenu les modifications induites par la doxorubicine. Le ramipril est un médicament de la classe des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ; il bloque la formation de l'angiotensine, facteur responsable de la constriction des artères. Toutefois, il possède également un rôle positif sur l'activité électrique du cœur de par ses effets hyperpolarisants en augmentant l'efflux de potassium (Ji-Zhou Xiang *et al.*, 1985 ; De Mello, 2002). La diminution de l'amplitude et de la durée des différentes ondes

par l'extrait de plante suggère une amélioration de l'activité électrique et de la conduction cardiaque. Les effets bénéfiques de *P. nitida* sur la fonction cardiaque seraient dus à ses différents composés, notamment les alcaloïdes, les glucosides, les flavonoïdes et les terpènes dont les effets antiarythmiques ont été démontrés (Eberhard *et al.*, 2010 ; Jie li *et al.*, 2017). Ces différents métabolites influenceraient ainsi l'activité électrique principalement en modulant la conductance des canaux sodiques, calciques et potassiques, et accessoirement en modifiant la chaîne de signalisation intracellulaire des cardiomyocytes qui module la perméabilité aux ions (Jie li *et al.*, 2017). C'est le cas des flavonoïdes qui, au niveau du cœur entraînent une inhibition, des canaux sodiques, calciques, potassiques ainsi que des canaux de fuites responsables de l'auto dépolarisation (Eberhard *et al.*, 2010).

Le développement d'une hypertension artérielle associée à une dysfonction cardiaque consécutive à la prise des anthracyclines a été démontré par plusieurs auteurs (Patel & Goyal 2011 ; Temiday *et al.*, 2017). Dans la présente étude, la doxorubicine a entraîné une augmentation significative de la PAD et non significative de la PAS. L'augmentation des pressions artérielles observées pourraient être la conséquence des mécanismes de compensation mis en place par l'organisme. En effet, l'altération de l'activité électrique telle qu'observée dans cette étude conduit généralement à la baisse du débit cardiaque, et donc de la pression artérielle. Dans le souci de rétablir un débit normal, des mécanismes de compensation tels que l'activation du système nerveux sympathique participent à l'augmentation du débit cardiaque, et de ce fait de la pression artérielle (Marieb, 2019). L'extrait de plante et le ramipril auraient prévenu l'élévation des pressions artérielles systolique et diastolique en empêchant l'activation du système cardioaccélérateur induisant une réduction de l'activité électrique cardiaque (Mohammed *et al.*, 2021). En outre, l'activité inhibitrice de l'enzyme de conversion de l'angiotensine du ramipril aurait grandement contribué à réduire la pression artérielle. De même, certains métabolites secondaires mis en évidence dans *P. nitida* tels que les flavonoïdes possèdent des effets inhibiteurs sur les canaux potassiques qui entraîneraient au niveau des muscles lisses une vasodilatation (Eberhard *et al.*, 2010) et donc une baisse de la pression artérielle qui a été largement démontrée dans plusieurs études (Naim *et al.*, 2014 ; Ciumărnean *et al.*, 2020).

La membrane plasmique joue un rôle important parce qu'elle est le siège de la genèse et de la propagation des courants électriques (Marieb, 2019), mais aussi parce qu'elle joue le rôle de barrière d'échanges entre les compartiments intracellulaire et extracellulaire. C'est pourquoi des facteurs tels que des toxines pouvant induire des lésions membranaires et cellulaires

participent non seulement aux perturbations de l'activité électrique globale (Aleksij & Klaus, 2005), mais aussi au relargage du contenu cellulaire dans le milieu extracellulaire. La cardiotoxicité peut ainsi être évaluée par la mesure des concentrations sanguines des enzymes intracellulaires telles que la créatine kinase (CK-MB), la lactate déshydrogénase (LDH), l'aspartate aminotransférase (ASAT), dont l'augmentation témoigne de l'altération de l'intégrité cellulaire (Rizwana *et al.*, 2016). La CK-MB est une enzyme intracellulaire qui catalyse la phosphorylation réversible de la créatine en créatine-phosphate. Cette isoforme est prédominante dans le myocarde sans toutefois être très spécifique car retrouvée également dans le muscle squelettique, la rate et la prostate (Lefèvre & Laperche, 2009). La LDH quant à elle est une enzyme cellulaire qui catalyse la transformation réversible du pyruvate en lactate. Elle est présente dans le foie, le cœur, les reins et bien d'autres organes (Lefèvre & Laperche, 2009). Les taux sériques de CK-MB et de LDH ont été significativement élevés dans le groupe témoin négatif par rapport au témoin normal. Plusieurs études ont rapporté des niveaux élevés de LDH, CK-MB chez les rats traités à la doxorubicine, témoignant de l'inflammation et de l'altération des cellules myocardiques (Eman *et al.*, 2011 ; Zhang *et al.*, 2017 ; Zare *et al.*, 2019). Ces résultats biochimiques et anomalies électrocardiographiques ont été confirmées par l'examen histopathologique des cardiomyocytes. En effet, une désorganisation importante des cardiomyocytes, caractéristique d'un début de myolyse et de myocardite en plus d'une importante infiltration leucocytaire témoignant d'une inflammation du tissu cardiaque a été observé chez les rats traités à la doxorubicine (Zare *et al.*, 2019). Des atteintes hépatiques ont été observées au niveau histologique par une infiltration leucocytaire importante témoignant aussi d'une hépatotoxicité de la doxorubicine (Prasanna *et al.*, 2020). Les graines de *P. nitida* ont inhibé de manière significative l'élévation des taux sériques de CK-MB et de LDH et les modifications histologiques induites par la doxorubicine au niveau cardiaque et hépatique. *P. nitida* aurait mis en jeu des mécanismes qui participeraient à la protection de l'intégrité des membranes des cardiomyocytes observés dans cette étude avec la diminution des biomarqueurs cardiaques au niveau sérique et l'amélioration de la microstructure du cœur et du foie.

