

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB DE BLIDA -1-**

**FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE**

**LABORATOIRE DE BIOTECHNOLOGIE, ENVIRONNEMENT ET SANTÉ**



**MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME**

**DE MASTER EN SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**FILIÈRE : SCIENCES BIOLOGIQUES**

**OPTION: BIOCHIMIE**

**THEME**

**Etude de la néphrotoxicité de la gentamicine chez les souris  
NMRI et évaluation de l'effet protecteur de l'extrait  
méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi)**

**Présentée par :**

M<sup>elle</sup> KERDJOU Nacéra

M<sup>elle</sup> BENYAHIA Imène

M<sup>r</sup> CUMBI Inocencio

**Date de soutenance :**

**11 Juillet 2019**

**Devant le jury :**

|                                    |  |        |              |
|------------------------------------|--|--------|--------------|
| M <sup>me</sup> Abdul Hussain A.S. | Maitre de Conférences "B"                        | USDB1  | Présidente   |
| M <sup>me</sup> Touaibia M.        | Maitre de Conférences "B"                        | USDB1  | Examinatrice |
| M <sup>me</sup> Kebbas S.          | Maitre de Conférences "A"                        | USDB1  | Promotrice   |
| M <sup>r</sup> Sali O.             | Ingénieur du laboratoire<br>Pharmaco-Toxicologie | SAIDAL | Invité       |

**Année Universitaire : 2018-2019**

# *Remerciement*

---

Nous remercions chaleureusement l'ensemble de membre de jury de ce mémoire :

À madame KEBBAS S., Maître de conférence au Département de biologie de population et des organismes de l'université de Blida 1 pour avoir encadré ce travail, pour ses précieux conseils, son suivi, ses efforts, son courage et son assistance durant toute la préparation de ce mémoire.

À madame ABDUL HUSSAIN A.S., Maître de conférence au Département de biologie et physiologie cellulaire de l'université de Blida 1, pour avoir accepté de présider le jury. Sensible à l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail, nous vous prions de croire en notre éternel respect et nous sincère gratitude.

À madame TOUAIBIA M ., Maître de conférence au Département de population et des organismes de l'université de Blida 1, pour nous avoir honoré d'examiner ce travail, nous vous sommes très reconnaissantes de votre présence et nous vous adressons nos vifs et sincères remerciements.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à Monsieur Sali O., Ingénieur d'état dans le laboratoire de pharmacotoxicologie unité Saidal (Alger), ainsi que tout le personnel de cette structure.

Nos vifs remerciements à tous ceux et celles qui ont aidé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, en particulier :

Madame LAARBI Chafica ingénieur de laboratoire de biologie végétale département Vétérinaire.

Youcef et Sabah personnel de service de laboratoire à l'administration de la faculté de sciences de la vie et de la nature.

Mme DJADJA I., Maître assistant en anapathologie de l'établissement publique hospitalier (CHU) de Frantz Fanon (Blida)

Le personnel technique de laboratoire d'anapathologie de établissement publique hospitalier (CHU) de Salim ZMERLI (Alger).

Nous tenons à remercier également tous les enseignants et personnel administratif de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université Blida 1. Veuillez trouver l'expression de notre sincère gratitude et nos très vifs remerciements.

# *DEDICACE*

---

*Je dédie ce mémoire à :*

*Mes parents,*

*Je vous remercie pour la confiance inaltérable que vous m'avez accordée.*

*Vous avez su m'apprendre modestement les vraies valeurs de la vie.*

*Votre soutien et vos encouragements ont toujours été sans faille tout au long de ce parcours de  
longue haleine.*

*La confiance que vous m'accordez me permet d'avancer.*

*Merci d'être toujours prêt à me donner sans compter et sans limite.*

*Merci de m'avoir soutenue, d'avoir cru en moi, de m'avoir donné les moyens de  
parvenir jusqu'ici.*

*J'espère que j'ai pu vous rendre fiers de moi.*

*A mes chers frères : Abdullah & Islam.*

*A mon trinôme : Nacéra & Inocencio*

*A tous les enseignants qui m'ont suivi tout au long de mes études.*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours.*

*A tous mes cousins et cousines surtout : Meriem, Youssra, Fadia et Amina.*

*A mes chères amies : Alanoud & Zineb.*

*A toute la promotion Biochimie.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Imène*

# *DEDICACE*

---

*Je dédie ce mémoire à*

*Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

*Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*Mes cher frères et sœurs, mes conseillers, qui ont toujours été présents pour les bons conseils. Veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.*

*J'aimerai bien de remercier Imène BENYAHIA ma très chère amie et te dis je t'aime beaucoup ma tweety, que dieu te protège .*

*Mon cœur KHALDOUN Kenza , que dieu te garde toujours à côté de moi.*

*Mon camarade Innocencio CUMBI je te souhaite une bonne continuation.*

*A tous mes proches : Meriem, Imène, Sabrina, Zahra, Hasna, Rofaida , Wassim.*

*Merci à tous*

*Nacéra*

# DEDICACE

---

*Avant tout, je remercie au Dieu tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce modeste travail.*

*Je dédie ce mémoire à :*

*A ma mère*

*A mon père*

*A mes sœurs*

*A mes frères*

*A mes amis*

*Qui même étant si loin de moi, m'ont toujours soutenu et cru en moi,  
Qu'ils trouvent ici toute ma gratitude.*

*A mon trinôme*

*Nacéra et Imène*

*Pour avoir l'honneur de travailler et d'apprendre avec vous,  
Pour tous les choses que nous avons traversées ensemble,  
Et que nous ont donné la force pour achever ce travail.*

*A l'Algérie,*

*Pour m'avoir acquérait pendant tous ces années,  
Et m'accordé une chance de pouvoir apprendre et me former.*

*A tous les enseignants*

*Que m'ont enseigné sans arrêt,*

*Sans eux, je ne serai pas là.*

*CUMBI Inocencio*

# Résumé

---

La Gentamicine (GM) est un antibiotique dont l'utilisation clinique est limitée par sa néphrotoxicité. Des preuves expérimentales suggèrent l'implication des espèces réactives de l'oxygène (EROs) et de l'inflammation dans la néphrotoxicité induite par les aminoglycosides.

