

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie animale

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Toxicologie

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

**L'effet protecteur de l'extrait hydro-méthanolique de la plante olivier
(*Olea sp.*) contre la toxicité néphro-hépatique induite par le Diclofénac
chez des rats males de souche *Wistar Albinos***

Présenté par : BELDJILALI Lina Nourhane
BENENIA Maroua
LAKEHAL Ikram

Le 28/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur :	BOUBEKRI Nassima	MCA	Université Frères Mentouri Constantine 1
Examineur 1 :	LALAOUI Korichi	Professeur	Université Frères Mentouri Constantine 1
Examineur 2 :	KABOUCHE Sami	MCB	Université Frères Mentouri Constantine 1

Année universitaire
2021 – 2022

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice Mme BOUBEKRI Nassima d'avoir encadrée et dirigée notre travail avec une grande rigueur scientifique, pour sa patience et ces conseils valeureux. Qu'elle trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Notre profonde reconnaissance va à la doctorante Mlle LARABA Meriem pour son aide et sa disponibilité durant la réalisation de nos expérimentations.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury Pr LALAOUI Korichi et Mr KAABOUCHE Sami pour l'intérêt qu'ils ont portés en acceptant d'examiner et évaluer ce travail.

Enfin nous souhaitons adresser nos remerciements à tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire, ainsi qu'au corps professoral durant ces deux années de master pour la richesse et la qualité de leurs enseignements.

Dédicace

A la mémoire de ma chère mère Lynda

A cette femme exceptionnelle qui m'inspire depuis toujours et A qui je dois ce que je suis et ce que je serais. Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier pour l'amour et l'éducation digne que tu m'as donnée et qui ont fait de moi la personne forte que je suis devenue aujourd'hui, tu été et tu resteras pour toujours ma force pour affronter les différentes obstacles, que ce travail soit traduit ma gratitude.

A mon cher père Youcef

Pour ses encouragements incessants et son soutien moral aux moments les plus difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite. Toutes ces années d'études n'auraient pas pu aboutir sans ton soutien. Qu'il trouve dans ce travail la preuve modeste d'une reconnaissance infinie et d'un profond amour.

A ma cousine Abir

Qui a m'as toujours soutenue, poussée à aller de l'avant, et qui a toujours su quoi dire. Je ne saurai jamais te remercier assez.

A mes frères Djed et Amir, mes grands-parents Amar et Fahima, et ceux qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotions lors de la réalisation de ce travail.

A ma grande famille, mes proches qui m'ont supporté et encouragé tout au long de ce parcours.

A tous mes amis et ceux qui me sont chers.

Lyna

Dédicace

Aux êtres qui me sont les plus chers dans ce monde, mes parents, qui ont cru en moi et ont été toujours là pour m'écouter, me soutenir, me réconforter et m'encourager dans les moments de doute.

A mes très chers frères et sœurs, source de ma joie et mon bonheur.

A ma grande famille, mes proches, qui me donnent de l'amour et de l'encouragement.

A tous ceux qui me sont chers.

Que je dédie ce travail ...

MAROUA

Dédicace

Avec un énorme plaisir et un cœur ouvert, que je dédie ce modeste travail

A MES TRES CHERS PARENTS

Ceux qui m'ont donné la vie, sources de l'amour et de la force et symboles de la responsabilité.

Je vous remercie pour tout le sacrifice, le soutien, l'amour et l'encouragement que vous me portez et me donner depuis mon enfance.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être.

Dieu vous accorde santé, bonheur et longue vie.

A MA CHERE SŒUR WAFI ET A MON CHER FRERE HOUSSEM

Ceux qui étaient toujours à mes côtés et qui n'ont jamais cessé de me soutenir et de m'encourager.

Les mots ne sauraient jamais exprimer l'étendue de mon affection et ma gratitude.

Que Dieu vous accorde la santé, la réussite et tout le bonheur du monde.

A MES TRES CHERES AMIES CHAIMA ET LINA

Pour tous les moments heureux que nous avons passés ensemble, pour toute l'affection qu'elles m'ont donnée et pour leurs encouragements.

Que Dieu vous accorde réussite, santé et prospérité.

A TOUS MES COLLEGUES.

IKRAM

L'effet protecteur de l'extrait hydro-méthanolique de la plante olivier (*Olea sp.*) contre la toxicité néphro-hépatique induite par le Diclofénac chez des rats males de souche *Wistar Albinos*

Résumé

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) constituent une classe thérapeutique très utilisée en raison de leur activité antipyrétique, antalgique et anti-inflammatoire. L'utilisation des AINS expose à de nombreux effets indésirables via leur toxicité cutanée, digestive, hépatique, rénale et cardiovasculaire. Ce travail de recherche a porté sur l'investigation de l'effet protecteur de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de la plante olivier (*Olea sp.*) contre la toxicité néphro-hépatique induite par le Diclofénac (50mg/kg) chez des rats males de souche *Wistar Albinos*.

Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré clairement des modifications significatives des indicateurs biochimiques (ALAT, ASAT, urée et la créatinine) et de stress oxydatif (malondialdéhyde (MDA), glutathion (GSH) et glutathion peroxydase (GPx)) dans le groupe traité par le Diclofénac (50mg/kg), ce dysfonctionnement a été accompagné par des altérations et des changements de l'architecture hépatique et rénale. En revanche, le prétraitement des rats par l'extrait brut de la plante (100 mg/kg) a permis de rétablir les paramètres biochimiques et améliorer le statut antioxydant. Cela a été confirmé par l'étude histologique.

En conclusion, les résultats obtenus dans cette étude révèlent que l'extrait brut des feuilles de la plante olivier (*Olea sp.*) peut être considéré comme une source naturelle pour prévenir l'hépatotoxicité et néphrotoxicité induite par le Diclofénac.

Mots clés : Diclofénac, *Olea sp.*, Hépatotoxicité, Néphrotoxicité, Activité antioxydante.

The protective effect of hydro-methanolic extract of the olive plant (*Olea sp.*) against the nephro-hepatic toxicity induced by Diclofenac in male rats of the *Wistar Albino* strain

Abstract

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are a widely used therapeutic class due to their antipyretic, analgesic and anti-inflammatory activity. The use of NSAIDs exposes you to numerous adverse effects via their cutaneous, digestive, hepatic, renal and cardiovascular toxicity. This research work focused on the investigation of the protective effect of the hydro-methanolic extract of the leaves of the olive plant (*Olea sp.*) against the nephro-hepatic toxicity induced by Diclofenac (50mg/kg) in male *Wistar Albino* strain rats.

The results obtained in the present study clearly showed significant changes in biochemical indicators (ALAT, ASAT, urea and creatinine) and oxidative stress (malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GPx)) in the group treated with Diclofenac (50mg/kg), this dysfunction was accompanied by alterations and changes in hepatic and renal architecture. On the other hand, the pretreatment of rats with the crude extract of the plant (100 mg/kg) made it possible to restore the biochemical parameters and improve the antioxidant status. This was confirmed by histological study.

In conclusion, the results obtained in this study reveal that the crude extract of the leaves of the olive plant (*Olea sp.*) can be considered as a natural source to prevent hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by Diclofenac.

Keywords: Diclofenac, *Olea sp.*, Hepatotoxicity, Nephrotoxicity, Antioxidant activity.

التأثير الوقائي للمستخلص الخام لنبات الزيتون (*Olea sp.*) ضد السمية الكلوية و الكبدية التي يسببها دواء ديكلوفيناك عند ذكور الجرذان من سلالة *Wistar Albino*

ملخص

تستخدم الأدوية المضادة للالتهابات غير ستيرويدية على نطاق واسع بسبب نشاطها الخافض للحرارة والمسكن للألم والمضاد للالتهابات. كما يؤدي استخدام مضادات الالتهاب غير ستيرويدية إلى العديد من الآثار الضارة من خلال تأثيرها السام على الجلد، الجهاز الهضمي، الكبد، الكلية والقلب والأوعية الدموية. يهدف هذا البحث إلى دراسة التأثير الوقائي للمستخلص الخام لأوراق نبات الزيتون (*Olea sp.*) ضد السمية الكلوية و الكبدية المحرصة بواسطة دواء ديكلوفيناك (50 مجم / كجم) عند فئران ذكور من سلالة *Wistar Albino*.

أظهرت النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة تغيرات مهمة في المؤشرات البيوكيميائية (ALAT، ASAT، اليوريا والكرياتينين) والإجهاد التأكسدي (malondialdehyde (MDA)، الجلوتاثيون (GSH) والجلوتاثيون بيروكسيداز (GPx)) في المجموعة المعالجة بالديكلوفيناك (50 ملجم / كجم)، كان هذا الخلل مصحوبًا بتغيرات في البنية النسيجية للكبد والكلية. كما مكنت المعالجة المسبقة للفئران بالمستخلص الخام للنبات (100 مجم / كجم) من تعديل المؤشرات البيوكيميائية ومؤشرات الجهد التأكسدي. وهذا ما تم تأكيده ذلك من خلال الدراسة النسيجية.

أثبتت النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة أن المستخلص الخام لأوراق نبات الزيتون (*Olea sp.*) يمكن اعتباره مصدرًا طبيعيًا للوقاية من السمية الكلوية والكبدية التي يسببها دواء ديكلوفيناك.

الكلمات المفتاحية: ديكلوفيناك، *Olea sp.*، السمية الكلوية، السمية الكبدية، نشاط مضاد للأوكسدة.

Liste des abréviations

DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
NO	Oxyde nitrique
MAT	matière azotée totale
FLOH	flavonoïde
FLO*	flavonoïde sous forme radicalaire
LDL	low density lipoprotein
SOD	superoxyde dismutase
GP_x	glutathion peroxydase
MPO	myeloperoxydase
GSH	glutathion
ERO	espèces réactives de l'oxygène
A2	Phospholipase
AINS	Anti-inflammatoire non stéroïdiens
COX	cyclo-oxygénase
LOX	Lipo-oxygénase
PGG2	Endoperoxide
TCP	Tube spiralé proximal
TLR	Toll like receptors

Liste des figures

Figure 1 : Exemples de facteurs déclenchant l'inflammation	3
Figure 2 : Activation plaquettaire au cours des premières étapes de la phase vasculaire..	6
Figure 3 : Principales étapes de l'inflammation aiguë.	7
Figure 4 : Déséquilibre entre molécules pro et anti-inflammatoires.....	8
Figure 5 : un schéma qui résume les médiateurs lipidique de l'inflammation	12
Figure 6 : Synthèse des prostaglandines et inhibition par AINS	15
Figure 7 : Mécanisme d'action des AINS et effets secondaires	16
Figure 8 : Schéma récapitulatif des principaux rôles identifiés pour les cyclo-oxygénases.....	17
Figure 9 : Mécanisme inhibiteur de la COX-2 par le Diclofénac.....	21
Figure 10 : L'histologie d'un lobule, l'unité fonctionnelle du foie	24
Figure 11 : Schéma d'une coupe longitudinale de rein	27
Figure 12 : Sources intracellulaires des ROS	31
Figure 13 : Génération extracellulaire des radicaux libres.....	32
Figure 14 : Différentes familles de polyphénols	35
Figure 15 : structure de base des flavonoïdes	36
Figure 16 : Structures des squelettes de base des flavonoïdes.....	37
Figure 17 : Réaction des flavonoïdes avec les espèces oxygénées réactives Avec FIOH : flavonoïde, FIO [•] : flavonoïde sous forme radicalaire	38
Figure 18 : Le radical aroxyle résultant (FI-O [•]) peut réagir avec un autre radical libre pour former une structure quinone.....	38
Figure 19 : Schéma de la taxonomie du genre Olea SP.....	41
Figure 20 : un lot de Rat	46
Figure 21 : un Rat qui reçoit l'extrait de La plante par gavage.....	47
Figure 22 : un rat qui reçoit sa dose du Diclofénac par voie intra-péritonéale	48
Figure 23 : Rat dans la cloche pour qu'il soit anesthésié	48
Figure 24 : Rat sur la planche de dissection.....	48
Figure 25 : La préparation de l'homogénat.....	48
Figure 26 : Principe de dosage du Malondialdehyde.....	50

Figure 27 : La formation du complexe coloré en rose lors de dosage du MDA.....	51
Figure 28 : Principe de dosage de glutathion.....	51
Figure 29 : Effet de Diclofénac et l'extrait sur la concentration sérique des aminotransférases.....	53
Figure 30 : Effet de Diclofénac et l'extrait sur la concentration sérique des aminotransférases	54
Figure 31 : Effet de Diclofénac et l'extrait sur la concentration sérique de l'urée.....	55
Figure 32 : Effet de la Diclofénac et l'extrait sur la concentration sérique de la creatinine....	55
Figure 33 : Effet de la Diclofénac et l'extrait sur le taux d'MDA du foie chez les différents groupes.....	56
Figure 34 : Effet de la Diclofénac et l'extrait sur le taux d'MDA des reins chez les différents groupes.....	57
Figure 35 : Effet de la Diclofénac et l'extrait sur le niveau de GSH du foie chez les différents groupes.....	57
Figure 36 : Effet de la Diclofénac et l'extrait sur le niveau de GSH des reins chez les différents groupes.....	58
Figure 37 : Effet de la Diclofénac et l'extrait sur l'activité de GPx du foie chez les différents groupes.....	59
Figure 38 : Effet de la Diclofénac et l'extrait sur l'activité de GPx des reins chez les différents groupes.....	60
Figure 39 : Histologie des foies des rats témoin.....	61
Figure 40 : Histologie des foies des rats traités avec l'extrait brut de la plante <i>Olea europaea</i> (100 mg / kg) H&E (100x et 400x)....	61
Figure 41 : Histologie du foie des rats du groupe toxique.....	62
Figure 42 : Histologie du foie des rats traités par DF (50 mg/kg) et l'extrait brut de la plante <i>Olea sp.</i>	63
Figure 43 : Histologie des reins des rats témoin. H&E (×400)	64
Figure 44 : Histologie des reins des rats traités avec l'extrait brut de la plante <i>Olea sp.</i> (100 mg / kg) H&E (100x et 400x)	64

Figure 45 : Histologie des reins des rats du groupe toxique ; groupe traité par Diclofénac (50 mg/kg) présentant une distorsion de l'architecture normale et des hépatocytes de forme irrégulière comme64

Figure 46 : Histologie du foie des rats traités par DF (50 mg/kg) et l'extrait brut de la plante *Olea sp.* (100 mg / kg) montré un tableau histologique comparable à celui du groupe témoin65

Liste des tableaux

Tableau 1 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire.....10

Tableau 2 : Propriétés physicochimiques du Diclofénac sodique.....19

Tableau 3 : Les principales espèces ERO et ERA générées dans les systèmes biologiques.....30

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction	1
--------------------	---

Chapitre I: Synthèse bibliographique

1. L'inflammation	3
1.1. Définition	3
1.2. Mécanismes cellulaires et moléculaire de l'inflammation	4
1.3. Les types d'inflammation	5
1.3.1. Inflammation aiguë.....	5
A. La phase vasculaire	5
B. La phase cellulaire.....	6
C. La phase de résolution	7
1.3.2. Inflammation chronique	8
1.4. Les médiateurs d'inflammation.....	9
1.4.1 Médiateurs chimiques	9
1.4.2. Les médiateurs lipidiques	11
a) Voie de la lipooxygénase.....	11
* Les lipooxygénases.....	11
* Les leucotriènes.....	11
b) Voie de la cyclooxygénase	11
➤ La cyclooxygénase de type1 ou COX1	11
➤ La cyclooxygénase de type 2 ou COX2.....	11
2. Les Anti-inflammatoires.....	12
2.1. Classification des anti-inflammatoires	13
2.1.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS	13
2.1.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens	13
2.1.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétale.....	13
2.2. Mécanisme d'action des AINS.....	14

2.3. Diclofénac.....	18
2.3.1. Définition	18
2.3.2. Caractéristiques physicochimiques	19
2.3.3. Propriétés pharmacologiques.....	20
2.3.3.1. Propriétés pharmacocinétiques.....	20
➤ Voie d'hydroxylation.....	20
➤ Voie de glucuronidation.....	20
2.3.3.2. Propriétés pharmacodynamiques et mécanisme d'action.....	20
➤ Interactions du Diclofénac avec la COX-2.....	21
2.3.4. Indications thérapeutiques.....	22
2.3.5. Effets indésirables	22
3. Toxicité du Diclofénac sodique	23
3.1. Hépatotoxicité des AINS.....	23
3.1.1. Tissu hépatique.....	23
3.1.2. Lésions hépatocellulaires causées par des AINS.....	25
3.1.3. Voies impliquées dans l'hépatotoxicité induite par AINS.....	25
3.2. Néphrotoxicité des AINS.....	26
3.2.1. Tissu rénal et néphron.....	26
3.2.2. La néphrotoxicité du Diclofénac.....	28
3.3. Diclofénac et stress oxydatif	28
4. Le stress oxydatif.....	28
4.1. Définition du phénomène « stress oxydant ».....	29
4.2. Les espèces réactives d'oxygène	29
4.2.1. Les radicaux libres.....	30
4.2.2. Différentes formes de ROS	30
4.2.3. Sources des ROS	30
4.2.3.1. Sources intracellulaires.....	30
4.2.3.2. Sources extracellulaires.....	32
4.3. Les antioxydants	32
➤ La vitamine C (acide ascorbique).....	33
➤ La vitamine E.....	33

➤ Le β -carotène.....	33
➤ Les polyphénols.....	34
5. Les polyphénols.....	34
5.1. Les différentes familles et structures des polyphénols.....	34
5.1.1. Les flavonoïdes.....	35
5.1.1.1. L'activités des Flavonoïdes	37
➤ Activité antioxydante	37
a. Piégeage direct de radicaux libres	38
b. Chélation des ions métalliques	39
6. Les plantes médicinales.....	39
6.1. Présentation Générale d' <i>Olea sp</i>	39
6.1.1. Origine et historique de l'Olivier.....	39
6.1.2. Nomenclature et systématique d' <i>Olea sp</i>	40
6.1.3. Caractéristique morphologique d' <i>Olea sp</i>	41
➤ Système racinaire.....	41
➤ Les feuilles d'olivier.....	42
6.1.4. Répartition géographique.....	42
6.1.5. Composition chimique des feuilles.....	42
6.1.5.1. Composés phénoliques des feuilles et fruits de l'olivier.....	43
➤ Les composés phénoliques.....	43
6.1.5.2. L'utilisation des fleurs d'olivier dans le domaine thérapeutique	43
➤ L'effet anti-inflammatoire des feuilles d'olive.....	43
➤ L'activité anti-oxydante	44

Chapitre II: Protocoles expérimentaux

Protocoles expérimentaux	45
1. Matériel végétal.....	45
1.1. Méthodes d'extraction	45
2. Expérimentation animale	45
2.1. Animaux et conditions d'hébergements	45

2.2. Induction de la toxicité et traitement des rats.....	46
2.2.1. Effet préventif de l'extrait hydro-méthanolique de la plante <i>Olea europaea</i> sur la toxicité aiguë induite par le Diclofénac (50 mg/kg)	46
➤ Dissection des rats, prélèvement du sang et des organes.....	47
➤ Préparation d'homogénat	47
2.3. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques.....	48
2.3.1. Dosage des transaminases.....	48
2.3.2. Dosage de l'urée	49
2.3.4. Dosage de la créatinine.....	50
2.4. Dosage des paramètres du stress oxydatif	50
2.4.1. Dosage de MDA au niveau d'homogénat.....	50
2.4.3. Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)	52
2.5. Etude Histopathologique	52
2.6. Evaluation statistique.....	52

Chapitre III: Résultats et discussion

1. Résultats de l'étude expérimentale <i>in vivo</i>	53
1.1. L'effet protecteur de l'extrait de la plante vis-à-vis la toxicité aiguë induite par le Diclofénac.....	53
1.1.1. L'effet des différents traitements sur les marqueurs biochimiques.....	53
a. Les enzymes transaminases AST et ALT.....	53
b. L'effet sur la concentration sérique de l'urée et la créatinine.....	54
1.2. L'effet des différents traitements sur le statut oxydant.....	56
1.2.1. L'effet sur la peroxydation lipidique (taux d'MDA) du foie et des reins.....	56
1.3. L'effet des différents traitements sur le statut antioxydant.....	57
1.3.1. L'effet sur le GSH du foie et des reins.....	57
1.3.2. L'effet sur l'activité de la GPx du foie et des reins.....	59
1.4. Etude Histopathologique.....	60
1.4.1. Au niveau du foie.....	60

1.4.2. Au niveau des reins.....	63
2. Discussion.....	65
Conclusion.....	69
Références bibliographiques.....	70

Introduction

Introduction

La réaction inflammatoire est une réponse physiologique, rapide et complexe de protection de l'organisme face à une infection, un traumatisme thermique ou mécanique, une ischémie ou un processus néoplasique. C'est une composante de la réponse immune innée non spécifique. L'inflammation permet à l'organisme de lutter contre les agressions, notamment infectieuses, mais peut également devenir délétère lorsqu'elle est excessive et non régulée, via la libération massive de cytokines pro-inflammatoires (Chavant et al., 2021).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde, que ce soit dans le contexte de la prescription médicale, ou de l'automédication. En effet, plus de 300 millions de personnes dans le monde prennent des AINS. Pour 30 millions de patients, la prise d'anti-inflammatoire non stéroïdien est quotidienne. L'inflammation étant un processus ubiquitaire, on comprend la très grande fréquence de prescription de ces médicaments. Leurs propriétés antalgiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires expliquent leur large utilisation symptomatique (Altman et al., 2015).

Les AINS sont associés à divers effets secondaires, y compris les troubles gastro-intestinaux, cardiovasculaires, rénaux et hépatiques. Certains AINS ont été retirés du marché en raison d'une toxicité cardiovasculaire et hépatique mortelle. Une analyse systématique des données recueillies par le Drug-Induced Liver Injury Network a révélé que le Diclofénac est l'AINS le plus souvent impliqué dans le développement des lésions hépatocellulaires (Jung et al., 2020).

En cette raison, on assiste, ces dernières années, à un regain d'intérêt pour les plantes médicinales et aromatiques et pour leurs extraits. Les végétaux présentent un potentiel antiradicalaire qui leur permettrait de jouer un rôle bénéfique en termes d'action préventive très importante pour la santé humaine et animale (Obame Engonga, 2009).

Les plantes sont capables de produire une grande diversité de produits ne participant pas à leur métabolisme de base, mais représentant plutôt des produits du métabolisme secondaire. Nous pouvons citer comme exemple les alcaloïdes, les terpènes, les stéroïdes, les polyphénols, les huiles essentielles (La et al., 2011).

Les polyphénols sont des composés naturels, exclusivement synthétisés dans le règne végétal. Les phénols alimentaires font l'objet d'un intérêt scientifique croissant en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé humaine, et principalement les flavonoïdes (Boutakiout, 2017).

Les flavonoïdes sont des substances naturelles qui acquièrent diverses propriétés pharmacologiques et des applications thérapeutiques, ils sont endossée aux structures phénoliques

qui ont l'efficacité antioxydante et de limiter les processus médités par les radicaux libres (La et al., 2011).

L'olivier (*Olea sp.*) est l'un des plus anciennes cultures de la région méditerranéenne où il a occupé depuis la préhistoire une place majeure dans la culture de cette région. (*Olea sp.*) est traditionnellement utilisé comme hypotenseur, émollient, laxatif, diurétique, nettoyant pour la peau, et également utilisé pour les traitements d'infections urinaires, de calculs biliaires, d'asthme bronchique et de diarrhée. Plusieurs phyto-constituants ont été signalés dans les différentes parties de la plante telle que les glycosides, les flavonoïdes, les secoiridoïdes et les acides gras poly-insaturés (Himour et al., 2016).

Dans cette étude, nous avons évalué l'effet protecteur de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de la plante olivier (*Olea sp.*) contre la toxicité néphro-hépatique induite par le Diclofénac chez des rats males de souche *Wistar Albinos*.

Chapitre I
Synthèse bibliographique

1. L'inflammation

Pour mieux comprendre le fonctionnement des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), il est important de connaître les différents facteurs impliqués dans le processus inflammatoire. C'est pourquoi, nous ferons d'abord un rappel sur ce phénomène, ses mécanismes et médiateurs, et où réside l'effet des AINS.

1.1. Définition

La réponse inflammatoire est un processus physiologique de défense de l'organisme contre une agression qui entraîne une altération tissulaire. La fonction première de la réponse inflammatoire est d'éliminer ou d'isoler l'agent agresseur (bactérie, virus, parasites, tissu lésé) (figure 1) du reste de l'organisme et de permettre, le plus rapidement possible, la réparation des tissus. Cette réponse dénommée inflammation aiguë, est un phénomène bénéfique pour l'organisme qui peut ainsi retrouver son intégrité physiologique. L'aspect négatif de la réponse inflammatoire intervient quand cette dernière se pérennise et devient chronique. Dans ce cas, la réaction inflammatoire devient défavorable et doit être contrôlée par des traitements médicamenteux (Weill et Batteux, 2003).

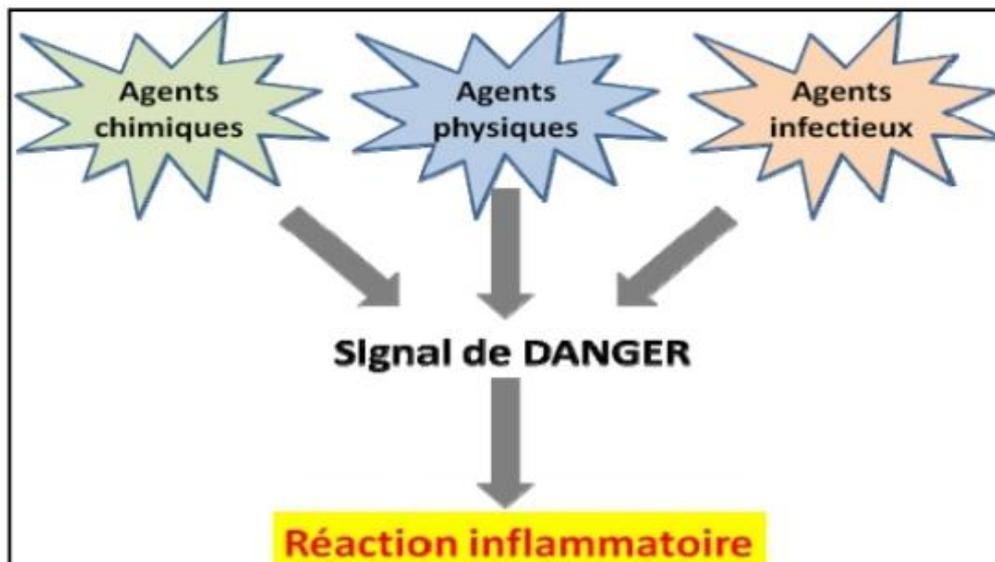


Figure 1 : Exemples de facteurs déclenchant l'inflammation (Mathieu et Guimezanes, 2011)

1.2. Mécanismes cellulaires et moléculaire de l'inflammation

Les mastocytes sont les premières cellules immunitaires à entrer en jeu, suivi par les cellules dendritiques et les macrophages, tous appelés cellules sentinelles résidentes. A celles-ci s'ajoutent les plaquettes et les lymphocytes (Crea et Biasucci, 2012 ; Newton et Dixit, 2012 ; Hirayama et al., 2017).