Plusieurs études ont montré une corrélation positive entre le statut oxydatif et l'intégrité des membranes biologiques (Bonnaïfous *et al.*, 1999 ; Bergamini *et al.*, 2004 ; Migdal & Serres, 2011). Le stress oxydatif est un état de l'organisme au cours duquel s'installe un déséquilibre de la balance entre les radicaux libres prooxydants et les antioxydants, en faveur des radicaux libres, susceptibles d'induire des dégâts cellulaires irréversibles (Kumar *et al.*, 2022). Le stress oxydatif représente le mécanisme mis en jeu par la doxorubicine pour induire les cardiomyopathies

(Donatiello, 2002). Dans la présente étude, la doxorubicine a induit une augmentation significative des activités sériques de la SOD de la catalase et du taux de MDA. L'augmentation du taux de MDA traduit une peroxydation des lipides des membranes cellulaires pouvant témoigner d'une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes (Singh *et al.*, 2015). Les enzymes qui piègent les radicaux libres à savoir la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion-S-transférase constituent la première ligne de défense cellulaire contre le stress oxydant (Shim & Kim, 2013). En effet, la SOD dismute l'anion superoxyde O_2^- en dioxygène et peroxyde d'hydrogène (Yasui & Baba, 2006) ; la catalase convertit le H_2O_2 en eau et en oxygène (Kang *et al.*, 2013). L'équilibre dynamique entre ces enzymes et leurs substrats est un processus important pour la suppression des dommages causés par ce dernier. L'augmentation des taux de MDA observée est la conséquence d'une peroxydation lipidique en présence de radicaux libres dont fait partie l'anion superoxyde (O_2^-) (Ayoub, 2018). L'élévation aiguë des radicaux libres en quantité excessive sous l'action de la doxorubicine va stimuler l'expression massive des molécules antioxydantes telles que la SOD, la catalase et le glutathion réduit. Ce mécanisme réflexe se met généralement en place quelques heures après les effets néfastes de la doxorubicine et aurait pour but de neutraliser l'augmentation aiguë de ERO ou ERN produits à la suite de l'administration de la doxorubicine (Yusuf *et al.*, 2005, Pieniążek *et al.*, 2013). Ces résultats sont en contradiction avec ceux présentés par certains travaux (Singh *et al.*, 2012 ; El-Sayed *et al.*, 2013 ; Mustapha *et al.*, 2016). En effet, l'administration de la doxorubicine dans notre étude s'est faite de façon aiguë contrairement à ces travaux dans lesquels elle était administrée au moins de façon subchronique. Il a été démontré que l'élévation réflexe des mécanismes antioxydants observée à court terme s'épuise avec le temps, d'où la diminution des enzymes antioxydantes et du glutathion lors d'une induction subchronique ou chronique d'un stress oxydant par la doxorubicine (Yusuf *et al.*, 2005 ; Pieniążek *et al.*, 2013).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

L'objectif de la présente étude était d'évaluer les effets préventifs de l'extrait aqueux des graines de *Picralima nitida* contre la cardiomyopathie induite par la doxorubicine chez le rat. Il en ressort que cet extrait de *P. nitida* est capable de protéger contre les dommages induits par le traitement à la doxorubicine. Cette protection est évidente à travers :

- une croissance pondérale non altérée chez les rats traités à l'extrait de *P. nitida*, comparés à ceux traités au ramipril, médicament de référence ;
- un effet inhibiteur de l'élévation de la pression artérielle, de la fréquence cardiaque suivit d'un rétablissement du décours de l'électrocardiogramme ;
- la diminution de l'activité sérique des enzymes myocardiques marqueurs de l'inflammation et l'amélioration globale du statut antioxydant ;
- la protection du tissu hépatique et du tissu cardiaque contre la perte et la myocytolyse des fibres musculaires, l'infiltration leucocytaire et la dilatation consécutives à l'administration de la doxorubicine.