L'objectif de cette étude est de contribuer à l'analyse de l'effet protecteur de l'extrait méthanolique des feuilles et des glomérules d'*Acacia tortilis subsp raddiana* (Savi), sur la néphrotoxicité de GM. L'analyse phytochimique montre une composition riche en polyphénols ( $15,19 \pm 0,35$  mg EAG.g<sup>-1</sup> MVS), en flavonoïdes ( $4,57 \pm 0,0311$  mg EQ.g<sup>-1</sup> MVS) et en anthocyanes ( $0,022 \pm 0,0036$  mg eq Cya-3-glc. g<sup>-1</sup> MVS) avec un rendement d'extraction de 14,8% et un pouvoir de piégeage des radicaux libres DPPH (IC<sub>50</sub>= 20mg.mL<sup>-1</sup>) comparativement à celui de Vit C (IC<sub>50</sub>=0,153 mg.mL<sup>-1</sup>).

L'effet néphroprotecteur a été évalué sur cinq groupes de souris de souches NMRI : (i) contrôle négatif (eau physiologique 0.9%) (ii) contrôle positif (GM (100 mg.kg<sup>-1</sup>PC) (iii) (GM +vit C (200 mg. Kg<sup>-1</sup>PC)), (iv) (GM+EAR (200 mg. Kg<sup>-1</sup> PC)), (v) (EAR (200mg. Kg<sup>-1</sup>PC)), durant 7 jours de traitement.

L'extrait d'*A raddiana* a agit sur les paramètres de stress oxydant par une augmentation hautement significative de taux des protéines totales (p<0,01), une réduction de la peroxydation lipidique de manière très hautement significative (p<0,001) et une amélioration considérable de l'activité de catalase (CAT) (p<0,05).

Le mécanisme de la toxicité à la gentamicine implique un processus inflammatoire, l'utilisation de l'extrait a permis une réduction de l'œdème de pattes induit par la carragénine avec 30,63%, effet comparable à celui exercé par le Diclofénac. De plus, l'étude histopathologique a montré une absence totale des lésions tissulaires chez les souris co-traitées à l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi).

Ces données montrent qu'*Acacia raddiana* (Savi) protège le rein de l'insuffisance rénale aiguë induite par la gentamicine en atténuant le stress oxydant, en réduisant l'inflammation et en maintenant l'intégrité histologique des cellules tubulaires rénales suscitant donc un espoir dans la prévention contre la néphrotoxicité induite par la gentamicine.

**Mots clés:** Gentamicine / Néphrotoxicité / Stress oxydant / Inflammation / *Acacia raddiana* (Savi) / Activité antioxydante.

# Abstract

---

Gentamicin (GM) is an antibiotic whose clinical use is limited by its nephrotoxicity. Experimental evidence suggests the involvement of reactive oxygen species (ROS) and inflammation in aminoglycoside-induced nephrotoxicity.

The objective of this study is to contribute to the analysis of the protective effect of the methanolic extract of leaves and glomeruli of *Acacia tortilis* subsp *raddiana* (Savi), on the nephrotoxicity of GM. Phytochemical analysis shows a composition rich in polyphenols ( $15,19 \pm 0,35$  mg EAG.g<sup>-1</sup> MVS), in flavonoids ( $4,57 \pm 0,0311$  mg EQ.g<sup>-1</sup> MVS) and in anthocyanins ( $0,022 \pm 0.0036$  mg eq Cya-3-glc, g<sup>-1</sup> MVS) with an extraction yield of 14.8% and a scavenging capacity of free radicals DPPH (IC<sub>50</sub> = 20mg.mL<sup>-1</sup>) compared to that of Vit C (IC<sub>50</sub> = 0.153 mg.mL<sup>-1</sup>).

The nephroprotective effect was evaluated on five groups of mice of NMRI strains : (i) negative control (physiological saline 0.9%) (ii) positive control (GM 100 mg.Kg<sup>-1</sup>PC) (iii) (GM + Vitamine C (200 mg. Kg<sup>-1</sup>PC), (iv) (GM + Extract of *Acacia raddiana* (200 mg .Kg<sup>-1</sup> PC)), (v) (Extract of *Acacia raddiana* (200 mg. Kg<sup>-1</sup> PC)), Once a day for 7days.

The *A. raddiana* extract influenced the oxidative stress parameters by a highly significant increase in total protein levels (p <0.01), a very highly reduction of lipid peroxidation (p <0.001) and a considerable improvement in catalase activity (CAT) (p <0.05).

The mechanism of gentamicin toxicity involves an inflammatory process. The use of the extract allowed a reduction of carrageenan induced leg edema with 30.63%, compared effect to that exerted by Diclofenac. In addition, the histopathological study showed a total absence of tissue lesions in mice co-treated with *Acacia raddiana* extract (Savi).

These data showed that *Acacia raddiana* (Savi) protects the kidney from acute gentamicin-induced renal failure by mitigating oxidative stress, reducing inflammation, and maintaining the histological integrity of renal tubular cells, thereby raising hope in prevention against gentamicin-induced nephrotoxicity.

**Key Words** : Gentamicin / Nephrotoxicity / Oxidative stress / Inflammation / *Acacia raddiana* (Savi) / Antioxidant activity

## ملخص

جنتاميسين (GM) هو مضاد حيوي حيث يقتصر استخدامه السريري على تسمم كلوي. تشير الأدلة التجريبية إلى مساهمة أنواع الأكسجين التفاعلية والالتهاب في السمية الكلوية التي يسببها الأمينوغليكوزيد.