Ces cellules possèdent à la surface de leur membrane des récepteurs appelés PRR (Pathogène Recognition Receptors) notamment les TLR (Toll like receptors) capables de reconnaître le type d'agresseur. Quant aux bactéries, elles sont munies des motifs PAMP (Pathogen Associated Molecular Patterns) qui sont immédiatement reconnus par les PRR dès qu'elles pénètrent dans les tissus (Normand, 2009; Newton et Dixit, 2012; Liu et al., 2017; Patel et al., 2017; Amarante-Mendes et al., 2018).

Cette reconnaissance conduit à l'activation des cellules résidentes et déclenche une réponse inflammatoire (Sterka Jr et Marriott, 2006; Rubartelli et Lotze, 2007 ; Medzhitov, 2008).

Cela conduit à la libération de médiateurs inflammatoires, qui sont les véritables signaux d'alerte de tout le système immunitaire (IL-1, TNF α , etc.). Certains médiateurs, tels que l'histamine et la sérotonine, sécrétés par les mastocytes agissent sur les parois des vaisseaux sanguins, augmentant ainsi la vasodilatation et la perméabilité vasculaire près du site de la blessure (Nathan, 2002). Et ça facilite le passage des cellules multi nucléées (granulocytes et monocytes) du milieu sanguin dans les tissus, C'est la dialyse. Les principales caractéristiques de la réponse inflammatoire sont la rougeur, la douleur, la fièvre et l'œdème. D'autres médiateurs tels que les cytokines et les chimiokines libérées par les cellules sentinelles (IL-1, IL-6, TNF α) peuvent recruter d'autres cellules fortifiées telles que les macrophages (Patel et al., 2017; Diallo, 2019). Bien que la réponse immunitaire innée soit efficace, elle n'élimine pas toujours l'agent pathogène, et l'agresseur peut persister, ce cas est assisté par le système immunitaire adaptatif via l'activation des lymphocytes (Normand, 2009 ; Scrivo et al., 2011).

Idéalement, l'inflammation est un processus physiologique souhaitable et bénéfique pour le corps, car elle permet d'attaquer et d'éliminer les agents pathogènes et de retourner à l'homéostasie des tissus endommagés (Medzhitov, 2008 ; Hajjaj, 2017).

L'inflammation est souvent mal contrôlée, non régulée et dégénérée, ce qui peut entraîner des affections telles que la polyarthrite rhumatoïde et la maladie de Crohn. Il s'agit d'une

inflammation chronique dans ce cas (Pacheco-Sánchez et al., 2007 ; Alessandri et al., 2013 ; Hajjaj, 2017).

De nombreuses substances sont impliquées dans le processus inflammatoire. Il s'agit notamment des cytokines inflammatoires (TNF α , IL-1 et IL-6), des prostaglandines (PGs) et du monoxyde d'azote (NO), mais aussi des neutrophiles, des monocytes, des macrophages et des mastocytes et lymphocyte T, qui jouent également un rôle important. Chacune de ces molécules doit jouer son rôle efficace et complexe pour que la réponse inflammatoire réussisse et ne dépasse pas sa cible. Sinon, cela peut provoquer l'apparition d'autres pathologies (Kapoor et al., 2005; Diallo, 2019).

1.3. Les types d'inflammation

1.3.1. Inflammation aiguë

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur de courte durée (quelques jours ou semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Rousselet et al., 2005). Elle évolue en 3 phases qui sont :

A. La phase vasculaire

Elle se caractérise par l'activation des plaquettes et du premier médiateur soluble (Fig. 2). Les plaquettes sont activées très rapidement. Et interviennent à l'aide de facteurs de coagulation dans le plasma, comblant la brèche et limitant l'accès des pathogènes à l'organisme. Les plaquettes activées libèrent également des protéines avec de fortes propriétés d'agrégation et de vasoconstriction (rétrécissement du diamètre des vaisseaux). L'effet vasoconstricteur est très court et permet de limiter les « fuites » de sang. De nombreux médiateurs solubles présents dans le sang sont activés très rapidement (système du complément, système kinine, etc.). Leur objectif est de « sonner l'alarme » et de mobiliser les cellules immunitaires innées sur le site de l'inflammation.

Le système du complément joue un rôle dans la vasodilatation, l'augmentation de la perméabilité vasculaire et l'attraction des cellules circulantes vers le site endommagé.

Le système kinine joue un rôle dans la perméabilité vasculaire qui permet aux cellules immunitaires d'atteindre le niveau tissulaire : mais aussi de la sensation de douleur grâce à leur interaction avec les neurones sensoriels qui sont des cellules jouant le rôle de « capteur de douleur» (Mathieu et Guimezanes, 2011).

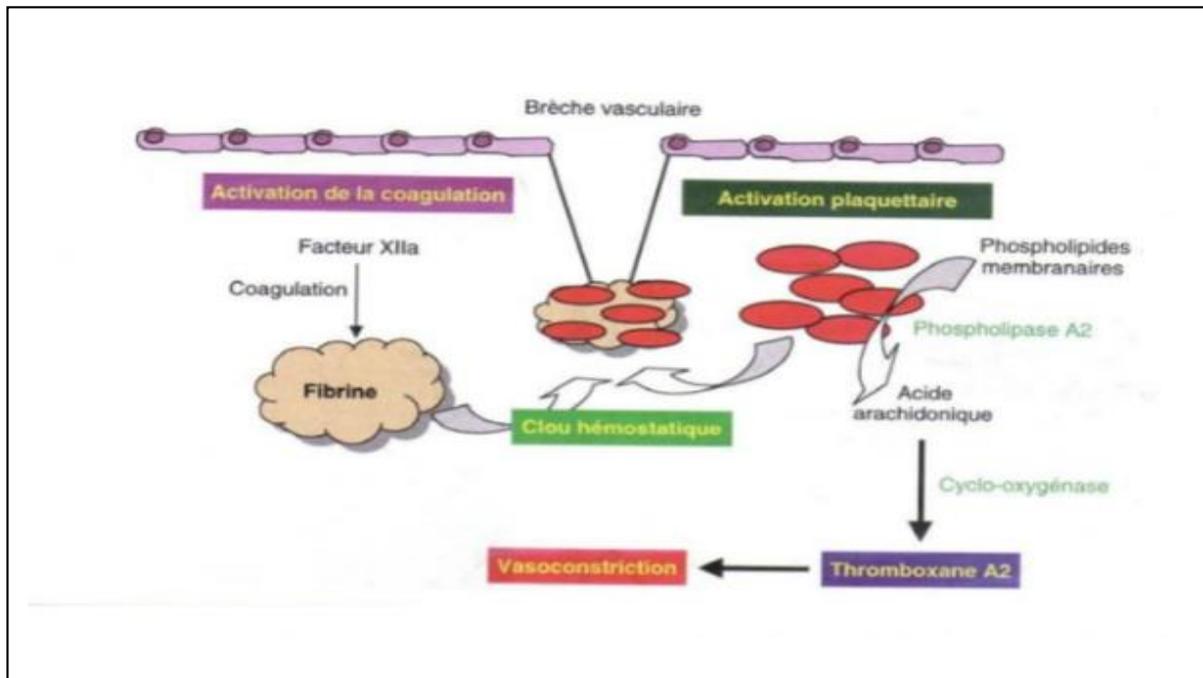


Figure 2 : Activation plaquettaire au cours des premières étapes de la phase vasculaire (Weill et Batteux, 2003)

B. La phase cellulaire

Les neutrophiles sont les premières cellules circulantes à atteindre les tissus endommagés. Lorsque les neutrophiles sont insuffisants pour détruire les micro-organismes, les monocytes et macrophages circulants attirés par les chimiokines, vont venir en renfort sur le site lésé pour phagocyter les microbes et les débris cellulaires. Lorsqu'elles atteignent le site de la lésion, les cellules du système congénital sont activées soit par contact direct avec l'agent pathogène, soit par la présence de cytokines sécrétées par les cellules résidentes. La reconnaissance des modèles microbiens par les neutrophiles et les macrophages conduit à la phagocytose et à la destruction partielle des micro-organismes. Après avoir ingéré ces micro-organismes, les neutrophiles produisent des composés hautement réactifs dans les granules et les libèrent dans les tissus

endommagés. Ce sont des formes réactives d'oxygène, d'oxyde nitrique et de peptides antimicrobiens (Mathieu et Guimezanes, 2011).

C. La phase de résolution

C'est l'étape d'élimination des agents pathogènes, des neutrophiles morts et des produits de dégradation des tissus, donc c'est le retour à l'homéostasie. Les macrophages sécrètent alors des cytokines (IL-4 et IL-10), des fibroblastes et des médiateurs, initiant une période de cicatrisation et de régénération tissulaire douloureuse (Mebirouk et Naimi, 2017; Diallo, 2019).

La figure ci-dessous (figure 3) résume les différentes étapes de l'inflammation aigüe.

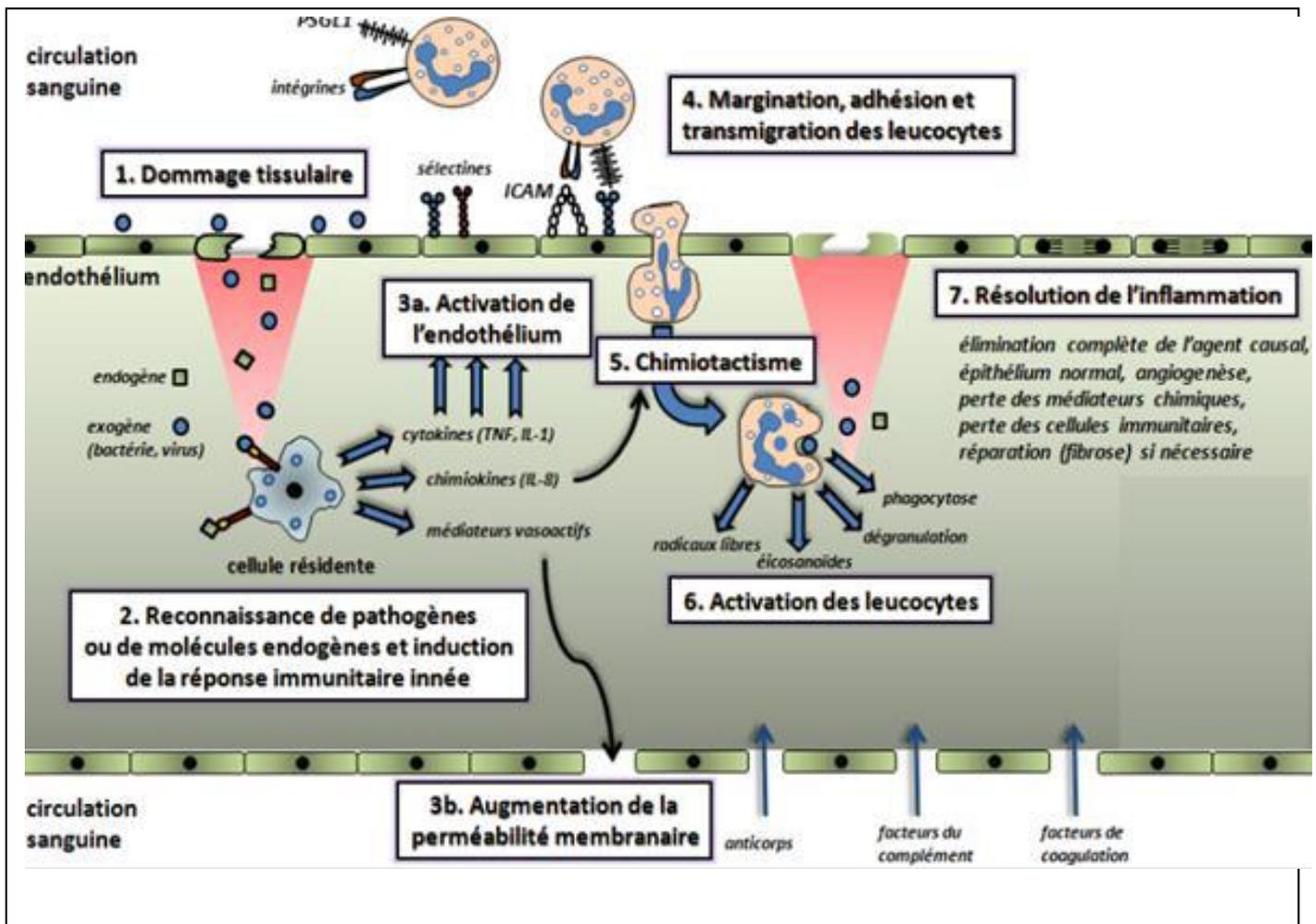


Figure 3 : Principales étapes de l'inflammation aigüe (Funaro et al., 2009)

1.3.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique est définie par une durée supérieure à six semaines. La cause de la chronicité n'est pas toujours évidente. Dans beaucoup de cas, elle est liée à l'incapacité de l'organisme à éliminer la substance déclenchante (poussière de silice ou d'amiante : silicose et asbestose) (Weill et Batteux, 2003; Heymonet et Heymonet, 2018).

L'inflammation chronique se caractérise par l'existence de certains phénomènes spécifiques : Les réponses vasculaires et cellulaires, au lieu de se succéder dans le temps comme c'est le cas pour l'inflammation aiguë, sont intriquées de telle sorte qu'on ne parle plus de phases mais de composantes vasculaires et cellulaires.

L'afflux de cellules dans le foyer de l'inflammation s'organise progressivement en infiltrats denses, comprenant des cellules polymorphonucléaires, des macrophages, des cellules dendritiques, des lymphocytes et des plasmocytes. Des modifications permanentes de la structure des vaisseaux sanguins sont observées : hypertrophie des cellules endothéliales et des fibres musculaires lisses, infiltration leucocytaire. Le remodelage tissulaire est toujours important et comprend la destruction, l'angiogenèse et la réparation, la guérison et le remplacement des tissus détruits. Cependant, le tissu cicatriciel n'a pas de propriétés anatomiques et fonctionnelles et ne peut pas réellement remplacer le tissu détruit (Weill et Batteux, 2003; Heymonet et Heymonet, 2018). Et La balance entre les molécules pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-8, et $TNF\alpha$) et anti-inflammatoires (IL10, IL-4, IL-13 et $TGF\beta$) est perturbée (figure 4), ce déséquilibre conduisant à des nombreuses pathologies et à la destruction des tissus enflammés (Mebirouk et Naimi, 2017).

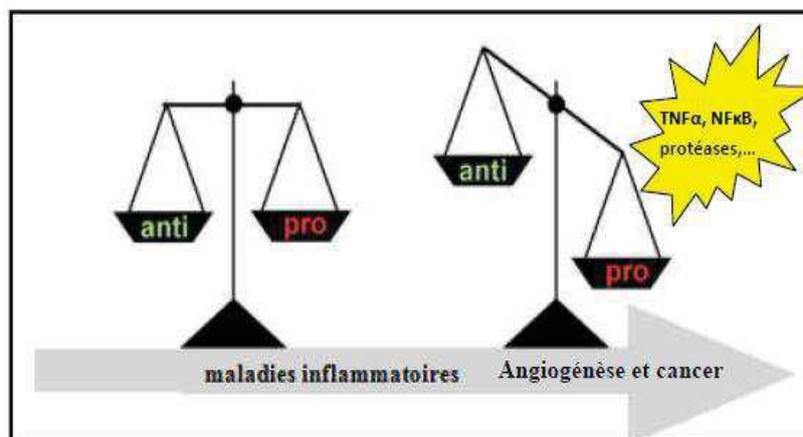


Figure 4 : Déséquilibre entre molécules pro et anti-inflammatoires (Mebirouk et Naimi, 2017)

1.4. Les médiateurs d'inflammation

1.4.1 Médiateurs chimiques

L'inflammation fait intervenir des cellules (granulocytes, mastocytes, macrophages, plaquettes, fibroblastes, lymphocytes, et cellules endothéliales) et implique aussi une diversité de Molécules, parmi elle : les cytokines, les interleukines, l'oxyde nitrique, les médiateurs lipidique, et même des radicaux libres oxygénés (Sadia, 2015; Diallo, 2019).

Le tableau 1 résume l'origine et les effets des plus importants médiateurs de l'inflammation.

Tableau 1 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (Davoine et Lacy, 2014)

Médiateurs	Origines	Effets
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
Sérotinine	Mastocytes et plaquettes	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.
Facteurs d'activation plaquettaire (PAF)	Plaquette, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales	Vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule l'agrégation des plaquettes, induit la production des ROS et la libération des enzymes lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
Prostaglandine	Essentiellement par les leucocytes	Vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.
Cytokines	Macrophages et les lymphocytes	Elles agissent sur des récepteurs membranaires, elles peuvent être pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6, ou le TNF α) ou encore anti-inflammatoires (IL-10). Intervient dans la réparation tissulaire.

1.4.2. Les médiateurs lipidiques

Les médiateurs inflammatoires ont une variété d'effets biologiques et d'origines (tableau 1). Ces médiateurs sont produits par les macrophages, les mastocytes et les cellules endothéliales. Ils sont dérivés des phospholipides de la membrane cellulaire via la phospholipase (Fig. 5) et contiennent principalement des métabolites d'acide arachidonique (Ricciotti et FitzGerald, 2011 ; Yahfoufi et al., 2018 ; Diallo, 2019).

Il existe deux voies métaboliques de l'acide arachidonique :

a) Voie de la lipooxygénase

Les lipooxygénases : sont des dioxygénases non hémiques intervenant dans l'oxydation de l'acide arachidonique, ce qui conduit à des hydroperoxyacides et des leucotriènes (LTB₄, LTC₄, LTD₄ et LTE₄), ainsi qu'à d'autres composés dont la structure et les propriétés ressemblent à celles des leucotriènes (lipoxines et hépoxylines)

Les leucotriènes : augmentent la perméabilité vasculaire et exercent une action chimiotactique sur les polynucléaires neutrophiles. En association avec les prostaglandines, ils peuvent déclencher l'ensemble des symptômes caractéristiques de l'inflammation (Lüllmann et MohrK, 2001). Ils provoquent une agrégation plaquettaire, ainsi qu'une bronchoconstriction avec hypersécrétion bronchique (Benouarets et Moknine, 2016).

b) Voie de la cyclooxygénase

- **La cyclooxygénase de type 1 ou COX1** : constitutive, présente au niveau de l'estomac, du rein et des thrombocytes, elle permet la synthèse des prostaglandines au niveau d'estomac et des reins, des prostacyclines au niveau de la muqueuse gastrique et des cellules endothéliales et du thromboxane A₂ au niveau plaquettaire.
- **La cyclooxygénase de type 2 ou COX2** : COX-2 présente 60 % d'homologie avec COX-1 et est inductible. Plusieurs cytokines pro-inflammatoires comme le TNF α , l'IL-1!, l'IL-6, ainsi que des facteurs de croissance, des agents pathogènes (par exemple, le LPS) sont capables d'induire l'expression de COX-2. Le gène de COX-2 est localisé sur le chromosome 1 (gène PTGS2) et présente un élément de réponse NF- κ B dans son promoteur ainsi que d'autres éléments de réponse dépendant de cytokines comme l'IL-6 (Sobolewski, 2011).

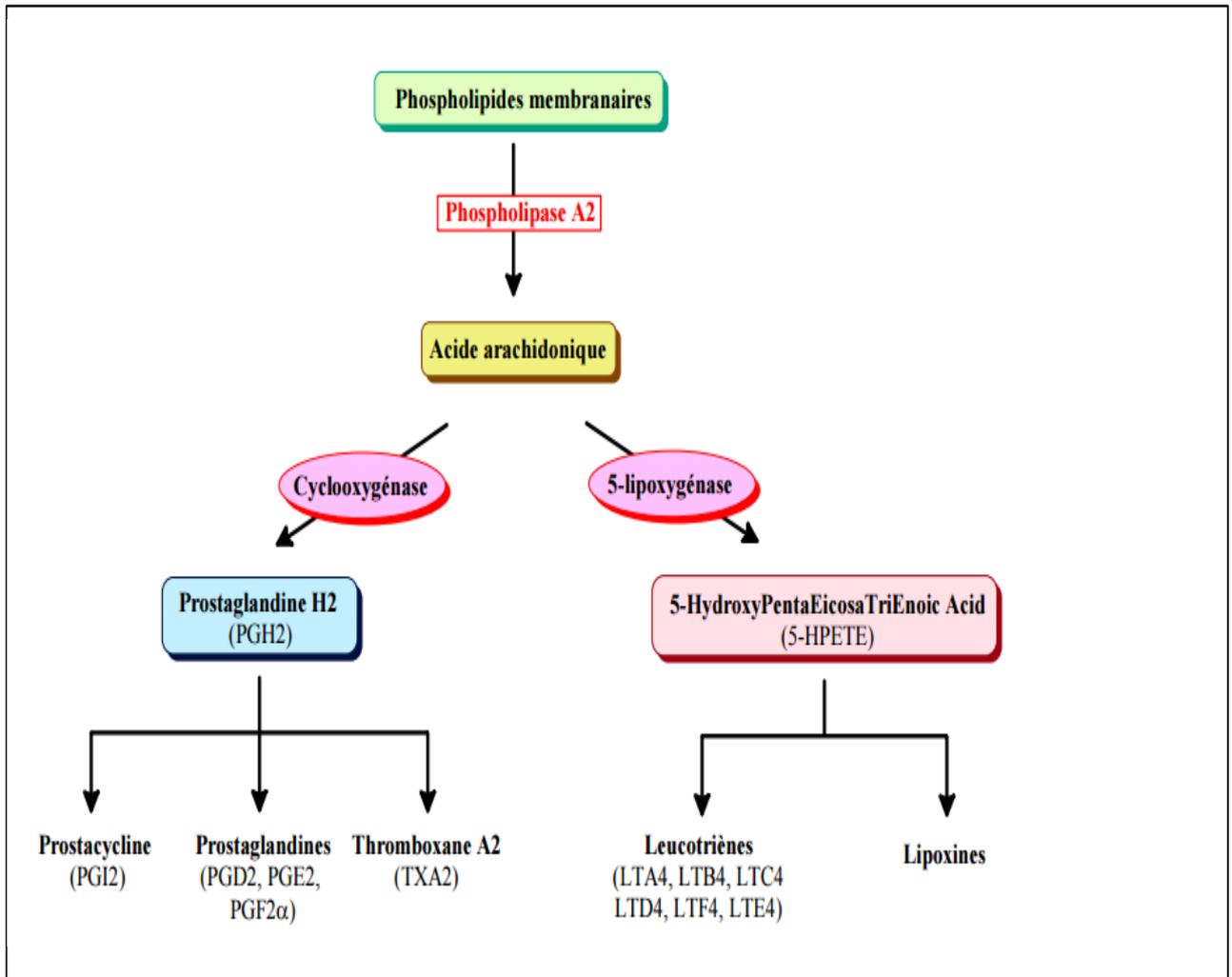


Figure 5 : un schéma qui résume les médiateurs lipidique de l'inflammation (Mouffouk, 2019)

2. Les Anti-inflammatoires

Les traitements utilisés dans le cadre de l'inflammation chronique sont variés et dépendent de la maladie. Ces traitements agissent sur les effets initiateurs ou amplificateurs de l'inflammation (migration des cellules inflammatoires, broncho-constriction, espèces réactives oxygénées). En plus des traitements spécifiques utilisés dans chaque maladie chronique (asthme, athérosclérose, cancer), des anti-inflammatoires seront utilisés pour soulager la douleur et diminuer l'inflammation. Pour limiter l'inflammation, la thérapie employée en médecine moderne consiste en l'utilisation des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes (Ghalem, 2014).

2.1. Classification des anti-inflammatoires : on distingue trois classes essentielles :

2.1.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) constituent une classe pharmacothérapeutique hétérogène qui regroupe de nombreuses molécules appartenant à plusieurs familles classées selon leurs propriétés chimiques. Ils réduisent ou suppriment la réaction inflammatoire en inhibant la biosynthèse des prostaglandines via les isoenzymes de la cyclo-oxygénase (COX 1 et 2). Leurs indications sont multiples ; pour le traitement des états inflammatoires, comme antalgiques ou antipyrétiques dans des pathologies aiguës ou chroniques. De ce fait, leur utilisation est très variable en termes de voie d'administration (orale, parentérale, percutanée), de durée (d'une dose unique au traitement au long cours), de dosage (faible versus forte dose), en monothérapie ou en combinaison avec d'autres molécules (par exemple le paracétamol) (Paulose-Ram et al., 2003 ; Lewis et Stine, 2013).

2.1.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tels que l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto-immunes. Comme pour les AINS, l'usage des glucocorticoïdes est associé à de nombreux effets indésirables. Le risque d'apparition de ces effets indésirables s'accroît avec le prolongement de la durée du traitement et l'augmentation de la posologie (Kessel et al., 2014).

Divers troubles peuvent être observés. Ces troubles peuvent être aiguës tels que l'hypertension artérielle, la dérégulation de la synthèse naturelle de glucocorticoïdes à la fin du traitement, l'euphorie avec insomnie allant jusqu'à une psychose aiguë et l'apparition d'ulcères gastroduodénaux. Des troubles chroniques peuvent aussi se manifester tels que l'ostéoporose, les cataractes et la prise de poids (Ramamoorthy et Cidlowski, 2016).

