

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET
PHYSIOLOGIE ANIMALES

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE
ANIMALE



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY
AND PHYSIOLOGY

LABORATORY OF ANIMAL
PHYSIOLOGY

Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Paullinia pinnata* Linn (Sapindaceae) sur la néphrotoxicité induite par la gentamicine

Mémoire

Présenté et soutenu en vue de l'obtention du Master en Biologie des Organismes Animaux

Option: Physiologie Animale

Par

MBONG ESSOH Philippe Rodrigue

Licencié ès-Sciences

Matricule: 09Q0225

Sous

La direction de

DIMO Théophile
Professeur

Année 2015



SOMMAIRE

SOMMAIRE.....	i
DEDICACES.....	v
REMERCIEMENTS	vi
LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES TABLEAUX	viii
LISTE DES ABBREVIATIONS.....	ix
RESUME.....	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCTION.....	1
I. REVUE DE LA LITTERATURE	3
I.1. Description générale du rein.....	3
I.1.1. Anatomie générale du rein.....	3
I.1.2. Le néphron	4
I.1.3. Le corpuscule rénal	4
I.1.4. Le tubule.....	5
I.1.5. Le tube collecteur	6
I.1.6. L' interstitium	6
I.1.7. Les capillaires péritubulaires	6
I.1.8. L'appareil juxtaglomérulaire	6
I.2. Vascularisation du rein	6
I.3. Physiologie rénale	7
I.3.1 La filtration glomérulaire	7
I.3.2 La réabsorption tubulaire.....	7
I.3.3 La sécrétion tubulaire	8
I.4. Les pathologies rénales.....	8
I.4.1 L'atteinte rénale aiguë.....	8
I.4.2 L'atteinte rénale chronique	9
I.5. Néphropathies	9
I.5.1 Origines et causes des néphropathies.....	9
I.5.2 Types de néphropathies.....	9
I.5.2.1. Les glomérulopathies.....	9
I.5.2.2. Les néphropathies tubulo-interstitielles.	10
I.5.2.3. Néphropathies vasculaires	10
I.5.2.4. La néphropathie aux anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS)	10

I.5.3	Facteurs de risques	10
I.6.	Evaluation de la fonction rénale.....	11
I.6.1	Urée.....	11
I.6.2	Créatininémie.....	11
I.6.3	Electrolytes.....	11
I.6.4	Equilibre acido-basique	11
I.6.5	Modification hématologique	12
I.6.6	Modification du volume urinaire	12
I.7.	Néphrotoxicité et stress oxydant	12
I.8.	Quelques modèles d'inductions de la néphrotoxicité	13
I.9.	Traitement de la néphrotoxicité	14
I.9.1	Traitement par la méthode conventionnelle.....	14
I.9.2	Traitement par méthode non conventionnel	14
I.9.2.1	Le contrôle de la Tension Artérielle.....	14
I.9.2.2	Instaurer un régime alimentaire adapté.....	14
I.9.2.3	Maîtriser les autres facteurs de risque cardio-vasculaires.....	15
I.9.2.4	La phytothérapie.....	15
I.10.	<i>Paullinia pinnata</i>	15
I.10.1	Taxonomie.....	15
I.10.2	Description botanique et phytochimie	15
I.10.3	Ethnobotanique.....	16
I.10.4	Utilisations ethnopharmacologiques.....	16
II.	MATERIELS ET METHODES.....	18
II.1.	Matériel	18
II.1.1	Animaux d'expérience.....	18
II.1.2	Matériel végétal	18
II.2.	Méthodes	18
II.2.1	Préparation de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Paullinia pinnata</i>	18
II.2.2	Préparation des solutions de travail.....	19
II.2.3	Procédure d'obtention des échantillons.....	22
II.2.3.1	Sacrifice des animaux et préparation du plasma.....	22
1 II.2.3.2	Prélèvement des organes et préparation des homogénats	22
II.2.4	Analyses de quelques paramètres biochimiques	22
II.2.4.1	Dosage des protéines totales.....	22
II.2.4.2	Dosage des transaminases sériques	23
II.2.4.3	Dosage de l'albumine	24

II.2.4.4	Dosage de la créatinine sérique	25
II.2.4.5	Dosage des ions potassium	25
II.2.4.6	Dosage des ions sodium	26
II.2.4.7	Dosage de l'urée sérique.....	26
II.2.5	Evaluation de quelques paramètres du stress oxydant tissulaire	27
II.2.6	Techniques histologiques	31
II.2.7	Expression et analyses statistiques	31
III.	Résultats et discussion	33
III.1	Résultats	33
III.1.1	Traitement préventif	33
III.1.1.1	Effet sur le poids relatif des organes.....	33
III.1.1.2	Effet sur l'évolution pondérale	33
III.1.1.3	Effets préventifs de l'extrait aqueux de <i>P.pinnata</i> sur quelques paramètres sériques de la fonction hépatique	34
III.1.1.6	Effets préventifs de l'extrait aqueux de <i>P. pinnata</i> sur quelques paramètres du stress oxydatif	36
III.1.1.6.1	Effets sur le taux de protéines tissulaires.....	36
III.1.1.6.2	Effets sur l'activité de la Catalase et la Superoxyde dismutase.....	37
III.1.1.6.3	Effets sur les nitrites et le malondialdéhyde.	38
III.1.1.6.4	Effets sur la teneur en glutathion réduit.....	39
III.1.1.7	Coupes histologiques :.....	40
III.1.1.7.1	Effet préventif de <i>P. pinnata</i> sur l'histologie du foie.	40
III.1.1.7.2	Effet préventif de <i>Paulinnia pinnata</i> sur l'histologie du rein.	40
III.1.2	Traitement curatif	41
III.1.2.1	Effet sur le poids relatif des organes.....	41
III.1.2.2	Effet sur l'évolution pondérale	42
III.1.2.3	Effets curatif de l'extrait aqueux de <i>P.pinnata</i> sur quelques paramètres sériques de la fonction hépatique.....	43
III.1.2.4	Effets curatif de l'extrait aqueux de <i>P.pinnata</i> sur quelques paramètres sériques de la fonction rénale.	43
III.1.2.5	Effets sur le taux de protéines sérique	44
III.1.2.6	Effets curatif de l'extrait aqueux de <i>P.pinnata</i> sur quelques paramètres du stress oxydatif.....	44
III.1.2.6.3	Effets sur les nitrites et le malondialdéhyde	46
III.1.2.7	Coupes histologiques dans le traitement curatif :	48
III.1.2.7.2	Effet Curatif de <i>P. pinnata</i> sur l'histologie du rein	49
III.2	DISCUSSION.....	51
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	56
	REFERENCES	57

DEDICACES

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer mes remerciements à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce travail :

➤ Au Professeur DIMO Théophile, je voudrais vous témoigner ma reconnaissance pour avoir encadré ce travail. Je vous remercie particulièrement pour votre rigueur scientifique, votre exigence, votre disponibilité et vos encouragements qui ont permis la réussite de ce travail ;

➤ A tous mes Enseignants de Physiologie Animale, trouvez ici l'expression de mon estime et de ma profonde gratitude pour m'avoir fait bénéficier de vos conseils, de vos compétences et de vos connaissances;

➤ Aux différents membres du jury, vous me faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail afin de me permettre de l'améliorer;

➤ A Mme DIGOM Taylor Aurélie Crescence, merci pour la réalisation des travaux préliminaires (screening, récolte de la plante et préparation de l'extrait de plante) de ce travail ;

➤ A M. ABOUBAKAR Farouck, grâce à tes encouragements constants, tes conseils avisés et surtout ton amitié bienveillante, j'ai pu persévérer dans ce travail. Je te remercie pour tous les efforts incessants consentis pour son aboutissement;

➤ A Mme TCHOUPOU Huguette ()

➤ A tous mes aînés du Laboratoire de Physiologie Animale et en particulier à KAMENI Mireille, MENGUE Sandrine, FOU DA Yannick, OBAMA Pierre, merci pour l'atmosphère amicale au sein du laboratoire, pour votre soutien et pour vos encouragements;

➤ A mes camarades de promotion, particulièrement à DJIENTCHEU Yvan FEMOE Ulrich MBOLANG Lohik, FOGAN Balotin EDENE Yolande, NEKAM Arnaud et NOUTCHA Diane, je voudrais vous témoigner mon amitié et mes remerciements, votre disponibilité et votre enthousiasme ont contribué à mon épanouissement personnel et scientifique au cours de cette année de master;

➤ Finalement, je formule une dernière pensée à mes parents, mon frère, mes amis,... et plus particulièrement à ma compagne, Sylvie, qui a souffert des sacrifices qu'exige la réalisation de ce mémoire . Merci à tous pour votre aide, vos encouragements et votre présence.

LISTE DES FIGURES

Figure1 : anatomie interne du rein.	3
Figure 2 : schéma d'un néphron.	4
Figure 3 : schéma d'un corpuscule rénal.	4
Figure 4 : schéma de néphrons cortical et juxta-médullaire.	5
Figure 5 : <i>Paullinia pinnata</i>	16
Figure 6 : Préparation de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Paullinia pinnata</i>	19
Figure 7 : Courbe d'étalonnage des protéines.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 8 : Courbes d'étalonnage d'ASAT (A) et d'ALAT (B).....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 9 : Courbe d'étalonnage des nitrites	28
Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la catalase	29
Figure 11 : Effet préventif de <i>P. pinnata</i> sur l'évolution pondérale	Erreur ! Signet non défini.
Figure 12 : Effet préventif de <i>P.pinnata</i> sur le taux de de protéines tissulaire	37
Figure 13 : Effet préventif de <i>P.pinnata</i> sur l'activité de la Catalase et de la Superoxyde dismutase	38
Figure 14 : Effet préventif de <i>P.pinnata</i> sur le taux de NO et de MDA dans le foie et le rein	39
Figure 15 : Effet préventif de <i>P.pinnata</i> sur le taux de GSH tissulaire.	39
Figure 16: Histologie des foies des rats (test préventif)	40
Figure 17: Histologie des reins des rats (test préventif)	41
Figure 18 : Effet curatif de <i>P. pinnata</i> sur l'évolution pondérale	Erreur ! Signet non défini.
Figure 19 : Effet curatif de <i>P. pinnata</i> sur le taux de protéine tissulaire	Erreur ! Signet non défini.
Figure 20 : Effet curatif de <i>P.pinnata</i> sur l'activité de la Catalase et de la Superoxyde dismutase ..	46
Figure 21 : Effet curatif de <i>P.pinnata</i> sur le taux de nitrite et de Malondialdéhyde.....	47
Figure 22 : Effet curatif de <i>P.pinnata</i> sur le taux de GSH.....	48
Figure 23 : Histologie des foies des rats (test curatif)	49
Figure 24 : Histologie des reins des rats (test curatif)	50

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Mode opératoire pour le dosage des protéines par la méthode de Biuret	23
Tableau II : Protocole de dosage des aminotransférases	24
Tableau III : Mode opératoire pour le dosage de l'albumine sérique	24
Tableau IV : Protocole de dosage de la créatinine	25
Tableau V : Protocole de dosage des ions potassium	25
Tableau VI : Protocole de dosage des ions sodium	26
Tableau VII: Protocole de dosage de l'urée sérique	27
Tableau VIII : Mode opératoire pour le dosage et l'établissement de la courbe d'étalonnage pour les nitrites.....	28
Tableau IX : Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase	29
Tableau X : Effet préventif de <i>P. pinnata</i> sur le poids relatif des organes	33
Tableau XI : Effet préventif de <i>P. pinnata</i> sur les paramètres de la fonction hépatique	35
Tableau XII : Effet préventif de <i>P. pinnata</i> sur les paramètres de la fonction rénale.....	36
Tableau XIII : Effet curatif de <i>P. pinnata</i> sur le poids relatif des organes	42
Tableau XIV : Effet curatif de <i>P. pinnata</i> sur les paramètres de la fonction hépatique	43
Tableau XV : Effet curatif de <i>P. pinnata</i> sur les paramètres de la fonction rénale	44

LISTE DES ABBREVIATIONS

AINS : Anti-inflammatoire non-stéroïdiens

AIS : Anti-inflammatoire stéroïdiens

ALAT: Alanine Amino Transférase

ARA: Atteinte Rénale Aigue

ARA2 : Antagoniste de récepteurs de l'angiotensine II

ARC: Atteinte Rénale Chronique

ASAT: Aspartate Amino Transférase

DFG: Débit de Filtration Glomérulaire

DSR: Débit Sanguin Rénal

EOA: Espèces Oxygénées Activées

EPO : Erythropoïétine

i.m : intramusculaire

i.p: intrapéritonéale

IEC : Inhibiteurs de l'enzyme de conversion

Kf: Coefficient d'Ultrafiltration Glomérulaire

NF- κ B: *Nuclear Factor kappa B* = Facteur Nucléaire kappa B

NTA : Nécrose Tubulaire Aiguë

OAT: *Organic Anion Transporter* = Transporteur d'Anions Organiques

OCT : *Organic Cation Transporter* = Transporteur de Cations Organiques

RNS: *Reactive Nitrogen Species* = Espèces Réactives de l'Azote

ROS: *Reactive Oxygen Species* = Espèces Réactives de l'Oxygène

RPTECs : *Renal Proximal Tubular Epithelial Cells* = Cellules Epithéliales du Tubule Proximal

TCD : Tube Contourné distal

TCP : Tube Contourné Proximale

RESUME

Le foie et les reins sont les organes cibles de nombreuses molécules toxiques. Les hépatocytes, cellules épithéliales du tubule proximal et les glomérules rénaux sont particulièrement vulnérables vis-à-vis de xénobiotiques utilisés comme médicaments ou non. Ces agressions peuvent être corrélées à une augmentation de certains paramètres biochimique et ceux du stress oxydatif induisant la mort cellulaire. Le but de la présente étude était d'évaluer les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *paullina pinnata* sur une néphrotoxicité induite par la gentamicine chez les rats blanc de souche Wistar. La néphrotoxicité a été induite chez les rats normaux par injection intrapéritonéale de la gentamicine. Au terme de cette période expérimentale, les animaux ont été sacrifiés ; le sérum et les homogénats d'organes (foie, rein) ont été utilisés pour l'analyse de différents paramètres biochimiques et celles de l'analyse histologique des foies et des reins. En traitement préventif, certains animaux ont reçu préalablement le la gentamicine à la dose de 100 mg/kg et d'autres ont reçu concomitamment la gentamicine à la dose 100 mg/kg avec l'extrait aqueux des feuilles de *P. pinnata* aux doses de 100 mg/kg ou 200 mg/kg ou avec l'aspirine à la dose de 100 mg/kg pendant 10 jours. En traitement curatif, la néphrotoxicité a été induite aux animaux par administration de la gentamicine pendant dix jours également ces animaux ont reçu différentes substances comme sus-mentionnées et ce, durant 22 jours. Au terme de ces périodes expérimentales, l'administration de la gentamicine a provoqué sur le plan biochimique, une augmentation significative ($P < 0,001$) du taux sérique de l'ALAT (82,98%, 40,00%), de l'ASAT (109,87%, 10,63%), de la PAL (420%, 118,30%) et de l'albumine (96,42%, 178,64%) Créatinine (1330,18%, 124%), Acide urique (197,37%, 35,37%), Urée (1250%, 112,21%) et Potassium (84,40%, 132,53%) en traitement préventif et en traitement curatif respectivement en comparaison au témoin normal. L'administration de l'extrait aqueux des feuilles de *P. pinnata* en traitement préventif et curatif a ramené de façon significative, le taux de ces paramètres de la fonction hépatique et rénaux aux valeurs normales. Dans le foie et les reins des rats traités à la gentamicine, les taux tissulaires de SOD, de catalase et de GSH ont diminués de façon significative et le taux de MDA et NO a augmenté significativement. En revanche, l'administration de l'extrait aqueux *P. pinnata* a significativement atténué à différentes doses, les phénomènes d'oxydation liés à la gentamicine (réduction des teneurs tissulaires en MDA et en NO) et à augmenter le taux tissulaire de SOD GSH et CATALASE, en permettant la restauration des systèmes anti-oxydants, protégeant ainsi, ou partiellement, les rats de la toxicité induit par la gentamicine. Cet extrait a présenté un potentiel important dans la prise en charge d'une hépatotoxicité et d'une néphrotoxicité.

Mots clés: *paullina pinnata*; rats; gentamicine; intrapéritonéal; néphrotoxicité.

ABSTRACT

The liver and the kidneys are the target bodies of many toxic molecules.¶ The hépatocytes, epithelial cells of the tubule proximal and the renal clusters particularly vulnerable with respect to xenobiotic are used like drugs or not. These aggressions can be correlated with an increase in certain parameters biochemical and those of the oxydative stress inducing cellular death. The goal of this study was to evaluate the effects of the aqueous extract of the sheets of *paullina pinnata* on a nephrotoxicity induced by gentamicin in the rats white of Wistar stock. The nephrotoxicity was induced in the normal rats by injection intrapéritonéale of gentamicin. At the end of this experimental period, the animals were sacrificed; the serum and the homogenates of bodies (liver, kidney) were used for the analysis of various biochemical parameters and those of the histological analysis of the livers and the kidneys. In preventive treatment beforehand, certain animals received it to it gentamicin with the amount of 100 mg/kg and others concomitantly received gentamicin with the amount 100 mg/kg with the aqueous extract of the sheets of *P. pinnata* to the amounts of 100 mg/kg or 200 mg/kg or with the aspirin with the amount of 100 mg/kg during 10 days. In curative treatment, the nephrotoxicity was induced with the animals by administration of gentamicin during ten days also these animals received various substances like above-mentioned and this, during 22 days. At the end of these experimental periods, the administration of gentamicin caused on the biochemical level, a significant increase ($P < 0,001$) in the serum rate of the ALAT (82,98%, 40,00%), ASAT (109,87%, 10,63%), STAKE (420%, 118,30%) and albumin (96,42%, 178,64%) Creatinin (1330,18%, 124%), uric Acide (197,37%, 35,37%), Urée (1250%, 112,21%) and Potassium (84,40%, 132,53%) in preventive treatment and curative treatment respectively in comparison with the normal witness. The administration of the aqueous extract of the sheets of *P. pinnata* in preventive and curative treatment brought back to a significant degree, the rate of these parameters of the function hepatic and renal to the normal values. In the liver and the kidneys of the rats treated with gentamicin, the tissue rates of SOD, catalase and GSH decreased to a significant degree and the rate of MDA and NO increased significantly. On the other hand, the administration of the aqueous extract *P. pinnata* significantly attenuated with various amounts, the phenomena of oxidation related to gentamicin (reduction of the tissue contents of MDA and NO) and to increase the tissue rate of SOD GSH and CATALASE, by allowing the restoration of the antioxydant systems, thus protecting, or partially, the rats of toxicity induced by gentamicin. This extract had a significant potential in the assumption of responsibility of a hepatotoxicity and a nephrotoxicity.

Key words: *paullina pinnata*; rats; gentamicin; intrapéritonéal; nephrotoxicity.

INTRODUCTION

La néphrotoxicité est l'ensemble des altérations fonctionnelles ou structurelles rénales, induites directement ou indirectement par des agents chimiques (ou leurs métabolites), qui sont absorbés dans l'organisme quelle qu'en soit la voie de pénétration (Anonymous, 1989). Ces lésions en fonction des origines peuvent être cause d'insuffisances rénales observées, dont les manifestations peuvent correspondre soit à une détérioration brutale mais réversible des fonctions du rein pour une Insuffisance Rénale Aigue (IRA) ; soit par une altération progressive et irréversible des fonctions rénales pour une Insuffisance rénale chronique (IRC). Cette perturbation pathologique se soldera par une production accrue des radicaux libres suivi par un processus inflammatoire rénale qui constitue un signal d'alarme visant à protéger l'organisme contre les stimulations nocives susceptibles de provoquer des lésions tissulaires (Cambier et al., 1996) causés par ces radicaux libres. La néphrotoxicité étant en progression depuis vingt ans touche environ 20 % des malades traités par la classe d'antibiotiques (N. Stojiljkovic et al., 2012). Dans les pays développés, elle concerne avant tout des personnes âgées, ayant de multiples comorbidités et traitées par des médicaments potentiellement néphrotoxiques. La prise en charge de la néphrotoxicité par la médecine moderne se fait par l'utilisation des antihypertenseurs (ARA₂, IEC) et des anti-inflammatoires de synthèse. Ces molécules synthétiques peuvent être des anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Cependant, bien que les molécules synthétiques soient efficaces dans le traitement de la néphrotoxicité, leur utilisation est souvent limitée à cause de nombreux effets secondaires qu'elles provoquent (ulcères gastro-duodénaux, insuffisances rénales et risques cardiovasculaires) et à leur coût onéreux pour les individus à faible revenus financier (Lipsky, 1999 ; Ouédraogo et al., 2012). Pour palier donc à cela, l'on a fait recourt à l'utilisation empirique des plantes médicinales qui est une pratique très répandue, se faisant à moindre coût et qui est la plus part des temps bénéfique dans le traitement de diverses affections métaboliques.

De nombreux travaux ont été fait au laboratoire de physiologie animale dans l'optique de montrer l'efficacité des extraits de nombreuses plantes parmi lesquelles : *Dorstenia psilurus* (Dimo et al., 2001) ; *Annona muricata* (Tchoupou, 2012) *Nymphae lotus* (Kameni, 2011); *Abizia adianthifolia* (Mengue ngadena, 2011) ; quant à leurs propriétés anti-hypertensives, anti-oxydantes, aphrodisiaque, et oestrogénique, respectivement pour ne citer que celles-ci. *Paullinia pinnata* qui fait l'objet de notre investigation est une plante de la famille des Sapindaceae dont, différentes parties peuvent être utilisées pour le traitement de certaines maladies. Les feuilles de cette plante sont couramment utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés antimicrobiennes (De Souza et al., 1995; Lunga et al., 2014) et anti-oxydantes (Jimoh et al, 2007; Annan et al, 2009). C'est la raison pour laquelle, la présente étude a été entreprise dans le but d'évaluer les propriétés anti-oxydantes de

l'extrait aqueux des feuilles de *Paullinia pinnata* chez le rat. Pour y parvenir, nous avons évalué les effets de l'extrait sur:

➤ Les effets préventifs et curatifs de l'extrait aqueux des feuilles de *Paullinia pinnata* sur la néphrotoxicité induite par la gentamicine chez les rats à travers l'analyse de certains paramètres anthropométriques, biochimiques et histologiques du fonctionnement hépatique et rénal.

I. REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1. Description générale du rein

I.1.1. Anatomie générale du rein

En forme de gros haricots, les reins pèsent environ 150 g et mesurent environ 12 cm de longueur sur 6 de largeur et 3 d'épaisseur. Ils occupent une position rétro péritonéale s'étendant entre les vertèbres thoracique Th₁₂ et lombaire L₃. Les artères et veines rénales, assurant leur circulation sanguine, ainsi que les uretères qui les débarrassent de l'urine formée, s'insèrent au niveau du hile rénal (Marieb E., 2005 ; Noël L-H., 2008). Chaque rein est entouré par 3 couches de tissus, de la plus interne à la plus externe: (i) une capsule fibreuse qui prévient des infections provenant des régions voisines ; (ii) une capsule adipeuse qui fixe le rein à la paroi postérieure du tronc et le protège contre les coups ; et (iii) un fascia de tissu conjonctif qui lie le rein à la glande surrénale et aux structures voisines Marieb E.(2005). En coupe frontale, le rein laisse apparaître 2 zones distinctes (Figure 1) : le cortex, de couleur pâle et situé en superficie ; et la médullaire, de couleur plus rouge et située en profondeur Marieb E.(2005). Cette dernière est constituée par 4 à 18 (en moyenne 8) pyramides rénales (ou pyramides de Malpighi), dont le sommet, orienté vers le centre du rein, est appelé papille rénale.

Les prolongements du cortex, situés entre les pyramides, sont appelés colonnes rénales. Le cortex rénal et les pyramides rénales sont les deux principales régions du parenchyme rénal, qui constituent la partie fonctionnelle du rein. L'urine produite par les néphrons s'écoule vers le tube collecteur qui aboutit à un calice rénal mineur, puis à un calice majeur. L'urine se jette dans une cavité nommée pelvis (ou bassin) et parcourt l'uretère jusqu'à la vessie où elle sera momentanément stockée (Noël L-H.(2008), Tortora G. et al 2001).

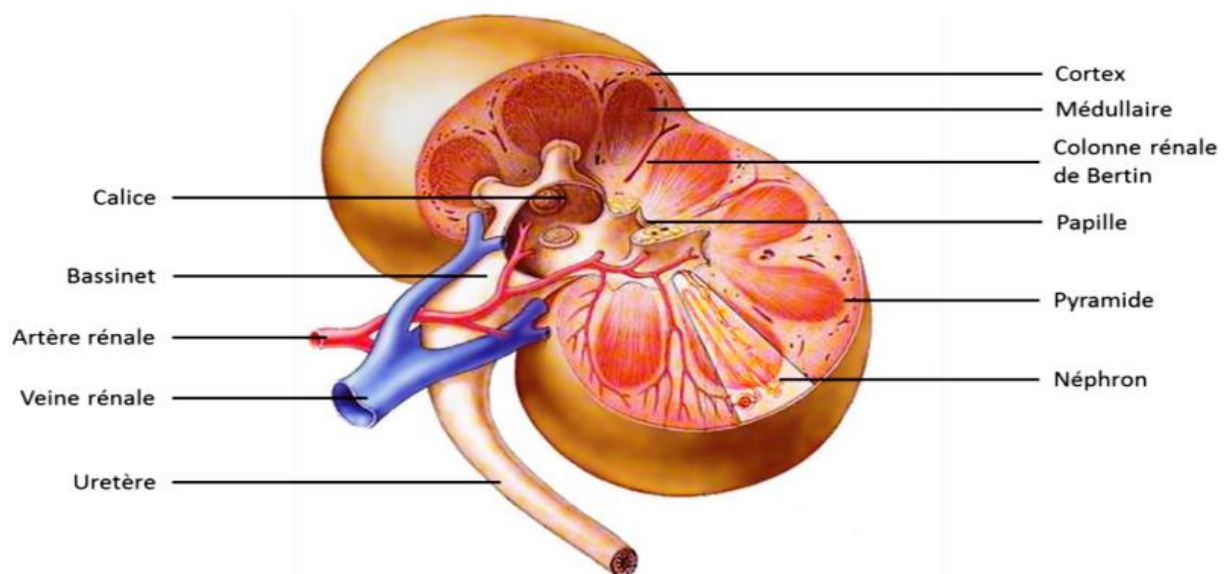


Figure1 : anatomie interne du rein.