الهدف من هذه الدراسة هو المساهمة في تحليل التأثير الوقائي للمستخلص الميثانولي للأوراق وكبيبات أكاسيا راديانا *Acacia tortilis subsp raddiana* (Savi) ، على السمية الكلوية لجنتاميسين. يُظهر التحليل الكيميائي النباتي تركيبة غنية بالبوليفينول (EAG.g-1 MVS  $0.35 \pm 15.19$ ) ، في مركبات الفلافونويد ( $0.0311 \pm 4.57$  ملغ EQ.g-1 MVS) وفي الأنثوسيانين ( $0.0036 \pm 0.022$  ملغ مكافئ Cya-3-glc ، g-1) مع عائد استخلاص يبلغ 14.8 % وقدرة مسح للجذور الحرة DPPH ( $IC_{50}=20\text{mg.mL}^{-1}$ ) مقارنة مع فيتامين C ( $IC_{50}=0.153\text{mg.mL}^{-1}$ ).

تم تقييم التأثير الكلي على خمس مجموعات من الفئران من سلالات NMRI : (i) مجموعة سلبية (ماء فسيولوجي 0.9 %) (ii) مجموعة إيجابية (100GM ملغ. كغ<sup>-1</sup>) (iii) (فيتامين C 200ملغ.كغ<sup>-1</sup> GM+) (iv) مقتطف من أكاسيا راديانا (200 ملغ. كغ<sup>-1</sup>) (v) (مستخلص *Acacia raddiana* 200ملغ.كغ<sup>-1</sup>) ، مرة واحدة يوميًا لـ 7 أيام.

لقد أثر مستخلص *A.raddiana* على معاملات الإجهاد التأكسدي بزيادة كبيرة للغاية في مستويات البروتين الكلية ( $P < 0.01$ ) ، وتخفيض كبير للغاية في بيروكسيد الدهون ( $P < 0.001$ ) وتحسين كبير في نشاط الكاتالاز. ( $p < 0.05$ ).

تنطوي آلية سمية الجنتاميسين على عملية التهابية. سمح استخدام المستخلص بتخفيض وذمة الساق المستحثة بالكاراجينان بنسبة 30.63 % ، مقارنةً بالتأثير الذي تمارسه ديكلوفيناك. بالإضافة إلى ذلك ، أظهرت دراسة التشريح المرضي الغياب التام لأفات الأنسجة في الفئران التي تمت معالجتها مع مستخلص أكاسيا راديانا (سافي).

أظهرت هذه البيانات أن أكاسيا راديانا (سافي) يحمي الكلى من الفشل الكلوي الحاد الناتج عن الجنتاميسين عن طريق التخفيف من الإجهاد التأكسدي ، وتقليل الالتهاب ، والحفاظ على السلامة النسيجية للخلايا الأنبوبية الكلوية ، وبالتالي رفع الأمل في الوقاية من السمية الكلوية التي يسببها الجنتاميسين.

**الكلمات الأساسية:** جنتاميسين/ السمية الكلوية / الاكسدة / التهاب / أكاسيا راديانا (سافي) / نشاط مضاد الأكسدة.

# Liste des abréviations

---

|                                 |  |
|---------------------------------|--|
| ATP :                           | Adénosine triphosphate                           |
| BSA :                           | Sérum Albumine bovine                            |
| BTP :                           | B-trace protein                                  |
| CAT :                           | Catalase   |
| Cyr6 :                          | Cysteine -rich protein 61                        |
| DFG :                           | Débit de filtration glomérulaire                 |
| DPPH :                          | 2,2'-diphenyle-1-picryl hydrazyl                 |
| DSR :                           | Débit sanguin rénal                              |
| ERA :                           | Espèces Réactives de l'Azotes                    |
| EROs :                          | Espèces Réactives de l'Oxygène                   |
| $\gamma$ GT :                   | Gamma-glutamyltranspeptidase                     |
| GM :                            | Gentamicine                                      |
| GPx :                           | Glutathion Peroxydase                            |
| GSH :                           | Glutathion                                       |
| GST :                           | Glutathion S-transférase                         |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : | Peroxyde D'hydrogène                             |
| IL :                            | Interleukine                                     |
| iNOS :                          | Oxyde Nitrique Synthase Inductible               |
| IR :                            | Insuffisance rénale                              |
| IRA :                           | Insuffisance rénale aiguë                        |
| IRC :                           | Insuffisance rénale chronique                    |
| kDa :                           | kilodaltons                                      |
| Kf :                            | Coefficient d'ultrafiltration                    |
| KIM-1 :                         | Kidney Injury Molecule-1                         |
| MDA :                           | Malondialdéhyde                                  |
| MVS :                           | Matière végétale sèche                           |
| NAG :                           | N-acétylglutamate synthase                       |
| NGAL :                          | Neutrophil gelatinase-associated lipocalin       |
| NHE3 :                          | Sodium-hydrogen antiporter 3                     |
| OMS :                           | Organisation mondiale de la santé                |
| ONAB :                          | Office National des Aliments de Bétail           |
| PAF :                           | Facteur activateur plaquettaire                  |
| PAL :                           | Phosphatases alcalines                           |
| PM :                            | Poids moléculaire                                |
| RBP :                           | Retinol binding protein                          |
| SOD :                           | Superoxyde Dismutase                             |
| TBA :                           | Acide Thiobarbiturique                           |
| TBARS :                         | Substances Réactives de l'Acide Thiobarbiturique |
| TCP :                           | Tubes contournés proximaux                       |
| TFG :                           | Taux de filtration glomérulaire                  |
| TIM-1 :                         | T-cell immunoglobulin and mucin domain 1         |
| TNF- $\alpha$ :                 | Facteur de nécrose tumorale                      |