2.1.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétales

De très nombreux composés phytochimiques sont issus du règne végétal et fongique avec une gamme variée d'activités biologiques (Dhingra et al., 2018). Certains d'entre eux ont des propriétés anti-inflammatoires et ciblent spécifiquement les COX-1, -2 et la lipoxygénase,

l'oxyde nitrique, et la phospholipase A2 ...etc. Ces molécules ont un intérêt. Ils se développent pour offrir des avantages par rapport aux anti-inflammatoires traditionnels avec Moins d'effets secondaires (Maroon et al., 2010 ; Mebirouk & Naimi, 2017 ; Dhingra et al., 2018).

2.2. Mécanisme d'action des AINS

Les AINS sont tous des inhibiteurs de cyclo-oxygénases. Sur le plan du mode d'action, ils inhibent la production des prostanoides primaires en bloquant l'accès de l'acide arachidonique au site actif des cyclooxygénases (COX). Parce que les prostanoides produits par COX-1 semblent jouer un rôle physiologique (protection de la muqueuse gastrique, agrégation plaquettaire, homéostasie vasculaire, maintien de l'équilibre hydrosodé) tandis que ceux produits par COX-2 semblent intervenir principalement dans la réponse inflammatoire et dans quelques processus associés à la prolifération cellulaire, est née l'hypothèse que les AINS inhibant spécifiquement COX-2 pourraient théoriquement conserver les propriétés thérapeutiques des AINS tout en ayant moins d'effets indésirables grâce au maintien de la production de prostaglandines physiologiques (Blain et al., 2000).

Cette famille de médicaments, qui inclut des médicaments telles que le Naproxène, l'Ibuprofène, le Diclofénac ou le Rofécoxib, inhibe la cyclo-oxygénase (COX), un enzyme clé impliqué dans la production de prostaglandines. Les prostaglandines, présentes dans tout l'organisme, sont impliquées dans un très grand nombre de fonctions dont la genèse de la douleur et des syndromes inflammatoires ainsi que le contrôle de la température corporelle.

Le précurseur des prostaglandines, l'acide arachidonique, présent sous forme estérifiée dans les membranes cellulaires, est mobilisé sous l'effet de nombreux stimuli par la phospholipase A2 et oxydé par la cyclo-oxygénase en endoperoxides (PGG2) et par la suite transformé en PGH2 (figure 6). Ce dernier est isomérisé ou transformé en divers prostanoides en fonction de la distribution cellulaire et tissulaire des enzymes spécifiques de synthèse (Hermans, 2017).

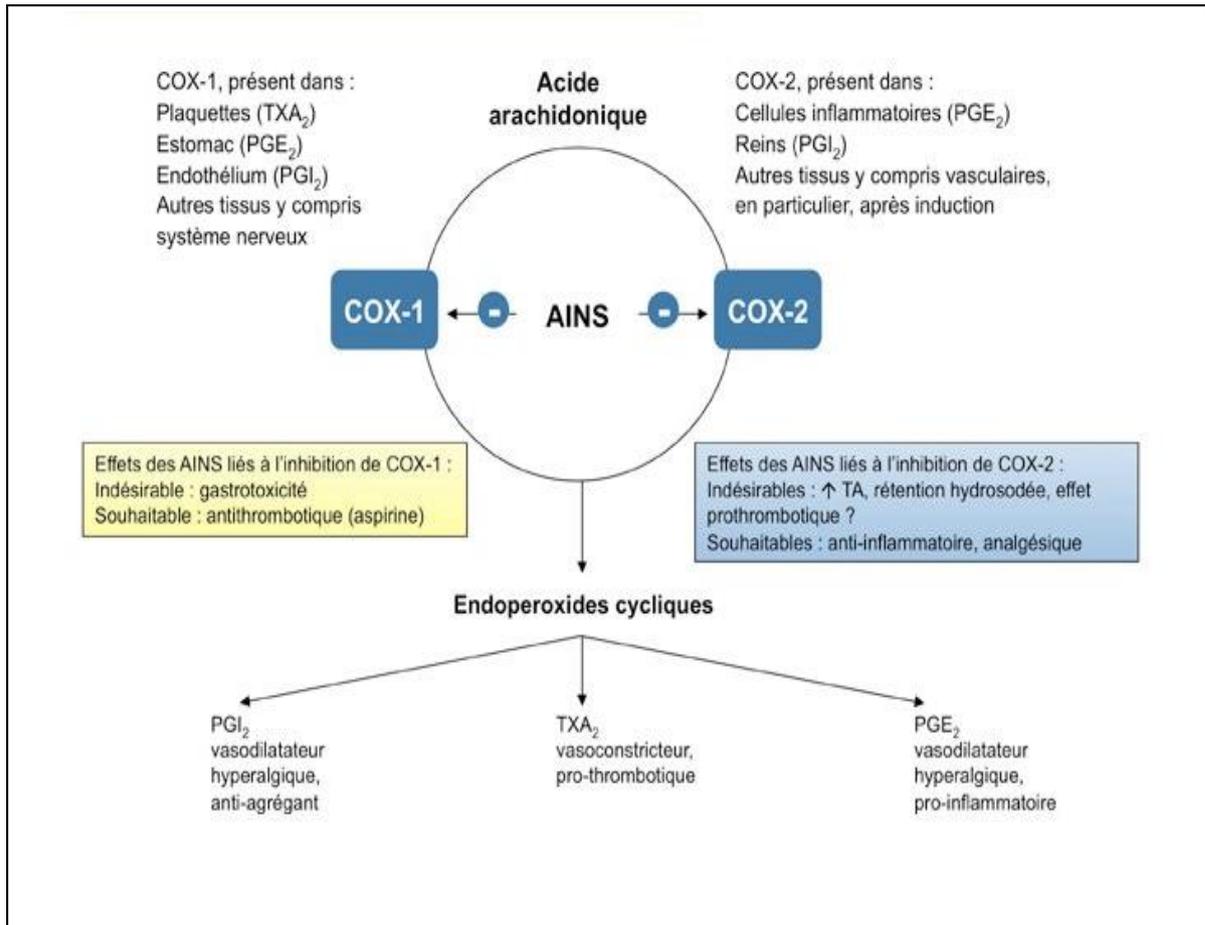


Figure 6 : Synthèse des prostaglandines et inhibition par AINS (Hermans, 2017)

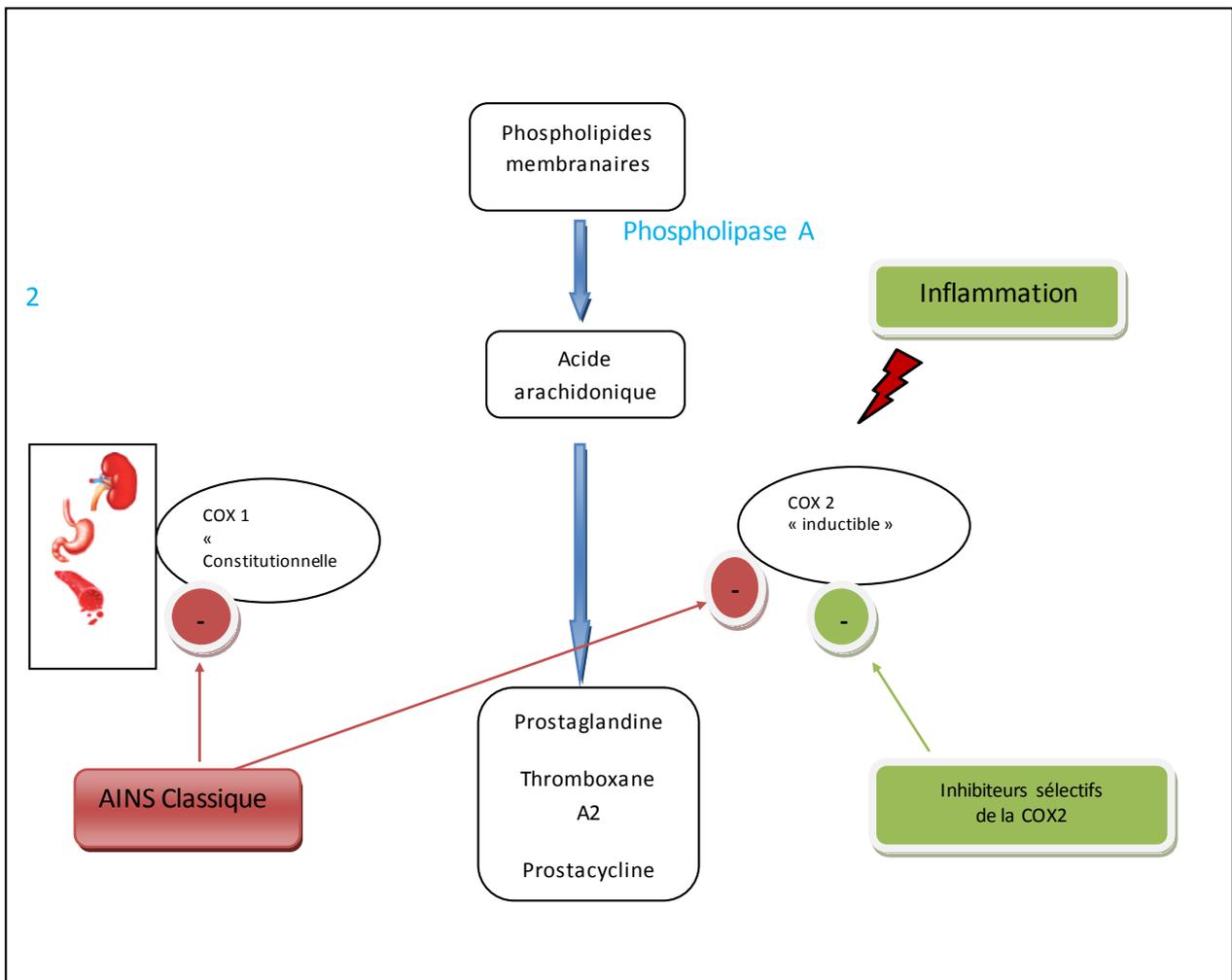


Figure 7 : Mécanisme d'action des AINS et effets secondaires (Meunier et Larrey, 2018)

La plupart des AINS ont une élimination rénale (plus rarement biliaire), notamment pour leurs métabolites inactifs. Il est possible de classer les AINS en fonction des profils de sélectivité pour la Cox-1 et la Cox-2 (figure 7). Sur le plan pharmacocinétique, le métabolisme hépatique est variable selon les molécules. L'exposition à certains AINS est susceptible d'être modifiée par des inhibiteurs du cytochrome P450. Les AINS qui présentent des groupes fonctionnels acides (Ibuprofène, Diclofénac, Naproxène) s'accablent sélectivement sur le site de l'inflammation au contraire des autres molécules dont la distribution est plus homogène dans l'organisme. La plupart des AINS ont une élimination rénale (plus rarement biliaire), notamment pour leurs métabolites inactifs. L'inhibition de la Cox-1 (hors indication antiagrégante) et de la Cox-2

constitutives est source d'effets indésirables. La Cox-1 est d'expression constitutive et ubiquitaire, avec des implications bien identifiées au niveau gastro-intestinal, plaquettaire, rénal et endothélial. La Cox-2 constitutive est exprimée aux niveaux rénal, gastro-intestinal, cérébral, pulmonaire et thymique. La Cox-2 inductible est exprimée au niveau des sites inflammatoire et tumoral. Elle est la cible thérapeutique des AINS. Les inhibiteurs sélectifs de la Cox-2 n'inhibent pas l'agrégation plaquettaire (figure 8) (Becker et Monassier, 2018).

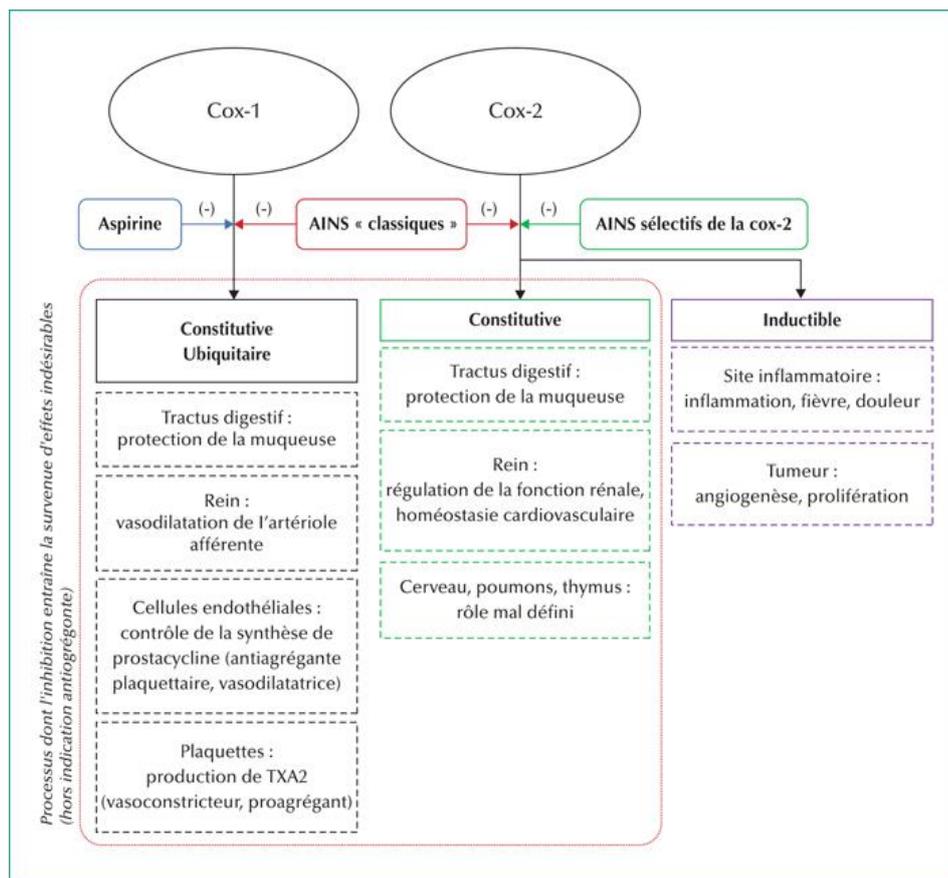


Figure 8 : Schéma récapitulatif des principaux rôles identifiés pour les cyclo-oxygénases (Becker et Monassier, 2018)

2.3. Diclofénac

Le premier médicament anti-inflammatoire mis sur le marché après l'acide acétylé salicylique est la phénylbutazone, parue en 1952. Ce n'est qu'après une décennie qu'on a eu la venue de l'acide méfénamique, ibuprofène et l'indométacine dans cette classe médicamenteuse (Bolduc, 2008). A ce stade, les industriels pharmaceutiques se sont décidés de se lancer dans un projet de développement de nouveaux médicaments anti-inflammatoires qui ont une activité supérieure et une tolérance bien meilleure. C'est en 1973 que le laboratoire CIBA-GEIGY innove en commercialisant le Diclofénac sous le nom de Voltarène (Tamazirt, 2017).

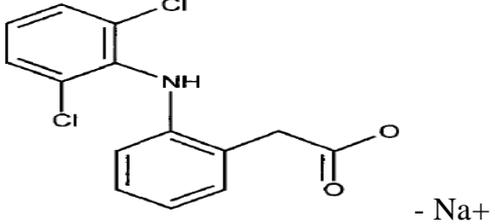
2.3.1. Définition

Le Diclofénac est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS), dérivé de l'acide phénylacétique du groupe des acides arylcarboxyliques. Il possède les propriétés suivantes : activité antalgique, antipyrétique, anti-inflammatoire et inhibition de courte durée de la fonction plaquettaire. On compte 57 médicaments contenant la substance active seule et deux médicaments contenant la substance active en association (Misoprostol) (Tamazirt, 2017). Disponible sous plusieurs formes : orale, injectable, rectale, cutanée, collyre et à différentes doses 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg (Mimoun et Saraoui, 2016).

2.3.2. Caractéristiques physicochimiques

Les propriétés physicochimiques sont résumées dans le tableau I suivant :

Tableau I : Propriétés physicochimiques du Diclofénac sodique (Médicament, 2007)

DCI	Diclofénac de sodium
IUPAC	[2-[(2,6-dichlorophényl) amino]phényle] acétate de sodium.
Formule chimique brute	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂
Pka	4,0 ± 0,2 à 25°C dans l'eau
Formule chimique développée	
Masse molaire	318,1 g/mole
Point de fusion	280°C, avec décomposition
Solubilité pour une température de 15°C à 25°C	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Facilement soluble dans le méthanol (1 à 10 ml / 1g du Diclofénac) ➤ Soluble dans l'éthanol à 96% (10 à 30 ml / 1g du Diclofénac) ➤ Assez soluble dans l'eau (30 à 100 ml / 1g du Diclofénac) ➤ Peu soluble dans l'acétone (100 à 1000 ml / 1g du Diclofénac)
Aspect	Poudre cristalline, blanche ou faiblement jaunâtre, faiblement hygroscopique.

2.3.3. Propriétés pharmacologiques

2.3.3.1. Propriétés pharmacocinétiques

Le Diclofénac est absorbé à 100% après une administration orale. Toutefois, en raison du premier passage hépatique, seulement 50% de la dose absorbée est systématiquement disponible. Les aliments n'ont pas d'effet significatif sur l'ampleur de l'absorption du Diclofénac (Saraf, 2008). Le produit est majoritairement lié aux protéines plasmatiques principalement l'albumine (99%) (Boelsterli, 2003 ; Birouk et al., 2013). Sa demi-vie dans le plasma est de 1 à 2 heures. Le Diclofénac s'accumule dans le liquide synovial après administration orale, ce qui peut expliquer que la durée de l'action thérapeutique est beaucoup plus longue que la durée de la demi-vie. Moins de 1 % du principe actif est éliminé inchangé dans les urines. Environ 60 % de la quantité administrée est éliminé sous forme de métabolites dans les urines, le reste est éliminé dans les fèces (Aouacheri et al., 2009).

Le Diclofénac est intensément métabolisé dans le foie, et suit deux voies principales que ce soit chez l'Homme ou les animaux d'expériences :

- **Voie d'hydroxylation** : le Diclofénac subit une hydroxylation catalysée par le hCYP2C9 et hCYP3A4 (deux isozymes du cytochrome P450) ayant pour résultat la formation de 4'-hydroxy Diclofénac (métabolite oxydant principal) et 5- hydroxy Diclofénac respectivement. Ces deux métabolites ont le pouvoir d'être encore oxydés en 4'-hydroxy- et 5-hydroxy-diclofénac.
- **Voie de glucuronidation** : L'isoforme impliqué dans la glucuronidation du Diclofénac est l'UGT2B7. Ce dernier assure la formation du Diclofénac-acyle glucuronide (Naisbitt et al., 2007).

2.3.3.2. Propriétés pharmacodynamiques et mécanisme d'action

L'action d'une dose unique est beaucoup plus longue que sa demi-vie, cela s'explique en partie par les concentrations élevées présentes dans le liquide synovial. Le mécanisme d'action exact n'est pas connu mais il est assimilé aux autres AINS, en bloquant la synthèse des prostaglandines par inhibition de la cyclo-oxygénase (COX).

L'inhibition de la COX engendre la diminution de la prostaglandine au niveau de l'épithélium de l'estomac la rendant très sensible à la corrosion par l'acidité gastrique, sachant que le

Diclofénac a une petite préférence à bloquer les COX2 ce qui le rend moins agressif par rapport à l'Aspirine et l'Indométacine. Le Diclofénac est le seul AINS qui apparemment inhibe aussi la lipo-oxygénase (LOX) diminuant ainsi la synthèse des leucotriènes (médiateurs pro-inflammatoires). Il est aussi soupçonné qu'une action sur la phospholipase A2 est ajoutée à l'ensemble des mécanismes provoquant ainsi des actions antipyrétique, antalgique et anti-inflammatoire (Saraf, 2008).

➤ Interactions du Diclofénac avec la COX-2

Le Diclofénac se distingue des autres AINS par un mécanisme inhibiteur particulier à l'égard de la COX-2. Contrairement à la plupart des anti-inflammatoires qui établissent une liaison ionique avec l'arginine 120 située à l'entrée du site actif, le Diclofénac se fixe par l'intermédiaire de liaisons hydrogène impliquant la Serine 530 et la Tyrosine 385 (figure 10) (Nuhrich, 2015).

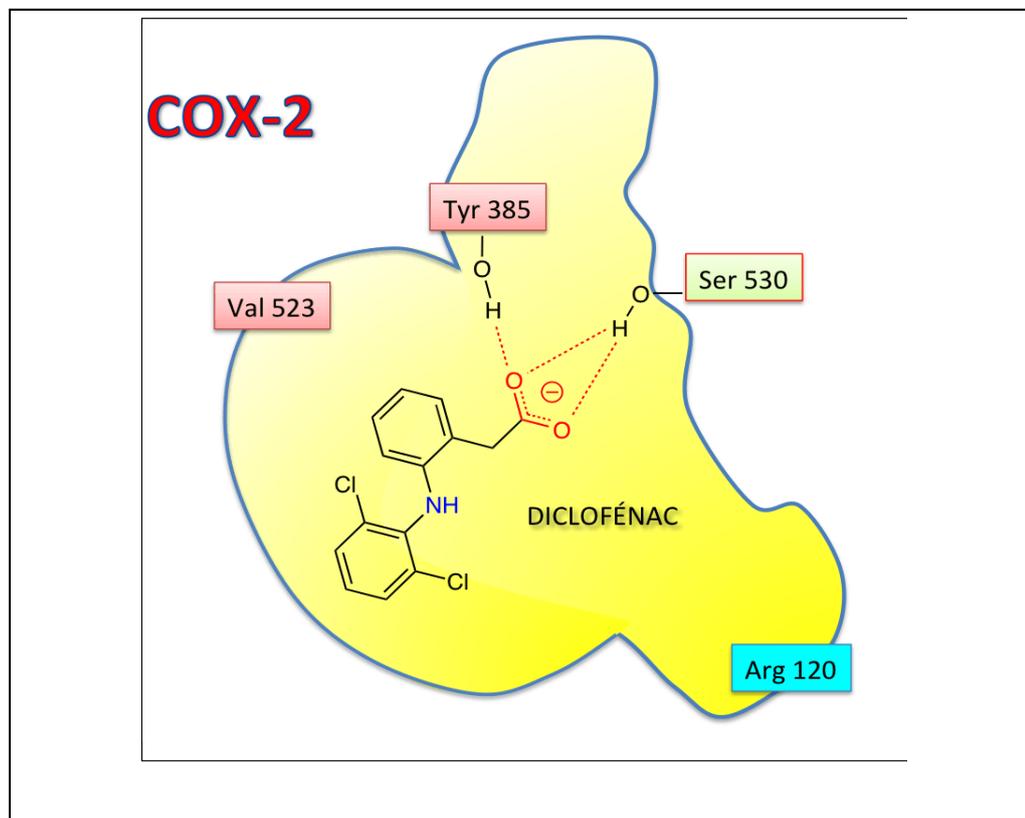


Figure 10 : Mécanisme inhibiteur de la COX-2 par le Diclofénac (Nuhrich 2015)

2.3.4. Indications thérapeutiques

Ce médicament est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS). Il lutte contre l'inflammation et la douleur, fait baisser la fièvre et fluidifie le sang.

Il est utilisé chez l'adulte dans :

- Le traitement symptomatique des rhumatismes inflammatoires chroniques (notamment de la polyarthrite et de la spondylarthrite ankylosante) et de certaines arthroses invalidantes ;
- Le traitement de courte durée des douleurs aiguës d'arthrose, des arthrites (dont la goutte), des tendinites, des bursites, des lombalgies, des sciaticques et des cruralgies ;
- Les règles douloureuses (comprimés à 25 et à 50 mg).

Il est utilisé chez l'enfant de plus de 6 ans dans le traitement des rhumatismes inflammatoires (dosages à 25 et 50 mg) (Tamazirt, 2017).

2.3.5. Effets indésirables

Les effets indésirables les plus fréquents sont digestifs : nausées, vomissements, diarrhée, ballonnements, constipation, douleurs abdominales, gastrite, aggravation d'une maladie inflammatoire chronique des intestins (maladie de Crohn, rectocolite hémorragique). Ulcère de l'estomac ou du duodénum, notamment en cas de traitement à dose élevée, de prise prolongée et chez la personne âgée. Exceptionnellement : hémorragie du tube digestif (vomissements sanglants, selles noires ou plus souvent pertes de sang imperceptibles, responsables de l'apparition d'une anémie).

- Réaction allergique : crise d'asthme, choc anaphylactique.
- Eruption cutanée, urticaire, démangeaisons. Exceptionnellement : photosensibilisation, allergie cutanée gravissime (éruptions bulleuses), complication infectieuse en cas de varicelle.
- Hypertension artérielle, œdèmes.
- Rétention d'eau pouvant aggraver une insuffisance cardiaque.
- Insuffisance rénale, en particulier en cas d'insuffisance cardiaque, de déshydratation ou de traitement par diurétique.
- Maux de tête, étourdissements. Plus rarement : somnolence ou au contraire insomnie, irritabilité, tremblements. Exceptionnellement : troubles de la vue, bourdonnements d'oreille.
- Augmentation des transaminases, hépatite (rare).
- Très rares anomalies de la numération formule sanguine.

- Les AINS en général sont susceptibles de diminuer la fertilité chez les femmes, notamment en cas de traitement chronique (Tamazirt, 2017).

3. Toxicité du Diclofénac sodique

Le métabolisme du Diclofénac dans le foie par le CYP 450 et ces isozymes donne naissance à des métabolites réactifs comme les quinoneimines. Ces derniers peuvent être impliqués dans le processus de stress oxydatif et il peut même induire l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité (Yano et al., 2012).

3.1. Hépatotoxicité des AINS

3.1.1. Tissu hépatique

Le foie est le plus grand organe solide, la plus grande glande et l'un des organes les plus vitaux qui fonctionne comme un centre pour le métabolisme des nutriments et l'excrétion des métabolites. Le foie pèse environ 1500g et représente environ 2,5 % du poids du corps adulte. La surface du foie est lisse et en forme de dôme, où il est lié à la concavité de la surface inférieure du diaphragme. Le foie se situe au niveau du quadrant supérieur droit de l'abdomen où il est caché et protégé par la cage thoracique et le diaphragme. Un foie normal est situé entre la 7^{ème} et la 11^{ème} cotes sur le côté droit et traverse la ligne médiane vers le mamelon gauche (Bodzin et Baker, 2019).