Le présent travail a montré que les effets cardioprotecteurs de l'extrait aqueux des graines de *Picralima nitida* résulteraient, au moins en partie, de ses propriétés antioxydantes. Afin de mieux déterminer les activités cardiovasculaires de cet extrait de plante, nous envisageons pour nos travaux futurs :

- d'approfondir l'évaluation biochimiques en dosant d'autres marqueurs spécifiques de la fonction cardiaque telles que les troponines T et I, la créatine phosphokinase et la myoglobine ;
- d'étudier des effets de cet extrait sur la réactivité vasculaire ;
- d'évaluer les effets préventifs de l'extrait sur l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induite par la doxorubicine.

REFERENCES

- Abdelatty, A.; Ahmed, M.S.; Abdel-Kareem, M.A.; Dmerdash, M.; Mady, R.; Saad, A.S.; Albrakati, A.; Elmahallawy, E.K.; Elsayak, A.; Abdo, W. 2021. Acute and Delayed Doxorubicin-Induced Myocardiotoxicity Associated with Elevation of Cardiac Biomarkers, Depletion of Cellular Antioxidant Enzymes, and Several Histopathological and Ultrastructural Changes. *Life* 11, 880.
- Adeolu A.A., Ademola A.Y., Olufunke O.F., Iyanuoluwa O.O., Blessing S.O., Temidayo O., Ademola A.O., 2022. The methanol leaf extract of *Picralima nitida* mitigated cisplatin-induced toxicities in rats through nuclear factor kappa beta, cardiac troponin, mineralocorticoid receptor. *Journal of Herbal Medicine* 11 (2), 226-237.
- Akabassi G.C., Padonou E. A., Chadane F.J. Assogbadja A. 2017. Importance ethnobotanique et valeur d'usage de *Picralima nitida* (stapf) Su sud-Benin (Afrique de l'Ouest). *International Journal of biological and Chemical Sciences* 11(5): 1979-1993
- Akinwunmi Kemi Eyisayo, Amadi Chizi Victor. 2019. Assessment of antioxidant and antidiabetic properties of *Picralima nitida* seed extracts. *Journal of Medical Plants Research* Vol. 13(1), pp. 9-17
- Aleksij & Klaus. 2005. Imaging α -Hemolysin with Molecular Dynamics: Ionic Conductance, Osmotic Permeability, and the Electrostatic Potential Map. *Biophysical Journal* Volume 88 3745–3761
- Angiosperm Phylogeny Group. 2009. An update of the angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161, 105-121
- Arena, R., J. Myers, M. A. Williams, M. Gulati, P. Kligfield, G. J. Balady, E. Collins, and G. Fletcher. 2007. Assessment of functional capacity in clinical and research settings: A scientific statement from the American Heart Association Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention of the Council on Clinical Cardiology and the Council on Cardiovascular Nursing. *Circulation* 116:329–343.
- Argulian E, Sherrid MV, Messerli FH. 2016. Misconceptions and facts about hypertrophic cardiomyopathy. *American Journal of Medicine* 129(2):148-152
- Arial Baikuntha, Rao Ashutos. 2016. Deficiency in cardiolipin reduce doxorubicin-induced oxidative stress and mitochondrial damage in human B-lymphocytes; PLOS one
- Ayoub Bensakhria. 2018. Toxicologie générale-le stress oxydant. *Researchgate* 326029822
- Bergamini M., Gambetti S., Dondi A., Cervellati C. 2004. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Current pharmaceutical design* 10 (14), 1611-1626

- Bers D. M. 2002. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature*, 415, 6868:198-205
- Bonnafe P., Vernhes Marie-Christine, Teissié J., Bruno Gabriel. 1999. The generative – oxygen species associated with long-lasting pulse-induced electropermeabilisation of mammalian cells is based on non-destructive alteration of the plasma membrane. *Biochimica et biophysica Acta* 1461 (1), 123-134
- Boombhi J., Menanga A., Doualla J.P., Hamadou B., Kuate L., Ntep M., Kingue S. 2016. Prévalence et mortalité des maladies cardiovasculaires en milieu hospitalier Camerounais : cas de deux hopitaux de référence de la ville de Yaoundé. *Tropical cardiology* Vol. 145/177
- Bragazzi Nicola Luigi, Wen Zhong, Jingxian Shu, Arsalan Abu Much, Dor Lotan, Avishay Grupper, Arwa Younis, and Haijiang Dai. 2021. Burden of heart failure and underlying causes in 195 countries and territories from 1990 to 2017. *European Journal of Preventive Cardiology* 28, 1682–1690
- Bruce, Alberts. 2019. Essential cell biology, Fifth edition. New York: W.W. Norton & Company,
- Chahine Nathalie. 2014. Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique. Thèse de doctorat, Université de Reims champagne-ardenne. 232 P
- Chatterjee Kanu, Jianqing Zhang, Norman Honbo, Joel S. Karliner. 2010. Doxorubicin cardiomyopathy. *Cardiology* 115:155-162
- Chauvet. 2015. *Picralima nitida* (fruitiers du Cameroun) Plant Use Français : 338
- Ciarambino, T., Menna, G., Sansone, G., Giordano, M. 2021. Cardiomyopathies: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences* 22, 7722.
- Ciumărnean L, Milaciu MV, Runcan O, Vesa ȘC, Răchișan AL, Negrean V, Perné MG, Donca VI, Alexescu TG, Para I, Dogaru G. 2020. The Effects of Flavonoids in Cardiovascular Diseases. *Molecules* 21; 25(18):4320.
- Clelia Madeddu, Deidda Martino; Piras Alessandra; Cadeddu Christian; Demurtas Laura ;Puzzoni Marco ; Piscopo Giovanna ; Scartozzi Mario ;Mercurio Giuseppe. 2016. Pathophysiology of cardiotoxicity induced by nonanthracycline chemotherapy; Wolters Kluwer. *Journal of Cardiovascular Medicine* volume 17, Supplement 1,1
- Colucci, W. S., and E. Braunwald. 1995. Heart failure: Cardiac function and dysfunction. In *Atlas of heart diseases*, 4th ed., edited by W. S. Colucci, editor. . Philadelphia, PA: Blackwell Science. Pp.128–142.
- Dalloz F, Maingon P, Cottin Y, Briot F, Horiot JC and Rochette L. 1999. Effects of combined irradiation and doxorubicin treatment on cardiac function and antioxidant defenses in the rat. *Free Radical Biology and Medicine* 26:785-800. 1999.