# Liste des Figures

---

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Figure 1</b> : Anatomie et vascularisation rénale  | <b>3</b>  |
| <b>Figure 2</b> : Topographie de néphron  | <b>4</b>  |
| <b>Figure 3</b> : Etiologies de l'insuffisance rénale aiguë   | <b>7</b>  |
| <b>Figure 4</b> : Structure chimique de la gentamicine  | <b>8</b>  |
| <b>Figure 5</b> : Mécanisme d'action des aminosides   | <b>10</b> |
| <b>Figure 6</b> : Rôle pathologique d'espèces réactives de l'oxygène dans l'induction de la néphrotoxicité de la gentamicine  | <b>12</b> |
| <b>Figure 7</b> : Photographie d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi)   | <b>15</b> |
| <b>Figure 8</b> : Photographies des parties étudiées d' <i>Acacia raddiana</i>  | <b>18</b> |
| <b>Figure 9</b> : Présentation d'un lot des souris  | <b>18</b> |
| <b>Figure 10</b> : Interaction des ions de cuivre avec les protéines  | <b>22</b> |
| <b>Figure 11</b> : Le mécanisme de la quantification de la réaction de TBARS  | <b>24</b> |
| <b>Figure 12</b> : Photographie d'injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche   | <b>26</b> |
| <b>Figure 13</b> : photographie du découpage des pattes postérieures à hauteur de l'articulation  | <b>26</b> |
| <b>Figure 14</b> : Pourcentage de réduction du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi)   | <b>31</b> |
| <b>Figure 15</b> : Pourcentage de réduction du DPPH en fonction de la concentration de l'Acide ascorbique   | <b>31</b> |
| <b>Figure 16</b> : Effet de la gentamicine et l'extrait d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi) sur la teneur en protéines totales   | <b>32</b> |
| <b>Figure 17</b> : Effet de la Gentamicine® sur le taux de malondialdéhyde (MDA) dans les reins des souris  | <b>34</b> |
| <b>Figure 18</b> : Effet de la Gentamicine® sur l'activité de la catalase dans les reins des souris   | <b>35</b> |
| <b>Figure 19</b> : Effet de la co-administration de l'extrait d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi) et de l'acide ascorbique (Vitamine C) sur la peroxydation lipidique (MDA)      | <b>37</b> |
| <b>Figure 20</b> : Effet de la co-administration de l'extrait d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi) et de l'acide ascorbique (Vitamine C) sur l'activité de la catalase            | <b>39</b> |
| <b>Figure 21</b> : Photomicrographie d'une coupe histologique de rein colorée par H&E chez des souris NMRI du groupe témoin   | <b>42</b> |
| <b>Figure 22</b> : Photomicrographie d'une coupe histologique de rein colorée par H&E chez des souris NMRI du groupe traité par GM uniquement                                 | <b>42</b> |
| <b>Figure 23</b> : Photomicrographie d'une coupe histologique de rein colorée par H&E chez des souris NMRI du groupe traité par GM + VitC (200mg.Kg <sup>-1</sup> P.C)        | <b>43</b> |
| <b>Figure 24</b> : Photomicrographie d'une coupe histologique de rein colorée par H&E chez des souris NMRI du groupe traité par GM +EAR (200mg.Kg <sup>-1</sup> P.C)          | <b>43</b> |
| <b>Figure 25</b> : Photomicrographie d'une coupe histologique de rein colorée par H&E chez des souris NMRI du groupe traité par l'EAR uniquement (200mg.Kg <sup>-1</sup> P.C) | <b>43</b> |
| <b>Figure 26</b> : Représentation schématique du mécanisme d'action possible de l'EMAR contre la néphrotoxicité induite par la Gentamicine                                    | <b>47</b> |

# Liste des Tableaux

---

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Tableau I :</b> Potentiel thérapeutique pharmacologique de l' <i>Acacia tortilis</i>  | <b>17</b> |
| <b>Tableau II :</b> Rendement en polyphénols de l'extrait méthanolique d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi)                                  | <b>28</b> |
| <b>Tableau III :</b> L'effet de l'extrait méthanolique d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi) sur l'œdème des pattes induit par la Carragénine | <b>44</b> |

# Glossaire

---

**Glomérulonéphrite** : Est une affection (souvent d'origine inflammatoire) du glomérule, composante du néphron. Ses manifestations affectent les deux reins de manière égale. Elle peut être asymptomatique, mais le plus souvent elle est responsable d'hématurie et/ou de protéinurie.

**La néphrite interstitielle** : Egalement appelée néphrite tubulo-interstitielle, est une inflammation de la région du rein appelée interstitium, qui consiste en un ensemble de cellules, de matrice extracellulaire et de liquide entourant les tubules rénaux.

**La pyélonéphrite chronique** : Est une infection à pyogène continue du rein qui ne se manifeste presque exclusivement que chez le patient présentant des anomalies anatomiques importantes.

**Polykystose** : Est la plus fréquente des maladies héréditaires monogéniques du rein. Elle se caractérise par l'apparition lente et progressive de kystes principalement au niveau des reins.

**Syndrome de levée d'obstacle** : Il s'agit d'une polyurie parfois très importante faisant suite au traitement par drainage d'une insuffisance rénale obstructive et pouvant aboutir à une déshydratation, voire un état de choc, et à une insuffisance rénale aiguë fonctionnelle.

**Volémie** : Est le volume total de sang circulant dans l'organisme, elle est répartie en volume plasmatique et volume globulaire.

**Phéophytine** : Est une chlorophylle dépourvue de son cation central de magnésium  $Mg^{2+}$ . La phéophytine *a* est la plus commune, correspondant à la chlorophylle *a* qui est le principal pigment photosynthétique.