I.1.2. Le néphron

Le néphron est l'unité fonctionnelle du rein (Figure 2), ils se localisent dans le parenchyme rénal et assurent l'épuration du sang selon 3 mécanismes : la filtration glomérulaire, la sécrétion et la réabsorption tubulaires. On en compte environ un million dans chaque rein, quoique des études récentes aient démontré que leur nombre puisse varier entre 200.000 et 1.800.000. Mis bout à bout, ils s'étendraient sur près de 70 km Marieb E.(2005).

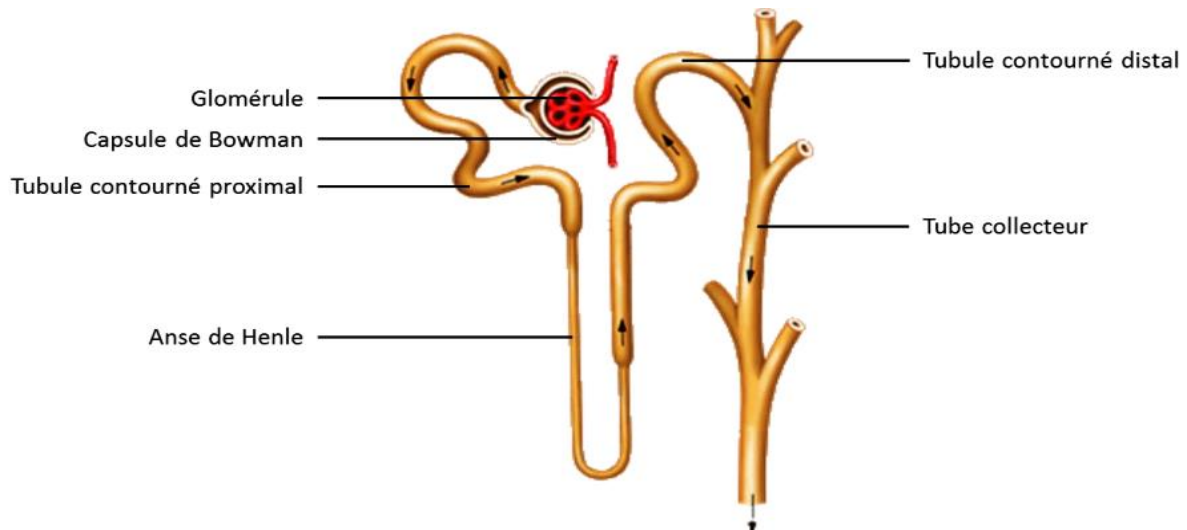


Figure 2 : schéma d'un néphron.

I.1.3. Le corpuscule rénal

Il s'agit d'une sphère de 150 à 250 μm constituée d'un lacs de capillaires situés entre une artériole afférente et une artériole efférente appelés glomérule (Figure 3). Cet amas est entouré par la capsule de Bowman, un bulbe creux en continuité avec le tubule proximal qui reçoit le plasma filtré par la paroi interne du glomérule. En effet, l'endothélium des capillaires est criblé de pores de 75 nm de diamètre, ce qui les rend très poreux à l'eau et à de nombreux solutés sanguins (Marieb E., 2005). Les capillaires sont gainés par la membrane basale glomérulaire, sur laquelle s'arriment les podocytes à l'intérieur de la capsule de Bowman. En raison de sa composition polyanionique, la membrane basale glomérulaire joue également un rôle de filtre qui bloque le passage des protéines (Noël L-H. 2008 ; Mundel P. et al, 2001)

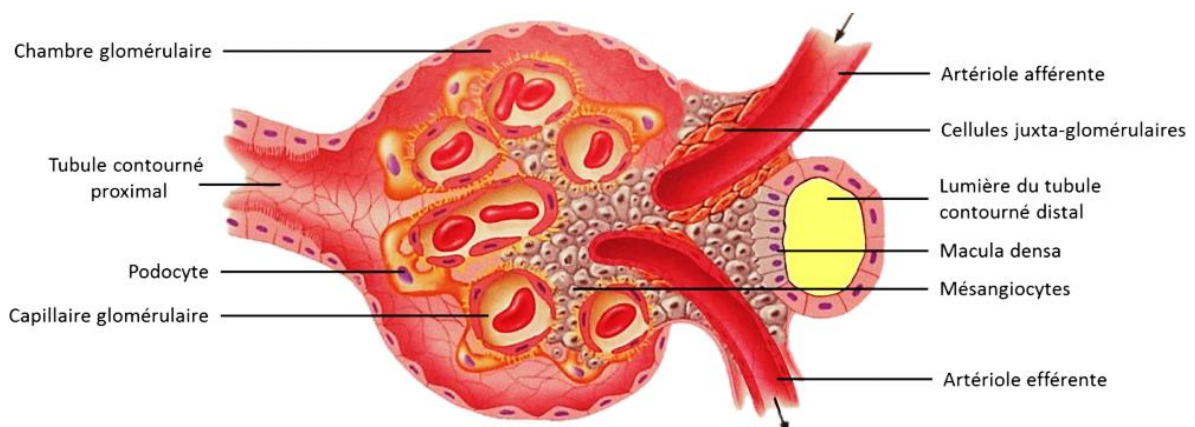


Figure 3 : schéma d'un corpuscule rénal.

I.1.4. Le tubule

Il mesure environ 3 cm de long et est impliqué dans la réabsorption et la sécrétion de molécules. Il se compose successivement du tube contourné proximal (TCP), de l'anse de Henle (partie descendante puis ascendante) et du tube contourné distal (TCD).

Si le TCP et le TCD se localisent essentiellement dans le cortex rénal, l'anse de Henle descend quant à elle vers la médullaire. La majorité des néphrons (85 %) se localise au niveau cortical (néphrons corticaux), de sorte qu'une petite partie de leur anse atteint la médullaire (Figure 4). Les autres (néphrons juxta-médullaires) ont une anse qui plonge plus profondément dans la médullaire, ce qui constitue un critère important dans la capacité du rein à produire de l'urine concentrée (Tortora G. et al 2001). Sur toute sa longueur, le tubule est tapissé d'une monocouche de cellules épithéliales polaires reposant sur une lame basale. Leur pôle apical est dirigé vers la lumière du tubule, tandis que leur pôle basal s'oriente vers l'interstitium rénal (Marieb E.(2005).

Les cellules épithéliales du TCP (RPTECs), sont pourvues de nombreuses mitochondries et microvillosités. Ces dernières forment au niveau du pôle apical la bordure en brosse, une caractéristique qui permet d'accroître très fortement la surface d'échange avec la lumière tubulaire, de favoriser la réabsorption d'eau et de nombreux solutés présents dans le filtrat, ou d'y sécréter des molécules à éliminer de l'organisme (Noël L-H. 2008).

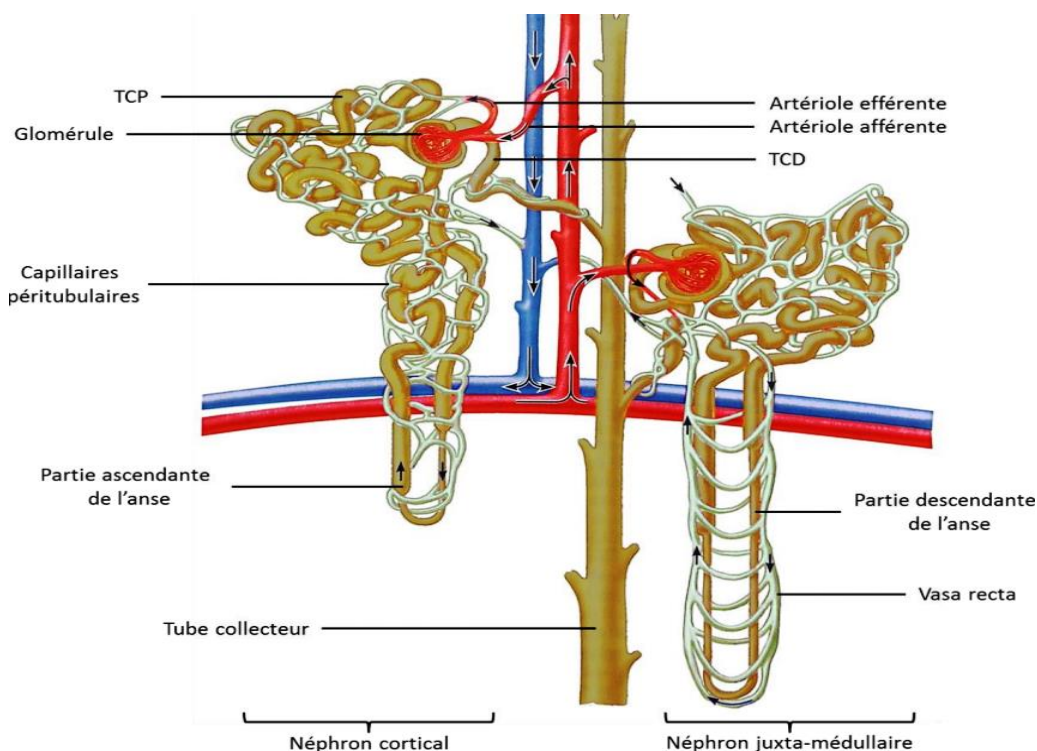


Figure 4 : schéma de néphrons cortical et juxta-médullaire.

Le TCP, segment le plus long du néphron, est subdivisé en segments S1, S2 et S3 dont la structure présente de légères variations. Le segment S1 correspond à la première partie du tubule dès la jonction avec le glomérule ; après quelques millimètres il se transforme en segment S2. Si les segments S1 et S2 sont dénommés pars convoluta, le segment S3 est appelé pars

recta et correspond à la dernière portion du TCP plongeant vers la médullaire juste avant l'anse de Henle (Noël L-H. 2008).

I.1.5. Le tube collecteur

Dernier segment du néphron, collecte l'urine formée le long de plusieurs tubules. Il traverse les pyramides rénales pour déboucher sur les papilles. A l'approche du bassinet, plusieurs tubes fusionnent et forment un conduit plus large (Marieb E.(2005). Les cellules épithéliales s'y trouvant jouent un rôle dans le maintien de l'équilibre acido-basique du sang et complètent les effets des TCP et de l'anse en régulant la concentration de Na⁺ et d'eau (Tortora G. et al 2001).

I.1.6. L' interstitium

Il est composé par la membrane basale, les capsules de Bowman, l'épithélium des cavités pyélocalicielles, l'adventice des vaisseaux sanguins et la membrane basale des capillaires péri-tubulaires.

L' interstitium abrite de nombreuses cellules, notamment des fibroblastes capables de synthétiser l'érythropoïétine (EPO) en réponse à l'activation du facteur induit par l'hypoxie, des fibroblastes résidents (fibroblaste de l'interstitium rénal), sont chargés de maintenir la structure du parenchyme, des terminaisons nerveuses et des vaisseaux lymphatiques (Noël L-H. 2008).

I.1.7. Les capillaires péri-tubulaires

Il s'agit d'un réseau de capillaires enchâssés autour du tubule qui ont pour fonction la sécrétion de déchets ainsi que la recapture de l'eau et des solutés réabsorbés par les cellules tubulaires(Tortora G. et al 2001).

I.1.8. L'appareil juxtaglomérulaire

Il s'agit de structures situées entre le TCD et les artérioles afférentes et efférentes du glomérule. Il est formé par les cellules juxtaglomérulaires comprenant les cellules de la terminaison de l'artériole afférente, de la partie initiale de l'artériole efférente, de cellules mésangiales extraglomérulaires et de la macula densa (Noël L-H. 2008 ; Bachmann S. et al, 2000). Les cellules musculaires lisses (myocytes) artériolaires contiennent des vésicules de rénine ; lorsque la pression artérielle chute, ces mécanorécepteurs libèrent cette enzyme du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA).

Les cellules de la macula densa, accolées à la paroi du TCD, agissent comme chimiorécepteurs sensibles à la composition électrolytique du filtrat et régulent la pression glomérulaire en dilatant ou contractant les artérioles en permettant ainsi le maintien de filtration glomérulaire (DFG) à un débit constant (Tortora G. et al 2001).

I.2. Vascularisation du rein

La vascularisation artérielle du rein est assurée par les artères rénales droites et gauches, provenant directement de l'aorte abdominale. Ces grosses artères qui assurent un débit sanguin rénal

d'environ 1200 mL/min (soit 1/5 du débit cardiaque), pénètrent dans le rein par le hile, puis se subdivisent en artères de calibre décroissant. Les veines rénales, qui véhiculent du sang débarrassé de ses déchets, se jettent dans la veine cave inférieure. L'innervation des reins est assurée par des neurofibres du système nerveux sympathique. Il s'agit des neurofibres vasomotrices, régulant le débit sanguin rénal en influant sur le calibre des artéioles intrarénales (Kierszenbaum, 2002).

I.3. Physiologie rénale

Le néphron permet de maintenir la composition sanguine à un état d'équilibre selon les 3 mécanismes que sont la filtration glomérulaire, la sécrétion tubulaire depuis les capillaires péri-tubulaires vers la lumière tubulaire et la réabsorption tubulaire depuis la lumière tubulaire vers les capillaires péri-tubulaires. Ces phénomènes permettent d'épurer le plasma sanguin des déchets métaboliques de l'organisme, tout en garantissant la recapture des éléments utiles tels que les nutriments, l'eau et certains ions (Tortora G. et al 2001).

I.3.1 La filtration glomérulaire

Chaque minute, les 25 % du débit cardiaque parvenant aux reins apportent environ 1,2 l de sang. De ce volume, une proportion équivalente à 16-20 % s'échappe des artéioles pour constituer le filtrat glomérulaire ; il s'agit de la fraction filtrée qui atteint chaque jour environ 150 l chez la femme et 180 l chez l'homme (Hasler U et al, 2009). Le filtrat glomérulaire est majoritairement composé d'eau, constituant le plus abondant du corps humain. Les électrolytes les plus abondants du filtrat glomérulaire, sont le sodium, le chlore et le bicarbonate. La barrière glomérulo-capillaire constitue une membrane de filtration criblée de pores qui ne laissent pas passer les grosses molécules telles que les protéines d'une taille supérieure à 7-8 nm de diamètre (c'est la sélectivité de taille). Ainsi, les protéines de masse inférieure à 15.000 Da sont filtrées librement et celles supérieures à 70.000 Da ne sont pas filtrées du tout (Noël L-H, 2008).

Chez un homme sain, les quelques 2 millions de glomérules des 2 reins assurent un DFG relativement constant de 120 mL/min ; En fait, un DFG accru ne permet pas une réabsorption appropriée des substances utiles à l'organisme, alors qu'un DFG affaibli permet la réabsorption de quasiment tout le filtrat, avec les déchets du métabolisme. Ces deux cas de figures peuvent conduire à des situations pathologiques (Marieb E., 2005).

I.3.2 La réabsorption tubulaire

La majorité du volume de filtrat glomérulaire est activement réabsorbée par les cellules épithéliales tubulaires des néphrons et, dans une moindre mesure, par les tubes collecteurs (Marieb E.(2005, Hasler U. et al 2009). En effet, 99 % des 150/180 l du filtrat glomérulaire (urine dite primitive) sont réabsorbés quotidiennement, de sorte que 1 à 2 l seulement sont excrétés sous forme d'urine dite définitive (Marieb E., 2005 ; Hasler U. et al 2009). Le mécanisme de réabsorption implique une captation des solutés dans la lumière (pôle apical des cellules tubulaires) et un retour

dans les capillaires péri-tubulaires (pôle basal des cellules tubulaires). La réabsorption de solutés comme le glucose, les acides aminés, les vitamines, l'urée et les ions tels que Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , HCO_3^- (bicarbonate) et HPO_4^{2-} (monohydrogénophosphate) se fait selon des mécanismes actifs ou passifs. Certaines substances ne sont au contraire pas ou peu réabsorbées. C'est le cas des molécules azotées produites par le métabolisme de l'organisme telles que l'urée, l'acide urique ou la créatinine.

I.3.3 La sécrétion tubulaire

Afin de maintenir un équilibre acido-basique, les protons (H^+) sont sécrétés par les cellules du TCP par l'intermédiaire de l'antiporteur Na^+-H^+ , ainsi que par les cellules intercalaires du tubule collecteur. La sécrétion des ions NH_4^+ se fait au niveau du TCP et du tube collecteur. Au niveau des cellules du TCP, les RPTECs sont pourvues de transporteurs capables de réabsorber ou de sécréter diverses molécules ; les transporteurs de cations organiques (OCTs = *organic cation transporters*), les transporteurs d'anions organiques (OATs = *organic anion transporters*) ou la Pglycoprotéine (P-gp) sont impliqués dans l'élimination de nombreux médicaments (Anzai N et al 2007). Les OATs sont localisés au niveau des membranes basolatérale (OAT-1) ou apicale (OAT-4). L'OAT-1 peut jouer un rôle important dans la sécrétion rénale des antibiotiques β -lactames et des diurétiques (Anzai N et al 2007).

I.4. Les pathologies rénales

Lorsque les reins ne parviennent plus à assumer leur fonction d'épuration de l'organisme, notamment liée à la perte de néphrons et de glomérules fonctionnels, il en résulte un état pathologique nommé "insuffisance rénale", laquelle se traduit par une augmentation des taux sanguins d'acide urique, d'urée et de créatinine ainsi que par une baisse du pH (acidose métabolique). L'échelle temporelle caractérisant cette pathologie permet de définir l'insuffisance rénale aiguë (IRA), d'installation brutale et de réversibilité totale ou partielle, de l'insuffisance rénale chronique (IRC), à évolution plus silencieuse et insidieuse mettant plusieurs années à se manifester cliniquement.

I.4.1 L'atteinte rénale aiguë

L'ARA se définit comme une chute brutale ou progressive (en quelques jours) de la filtration glomérulaire, conduisant à une accumulation de toxines urémiques dans le sang. Les causes d'ARA sont nombreuses et peuvent avoir plusieurs origines, nous avons entre autres :

➤ Pré-rénale (cause fonctionnelle)

Si elle est caractérisée par une hypoperfusion des reins, suite à une hypovolémie et une hypotension provenant d'une hémorragie sévère, ou encore à une déshydratation liée à des diarrhées et bien même à une sténose de l'artère rénale (Hilton R., 2006).

➤ Rénale (cause organique)

Si elle est causée par des altérations anatomiques du parenchyme rénal résultant d'une nécrose tubulaire aiguë, qui est la cause la plus fréquente, qu'elle soit d'origine ischémique ou toxique ;

L'ARA d'origine organique peut être due à une intoxication (médicamenteuse ou par contaminant environnemental), à une réaction allergique, à un processus infectieux ou immunologique. (Hilton R. 2006)

➤ Post-rénale (cause obstructive)

Si elle est consécutive à un obstacle entravant l'écoulement des urines, notamment dû à la présence de lithiases rénales ou de tumeurs sur les voies excrétrices inférieures.

I.4.2 L'atteinte rénale chronique

L'ARC, est une altération lente et progressive de la fonction rénale se manifestant soit par la présence de lésions rénales, soit par un DFG inférieur à 60 ml/min/1,73 m² pendant au moins 3 mois (Multiple authors, 2008). Elle se caractérise par une perte de 60 à 70 % des néphrons. elle peut avoir une origine congénitale ou acquise, notamment via des infections chroniques ou une toxicité cellulaire exercée par certains médicaments ou certains contaminants environnementaux (Multiple authors, 2008). Dans les stades plus avancés, l'ARC se traduit souvent par une hypertension, des troubles urinaires tels qu'une polyurie ou bien même par une diminution de la sécrétion d'érythropoïétine

I.5. Néphropathies

I.5.1 Origines et causes des néphropathies

Les reins filtrent les déchets et l'excédent d'eau et de sels du sang, et les éliminent de l'organisme dans l'urine. Lorsque les reins cessent de fonctionner, il en résulte une accumulation des déchets dans l'organisme ce qui perturbe l'équilibre entre les substances chimiques qui sont nécessaires au bon fonctionnement du corps

Les causes les plus fréquentes des troubles du rein sont le diabète, la pression sanguine élevée et un durcissement des artères. Certains troubles du rein sont provoqués par une inflammation des reins encore appelée néphrite. La néphrite peut s'expliquer par une infection ou une réaction auto-immune. Tandis que d'autres troubles rénaux affectent le fonctionnement interne des reins (troubles métaboliques).

I.5.2 Types de néphropathies

I.5.2.1. Les glomérulopathies

Aussi appelées glomérulonéphrites, ciblent le glomérule et provoquent une inflammation et des altérations histologiques du glomérule. Les manifestations s'accompagnent généralement d'une ARA évoluant fréquemment vers une MRC et impliquent une dégradation de la fonction rénale, un

syndrome néphritique (inflammation) avec hématurie, un syndrome néphrotique avec albuminurie, lipidurie, œdèmes, (Chadban SJ et al 2005).

I.5.2.2. Les néphropathies tubulo-interstitielles.

Il s'agit de maladies aiguës ou chroniques de l'interstitium rénal touchant les tubules. Elles peuvent être associées à une glomérulopathie ou à une maladie vasculaire rénale et peuvent conduire à une insuffisance rénale. Elles peuvent être d'origine héréditaire ou acquise. Parmi celles-ci, on retrouve des causes toxiques exogènes (les AINS, la ciclosporine, les aminoglycosides) ou endogènes (hyperuricémie ou hypercalcémie), des maladies auto-immunes ou infectieuses (pyélonéphrites).

I.5.2.3. Néphropathies vasculaires

Elles semblent plus rares, mais peut-être sont-elles méconnues. Seules, celles qui s'accompagnent de signes extra-rénaux sont plus aisément identifiées. L'atteinte rénale est alors caractérisée par une protéinurie, une hématurie microscopique, une hypertension artérielle et une élévation plus ou moins importante de la créatinine sanguine. Les signes extra-rénaux peuvent être des signes cutanés, des douleurs abdominales, des atteintes articulaires, pulmonaires, pancréatiques ou hépatiques. Les néphropathies vasculaires sont souvent associées à des atteintes interstitielles aiguës.

I.5.2.4. La néphropathie aux anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS)

Elle survient après un usage abusif d'AINS (1 à 2 g/jr) pendant plusieurs années. Son évolution est asymptomatique jusqu'à ce que la quantité de néphrons chute sous 80 % de leur nombre initial. En inhibant les cyclooxygénases 1 et 2, les AINS empêchent la formation des prostaglandines. Il peut donc en résulter une chute de la tension artérielle et une augmentation du débit de perfusion rénal par dilatation des artéioles, par actions des prostaglandines I₂. D'où l'observation d'un état ischémique, pouvant mener à une ARC (Lameire N et al 2005).

I.5.3 Facteurs de risques

D'une manière générale, les facteurs qui favorisent la mise en place d'une néphropathie peuvent être subdivisés en deux grands ensembles à savoir : les facteurs de risque liés au patient et les facteurs de risques liés aux médicaments.

➤ Facteurs liés au patient

- - Âge > 65 ans, sexe féminin et 70 ans, sexe masculin.
- Maladies : diabète, Cancer, hypertension artérielle.
- Rétention hydrosodée : insuffisance cardiaque, syndrome néphrotique.
- Etat de déshydratation, déplétion volémique.
- Perturbation métabolique : acidose, hypokaliémie, hypercalcémie.

- Infection, choc septique et transplantation rénale.

➤ **Facteurs liés au médicament**

- Dose administrée, durée du traitement et voies d'administration.
- Exposition répétées et interaction médicamenteuse.

I.6. Evaluation de la fonction rénale

L'exploration fonctionnelle rénale reste souvent difficile en pratique et le plus souvent, des méthodes indirectes sont utilisées pour évaluer la fonction rénale. Les fonctions rénales sont multiples et chacune d'elles est influencée par un type d'atteinte lésionnelle (Droge W. (2002)). Cette exploration passe donc par l'analyse de biens de paramètres, parmi lesquels, les paramètres sériques et urinaires.

I.6.1 Urée

L'urée est un déchet azoté qui provient de la dégradation des protéines par le foie filtré par les reins. Son augmentation dans le sang fait généralement suite à une altération rénale, mais son taux peut être influencé par une alimentation riche en protéine (Kaneko et al. 1997).

I.6.2 Créatininémie

La créatinine est une protéine qui provient de la dégradation de la phosphocréatinine musculaire à un taux constant, sa concentration plasmatique dépend de la masse musculaire, (Kaneko et al. 1997). Le taux de créatinine étant stable pour une personne donnée (en dehors d'états cataboliques transitoires comme l'effort sportif ou la fièvre) et étant en totalité éliminée par le rein, la créatinine représente un indicateur de la fonction glomérulaire.