Le foie est divisé en 4 lobes : droit, gauche, caudate, et quadrate. Les lobes droit et gauche sont les plus grands, tandis que le caudate et le quadrate sont plus petits et situés à l'arrière. Deux ligaments sont visibles avant. Supérieurement, le ligament falciforme sépare les lobes droit et gauche. Inférieur au ligament falciforme est le ligament rond, qui dépasse du foie légèrement. Le lobe caudé est situé au-dessus, approximativement entre les lobes droit et gauche. Adjacent au lobe caudé est le sulcus pour la veine cave inférieure. Juste inférieure au caudate est la porte hepatis, où l'artère hépatique et la veine porte hépatique entrent dans le foie. La veine porte transporte du sang chargé de nutriments au système digestif. Inférieur à la porta hepatis est le canal biliaire qui conduit à la vésicule biliaire. Le foie est maintenu par un système de mésentères postérieurement, et est également attaché au diaphragme via le ligament falciforme (figure 11) (Sherwood et al., 2006).

Les cellules hépatiques sont constituées d'hépatocytes et de cholangiocytes. Les hépatocytes sont des cellules épithéliales hautement polarisées, où leur surface basolatérale est directement

reliée aux cellules endothéliales sinusoidales pour faciliter l'échange de matériaux entre les hépatocytes et les vaisseaux sanguins. Les jonctions serrées entre les hépatocytes permettent la formation des canalicules. Ces canalicules biliaires collectent les sels biliaires et les acides qui sont transportés à travers la face apicale des hépatocytes aux voies biliaires, où ils sont finalement stockés dans la vésicule biliaire avant la libération dans le duodénum (Miyajima et al., 2014).

Les hépatocytes exécutent la plupart des fonctions généralement associées au foie. Ils extraient et traitent les nutriments et d'autres matériaux du sang et ils produisent les deux sécrétions exocrines et endocrines. La fonction hépatique est aussi soutenue par les cellules non parenchymateuses qui se composent de nombreux types de cellules comme les cholangiocytes, les cellules endothéliales sinusoidales, les cellules tueuses naturelles, les cellules de Kupffer et les cellules étoilées (Sadri et al., 2016).

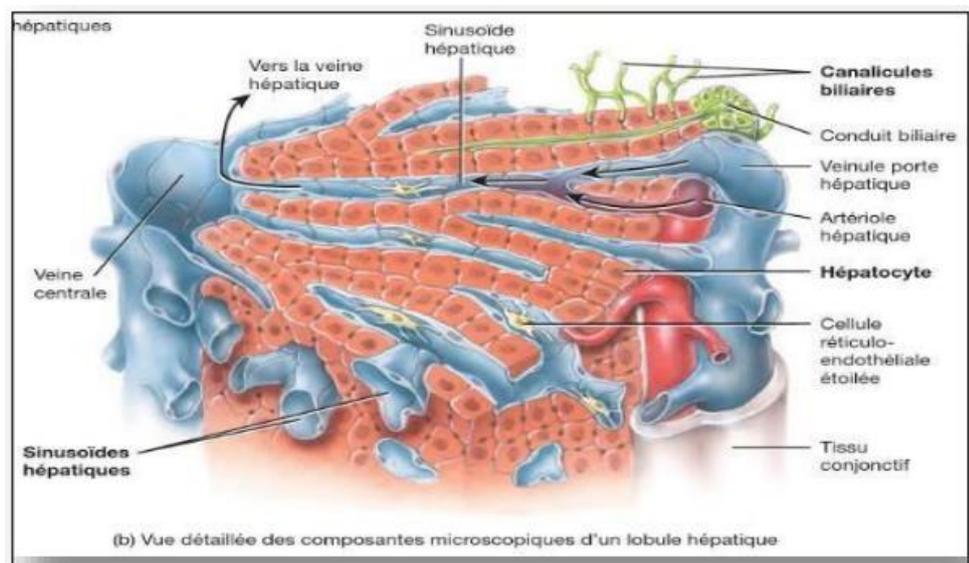


Figure 11 : L'histologie d'un lobule, l'unité fonctionnelle du foie (Tortora et Derrickson, 2006)

3.1.2. Lésions hépatocellulaires causées par des AINS

L'hépatotoxicité est une complication grave liée aux AINS, bien que les incidences soient moins fréquentes que celles des lésions gastro-intestinales et de l'insuffisance rénale. Elle peut se produire avec tous les AINS, mais semble être plus fréquente avec le Diclofénac et particulièrement le Sulindac (Bindu et al., 2020).

Les patientes âgées de plus de 50 ans, atteintes d'une maladie auto-immune, et celles qui prennent d'autres médicaments potentiellement hépatotoxiques, semblent particulièrement vulnérables. Les anomalies des tests de fonction hépatique se résorbent généralement dans les 4 à 6 semaines suivant l'arrêt du médicament (O'Connor et al., 2003).

Il existe deux principaux profils cliniques d'hépatotoxicité dus aux AINS. La première est une hépatite aiguë avec jaunisse, fièvre, nausées, transaminases très élevées et parfois hyperéosinophilie. Le modèle alternatif est avec sérologique (ANF-positif) et histologique (inflammation périportale avec infiltration de plasma et de lymphocytes et fibrose s'étendant dans le lobule) caractéristiques de l'hépatite chronique active (O'Connor et al., 2003). En analysant les études publiées, l'aspartate transaminase (AST) et l'alanine transaminase (ALT) pourraient être considérées comme les deux biomarqueurs les plus courants liés à l'hépatotoxicité. Néanmoins, des anomalies sérologiques dans les taux de phosphatase alcaline et de bilirubine totale sont également signalées (Bindu et al., 2020).

3.1.3. Voies impliquées dans l'hépatotoxicité induite par AINS

Le mode d'action hépatotoxique des AINS, un certain nombre de mécanismes ont été impliqués en fonction du médicament concerné. Toutefois, deux mécanismes prédominants ont été identifiés : l'hypersensibilité et l'aberration métabolique.

Des études portant sur des mitochondries hépatiques ou des hépatocytes de rats isolés ont démontré que la diphénylamine, qui est structurellement identique aux AINS, agit effectivement comme un dissociateur de la phosphorylation oxydative perturbant ainsi la formation d'ATP conduisant à une crise bioénergétique des hépatocytes et la mort. Un gonflement mitochondrial, une chute du potentiel mitochondrial membrane et une diminution de l'ATP cellulaire ont été observés après l'incubation des mitochondries avec la diphénylamine, l'acide méfénamique et le Diclofénac. Le Diclofénac s'est révélé plus toxique dans les cellules métabolisant les médicaments (hépatocytes primaires isolés) que dans les cellules non métabolisant (HepG2, FaO). La toxicité peut être due à une altération mitochondriale induite par le Diclofénac ainsi

qu'à une consommation inutile et superflue de NADPH lors de la réduction de N,5-hydroxydiclofenac en 5-hydroxydiclofenac, qui n'est autrement oxydée qu'en N,5-hydroxydiclofenac. La transition de perméabilité mitochondriale suivie par la production d'espèces réactives d'oxygène (ROS), l'enflure mitochondriale, l'oxydation du NADP, les protéines et les thiols sont également liés aux lésions hépatiques induites par le Diclofenac (Bindu et al., 2020).

3.2. Néphrotoxicité des AINS

3.2.1. Tissue rénal et néphron

Les reins sont à l'état sous-diaphragmatique de l'abdomen au niveau du rachis lombaire du rétropéritoine. Ils mesurent en moyenne 12 cm chez l'adulte et ont la forme de haricots. Il y a un rein droit et un rein gauche, qui sont tous les deux alimentés par l'artère rénale principale et peuvent avoir des artères polaires supplémentaires. Les artères segmentaires proviennent des artères rénales principales, puis des artères interlobaires du rein, puis des artères des arcs et enfin des artères interlobaires. Ces artères se ramifient en artères glomérulaires, transportant le sang nécessaire à la filtration vers le glomérule. Par conséquent, le sang est transporté vers le glomérule par les artérioles afférentes. Lorsque l'urine est filtrée et extraite du sang circulant, elle retourne dans la circulation par les artérioles efférentes. Ces dernières se déplacent vers la moelle et forment les vasa recta. Cela garantit que les tubules échangent entre l'urine. Et du sang. Après avoir assuré cet échange, les vasa recta forment un système veineux parallèle au système artériel. De l'extérieur, vous pouvez trouver le fascia rénal, la graisse périrénale, la capsule rénale, le cortex, la moelle et les voies urinaires. Le sang est filtré par les glomérules du cortex. L'urine filtrée glomérulaire traverse le tube spiralé proximal (TCP), l'anse de Henle, le tube spiralé distal et le tube collecteur (CC) dans cet ordre. Par conséquent, l'urine passe plusieurs fois du cortex à la moelle, la boucle de Henle est dans la moelle et le tube de collecte se termine à ce niveau. L'urine finit par atteindre le niveau du mamelon et est collectée dans le calice et le bassinnet du rein avant d'être envoyée dans la vessie en raison du péristaltisme urétéral (figure 12) (Gueutin et al., 2011).

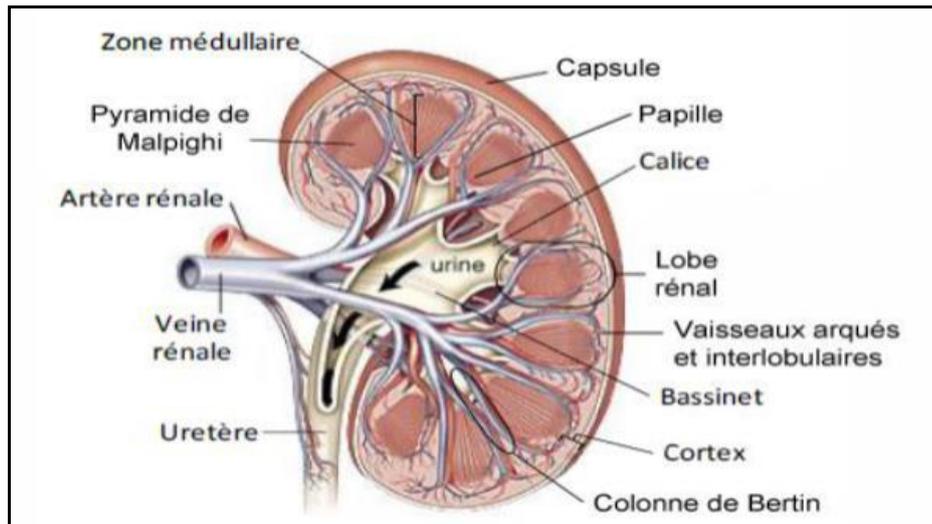


Figure 12 : Schéma d'une coupe longitudinale de rein (Bignon, 2018)

Le néphron est défini comme l'unité structurelle et fonctionnelle essentielle du rein. Dans le contexte structurel, chaque néphron est constitué d'un corpuscule rénal comprenant la touffe glomérulaire, qui contient un réseau de capillaires et la capsule de Bowman, et une unité tubulaire comprenant un tubule proximal, une boucle de Henlé, un tubule distal, un tubule de connexion et peut-être le conduit collecteur. Dans le contexte physiologique, un néphron représente une unité fonctionnelle qui filtre le sang, réabsorbe les électrolytes filtrés, les solutés et les liquides, et excrète des déchets et des électrolytes et de l'eau excessifs. Le glomérule est exclusivement responsable de la filtration du sang jusqu'à 25% d'un débit cardiaque normal. Les tubules du néphron sont responsables de réabsorber 99 % des électrolytes et de l'eau filtrés glomérulairement et de les remettre en circulation (Morris et al., 2015).

Les reins normaux assurent trois groupes de fonctions : une fonction d'élimination des déchets et d'excrétion des produits de dégradation du métabolisme cellulaire et des substances étrangères ; une fonction de maintien de la composition du milieu intérieur, donc de maintien de l'homéostasie de l'eau et des électrolytes ; et une fonction endocrine avec les synthèses de la rénine, de l'érythropoïétine et du calcitriol (Lacour, 2013).

3.2.2. La néphrotoxicité du Diclofénac

L'utilisation de Diclofénac est souvent associée à certaine toxicité, il est de plus en plus associé à une toxicité rénale (Ng et al., 2008). En médecine vétérinaire, des diminutions marquées dans la population de certaines espèces de vautours ont été attribuées à l'ingestion du Diclofénac, cette mortalité est due à une insuffisance rénale. La plupart des études ont attribué ce phénomène à la production excessive des ROS (Swan et al., 2006 ; Ng et al., 2008); ce qui entraîne une accumulation de l'acide urique dans le sang, provoquant ainsi des effets délétères tels que la goutte et l'augmentation intracellulaire de ROS (Naidoo et Swan, 2009). Compte tenu de l'importance des prostaglandines pour le maintien de l'irrigation rénale et de la notification d'une rétention liquidienne et d'un œdème après un traitement par le Diclofénac ; un contrôle régulier de la fonction rénale est primordial (Bolat et Selcuk, 2013).

3.3. Diclofénac et stress oxydatif

Des études récentes ont montré que les anti-inflammatoires AINS à l'état oxydé via la peroxydase peuvent jouer un rôle dans la génération des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (S Mahmood et al., 2009). Cependant peu d'informations sont connues sur le mécanisme d'induction du stress oxydant par le Diclofénac sodique *In vivo*. D'autres, ont montré que le Diclofénac avait un pouvoir pro-oxydant du fait de l'implication du GSH dans son métabolisme, en effet le Diclofénac utilise le GSH comme substrat d'où sa carence dans les tissus (Rainsford et Velo, 2012).

4. Le stress oxydatif

L'oxygène (ou oxygène moléculaire, O₂) est essentiel à la production d'énergie par de nombreuses formes de vie (animaux, plantes, bactéries). La production de cette énergie (sous forme d'ATP), appelée phosphorylation oxydative, s'effectue notamment par la chaîne de transport d'électrons qui existe dans la membrane mitochondriale interne (Mazat et Ransac, 2010). Il assure grâce à des enzymes, l'oxydation de divers substrats endogènes : les phospholipides des membranes cellulaires, les protéines, l'ADN. Cette oxydation conduit à la formation des radicaux libres ou espèces réactives oxygénées (ERO). La formation des ERO est un processus tout à fait naturel et joue un rôle essentiel dans l'organisme : efficacité de l'apoptose, prolifération cellulaire normale, régulation de la pression sanguine, état redox normal pour l'expression des gènes (Rolland, 2004 ; Migdal et Serres, 2011). Mais, ces ERO peuvent

causer des dommages à l'organisme, en effet en cas de stress entraînant un défaut de régularisation de l'oxydation, de conditions environnementales ou de déséquilibre alimentaire, ils provoquent des désorganisations cellulaires parfois irréversibles entraînant la mort des cellules (Rolland, 2004). Il est potentiellement impliqué dans le développement du vieillissement ou de pathologies associées au vieillissement (maladies cardio-vasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète, dégénérescence maculaire, asthme, ...) (Haleng et al., 2007).

4.1. Définition du phénomène « stress oxydant »

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défense antioxydants et la production d'ERO, en faveur de ces dernières. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction **endogène** d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants, ou même une exposition **exogène** environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, amiante, métaux toxiques..).

Ce déséquilibre entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organisme du fait de leurs conséquences sur le plan moléculaire, telles que les altérations au niveau des protéines, l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique (Favier, 2003).

4.2. Les espèces réactives d'oxygène

Le rôle des EOA est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité et jouent un rôle de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription.

Formés en trop grande quantité, les EOA deviennent «pathologiques» en activant l'expression de gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires ou des protéines d'adhésion. En outre, leur nature instable les rend très réactifs vis-à-vis de substrats biologiques et capables d'induire des modifications oxydatives délétères potentiellement impliquées dans l'apparition de pathologies (Haleng et al., 2007).

4.2.1. Les radicaux libres

Définissent comme tout atome ou molécule, neutre ou ionisée, comportant au moins un électron célibataire dans une orbitale externe. Ils sont caractérisés par une grande réactivité chimique et une courte durée de vie. Leurs agressions sur l'organisme sont multipliées sous l'effet de la fumée du tabac, de la pollution, du soleil ou d'un effort physique intense (Sies et al., 2017).

4.2.2. Différentes formes de ROS

Les différentes formes de ROS sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Les principales espèces ERO et ERA générées dans les systèmes biologiques (Bartosz, 2003)

nom	symbole
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet -}$
Radical hydroxyle	OH^{\bullet}
Monoxyde d'azote	NO^{\bullet}
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Acide hypochlorique	$HOCl$
Oxygène singulet	1O_2
Peroxynitrite	$ONOO^-$
Radical alcoxy	RO^{\bullet}
Radical peroxy	ROO^{\bullet}

4.2.3. Sources des ROS

4.2.3.1. Sources intracellulaires

La production des ERO dans les cellules des mammifères découle de plusieurs sources (figure 13) essentiellement d'origine enzymatique. Les oxydases (NADPH oxydase) constituent un "point d'entrée" en produisant l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) dont dérivent d'autres ERO. La NOS produit l'oxyde nitrique (NO^{\bullet}) indépendamment de $O_2^{\bullet -}$ et constitue un autre "point d'entrée" (Serteyn et al., 2002).

La myéloperoxydase (MPO) produit HOCl qui amplifie la production des ERO (Serteyn et al., 2003).

De nombreux systèmes enzymatiques identifiés dans les cellules sont également capables de générer des oxydants :

- ✓ Les NADPH oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent $O_2^{\cdot-}$ en utilisant NADH ou NADPH comme substrat.
- ✓ La xanthine-oxydase joue un rôle important dans la production des ROS (particulièrement $O_2^{\cdot-}$ et H_2O_2), lors de l'ischémie/reperfusion (Ferradji, 2018).
- ✓ Lors du métabolisme de l'acide arachidonique, ce dernier peut être oxydé soit par les cyclooxygénases, soit par les lipooxygénases, pour former entre autre des hydroperoxydes qui sont des précurseurs de leucotriènes, puissants médiateurs de l'inflammation (Bécuwe et al., 2003).

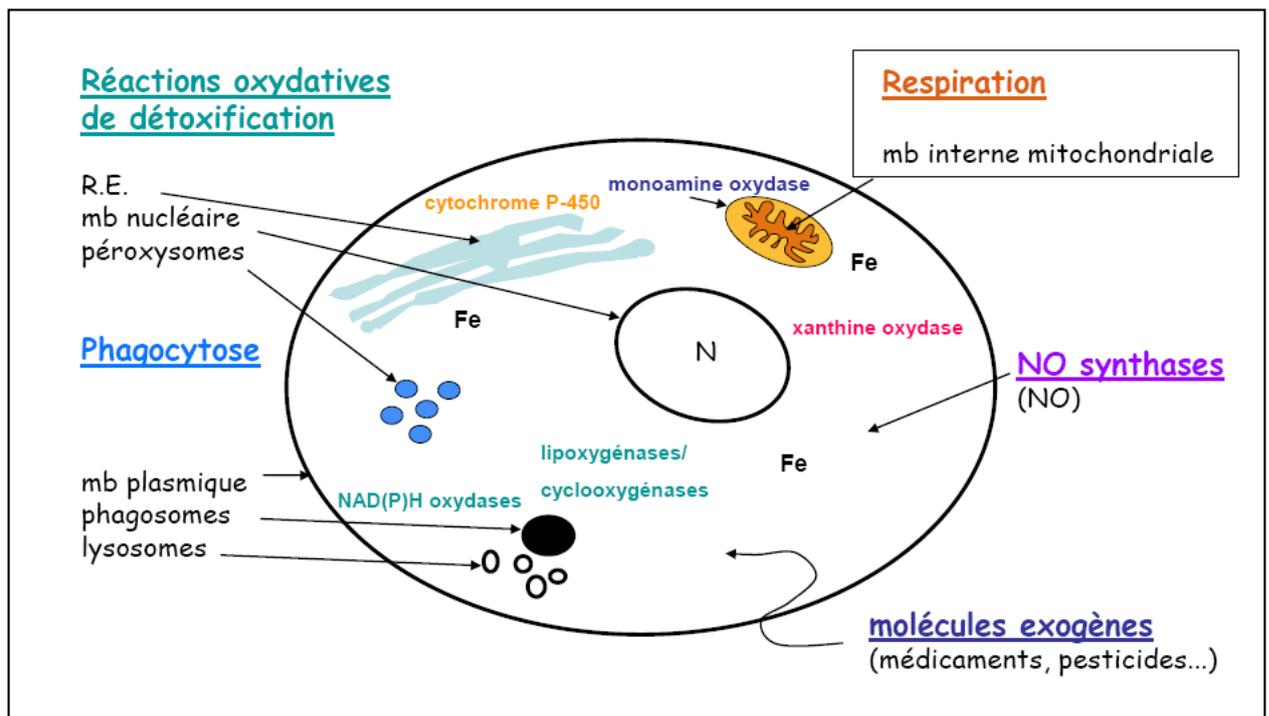


Figure 13 : Sources intracellulaires (Serteyn et al., 2003)

4.2.3.2. Sources extracellulaires

Elles sont surtout d'origine physique et chimique (ex. radiations X ou gamma, UV (315-400 nm), radiolyse de l'eau, réactions photochimiques ...) (F.-Q. Liu et Zhang, 2002 ; Gardès-Albert, 2006) (figure 14).

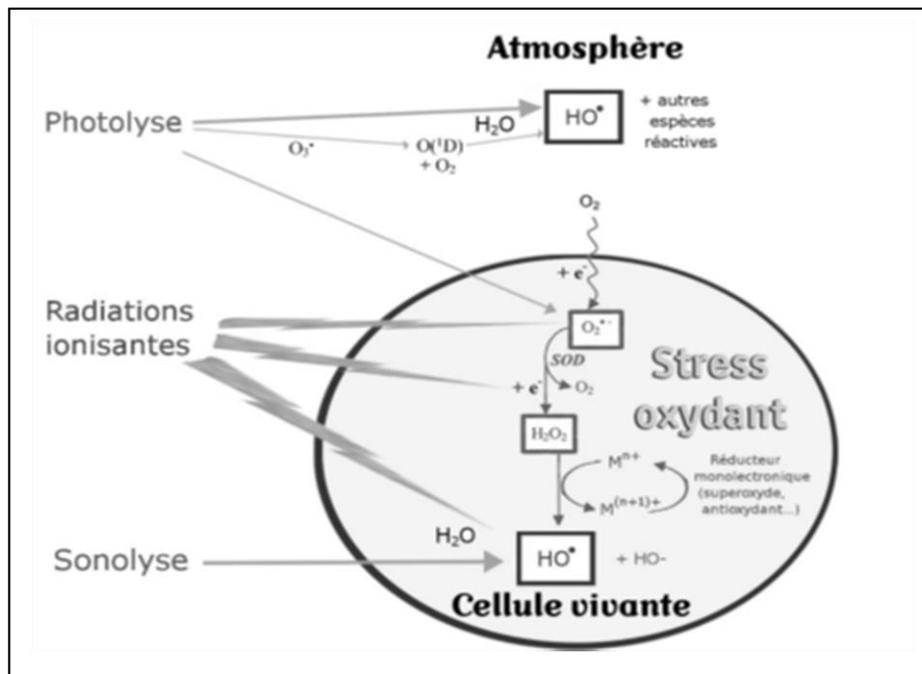


Figure 14 : Génération extracellulaire des radicaux libres (Zerargui, 2018)

4.3. Les antioxydants

L'organisme est capable, dans une certaine mesure, de limiter les dommages dus aux radicaux libres, grâce à des mécanismes de défense enzymatiques et chimiques développés au cours de l'évolution (Rezaire, 2012).

Les principaux systèmes enzymatiques antioxydants les plus efficaces chez les mammifères sont la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase (Matés et al., 1999; Sharma et al., 2012).

- Le rôle majeur du **superoxyde dismutase (SOD)** est de catalyser la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire.

- La **catalase**, essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.
- L'activité du **glutathion peroxydase (GPx)** est de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur (Rezaire, 2012) .

L'activité anti-oxydante non enzymatique est gérée essentiellement par des petites molécules alimentaires comme les vitamines C et E, la b-carotène et les polyphénols (Bounedjah, 2014).

- **La vitamine C (acide ascorbique)** : n'est pas synthétisée par l'organisme. Elle est hydrosoluble à la concentration physiologique. La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle prend une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée.
- **La vitamine E** : est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ , avec une activité antioxydante variable. L' α -tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophile et une extrémité hydrophobe. Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l' α -tocophérol, connue comme inhibiteur de la propagation de la peroxydation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO₂⁻ (Ferradji, 2018).
- **Le β -carotène** : parmi les photo-protecteurs actifs, le β -carotène apparaît comme un piègeur efficace. Sa constitution polyénique lui confère une capacité de piégeage de l'oxygène par formation d'un dioxétane (addition d'une oléfine et d'une molécule d'oxygène) ou par production d'hydroperoxydes (insertion d'oxygène dans toutes liaisons C-H conjuguées d'une double liaison) susceptibles d'être réduits à leur tour (Bossokpi, 2002).

- **Les polyphénols** : la propriété antioxydante des flavonoïdes la mieux décrite est leur capacité à piéger le radical libres : radical hydroxyle, l'anion superoxyde et les radicaux pyroxyles. Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce a leur groupement hydroxyle (C3OH) fortement réactif (Ghedira, 2005).

5. Les polyphénols

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales. Ils sont localisés parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considérés. Ces composés regroupent une multitude de molécules et représentent l'un des groupes les plus importants présents dans le règne végétal (La et al., 2011).

Comme définition, nous pouvons dire que les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (La et al., 2011). Ces composés suscitent un grand intérêt de par leurs nombreux effets bénéfiques pour la santé : prévention et traitement de certains cancers, traitement des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Certains d'entre eux sont également utilisés comme additifs pour les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Salem et al., 2018).