# Sommaire

---

|   |                                 |
|---|---------------------------------|
| Résumé  |                                 |
| Abstract  |                                 |
| ملخص  |                                 |
| Liste des Abréviations  |                                 |
| Liste des Figures   |                                 |
| Liste des Tableaux  |                                 |
| Glossaire   |                                 |
| <b>Introduction</b>   | <b>1</b>                        |
|   |                                 |
|   | <b>Rappels bibliographiques</b> |
| I. Le rein  | 3                               |
| I.1. Généralité   | 3                               |
| I.1.1. Définition   | 3                               |
| I.2. Rappel sommaire de l'anatomie rénale                                   | 3                               |
| I.2.1. La vascularisation rénale  | 3                               |
| I.3. Microanatomie rénale (Le néphron)                                      | 4                               |
| I.3.1. Le corpuscule rénal  | 4                               |
| I.3.2. Le tubule rénal  | 4                               |
| I.4. Physiologie rénale   | 5                               |
| I.4.1. Processus de transport dans le néphron                               | 5                               |
| I.4.1.1. La Filtration  | 5                               |
| A. Filtration glomérulaire et débit sanguin rénal                           | 5                               |
| I.4.1.2. Réabsorption   | 5                               |
| I.4.1.3. Sécrétion  | 5                               |
| I.4.2. Rôle endocrine du rein   | 5                               |
| I.4.3. Fonction métabolique   | 6                               |
| II. La toxicité rénale  | 6                               |
| II.1. Néphropathies d'origine toxique                                       | 6                               |
| II.2. Insuffisance rénale   | 6                               |
| II.2.1. Définition  | 6                               |
| II.2.2. Types d'insuffisance rénale   | 6                               |
| II.2.2.1. Insuffisance rénale aiguë (IRA)                                   | 6                               |
| II.2.2.2. Insuffisance rénale chronique (IRC)                               | 7                               |
| II.2.3. Étiologie de l'insuffisance rénale                                  | 7                               |
| III. Modèle de néphrotoxicité : Gentamicine                                 | 8                               |
| III.1. La gentamicine   | 8                               |
| III.1.1. Généralité   | 8                               |
| III.1.2. Structure et propriétés chimiques                                  | 8                               |
| III.1.3. Pharmacologie de la gentamicine                                    | 9                               |
| III.1.3.1. Pharmacocinétique  | 9                               |
| III.1.3.1.1. Absorption   | 9                               |
| III.1.3.1.2. Distribution et métabolisme                                    | 9                               |
| III.1.3.1.3. Élimination  | 9                               |
| III.1.3.2. Pharmacodynamique  | 9                               |
| III.1.3.2.1. Effet post-antibiotique  | 9                               |
| III.1.4. Mécanisme de la néphrotoxicité induite par la gentamicine          | 10                              |
| III.1.4.1. Les effets tubulaires  | 10                              |
| A. Induction de l'apoptose et la nécrose des cellules tubulaires proximales | 10                              |
| B. Augmentation de la phospholipidose et les atteintes lysosomales          | 10                              |
| C. Les lésions et les atteintes mitochondriales                             | 11                              |
| D. L'inhibition de la $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase                       | 11                              |

|  |    |
|--|----|
| III.1.4.2. Les effets glomérulaires  | 11 |
| A. La prolifération, l'apoptose des glomérules rénaux et l'augmentation de l'augmentation de la contraction des cellules mésangiales | 11 |
| III.1.4.3. Les effets vasculaires  | 12 |
| III.1.4.5. La gentamicine induit le stress oxydatif et l'inflammation  | 12 |
| III.1.5. Les biomarqueurs de la néphrotoxicité   | 13 |
| III.1.5.1. Les nouveaux biomarqueurs   | 13 |
| A. Protéines de haut poids moléculaire   | 13 |
| B. Protéines de bas poids moléculaire  | 13 |
| C. Protéines à activité enzymatique  | 14 |
| D. Marqueurs de l'inflammation/cytokines   | 14 |
| E. Protéines surexprimées en cas de souffrance tubulaire   | 14 |
| III.1.6. Autres toxicités de la gentamicine  | 14 |
| III.1.6.1. Ototoxicité et perturbation de la conduction nerveuse   | 14 |
| IV. L'espèce étudiée : <i>Acacia raddiana</i> (Savi)   | 15 |
| IV.1. Généralité   | 15 |
| IV.2. Systématique de l'espèce   | 15 |
| IV.3. Répartition géographique   | 15 |
| IV.4. Composition chimique   | 16 |
| IV.5. Propriétés thérapeutiques  | 16 |

## **Matériel & méthodes**

|  |    |
|--|----|
| I. Matériel  | 18 |
| 1. Matériel végétal  | 18 |
| 2. Matériel animal   | 18 |
| 3. Réactifs chimiques et matériel instrumental                               | 18 |
| II. Méthodes   | 18 |
| 1. Préparation de l'extrait méthanolique de l' <i>Acacia raddiana</i> (Savi) | 18 |
| 1.1. Broyage et tamisage   | 18 |
| 1.2. Macération  | 19 |
| 2. Analyse phytochimique   | 19 |
| 2.1. Extraction des polyphénols et des flavonoïdes totaux                    | 19 |
| 2.2. Dosage des polyphénols totaux   | 19 |
| 2.2.1. Principe  | 19 |
| 2.2.2. Méthode de dosage   | 19 |
| 2.3. Dosage des flavonoïdes totaux   | 20 |
| 2.4. Extraction et dosage des anthocyanes totaux                             | 20 |
| 3. L'activité anti-radicalaire (DPPH)  | 20 |
| 3.1. Méthode de dosage   | 20 |
| 3.2. Expression des résultats  | 21 |
| 4. Induction de la néphrotoxicité par la gentamicine                         | 21 |
| 4.1. Traitement des animaux  | 21 |
| 4.2. Sacrifice des animaux, récupération des reins                           | 21 |
| 4.3. Préparation de l'homogénat tissulaire                                   | 22 |
| 5. Dosage Des Protéines par la méthode de Lowry (Lowry <i>et al.</i> , 1951) | 22 |
| 5.1. Extraction des protéines (Munro et Downie, 1964)                        | 22 |
| 5.2. Préparation de la solution de dosage                                    | 23 |
| 5.3. Méthode de dosage   | 23 |
| 6. Dosage de l'activité de la catalase cytosolique                           | 23 |
| 7. Dosage du malondialdéhyde (MDA)   | 23 |
| 7.1. Méthode de dosage   | 24 |
| 8. Réalisation des coupes Histologiques                                      | 24 |