L'urée et la créatinine restent des variables fréquemment utilisées pour l'évaluation de la fonction rénale. Les paramètres urinaires font également partie des outils de diagnostic ou de suivi utilisés dans les études expérimentales.

Cependant l'urémie et la créatininémie sont relativement insensibles à la détection précoce de lésions rénales. Près de 75% des néphrons doivent être non fonctionnels avant d'obtenir des modifications des concentrations sériques de l'urée et de la créatinine au-dessus de la moyenne.

I.6.3 Electrolytes

Lors de l'IRA, une hyperkaliémie, une hyponatrémie sévère, une hypochlorémie et une hyperphosphatémie peuvent être observées. Lors d'IRC, des mécanismes compensateurs permettent le plus souvent de maintenir les concentrations plasmatiques en sodium et en potassium dans des limites physiologiques et ceci tant que la polyurie existe (Haschek et al. 2010).

I.6.4 Equilibre acido-basique

Les reins interviennent dans la régulation acido-basique. Ainsi lors d'IRA, une acidose métabolique compensatrice apparaît. Lors d'IRC, la balance acide-base penche vers l'acidose

métabolique. La concentration plasmatique des bicarbonates est diminuée, celle des chlorures peut être normale ou augmentée (Finco D.R (1980)).

I.6.5 Modification hématologique

Une anémie non régénérative, normocytaire, normochrome est un signe tardif souvent observé en association avec l'IRC. Elle est essentiellement liée au manque d'érythropoïétine (par destruction du parenchyme rénal) ou de facteurs stimulant l'érythropoïèse (Finco D.R (1980)).

I.6.6 Modification du volume urinaire

La modification du volume urinaire est un bon indicateur d'une atteinte rénale. Au départ une augmentation du volume urinaire, polyurie, est observée, suivie dans les stades avancés d'un arrêt de diurèse, oligurie ou anurie dans les cas les plus graves. La densité urinaire est également un facteur important qui indique une défaillance rénale, mais qui s'observe lorsqu'au moins 66% des néphrons sont atteints (Kaneko et al. 1997).

I.7. Néphrotoxicité et stress oxydant

L'un des processus clé intervenant dans les atteintes rénales est le stress oxydatif. Au cours du métabolisme cellulaire, l'utilisation d'oxygène implique la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS: reactive oxygen species) (Van Raamsdonk JM et al 2010). Ces dernières peuvent réagir avec des molécules azotées, produisant ainsi des espèces réactives de l'azote (RNS : reactive nitrogen species). Les principaux ROS/RNS sont les radicaux hydroxyles ($\text{HO}\cdot$), peroxyde ($\text{RO}_2\cdot$) et superoxyde ($\text{O}_2\cdot^-$), le monoxyde d'azote ($\text{NO}\cdot$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochloreux (HClO) et le peroxydinitrite ($\text{ONOO}\cdot$). La mitochondrie est le site le plus générateur de ROS/RNS (jusqu'à 4 % de l'oxygène n'est pas converti en eau, mais en anion superoxyde). Certaines enzymes en sont également productrices (comme la NAD(P)H oxydase, la xanthine oxydase, la NO synthase (NOS), la myéloperoxydase,...) (Droge W. (2002)). La production excessive de ces dérivés réactifs peut néanmoins s'inscrire dans un processus pathologique induit par la gentamicine, provoquant des dégâts à l'ADN, des oxydations d'acides gras insaturés (peroxydation lipidique) et de protéines ainsi que l'inactivation d'enzymes ou de leurs co-facteurs.

Pour se protéger des radicaux libres, les systèmes antioxydantes enzymatiques ou non de l'organisme, en condition physiologique vont soit prévenir la génération des EOAs, les inactivent ou encore limitent leurs effets délétères (Cheeseman et Slater, 1993). De plus certains composés antioxydants comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbite), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes (constituant la défense non-enzymatique) apportés par les aliments agiront en piégeant les radicaux libres et en captant les électrons célibataires de ces derniers, les transformant en molécules ou en ions stables. A ceux-ci, s'associent les composés endogènes synthétisés par les cellules et jouant le même rôle ; le plus important est le glutathion réduit qui protège non seulement contre les radicaux libres,

mais aussi contre les peroxydes ou le NO•. Les enzymes antioxydantes, principalement la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase, possèdent une grande affinité avec les EOAs avec lesquelles elles réagissent rapidement pour les neutraliser (Pincemail, 1999).

I.8. Quelques modèles d'inductions de la néphrotoxicité

Le rein est sensible à la toxicité de nombreux agents chimiques à cause de ses caractéristiques anatomiques, physiologiques et métaboliques. De ce fait plusieurs modèles d'induction de néphrotoxicité ont déjà été établis, en laboratoire c'est le cas de l'induction au :

➤ Glycérol

L'injection intra musculaire d'une solution à 50% de glycérol à la dose de 10mL/kg chez le rat, induit une NTA, caractérisée d'une chute du DFG et du DSR quelques heures après injection, suivi d'une nécrose extensive des cellules tubulaires rénales avec une obstruction complète des tubules par des calculs et des cristaux contenant des pigments hémiques (Tanner G.A., 1985).

➤ Dérivés du mercure

Le chlorure de mercure (HgCl₂) est particulièrement toxique à cause de sa solubilité et de la formation d'ion mercurique (Hg²⁺). Après une injection de HgCl₂, le DFG et le DSR diminuent de façon modérée. Les lésions rénales observées varient suivant la dose. Une faible dose de mercure entraîne une nécrose sélective de la pars recta du tubule proximal. Des doses croissantes entraînent des lésions de l'ensemble du tubule contourné proximal, puis du tubule distal. Les lésions des cellules du tubule proximal sont liées à l'accumulation de mercure. Les néphrons distaux sont remplis de calculs et de débris cellulaires. Des modifications glomérulaires (gonflement des podocytes, perte de cellules endothéliales fenêtrées) ont été décrites dans la littérature (Tanner G.A., 1985).

➤ Dérivés de l'uranium

L'uranium a souvent été utilisé pour produire une NTA. La toxicité de l'uranium varie suivant la dose, la voie d'administration, l'espèce, la souche et l'âge. Selon une étude, quatre jours après administration de (10mg/kg par voie i.v) d'uranium, on note une sévère nécrose tubulaire proximale associée à la formation de calculs intratubulaires. Au niveau glomérulaire, les lésions concernent essentiellement les cellules épithéliales et endothéliales (Flamenbaum W. et al 1972).

➤ Antibiotiques (cas de la gentamicine)

La NTA due aux aminoglycosides est une cause reconnue d'IRA chez l'homme et chez les animaux. La gentamicine, après injection dans l'organisme, s'accumule dans les lysosomes des tubules proximaux et entraîne leur lyse (Perico N. et al 1993). L'altération de la fonction rénale semble surtout liée à l'obstruction tubulaire. Des études par microponctions ont également montré des altérations hémodynamiques de la filtration glomérulaire (notamment une chute de Kf pour de fortes doses de gentamicine) Stein J.H et al (1975). D'autres mécanismes ont été suggérés. Par exemple un

effet angiotensine II dépendant de la gentamicine ou la formation de radicaux libres. L'élévation de l'azotémie (notamment la créatininémie) et l'excrétion urinaire de protéines (sont des signes biologiques relativement tardifs de la néphrotoxicité liée aux aminoglycosides tels que la gentamicine (Perico N. et al 1993).

I.9. Traitement de la néphrotoxicité

Quelque soit le stade de l'affection, les objectifs du traitement sont de : Traiter la maladie causale, Ralentir la progression de la maladie rénale, Prévenir le risque cardiovasculaire et de Prévenir les complications de la maladie

I.9.1 Traitement par la méthode conventionnelle

L'approche conventionnelle est basée sur l'utilisation des médicaments dans le traitement de l'insuffisance rénale. Comme médicaments utilisés nous avons les antihypertenseurs et les antidiabétiques oraux notamment chez les hypertendus et les diabétiques.

On peut citer entre autres comme antihypertenseurs :

- les Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA2) dans le cas des diabétiques du type II.
- les inhibiteurs de l'enzyme de conversion pour les diabétiques de type I.

Ces classes de médicament vont diminués le taux de protéines sanguin ainsi que la vitesse de dégradation de la fonction rénale.

Comme autres médicaments nous avons :

- les anti-inflammatoires et antioxydants
- les Statine pour abaisser le taux sérique du LDL cholestérol.
- Les Immunosuppresseur dans le cas des maladies auto-immunes.
- prévention de l'ostéoporose cortisonique par bisphosphonate.

I.9.2 Traitement par méthode non conventionnel

Ce sont des mesures d'adaptation du mode de vie qui consistent pour le patient à fonction rénale défectueuse de tenir compte tout simplement des mesures hygiéno-diététiques. Cette prise en charge aura pour particularité de ralentir la progression de la maladie à plusieurs niveaux à savoir :

I.9.2.1 Le contrôle de la Tension Artérielle

90% d'insuffisances rénales observées font suite à des antécédents d'hypertension artérielle. Plus la pression est basse, mieux la tension artérielle sera contrôlée et plus la dégradation de la fonction rénale sera lente. La pression artérielle ne doit pas dépasser 130/80 mmHg.

I.9.2.2 Instaurer un régime alimentaire adapté

Autre que le contrôle de la Pression Artérielle on peut procéder à une réduction de l'apport en protéines animales car celles-ci augmentent le travail des reins. En fonction du degré de gravité de

l'Insuffisance Rénale, les apports en phosphore, sodium (sel), potassium (fruits, chocolats) et en lipides (graisses) seront éventuellement limités. La réduction de la consommation de liquides pourra également être conseillée.

I.9.2.3 Maîtriser les autres facteurs de risque cardio-vasculaires

L'arrêt du tabac est préconisé en cas d'Insuffisance rénale car il a été démontré que celui-ci accélère la dégradation de la fonction rénale. En ce que la fumée a tendance à s'accumuler dans les reins provoquant des lésions. Associé à des pathologies comme le diabète ou l'hypertension, le tabagisme devient un cocktail empoisonné pour la fonction rénale et il est vivement conseillé d'arrêter de fumer. On peut aussi dans une certaine mesure limiter l'hypercholestérolémie, un taux important de cholestérol peut par le biais de l'athérosclérose, favoriser la survenue d'une hypertension artérielle qui elle-même constitue un des tous premiers facteurs de risque d'insuffisance rénale.

I.9.2.4 La phytothérapie

Plusieurs travaux ont déjà mis en exergue les propriétés néphroprotectrices de certaines plantes médicinales. Les travaux d'AKARADENIZ et al.(2008) et de Hala A.H.Khattab et al.(2012) ont révélés les effets néphroprotecteurs respectivement de *Panax ginseng* et de *Morin* chez les rats intoxiqués à la gentamicine. Ces plantes ont en commun des composés doués d'activités antioxydantes tels que les flavonoïdes et les composés phénoliques qui se qui leur confèrent des propriétés néphroprotectrices

I.10. *Paullinia pinnata*

I.10.1 Taxonomie

D'après Bates (1864) nous avons :

Règne : Plantae	Sous-classe: Rosidae
Sous-règne: Tracheobiontae	Ordre: Sapindales
Embranchement: Spermatophyta	Famille: Sapindaceae
Sous-embranchement: Magnoliophyta	Genre: <i>Paullinia</i>
Classe: Magnoliopsida	Espèce: <i>Paullinia pinnata</i> Linn.

I.10.2 Description botanique et phytochimie

Paullinia pinnata est une plante grimpante se développant en milieux tropical et qu'on retrouve en milieu forestier. Elle peut atteindre les 10 m de long, pour un diamètre de 12centimètre de large. C'est un végétal appartenant à la famille des Sapindaceae. Qui se distingue facilement à ses feuilles qui ont cinq feuillets à bordure à dent de scies, avec nervures proéminentes, un rachis et un pétiole

ailés. Le feuillet terminal est le plus large. Les inflorescences prennent naissance aux aisselles sur une longue tige qui porte à son sommet des fleurs blanches (Figure 5). Les fruits de 2,5 cm de long environ sont rouges ou roses sombres lorsqu'ils sont mûrs (Annan et al., 2013 ; Yusuf et al., 2014). Cette liane se développe dans le sous-bois en recru forestier, dans les forêts denses humides, semi-décidues, semi-caducifoliées et en forêts galeries, le long des ruisseau et dans les savanes (Adinortey et al., 2012).



Figure 5 : *Paulinia pinnata* (Photo prise par M. GHOGUE Jean Paul à simbock Mendong-youndé en Mars 2015)

Les feuilles de *Paullinia pinnata* (*P. pinnata*) contiennent des stérols et polyterpènes, des triterpénoides, des polyphénols, des flavonoïdes, des catéchiques, des saponosides, des alcaloïdes, des céramides et des tanins (Yémoa et al., 2008 ; N'guessan et al., 2009 ; Dongo et al., 2009).

I.10.3 Ethnobotanique

Elle pousse naturellement en Afrique du sud, à Madagascar, au Brésil et en Jamaïque. On la retrouve aussi au Zimbabwe et en Zambie, depuis le Sénégal jusqu'au Mali (Ybert, 1979 ; Kouassi et al., 2009). Au Cameroun, cette plante se trouve principalement dans la région de l'ouest où elle est communément appelée en langue Baham « dzuhkelong (Ghomala'a) » (Telefo et al., 2011), on la retrouve en abondance dans la sinusie lianescente de la forêt sacrée de « Men'ndé » et de « mami water » (Adjahonoun et al., 1996 ; MEM, 2010). On la retrouve aussi dans la région du centre à Obala et dans les périphéries de la ville de Yaoundé (Dongo et al., 2009).

I.10.4 Utilisations Ethnopharmacologiques

La plante entière (feuilles, tige et racines) est utilisée dans le traitement des nombreuses affections. En Afrique de l'est, le décocté des feuilles est utilisé contre les morsures de serpents, les problèmes mentaux, et les troubles de la vision. Le décocté des feuilles et des racines est utilisé contre les

gonorrhées, la paralysie, les blessures, la malaria, les vers intestinaux et pour l'expulsion du placenta. Le macéré de racines est utilisé en application externe contre l'eczéma et la plante entière pour les blessures et les infections microbiennes. La décoction des racines est bu en cas de nausées et de vomissements (Chabra et al., 1991). Au Ghana, la plante est utilisée comme aphrodisiaque et pour soigner la dysenterie. Les racines sont mâchées pour soigner les maladies pulmonaires et sont appliquées pour traiter la lèpre, les fractures, les abcès (Annan et al., 2013). Au Bénin, le décocté ou le trituré des feuilles est utilisé dans le traitement de l'ulcère de Buruli et dans le traitement des affections microbiennes (De Souza et al., 1995, N'guessan et al, 2008). En Côte d'Ivoire, *P. pinnata* est utilisé dans le traitement des rhumatismes (Tra bi et al., 2008). En République centrafricaine, la plante entière est pilée et sert de repas médicamenteux aux diabétiques (Apéma et al., 2006). Au Cameroun, cette plante médicinale est utilisée dans le traitement des infections bactériennes comme la typhoïde, la syphilis, les gonorrhées, les maux d'estomac, les douleurs abdominales et la diarrhée (Kuiaté et al., 2011, Lunga et al., 2014). Elle est aussi utilisée dans le traitement de l'infertilité de la femme dans la région de l'ouest (Telefo et al., 2011). A notre connaissance, aucune étude scientifique n'a été effectuée à ce jour sur les propriétés anti-inflammatoires de *Paullinia pinnata*.

II. MATERIELS ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1 Animaux d'expérience

Les expériences ont été menées sur des rats albinos de souche Wistar âgés de deux mois et pesant entre 120 à 150g au début de l'expérimentation. Ces rats ont été élevés à l'Animalerie du Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé I. Ils ont été logés dans des cages en plastiques à raison de 5 rats par cage et ont reçu de l'eau de robinet et de l'aliment ad libitum. La composition de l'aliment était la suivante : farine de maïs (60%), farine de poisson (24 %), farine de blé (12 %), tourteau de palmiste (12%) et farine d'os (2 %). Les animaux ont été mis à jeun 12 heures avant le début de chaque étude, mais avaient accès à l'eau.

II.1.2 Matériel végétal

Dans le cadre de la présente étude, nous avons utilisé l'extrait aqueux des feuilles de *Paullinia pinnata* Linn. (Sapindaceae). Les feuilles fraîches de *Paullinia pinnata* ont été récoltées au mois de Mars de l'année 2014 dans la localité de Simbog, une banlieue de la ville de Yaoundé (Région du Centre, Cameroun). La plante a été identifiée à l'herbier national du Cameroun en comparaison avec des échantillons conservés et enregistrés sous le numéro 10702/SRFCam.

II.2. Méthodes

II.2.1 Préparation de l'extrait aqueux des feuilles de *Paullinia pinnata*

Les feuilles fraîches de la plante ont été délicatement séparées des tiges, séchées à l'ombre puis pulvérisées. La poudre des feuilles a été obtenue suivant un protocole développé à l'IMPM (Institut de recherches Médicales et d'Etudes des Plantes Médicinales). Cette opération a permis d'obtenir une poudre dont une quantité de 200 g a été macérée dans 1000mL d'eau distillée pendant 48 heures puis filtrée à l'aide du papier Wattman n°1 (Figure 6). Le filtrat obtenu a été lyophilisé. Cette opération a permis d'obtenir 22 g d'extrait aqueux soit un rendement de 2,2%.

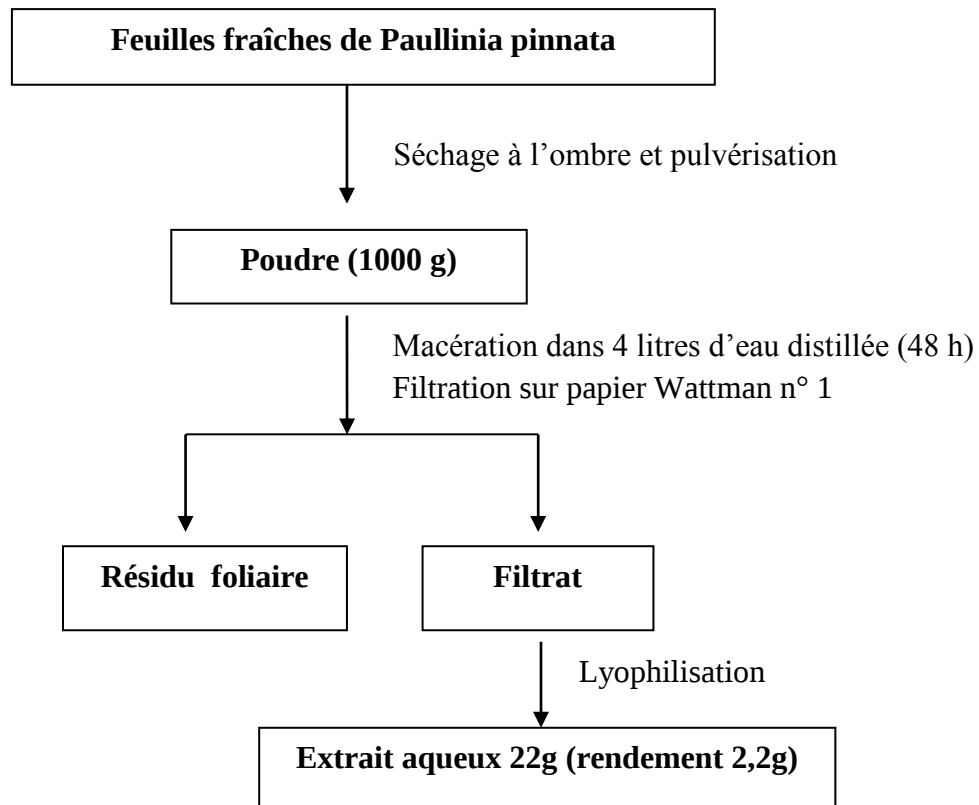


Figure 6 : Préparation de l'extrait aqueux des feuilles de *Paullinia pinnata*

II.2.2 Préparation des solutions de travail

➤ Solution de l'extrait aqueux de *P. pinnata* et de l'aspirine

Des solutions de concentrations variables d'extrait ont été préparées par dilution du lyophilisat des feuilles de *paullinia pinnata* dans l'eau distillée. Connaissant la dose D (g/kg) à administrer, la masse M (kg) de l'animal et le volume V (mL) de la solution d'extrait à administrer, la concentration C (g/mL) a été déterminée à partir de la formule suivante:

$$V = P \times D / C$$

L'Aspirine, médicament en forme de comprimé ayant pour principe actif l'acide acétylsalicylique a été utilisé lors de cette étude comme médicament de référence, de par ses propriétés ant-inflammatoires et anti-oxydantes. La concentration de la solution d'aspirine à administrer a été déterminée en utilisant la même formule que lors de la préparation des solutions d'extrait. Dans cette relation, la dose est de 100 mg/kg.

➤ La gentamicine

La gentamicine utilisée était sous forme de solution hydrosoluble de sulfate de gentamicine en Ampoule de 80 mg/ 2 ml et a été achetée en pharmacie puis par un calcul nous avons pu déterminer la dose 100 mg/kg à administrer aux rat soit 100 mg/ 2,5 ml.

- Réactif de Biuret

Le réactif de Biuret a été préparé en deux étapes. Deux solutions A et B ont été préparées:

- Solution A : 0,75 g de sulfate de cuivre hydraté ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) et 3 g de tartrate de sodium et de potassium ont été dissouts dans 100 mL d'eau distillée.
- Solution B : 15 g de soude ont été dissouts dans 100 mL d'eau distillée.

Au moment du dosage, les solutions A et B ont été mélangées et le volume de la solution finale a été ajusté à 500 mL avec de l'eau distillée. Le mélange obtenu est stable à température ambiante.

- **Tampon carbonate (0,05 M; pH 10,2)**

La solution de tampon carbonate a été préparée en pesant dans l'ordre dans un bécher 4,3 g de carbonate de sodium ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$) et 4,2 g de NaHCO_3 . L'ensemble a été solubilisé dans 900 mL d'eau distillée. Le pH de la solution a été ramené à 10,2 avec de la soude et le volume a été complété à 1000 mL.

- **Solution de tampon Tris 50 mM. pH 7.4**

Pour préparer le tampon Tris- NaHPO_4 50mM, 1,21 g de Tris base et 2,79 g de KCl ont été pesés et dissous dans 250 mL. Le pH a été ajusté à l'aide d'un pH-mètre par ajout de HCl 11,8 N et le volume a été complété à 500 mL avec de l'eau distillée.

- **Tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,5)**

Deux solutions ont été initialement préparées , 8,91 g de phosphate disodique hydraté ont été dissous dans 500 mL d'eau distillée et 6,5 g de phosphate monosodique hydraté ont été dissous dans 500 mL d'eau distillée. A 500 mL de la solution de phosphate disodique hydraté ont été ajoutés 70 mL de la solution de phosphate monosodique hydraté, puis goutte à goutte 30 mL de la même solution, ce qui donne un volume final d'environ 600 mL de tampon phosphate 0,1 M ; pH 7,5.

- **Tampon phosphate (0,5 M ; pH 6,5)**

Pour préparer le tampon phosphate 0,1 M ; pH 6,5 ; 8,9 g de phosphate disodique hydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ont été dissous dans 500 mL d'eau distillée et 6,5 g de phosphate monosodique hydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ont été dissous dans 500 mL d'eau distillée. A 500 mL de la solution de phosphate monosodique hydraté ont été ajoutés 200 mL de phosphate disodique, puis goutte à goutte 80 mL de la même solution.

- **Solution de NaCl 0,9%**

9 g de NaCl ont été solubilisée dans 1000 mL d'eau distillée

- **Solution de sulfanilamide 1 % / acide phosphorique 2,5 %**

1g de sulfanilamide a été dissout dans l'acide phosphorique à 2,5 % en quantité suffisante pour faire un volume final de 100 mL.

- **Solution d'acide phosphorique 2,5 %**

2,5 mL d'acide phosphorique (100 %) ont été prélevés et dissous dans 100 mL d'eau distillée.

- **Solution standard de nitrite de sodium**

La solution standard de nitrite de sodium (NaNO_2) de concentration de 1mM a été préparée en dissolvant 0,69 g de nitrite de sodium dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour faire 10 mL.

- **Solution de dichromate de potassium 5 % et acide acétique glacial (v/v)**

Pour préparer le dichromate de potassium à 5 %, 2,5 g de dichromate de potassium a été dissout dans 50 mL d'eau distillée. La solution de dichromate/acide acétique est obtenue en mélangeant 50 mL de solution de dichromate de potassium à 5 % et 150 mL d'acide acétique glacial pour faire un volume final de 200 mL.

- **Solution de Sérum Albumine Bovin (SAB)**

La solution de SAB (3 mg/mL) a été préparée en dissolvant 150 mg de SAB dans 50 mL d'eau distillée.

- **Solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM**

243 μL de peroxyde d'hydrogène 35 % ont été prélevés et dissous dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour faire 50 mL.

- **Solution d'adrénaline**

Pour obtenir une solution d'adrénaline de concentration 0,006 mg/mL, il a été dissous dans 100 mL, une quantité de 0,006 g d'adrénaline.

- **Solution d'acide naphthyléthylènediamide (NED) 0,1%**

0,1g de naphthyléthylènediamide a été pesé et dissous dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour atteindre 100mL.

- **Solution d'acide trichloro-acétique (TCA) 20%**

2g de TCA ont été pesés et dissous dans de l'eau distillée pour atteindre une quantité suffisante de 10mL.

- **Solution d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67%**

0,67 g de TBA ont été dissous dans 100 mL d'eau distillée.