5.1. Les différentes familles et structures des polyphénols

Les polyphénols constituent un groupe important et hétérogène de composés phytochimiques contenant des anneaux de phénol. Plusieurs centaines de polyphénols différents se trouvent dans les aliments à base de plantes (figure 15), sont divisés en :

- **Les flavonoïdes** (flavanols, flavonoïdes, chalcones et dihydrochalcones, anthocyanidines et tannins condensés).
- **Les acides phénoliques** de type benzoïque ou cinnamique et les tannins hydrolysables.
- Les stilbènes.
- **Les lignines** et **subérines**.

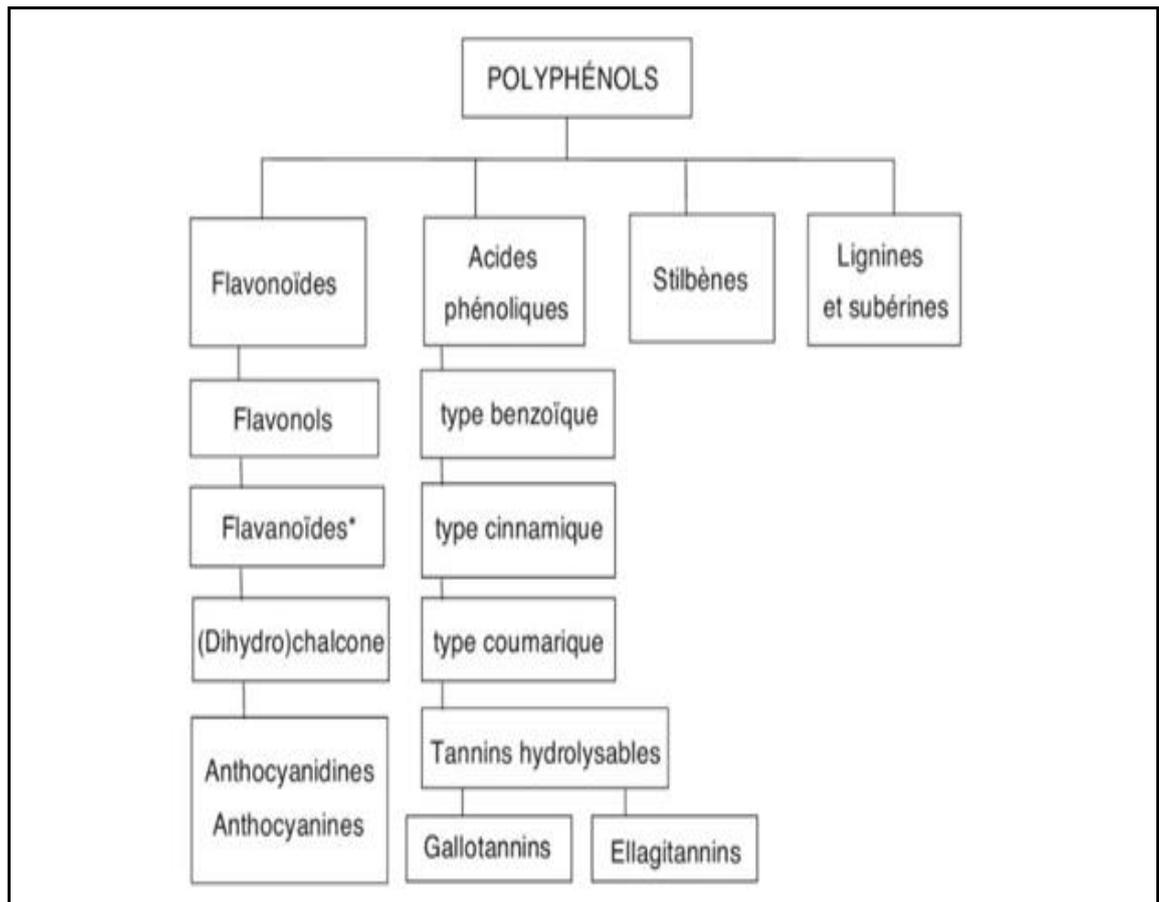


Figure 15 : Différentes familles de polyphénols (Boutakiout, 2015)

5.1.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, ou bioflavonoïdes, sont un groupe omniprésent de substances polyphénoliques qui sont présents dans la plupart des plantes, se concentrant dans les graines, les écorces et les fleurs. Un grand nombre de médicaments végétaux contiennent des flavonoïdes, qui ont été signalés par de nombreux auteurs comme ayant des actions antibactériennes, anti-inflammatoires, antiallergiques, antimutagènes, antivirales, antinéoplasiques, anti-thrombotiques et vasodilatatrices.

Les composants structurels communs à ces molécules comprennent deux anneaux de benzène de chaque côté d'un anneau de 3 carbone (figure 16). De multiples combinaisons de groupes hydroxyles, de sucres, d'oxygènes et de groupes méthyliques liés à ces structures créent les différentes classes de flavonoïdes.

Les flavonoïdes ont été montrés dans un certain nombre d'études pour être des antioxydants puissants, capables de récupérer les radicaux hydroxyles, les anions de superoxyde, et les lipides radicaux peroxydiques (Miller, 1996).

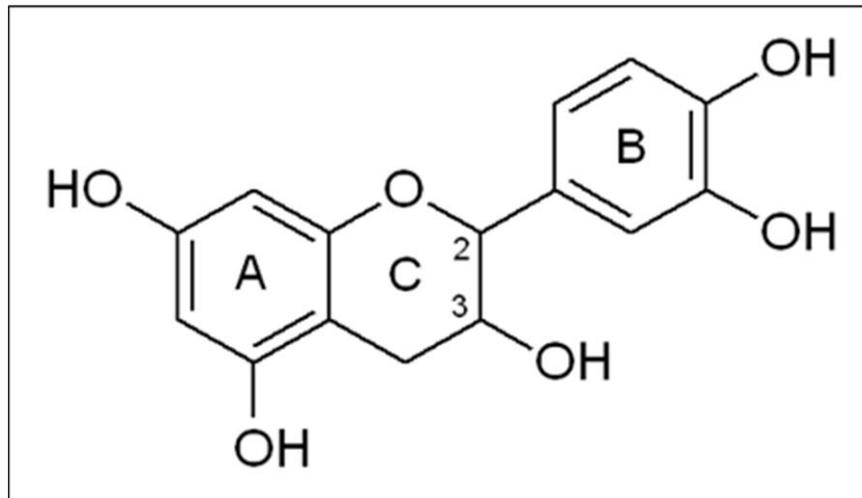


Figure 16 : structure de base des flavonoïdes (Boutakiout, 2015)

Tous les flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs groupes selon le degré d'oxydation du noyaupyrane central (cycle C) dont les plus importants sont (figure 17) :

- **Phényl-2-chromones** : flavones, flavonols et flavanones.
- **Phényl-2-chromanes (flavanes)** : flavan-3-ols et flavan-3,4-diols.
- **Flavyliums** : anthocyanes.
- **Chalcones** : formes isomères ouvertes des flavanones.
- **Aurones** : homologues des flavones à hétérocycles pentagonales.
- **Phényl-3 chromone** : isoflavone (Rhouma-martin et al., 2018).

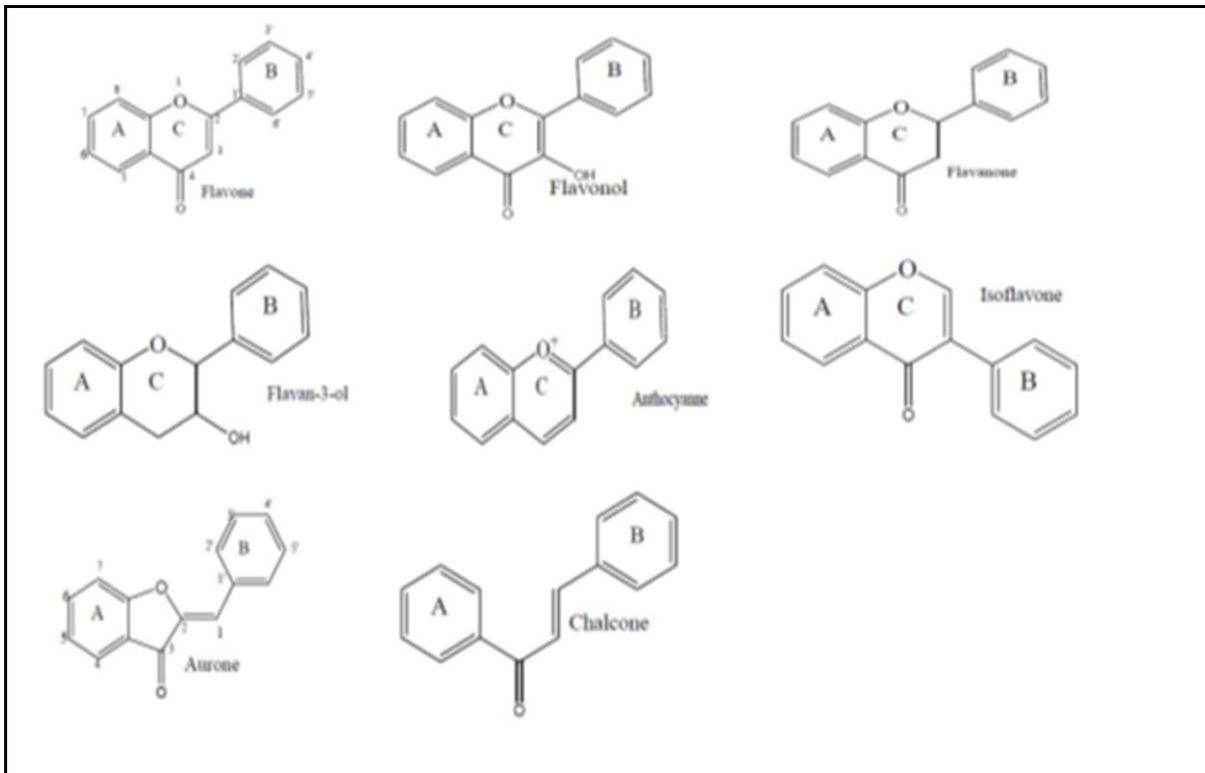


Figure 17: Structures des squelettes de base des flavonoïdes (Rhouma-martin et al., 2018)

5.1.1.1. L'activités des Flavonoïdes

➤ *Activité antioxydante*

La capacité des flavonoïdes à fonctionner comme antioxydants leur a donné une place importante dans le domaine de la santé humaine et de la médecine. Les effets protecteurs des flavonoïdes dans les systèmes biologiques sont attribués à leur capacité de transférer des électrons de radicaux libres, des catalyseurs de métaux chélatés, d'activer des enzymes antioxydantes, de réduire les radicaux alpha-tocophérols et d'inhiber les oxydases. Les flavones et les catéchines semblent être les flavonoïdes les plus puissants pour protéger le corps contre les espèces réactives d'oxygène (Alzand et Mohamed, 2012).

a. Piégeage direct de radicaux libres

Les flavonoïdes possèdent une structure chimique aromatique permettant une délocalisation électronique importante, donc une stabilisation de leurs formes radicalaires. À cause de leur faible potentiel redox les flavonoïdes (flav-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants (R^\bullet) comme le superoxyde, le radical peroxy, le radical alkoxy et le OH^\bullet par transfert d'hydrogène (figure 18 et 19) (Rhouma-martin et al., 2018).

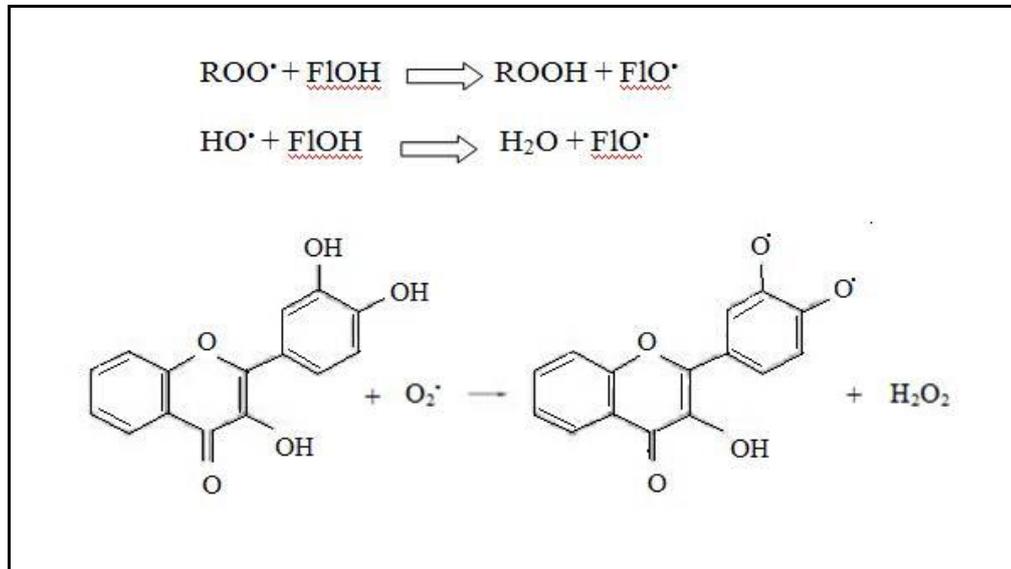


Figure 18 : Réaction des flavonoïdes avec les espèces oxygénées réactives Avec Flav-OH : flavonoïde, Flav-O• : flavonoïde sous forme radicalaire (Rhouma-martin et al., 2018)

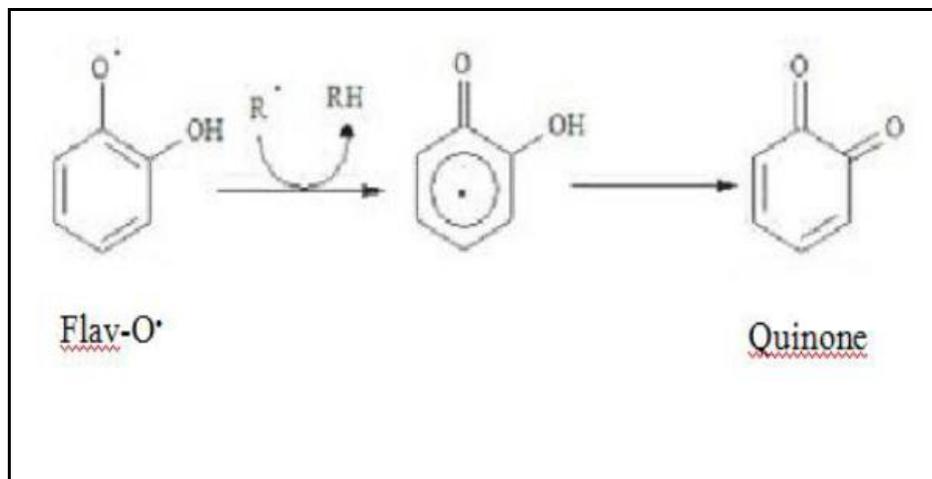


Figure 19 : Le radical aroxyde résultant (Fl-O•) peut réagir avec un autre radical libre pour former une structure quinone stable (Rhouma-martin et al., 2018)

Le radical aroxyde peut interagir avec l'oxygène pour donner une quinone et un anion superoxyde. Cette réaction qui peut prendre place en présence de taux élevés de métaux de transition, est responsable de l'effet prooxydant indésirable des flavonoïdes (Rhouma-martin et al., 2018). La présence d'une double liaison de 2,3 dans l'anneau C, d'une structure catéchol dans l'anneau B et de l'hydroxylation aux positions 3 et 5 de l'anneau A semble donner un potentiel redox accru. Le potentiel redox de la quercétine était semblable à celui de l'acide ascorbique et supérieur à celui de l'acide urique (Alzand et Mohamed, 2012).

b. Chélation des ions métalliques

Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques. Les sites potentiels responsables de la chélation des ions métalliques qui sont :

- un noyau catéchol sur le cycle B.
- les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C.
- les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C (Rhouma-martin et al., 2018).

6. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs (Hassina et Delloula, 2020).

Elles restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments et sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Nicole, 1997). Au cours des dernières années, des études sur les activités antioxydantes des plantes médicinales ont augmenté de façon remarquable due à un intérêt accru pour leur potentiel d'être utilisé en tant qu'une source d'antioxydants riche et naturelle (Atmani et al., 2009 ; El-Haci et al., 2012 ; Benariba et al., 2013).

6.1. Présentation Générale d'*Olea sp.*

6.1.1. Origine et historique de l'Olivier

L'olivier (*Olea sp.*) est l'un des plus anciennes cultures de la région méditerranéenne où il a occupé depuis la préhistoire une place majeure dans la culture de cette région (Abdessemed,

2017). Il est l'arbre emblématique de la méditerranée. Dès l'antiquité, il a joué un rôle très important dans la vie des populations méditerranéennes qui le considèrent comme symbole de paix, de solidarité et de volonté ainsi que du commerce et de l'économie.

Les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leurs richesses en composés phénoliques, notamment l'oleuropéine. Ces composés possèdent, entre autres, des pouvoirs antioxydant, anticancéreux, antimicrobien qui les rendent très importants pour les domaines de la santé et l'industrie agroalimentaire (Aouidi, 2012).

6.1.2. Nomenclature et systématique d'*Olea sp.*

L'olivier est un arbre cultivé pour son fruit, l'olive, qui donne une huile recherchée « l'huile d'olive ». Cette dernière, mais aussi les olives de table, sont des éléments importants de la diète méditerranéenne et sont consommées en grande quantité dans le monde entier. La classification botanique de l'arbre de l'olivier selon Cronquist (1981) est la suivante :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Scrophulariales

Famille : Oleaceae

Genre : *Olea* Espèce : *sp.*

Sous-espèce : *sp.*

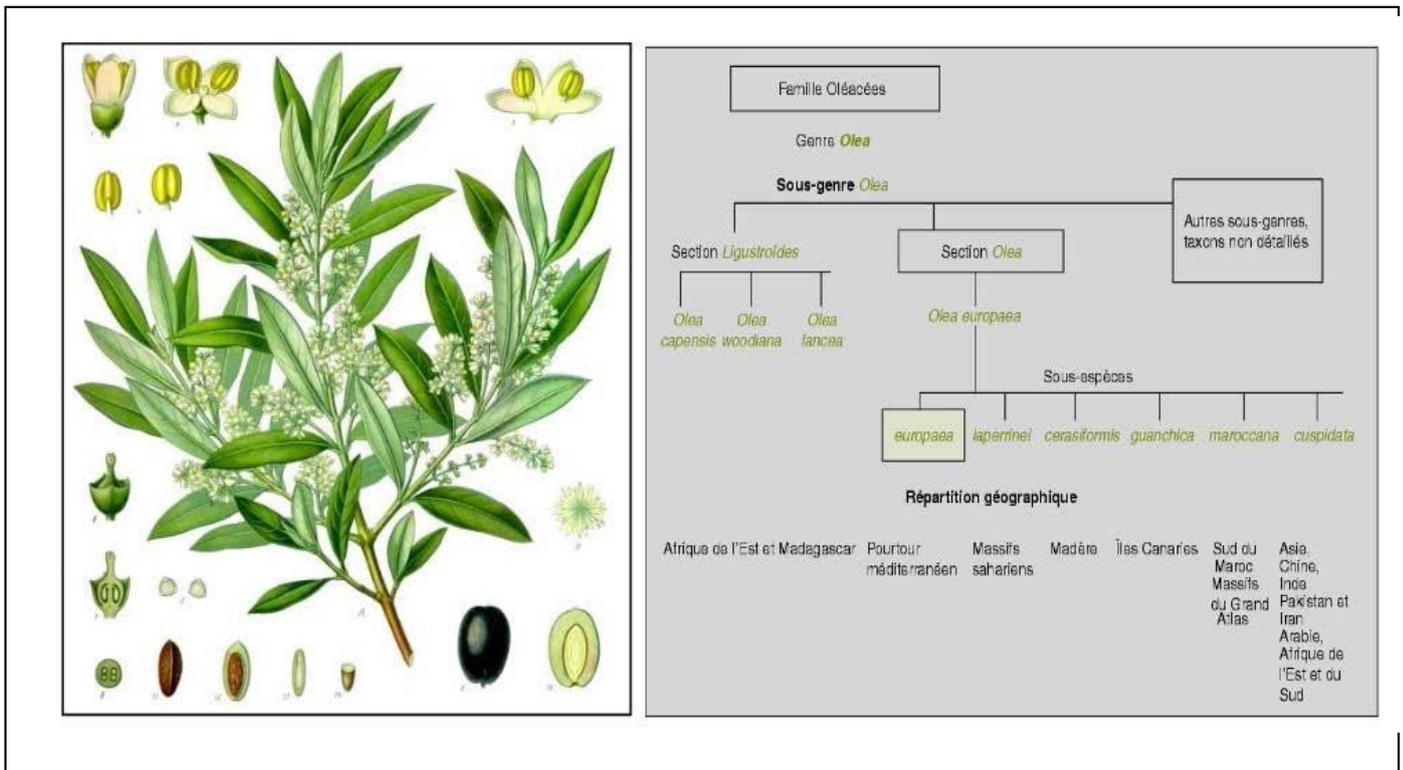


Figure 20 : Schéma de la taxonomie du genre *Olea* (*Oleaceae* simplifiée) (Gree, 2002)

6.1.3. Caractéristique morphologique d'*Olea* sp.

L'olivier est une espèce vivace à feuillage persistant dont la croissance est rythmée dans les régions tempérées, il se distinguant par sa pérennité et sa grande longévité. Aussi, il est réputé pour sa grande rusticité et sa plasticité lui permettant de se développer dans différentes conditions environnementales. Il n'est pas rare de voir de vieux oliviers dépasser 15 à 20 mètres de hauteur, avec un tronc de 1,5 à 2 mètre de diamètre (Abdessemed, 2017).

➤ Système racinaire

L'olivier présente un système racinaire puissant et son développement dépend des caractéristiques physiques et chimiques du sol, des réserves d'eau et l'aération du sol et du type de reproduction. Le système racinaire est fonction du mode de multiplication où les jeunes plants d'olivier issus de semis donnent naissance à un système racinaire pivotant, dominé par une

racine principale centrale. Lorsque le plant est obtenu par bouturage, il développe un système racinaire fasciculé (Loussert et Brousse, 1978).

➤ Les feuilles d'olivier

Les feuilles sont opposées, coriaces, simples, entières, subsessiles avec un pétiole court. Le limbe est lancéolé et se termine par un mucron. Les bords du limbe s'enroulent sur eux-mêmes. La face supérieure de la feuille est vert-grisâtre, lisse et brillante (Argenson et al., 1999).

6.1.4. Répartition géographique

L'Algérie fait partie des principaux pays méditerranéens dont le climat est plus propice à la culture de l'olivier. Le patrimoine oléicole Algérien est estimé à 32 millions d'oliviers, ce qui représente 4,26% du patrimoine mondial. Cette filière se concentre dans certaines wilayas comme Bejaia, Tizi-Ouzou et Bouira qui a produit à elle seules en 2008 ,179180 hectolitres d'huile sur une superficie de 108893 ha, soit 51% de la production nationale et environ 44% du verger national oléicole. Ces trois wilayas sont spécialisées beaucoup plus sur la production d'huile (Lazzeri, 2009).

6.1.5. Composition chimique des feuilles

La composition chimique des feuilles de l'olivier varie en fonction de nombreux facteurs : La variété, les conditions climatiques, l'âge des plantations ainsi que l'époque de récolte (Nefzaoui, 1993). Les différents composés chimiques sont regroupés ci-dessous :

- Généralement, la matière sèche (MS) des feuilles vertes se situe autour de 50 à 58%, celle des feuilles sèches autour de 90%.
- La teneur en matières azotées totales (MAT) des feuilles varie de 9 à 13%.
- La solubilité de l'azote est faible, elle se situe entre 8 et 14%, selon la proportion de bois.
- La teneur en matières grasses (MG) est supérieure à celle des fourrages et oscille autour de 5 à 7%, mais celle des constituants pariétaux et en particulier de la lignine est constamment élevée (18 à 20%).
- La feuille d'olivier est riche en triterpènes, flavonoïdes, sécoiridoïdes dont l'oleuropéoside et en phénols (Hassina et Delloula, 2020).

6.1.5.1. Composés phénoliques des feuilles et fruits de l'olivier

➤ Les composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques dans les feuilles d'olivier varie entre 2,8 mg/g de matière sèche (Altok et al., 2008), et 44,3 mg/g de matière sèche (Boudhrioua et al., 2009). Elle peut même dépasser les 250 mg/g de matière sèche (Mylonaki et al., 2008).

La variation de la concentration des composés phénoliques dans les feuilles d'olivier, citée dans la littérature, dépend de la variété de l'olivier, des conditions climatiques, de l'époque de prélèvement des échantillons des feuilles, de l'âge des plantations et des échantillons des feuilles. En plus de ces facteurs de variabilité, il s'ajoute l'effet de la méthode de préparation des feuilles d'olivier (déshydratation et broyage), du procédé et des techniques d'analyses qualitative et quantitative des composés phénoliques. Les composés phénoliques dans les feuilles d'olivier sont très divers et leurs structures sont très variables. Les feuilles d'olivier contiennent des monomères et des polymères phénoliques. La composition phénolique des feuilles d'olivier a fait l'objet de nombreuses études (Aouidi, 2012).

On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base. Deux principales classes sont largement répandues: Les flavonoïdes, Les tanins (Laouini, 2014).

6.1.5.2. L'utilisation des fleurs d'olivier dans le domaine thérapeutique

La consommation humaine d'infusion des feuilles d'olivier est bénéfique pour la santé (Gião et al., 2007). Les feuilles d'olivier ont un pouvoir anti-inflammatoire, antifongique et antimicrobien et antioxydant (Talhaoui et al., 2015).

➤ L'effet anti-inflammatoire des feuilles d'olive

Les feuilles de l'olivier comportent deux iridoïdes : l'oleuropeine et ligustrosides qui augmentent la production d'oxyde nitrique (NO) dans les macrophages et l'activité fonctionnelle globale des cellules immunocompétentes, et deux tritérpénoïdes : l'acide oléanolique et l'acide ursolique , et d'autres flavonoïdes tels que : l'apigénine et la chrysin, qui ont cet effet anti-inflammatoire (DIAZ, 2000).

➤ *L'activité anti-oxydante*

Les résultats de l'activité antioxydante ont montré un pouvoir anti-radicalaire des extraits méthanoliques des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé vis-à-vis de DPPH proche que celui de la vitamine E. Selon, les polyphénols sont des antioxydants puissants capables d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules. De plus, ils ont une activité chélatrice des métaux, qui peuvent produire des radicaux à l'état libre par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss (Arab et al., 2013).