- De Mello, W. 2002. Electrical activity of the heart and angiotensin-converting enzyme inhibitors on the hyperpolarising action of enalapril. *J Hum Hypertens* **16** (Suppl 1), S89–S92.
- Delemasure S., Vergely c., Zeller M., Cottin Y., Rochette L. 2006. Prévention de la cardiotoxicité des anthracyclines : approche fondamentale des mécanismes mis en jeu, relation avec les données cliniques. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)* ; 55(2) :104-12.
- Donatiello, Cosima. 2002. La toxicité cardiaque des anthracyclines dans le traitement des tumeurs de l'enfant. Thèse de doctorat : Université de Genève no. Méd. 10264
- Eberhard P. Scholz, Edgar Zitron, Hugo A. Katus & Christoph A. Karle. 2010. Cardiovascular Ion Channels as a Molecular Target of Flavonoids, *Cardiovascular Therapeutics* 28
- El-Missiry MA, Othman AI, Amer MA, Abdel-Aziz MA. 2001. Attenuation of the acute Adriamycin-induced cardiac and hepatic oxidative toxicity by N-(2-mercaptopropionyl) glycine in rats. *Free Radic Res* 35:575–581
- El-Sayed M. Ammar, Shehta A. Said, Sally L. El-Damarawy & Ghada M. Suddek. 2013. Cardioprotective effect of grape-seed proanthocyanidins on doxorubicin-induced cardiac toxicity in rats *Pharmaceutical Biology* 51:3, 339-344
- Eman M., Amal S.A., Abeer A., Manal H., Hanaa H. 2011. Cardioprotective effects of Curcuma longa L. extracts against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Journal of Medecin Plants Research* 5 (17), 4049-4058.
- Erharuyi O., Falodun A. 2012. Free radical scavenging activities of methanol extract and fractions of *Picralima nitida* (Apocynaceae). *Journal of Applied Sciences and Environnemental Management* 16 (3) : 291-294.
- Erharuyi O., Falodun A., Langer P. 2014 Medicinal Uses, Phytochemistry and Pharmacology of *Picralima nitida* (Apocynaceae) in Tropical Diseases. *Asian Pacific Journal of Tropical Medecine* 7(1): 1-8
- Gandjbakhch Estelle, Phillipe Charron. 2018. Consensus d'experts sur les maladies cardiaques héréditaires : Prise en charge de la cardiomyopathie/ Dysplasie ventriculaire droite arythmogène ; Cardiogen, *société française de cardiologie*
- Girardin F., Perchère-Bertschi A. 2005. Traitement de l'hypertension artérielle et interactions médicamenteuses. *Revue médicale suisse* 1 : 2099-2104
- Guyen, Celal, Sevgiler, Yusuf. 2018. Mitochondrial Dysfunction Associated with Doxorubicine. *Intechopen* 80284