Expérimentation

➤ Induction de la néphrotoxicité

Elle a été faite par administration aux animaux normaux (par injection intrapéritonéale) de la gentamicine à la dose 100 mg/kg de poids corporel par jour durant 10 jours. Selon le protocole de (Morales et al, 2002)

➤ Test préventif

Pour ce test, 30 rats normaux ont été répartis en 6 lots de 5 animaux chacun: un lot témoin normal traité à l'eau distillée (10 ml/kg) et au NaCl 0,9%, un lot témoin négatif traité à la gentamicine; un lot extrait uniquement, un lot témoin positif traité à l'aspirine à la dose de 100 mg/kg et deux lots traités à l'extrait respectivement aux doses de 100 mg/kg et de 200 mg/kg. Les différentes solutions ont été administrées par injection intrapéritonéale pour la gentamicine et

l'aspirine mais pour l'eau distillée et l'extrait cela s'est fait par gavage une fois par jour et pendant 10 jours.

➤ **Test curatif**

Pour cette étude, 25 rats ont été répartis en 5 lots de 5 animaux chacun. Tous les animaux de chaque lot hors mis celui du témoin négatif et celui du témoin positif ont reçu par gavage une dose unique l'extrait pendant 22 jours. Tandis que le lot témoin négatifs et témoins positif ont reçu durant cette même période respectivement de l'eau distillé (10 ml/kg) et l'aspirine (100 mg/kg). Le même lot témoin normal a été utilisé aux tests préventif et curatif.

II.2.3 Procédure d'obtention des échantillons

II.2.3.1 Sacrifice des animaux et préparation du plasma

Au terme des différentes durée d'expérimentation en traitement préventif et curatif, après 12 heures de jeun, les animaux ont été anesthésiés par exposition à la vapeur d'éther. Pendant qu'ils étaient sous anesthésie, ils ont été décapités. Le sang artéro-veineux a été récupéré dans des tubes secs, puis centrifugé à 3000 tours/min pendant 15 minutes à 4°C. Le sérum obtenu (surnageant) a été recueilli à l'aide d'une micropipette, mis dans des tubes Eppendorf et conservé à -20 °C pour le dosage de quelques paramètres biochimiques.

1 II.2.3.2 Prélèvement des organes et préparation des homogénats

Après dissection de chaque animal, les foies et les reins ont été prélevés puis rincé dans une solution de NaCl 0,9 % et 0,4 g de chaque organes a été broyé dans un mortier sur un bac contenant au préalable de la glace, puis le volume de chaque broyat a été complété avec 2 ml du tampon Tris-HCl 50 mM (0,2 g pour 1 ml de tampon). Les homogénats ainsi obtenus ont été centrifugés à 3000 trs/min pendant 25 minutes à 4 °C. Les surnageants obtenus ont été pipetés et introduits dans des tubes Eppendorfs secs et conserver à -20 °C pour le dosage des marqueurs du stress oxydatif. L'autre partie de cet organe a été fixée dans la solution de formol pour les analyses histologiques.

II.2.4 Analyses de quelques paramètres biochimiques

II.2.4.1 Dosage des protéines totales

➤ **Principe**

En milieu basique, le tartrate de sodium et de potassium forment avec les ions cuivriques un complexe soluble. L'addition d'une protéine déplace le cuivre complexé avec le tartrate pour former un complexe cuivro-protéique de couleur violette; l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans le milieu (Gornall et al., 1949).

➤ **Mode opératoire**

Dans les tubes échantillons ont été introduits 50 μL du sérum ou de l'homogénat. Dans le tube témoin, le sérum ou l'homogénat était remplacé par l'eau distillée. Après introduction des différents réactifs dans les tubes, l'ensemble a été homogénéisé au vortex et incubé pendant 5 minutes à température ambiante. L'absorbance a été lue à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (type GENESYS 20) contre blanc (Tableau I). La concentration des protéines dans les tubes tests a été déterminée en se servant de la courbe d'étalonnage (Figure 7)

Tableau I : Mode opératoire pour le dosage des protéines par la méthode de Biuret

N° tube	0	1	2	3	4	5	6	X1...Xn
	Blanc	Etalons						Echantillons
SAB (mg/mL)	0	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5	0 0
Eau distillée (mL)	3	2,75	2,5	2,25	2	1,75	1,5	2,95 2,95
Réactif de Biuret (mL)	2	2	2	2	2	2	2	2 2
Echantillon (μL)	0	0	0	0	0	0	0	50 50
Quantité de protéines (mg)	0	1,25	2,5	3,75	5	6,25	7,25	? ?

SAB : Sérum Albumine bovine ; Tube 0 : tube blanc ; Tube 1 à 6 : tube étalons ; Tubes X₁ à X_n : tubes échantillons.

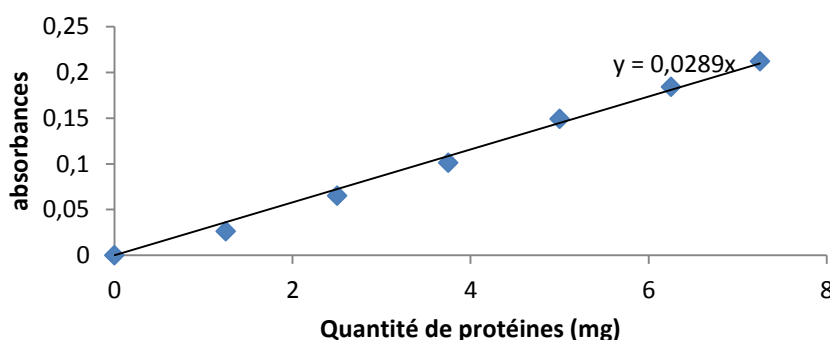


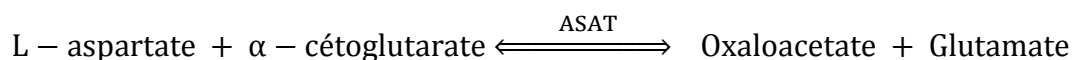
Figure 7 : Courbe d'étalonnage des protéines

La quantité de protéines a été déterminée à partir de l'équation de droite : $Y = 0,0289X$ avec Y l'absorbance de l'échantillon et X la quantité de protéines à déterminer pour un échantillon.

II.2.4.2 Dosage des transaminases sériques

➤ Principe

Les transaminases (Aspartate Aminotransférase (ASAT) et Alanine Aminotransférase (ALAT)) catalysent respectivement les réactions suivantes :



L'ALAT et l'ASAT catalysent le transfert du groupement aminé respectivement de l'alanine sur l' α -cétooglutarate pour former le pyruvate et le glutamate, et de l'aspartate vers l' α -cétooglutarate pour former l'oxaloacétate et le glutamate. Le pyruvate d'oxaloacétate formé réagit avec le 2,4-dinitrophenylhydrazil (DNPH) pour donner le complexe pyruvate hydrazone ou oxaloacétate hydrazone marron qui absorbe en présence du NaOH à 505 nm. L'intensité de la coloration est

proportionnelle à la quantité de pyruvate ou de l'oxaloacétate dans le milieu, c'est-à-dire reliée à l'activité de l'ALAT ou de l'ASAT.

➤ Mode opératoire

Les différents tubes ont été complétés comme indiqué dans le tableau VIII.

Tableau II : Protocole de dosage des aminotransférases

Tubes	Blanc réactif	Echantillons
Echantillons	-	100 µL
Eau distillée	100 µL	-
Tampon ASAT/Tampon ALAT	500 µL	500 µL
Après agitation au vortex, les tubes sont incubés au bain-marie pendant 30 minutes à 37 °C		
Standard pyruvate	500 µL	500 µL
Les tubes sont homogénéisés et laissés au repos pendant 20 minutes à température ambiante		
NaOH	5 mL	5 Ml
Les tubes sont homogénéisés et les absorbances lues au Spectrophotomètre après 5 minutes contre le blanc à 546 nm		

Les courbes d'étalonnages (Figure 8) ont été réalisées suivant le protocole du kit Fortress.

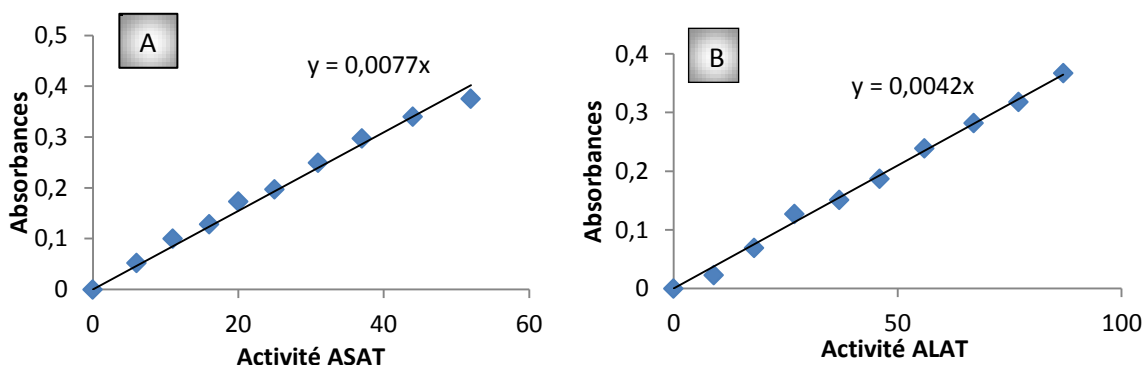


Figure 8 : Courbes d'étalonnage d'ASAT (A) et d'ALAT (B)

Les activités ont été déterminées à partir des équations de droite $Y = 0,0077X$ pour l'ASAT et $Y = 0,0042X$ pour l'ALAT.

II.2.4.3 Dosage de l'albumine

➤ Principe

L'albumine sérique se lie au Bromocrésol en milieu acide pour former un complexe vert. L'intensité de la coloration est proportionnelle à l'albuminémie (kit Fortress).

➤ Mode opératoire

Les tubes ont été complétés suivant le tableau III.

Tableau III : Mode opératoire pour le dosage de l'albumine sérique

Tubes	Blanc réactif	Echantillons/Standard
Echantillons/Standard	-	5 µL
Eau distillée	5 µL	-
Réactif	1000 µL	1000 µL
Les tubes sont agités et incubés à 25 °C pendant 5 minutes. Les absorbances ont été lues dans les 30 minutes suivant l'incubation à 620 nm.		

La détermination de la quantité d'albumine a été faite suivant la formule ci-après :

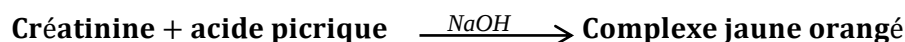
$$[\text{Albumine}](\text{g/dL}) = \frac{\text{Absorbance échantillon}}{\text{Absorbance standard}} \times 100$$

Concentration standard = 100 mg/dL

II.2.4.4 Dosage de la créatinine sérique

➤ Principe

En milieu alcalin, la créatinine réagit avec l'acide picrique pour former un complexe jaune-orangé dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de la créatinine présente dans le milieu réactionnel : c'est la réaction de Jaffe (kit Fortress).



➤ Mode opératoire

Le protocole de dosage est celui proposé dans le kit fortress diagnostic (Tableau IV).

Tableau IV : Protocole de dosage de la créatinine

Tubes	Echantillon/Standard
Echantillon/Standard	100 µL
Réactif de travail	1000 µL
Après agitation, les absorbances ont été lues à 30 secondes et à 120 secondes	

La quantité de la créatinine a été déterminée à partir de la formule suivante :

$$[\text{Créatinine}](\mu\text{mol/L}) = \frac{\Delta \text{ Absorbance échantillon}}{\Delta \text{ Absorbance standard}} \times 177$$

Concentration standard = 177 µmol/L ; Δ = variation d'absorbance entre 30 secondes et 120 secondes.

II.2.4.5 Dosage des ions potassium

➤ Principe

En milieu alcalin, les ions potassium réagissent avec le tétraphénylborate de sodium pour former une émulsion trouble de tétraphénylborate de potassium. La turbidité produite est proportionnelle à la concentration en potassium.

➤ Mode opératoire

Le dosage des ions K⁺ a été réalisé en remplissant les tubes comme l'indique le tableau VI. Le dosage s'est fait à l'aide du kit Imnesco.

Tableau IV : Protocole de dosage des ions potassium

Tubes	Blanc	Echantillon/Standard
Echantillon/Standard	-	20 µL
Eau distillée	20 µL	-
Réactif de travail	1000 µL	1000 µL

Les tubes sont agités et incubés pendant 5 minutes à 25 °C puis réagités. Les absorbances sont lues contre le blanc à 578 nm.

La concentration en ion K⁺ est déterminée par la formule

$$[\text{Ion potassium}](\text{mmol/L}) = \frac{\text{Absorbance échantillon}}{\text{Absorbance standard}} \times 5$$

(Standard) = 5 mmol/L

II.2.4.6 Dosage des ions sodium

Le dosage des ions sodium sérique a été réalisé à l'aide du kit Atlas Medical.

➤ Principe :

Le sodium est précipité en tant que triple sel, sodium magnésium uranyl acétate, avec un excès d'uranium. Après réaction avec le ferrocyanide, il y a production d'un chromophore dont la capacité d'absorption varie inversement avec la concentration de sodium dans le milieu.

➤ Mode opératoire :

Le dosage des ions Na⁺ a été réalisé en remplissant les tubes tels que décrit dans le tableau VII.

Tableau V : Protocole de dosage des ions sodium

	Blanc réactif	Standard/échantillon
Standard/échantillon	-	10µL
Eau distillée	10 µL	-
Réactif de couleur	1000 µL	1000 µL

Les tubes sont agités et incubés pendant 5 minutes à 25 °C. Les absorbances sont lues contre le blanc à 630 nm.

La concentration en ions sodium a été déterminée suivant la formule ci-dessous :

$$[\text{Sodium}](\text{mmol/L}) = \frac{\text{Absorbance échantillon}}{\text{Absorbance standard}} \times 150$$

Concentration du standard = 150 mmol/L

II.2.4.7 Dosage de l'urée sérique

➤ Principe

L'urée est hydrolysée par l'uréase en ammoniac et en gaz carbonique. L'ammoniac produit en présence du glutamate deshydrogénase, NADH et l' α- ketoglutarate forme le NAD⁺ et le glutamate. La quantité de NAD⁺ est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon.

➤ Mode opératoire

Les tubes ont été complétés suivant le tableau . Le dosage de l'urée sérique a été réalisé à l'aide du kit SGMitalia.

Tableau VII: Protocole de dosage de l'urée sérique

Tubes	Blanc	Echantillon/Standard
Echantillon/Standard	-	10 µL
Eau distillée	10 µL	-
Réactif de travail	1000 µL	1000 µL

Les tubes sont agités et incubés à 37 °C dans un bain marie. Les absorbances ont été lues au spectrophotomètre contre le blanc à 360 nm après 30 secondes et après 1 minute.

La concentration d'urée a été calculée par la formule suivante :

$$[\text{Urée}](\text{mmol/L}) = \frac{\text{Absorbance échantillon}}{\text{Absorbance standard}} \times 50$$

ΔDO : variation de l'absorbance

(Standard)= 50 mg/Dl

II.2.5 Evaluation de quelques paramètres du stress oxydant tissulaire

II.2.5.1 Dosage de la superoxyde dismutase

L'activité de SOD tissulaire a été déterminée par la méthode décrite par Misra et Fridovich (1972).

➤ Principe

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

➤ Mode opératoire

Dans une cuve à spectrophotomètre a été introduit 134 µL d'homogénat d'organe pour l'essai. Le tampon carbonate 0,05 M ; pH 10,2 (1666 µL) a été introduit dans le tube témoin. Après avoir calibré le spectrophotomètre (type GENESYS 20), la réaction est déclenchée en ajoutant 200 µL d'adrénaline (0,3 mM) dans chaque tube. Le mélange est homogénéisé par inversion rapide de la cuve. La densité optique à 480 nm a été notée après 20 et 80 secondes. L'activité spécifique de la SOD a été définie en unité de SOD nécessaire pour causer une inhibition de 50 % de l'oxydation de l'adrénaline en adrenochrome pendant une minute.

Détermination de l'activité de la SOD

-Variation de la DO : ΔDO (min) = DO 20s – DO 80s

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

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

II.2.5.2 Dosage des nitrites

➤ Principe

La méthode utilisée est celle décrite par Slack (1987). En présence de l'amino-4-benzène sulfonamide (sulfanilamide) et de 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 présent dans l'échantillon.

➤ Mode opératoire

Les tubes ont été préparés suivant le protocole décrit dans le Tableau

Tableau VIII : Mode opératoire pour le dosage et l'établissement de la courbe d'étalonnage pour les nitrites

Tubes	0	1	2	3	4	5	6	X ₁ ...X _n
	Blanc	Etalons					Echantillons	
Concentration de NaNO ₂ (μmol)	0	0,0312	0,0625	0,125	0,250	0,5	1	-
Volume de NaNO ₂ (μL)	100	100	100	100	100	100	100	-
Echantillon (μL)	-	-	-	-	-	-	-	100
Eau distillée (μL)	400	400	400	400	400	400	400	400
Sulfamide/acide phosphorique (μL)	400	400	400	400	400	400	400	400
Les tubes ont été incubés à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 5 minutes								
Solution de NED 0,1 % (μL)	400	400	400	400	400	400	400	400
Les tubes ont été incubés à l'abri de la lumière pendant 5 minutes. L'absorbance est lue contre le blanc (tube 0) à 546 nm dans les 30 minutes suivant la dernière incubation.								

NED = Naphtyléthylènediamide.

Les étalons de 1 à 6 ont permis de tracer la courbe d'étalonnage (Figure 9) :

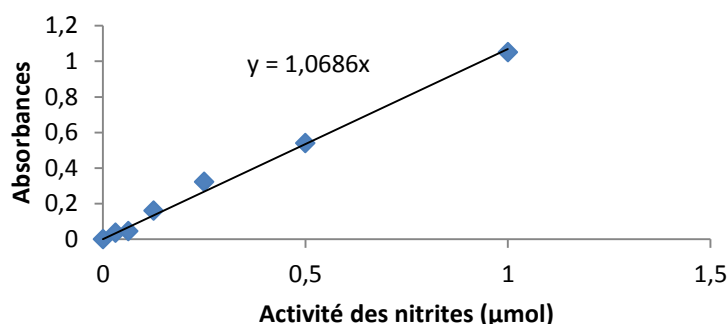


Figure 9 : Courbe d'étalonnage des nitrites

La concentration des nitrites a été déterminée à partir de l'équation de droite $Y = 1,0686X$.

II.2.5.3 Dosage de la catalase

➤ Principe

Le peroxyde d'hydrogène est rompu en présence de la catalase. Ce peroxyde détruit se lie au dichromate de potassium pour former un précipité bleu vert d'acide perchlorique instable qui va être ensuite décomposé par la chaleur et former un complexe vert (Sinha, 1972).

➤ Mode opératoire

A une solution aqueuse de dichromate de potassium 5 % est ajouté lentement 150 mL d'acide acétique glacial (solution corrosive et toxique). Les différents réactifs ont été mélangés comme l'indique le tableau IX afin d'établir la courbe d'étalonnage.

Tableau IVII : Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase

Tubes	1	2	3	4	5
Volume de H₂O₂ 50 mM (μL)	0	20	40	80	160
Solution de dichromate/acide acétique (mL)	2	2	2	2	2
Après formation du précipité bleu, les tubes ont été chauffés jusqu'à ébullition pendant 10 minutes (apparition de la couleur verte d'acétate chromique) et refroidis à température ambiante					
Eau distillée (μL)	1000	980	960	920	840
L'absorbance des tubes a été lue à 570 nm					

Pour le dosage de la catalase tissulaire, il a été introduit dans chaque tube à essai 50 μL d'homogénat et 750 μL de tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,5). Le chronomètre a été déclenché après ajout de 200 μL de peroxyde d'hydrogène (50 mM). Après une minute, la réaction a été arrêtée par ajout de 2 mL de solution de dichromate/acide acétique. Dans le tube témoin a été mis 50 μL d'homogénat et 800 μL de tampon phosphate (0,1M ; pH 7,5) l'ensemble a été chauffé à 100 °C pendant 10 minutes. Après refroidissement, la densité optique a été lue au spectrophotomètre (GENESYS 20) à 570 nm. Pour chaque tube, la quantité de peroxyde d'hydrogène restant dans la solution après ajout de l'acide a été évaluée en utilisant la courbe d'étalonnage (Figure 10). L'activité spécifique de la catalase a été exprimée en μM de H₂O₂/min/mg de protéines.

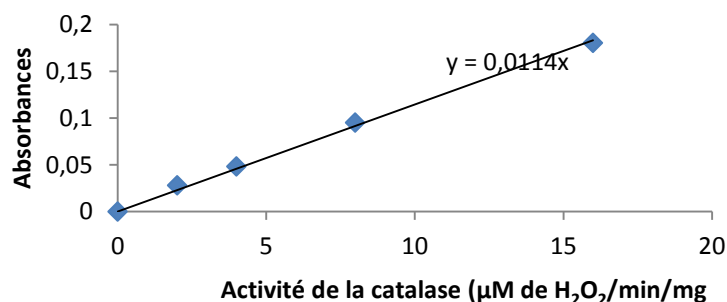


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la catalase

L'activité de la catalase a été déterminée à partir de l'équation de droite : $Y = 0,0114X$

II.2.5.4 Dosage de la malonyldialdéhyde

➤ Principe

Les aldéhydes, comme l'aldéhyde malonique (MDA), formés au cours de la peroxydation lipidique réagissent avec l'acide thiobarbiturique pour former un complexe coloré rose qui absorbe avec un maximum à 530 nm (Wilbur et al 1949).

➤ Mode opératoire

Dans les tubes à essai a été introduit 2 mL de l'homogénat de chaque organe et dans le tube témoin, 1 mL de tampon Tris-HCl 50 mM, KCl 150 mM, pH 7,4. Dans chaque tube a été ajouté 1 mL d'acide trichloroacétique (TCA) 20 % et 2 mL d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %. Les tubes ont été bouchés à l'aide des billes de verre et incubés pendant 10 minutes à 90 °C au bain-marie. Ils ont ensuite été refroidis à l'eau de robinet et centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 minutes à température ambiante. Les surnageant ont été décantés et les densités optiques lues à 530 nm contre le blanc. La concentration en MDA a été calculée à l'aide du coefficient d'extinction molaire ϵ suivant la formule :

$$[\text{MDA}](\text{mmol/mg}) = \frac{\text{VT} \times \Delta\text{DO}}{\text{VE} \times \epsilon \times \ell \times \text{qT}}$$

VT : volume total du surnageant ; VE : volume de l'échantillon prélevé (mL) ; ℓ : trajet optique (cm) ; ϵ : coefficient d'extinction molaire ($1,56 \times 10^5 \text{ cm}^2/\text{mmol}$) ; ΔDO : DO essai – DO blanc ; qT : quantité de protéines dans le volume total de surnageant.

II.2.5.5 Dosage du glutathion réduit

➤ Principe

La méthode mise au point par Ellman (1959) pour la détermination de la quantité de glutathion réduit est basée sur le fait que l'acide dinitro-2,2'-dithio-5,5'-dibenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements thiol du glutathion pour former un complexe de coloration jaune qui absorbe à 412 nm.

➤ Mode opératoire

L'homogénat de chaque organe (1 mL) a été précipité avec 1 mL d'acide sulfosalicylique. Les échantillons ainsi préparés ont été conservés à -4 °C pendant une heure puis centrifugés à 1200 tr/min pendant 15 minutes à -4 °C. A 0,1 mL de surnageant ont été ajoutés 2,7 mL de tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,4). La coloration jaune développée a immédiatement été lue au spectrophotomètre à 412 nm. La concentration du glutathion a été calculée à l'aide du coefficient d'extinction molaire ϵ suivant la formule :

$$[\text{GSH}](\text{mmol/g}) = \frac{\text{VT} \times \Delta\text{DO}}{\text{VE} \times \epsilon \times \ell \times p}$$

VT : volume total du surnageant ; VE : volume de l'échantillon prélevé (mL) ; ℓ : trajet optique (cm) ; ϵ : coefficient d'extinction molaire ($13600 / \text{mmol.cm}$) ; ΔDO : DO essai – DO blanc ; p : masse du foie.