|  |    |
|--|----|
| 8.1. La fixation   | 24 |
| 8.2. Lavage, déshydratation et éclaircissement   | 24 |
| 8.3. L'inclusion   | 24 |
| 8.4. Construction des blocs  | 25 |
| 8.5. Préparation des coupes, étalement sur lame  | 25 |
| 8.6. La coloration   | 25 |
| 8.7. L'étude microscopique   | 25 |
| 9. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo (Test d'induction d'œdème à la carragénine) | 25 |
| 9.1. Mode opératoire   | 25 |
| 9.2. Evaluation des résultats de l'effet anti-inflammatoire  | 26 |
| 10. Analyse statistique  | 27 |

## **Résultats & discussions**

|   |    |
|---|----|
| I. Caractérisation phytochimique  | 28 |
| I.1. Rendement de l'extrait méthanolique d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi)   | 28 |
| I.2. Dosage des polyphénols totaux  | 29 |
| I.3. Dosage des flavonoïdes totaux  | 29 |
| I.4. Dosage des anthocyanes totaux  | 30 |
| II. Evaluation de l'activité anti-radicaire par le test de DPPH   | 30 |
| III. Évaluation de la néphrotoxicité de la Gentamicine et l'effet néphroprotecteur de l'extrait méthanolique d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi) | 32 |
| III.1. Effet de la gentamicine et l'extrait d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi) sur la teneur en protéines totales                               | 32 |
| III.2. Effet de la Gentamicine sur les paramètres du stress oxydant   | 33 |
| III.2.1. Effet de la Gentamicine sur la peroxydation lipidique (MDA)  | 33 |
| III.2.2. Effet de la gentamicine sur l'activité de la catalase (CAT)  | 35 |
| III.3. Effet de l'extrait méthanolique d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi) sur les Paramètres du stress oxydant                                  | 37 |
| III.3.1. Effet de l'extrait d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi) sur la peroxydation lipidique (MDA)  | 37 |
| III.3.2. Effet de l'extrait d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi) sur l'activité de la catalase  | 39 |
| IV. Etude histologique  | 41 |
| V. Activité anti-inflammatoire in vivo (Œdème des pattes induit par la carragénine chez la souris)  | 44 |
| VI. Mécanisme néphroprotecteur de l'extrait d' <i>Acacia raddiana</i> (Savi) contre la néphrotoxicité induite par la Gentamicine              | 46 |
| <b>Conclusion &amp; Perspectives</b>  | 48 |
| <b>Références bibliographiques</b>  | 50 |
| <b>Annexes</b>  |    |

Les reins sont très importants pour la santé humaine vu leur rôle majeur dans l'organisme. Ils rentrent dans, l'épuration du sang de ses déchets en excréant l'urine, le maintien de l'équilibre acido-basique et hémostasie et la production des hormones qui contrôlent d'autres fonctions de l'organisme (Wheater *et al.*, 2001).

Cependant ils sont des principaux organes cibles de la toxicité induite par les xénobiotiques du fait de ses fonctions de filtration, transport, réabsorption, et métabolisme de substances chimiques alors que les néphrotoxicités d'origine iatrogène, professionnelle ou environnementale seraient l'étiologie la plus fréquente d'atteinte rénale aigue dans la population générale. Elles sont généralement provoquées par l'usage des médicaments ou par une infection (Gueguen *et al.*, 2012).

Les aminosides sont une catégorie d'antibiotiques bactéricides réservés à des infections généralement sévères (Buxeraud et Faure, 2016). La gentamicine qui appartient aux aminoglycosides, elle se fixe de façon irréversible sur le ribosome des bactéries et inhibe la traduction en provoquant des erreurs de lecture de l'ARN messenger (Sedrati, 2014).

La gentamicine est un médicament dont les propriétés néphrotoxiques sont actuellement bien connues dont la voie rénale est la voie essentielle de son élimination (Ali, 1995). Il provoque une néphrotoxicité dose-dépendante qui se manifeste aux doses thérapeutiques les plus faibles et représente 10-15% de tous les cas d'insuffisance rénale aiguë (Morales *et al.*, 2010 ; Ramhariya *et al.*, 2015). La spécificité de la gentamicine en ce qui concerne la néphrotoxicité est due à son accumulation préférentielle dans les tubules contournés proximaux (Rodrigues *et al.*, 2014).

La néphrotoxicité aux aminosides a été considéré comme résultat principal des dommages tubulaires et des altérations sublétales des cellules tubulaires qui handicapent la réabsorption et dans les cas graves elle peut conduire à une obstruction tubulaire. Ainsi, une filtration glomérulaire réduite est nécessaire pour expliquer les symptômes néphrotoxiques où le dysfonctionnement tubulaire entraîne une vasoconstriction rénale et contraction des cellules mésangiales (Lopez-Novoa *et al.*, 2011).

Des données cliniques ont montré que la gentamicine augmente directement la production de ERO (Espèces Réactives d'Oxygène) mitochondriales, qui sont capables d'endommager de nombreuses molécules cellulaires, notamment protéines, lipides et acides nucléiques, altérant ainsi la fonction cellulaire, conduisant à l'apoptose, contribuant à la contraction vasculaire et des cellules mésangiales et participant à l'inflammation (Morales *et al.*, 2010).