- Hala F. Abd-Ellah. 2012. Ameliorative effect of captopril against 5-fluorouracil-induced cardiotoxicity in rats: A study with the and Electron Microscope. *Journal of applied sciences Research* 8(2): 863-872, 2012
- Haute Autorité De Santé. 2021. Risque cardiovasculaire global en prévention primaire et secondaire : évaluation et prise en charge en médecine de premier secours.
- Heba H. Mansour, Shereen M. El Kiki, Hesham F. Hasan. 2015. Protective effect of N-acetylcysteine on cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats, *Elsevier Environmental toxicology and pharmacology* Volume 40, Issue 2, 417-422.
- Hortobágyi GN. 1997. Anthracyclines in the treatment of cancer. An overview. *Drugs* 54(4):1-7.
- Huang YH, Sue SH, Wu ZS, Huang SM, Lee SY, Wu ZF. 2022 Antitumorigenic Effect of Tramadol and Synergistic Effect with Doxorubicin in Human Breast Cancer Cells. *Front Oncol.* 26;12:811716.
- Jensen BV, Skovsgaard T, Nielsen SL. 2002. Functional monitoring of anthracycline cardiotoxicity: a prospective, blinded, longterm observational study of outcome in 120 patients. *Ann Oncol* 13:699–709
- Jie Li, Dan Hu, Xiaoli Song, Tao Han, Yonghong Gao, Yanwei Xing. 2017. The Role of Biologically Active Ingredients from Natural Drug Treatments for Arrhythmias in Different Mechanisms, *BioMed Research International* Volume 2017, Article ID 4615727, 10 pages
- Ji-Zhou Xiang, Wolfgang Linz, Hans Becker, Detlev Ganten, Rudolf E. Lang, Bernward Schölkens, Thomas Unger. 1985. Effects of converting enzyme inhibitors: Ramipril and enalapril on peptide action and sympathetic neurotransmission in the isolated heart, *European Journal of Pharmacology* Volume 113, Issue 2, Pages 215-223
- Johner Nicolas, Namdar Mehdi, Dipen Shah. 2018. Intra and interatrial conduction abnormalities: hemodynamic and arrhythmic significance. *Journal of interventional cardiac electrophysiology* 52:293 302
- Kang, M., Kim, HB., Piao, C. *et al.*, 2013. The critical role of catalase in prooxidant and antioxidant function of p53. *Cell Death Differ* **20**, 117–129
- Kim, SY., Kim, SJ., Kim, BJ. *Et al.*, 2006. Doxorubicin-induced reactive oxygen species generation and intracellular Ca²⁺ increase are reciprocally modulated in rat cardiomyocytes. *Experimental and Molecular Medecin* 38, 535-545.
- Komolafe K., Akinmoladun AC, Olaleye MT. 2013. Methanolic leaf extract of *Parkia biglobosa* protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats *International Journal of Applied Research in Natural Products* Vol. 6 (3), pp. 39-47.

- Kouitcheu L. B. M., Tamesse J. L. and Kouam J. 2013. The anti-shigellosis activity of the methanol extract of *Picralima nitida* on *Shigella dysenteriae* type I induced diarrhoea in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13: 211.
- Kouitcheu, L. B., Kouam, J., Atangana, P. and Etoa, F. X. 2008. Phytochemical screening and toxicological profile of methanolic extract of *Picralima nitida* fruit-rind (*Apocynaceae*). *Toxicological & Environmental Chemistry*, 90: 815-828.
- Kubat GB, Ozler M, Ulger O, Ekinici O, Atalay O, Celik E, Safali M, Budak MT. 2021. The effects of mesenchymal stem cell mitochondrial transplantation on doxorubicin-mediated nephrotoxicity in rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 35(1):e22612.
- Kumar S, Saxena J, Srivastava VK, Kaushik S, Singh H, Abo-El-Sooud K. 2022. The interplay of oxidative stress and ROS scavenging: Antioxydants as a therapeutic potential in sepsis. *Vaccines (basel)*.;10(10):1575.
- Kushwaha SS, Fallon JT, Fuster V. 1997. Restrictive cardiomyopathy. *New England Journal of Medicine* 336(4):267-276.
- Lacopo Fabiani, Alberto Aimò, Chrysanthos Grigoratos, Vincenzo Castiglione, Francesco Gentile, Luigi Saccaro, Chiara Arzilli, Daniela Cardinale, Claudio Passino, Michele Emdin. 2021. Oxidative stress and inflammation: determinants of anthracyclines cardiotoxicity and possible therapeutic targets. *Heart Failure Reviews* 26:881–890
- Lacour B., Belon Jean-Paul. 2016. *Physiologie humaine*. Elsevier Masson, 485 pages
- Langlard. 2010. *Cardiomyopathies restrictives*. Elsevier masson
- Lefèvre G., Laperche T. 2009. Marqueurs biochimiques du syndrome coronarien aigu. *Revue Francophone des Laboratoires* Vol 2009, Issue 409
- Li Li; Jaime Desantiago, Guoxiang Chu ; Evangelia G.; Krania; Donal M. 2000. Phosphorylation of phospholamban and troponin I in beta adrenergic induced acceleration of cardiac relaxation. *Journal of physiology heart and circulation physiology* 2178:H769-H779.60
- Lorenzi D. C., Lehmann A., Tognon M. 2009. Infarctus du myocarde-Prise en charge. Faculté de Médecine, Université de Genève. 82 p.
- Lubgan D, Marczak A, Walczak M, Distel L and Jóźwiak Z. 2006. Pharmacological mechanisms of Doxorubicin activity (DOX) - current state of knowledge. *Przegl Lek*. 63(9):782-8.
- Luk A, Ahn E, Soor GS, Butany J. 2009. Dilated cardiomyopathy: a review. *Journal of Clinical Pathology* 62(3):219-225.
- Marieb Elaine. 2019. *Anatomie et physiologie humaine*. Pearson ERPI, 11^e édition 1310 pages

- Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, Moss AJ, Seidman CE, Young JB. 2006. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: *Circulation* 113:1807–1816.
- Martin Sterba, Olga Popelova, Anna Vavrova, Eduard Jirkovsky, Petra Kovarkova, Vladimir Gers, and Tomaas Simunek. 2012. Oxidative Stress, Redox Signaling, and Metal Chelation in Anthracycline. *Cardiotoxicity and Pharmacological Cardioprotection* Volume 18, Number 8, 2013 Mary Ann Liebert, Inc.
- Mawout NAR, Nyunai Nyemb, Ngo Lemba TE, Nguimmo MA, Medou MF. 2020. Acute and subacute effects of aqueous extracts of *Picralima nitida* seeds on dexamethasone-induced insulin resistance in rats. *Annal of Biological Sciences*. 8 (1):1-11.
- Migdal C, Serres M. 2011. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant [Reactive oxygen species and oxidative stress]. *Med Sci (Paris)* 27(4):405-12.
- Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. 2004. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacological Revue* 56:185–229.
- Mohammed, T., Singh, M., Tiu, J.G. *et al.*, 2021. Etiology and management of hypertension in patients with cancer. *Cardio-Oncology* 7, 14.
- Moller B.L., Seedorff and F. Narthey. 1972. Alkaloids of *Picralima nitida*. *Phytochemistry* 2620-2621.
- Murphy. 2009. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem journal* 417, 1-13
- Naim Terai, Alexandra Gedenk, Eberhard Spoerl, Lutz E Pillunat, Richard Stodtmeister 2014. The short-term effect of flavonoid-rich darkchocolate on retinal vessel diameter in glaucomapatient and age-matched controls. *Acta ophtalmologica*, 92(5): 341-345
- Nasser Razmaraii¹, Hossein Babaei¹, Alireza Mohajjel Nayebi³, Gholamreza Assadnassab, Javad Ashrafi Helan Yadollah Azarmi. 2016. Cardioprotective Effect of Grape Seed Extract on Chronic Doxorubicin-Induced Cardiac Toxicity in Wistar Rats, *Advanced Pharmaceutical Bulletin* 6(3), 423-433
- Nkere, C. K. and Iroegbu, C. U. 2005. Antibacterial screening of the root, seed and stem bark extracts of *Picralima nitida*. *African Journal of Biotechnology*, 4(6): 522-526
- Nwakile, C.D and Okore, V. C. 2011. *Picralima Nitida* Seed Oil I: Hypoglycemic Activity. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, 2: 147-153.
- Olson, R.D. and Mushlin, P.S. 1990. Doxorubicin cardiotoxicity: analysis of prevailing hypotheses. *The FASEB Journal* 4: 3076-3086.

- OMS. 2022. Maladies cardiovasculaires. [www. Who.int/tr/health-topi/cardiovascular-diseases](http://www.who.int/tr/health-topi/cardiovascular-diseases). Consulté le 17-05-2022
- Osualaa F. N., S. I. Inya-Agha, U. E. Odoh, C. O. Ezeugwu and S. C. Ohadoma. 2018. Pharmacognostic studies on the seeds of *Picralima Nitida* Stapf (Apocynaceae). *International Journal of Pharmacy* 548-563.
- Patel SS, Goyal RK. 2011. Cardioprotective effects of gallic acid in diabetes-induced myocardial dysfunction in rats. *Pharmacology Research* 3:239–45.
- Pellegrini S., Marco D., Eleonora F., Maria C., Vincenzo G. , Matteo R., Federica L., Yand A. 2020. MicroRNAs in Cancer Treatment-Induced Cardiotoxicity. *Cancers* 12, 704
- Pfizer Canada SRI 17300. 2019. Monographie du produit chlorydrate de doxorubicine. No de contrôle de la présentation : 227965
- Pieniążek A., Czepas J., Piasecka-Zelga, Gwoździński J., Koceva-Chyła, 2013. Oxidative stress induced in rat liver by anticancer drugs doxorubicin, paclitaxel and docetaxel. *Advances in Medical Sciences* Volume 58, Issue 1, Pages 104-111
- Prasanna PL, Renu K, Valsala Gopalakrishnan A. 2020. New molecular and biochemical insights of doxorubicin-induced hepatotoxicity. *Life Science* 1; 250:117599
- Rawat PS, Jaiswal A, Khurana A, Bhatti JS, Navik U. 2021. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: An update on the molecular mechanism and novel therapeutic strategies for effective management. *Biomed Pharmacother* 139:111708.
- Renske Altena, Patrick J.P., Dirk J., Elisabeth GE de ries, Jourik A. 2009. Cardiovascular toxicity cause by cancer treatment: strategies for early detection. *The Lancet Oncology*. Volume 10, Issue 4, Pages 391-399.
- Rizwana A., Tanvir E. M., Nurul K., Sabir H. M., Nadia A., Siew H. G., Ibrahim K. M. 2016. Sundarban honey confers protection against isoproterenol-induced myocardial infarction in Wistar rats. *BioMed Research International*, vol. 2016, Article ID6437641. 10 p.
- Salemi VMC, Mohty D, Altavila SLL, Melo MDT, Kalil Filho R, Bocchi EA. 2021. Insights into the Classification of Cardiomyopathies: Past, Present, and Future Directions. *Clinics* (Sao Paulo) 76:e2808
- Schlitt A, Jordan K, Vordermark D, Schwamborn J, Langer T, Thomssen C. 2014. Cardiotoxicity and oncological treatments. *Deutsches Ärzteblatt International* 111(10): 161
- Schmelzer, G.H. & Gurib-Fakim, A. 2008. Ressources végétales de l'Afrique tropicale 11(1). Plantes médicinales 1. [Traduction de : Plant Resources of Tropical Africa 11(1). Medicinal plants