II.2.6 Techniques histologiques

Les organes des animaux conservés dans le formol 10% après leur prélèvement ont été colorés à l'hématoxyline-éosine et ensuite ont été observés au microscope comme suit :

Recoupe ou << **trimming** >>: après fixation de ces organes dans le formol à 10 %, une fraction a été découpée en petites tranches sous une hotte ventilée, puis introduites dans des cassettes numérotées au crayon; Déshydratation: elle a été faite en introduisant les cassettes dans des bacs pour déshydratation contenant de l'alcool éthylique à des degrés croissants à une durée déterminée: 50° (1 h), 70° (1 h), 95° (2 bacs dont 1 h pour le 1er et 1 h30 pour le 2e), et 3 bacs de 100° (pendant respectivement 1 h, 1 h30 et 2h). Après la sortie du 3e bac d'alcool de 100°, les cassettes ont été introduites dans 2 bacs de xylène à raison de 1 h et 1 h30 respectivement et puis dans 3 séries de bacs de paraffine à raison de 1 h, 1 h30 et 2 h respectivement;

Inclusion: les cassettes ont été introduites dans un bac contenant de la paraffine fondue à 60 °C et puis introduites dans les moules à l'intérieur desquels a été coulée la paraffine fondue. Une fois la paraffine refroidie, les blocs ont été placés dans un bloc de glace pour durcissement;

Coupe: les blocs refroidis ont été fixés sur un microtome et coupés en épaisseur de 5 µm. Une fois coupées, les sections ont été mises à déplier dans un bain marie (40 °) puis récupérées sur une lame microscopique. Les lames ont été ensuite laissées 24 h dans une étuve à 45° C avant coloration;

Coloration et Montage: la technique de coloration à l'hématoxyline-éosine (HE) a été utilisée. L'hématoxyline basophile colore en bleu noir les composants nucléaires et l'éosine acidophile en rose-rouge les composants cytoplasmiques. Les coupes ont été déparaffinées et réhydratées par passage successif dans une série de bains selon la séquence suivante: Xylène n°1 (5 min) → Xylène n° 2 (5 min) → Xylène n° 3 (5 min) → éthanol 100° n° 1 (10 min) → éthanol 100° n° 2 (10 min) → éthanol 100° n°3 (10 min) → éthanol 95° (5 min) → éthanol 70° (5 min). Les lames ont ensuite été rincées à l'eau distillée et immergées pendant 10 min dans un bac contenant de l'hématoxyline de Mayer, puis rincées à nouveau à l'eau courante du robinet. Après cela, elles ont été passées dans un bain d'éthanol 95° pendant 5 min, et ont été immergées pendant 5 min dans de l'éosine alcoolique 0,5 %. A la fin de la coloration, les coupes ont été déshydratées dans 3 bains d'éthanol 100° (5 min x 3) et éclaircies dans 3 bains de xylène (5 min x 3). Une fois sortie du xylène, quelques gouttes de résine ont été déposées sur les coupes, puis ces dernières ont été recouvertes d'une fine lamelle de verre chacune pour l'observation au microscope photonique (marque Olympus). Les photographies ont été réalisées en connectant un ordinateur sur le microscope. Les coupes histologiques des organes des animaux traités ont été comparées à celles des organes des animaux témoins.

II.2.7 Expression et analyses statistiques

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne $\pm$ ESM (erreur standard sur la moyenne). Les moyennes ont été comparées à l'aide du test de l'analyse des variances (ANOVA) suivie du post

test de Turkey à l'aide du logiciel GRAPH PAD version 5.0. Les différences ont été considérées statistiquement significatives à $p < 0,05$.

III. Résultats et discussion

III.1 Résultats

III.1.1 Traitement préventif

III.1.1.1 Effet sur le poids relatif des organes

L'évaluation du poids relatif du foie et des reins des animaux au terme des dix jours d'expérimentation est représentée par le tableau X. Il en ressort que les animaux intoxiqués à la gentamicine (témoins négatifs) ont présenté une augmentation significative (P 0,001) du poids relatif du foie et des reins de l'ordre respectif de 69,13 et 88,73 % par rapport aux animaux témoins normaux. L'administration de l'extrait aqueux des feuilles de *Paullinia pinnata* (100 mg/kg et 200 mg/kg) à entrainer une baisse significative (P 0,01) du poids relatif de ces organes à savoir 18,04% ; 30,80% pour le foie 18,08% et 19,80 pour les reins par rapport aux témoins négatifs. Tout comme l'extrait l'Aspirine a aussi pu prévenir l'augmentation de la masse de ces organes de manière significative (P 0,05).

Tableau X : Effet préventif de *P. pinnata* sur le poids relatif des organes

POIDS RELATIFS DES ORGANES	TRAITEMENTS PREVENTIFS					
	T. Normal	T. Négatif	NaCl + E 200	E 200	E 100	T. Positif
FOIES	2,66±0,08	4,51 ± 0,28 ^C	2,91± 0,16 ^λ	3,14 ± 0,28 ^λ	3,69 ± 0,2 ^a	3,54± 0,06 ^μ
REINS	0,59± 0,02	1,12 ± 0,03 ^C	0,63 ± 0,01 ^λ	0,90 ± 0,01 ^{C β}	0,92 ± 0,05 ^{C β}	0,94± 0,05 ^{C μ}

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ESM, n=5, ap< 0,05; bp< 0,01 ; cp< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin normal, μp< 0,05;βp< 0,01 ;λp< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin négatif ; \$p< 0,05,\$\$p< 0,01,\$\$\$p<0,001 différences significative par comparaison au témoins positif.

III.1.1.2 Effet sur l'évolution pondérale

La figure 11, présente l'évolution pondérale des animaux pendant 10 jours d'administration de la gentamicine. Il en ressort que le traitement à la gentamicine a en comparaison au témoin eau distillée, induit une baisse significative (p<0,05) du poids corporel des rats au 4^{ème} jour d'expérimentation, suivi de deux autres baisses significative (p<0,001) au 6ème et 10ème jour. L'administration de l'extrait aqueux de la plante à différentes doses n'a pas entraîné regain significatif de la masse des animaux tout comme le traitement à l'Aspirine, malgré la nette évolution perceptible chez ces animaux.

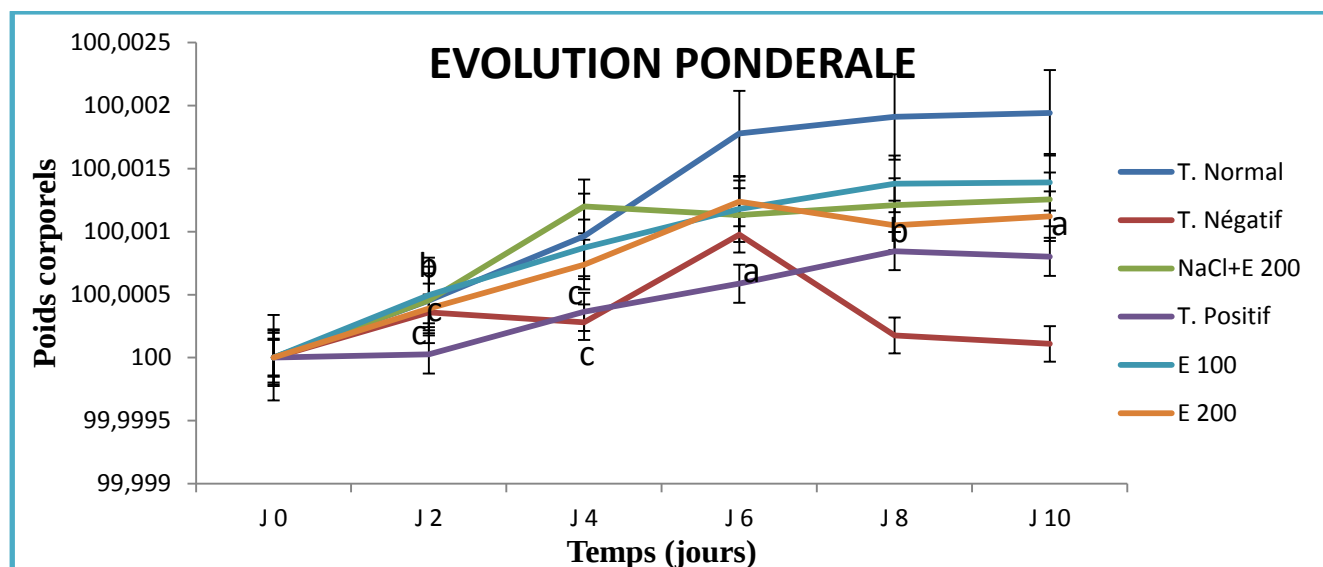


Figure 11 : Effet préventif de *P. pinnata* sur l'évolution pondérale

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ ESM, $n=5$, $a_p < 0,05$; $b_p < 0,01$; $c_p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin normal, $\mu_p < 0,05$; $\beta_p < 0,01$; $\lambda_p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin négatif; $\$p < 0,05$, $\$\$p < 0,01$, $\$\$\$p < 0,001$ différences significative par comparaison au témoins positif.

III.1.1.3 Effets préventifs de l'extrait aqueux de *P.pinnata* sur quelques paramètres sériques de la fonction hépatique

Le tableau XI, montre que l'administration d'une dose unique et quotidienne de la gentamicine (100 mg/kg) pendant 10 jours aux rats a provoqué une augmentation significative du taux sérique de l'ALAT, de l'ASAT, respectivement de 82,98 % ($P < 0,01$) et 109,87 % ($P < 0,001$), par rapport aux témoins normaux. L'extrait aqueux des feuilles de *Paullinia pinnata* (100 mg/kg et 200 mg/kg) administré aux animaux en traitement préventif a prévenu de façon significative l'élévation du taux des transaminases. Chez les animaux prétraités à la dose de 100 mg/kg, les taux de l'ALAT et de l'ASAT ont été inhibés respectivement de (65,92 % et de 49,38 %) comparé au témoin négatif. A la dose 200 mg/kg cette inhibition était de (47,09 % pour l'ALAT et 33,30 % pour l'ASAT).

L'extrait à toutes les doses a entraîné des variations significative de l'activité de la PAL et du taux d'albumine par comparaison au témoin négatif on note donc une diminution (63,46%, 53,84% pour la PAL et 42,58%; 31,72 % pour l'albumine). L'Aspirine administré à la dose de 100 mg/kg pendant 10 jours (témoin positif) avant chez les animaux prétraités à la gentamicine a provoqué une inhibition significative ($P < 0,01$) soit 44,53 %.

Tableau XI : Effet préventif de *P. pinnata* sur les paramètres de la fonction hépatique

Paramètres Fonction hépatique	TRAITEMENTS PREVENTIFS					
	T. Normal	T. Négatif	NaCl + E 200	E 200	E 100	T. Positif
ALAT	43,36±4,76	79,38±5,53 ^b	47,04±6,25	42,00±3,04 ^β	27,04±5,15 ^λ	42,19±9,85 ^β
ASAT	27,09±3,89	56,85±1,93 ^c	37,61±4,48	37,92±3,03 ^β	28,77±3,59 ^λ	41,76±2,73 ^μ
ALBUMINE	2,32±0,09	4,55±0,37 ^b	2,38±0,57	3,11±0,13	2,61±0,45 ^μ	2,52±0,32 ^β
P.ALCALINE	5,51±1,23	28,67±1,10 ^c	3,85±0,67	13,23±4,03 ^μ	10,47±4,39 ^β	9,37±4,58 ^β

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ESM, n=5, ap< 0,05; bp< 0,01 ; cp< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin normal, μp< 0,05;βp< 0,01 ;λp< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin négatif ; \$p< 0,05,\$\$p< 0,01,\$\$\$p<0,001 différences significative par comparaison au témoins positif.

III.1.1.4 Effets préventifs de l'extrait aqueux de *P.pinnata* sur quelques paramètres sériques de la fonction rénale

Au niveau rénal, l'induction de la gentamicine a par rapport aux rats recevant de l'eau distillée provoqué une augmentation du taux de créatinine sérique, d'ions potassium, d'acide urique et d'urée respectivement de 1330,18 %, 84,40 %, 197,37 %, 1250 % respectivement. L'extrait de plante (100 mg/kg) tout comme l'ASPIRINE a induit une baisse significative de (P <0,01 ; P< 0,01 ; P< 0,001 et de P< 0,01) de taux respectifs de créatinine d'ions potassium d'acide urique et d'urée par rapport aux rats témoins négatifs soit pour un pourcentage respectif de 87,99%, 49,58%, 66,54%, 93,12%,. L'extrait à la dose de 200 mg/kg a réduit de 51,31 % le taux sérique de créatinine par rapport aux rats recevant la gentamicine. Il a été observé une diminution significative de la concentration des ions K⁺ d'acide urique et d'urée de 54,91 % ; 34,42 % ; 84,65 % respectivement à la même dose. L'aspirine, administré aux rats témoins positifs a réussi d'une manière significative P<0,001 à empêcher l'élévation de la concentration sérique de créatinine, acide urique et d'urée et de P<0,05 pour le potassium en comparaison au témoin négatif.

III.1.1.5 Effets préventifs de l'extrait aqueux des feuilles de *P.pinnata* sur les taux de protéines sérique

La tableau XII, montre les effets de l'extrait en traitement préventif sur les taux sérique de protéines. Il ressort de cette figure que l'administration de la gentamicine durant 10 jours aux rats normaux a induit une augmentation significative du taux de protéines sérique de 197,37 % comparé au témoin normal. L'administration de l'extrait de plantes (100 mg/kg ou 200 mg/kg) aux animaux ayant recevant aussi la gentamicine (100 mg/kg) pendant 10 jours a pu prévenir cette augmentation et à diminuée de manière significative leur taux soit de (66,54% et 34,42 %) respectivement. L'Aspirine administré à la dose de 100 mg/kg pendant 10 jours a provoqué une diminution significative de P< 0,01 soit un pourcentage d'inhibition de 42,01 % comparé au témoin négatif.

Tableau XII : Effet préventif de *P. pinnata* sur les paramètres de la fonction rénale

Paramètres Biochimiques	TRAITEMENTS PREVENTIFS					
	T. Normal	T. Négatif	NaCl + E 200	E 200	E 100	T. Positif
CREATININE	21,20±2,74	303,20±20,94 ^c	36,40±18,19 ^λ	147,60±19,97 ^{cλ}	102,80±13,06 ^{aλ}	184,60±18,73 ^{cλ}
AC.URIQUE	2,26±0,19	6,73±0,34 ^c	1,89±0,14	4,41±0,36 ^λ	2,25±0,11 ^λ	3,90±0,78 ^λ
UREE	7,36±1,93	99,47±12,57 ^c	11,58±1,78 ^λ	15,26±2,80 ^λ	6,84±1,34 ^λ	37,36±11,98 ^λ
PROTEINES	3,67±0,80	7,90±0,32 ^b	3,87±0,52	3,95±0,57 ^β	3,21±0,46 ^λ	4,40±0,95 ^β
POTASSIUM	17,61±1,93	32,50±2,52 ^b	12,00±3,96	14,64±3,03 ^λ	16,40±0,71 ^β	18,70±2,40 ^μ
SODIUM	13,60±2,08	35,83±1,38 ^c	20,23±2,47	19,81±4,40 ^β	16,92±1,45 ^λ	23,12±2,05 ^μ

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ESM, n=5, ap< 0,05; bp< 0,01 ; cp< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin normal, μp< 0,05;βp< 0,01 ;λp< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin négatif ; \$p< 0,05,\$\$p< 0,01,\$\$\$p<0,001 différences significative par comparaison au témoins positif.

III.1.1.6 Effets préventifs de l'extrait aqueux de *P. pinnata* sur quelques paramètres du stress oxydatif

III.1.1.6.1 Effets sur le taux de protéines tissulaires

Une modification significative a été observée au niveau des protéines totales tissulaires chez les rats traités à la gentamicine au terme de 10 jours de traitement par rapport aux animaux recevant une diète normale. Les résultats de la figure 11, montrent que l'injection de la gentamicine a provoqué une baisse significative ($p < 0,001$) du taux des protéines de 57,69% dans les reins et de 51,90 % au niveau du foie par rapport aux rats témoins eau distillée.

L'administration par gavage de l'extrait de plante à la dose de 100 mg/kg a relevé de manière significative le taux de protéines de 119,69 % dans le rein et de 93,78 % dans le foie par rapport aux rats témoins gentamicine.

L'administration de l'extrait à la dose de 200 mg/kg a entraîné par rapport aux rats témoins négatifs une augmentation significative ($P < 0,001$) des taux de protéines de près de 160,60 % dans le rein et de 141,24 % dans le foie. L'administration de l'aspirine dans les mêmes conditions que la gentamicine a significativement augmenté le taux de protéines de 90,90 % dans le rein et de 24,28% dans le foie par rapport aux rats soumis au traitement à la gentamicine.

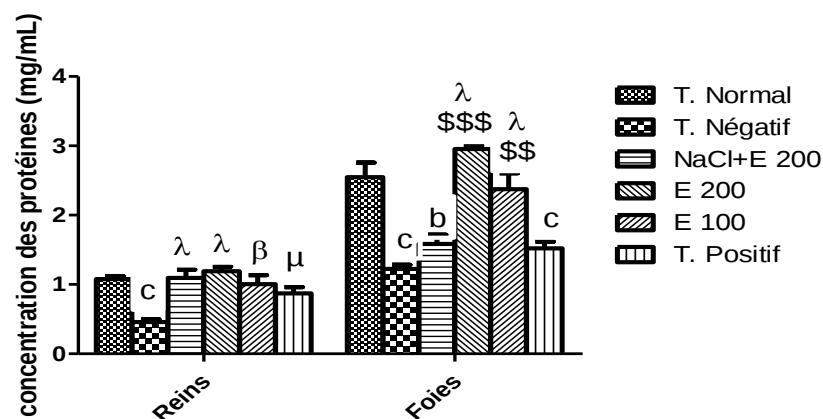


Figure 12 : Effet préventif de *P.pinnata* sur le taux de de protéines tissulaire

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ ESM, $n=5$, $ap < 0,05$; $bp < 0,01$; $cp < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin normal, $\mu p < 0,05$; $\beta p < 0,01$; $\lambda p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin négatif; $\$p < 0,05$, $$$p < 0,01$, $$$$p < 0,001$ différences significative par comparaison au témoins positif.

III.1.1.6.2 Effets sur l'activité de la Catalase et la Superoxyde dismutase

La figure 13, montre les effets de l'extrait aqueux de *P.pinnata* sur la CAT et la SOD. L'injection gentamicine a provoqué une baisse significative ($p < 0,001$) du taux de CAT et de SOD tissulaire. Dans le rein la catalase et la SOD ont diminués respectivement de 77,56% et 82,92% au niveau du foie cela était de 48,15% et 74,82% comparé aux rats normaux. L'administration cumulative de l'extrait de plante a provoqué une augmentation significative de ces enzymes à toutes les doses en comparaison au contrôle négatif. Le taux de catalase a augmenté dans le foie, le rein respectivement 53,46% et de 114,45% pour la dose 100mg/kg; ensuite de 36,68% et 178,31% pour la dose 200 mg/kg. La SOD quant- à- elle a aussi augmenté dans le foie, le rein respectivement de 407,42%; 1085,71% à la dose 100 mg/kg et de 102,85%; 1014,28% pour la dose 200 mg/kg comparée au contrôle négatif. L'aspirine a entraîné une augmentation significative de ($P < 0,001$) de catalase tissulaire dans le foie, le rein contrairement aux animaux soumis à la gentamicine de même qu'une variation significativement de la SOD dans le foie ($P < 0,001$), le rein ($P < 0,01$). Cette hausse a été de 39,12 % dans le foie, de 149,39% dans le rein.

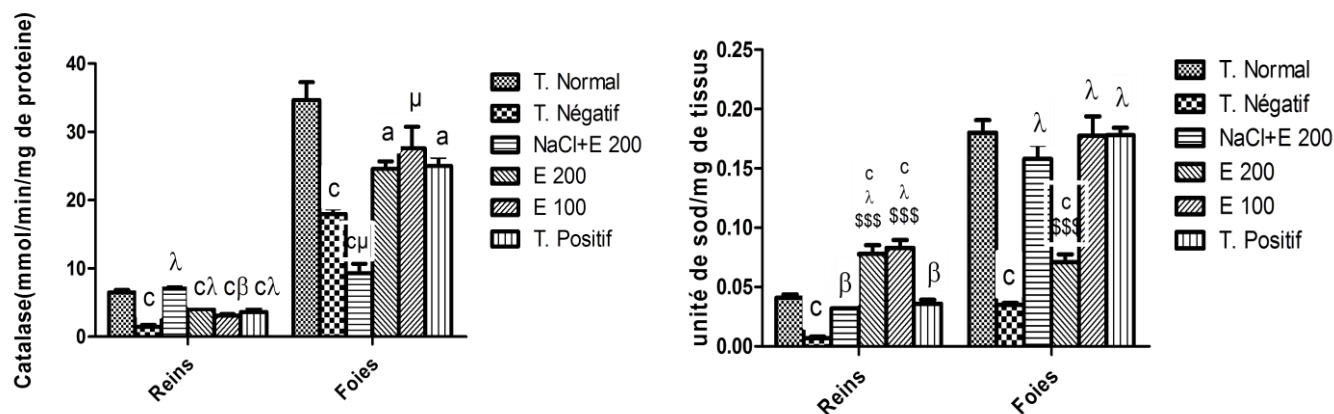


Figure 13 : Effet préventif de *P.pinnata* sur l'activité de la Catalase et de la Superoxyde dismutase sur le foie et le rein

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ ESM, $n=5$, $ap < 0,05$; $bp < 0,01$; $cp < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin normal, $\mu p < 0,05$; $\beta p < 0,01$; $\lambda p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin négatif; $\$p < 0,05$, $$$$p < 0,01$, $$$$$p < 0,001$ différences significative par comparaison au témoins positif.

III.1.1.6.3 Effets sur les nitrites et le malondialdéhyde.

La figure 14, montre les taux de nitrites et de MDA dans les différents lots après 10 jours de traitement. Chez le lot contrôle négatif le taux de nitrites et de MDA tissulaire a augmenté significativement ($p < 0,001$) dans les organes comparé aux rats normaux. Cette augmentation a été de 41,89% et de 139,03% respectivement dans le foie, le rein (nitrites); de 82,05% et de 97,62% respectivement dans le foie et le rein (MDA) comparé aux rats normaux. L'administration cumulative de l'extrait de plante a provoqué une baisse significative de ces paramètres à toutes les doses en comparaison au contrôle négatif. Le taux de nitrites a diminué dans le foie, le rein respectivement de 109,52%, 139,03%; le taux de MDA a baissé de 79,19% et de 76,76% respectivement dans le foie et le rein à la dose 100 mg/kg comparé au contrôle négatif. A la dose de 200 mg/kg, la baisse a été de 159,20% dans le foie, 34,74% dans le rein pour les nitrites et de 37,25% dans le foie et de 48,70% dans le rein pour le MDA comparé au contrôle négatif. L'aspirine a aussi significativement baissé le niveau de MDA tissulaire, cette baisse a été de 37,61% dans le foie et de 36,31% dans le rein comparé au contrôle négatif.

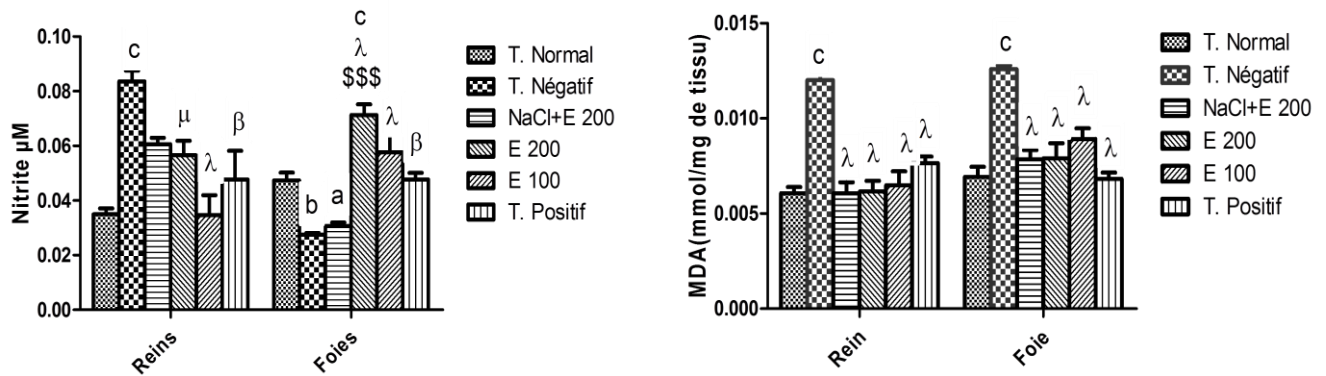


Figure 14 : Effet préventif de *P.pinnata* sur le taux de NO et de MDA dans le foie et le rein

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ ESM, $n=5$, $ap < 0,05$; $bp < 0,01$; $cp < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin normal, $\mu p < 0,05$; $\beta p < 0,01$; $\lambda p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin négatif; $\$p < 0,05$, $\$\$p < 0,01$, $\$\$\$p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoins positif.

III.1.1.6.4 Effets sur la teneur en glutathion réduit

Il ressort de la figure 15, qu'une diminution significative des concentrations en glutathion réduit (GSH) a été provoquée par l'injection de la gentamicine au terme de 10 jours de traitement par rapport aux rats témoins normaux soit à un pourcentage de 34,18%, 80,56% respectivement dans le foie et rein. L'extrait à la dose 100 mg/kg a entraîné aucune augmentation significative par rapport aux rats recevant la gentamicine à un pourcentage de 42,62% dans le foie et de 305,81% dans le rein. Les animaux recevant l'extrait à la dose de 200 mg/kg ont présenté une élévation significative du taux de GSH dans le foie de l'ordre de 127,23 % et 220,24% par rapport au lot témoin négatif.

Il ressort également de cette figure que l'aspirine a entraîné une diminution significative du taux de glutathion réduit dans le foie à 32,46 % et dans le rein à 274,74 % par rapport au lot témoin négatif.

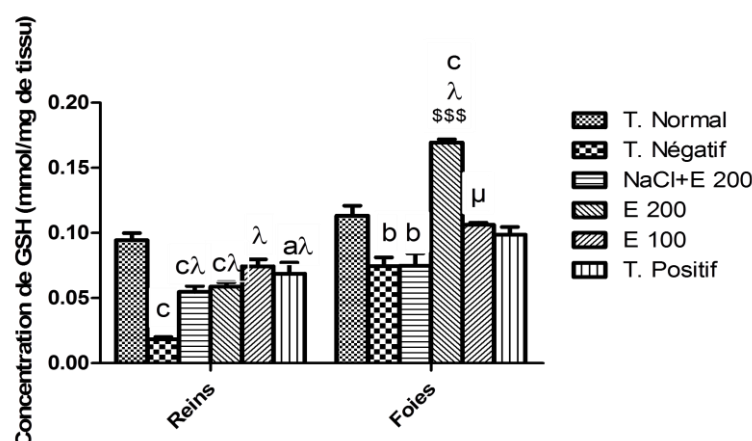


Figure 15 : Effet préventif de *P.pinnata* sur le taux de GSH tissulaire.