Chapitre II
Protocoles expérimentaux

Protocoles expérimentaux

1. Matériel végétal

La plante (*Olea sp.*) a été achetée chez un herboriste, la partie qui a été utilisée est la partie aérienne (les feuilles). Le matériel végétal a été séché à l'obscurité et à l'abri de l'humidité et à température ambiante, la plante est broyée et stockée soigneusement après séchage.

La préparation de l'extrait a été réalisée au niveau de l'unité de recherche : valorisation des ressources naturelles, molécules bioactives et analyses physicochimiques et biologiques, département de chimie, université Frères Mentouri Constantine 1 par la doctorante Laraba Meriem.

1.1. Méthodes d'extraction

L'extrait hydro-méthanolique brut est préparé par macération à froid de 100 g de matériel végétal dans méthanol-eau (70 :30 V /V) à température ambiante pendant 48h, cette opération est répétée trois fois, avec renouvellement du solvant chaque 48h. Après filtration, les filtrats sont rassemblés, puis concentrés sous vides à 45°C en utilisant un évaporateur rotatif. Le résidu sec obtenu est pesé puis conservé dans un flacon sombre pour effectuer les études ultérieures.

2. Expérimentation animale

2.1. Animaux et conditions d'hébergements

Notre étude a été réalisée sur vingt-huit 28 rats males de souches *Wistar albinos*, pesant entre (190 - 240g), ça s'est déroulé au niveau de l'animalerie du département de Biologie Animale, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Frères Mentouri Constantine 1. Dès leur réception, les rats sont placés aléatoirement en groupe de 4 dans des cages standards pour une période d'acclimatation (2 semaines) avant qu'ils soient utilisés dans les différentes expériences. Pendant cette période les animaux ont un accès libre à l'eau et à la nourriture et sont maintenus dans une animalerie à température constante, soumis à un cycle de lumière/ obscurité de 12/12H.



Figure 20 : un lot de Rat

2.2. Induction de la toxicité et traitement des rats

2.2.1. Effet préventif de l'extrait hydro-méthanolique de la plante (*Olea sp.*) sur la toxicité aigüe induite par le Diclofénac (50 mg/kg)

Pour évaluer l'effet protecteur de l'extrait hydro-méthanolique de la plante (*Olea sp.*) sur les rats durant 07 jours. Les rats sont répartis en quatre groupes de 7 rats chacun de la manière suivante :

Groupe 1 (T) : Lot témoin reçoit chaque jour de l'eau distillée par gavage.

Groupe 2 (EXT) : Reçoit chaque jour 100 mg/kg de l'extrait brut de la plante (*Olea sp.*) par gavage pendant 7 jours.

Groupe 3 (DF) : Reçoit le 4^{ème} le 5^{ème} jour 50mg/kg de Diclofénac par voie intra-péritonéale.

Groupe 4 (EXT+DF) : Reçoit chaque jour (100mg/kg) de l'extrait par gavage et (50mg/kg) de Diclofénac 1h plus tard par voie intra- péritonéale (le 4^{ème} et 5^{ème} jour).



Figure 21 : un Rat qui reçoit l'extrait de La plante par gavage



Figure 22 : un rat qui reçoit sa dose du Diclofénac par voie intra-péritonéale

La dose de l'extrait hydro-méthanolique de la plante (*Olea sp.*) a été choisie sur la base des observations *in vivo* et des recherches menées dans notre laboratoire sur l'effet de différents extraits de plantes sur la toxicité hépatique et rénale induite par des xénobiotiques (Boubekri et al., 2014 ; Amrani et al., 2017; Amrani et al., 2019 et Mechri et al., 2018), tandis que la dose de toxine a été choisie sur la base d'études antérieures (Simon et al., 2019).

➤ **Dissection des rats, prélèvement du sang et des organes**

Après les différents traitements, les rats sont anesthésiés en utilisant le chloroforme. La collecte du sang s'effectue à partir de la veine porte dans des tubes, puis centrifugé à 3000 tours/10 min pour récupérer le sérum afin d'effectuer le dosage des paramètres biochimiques.

➤ **Préparation d'homogénat**

Après le sacrifice des rats, une perfusion aura lieu avec une solution froide de NaCl (0.9%) afin de drainer tout le sang restant dans les organes. Ensuite les organes sont coupés en petits morceaux, pesés, homogénéisés pour doser l'MDA, le GSH et l'activité enzymatique de GPx.



Figure 23 : Rat dans la cloche pour qu'il soit anesthésié



Figure 24 : Rat sur la planche de dissection



Figure 25 : La préparation de l'homogénat

2.3. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques

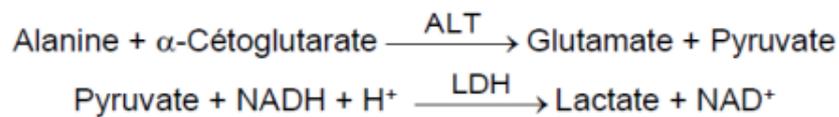
Les activités enzymatiques : AST, ALT (biomarqueurs de la fonction hépatique) sont mesurées. Aussi bien les biomarqueurs de la fonction rénale (l'urée, l'acide urique et la créatinine) ont été estimés. Les paramètres cités précédemment sont déterminés par des méthodes colorimétriques en utilisant des Kits commerciale (Spinreact, Espagne) sur un automate multiparamétrique dans un laboratoire de biologie et d'analyses médicales.

2.3.1. Dosage des transaminases

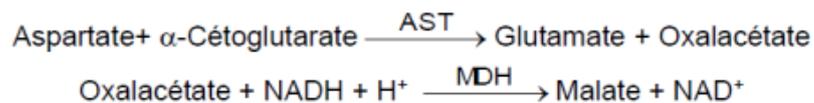
Les transaminases (ou amino transférases) sont des enzymes hépatocytaires dont la fonction est de catalyser des réactions de transfert d'un groupe aminé d'un acide alpha-aminé à un acide α -cétonique. Il existe 2 transaminases dont le coenzyme est la vitamine B₆ (phosphate de

pyridoxal) AST et ALT. Le dosage des indicateurs de la fonction hépatique AST et ALT est réalisé selon la méthode de (Murray et al., 1984). Le principe de dosage des transaminases dans le sérum est réalisé selon les réactions suivantes :

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



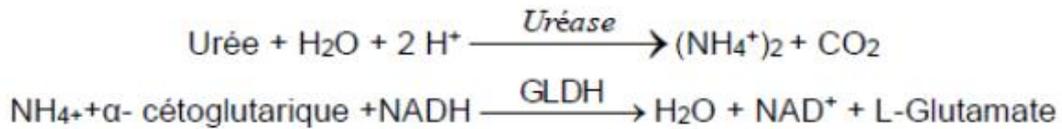
- **Pour l'AST** : L'aspartate aminotransférase (AST), initialement appelée transaminase glutamate oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amonique de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit est réduit en malate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



Les dosages ont été faits avec un analyseur, le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité de l'enzyme et les valeurs sont exprimées en (U/l).

2.3.2. Dosage de l'urée

Le dosage de l'urée se fait à l'aide de la méthode de Kaplan (1984). L'échantillon d'urée est hydrolysé de manière enzymatique dans l'ammoniac (NH_4^+) et le dioxyde de carbone (CO_2). Les ions d'ammoniac réagissent avec α -cétoglutarique dans une réaction catalysée par le glutamate déshydrogénase (GLDH) avec une oxydation simultanée de NADH à NAD^+ composant un complexe coloré en vert leur densité lue à 590 nm.



2.3.4. Dosage de la créatinine

La créatinine est dosée selon la méthode de Spierto et al., (1979). Dans un milieu basique, en utilisant l'acide picrique qui va réagir avec la créatinine pour former un complexe coloré, sa densité lue à 510 nm.

2.4. Dosage des paramètres du stress oxydatif

2.4.1. Dosage de MDA au niveau d'homogénat

La peroxydation lipidique est estimée par le dosage de malondialdéhyde (MDA) selon la méthode d'Uchiyama et Mihara (1978). L'MDA est l'un des produits terminaux de l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) par les radicaux libres libérés au cours de stress. En milieu acide et à chaud (100°C) une molécule d'MDA est condensée avec deux molécules de l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose. Le principe de cette méthode est résumé dans la figure ci-dessous (Figure 26) :

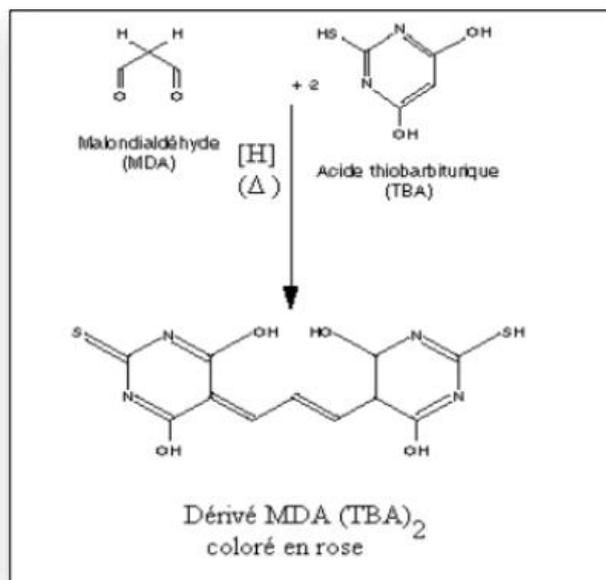


Figure 26 : Principe de dosage du Malondialdéhyde

La densité optique du complexe formé entre le MDA de l'échantillon et le TBA est mesurée à 532 nm et la concentration du MDA est exprimée en nmol/g tissu.

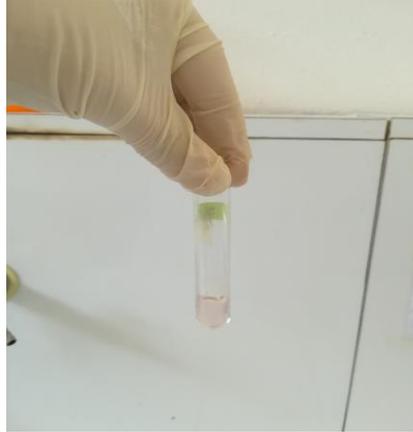


Figure 27 : La formation du complexe coloré en rose lors de dosage du MDA

2.4.2. Dosage de glutathion (GSH)

Le dosage du GSH est réalisé selon la méthode colorimétrique d'Ellman (1959). Son principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoïque) (DTNB), libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB) selon la réaction suivante (figure 28) :

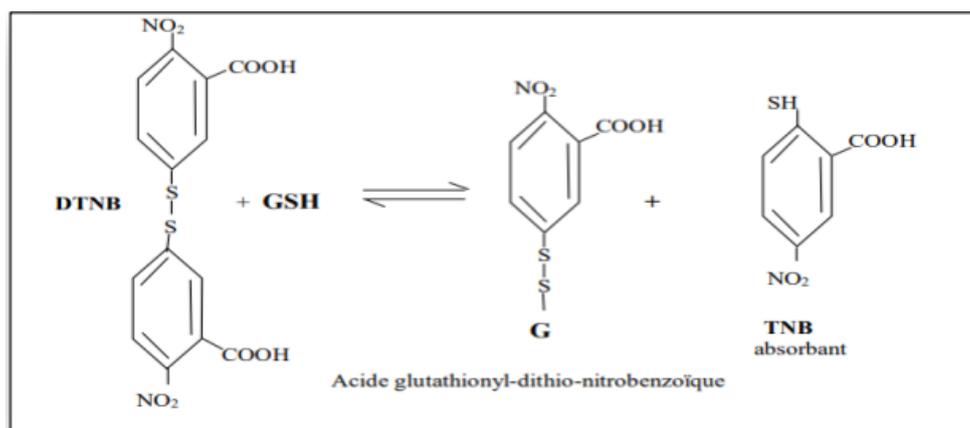


Figure 28 : Principe de dosage de glutathion

Les concentrations sont exprimées en nmol/gramme d'organe.

2.4.3. Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohe et Gunzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



La densité optique a été mesurée à 412 nm et l'activité de l'enzyme GPx a été exprimée en $\mu\text{mol GSH} / \text{mg protéine}$.

2.5. Etude Histopathologique

Après le sacrifice des animaux et leurs dissections, une perfusion aura lieu avec une solution de NaCl (0.9%) afin de drainer tout le sang restant dans les organes. Un morceau de l'organe visé (foie et reins) de chaque rat est immédiatement prélevé, coupé en petits morceaux, et conservé dans le fixateur formol (10%). L'étude histologique s'effectue dans les laboratoires d'anatomie pathologique du Clinique D'urologie Néphrologie et de Transplantation Rénale (Daksi), Constantine, par un microscope photonique Leica ICC 50 HD.

2.6. Evaluation statistique

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne et écart types. La détermination des taux de signification sont faites par le test *t* de *Student*. Les différences sont considérées comme significatives lorsque $p < 0.05$:

ns ; $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative.

* ; $0.05 > p > 0.01$ = la différence est significative.

** ; $0.05 > p > 0.001$ = la différence est hautement significative.

*** ; $p < 0.001$ = la différence est très hautement significative.

Chapitre III
Résultats et discussion

1. Résultats de l'étude expérimentale *in vivo*

1.1. L'effet protecteur de l'extrait de la plante vis-à-vis la toxicité aiguë induite par le Diclofénac

1.1.1. L'effet des différents traitements sur les marqueurs biochimiques

a. Les enzymes transaminases AST et ALT

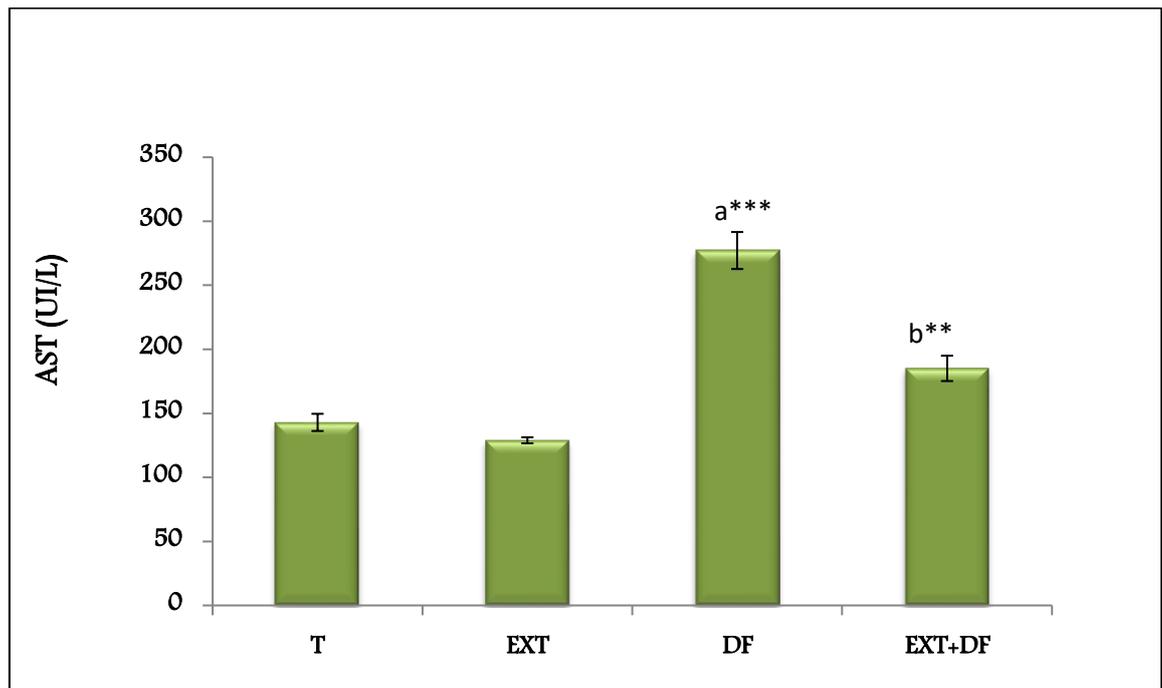


Figure 29 : Effet de Diclofénac et de l'extrait sur la concentration sérique des aminotransférases : AST.
 Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$,
 a : Groupes comparés au groupe témoin
 b : Groupes comparés au groupe Diclofénac

D'après les résultats présentés dans les figures (29 et 30), on observe une augmentation hautement significative ($p < 0.001$) des enzymes hépatiques (AST et ALT) chez le groupe des rats traités par le Diclofénac (50mg/kg), par rapport au groupe témoin. En revanche on constate chez le groupe des rats traités par l'extrait hydro-méthanolique (100mg/k) et le Diclofénac (EXT+DF) une diminution significative ($p < 0.01$) par rapport au groupe des rats traités par le Diclofénac. Donc l'extrait brut des feuilles de la plante (*Olea sp.*) preserve le foie contre la toxicité provoquée par le Diclofénac.

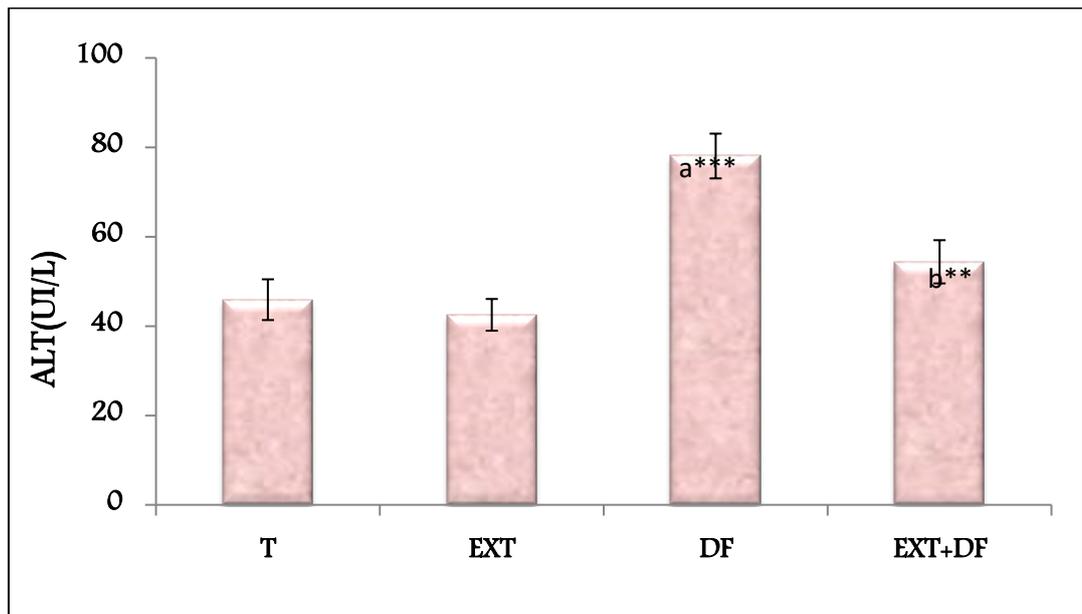


Figure 30 : Effet de Diclofénac et de l'extrait sur la concentration sérique des aminotransférases : ALT.
*Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type. ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$,
 a : Groupes comparés au groupe témoin
 b : Groupes comparés au groupe Diclofénac*

b. L'effet sur la concentration sérique de l'urée et la créatinine

Les résultats obtenus dans notre travail (figure 31 et 32) ont montré que l'administration du Diclofénac (50mg/Kg) a provoquée une augmentation significative ($p < 0.001$) de la concentration de l'urée et la créatinine sérique par rapport au groupe témoin (T). Une diminution hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique des deux paramètres chez le groupe (EXT+DF) par rapport au groupe (DF). Concernent le groupe des rats sains, l'administration journalière de la même dose de l'extrait pendant 7 jours n'a pas altéré la concentration sérique de l'urée et la créatinine.

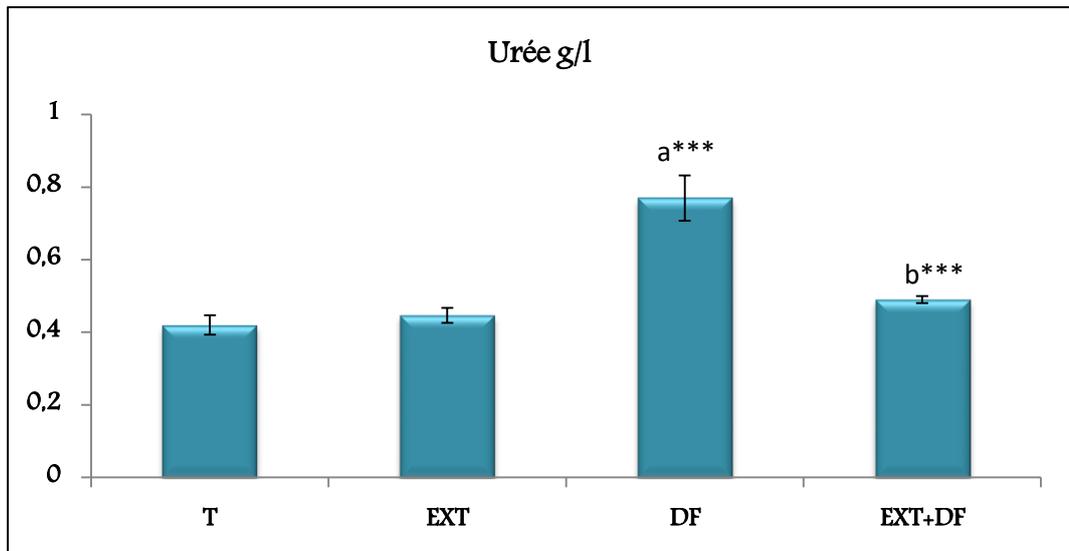


Figure 31 : Effet de Diclofénac et de l'extrait sur la concentration sérique de l'urée.
 Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$,
 a : Groupes comparés au groupe témoin
 b : Groupes comparés au groupe Diclofénac

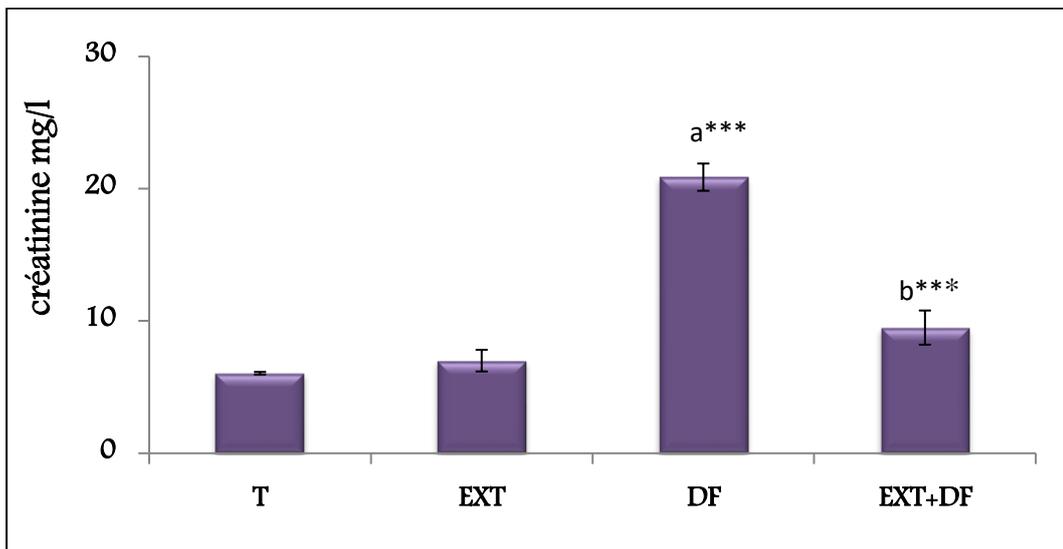


Figure 32 : Effet de Diclofénac et de l'extrait sur la concentration sérique de la créatinine.
 Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$,
 a : Groupes comparés au groupe témoin
 b : Groupes comparés au groupe Diclofénac

1.2. L'effet des différents traitements sur le statut oxydant

1.2.1. L'effet sur la peroxydation lipidique (taux d'MDA) du foie et des reins

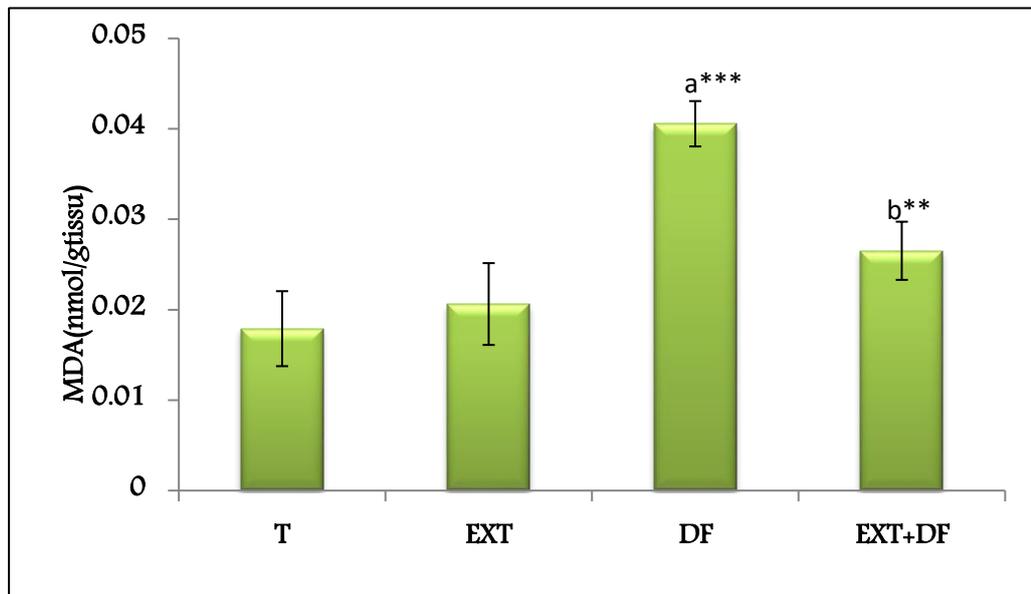


Figure 33 : Effet de Diclofénac et de l'extrait sur le taux d'MDA du foie chez les différents groupes.
 Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$,
 a : Groupes comparés au groupe témoin
 b : Groupes comparés au groupe Diclofénac

Les figures 33 et 34 illustrent l'effet de l'extrait brut sur les variations du MDA dans le foie et les reins chez les rats traités par le Diclofénac et l'extrait.