- 1.2008].Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas/Backhuys Publishers, Leiden, Pays-Bas/CTA,Wageningen, PaysBas. 869 p
- Seal alaytical. 1994. Nitrate and Nitrite in Water. Waste Water and Soil Extracts, Method No. G-109-94, Rev. 7.
- Sengul, Gelen, Gedikli. 2021. Cardioprotective activities of quercetin and ruti in Sprague Dawley rats treated with 5-fluorouracil *Journal of animal & plant sciences* Vol.31 Issue 2, 423-432
- Sherwood Lauralee. 2014. Human physiology: from cell to systems, 9th edition cengage 912 pages
- Shim SY, Kim HS. 2013. Oxidative stress and the antioxidant enzyme system in the developing brain. *Korean Journal of Pediatrics* 56(3):107-11.
- Singal PK, Deally CM, Weinberg LE. 1987. Subcellular effects of Adriamycin in the heart: a concise review. *Journal of Molecular Cell Cardiology* 19: 817–828
- Singal PK, Illiskovic N. 1998. Doxorubicin-induced cardiomyopathy. *N Engl J Med* 339:900–905
- Singh M. K, Faisal Mohd, Ahmad Ayaz, Sonkar Ankur, Yadav Jyoti. 2012. Protective effect of *lagenaria siceraria* against doxorubicin induced cardiotoxicity in wistar rats. *International Journal of Drug Development and Research* 4(2): 298-305
- Singh Z., Karthigesu I., Singh P., Kaur R. 2015. Use of Malondialdehyde as a Biomarker for Assessing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies: a Review. *Iran Journal Public Health* 43(3):7-16.
- Susana F. Llesuy, Silvia Lores Arnaiz. 1990. Hepatotoxicity of mitoxantrone and doxorubicin. *Toxicology* 63(2): 187-198
- Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. 2003. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin. A retrospective analysis of three trials. *Cancer*; 97:2869–2879
- Szuławska A and Czyz M. 2006. Molecular mechanisms of anthracyclines action. *Postepy Hig Med Dosw.* 60:78-100.
- Takemura G, Fujiwara H. 2007. Doxorubicin-induced cardiomyopathy from the cardiotoxic mechanisms to management. *Progress of Cardiovascular Diseases* 49:330–352.
- Tannock I, Hill R, Bristow R and Harrington L. 2004. *The basic science of oncology*, 4 ed. New York: McGraw-Hill Health Professions Division 555p.
- Tao Ma, Amit D. Kandhare, Anwesha A. Mukherjee-Kandhare, Subhash L. Bodhankar,. 2018. Fisetin, a plant flavonoid ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity in experimental rats: the decisive role of caspase-3, COXII, cTn-I, iNOs and TNF- α , *Molecular Biology Reports*.
- Temiday O. Omóbòwálé, Ademola A. Oyagbemi*, Ayorinde M. Folasire, Temitayo O. Ajibade, Ebunoluwa R. Asenuga, Olumuyiwa A. 2017. Ameliorative effect of gallic acid on