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ ESM, $n=5$, $ap < 0,05$; $bp < 0,01$; $cp < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin normal, $\mu p < 0,05$; $\beta p < 0,01$; $\lambda p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin négatif; $\$p < 0,05$, $\$\$p < 0,01$, $\$\$\$p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoins positif.

III.1.1.7 Coupes histologiques :

III.1.1.7.1 Effet préventif de *P. pinnata* sur l'histologie du foie.

La figure 16 A, représente l'histologie du foie d'un rat normal. Cette coupe montre une veine centrolobulaire et des hépatocytes séparés par les capillaires sinusoides. L'histologie du foie des animaux ayant reçu la gentamicine pendant 10 jours (Figure 16 B), présente un parenchyme désorganisé, dilatation capillaire, une stéatose et une infiltration leucocytaire. Les animaux traités à l'extrait de plante uniquement à la dose 200 mg/kg (Figure 16 C) présentent une architecture pareille à celle des témoins normaux. Les animaux traité concomitamment à la gentamicine 100mg /kg et à l'extrait aux doses de 200 mg/kg (Figure 16 D) et de 100 mg/kg (Figure 16 E) pendant 10 jours une architecture très proche de celle d'un rat normale malgré une importante dilatation capillaire observé à la dose 200 mg/kg. La coupe du foie des animaux traités à l'aspirine (Figure 16 F) montre également une architecture pouvant s'apparenter à celle du normale. Mais, on note néanmoins une stéatose et une légère dilatation capillaire dans le foie

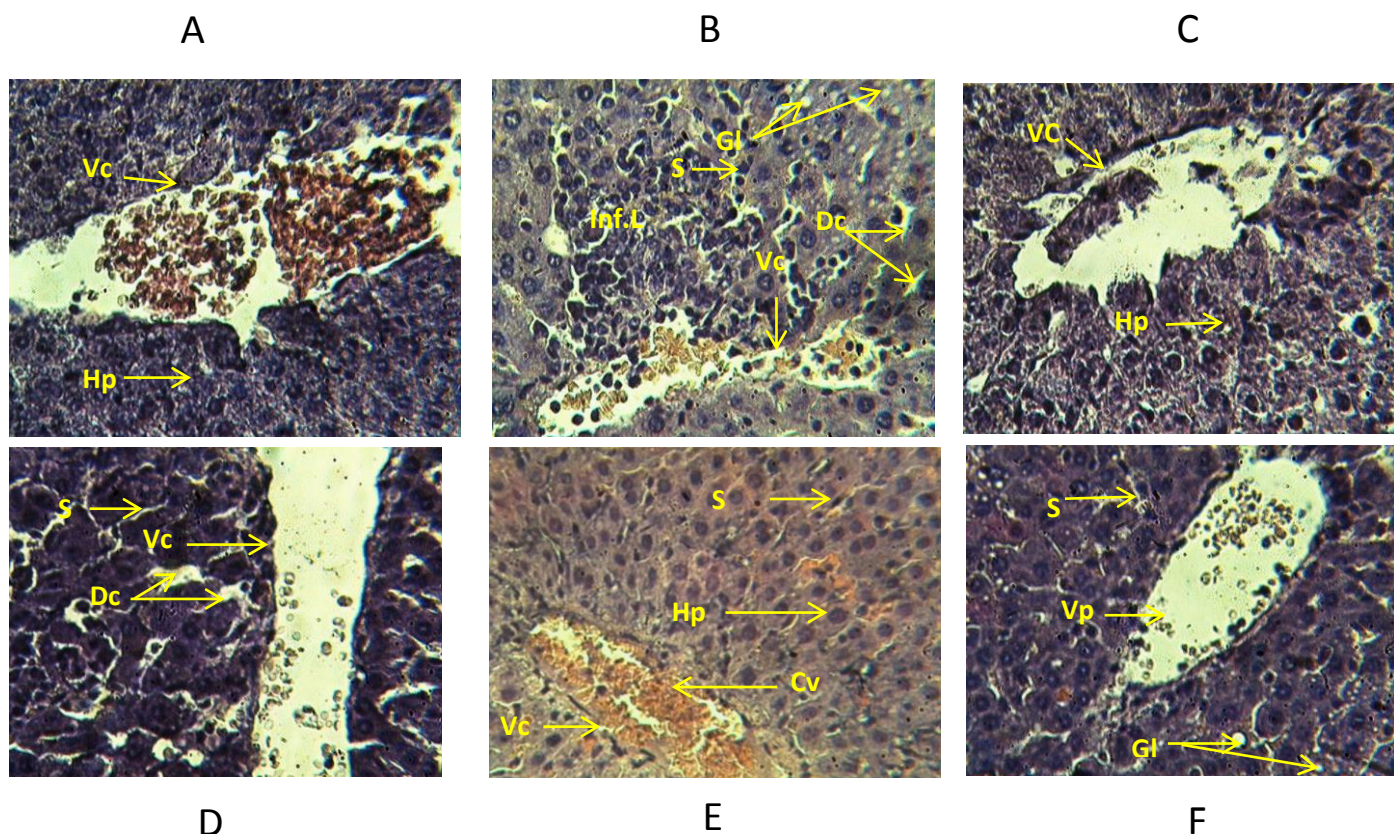


Figure 16 : Histologie du foie des rats normaux (A), Témoin négatif (B), NaCl E200 (C) et ceux traités à l'extrait de plante aux doses de 200 mg/kg (D) et de 100 mg/kg (E) et à l'Aspirine (F) pendant 10 jours en administration concomitante à la gentamicine (**HE X 400**).

Vc : Veine porte ; **Hp :** Hépatocytes ; **S :** Sinusoides ; **Gl :** Gouttelettes lipidiques ; **Inf.L :** Infiltration leucocytaire ; **Cv :** Congestion vasculaire ; **Dc :** Dilatation capillaire.

III.1.1.7.2 Effet préventif de *Paulinnia pinnata* sur l'histologie du rein.

La figure 17 A, représente l'histologie du rein d'un rat normal. Cette coupe montre, un bon état des tubules proximaux ; distaux ; d'un glomérule et d'un espace urinaire. L'histologie du rein

des animaux ayant reçu la gentamicine pendant 10 jours (Figure 17 B) montre une clarification tubulaire, une expansion mésengiale, une nécrose tubulaire, une glomérulosclérose et une infiltration leucocytaire. Les animaux soumis à l'extrait uniquement n'ont pas montré une architecture différente des témoins normaux. Quant- aux animaux ayant concomitamment reçu la gentamicine et l'extrait aux différentes doses, 200 et 100 mg/kg (Figure 17 D et 17 E), leurs coupes montrent une diminution de la lumière tubulaire, de l'espace urinaire et une absence de glomérulosclérose.

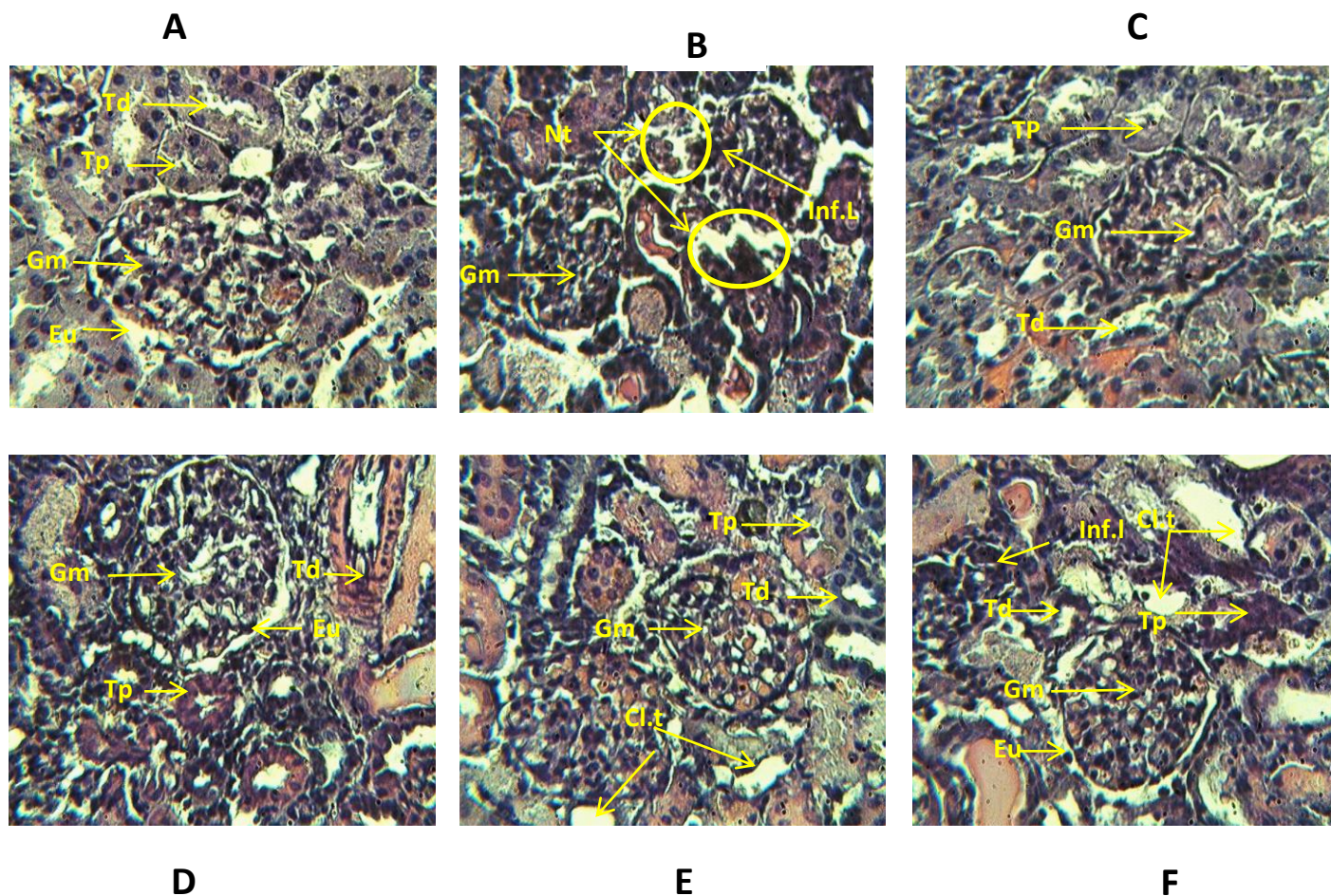


Figure 17: Histologie du rein des rats normaux (A), Témoin négatif (B), E200 (C) et ceux traités à l'extrait de plante aux doses de 200 mg/kg (D) et de 100 mg/kg (E) et à l'Aspirine 100 mg/kg (F) pendant 10 jours en administration concomitante avec la gentamicine (HE X 400).

Gm : Glomérule ; **Tp :** Tubule proximal ; **Td :** Tubule distal ; **Eu :** Espace urinaire ; **Inf.l :** Infiltration leucocytaire ; **Cl.t :** Clarification tubulaire.

III.1.2 Traitement curatif

III.1.2.1 Effet sur le poids relatif des organes

L'évaluation du poids relatif du foie et des reins des animaux au terme des trente-deux jours d'expérimentation est représentée par le tableau XIII. Il en ressort que les animaux intoxiqués à la gentamicine (témoins négatifs) n'ont présenté aucune augmentation significative du poids relatif du foie et des reins par rapport aux témoins normaux. Chez les animaux prétraités à l'Aspirine (100 mg/kg) d'une part et à l'extrait aqueux des feuilles de paullinia pinnata (100 mg/kg et 200 mg/kg)

d'autre part on a pu voir une augmentation mais aussi non significative du poids relatif de leurs organes par rapport aux témoins négatifs.

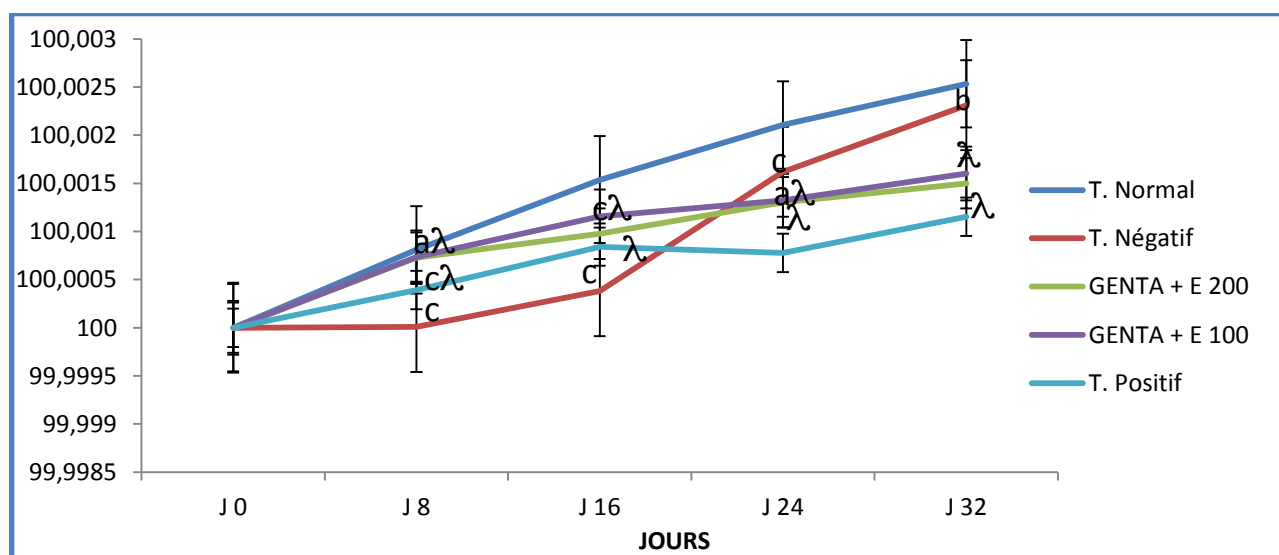
Tableau XIII : Effet curatif de *P. pinnata* sur le poids relatif des organes

POIDS RELATIFS DES ORGANES	TRAITEMENTS CURATIFS				
	T. Normal	T. Négatif	E 200	E 100	T. Positif
FOIES	3,65 ± 0,36	3,74 ± 0,16	3,70 ± 0,38	4,69 ± 0,47	3,74 ± 0,04
REINS	0,70 ± 0,05	0,74 ± 0,05	0,54 ± 0,01 ^s	0,86 ± 0,09	0,92 ± 0,12

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ESM, n=5, ap< 0,05; bp< 0,01 ; cp< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin normal, µp< 0,05;βp< 0,01 ;λp< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin négatif ; \$p< 0,05,\$\$p< 0,01,\$\$\$p<0,001 différences significative par comparaison au témoins positif.

III.1.2.2 Effet sur l'évolution pondérale

La figure 18, présente l'évolution pondérale des animaux pendant les 32 jours de la période expérimentale. Le poids corporel des rats a augmenté dans tous les groupes pendant toute la période de l'expérimentation. Le poids corporel des animaux soumis à la gentamicine a diminué significativement (P 0,001) le 8, 16, et 24ème jours suivi d'une autre baisse significative de (P 0,01) le 32ème jour de traitement par rapport aux témoins soumis à la diète normale à la fin de la période expérimentale. De plus, l'administration de l'extrait aqueux de *P. Pinnata* aux doses de 100 ou de 200 mg/kg/j et même de l'aspirine, a induit une augmentation significative (P 0,001) de poids corporel en comparaison aux témoins soumis à la gentamicine.



La figure 18 : Effet curatif de *P. pinnata* sur l'évolution pondérale

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ESM, n=5, ap< 0,05; bp< 0,01 ; cp< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin normal, µp< 0,05;βp< 0,01 ;λp< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin négatif ; \$p< 0,05,\$\$p< 0,01,\$\$\$p<0,001 différences significative par comparaison au témoins positif.

III.1.2.3 Effets curatif de l'extrait aqueux de *P.pinnata* sur quelques paramètres sériques de la fonction hépatique

Le tableau XIV montre que l'administration d'une dose unique et quotidienne de la gentamicine (100 mg/kg) pendant dix jours aux rats a provoqué une augmentation significative du taux sérique de l'ALAT mais une augmentation non significative de l'ASAT, respectivement de 40,00 % ($P < 0,05$) et 10,63 %, par rapport aux témoins normaux à la fin de la période d'expérimentation. L'extrait aqueux des feuilles de *paullinia pinnata* (100 mg/kg et 200 mg/kg) administré aux animaux en traitement curatif a prévenu de façon significative l'élévation du taux des transaminases. Chez les animaux prétraités à la dose de 100 mg/kg, les taux sériques de l'ALAT et de l'ASAT ont été inhibés respectivement de (74,68 % et de 84,61 %) comparé au témoin négatif. A la dose 200 mg/kg cette inhibition était de (51,17 % pour l'ALAT et 89,23 % pour l'ASAT). L'extrait à toutes les doses a entraîné des variations significatives de l'activité de la PAL et du taux d'albumine par comparaison au témoin négatif on note donc une diminution (96,40%, 29,94% pour la PAL et 43,16% ; 13,15 % pour l'albumine). L'Aspirine administré à la dose de 100 mg/kg pendant 10 jours (témoin positif) avant chez les animaux prétraités à la gentamicine a provoqué une inhibition non significative de l'albumine soit 2,87 % suivi d'une diminution significative de la phosphatase alcaline de 66,16%.

Tableau XIV : Effet curatif de *P. pinnata* sur les paramètres de la fonction hépatique

Paramètres Fonction Hépatique	TRAITEMENTS CURATIFS				
	T. Normal	T. Négatif	E 200	E 100	T. Positif
ALAT	18,80±2,32	26,33±1,87 ^a	12,85±0,58 ^{cλ\$\$\$}	6,67±2,04 ^{cλ\$\$\$}	27,90±0,99 ^b
ASAT	3,66±0,23	4,05±0,41	0,44±0,02 ^{cλ\$\$\$}	0,62±0,09 ^{cλ\$\$\$}	6,64±0,36 ^λ
ALBUMINE	0,76±0,10	2,12±0,11 ^c	1,84±0,09 ^c	1,20±0,06 ^{aλ\$\$\$}	2,18±0,03
P.ALCALINE	84,36±29,97	184,16±31,26 ^c	129,02±23,89 ^{cλ\$\$\$}	6,61±14,74 ^{cλ\$\$\$}	62,31±10,17 ^λ

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ESM, n=5, ap < 0,05; bp < 0,01 ; cp < 0,001 différences significatives par comparaison au témoin normal, μp < 0,05; βp < 0,01 ; λp < 0,001 différences significatives par comparaison au témoin négatif ; \$p < 0,05, \$\$p < 0,01, \$\$\$p < 0,001 différences significatives par comparaison au témoins positif.

III.1.2.4 Effets curatif de l'extrait aqueux de *P.pinnata* sur quelques paramètres sériques de la fonction rénale.

Au niveau rénal, l'induction de la gentamicine a par rapport aux rats recevant de l'eau distillée provoqué une augmentation hautement significative ($P < 0,001$) du taux de créatinine sérique, d'acide urique et ($P < 0,01$) pour l'urée respectivement de 124 %, 35,37 %, 112,12 % tel que représenté dans le tableau XV.

L'extrait de plante (100 mg/kg) tout comme l'ASPIRINE a induit une baisse significative de $P < 0,001$; $P < 0,001$ et de $P < 0,01$ de taux respectifs de créatinine d'acide urique et d'urée par rapport aux rats témoins négatifs soit pour un pourcentage respectif de 73,57%, 84,89%, 38,09%,. L'extrait à la

dose de 200 mg/kg a réduit significativement ($P < 0,001$) le taux sérique de créatinine et d'acide urique par rapport aux rats recevant la gentamicine à un pourcentage respectif de 68,21 % et 29,92%. Il a aussi été observé à la même dose une diminution significative ($P < 0,01$) de la concentration d'urée avec 52,38 % de réduction.

Toujours au niveau rénal on a pu constater une augmentation significative ($P < 0,001$) du taux sérique du K^+ mais aucune variation significative du taux sérique du Na^+ en comparaison aux témoins négatifs. L'administration de l'extrait aqueux de *paullinia pinnata* a pu à toutes les doses prévenir l'augmentation du taux sérique du K^+ à savoir 84,89% pour la dose 100 mg/kg et 79,64 % pour la dose 200 mg/kg, contrairement au Na^+ où qui, malgré l'administration de l'extrait à différentes doses aussi son taux sérique est resté inférieure mais d'une manière non significative en comparaison au témoin négatif. Cette observation s'est aussi faite avec l'action du produit de synthèse qui est l'Aspirine qui n'a pu influencer l'augmentation du taux sérique du K^+ contrairement au Na^+ .

III.1.2.5 Effets sur le taux de protéines sérique

Le tableau XV, montre les effets de l'extrait en traitement curatif sur les taux sériques de protéines. Il ressort de cette figure que l'administration de la gentamicine durant 10 jours suivis d'un traitement au NaCl à 0,9% et à l'eau distillée à des rats normaux a induit une baisse non significative du taux de protéines sérique de 21,82 % comparé au témoin normal. Après administration de l'extrait aqueux de plantes (100 mg/kg et 200 mg/kg) pendant vingt-deux jours aux animaux ayant reçu au préalable la gentamicine (100 mg/kg) pendant 10 jours seule la dose 200 mg/kg a pu prévenir cette diminution mais de manière non significative. L'Aspirine administrée à la dose de 100 mg/kg durant la même période que l'extrait n'a pas provoqué une augmentation significative mais on note une évolution de 7,29 % comparé au témoin négatif.

Tableau XV : Effet curatif de *P. pinnata* sur les paramètres de la fonction rénale

Paramètres Fonction Rénale	TRAITEMENTS CURATIFS				
	T. Normal	T. Négatif	E 200	E 100	T. Positif
CREATININE	25,00±1,64	56,00±4,00 ^c	17,80±2,13 ^{λ\$}	14,80±2,24 ^{λ\$\$}	29,60±1,32 ^λ
AC. URIQUE	1,28±0,02	1,74±0,06 ^c	1,22±0,07 ^λ	0,86±0,07 ^{cλ\$\$\$}	1,36±0,05 ^β
UREE	33,00±1,61	70,00±9,71 ^b	33,33±5,27 ^{β\$\$\$}	43,33±4,08 ^{μ\$\$\$}	103,33±6,23 ^c
PROTEINES	6,31±0,55	4,93±0,15 ^a	5,95±0,23	4,84±0,13 ^a	5,29±0,06
POTASSIUM	3,44±0,20	8,00±0,26 ^c	1,62±0,05 ^{cλ}	1,20±0,06 ^{cλμ}	2,01±0,07 ^{cλ}
SODIUM	37,42±1,76	38,70±3,31	37,47±0,18	34,77±2,58	35,37±0,77

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ESM, n=5, ^ap< 0,05; ^bp< 0,01 ; ^cp< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin normal, ^μp< 0,05; ^βp< 0,01 ; ^λp< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin négatif ; ^{\$}p< 0,05, ^{\$\$}p< 0,01, ^{\$\$\$}p<0,001 différences significatives par comparaison aux témoins positifs.

III.1.2.6 Effets curatifs de l'extrait aqueux de *P.pinnata* sur quelques paramètres du stress oxydatif

III.1.2.6.1 Effets le taux de protéines tissulaires

Une modification significative a été observée au niveau des protéines totales tissulaires chez les rats traités à la gentamicine au terme de 10 jours de traitement par rapport aux animaux traités à l'eau distillée. Les résultats de la figure 18, montre que l'injection de la gentamicine a provoqué une baisse significative du taux des protéines de 43,45% dans les reins ($p < 0,001$) et de 25,86 % ($p < 0,05$) au niveau du foie par rapport aux rats témoins eau distillée. L'administration par gavage de l'extrait de plante à la dose de 100 mg/kg a relevé de manière non significative le taux de protéines dans le rein mais de manière significative la quantité de protéine soit 47,09 % ($p < 0,01$) dans le foie par rapport aux rats témoins gentamicine. L'administration de l'extrait à la dose de 200 mg/kg a entraîné par rapport aux rats témoins négatifs une augmentation non significative du taux de protéines dans le rein et le foie. L'administration de l'aspirine dans les mêmes conditions que la gentamicine a significativement augmenté ($p < 0,001$) le taux de protéines de 58,67 % dans le rein et de 66,27% dans le foie par rapport aux rats soumis au traitement à la gentamicine.

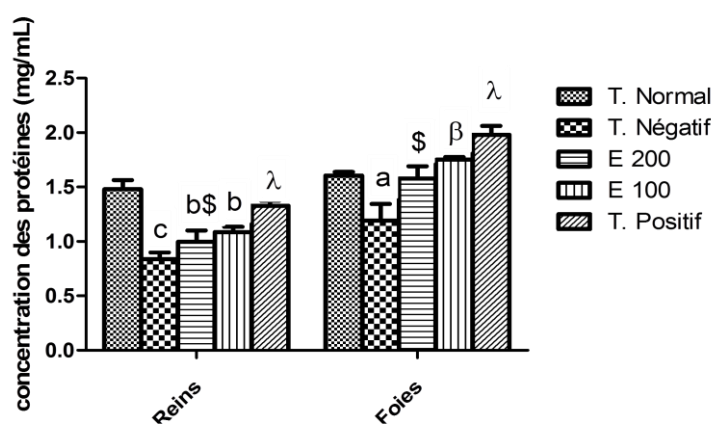


Figure 19 : Effet curatif de *P. pinnata* sur le taux de protéine tissulaire

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ ESM, $n=5$, $a_p < 0,05$; $b_p < 0,01$; $c_p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin normal, $\mu_p < 0,05$; $\beta_p < 0,01$; $\lambda_p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin négatif; $\$p < 0,05$, $\$\$p < 0,01$, $\$\$\$p < 0,001$ différences significative par comparaison au témoins positif.