Une réponse inflammatoire est impliquée dans la néphrotoxicité induite par la gentamicine, avec une infiltration cellulaire, activation des cellules résidentes, par l'augmentation de la production de cytokines, et l'hyperperméabilité capillaire (Kourilsky *et al.*, 1982 ; Geleilete *et al.*, 2002).

Généralement, les divers moyens de protection des lésions rénales induites par la gentamicine inhibent généralement les réponses inflammatoires (Bledsoe *et al.*, 2006). Dont la plupart des chercheurs ont se concentré sur l'usage des antioxydants où des travaux ont montré que les agents antioxydants ont inhibé ou atténué la néphrotoxicité par l'amélioration des blessures histologiques comme la nécrose tubulaires, l'œdème et l'apoptose des cellules tubulaires sur les rats injecté avec la gentamicine (Tavafi et Ahmadvand, 2011 ; Tavafi *et al.*, 2012 ; Amini *et al.*, 2012).

En Algérie *Acacia raddiana* (Savi) a une aire de répartition s'étalant sur les régions du Sahara occidental et central, elle représente une sous-espèce qui appartient au genre *Acacia*, famille des Fabaceae, sous-famille de Mimosoideae (Pottier-Alapetite, 1979 ; Fagg, 1991).

L'utilisation d'*A.raddiana* (Savi) dans le domaine thérapeutique est très vaste d'où sa richesse avec des acides phénoliques, flavonoïdes, tannins, alcaloïdes et terpènes qui sont responsables pour nombreux effets pharmacologiques : exposition hypoglycémique, activité anti-inflammatoire, antibactérienne, anti-agrégation plaquettaire, analgésique, anticancéreux, anti-hypertension et anti-athérosclérotique (Subhan *et al.*, 2018).

Le but de notre étude est d'évaluer l'effet néphroprotecteur de l'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi) sur la néphrotoxicité induite par la gentamicine.

Ce travail est réparti en trois sections comme suit :

- Le premier chapitre est consacré sur le rappel bibliographique et divisé en trois parties. La première partie porte l'étude sur la physiologie et physiopathologie de reins, la seconde partie sur l'étude de la gentamicine en tant que modèle de la néphrotoxicité, et la dernière partie sur l'étude des propriétés chimiques, composés phénoliques et les propriétés thérapeutiques de l'*Acacia raddiana* (Savi).
- Le second chapitre est réservé au matériel et méthodes utilisées lors du travail expérimental.
- Le dernier chapitre est consacré aux résultats et discussion.

## I. Le rein

### I.1. Généralité

#### I.1.1. Définition

Les reins sont les organes responsables de l'élimination urinaire des toxines urémiques et de la régulation de plusieurs systèmes de l'organisme comme la volémie intra et extracellulaire, l'état acido-basique, le métabolisme phosphocalcique ou l'érythropoïèse. Ils adaptent quantitativement et qualitativement à la composition de l'urine afin de garder ces systèmes en équilibre (Gueutin *et al.*,2011).

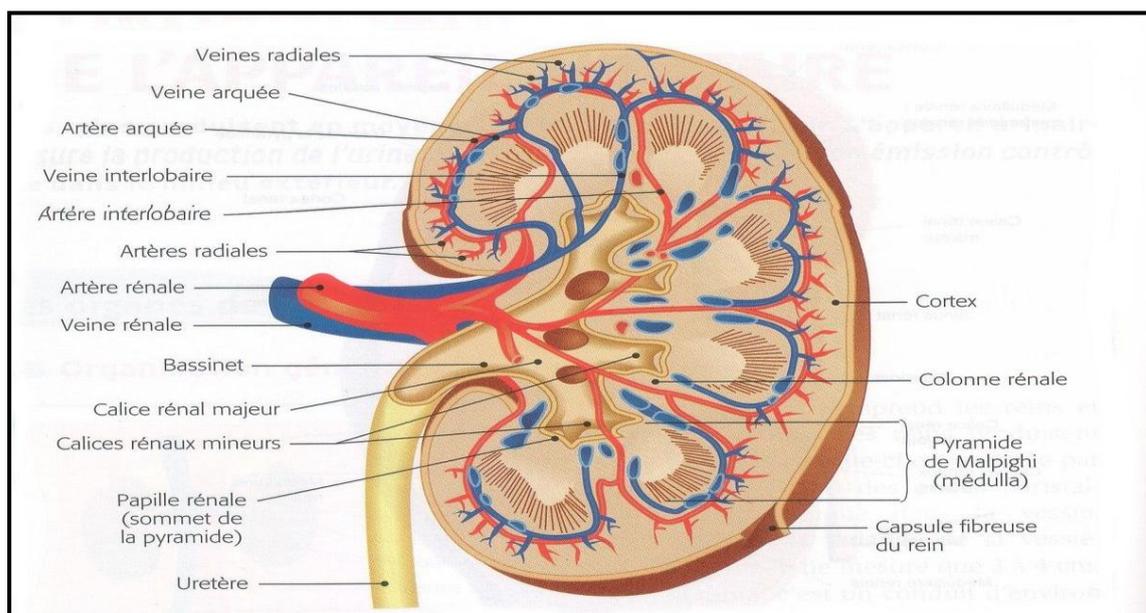
### I.2. Rappel sommaire de l'anatomie rénale

Les reins sont au nombre de deux, un rein droit et un rein gauche, de couleur rougeâtre. Ils ont une situation abdominale, sous-diaphragmatique, au niveau des fosses lombaires, dans le rétropéritoine (Boubchir, 2002 ; Brunner *et al.*, 2011 ; Gueutin *et al.*,2011). Chaque rein pèse 120-150 grammes en moyenne chez l'adulte et mesure environ 12 cm de longueur, 6 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur, et ont une forme d'haricot ( Gueutin *et al.*,2011 ; Jackie et Taylor, 2012).

De l'extérieur vers l'intérieur, il se retrouve le fascia rénal, la graisse périrénale, la capsule rénale, le cortex, la médullaire et les voies urinaires (Figure 1) (Gueutin *et al.*,2011).