- doxorubicin-induced cardiac dysfunction in rats. *Journal of Basic Clinical Physiology and Pharmacology* 2(3): 123-126
- Tortora G.J., Bryan Derrickson 2017, Principles of anatomy and physiology, 15th edition Wiley 1235 p
- Tortora G.J., Grabowski S.R. 1994. Principes d'anatomie et de physiologie. 2e édition française, De Boeck Université, Canada. pp 636-639.
- Ubulom, P., Akpabio, E., Udobi, C.E. and Mbon, R. 2011. Antifungal Activity of aqueous and ethanolic extracts of *Picralima nitida* seeds on *Aspergillus flavus*, *Candida albicans* and *Microsporum canis*. *Research in Pharmaceutical Biotechnology*, 3(5): 57-60.
- William J. McKenna, Barry J. Maron, Gaetano Thiene 2017; Classification, Epidemiology, and Global Burden of Cardiomyopathies. *Circulation Research* 121(7):722-730.
- Willis Monte S., Traci L. Parry, David I. Brown, Roberto I. Mota, Wei Huang, Ju Youn Beak, Michael Sola, *Et al.*, 2019. Doxorubicin exposure causes subacute cardiac atrophy dependent upon the striated muscle-specific ubiquitin ligase. *Circulation Heart Failed* 12(3):e005234.
- Yasui, K., Baba, A. 2006. Therapeutic potential of superoxide dismutase (SOD) for resolution of inflammation. *Inflammation research*. 55, 359–363.
- Yusuf Kalender, Mustafa Yel, Suna Kalender. 2005. Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats The effects of vitamin E and catechin. *Toxicology* 209(1): 39-45
- Yuyun M.F., Sliwa K., Kengne A.P., Mocumbi A.O., Bukhman G. 2020. Cardiovascular diseases in sub-saharian Africa compared to high income countries: An epidemiological perspective. *Global Heart* 12;15(1):15
- Zare MFR, Rakhshan K, Aboutaleb N, Nikbakht F, Naderi N, Bakhshesh M, Azizi Y. 2019. Apigenin attenuates doxorubicin induced cardiotoxicity via reducing oxidative stress and apoptosis in male rats. *Life Science* 1;232:116623.
- Zhang Yan-Yan, Minhan Yi, Huang Yong-Pan. 2017. Oxymatrine ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity in rat. *Cellular physiology and biochemistry* 43 (2), 626-635

ANNEXES

1. Préparation de la solution de physiologique de Mac Ewen

La composition (en mM) de la solution était la suivante : NaCl : 147 ; KCl : 5,6 ; CaCl₂ : 2,6 ; NaH₂PO₄ : 0,66 ; NaHCO₃ : 11,9 ; MgCl₂ : 0,24 ; C₆H₁₂O₆ : 11. Pour la préparation de cette solution, deux solutions 1 et 2 ont été préalablement préparées comme suit :

- Solution 1 : dans 500 mL d'eau distillée ont été dissous respectivement 8,6 g de NaCl ; 0,42 g de KCl ; 0,109 g de NaH₂PO₄ ; 1 g de NaHCO₃ ; 0,03 de MgCl et 2 g de C₆H₁₂O₆
- Solution 2 : dans 50 mL d'eau distillée ont été dissous 0,28 g de CaCl₂.

Les deux solutions ont été mélangées après dissolution totale et le volume a été ajusté à 100 mL avec de l'eau distillée. Cette solution a été préparée pour la réalisation des homogénats.

2. Préparation de la solution de formaldéhyde tamponnée au phosphate sodique

La solution de formol 10 % a été préparée à partir d'une solution mère de formol 40%. Pour la préparation de 1500 mL de solution, nous avons prélevé 375 mL d'une solution de formol 40% à laquelle nous avons ajouté 9,75 g de Na₂HPO₄ et 6 g de NaH₂PO₄. Après homogénéisation nous avons complété avec de l'eau distillée dans une éprouvette jusqu'à obtenir 1500 mL de solution.

3. Préparation de la solution de NaCl 0,9%

Pour la préparation de 1500 mL de solution de NaCl 0,9%, nous avons pesé 13,5g de NaCl anhydre grâce à une microbalance électronique ; que nous avons introduit dans une éprouvette de 1500 mL. Par la suite nous avons rajouté de l'eau distillée jusqu'à un volume de 1500mL que nous avons par la suite homogénéisé.

4. Préparation de la solution d'uréthane

Pour obtenir 20 mL de solution d'uréthane à 15%, 3 g de cristaux d'uréthane (Fluka, Suisse) ont été dissous dans une quantité suffisante d'eau distillée pour 20 mL de solution. Le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un agitateur magnétique.

5. Préparation de la solution d'héparine

Un volume de 1 mL d'héparine (Sanofi Aventis, Allemagne) a été solubilisé dans du NaCl à 9 ‰ en quantité suffisante pour 100 mL de solution (1%).

6. Préparation de la solution de Ramipril

Une solution de concentration 1 mg/mL a été préparée en solubilisant 1 comprimée de 10 mg (Ferrer, Canada) dans 10 mL d'eau distillée.

7. Préparation de la solution de Doxorubicine

Une solution de concentration 2mg/ml a été préparée en solubilisant 50 mg d'hydrochlorure de doxorubicine lyophilisé contenu dans un flacon (Zydus Cellexa, Inde) avec 25 ml d'eau stérile.

8. Préparation du réactif de biuret

Deux solutions A et B ont été préalablement préparées comme suit :

- Solution A : dans 50 mL d'eau distillée ont été dissouts 0,75 g de CuSO_4 , H_2O et 3 g de tartrate de Na^+ et K^+ , H_2O .
- Solution B : dans 100 mL d'eau distillée ont été ajoutés 15 mg de NaOH et 300 mL de NaCl 0,9%.

Les solutions A et B ont été mélangées et le volume final a été ajusté à 500 mL avec de l'eau distillée. Le mélange obtenu est stable à température ambiante.