III.1.2.6.2 Effets sur l'activité de la Catalase et la Superoxyde dismutase.

La Figure 20, montre les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *P. pinnata* respectivement sur l'activité de la CAT et la SOD. L'injection gentamicine a provoqué une baisse significative de l'activité de la CAT et de la SOD tissulaire. Dans le rein des témoins négatifs, ces paramètres ont diminués respectivement de 42,50% et 22,58% au niveau du foie cela était de 4,30% et 22,59% comparé aux rats normaux. L'administration cumulative de l'extrait de plante a provoqué une augmentation significative de ces enzymes et de leurs activités à toutes les doses en comparaison au contrôle négatif. Le taux de catalase a augmenté dans le foie, le rein respectivement 406,74% et de 1252,17% pour la dose 100mg/kg; ensuite de 151,68% et 160,86% pour la dose 200 mg/kg. La SOD quant-à-elle a aussi augmenté dans le foie et dans le rein respectivement de 92,30%; 87,5% à la dose 100 mg/kg et de 59,34%; 45,83% pour la dose 200 mg/kg comparée au contrôle négatif. L'aspirine a entraîné une augmentation significative de $P < 0,001$ de la SOD tissulaire dans le foie, le

rein de l'ordre respectif de 119,78% et 108,33% de même qu'une augmentation mais non significative de la catalase dans le foie, le rein.

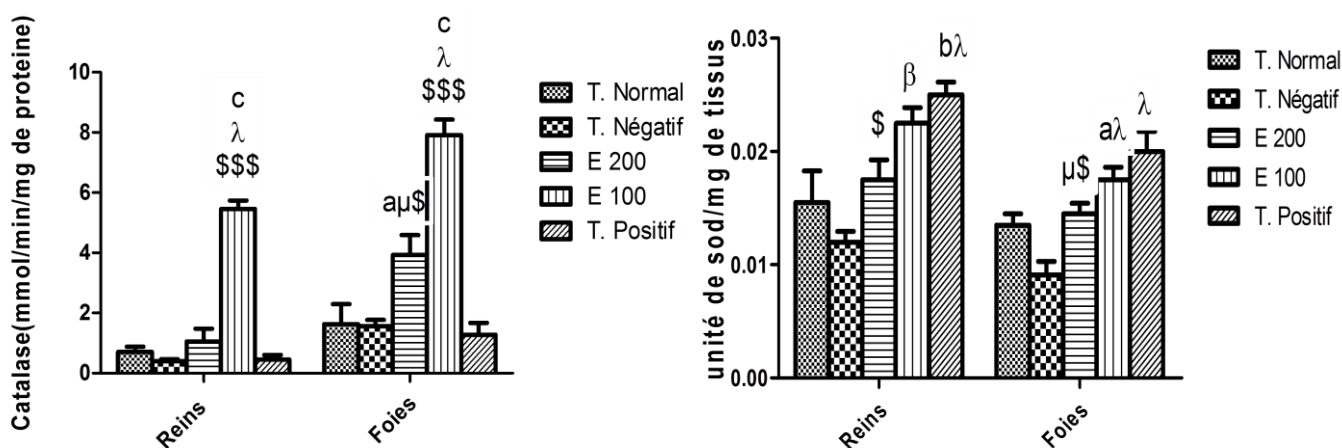


Figure 20 : Effet curatif de *P. pinnata* sur l'activité de la Catalase et de la Superoxyde dismutase

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ ESM, n=5, ap< 0,05; bp< 0,01 ; cp< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin normal, μ p< 0,05; β p< 0,01 ; λ p< 0,001 différences significatives par comparaison au témoin négatif ; $\$$ p< 0,05, $\$$ $\$$ p< 0,01, $\$$ $\$$ $\$$ p<0,001 différences significative par comparaison au témoins positif.

III.1.2.6.3 Effets sur les nitrites et le malondialdéhyde

La Figure 21, montre les taux de nitrites et de malondialdéhyde (MDA) dans les différents lots après 10 jours de traitement. Chez le lot contrôle négatif le taux de nitrites et de MDA tissulaire a augmenté significativement ($P<0,001$), dans les organes comparé aux rats normaux. En traitement curatif nous n'avons pas observé une augmentation significative de ces deux paramètres aussi bien dans le foie que dans le rein comparé aux rats normaux. L'administration cumulative de l'extrait de plante a provoqué une baisse significative de ces paramètres à la dose 100 mg/kg dans le foie uniquement pour la MDA et dans les deux organes pour les nitrites en comparaison au contrôle négatif. Le taux de nitrites a diminué significativement ($p<0,001$) dans le foie et le rein respectivement de 60,19 %, 47,88 %; le taux de MDA a baissé de 59,17% et de 37,01% respectivement dans le foie et le rein à la dose 100 mg/kg comparé au contrôle négatif. A la dose de 200 mg/kg, la baisse a été non significative pour le MDA dans le foie et le rein mais cela a été hautement significatif ($P< 0,001$) pour les nitrites dans ces deux organes avec des pourcentages respectifs de 47,72% et 56,16%, comparé au contrôle négatif. L'aspirine quant à elle n'a pas baissé le niveau de MDA dans le foie mais a pu le faire dans le rein de façon non significative, cette baisse a été de 7,75% comparé au contrôle négatif. Sur le taux de nitrite l'aspirine a pu atténuer et réduire la teneur aussi bien dans le foie de manière significative ($p<0,001$) que dans le rein de manière non significatif.

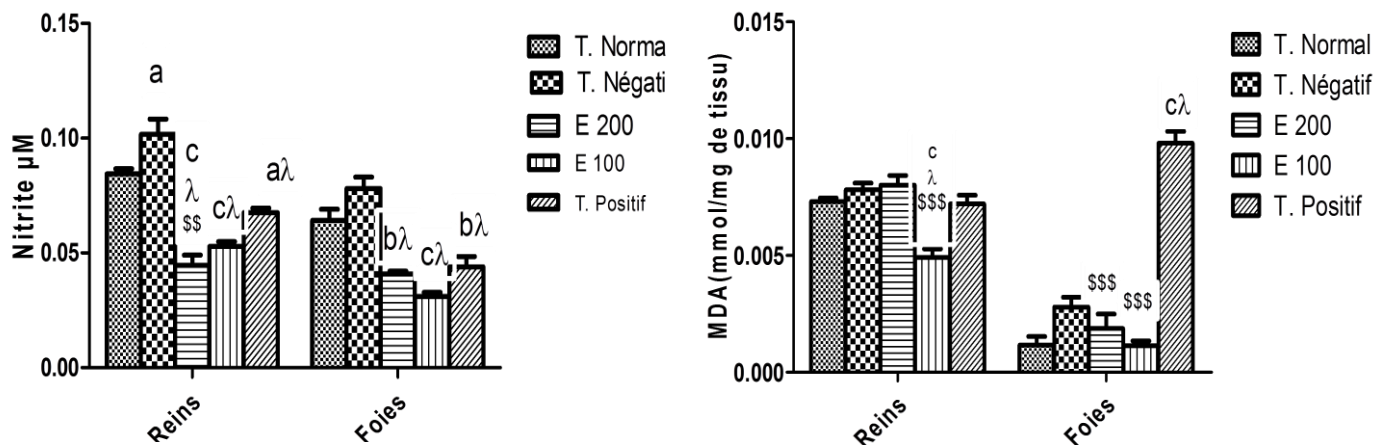


Figure 21 : Effet curatif de *P.pinnata* sur le taux de nitrite et de Malondialdéhyde

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ ESM, $n=5$, $a_p < 0,05$; $b_p < 0,01$; $c_p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin normal, $\mu_p < 0,05$; $\beta_p < 0,01$; $\lambda_p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin négatif; $\$p < 0,05$, $$$p < 0,01$, $$$$p < 0,001$ différences significative par comparaison au témoins positif.

III.1.2.6.4 Effets sur la teneur en glutathion réduit

La figure 22, présente les effets de l'extrait aqueux de *P. pinnata* administré 22 jours après arrêt du régime gentamicine pendant 10 jours, sur la concentration de glutathion réduit (GSH). Il ressort de cette figure que la concentration en glutathion réduit a diminuée de façon non significative dans le foie mais significativement dans les reins ($P < 0,01$) chez les rats ayant reçu la gentamicine comparativement aux rats témoins normaux. L'extrait en administration unique quotidienne pendant 22 jours a induit par rapport aux rats recevant de l'eau distillée après arrêt du régime à la gentamicine, une augmentation significative ($p < 0,001$) de la concentration en glutathion réduit de 53,99 % et 60,23 % dans le foie et de 428,01% ; 364,60 % dans le rein respectivement aux doses de 100 et 200 mg/kg. L'aspirine administrée après arrêt de l'injection de la gentamicine a induit une augmentation significative ($p < 0,001$) de la concentration de glutathion réduit dans le rein uniquement par rapport aux rats ayant été soumis au régime gentamicine pendant 10 jours.

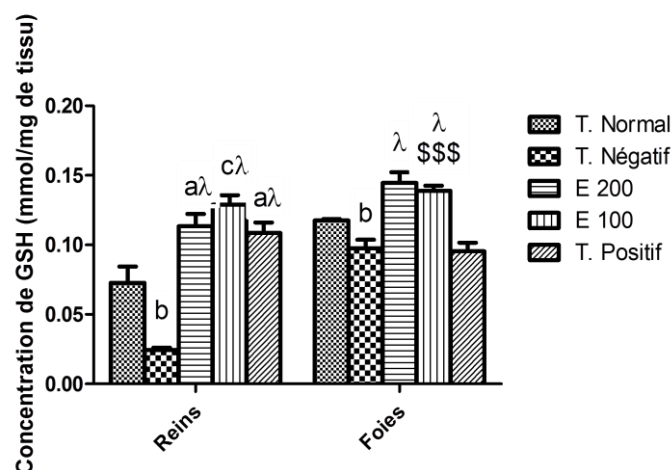


Figure 22 : Effet curatif de *P.pinnata* sur le taux de GSH

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ ESM, $n=5$, $\alpha p < 0,05$; $\beta p < 0,01$; $\gamma p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin normal, $\mu p < 0,05$; $\nu p < 0,01$; $\xi p < 0,001$ différences significatives par comparaison au témoin négatif; $\$ p < 0,05$, $\$ \$ p < 0,01$, $\$ \$ \$ p < 0,001$ différences significative par comparaison au témoins positif.

III.1.2.7 Coupes histologiques dans le traitement curatif :

III.1.2.7.1 Effet curatif de *Paulinnia pinnata* sur l'histologie du foie.

La figure 23 A, représente l'histologie du foie d'un rat normal. Cette coupe montre un veine centrolobulaire et des hépatocytes séparés par des capillaires sinusoides. L'histologie du foie des animaux ayant reçu la gentamicine pendant 10 jours (Figure 23 B) présente un parenchyme désorganisé, une congestion vasculaire et une infiltration diffuse des cellules inflammatoires périportales et des dépôts lipidique. Les animaux traités à l'extrait de plante aux doses de 200 mg/kg (Figure 23 C) et de 100 mg/kg (Figure 23 D) pendant 22 jours après l'administration de la gentamicine pendant 10 jours présentent une architecture très proche de celle d'un rat normal. La coupe du foie des animaux traités à l'aspirine (Figure 23 E), montre également une architecture proche de celle du rat normal. Cependant, il faut noter la présence de dilatation des capillaires sinusoides dans le foie des animaux tests. Cette dilatation est plus marquée chez le témoin négatif que chez ceux ayant reçus d'une part l'aspirine et d'autre part l'extrait aqueux de *P. pinnata*.

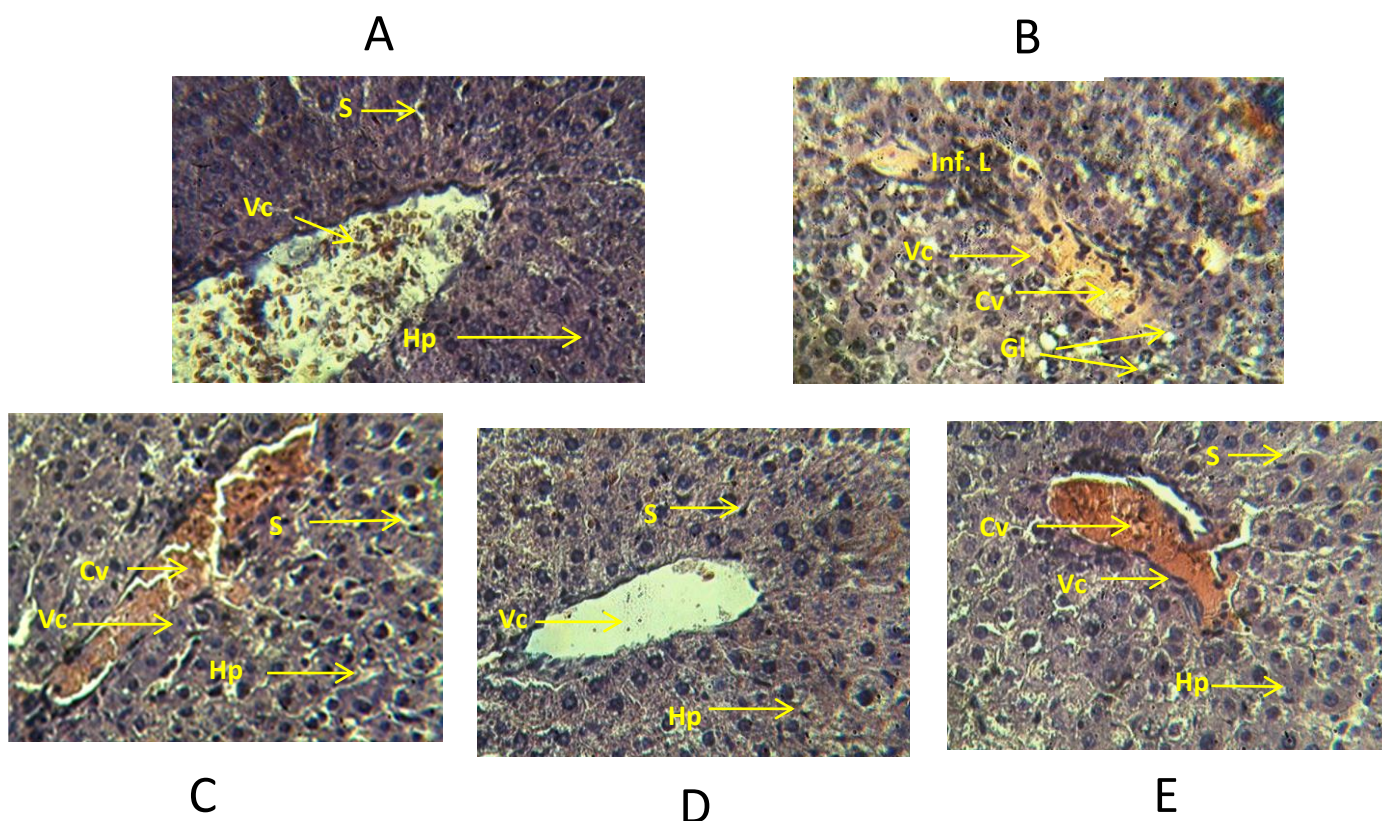


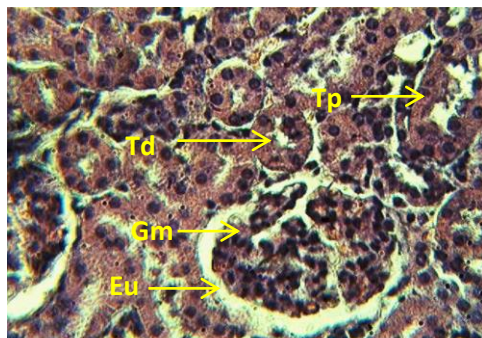
Figure 23 : Histologie du foie des rats normaux (A), Témoin négatif (B), NaCl E200 (C) et ceux traités à l'extrait de plante aux doses de 100 mg/kg (D) et de 200 mg/kg (E) et à l'Aspirine (F) pendant 10 jours en administration concomitante à la gentamicine (**HE X 400**).

Vp : Veine porte ; **Hp** : Hépatocytes ; **S** : Sinusoides ; **Gl** : Gouttelettes lipidiques ; **Inf.l** : Infiltration leucocytaire; **Cv** : Congestion vasculaire.

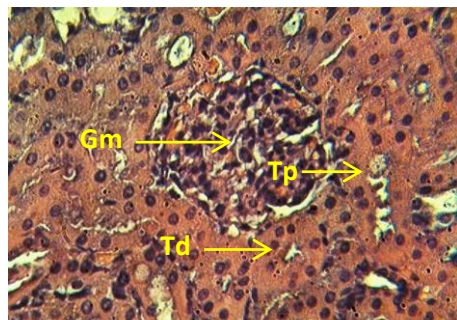
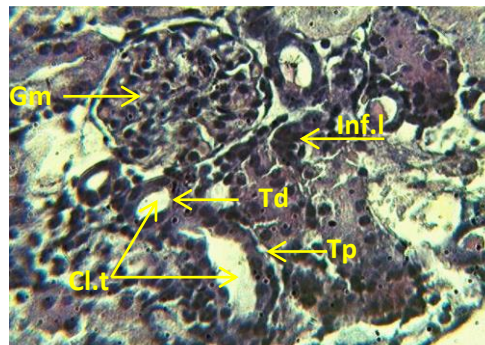
III.1.2.7.2 Effet Curatif de *P. pinnata* sur l'histologie du rein .

La figure 24 A, représente l'histologie du rein d'un rat normal. L'histologie du rein des témoins négatifs (Figure 24 B), après arrêt d'induction de la gentamicine suivi d'un traitement à l'eau distillée pendant 22 jours, montre une diminution de la largeur des tubules, de l'espace urinaire, mais une nette clarification tubulaire, et infiltration leucocytaire. Sur les coupes des témoins positifs (Figure 24 E), on note une diminution de clarification tubulaire. L'administration de l'extrait de plante à la dose de 200 et de 100 mg/kg (Figure 24 C et 24 D) a pu protéger l'état des reins malgré l'observation de l'infiltration leucocytaire.

A



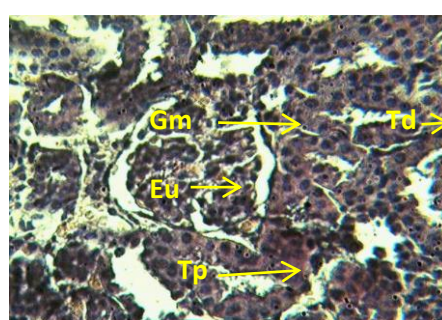
B



C



D



E

Figure 24: Histologie du rein des rats normaux (A), Témoin négatif (B) et ceux traités à l'extrait de plante aux doses de 200 mg/kg (C) et de 100 mg/kg (D) et à l'Aspirine 100 mg/kg (E) pendant 22 jours après administration de la gentamicine (**HE X 400**).

Gm : Glomérule ; **Tp** : Tubule proximal ; **Td** : Tubule distal ; **Eu** : Espace urinaire ; **Inf.l** : Infiltration leucocytaire ; **Cl.t** : Clarification tubulaire

III.2 DISCUSSION

Les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *P. pinnata* sur l'insuffisance rénale induites par la gentamicine chez le rat Wistar ont été évalués dans la présente étude. Nos résultats montrent que l'administration de la gentamicine a entraîné une augmentation significative des paramètres biochimiques à savoir : Alat, Asat, Abumine et Phosphatase Alcaline d'une part et de Créatinine, Acide Urique, Urée et Potassium d'autres parts montrant ainsi l'atteinte de l'intégrité fonctionnelle respectivement du foie et des reins par rapport au témoin normal ceci est en accord avec les travaux Hala A.H. Khattab (2012).

L'ALAT et l'ASAT sont des enzymes indicateurs de la fonction hépatique et leurs taux anormalement élevés dans le sérum résultent d'une perte de l'intégrité membranaire des hépatocytes entraînant une libération de grandes quantités d'enzymes dans le sang (Nouredine et Dagmar, 2011). L'extrait administré aux animaux en traitement préventif a prévenu de façon significative les transaminases. Les animaux traités pendant 22 jours après administration de la gentamicine (traitement curatif) ont présenté une baisse significative ($p < 0,001$) des transaminases. L'extrait aqueux de *P.pinnata* protégerait les membranes cellulaires et/ou serait capable de contrecarrer les effets délétères induits par la gentamicine. Ce résultat laisse aussi penser que l'extrait posséderait des composés capables de stimuler le gène responsable de la régénération des cellules hépatiques et même de piéger des radicaux libres. Les animaux traités par l'Aspirine (100 mg/kg) dans les mêmes conditions en termes de durée que l'extrait contrairement à toute attente a provoqué une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux d'Asat des transaminases, cela s'expliquerait peut-être par le fait que l'Asat n'est pas seulement une enzyme donc le dosage est propre au foie mais à bien d'autres organes, donc son élévation au niveau sérique est la résultante d'une atteinte non seulement du foie mais de plusieurs autre organes. L'intoxication des rats à la gentamicine a aussi provoqué une augmentation significative de la PAL et de l'Albumine. Cette augmentation de la PAL et de l'Albumine sériques pourrait s'expliquer par une atteinte hépatique qui se traduirait par l'inflammation du foie et un mauvais fonctionnement biliaire induites par la gentamicine. L'inflammation ou le dépôt de cholestérol dans les canaux biliaires entraîne son obstruction partielle ou totale (cholestase). Il s'en suit une augmentation de la concentration en Albumine et en PAL au niveau hépatique (Silbernagl, 2001), tel que observée chez les animaux témoins négatifs (Hala A.H. Khattab, 2012).

L'Aspirine est un médicament utilisé en pharmacie pour améliorer les fonctions rénal en cas de néphropathies. Cette aptitude fais suite à sa capacité d'empêcher la peroxydation lipidique; à réguler la perméabilité membranaire et d'accroître la stabilité membranaire (A. K. Hughes et al 1996) L'administration de l'extrait a prévenu de façon non significative ces augmentations en traitement préventif. En traitement curatif, l'extrait a induit une baisse significative des taux sériques de PAL et de l'Albumine à toutes les doses.

Nos résultats ont également montré au niveau de la fonction rénale que l'injection intrapéritonéale de la gentamicine a entraîné une augmentation significative du taux sérique de la Créatinine, l'Acide urique et l'Urée (A. KARADENIZ et al, 2008). L'augmentation de ce taux dans le sang va de pair avec une réduction de la fonction rénale chez ces rats en comparaison aux témoins normaux. La créatinine est produite à partir de la créatine, une molécule indispensable pour la production d'énergie dans les muscles. En temps normal, la créatinine est transportée par le sang puis éliminée par les reins dans les urines (Foucarde, 2006). La concentration en créatinine de plasma est un indicateur plus efficace que la concentration en urée dans les premières phases de la maladie de rein. En outre, les concentrations en urée commencent à augmenter seulement après les dommages de tissu de parenchyme (GILBERT D.N et al, 1989). L'administration de l'extrait aqueux de *P.pinnata* a significativement diminué le taux de créatinine par rapport aux contrôles traités à la gentamicine. Ces résultats suggèrent que *P.pinnata* pourrait réduire l'insuffisance rénale chez les rats présentant en améliorant la filtration glomérulaire. Tout comme la Créatinine l'Acide urique et l'Urée, l'administration de la gentamicine a induit une augmentation significative du taux sérique des ions potassium ainsi qu'une baisse des ions sodium. Ceci serait dû au fait que, après la filtration glomérulaire, une faible quantité (2-5%) de gentamicine se lie aux cellules endothéliales du tubule contourné proximal (Bennett 1989). Après entrée dans le cytoplasme par endocytose, la gentamicine s'accumule dans les vacuoles lysosomales où il pourra par un mécanisme pas encore bien élucidé entraîner une dérégulation de l'équilibre électrolytique par inhibition de la pompe Na/K-ATPase, perturbation des enzymes lysosomales, modification de l'hémodynamie par action sur le système rénine-angiotensine (Ali 1995; Sundin et al. 2001). L'extrait de plante, administré en traitement préventif ou curatif a amélioré l'hyperkaliémie et l'hyponatrémie induite par notre régime suggérant ainsi une probable action sur le système Na/K-ATPase. D'autre part, l'administration de l'Aspirine a montré une diminution significative des niveaux de créatinine, d'acide urique et de l'urée de sérum. L'effet curatif de l'Aspirine sur les marqueurs de rein peut être attribué à ses propriétés antioxydantes car on l'a constaté que les ROS peuvent être impliqués dans l'affaiblissement du taux de filtrage glomérulaire (GRF) (A. K. Hughes et al 1996). En effet le traitement à la gentamicine va entraîner une formation des ROS de manière dose-dépendante. Lorsque ces espèces réactives sont produites, elles peuvent causer une succession de réactions pro-oxydantes qui auront comme conséquence les dommages des macromolécules cellulaires, y compris la peroxydation de lipide, la nitration de protéine, et l'oxydation (M. Valko et al 2007). Cette augmentation des ROS stimulerait l'activation ou l'expression des médiateurs proinflammatoires, y compris les NF- κ Bs, qui sont des molécules d'adhérence des leucocytes, et les protéines kinases mitogène-actives (MAPKs) (W. W. Tang et al 1994), qui contribueront aux dommages rénaux induits par la gentamicine (V. Tugcu et al 2006 ; R. A. Volpini et al 2006). L'Aspirine agirait donc en bloquant l'expression NF- κ B par inactivation de la voie de signalisation classique, suggérant donc une activité anti-inflammatoire (E. Kopp and S. Ghosh. (1994)).