La néphrotoxicité et l'hépatotoxicité provoquées par le Diclofénac sont associées à une peroxydation lipidique exprimée par une augmentation hautement significative ($p < 0.001$) d'MDA chez les rats recevant le Diclofénac par rapport au groupe témoin normal.

Par contre un traitement de 7 jours par l'extrait des feuilles de la plante (EXT+DF) a baissé significativement ($p < 0.01$) le taux du MDA rénal et hépatique par rapport aux groupe traité par le Diclofénac. Donc, le prétraitement par l'extrait diminue l'oxydation des lipides chez les rats et normalise la valeur du MDA comparée au groupe toxique.

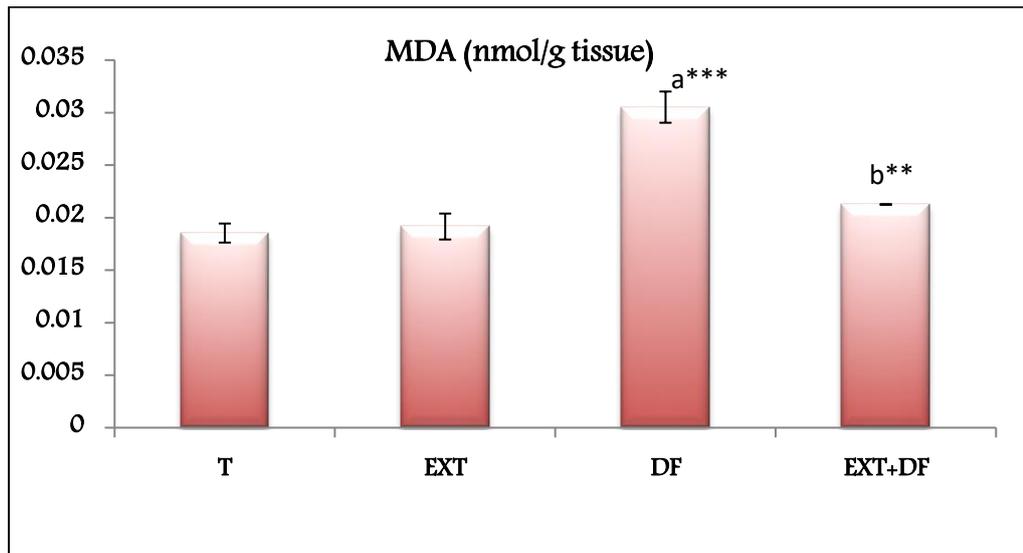


Figure 34 : Effet de Diclofénac et de l'extrait sur le taux d'MDA des reins chez les différents groupes. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, * : $P < 0.001$,
 a : Groupes comparés au groupe témoin
 b : Groupes comparés au groupe Diclofénac**

1.3. L'effet des différents traitements sur le statut antioxydant

1.3.1. L'effet sur le GSH du foie et des reins

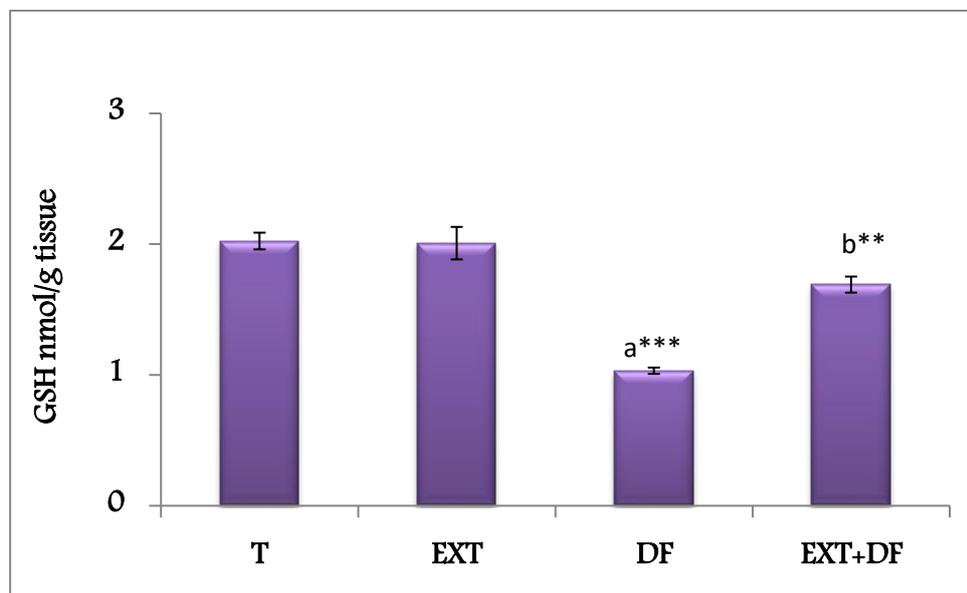


Figure 35 : Effet de Diclofénac et de l'extrait sur le niveau de GSH du foie chez les différents groupes. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, * : $P < 0.001$,
 a : Groupes comparés au groupe témoin
 b : Groupes comparés au groupe Diclofénac**

Les variations de teneur de GSH observées chez les rats traités et témoins sont présentées dans les figures 35 et 36, les résultats obtenus montrent une diminution hautement significative des taux de GSH ($p < 0.001$) dans le groupe des rats traités par le Diclofénac (50mg/kg) par rapport au groupe témoin. Par contre chez les rats traités par l'extrait des feuilles de la plante pendant 7 jours à la dose quotidienne de 100 mg/kg, nous avons constaté une augmentation significative ($p < 0.01$) du taux tissulaire de glutathion réduit (GSH) rénal et hépatique.

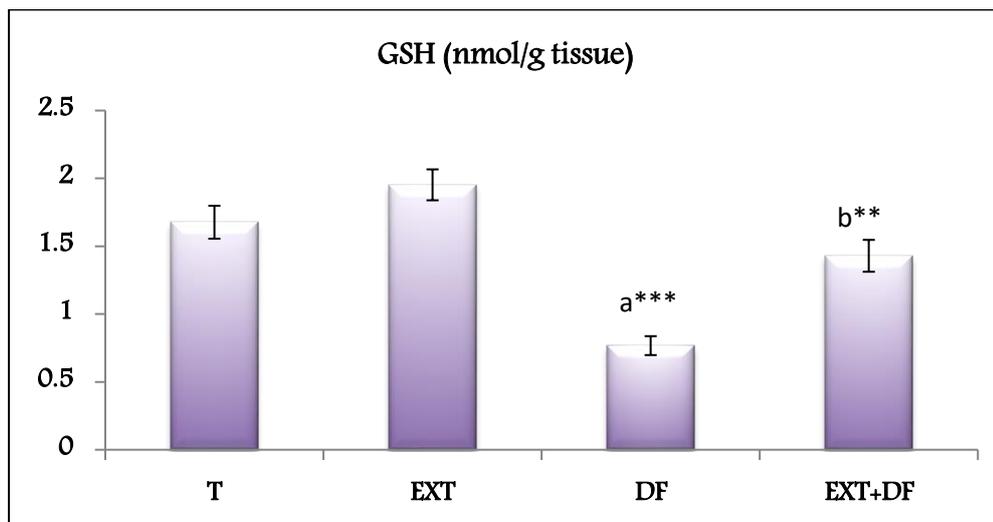


Figure 36 : Effet de Diclofénac et de l'extrait sur le niveau de GSH des reins chez les différents groupe
*Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$,*
a : Groupes comparés au groupe témoin
b : Groupes comparés au groupe Diclofénac

1.3.2. L'effet sur l'activité de la GPx du foie et des reins

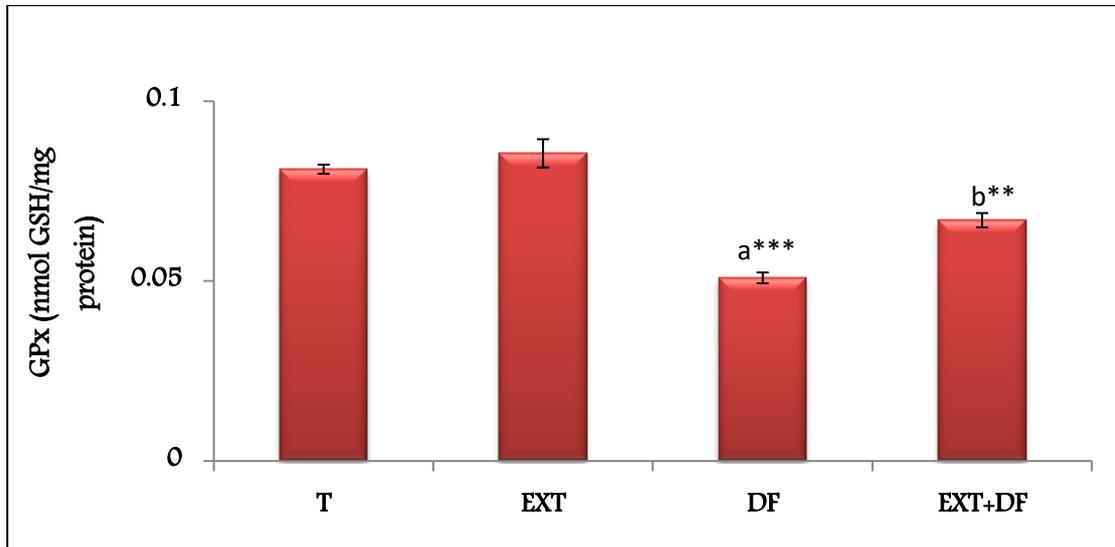


Figure 37 : Effet de Diclofénaç et de l'extrait sur l'activité de GPx du foie chez les différents groupes.
*Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$,
 a : Groupes comparés au groupe témoin
 b : Groupes comparés au groupe Diclofénaç*

L'activité de la GPx dans l'homogénat des reins et du foie est diminué significativement ($p < 0.001$) chez les rats traités par le Diclofénaç seul par rapport à celle mesurée chez les rats témoins. Par contre un traitement de concomitance par l'extrait des feuilles de la plante (100mg/kg) a provoqué une augmentation significative de l'activité de la GPx chez les rats néphro-hépto-toxiques (figure 37 et 38).

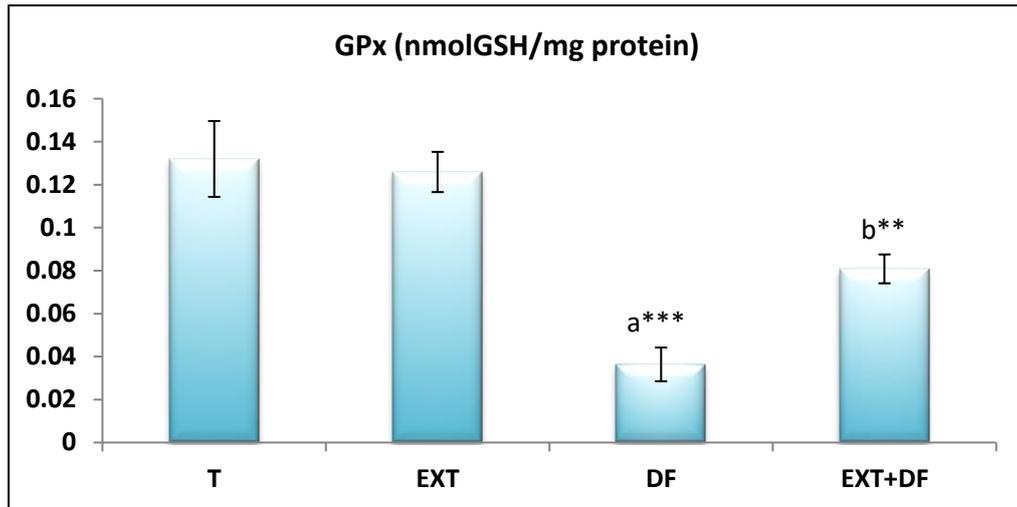


Figure 38 : Effet de Diclofénac et de l'extrait sur l'activité de GPx des reins chez les différents groupes.
*Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$,
a : Groupes comparés au groupe témoin
b : Groupes comparés au groupe Diclofénac*

1.4. Etude Histopathologique

1.4.1. Au niveau du foie

Les coupes histologiques des fragments du foie des rats de groupe témoin ont montrés une architecture cellulaire normale qui se caractérise par l'arrangement des hépatocytes autour de la veine centrale avec triade portale et espaces sinusoidaux normaux (figure 39).

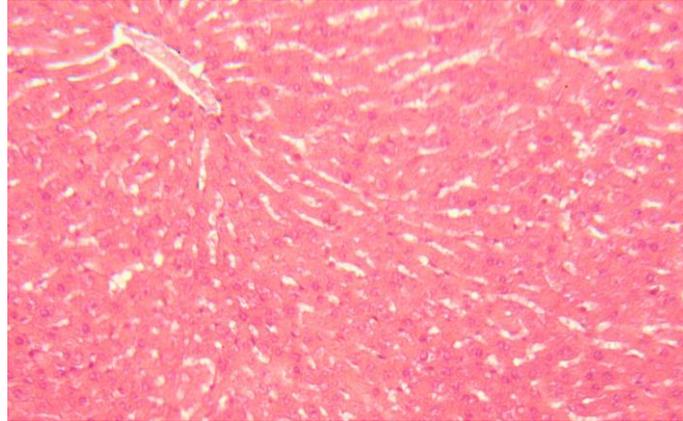


Figure 39 : Histologie des foies des rats témoins
S: sinusöide. H&E ($\times 100$)

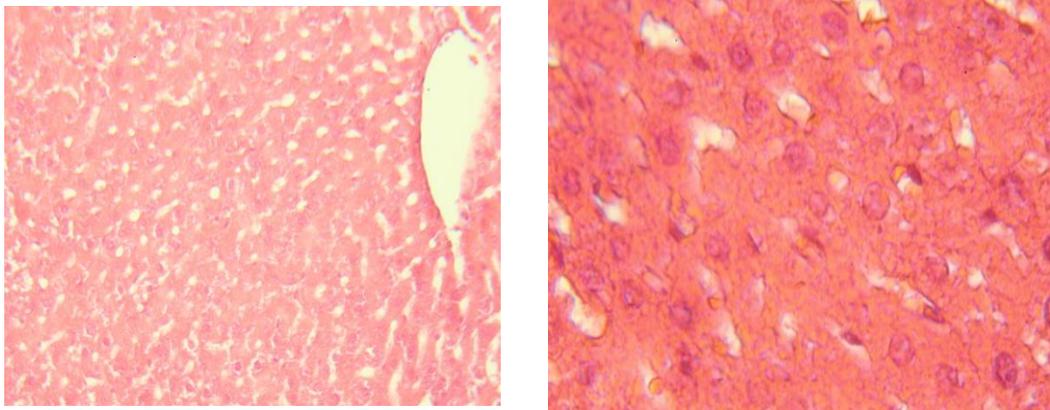
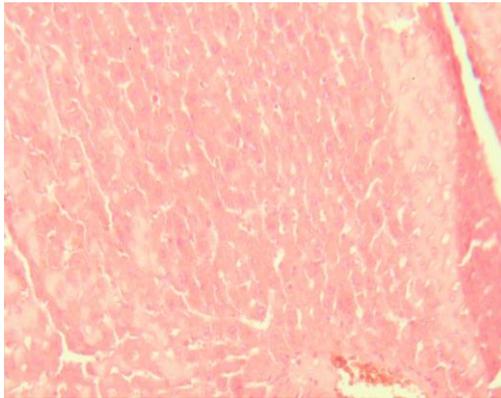
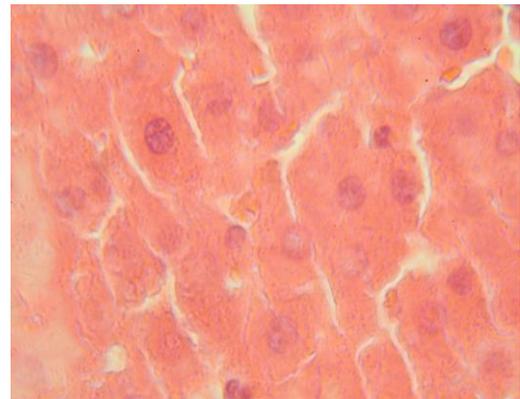


Figure 40: Histologie des foies des rats traités avec l'extrait brut des
feuilles de la plante (*Olea sp.*) (100 mg / kg) H&E (100x et 400x)

En plus, les coupes histologiques des foies des rats traités avec l'extrait brut des feuilles de la plante (*Olea sp.*) (100 mg / kg) ont montrés une histologie normale presque similaire à celle du groupe témoin (figure 40).



1

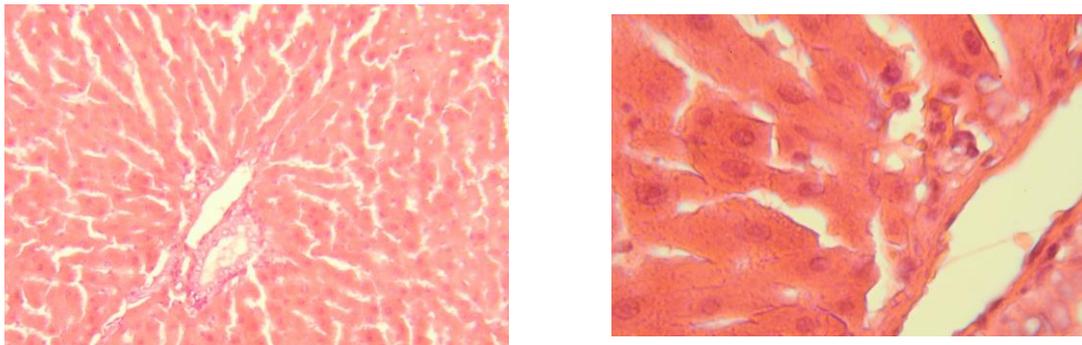


2

Figure 41 : Histologie du foie des rats du groupe toxique (groupe traité par le Diclofénac (50 mg/kg)): (1) Infiltrat lymphocytaire central péri-vésiculaire, (2) Nécrose péri portale et lobulaire. H&E (100x et 400 x)

Cependant, les coupes histologiques du foie des rats intoxiqués par Diclofénac (50mg/kg) ont présentés des altérations histopathologiques sévères, On note: Infiltrat lymphocytaire central péri- vésiculaire, Nécrose péri portale et lobulaire marquée focale (figure 41).

Le co-traitement avec 100 mg/kg de l'extrait brut des feuilles de la plante (*Olea sp.*) a réduit les changements histopathologiques induits par le Diclofénac, ils ont montrés une forme histologique comparable à celle du groupe témoin avec la présence des cellules binuclées, congestion hépatique et une légère balonisation. L'observation histologique du foie confirme les résultats des mesures des paramètres biochimiques et du profil antioxydant et confirme encore l'effet hépatoprotecteur de l'extrait brut des feuilles de la plante (*Olea sp.*) (figure 42).



1

2 (Aet B)

Figure 42: Histologie du foie des rats traités par le DF (50 mg/kg) et l'extrait brut des feuilles de la plante (*Olea sp.*) (100 mg / kg) montre un tableau histologique comparable à celui du groupe témoin avec un dommage minimal des hépatocytes. (1) Congestion hépatique, (2) A : Binucléation des hépatocytes et B : Ballonnement des hépatocytes. H&E (100x et 400x)

➤ **Au niveau des reins**

Les coupes histologiques des fragments des reins des rats de groupe témoin ont montrés un aspect morphologique normal (figure 43). En outre, la figure (44) montre qu'il n'y avait pas de changements morphologiques dans les reins du groupe traités par l'extrait brut dans l'examen microscopique. Alors qu'il y avait des altérations histopathologiques :atrophie glomérulaire modérée ; nécrose tubulaire proximale; infiltrat inflammatoire lymphocytaire interstitiel dans les reins du groupe Diclofénac (50 mg/kg) (figure 45).

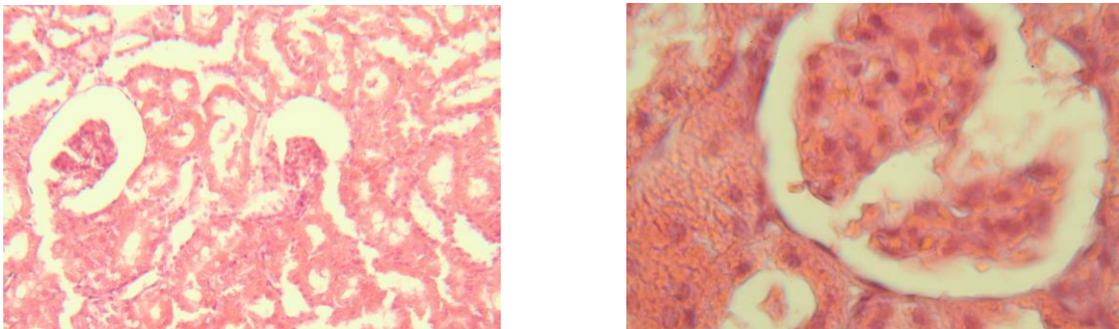
En comparant avec le groupe traité par le DF , l'examen microscopique des coupes histologiques des reins des rats prétraités par l'extrait brut à la dose de 100mg /kg a montré des tubules et des glomérules presque normaux (figure 46).



**Figure 43: Histologie des reins des rats témoin
H&E (100 et 400x)**



**Figure 44 : Histologie des reins des rats traités avec l'extrait brut des
feuilles de la plante (*Olea sp.*) (100 mg / kg) H&E (100x et 400x)**



**Figure 45: Histologie des reins des rats du groupe toxique; groupe traité par le
Diclofénac (50 mg/kg): (1) atrophie glomérulaire modérée ;(2) début de nécrose;(3)
infiltrat inflammatoire lymphocytaire interstitiel H&E (100x et 400x)**

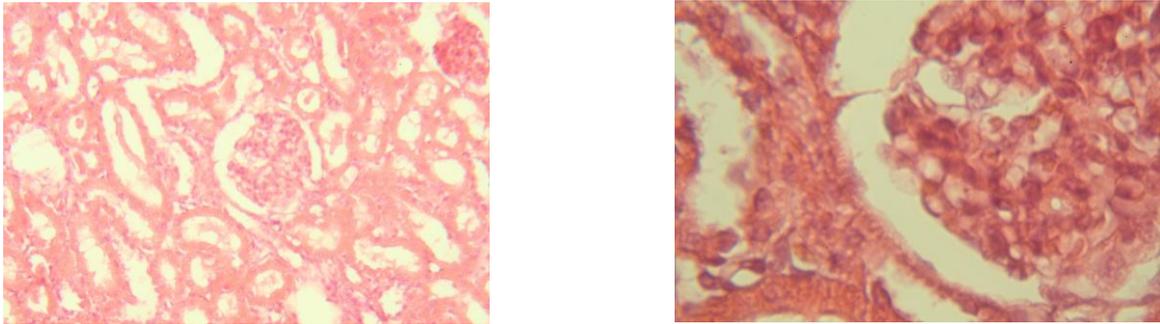


Figure 46 : Histologie des reins des rats traités par le DF (50 mg/kg) et l'extrait brut des feuilles de la plante (Olea sp.) (100 mg / kg) montre un tableau histologique comparable à celui du groupe témoin

Conclusion

Conclusion

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont parmi les médicaments les plus utilisés dans le monde, leurs indications sont multiples principalement pour traiter les inflammations, dans des situations aiguës ou chroniques. L'utilisation de Diclofénac (50mg/kg) augmente significativement le taux d'MDA au niveau du foie et des reins, taux sérique d'enzymes hépatiques AST, ALT, les taux sériques de l'urée et la créatinine, et une diminution significative de taux de GSH et l'activité de GPx par rapport aux rats non traités.

En revanche l'association de l'extrait brut des feuilles d'olives (*Olea sp.*) au Diclofénac a diminué les conséquences nocives sur les paramètres du stress oxydatif et les paramètres biochimiques, ce qui prouve que l'extrait d'olivier a un effet protecteur contre la toxicité induite par le Diclofénac. Ce pouvoir revient à ses composés phénoliques que plusieurs études ont prouvés qu'ils possèdent une activité inflammatoire et anti-oxydante.

Références
Bibliographiques

References bibliographiques

Abdessemed, S. (2017). Contribution à la caractérisation et à l'identification des écotypes d'olivier *Olea europaea*. L dans la région des Aurès (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).

Alessandri, A. L., Sousa, L. P., Lucas, C. D., Rossi, A. G., Pinho, V., & Teixeira, M. M. (2013). Resolution of inflammation: mechanisms and opportunity for drug development. *Pharmacology & therapeutics*, 139(2), 189-212.

Altman, R., Bosch, B., Brune, K., Patrignani, P., & Young, C. (2015). Advances in NSAID development: Evolution of diclofenac products using pharmaceutical technology. *Drugs*, 75(8), 859–877. <https://doi.org/10.1007/s40265-015-0392-z>

Amarante-Mendes, G. P., Adjemian, S., Branco, L. M., Zanetti, L. C., Weinlich, R., & Bortoluci, K. R. (2018). Pattern recognition receptors and the host cell death molecular machinery. *Frontiers in immunology*, 2379.

Aouacheri, W., Saka, S., Djafer, R., & Lefranc, G. (2009, November). Effet protecteur du diclofénac contre le stress oxydatif induit par la toxicité du paracétamol chez le rat. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 67, No. 6, pp. 619-627).

Aouidi, F. (2012). Etude et valorisation des feuilles d'olivier (*Olea europaea* L.) dans l'industrie agro alimentaire Thèse de Doctorat Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie. Université du Carthage. 140p.

Amira Mecheri, Wassila Benabderrahmane, Amel Amrani, Nassima Boubekri, Fadila Benayache, Samir Benayache and Djamila Zama. Hepatoprotective Effects of Algerian *Crataegus oxyacantha* Leaves. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 2018, 9, 00-00.

Amrani Amel, Nassima Boubekri, Ouahiba Benaissa, Djamila zama, Fadila Benayache, Samir Benayache. Protective role of Limonium peroxidation in brain and testes induced by iron. *International Journal of Phytomedicine*, 9 (2017).72-78.

Amrani Amel, Nassima Boubekri, Ouahiba Benaissa, Fadila Benayache, Samir Benayache and Djamila Zama. Sodium Valproate Affect Brain Antioxidant/Oxidant Status in Mice: Ameliorative Effect of Vitamin E and *Chrysanthemum fontanesii* Extract. *Current Bioactive Compounds*. 2019, 15, 000-000.

Arab, K., Bouchenak, O., & Yahiaoui, K. (2013). Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(3), 159-166.

Argenson, C., Régis, S., Jourdain, J. M., & Vaysse, P. (1999). L'olivier. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes.

Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., ... & Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112(2), 303-309.

Baravalia Yogesh, Yogeshkumar Vaghasiya, Sumitra Chanda. (2011). Hepatoprotective effect of *Woodfordia fruticosa* Kurz flowers on diclofenac sodium induced liver toxicity in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* (2011)342-346.

Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*, 9(1), 5-21.

Bossokpi, I. P. L. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloides* LAM (Rutaceae) (Doctoral dissertation, Thèse de pharmacie, Université de Bamako, Bamako).

Becker, G., & Monassier, L. (2018). Anti-inflammatoires non stéroïdiens: rappels pharmacologiques et évolutions récentes de l'état des connaissances. *Médecine thérapeutique*, 24(4), 240-248.

Benariba, N., Djaziri, R., Bellakhdar, W., Belkacem, N., Kadiata, M., Malaisse, W. J., & Sener, A. (2013). Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrullus colocynthis* seeds extracts. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(1), 35-40.

BENOUARETS, M., & MOKNINE, K. (2016). EVALUATION DE L'ACTIVITE ET DE LA TOXICITE D'UN AINS: LE DICLOFENAC.

Bignon, Y. (2018). Physiologie et physiopathologie des transports transépithéliaux du tubule proximal: mise en évidence du rôle de la sous-unité Kir4.2 et analyse d'un mutant To cite this version: HAL Id: tel-01689812 transépithéliaux du tubule proximal: M. Yohan B.

Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information. January.

Birouk, S., Hadjici, M., Harrouche, N., & Benguedouar, L. E. (2013). Evaluation du profil de stress oxydatif induit par le Diclofénac et ses dérivés de biodégradation chez la souris (Doctoral dissertation, université de jjel.

Bodzin A.S., Baker T.B. (2019). Chapter 118 - Anatomy and Physiology of the Liver. Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract, 2 Volume Set (Eighth Edition) Volume 2, 1386-1397. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-40232-3.00118-7>.

Boelsterli, U. A. (2003). Diclofenac-induced liver injury: a paradigm of idiosyncratic drug toxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 192(3), 307-322.

Bolduc, M. (2008). Concentration synoviale et plasmatique de diclofénac après son utilisation topique et orale chez le cheval.

Boubekri N., Boukaabache R., Amrani, A., Belfarhi L., Zama D., Boumaza O., Benayache F., Benayache S. Hepatoprotective effect of *Genista quadriflora* munby extract against ethanol induced toxicity. *Asian J Pharm Clin Res*, Vol 7, Suppl 1, 2014, 226-229.

Boudhrioua, N., Bahloul, N., Slimen, I. B., & Kechaou, N. (2009). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial crops and products*, 29(2-3), 412-419.

Bounedjah, O. (2014). Mécanismes d'assemblage des granules de stress dans des conditions de stress oxydatif et osmotique (Doctoral dissertation, Evry-Val d'Essonne).

Boutakiout, A. (2017). marocain (*Opuntia ficus-indica* et *Opuntia megacantha*). To cite this version : Amale BOUTAKIOUT.

Chiolero, A., Würzner, G., & Burnier, M. (2000). Les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2: Moins d'effets rénaux que les anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques? *Néphrologie*, 21(8), 425–430.

Crea, F., & Biasucci, L. M. (2012). Innate immune inflammatory response to danger: when, how, and why does a friend become a foe?. *European heart journal*, 33(12), 1434-1437.

Dat, L. D., Thao, N. P., Luyen, B. T. T., Tai, B. H., Woo, M. H., Manzoor, Z., ... & Kim, Y. H. (2017). A new saponin from *Acanthopanax koreanum* with anti-inflammatory activity. *Archives of pharmacal research*, 40(3), 311-317.

Davoine, F., & Lacy, P. (2014). Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity. *Frontiers in immunology*, 5, 570. Department of Biochemistry,

Diallo, I. (2019). Potentiels anti-oxydants et anti-inflammatoires de sporophores de *Lentinula edodes* (Shiitake) sous différentes conditions de culture (Doctoral dissertation, Université Montpellier).

DIAZ, A. (2000). In vitro, l'activité anti inflammatoire des iridoids et triterpenoids composés isolés de l'olivier. Masson. Paris. P, 226-228.

Direction de la qualité du médicament. (2007). Pharmacopée européenne : publiée selon la Convention relative à l'élaboration d'une pharmacopée européenne (Série des traités européens, n° 50). Conseil de l'Europe.

El-Haci, I. A., Atik-Bekkara, F., Didi, A., Gherib, M., & Didi, M. A. (2012). Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie*, 10(5), 280-285.

El-Hadary Abdalla E., Mohamed Fawzy Ramadan. (2019). Antioxidant traits and protective impact of *Moringa oleifera* leaf extract against diclofenac sodium- induced liver toxicity in rats. *J Food Biochem.* 2019;43:e12704. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12704>.

Ellman G. L. (1959). Plasma antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 82: 70-77.

Elshopakey Gehad E. , and Elazab Sara T. (2021). Cinnamon Aqueous Extract Attenuates Diclofenac Sodium and Oxytetracycline Mediated Hepato-Renal Toxicity and Modulates Oxidative Stress, Cell Apoptosis, and Inflammation in Male Albino Rats. *Vet. Sci.* 2021, 8, 9. <https://doi.org/10.3390/vetsci8010009>.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

Ferradji, A. (2018). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies de *pistacia lentiscus* (Doctoral dissertation).

Flohé L., Gunzler W.A.(1984). Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology.* 105:114– 121.

Funaro, A., Ortolan, E., Bovino, P., Lo Buono, N., Nacci, G., Parrotta, R., ... & Malavasi, F. (2009). Ectoenzymes and innate immunity: the role of human CD157 in leukocyte trafficking. *Front Biosci*, 14, 929-943.

Gardès-Albert, M. (2006, November). Aspects physico-chimiques des espèces réactives de l'oxygène. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 365-372). Elsevier Masson.

Ghalem, M. (2014). Effets antioxydants et anti-inflammatoires des extraits de *Zizyphus lotus* et *Anthyllis vulneraria* (Doctoral dissertation, Thèse Doctorat en Physiologie et Biochimie de la Nutrition. University Tlemcen. Algeria).

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.

Gonzales, Fermín & Piero, M. (2020). Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. *Ann Oncol*, January, 19–20.

Gião, M. S., González- Sanjosé, M. L., Rivero- Pérez, M. D., Pereira, C. I., Pintado, M. E., & Malcata, F. X. (2007). Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(14), 2638-2647.

Green, P. S. (2002). A revision of *Olea* L.(Oleaceae). *Kew bulletin*, 91-140.

Gueutin, V., Deray, G., Isnard-Bagnis, C., & Janus, N. (2011). La physiologie rénale. *Journal de Pharmacie Clinique*, 30(4), 209–214. <https://doi.org/10.1684/jpc.2011.0191>

Hajjaj, G. (2017). Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *matricaria chamomilla* L. et de *l'ormenis mixta* L.(asteraceae).

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.

HamzaAlaaeldin A. (2007).Curcuma longa, Glycyrrhiza glabra and Moringa oleifera Ameliorate Diclofenac-induced Hepatotoxicity in Rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology* 2 (2): 80-88, 2007.

Hassina, B., & Delloula, N. (2020). Evaluation de l'activité antioxydant de l'extrait des feuilles d'olivier (Doctoral dissertation).

Hermans, C. (2017). Bénéfices, risques et indications des anti-inflammatoires COX-2 sélectifs revisités: focus sur le Célécoxib. www.louvainmedical.be, 302.

Heymonet, C. (2013). Les plantes à visée anti-inflammatoire utilisées en phytothérapie (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

Himour Sara, YAHIA Abdlouhab, Hakima BELATTAR & Leila BELLEBCIR. (2016). Etude phytochimique de feuilles d'*Olea europaea* L. var *Chemlel* d'Algérie. *Journal of Bioresources Valorization*.Volume 01, Number.

Hirayama, D., Iida, T., & Nakase, H. (2017). The phagocytic function of macrophage-enforcing innate immunity and tissue homeostasis. *International journal of molecular sciences*, 19(1), 92.

Jung, S. H., Lee, W., Park, S. H., Lee, K. Y., Choi, Y. J., Choi, S., Kang, D., Kim, S., Chang, T. S., Hong, S. S., & Lee, B. H. (2020). Diclofenac impairs autophagic flux via oxidative stress and lysosomal dysfunction: Implications for hepatotoxicity. *Redox Biology*, 37, 101751. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101751>

Kaplan A. (1984). Urea. Kaplan A et al. *Clin Chem*. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. 1257- 1260 and 437 and 418.

Kapoor, M., Shaw, O., & Appleton, I. (2005). Possible anti-inflammatory role of COX-2-derived prostaglandins: implications for inflammation research. *Current opinion in investigational drugs* (London, England: 2000), 6(5), 461-466.

Kumar G.S., Nayaka H., Dharmesh S.M., Salimath P.V., (2006). Free and bound phenolic antioxidants in amla (*Emblica officinalis*) and turmeric (*Curcuma longa*). *Journal of Food Composition and Analysis*. 19, 446–452.

Kutaiba Ibrahim, A., & Mohamed Abdalkarim, M. (2012). Flavonoids : Chemistry , Biochemistry and Antioxidant activity. *Journal of Pharmacy Research*, 5(8), 4013–4020.

La, E. T. D. E., Scientifique, R., & Naturels, F. (2011). Etude Analytique et Biologique des A ma Mère A la mémoire de mon Père A m a Sœur Et A mon Frère.

LAOUINI, S. E. (2014). Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de Phoenix dactylifera L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf) (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).

Lacour B. (2013). Physiologie du rein et bases physiopathologiques des maladies rénales. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2013(451), 25–37. Doi : 10.1016/s1773-035x(13)71993-2.

Lazzeri, Y., & Gilbert, B. (2007). L'olivier en Méditerranée: du symbole à l'économie (No. halshs-00424644).

Lewis, J. H., & Stine, J. G. (2013). Nonsteroidal antiinflammatory drugs and leukotriene receptor antagonists. In *Drug-Induced Liver Disease* (pp. 369-401). Academic Press.

Li, W., Kong A-N. (2009). Molecular mechanisms of Nrf2-mediated antioxidant response. *Molecular Carcinogenesis*. 48(2), 91-104. <http://dx.doi.org/10.1002/mc.20465>.

Li, X., Li, N., Sui, Z., Bi, K., & Li, Z. (2017). An investigation on the quantitative structure-activity relationships of the anti-inflammatory activity of diterpenoid alkaloids. *Molecules*, 22(3), 363.

Liu, F. Q., & Zhang, J. R. (2002). Effect of NADH against liver cell line L02 apoptosis induced by UVB irradiation. *Di 1 jun yi da xue xue bao= Academic Journal of the First Medical College of PLA*, 22(3), 232-234.

Liu, Q. L., Chen, A. H., Tang, J. Y., Ma, Y. L., Jiang, Z. H., Liu, Y. P., ... & Xu, W. (2017). A new indole alkaloid with anti-inflammatory activity from *Nauclea officinalis*. *Natural product research*, 31(18), 2107-2112.

Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017). NF- κ B signaling in inflammation. *Signal transduction and targeted therapy*, 2(1), 1-9.

Loussert, R., & Brousse, G. (1978). L'olivier. Techniques agricoles et production méditerranéennes. Maisonneuve et Larose, Paris, 460.

Lucas, G. N. C., Leitão, A. C. C., Alencar, R. L., Xavier, R. M. F., Daher, E. D. F., & Silva Junior, G. B. da. (2019). Pathophysiological aspects of nephropathy caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Jornal Brasileiro de Nefrologia : 'orgao Oficial de Sociedades Brasileira e Latino-Americana de Nefrologia*, 41(1), 124–130. <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2018-010>

Martin, D., & Bolling, B. (2017). Anti-inflammatory Activity of Aronia Berry Polyphenols in Jurkat T Cells. *The FASEB Journal*, 31, 166-4.

Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical biochemistry*, 32(8), 595-603.

Mathieu, M., Guimezanes, A., Donnet-Kamel, D., & Litadier-Dossou, M. A. (2011). Séminaire Ketty Schwartz 2012: Inflammation et maladies. Séminaire Ketty Schwartz.

Mazat, J. P., & Ransac, S. (2010). Le complexe bc1 de la chaîne respiratoire mitochondriale fonctionne selon l'hypothèse du cycle Q de Mitchell-La preuve par une approche stochastique?. *médecine/sciences*, 26(12), 1079-1086.

Mebirouk, R., & Naimi, D. (2017). Recherche et évaluation des activités biologiques de trois extraits d'*Helix aspersa* (aqueux, hydro alcoolique et organique) (Doctoral dissertation, جامعة الإخوة منتوري قسنطينة).

Messarah M., Saoudi M., Boumendjel A., Kadeche L., Boulakoud M.S., El Feki A. (2013). Green tea extract alleviates arsenic-induced biochemical toxicity and lipid peroxidation in rats. *Toxicology and industrial health*. 29(4):349–59.

Metushi I.G., Nakagawa T., Uetrecht J. (2012). Direct oxidation and covalent binding of isoniazid to rodent liver and human hepatic microsomes: humans are more like mice than rats. *Chemical research in toxicology*. 25: 2567-2576.

Meunier, L., & Larrey, D. (2018). Actualité sur l'hépatotoxicité des anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Hépto-Gastro & Oncologie Digestive*, 25(3), 238-247.

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.

Miller, A. L. (1996). Antioxydant flavonoïdes: Structure, fonction et utilisation clinique. *Alternative Medicine Review*, 1(2), 103–111.

MIMOUN, N., & SARAOUI, N. (2016). Validation analytique d'une méthode de dosage du diclofénac de sodium dans les suppositoires à 100 mg par HPLC. Application de la démarche harmonisée.

Miyajima A., Tanaka M., Itoh T. (2014). Stem/Progenitor Cells in Liver Development, Homeostasis, Regeneration, and Reprogramming. *Cell Stem Cell*, 14(5), 561–574. Doi:10.1016/j.stem.2014.04.010.

Moore, P., Ginwala, R., Revuri, N., Kranz, V. A., Houle, J. D., Khan, Z. K., & Jain, P. (2017). Nutraceutical Apigenin: Mechanism of action associated with its anti-inflammatory activity and regulation of dendritic cell metabolism.

Moradi Alireza, Mahdih Abolfathi, Mahsa Javadian, Esfandiar Heidarian, Hoshang Roshanmehr, Mansoor Khaledi, and Ali Nouri. (2020). Gallic Acid Exerts Nephroprotective, Anti-Oxidative Stress, and Anti-Inflammatory Effects Against Diclofenac-Induced Renal Injury in Mice. *Archives of Medical Research*. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.12.005>.

Morris et al., 2012. (2015). NIH Public Access. *Gerontology*, 61(6), 515–525. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110061>.

MOUFFOUK, C. (2019). Evaluation des activités biologiques et étude de la composition chimique de la plante *Scabiosa stellata* L (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).

Murray R.(1984). Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clinical Chemistry .The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. 1112-1116.

Mylonaki, S., Kiassos, E., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2008). Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 392(5), 977-985.

Naisbitt, D. J., Sanderson, L. S., Meng, X., Stachulski, A. V., Clarke, S. E., & Park, B. K. (2007). Investigation of the immunogenicity of diclofenac and diclofenac metabolites. *Toxicology letters*, 168(1), 45-50.

Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420(6917), 846-852.

Nefzaoui, A. (1993). Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous-produits. III. *Nouvel olivier*, (1), 11-14.

Newton, K., & Dixit, V. M. (2012). Signaling in innate immunity and inflammation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 4(3), a006049.

Nicole, M. (1997). De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. Ed: Lavoisier, Paris, 12-14.

Normand, S. (2009). Étude des profils cytokiniques et des mécanismes moléculaires induisant l'inflammation dans un modèle mimant les déficits en mévalonate kinase: un rôle central pour l'IL-1 et la caspase-1 dans les fièvres périodiques héréditaires (Doctoral dissertation, Poitiers).

NouriAli, Esfandiar Heidarian, Hossein Amini-khoei, Saber Abbaszadeh, Gholam Basati. (2019). Quercetin through mitigation of inflammatory response and oxidative stress exerts protective effects in rat model of diclofenac-induced liver toxicity. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 7 (3), 200-212, 2019.

Nuhrich, A. L. A. I. N. (2015). UFR des sciences pharmaceutiques, université de Bordeaux.

Obame Engonga. (2009). Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines. THESE DE DOCTORAT UNIQUE. UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU, Unité de Formation et de Recherche Sciences de La Vie et de La Terre (UFR-SVT), 92(1), 1–258.

O'Connor, N., Dargan, P. I., & Jones, A. L. (2003). Hepatocellular damage from non-steroidal anti-inflammatory drugs. *QJM - Monthly Journal of the Association of Physicians*, 96(11), 787–791. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcg138>.

Pacheco-Sánchez, M., Boutin, Y., Angers, P., Gosselin, A., & Tweddell, R. J. (2007). Inhibitory effect of CDP, a polysaccharide extracted from the mushroom *Collybia dryophila*, on nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in macrophages. *European journal of pharmacology*, 555(1), 61-66.

Panday S., Talreja R., Kavdia M. (2020). The role of glutathione and glutathione peroxidase in regulating cellular level of reactive oxygen and nitrogen species. *Microvascular Research*, 104010. Doi:10.1016/j.mvr.2020.104010

Patel, U., Rajasingh, S., Samanta, S., Cao, T., Dawn, B., & Rajasingh, J. (2017). Macrophage polarization in response to epigenetic modifiers during infection and inflammation. *Drug discovery today*, 22(1), 186-193.

Paulose- Ram, R., Hirsch, R., Dillon, C., Losonczy, K., Cooper, M., & Ostchega, Y. (2003). Prescription and non- prescription analgesic use among the US adult population: results from the third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Pharmacoepidemiology and drug safety*, 12(4), 315-326.

Rainsford, K. D., & Velo, G. P. (Eds.). (2012). Side-effects of anti-inflammatory drugs: part two studies in major organ systems (Vol. 2). Springer Science & Business Media.

Ramamoorthy, S., & Cidlowski, J. A. (2016). Corticosteroids: mechanisms of action in health and disease. *Rheumatic Disease Clinics*, 42(1), 15-31.

Rezaire, A. (2012). Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa) (Doctoral dissertation, Antilles-Guyane).

Rhouma-martin, G. Ben, Ben, G., & Oligomérisation, R. (2018). Oligomérisation enzymatique de flavonoïdes et évaluation des activités biologiques des oligomères synthétisés To cite this version : HAL Id : tel-01749905 soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la Contact : ddoc-theses- contact@univ-lorraine.fr.

Ricciotti, E., & FitzGerald, G. A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 31(5), 986-1000.

Rolland, Y. (2004). Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 11(6), 419-424.

Rousselet, M. C., Vignaud, J. M., Hofman, P., & Chatelet, F. P. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire. *Association française des enseignants et chercheurs en anatomie pathologie*, 1-57.

Rubartelli, A., & Lotze, M. T. (2007). Inside, outside, upside down: damage-associated molecular-pattern molecules (DAMPs) and redox. *Trends in immunology*, 28(10), 429-436.

Sadia, M. A. N. S. O. U. R. (2015). Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales (Doctoral dissertation, Université mohamed bouafia des sciences et de la technologie d'Oran).

Sadri A.R., Jeschke M.G., Amini-Nik S. (2016). Advances in liver regeneration: revisiting hepatic stem/progenitor cells and their origin. *Stem Cells International*. 2016:7920897.

Sagástegui-Guarniz WA, Silva-Correa CR, Villarreal-La TVE, Cruzado-Razco JL, Calderón-Peña AA, Aspajo-Villalaz CL, et al. (2020). Hepatoprotective and Nephroprotective Activity of *Artemisia absinthium* L. on Diclofenac-induced Toxicity in Rats. *Pharmacogn J.*2020;12(5):1032-41.

Salem, J. H., Hadj, J., & Extraction, S. (2018). Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique To cite this version : HAL Id : tel-01748769 soutenance et mis à disposition de l. 271.

Salman Hala, Ali Daoud, Marwan Dabbagh. (2020). Evaluation of a Protective Effect of the Water Extract of Thymus Leaves Against Diclofenac Sodium-Induced Renal Toxicity in the Syrian Hamster. *International Journal of Scientific Research in Biological Sciences* Vol.7, Issue.2, pp.151-157.

Schultz A. (1984). Uric acid. Kaplan A et al. *Clinical Chemistry*. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton, 1261-1266 and 418.

Scrivo, R., Vasile, M., Bartosiewicz, I., & Valesini, G. (2011). Inflammation as "common soil" of the multifactorial diseases. *Autoimmunity reviews*, 10(7), 369-374.

Sertejn, D., Grulke, S., Franck, T., Mouithys-Mickalad, A., & Deby-Dupont, G. (2003). La myéloperoxydase des neutrophiles, une enzyme de défense aux capacités oxydantes. *Ann. Méd. Vét.*, 147, 79-93.

Shabab S., Gholamnezhad Z., Mahmoudabady M. (2020). Protective effects of medicinal plant against diabetes induced cardiac disorder: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 113328. Doi:10.1016/j.jep.2020.113328.

Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of botany*, 2012.

Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative stress. *Annual review of biochemistry*, 86, 715-748.

Sies, H., & Feinendegen, L. E. (2017). Radiation hormesis: the link to nanomolar hydrogen peroxide.

Simon Jerine Peter, Manisha Parthasarathy, Sangeetha Nithyanandham, RamKumar Katturaja, Arunraj Namachivayam, Sabina Evan Prince. (2019). Protective effect of the ethanolic and methanolic leaf extracts of *Madhuca longifolia* against diclofenac-induced toxicity in female Wistar albino rats. *Pharmacological Reports* 71 (2019) 983–993.

S Mahmood, K. A., H Ahmed, J., & M Jawad, A. (2009). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), free radicals and reactive oxygen species (ros): a review of literature. *The medical journal of Basrah University*, 27(1), 46-53.

Spierto F. W., MacNeil M .L., Burtis C.A. (1979). The effect of temperature and wavelength on the measurement of creatinine with the Jaffe procedure. *Clinical Chemistry*.12 (1):18-21.

Sterka Jr, D., & Marriott, I. (2006). Characterization of nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) protein expression in primary murine microglia. *Journal of neuroimmunology*, 179(1-2), 65-75.

Talhaoui, N., Taamalli, A., Gómez-Caravaca, A. M., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2015). Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International*, 77, 92-108.

TAMAZIRT, B. (2017). Mise au point et validation d'une méthode de dosage du Diclofénac sodique dans des comprimés gastro-résistants de 50 mg par HPLC, en vue d'une étude du profil de dissolution.

Thomas, A., South, S., Lucero, J., Prasad, C., Imrhan, V., Vijayagopal, P., & Juma, S. (2017). Anti- Inflammatory Effects Of Tart Cherry Polyphenols In RANKL- Stimulated RAW 264.7 Murine Macrophages. *The FASEB Journal*, 31, 972-14.

Tortora G.J., Derrickson B. (2006). *Principles of Anatomy and Physiology*. 12 Thedition, John Wiley & Sons. p: 994.

Uchiyama M., Mihara M. (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thriarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*, 86: 271-278.

Wakim, K. G. (1954). Physiology of the liver. *The American Journal of Medicine*, 16(2), 256–271. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(54\)90342-3](https://doi.org/10.1016/0002-9343(54)90342-3)

Weill, B., & Batteux, F. (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. De Boeck Supérieur.

Wu, P., Gao, H., Liu, J. X., Liu, L., Zhou, H., & Liu, Z. Q. (2017). Triterpenoid saponins with anti-inflammatory activities from *Ilex pubescens* roots. *Phytochemistry*, 134, 122-132.

Zerargui, F. (2018). Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives (Doctoral dissertation).

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BELDJILALI Lina Nourhane
BENENIA Maroua
LAKEHAL Ikram

L'effet protecteur de l'extrait hydro-méthanolique de la plante olivier (*Olea sp.*) contre la toxicité néphro-hépatique induite par le Diclofénac chez des rats males de souche *Wistar Albinos*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Toxicologie

Résumé

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) constituent une classe thérapeutique très utilisée en raison de leur activité antipyrétique, antalgique et anti-inflammatoire. L'utilisation des AINS expose à de nombreux effets indésirables via leur toxicité cutanée, digestive, hépatique, rénale et cardiovasculaire. Ce travail de recherche a porté sur l'investigation de l'effet protecteur de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de la plante olivier (*Olea sp.*) contre la toxicité néphro-hépatique induite par le Diclofénac (50mg/kg) chez des rats males de souche *Wistar Albinos*.

Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré clairement des modifications significatives des indicateurs biochimiques (ALAT, ASAT, urée et la créatinine) et de stress oxydatif (malondialdéhyde (MDA), glutathion (GSH) et glutathion peroxydase (GPx)) dans le groupe traité par le Diclofénac (50mg/kg), ce dysfonctionnement a été accompagné par des altérations et des changements de l'architecture hépatique et rénale. En revanche, le prétraitement des rats par l'extrait brut de la plante (100 mg/kg) a permis de rétablir les paramètres biochimiques et améliorer le statut antioxydant. Cela a été confirmé par l'étude histologique.

En conclusion, les résultats obtenus dans cette étude révèlent que l'extrait brut des feuilles de la plante olivier (*Olea sp.*) peut être considéré comme une source naturelle pour prévenir l'hépatotoxicité et néphrotoxicité induite par le Diclofénac.

Mots-clés : Diclofénac, *Olea sp.*, Hépatotoxicité, Néphrotoxicité, Activité antioxydante

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Biologie Animale (Université Frères Mentouri, Constantine 1)

Encadreur : BOUBEKRI Nassima (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1)

Examineur 1 : LALAOUI Korichi (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1)

Examineur 2 : KABOUCHE Sami (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1)