La superoxyde dismutase (SOD) et la catalase font partie des principales enzymes tissulaires ayant la capacité de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ERO). La SOD catalyse la dismutation de l'ion superoxyde en peroxyde d'hydrogène moins toxique. La catalase transforme le peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire (Comhair et Erzurum, 2002). La diminution du taux de ces enzymes serait donc une réponse au stress oxydatif. Nos résultats montrent que l'intoxication à la gentamicine a provoqué une baisse significative ($p < 0,001$) des taux hépatiques et rénaux de SOD et de la catalase. Nos résultats sont en accord avec les travaux de (A. KARADENIZ et al, 2008) qui ont montré que l'administration de la gentamicine à la dose 100mg/kg pendant 10 jours entraînerait une baisse de l'activité de ces enzymes. *P. pinnata* est une Sapindaceae dont les propriétés antioxydantes ont été prouvées (Denny et al., 2013).

L'administration de l'extrait aqueux de *P. pinnata* a permis de protéger le foie et reins contre les radicaux libres et de piéger ces derniers générés par la gentamicine et donc de rétablir la balance prooxydant/antioxydant. Cette capacité de l'extrait à protéger ces organes serait dû à la présence dans l'extrait de plante des composés ayant des effets antioxydants comme les flavonoïdes N'guessan et al. (2009), les tannins et les triterpènes ((Yémoa et al., 2008 ; N'guessan et al., 2009 ; Dongo et al., 2009). La peroxydation lipidique est l'un des processus par lequel la gentamicine induit la néphrotoxicité (Berr et al., 2001).

La présente étude a montré également qu'en traitement préventif et curatif il y a eu, une élévation significative du taux de malondialdéhyde (MDA) dans le foie et les reins des animaux intoxiqués à la gentamicine. Cette hausse du taux de MDA suggère d'une part une élévation de la peroxydation lipidique conduisant à la destruction du tissu hépatique et rénaux, et d'autre part une réduction des défenses antioxydantes à neutraliser les ERO (Gupta et al., 2004). En effet, l'intoxication à la gentamicine entraîne une hyperproduction mitochondriale d'O₂-et de H₂O₂ qui en présence de fer actif pourraient entraîner la biosynthèse du radical OH°. Ce radical hydroxylé contribuera à la peroxydation des lipides membranaires faisant suite à une exacerbation de lipoperoxydation, Processus au cours duquel les acides gras polyinsaturés (constituants des phospholipides membranaires) sont convertis en lipoperoxydes entraînant ainsi une altération considérable de la structure et des fonctions des membranes cellulaires, avec production du MDA (Nordman et al, 1988). L'ingestion de l'extrait (100 mg/kg) a inhibé ou baissé de manière significative ($P < 0,001$) l'élévation du taux de MDA contrairement à la dose 200 mg/kg dont la baisse était non significative. Ceci laisse suggérer que l'extrait aqueux des feuilles de *P. pinnata* exercerait leurs effets hépatoprotecteurs et néphroprotecteurs par inhibition de la peroxydation lipidique des membranes des cellules hépatiques et rénales. L'intoxication des rats à la gentamicine a entraîné une augmentation du taux des nitrites tissulaire en comparaison aux témoins normal. Le NO (Nitric Oxide) est généré par la L- arginine en présence de la NO synthétase. Le NO peut réagir lentement avec l'O₂ pour former le nitrite ou le nitrate ou encore réagir rapidement avec l'anion superoxyde (O₂.-) pour former un composé très réactif, le peroxynitrite (ONOO-) qui est un

agent capable d'induire la peroxydation lipidique (Albano, 2006). L'augmentation du taux rénal des nitrites est en accord avec les travaux de (Mostafa Jafareye et al 2014). Cette augmentation serait la conséquence du dysfonctionnement endothélial suite à une administration prolongée de la gentamicine. L'administration per os de l'extrait aqueux de *P. pinnata* a permis de ramener de manière significative ($P < 0,001$) le taux des nitrites autour de la valeur normale par rapport aux rats non traités (Zamble et al. (2006)). Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux des feuilles *P. pinnata* agirait sur la synthèse du NO en inhibant sa production, et préviendrait donc une vasorelaxation ce qui justifierait son utilisation sur les troubles d'érection.

Les animaux ayant reçus au préalable l'Aspirine (100 mg/kg) ou ceux traités après administration de la gentamicine ont présenté une baisse significative ($p < 0,001$) des nitrites, une baisse non significative de la catalase et de MDA ; Mais une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de GSH et de SOD. Ceci laisse penser que les effets néphroprotecteurs de l'Aspirine seraient dus à des propriétés antioxydantes qu'il possède (A. K. Hughes et al 1996). L'Aspirine par ses effets protecteurs et antioxydants a permis de réparer ou d'empêcher les dommages rénaux créés par la gentamicine.

L'analyse histologique des foies des rats intoxiqués à la gentamicine a révélé une congestion vasculaire, une stéatose, des infiltrations diffuses des cellules inflammatoires périportales et une dilatation des capillaires sinusoides. Ceci est le signe d'une inflammation du tissu hépatique. En effet, la gentamicine serait donc capable de perturber le métabolisme hépatique des graisses, favoriserait l'accumulation des triglycérides dans le foie et diminue l'activité des enzymes, entraînant ainsi une inflammation.

Au niveau rénal, l'analyse histologique a montré que l'administration de la gentamicine a entraîné une expansion mésengiale, une nécrose tubulaire et une infiltration leucocytaire, signe d'une inflammation. Ceci s'expliquerait par le fait que, la gentamicine une fois injectée dans l'organisme, va être réabsorbée dans les lysosomes où il va induire des altérations du transport mitochondrial des électrons, ce qui se mesure par l'augmentation de la production de peroxyde d'hydrogène in vivo (Walker PD et al 1999). Ce peroxyde d'hydrogène agira avec l'anion superoxydes qui sera aussi produit, pour générer des espèces oxydées hautement réactives et instables, qui seront responsables des dégâts observés sur l'histologie des reins (Walker PD et al 1999).

Les animaux traités à l'extrait aqueux de *P. pinnata* en traitement préventif ou curatif montrent une architecture normale. Ce qui justifierait les faits selon lesquels l'extrait aqueux des feuilles de *P. pinnata* posséderait une activité hépatoprotectrice et néphroprotectrice. Ces résultats sont d'autant plus vérifiés par l'absence de congestion vasculaire, de gouttelettes lipidiques, malgré la présence d'une légère dilatation des capillaires sinusoides sur ces coupes histologiques du foie et une absence d'infiltration leucocytaire de nécroses tubulaires et d'expansion mésengiale sur celle du rein. L'analyse histologique a confirmé les dosages des paramètres sériques

et hépatiques. L'extrait a permis a pu normalisé les paramètres sériques et stabilisé les fonctions hépatiques et rénales en réparant les cellules endommagées de ces deux organes.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le présent travail avait pour objectif d'évaluer les propriétés néphroprotectrices l'extrait aqueux des feuilles de *Paullinia pinnata* chez le rat.

Il ressort de ce travail que l'administration d'une dose unique et quotidienne de la gentamicine (100mg/kg) pendant 10 jours aux rats entraîne une augmentation significative des taux sérique de créatinine, acide urique, urée, potassium et une installation du stress oxydant. L'administration de l'extrait a réduit significativement l'augmentation du taux ces paramètres mais a entraîné une augmentation significative de l'activité de la SOD et de catalase et de la GSH, ce qui suggérant des propriétés antioxydantes des composés contenus dans les feuilles de *P. pinnata*. Nos résultats ont également montré une augmentation significative de la concentration de NO et de MDA dans le foie et les reins des rats intoxiqués à la gentamicine; ces effets ont été inhibés par *P. pinnata* objectivant d'un effet protecteur de cet extrait contre le dysfonctionnement hépatique et rénal. Le présent travail a montré que *P. pinnata* est un produit fort intéressant et riche en possibilités thérapeutiques. Nos résultats nous ouvrent dans le futur des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre d'identifier clairement les molécules impliquées dans l'effet hépatoprotecteur, néphroprotecteur et antioxydant de *P. pinnata* et d'avancer vers une meilleure connaissance du (des) mécanisme(s) moléculaire(s) intervenant dans les effets pharmacologiques observés. Nous nous proposons dans nos études ultérieures:

- d'évaluer la toxicité de l'extrait aqueux de *P. pinnata*;
- de déterminer les effets suppressifs de *P. pinnata* par administration concomitante de l'éthanol et de *P. pinnata*
- de déterminer les effets de *P. pinnata* sur d'autres modèles d'induction d'hépatotoxicité.

REFERENCES

- A. K. Hughes, P. K. Stricklett, E. Padilla, and D. E. Kohan**(1996),“Effect of reactive oxygen species on endothelin-1 production by human mesangial cells,”*Kidney International*,vol.49,no.1,pp. 181–189,
- A. KARADENIZ, A. YILDIRIM, N. SIMSEK, H. TURHAN, Y. KALKAN, F. CELEBI**, (2008) “Effect of *Panax ginseng* on gentamicin sulphate-induced kidney toxicity in rats” *Revue Méd. Vét.*, 159, 4, 215-220
- Adinortey MB, Sarfo JK, Adukpo GE, Dzotsi E, Kusi S, Ahmed MA, Abdul-Gafaru O.** (2012). Acute and sub-acute oral toxicity assessment of hydro-alcoholic root extract of *Paullinia pinnata* on haematological and biochemical parameters. *Biology and Medicine*, 4: 121-125.
- Adjanohoun JE, Aboubakar N, Dramane K, Ebot MEM, Ekpere JA, Enoworock EG, Focho D, Gbile ZO, Kamanyi A, Kamsu KJ, Keita A, Mbenkum T, Mbi CN, Mbiele AC, Mbome JC, Muberu NK, Nancy WL, Kongmeneck B, Satabie B, Sowora A, Tamze V, Wirmum CK.** (1996). Traditional medicine and pharmacopoeia: contribution to ethnobotanical and floristic studies in Cameroon. Ed. Organization of African Unity; Scientific, Technical and Research Commission, Porto Novo, 641 p.
- Ali BH** (1995) Gentamicin nephrotoxicity in humans and animals: some recent research. *Gen Pharmacol* 26:1477-87
- Annan K, Dickson RA, Amponsah IK, Jato J, Noonni IK.** (2013). Pharmacognostic evaluation and physicochemical analysis of *Paullinia pinnata* L. (Sapindaceae). *Journal of Pharmacognosy and phytochemistry*, 2: 203-208.
- Anzai N, Endou H.** (2007) Renal drug transporters and nephrotoxicity. *AATEX*; 14: 447-452
- Apema R, Mozouloua D, Abeye J, Salamate FML.** (2006). Les plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète par les tradipraticiens à Bangui. *Revue Médicale de Pharmacologie Traditionnelle Africaine*, 14: 10-12.
- Bachmann S, Theilig F.** (2000) Appareil juxtaglomérulaire, monoxyde d'azote et signalisation à la macula densa. In: Hamburger J ed, *Actualités néphrologiques*. Paris: Flammarion Médecine Science: 245-254
- Bates HW.** (1864). The naturalist on the River Amazon, a record of adventures, habits of animals, sketches of Brazilian and Indian life and aspects of nature under the Equator during eleven years of travel. J. Murray, 2nd edition, London, 242 p.
- Bennett WM** (1989) Mechanisms of aminoglycoside nephrotoxicity. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 16:1-6
- BRUCEIN.** (2005) Cardiovascular disease in lupus patients : should all patients be treated with statins and aspirin ? *Best Pract Res Clin Rheumatol* ; 19: 823-838.
- Cambier J, Masson M, Dehen H.** (1996). *Abrégé de neurologie*. 10^{ème} Edition Masson, Paris, 183 p.
- Chabra SC, Makuna RLA, Mshiu EN.** (1991). Plants used in traditional medicine in Eastern Tanzania. *Journal of Ethnopharmacology*, 33: 143-157

- Chadban SJ, Atkins RC.** (2005) Glomerulonephritis. *The Lancet*; 365: 1797-1806
- Chauveau P, Fouque D, Grigaut E.**(2006) Maladies rénales : guide pratique de nutrition. Lyon.
- Cheeseman KH, Slater TF.** (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin.* **49**: 481-493;
- Comhair S. et Erzurum S.,** (2002). Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *American Journal of Physiology Lung cell and Malabsorption Physiology*; 283: 246-255
- De Souza C, Koumaglo K, Gbeassor M.** (1995). Evaluation des propriétés antimicrobiennes des extraits aqueux totaux de quelques plantes médicinales. *Revue Médicale de Pharmacologie Traditionnelle Africaine*, 8: 103-112.
- DENIJSRN, JACOBSJW, LEMSWF.** (2006). Alendronate or alfacalcidol in glucocorticoid-induced osteoporosis. *N Engl J Med* ; 355: 675-684.
- Denny C, Melo PS, Franchin M, Massarioli AP, Bergamaschi KB, De Alencar SM, Rosalen PL.** (2013). Guava pomace: a new source of anti-inflammatory and analgesic bioactives. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13: 2-7.
- Dongo E, Hidayat H, Miemanang RS, Tazoo D, Schulz B, Krohn K.** (2009). Chemical constituents of *Klainedoxa gabonensis* and *Paullinia pinnata*. *Records of Natural Products*, 3:165-169.
- Droge W.**(2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*; 82: 47-95
- E. Kopp and S. Ghosh,**(1994) "Inhibition of NF- κ B by sodium salicylate and aspirin," *Science*, vol. 265, no. 5174, pp. 956–959.
- Finco D.R.**(1980) - Kidney function. In *Clinical biochemistry of domestic animals*, 3d ed., edited by Kaneko J.J, New York, 337-400
- Foucarde J.** (2006). Néphrologie: élévation de la créatininémie. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes, pp.15.
- Gretz N., Meisinger E., Strauch M.** (1988) - Limitations and problems of animal experiments in uremia. *Contr. Nephrol.*, 60, 252-263
- Haschek, W. M., M. A. Wallig and C. Rousseaux** (2010). Clinical pathology. Fundamentals of toxicologic pathology (second edition). Elsevier. London, Elsevier: 43-65.
- Haschek, W. M., M. A. Wallig and C. Rousseaux** (2010). Kidney and lower urinary tract. Fundamentals of toxicologic pathology (second edition). Elsevier. London, Elsevier: 261-318.
- Hasler U, Leroy V, Martin P-Y, Féraille E.**(2009) Expression de l'aquaporine 2 dans les cellules principales du canal collecteur du rein : une question d'équilibre. In: *Hamburger J ed, Actualités néphrologiques*. Paris: Flammarion Médecine Science: 157-168
- Haute Autorité de Santé.**(2007) Néphropathie chronique grave. Guide médecin. Saint- Denis La Plaine: HAS.

Haute Autorité de Santé.(2007) Stratégie de prise en charge en cas de dénutrition protéino-énergétique chez la personne âgée. Recommandations professionnelles. Saint-Denis La Plaine: HAS.

Hilton R. Acute renal failure. *BMJ* 2006; 333: 786-790

A. K. Hughes, P. K. Stricklett, E. Padilla, and D. E. Kohan, (1996) “Effect of reactive oxygen species on endothelin-1 production by human mesangial cells,”*Kidney International*,vol.49,no.1,pp. 181–189.

Kaneko, J. J., J. W. Harvey, M. L. Bruss and D. R. Finco(1997). *Kidney function.Clinical biochemistry of domestic animals*(fifth edition). A. Press. San Diego, A. Press: 441-484.

Kaneko, J. J., J. W. Harvey, M. L. Bruss and W. F. Loeb (1997).*Clinical biochemistry of laboratory rodents and rabbits.Clinical biochemistry of domestic animals* (fifth edition) A. Press. San Diego, A. Press: 845-855.

Kaneko, J. J., J.W. Harvey, M. L. Bruss, J. R.Turk and S. W. Casteel (1997).*Clinical Biochemistry in toxicology.Clinical biochemistry of domestic animals* (fifth edition) A. Press. San Diego, A. Press: 829-843.

Kidney Disease.,(2009): Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group.KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *KidneyInt Suppl*; (113):S1-130

Kouassi KH, N’guessan K, Gnahoua GM, Kouassi KE. (2009). Flore post-culturale en zone de forêt dense semi-décidue de Côte d’Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 19:1026-1040

Kuiate JR, Lunga PK, Tamokou JD, Ngo Teke G, Gatsing D. (2011). Antibacterial and antioxidant properties of *Paullinia pinnata* (Sapindaceae) and *Ficus thonningii* (Moraceae)methanol crude bark extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 115: 494-501.

Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. *The Lancet* 2005; 365: 417-430

Lipsky P.(1999). The clinical potential of COX-2 specific inhibitors. *American Journal of Medicine*, 106: 51-57.

Lunga PK, Qin XJ, Yang XW, Kuiate JR, Du Z, Gasting D. (2014a).Antimicrobial steroidal saponin and olean-type triterpenoid saponins from *Paullinia pinnata*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14:1-7.

Lunga PK, Tamokou JD, Fodouop SPC, Kuiate JR, Tchoumboue J, Gatsing D. (2014b) . Antityphoid and radical scavenging properties of the methanol extracts and compounds from the aerial part of *Paullinia pinnata*. *Springers Plus*, 3: 2-9.

M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. D. Cronin, M.Mazur, and J. Telser,(2007) “Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease,” *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, vol. 39, no. 1, pp. 44–84.

Marieb E.(2005) *Anatomie et physiologie humaines*. 6thed. Paris: Pearson Education.

MEM (“Millennium Ecologic Museum”). (2010). Inventaire, cartographie et étude diagnostic des forêts sacrées du Cameroun: contribution à l’élaboration d’une stratégie nationale de gestion durable. MINFOF, programme CARPE-IUCN, 74 p.

Mostafa Jafarey, Saeed Changizi Ashtiyani, Houshang Najafi,(2014) “Calcium Dobesilate for Prevention of Gentamicin-induced Nephrotoxicity in Rats” Iranian Journal of Kidney Diseases | Volume 8 | Number 1.

Multiple authors.,(2008) Clinical nephrotoxins: Renal injury from drugs and chemicals. 3rded. NewYork: Springer.

Mundel P, Schwarz K, Reisen J.,(2001) Biologie du podocyte : un nouveau pas en avant. In: Hamburger J ed, Actualités néphrologiques. Paris: Flammarion Médecine Science: 219-224

N. Stojiljkovic, M. Stojiljkovic, P. Randjelovic, S. Veljkovic, and D. Mihailovic.,(2012) “Cytoprotective effect of vitamin C against gentamicin-induced acute kidney injury in rats,” Experimental and Toxicologic Pathology, vol. 64, no. 1-2, pp. 69–74.

N’guessan K, Kadja B, Zirihi N, Traoré D, Aké-assi L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d’Ivoire). Sciences et Nature, 6: 1-15.

N’guessan K, Kadja B, Zirihi N, Traoré D, Aké-assi L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d’Ivoire). Sciences et Nature, 6: 1-15.

National Kidney Foundation. KDOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. Am J Kidney Dis 2002; 39: S1-266

Noël L-H.(2008) Atlas de pathologie rénale. Paris: Flammarion Médecine-Science.

Nordmann R., Ribière C., Rouach H., (1988). Alcool et radicaux libres: données actuelles. Médecine/ sciences; 6: 336 – 345

Ouédraogo N, Lompo M, Sawadogo RW, Tibiri A, Hay AE, Koudou J, Dijoux MG, Guissou IP. (2012). Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). Phytothérapie Pharmacognosie, 2: 2-7.

Pavle Randjelovic, Slavimir Veljkovic, Nenad Stojiljkovic, Ljubinka Jankovic-Velickovic, Dusan Sokolovic, Milan Stojiljkovic, and Ivan Ilic, (2012). Salicylic Acid Attenuates Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats The Scientific World Journal Volume 2012, Article ID 390613, 6 pages

Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne JO. (1999). L’évaluation du stress oxydatif d’un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*. 4: 1-7 ;

R. A. Volpini, A. P. C. Balbi, R. S. Costa, and T. M. Coimbra (2006), “Increased expression of p38 mitogen-activated protein kinase is related to the acute renal lesions induced by gentamicin,” Brazilian Journal of Medical and Biological Research, vol. 39, no. 6, pp. 817–823,.

RIBOLDIP, GEROSAM, MERONIPL. Statins and autoimmune diseases. *Lupus* 2005 ; 14: 765-768.

Schwendenwein I.(1989) - Laboratory parameters as a diagnostic tool for practitioners in renal disease of dogs and cats. *Wien Tierärztl Mschr*, 76, 244-248

Silbernagl A. D., (2001). *Atlas de poche de physiologie* 3^eédition, Flammarion médecine; pp 214-219.

Sundin DP, Sandoval R, Molitoris BA (2001) Gentamicin inhibits renal protein and phospholipid metabolism in rats: implications involving intracellular trafficking. *J Am Soc Nephrol* 12:114-23

Telefo PB, Lienou LL, Yemele MD, Lemfack MC, Mouokeu C, Goka CS, Tagne SR, Moundipa FP. (2011) Ethnopharmacological survey of plants used for the treatment of female infertility in Baham, Cameroon. *Journal of Ethnopharmacology*, 136: 178-187.

TEPLITSKYV, SHOENFELDY, TANAYA.,(2006) The renin-angiotensin system in lupus : physiology, genes and practice, in animals and humans. *Lupus*; 15: 319-325.

Tortora G, Grabowski S.,(2001) *Principes d'anatomie et de physiologie*. 3rded. Louvain-la-Neuve: De Boeck.

Tra Bi FH, Irié GM, N'gaman KCC, Mohou CHB. (2008). Etudes de quelques plantes thérapeutiques utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle et du diabète: deux maladies émergentes en Côte d'Ivoire. *Sciences et Nature*, 5: 39-48.

V. Tugcu, E. Ozbek, A. I. Tasci et al.(2006), "Selective nuclear factor κ -B inhibitors, pyrrolidinium dithiocarbamate and sulfasalazine, prevent the nephrotoxicity induced by gentamicin," *BJU International*, vol. 98, no. 3, pp. 680–686.

Van Raamsdonk JM, Hekimi S. Reactive oxygen species and aging in *Caenorhabditis elegans*: causal or casual relationship? *Antioxid Redox Signal* 2010; 13: 1911-1953

W. W. Tang, L. Feng, J. C. Mathison, and C. B. Wilson, (1994) "Cytokine expression, upregulation of intercellular adhesion molecule-1, and leukocyte infiltration in experimental tubulointerstitial nephritis," *Laboratory Investigation*, vol. 70, no. 5, pp. 631–638.

Ybert J-P. (1979). *Atlas de pollens de Côte d'Ivoire*. Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre- Mer (O.R.S.T.O.M.), Paris, 68 p.

Yemoa AL, Gbenou JD, Johnson RC, Djego JG, Zinsou C, Moudachirou M, QuetinLeclercq J, Bigot A, Portaels F. (2008). Identification et étude phytochimique de plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère de Buruli au Bénin. *Ethnopharmacologia*, 42: 48-55.

Yusuf AZ, Zakir A, Shemau Z, Abdullahi M, Halima SA. (2014). Phytochemical analysis of the methanol leaves extract of *Paullinia pinnata* Linn. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 6: 10-16.

Zamble A, Carpentier M, Kandoussi A, Sahpas S, Petrault O, Ouk T, Hennuyer N, Fruchard JC, Staels B, Bordet R, Duriez, Bailleul F, Nizard MF. (2006). *Paullinia pinnata* extracts rich in polyphenols promote vascular relaxation via endothelium-dependant mechanisms. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 47: 599-608.

Sinha KA.(1972). Colorimetric Essay of Catalase. *Analyze Biochemistry*. 47: 389-394 ;

- Slack PT.**(1987). Analytical methods manual. 2nd Edition, British food Manufacturing industries Research Association, Leatherland ;
- Wilbur KM, Bernheim F, Shapiro OW.** (1949). Determination of lipid peroxidation. Archives of Biochemisrty. 24: 305-310 ;
- Ellman GL.** (1959). Tissue sulfhydryl group. Archives of Biochemistry and Biophysics. 82: 70-77 ;
- Walker PD, Barri Y, Shah SV,** (1999). Oxidant mechanisms in gentamicin nephrotoxicity. Ren Fail; 21:433-42.
- GILBERT D.N., WOOD C.A., KOHLEPP P.W., HOUGHTON D.C., FINKBEINER H.C., LINDSLEY J., BENNETT W.M.,** (1989): Polyaspartic acid prevents experimental aminoglycoside nephrotoxicity. J. Infect. Dis., 159, 945-953.
- Perico N., Garattini S.**(1993) - Relation between toxicity and kinetics and models of renal disease. In Drug Toxicokinetics, Welling P.G. and de la Iglesia F.A., Marcel Dekker, New-York, 143-194.
- Stein J.H., Fried T.A.**(1985) - Experimental models of nephrotoxic acute renal failure. Transplantation Proceedings, 17, 72-80.
- Flamenbaum W., Mc Neil J.S., Kotchen T.A., Saladino A.J.**(1972) - Experimental acute renal failure induced by uranyl nitrate in the dog. Circ. Res., 31, 682-698.
- Tanner G.A.** (1985),– Experimental models of acute tubular necrosis. In CRC handbook of animal models of renal failure, edited by Ash S.R; Thornhill J.A, Boca Raton, 109-144
- Hasler U, Leroy V, Martin P-Y, Féraïlle E.**(2009) Expression de l'aquaporine 2 dans les cellules principales du canal collecteur du rein : une question d'équilibre. In: Hamburger J ed, Actualités néphrologiques. Paris: Flammarion Médecine Science; 157-168