#### I.2.1. La vascularisation rénale

Elle représente 20 % à 25 % du débit cardiaque. Les deux reins sont vascularisés par une artère rénale principale, parfois avec une artère polaire supplémentaire. L'artère rénale principale donne naissance aux artères segmentaires, puis dans le rein aux artères interlobaires, puis aux artères arquées et enfin aux artères interlobulaires. Ces artères se ramifient enfin en artères glomérulaires afférentes qui vont apporter le sang nécessaire à la filtration dans le glomérule (Figure 1) (Gueutin *et al.*,2011 ; Meltzer, 2019).



**Figure 1 : Anatomie et vascularisation rénale (2018, [www.toutsurlatransfusion.com/transfusionsanguine/medecinetransfusionnelle/organes-et-le-sang.php](http://www.toutsurlatransfusion.com/transfusionsanguine/medecinetransfusionnelle/organes-et-le-sang.php))**

### I.3. Microanatomie rénale (Le néphron)

Chacun des deux reins possède une moyenne de 600.000 à 1.400.000 de structure tubulaire nommée néphron qui contient une série de segments histologiquement distincts qui modifient la concentration et le contenu de l'urine (Kelly et Landman, 2012).

Les néphrons qui sont l'unité fonctionnelle du rein sont classés en deux types topographiques principaux. Environ 25% d'entre eux (appelés néphrons juxtamédullaires) commencent près de la frontière corticomédullaire et envoient leurs anses de Henlé profondément dans la médulla. Ce sont les néphrons qui alimentent le fort gradient osmotique dans la moelle. Les principaux néphrons (néphrons corticaux) sont situés plus loin de la bordure médullaire et ils n'envoient pas leurs boucles de Henlé aussi profondément dans la médulle que les néphrons juxtamédullaires. Chaque néphron comprend deux parties principales, le corpuscule rénal et le tubule rénal (Figure 2) (Silbernagl et Despopoulos, 2001 ; Henry et Sèbe, 2008 ; Bruce et Carlson, 2019).

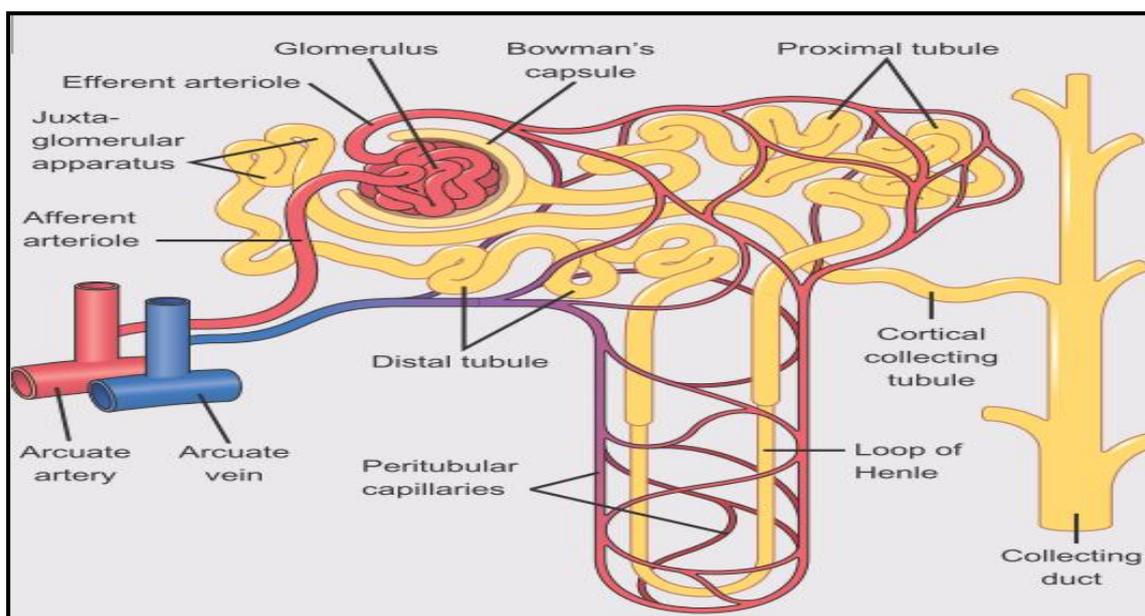


Figure 2 : Topographie de néphron (Guyton et Hall, 2016)

#### I.3.1. Le corpuscule rénal

Le corpuscule rénal est lui aussi constitué de deux parties : la capsule glomérulaire (ou capsule de Bowman) et le glomérule qui forme l'urine primitive par filtration du sang (Ferrera et Caro, 2007 ; Henry et Sèbe, 2008) .

Il a comme fonction essentielle d'assurer à la fois une haute perméabilité à l'eau et aux solutés de faible poids moléculaire (PM) ainsi qu'une restriction sélective au passage des molécules de PM plus important (au-delà de 60kDa) et aux éléments figurés de sang (Tryggvason *et al.*, 2006).

#### I.3.2. Le tubule rénal

Le tubule rénal comprend trois segments : un tubule rénal contourné proximal, au contact du corpuscule rénal, puis des tubules rénaux droits descendant et ascendant qui constituent l'anse du néphron (ou anse de Henlé), et enfin un tubule contourné distal qui se jette dans un tubule collecteur. Ces trois segments sont responsable de l'élaboration de l'urine définitive par réabsorption et sécrétion (Ferrera et Caro, 2007 ; Henry et Sèbe, 2008).

## I.4. Physiologie rénale

### I.4.1. Processus de transport dans le néphron

Au niveau néphrotique s'assurent trois processus par lesquels les reins ajustent la composition de plasma, la filtration, la réabsorption, et la sécrétion tubulaires.

#### I.4.1.1. La Filtration

La filtration est un processus passif et sélectif. Elle se déroule au niveau de parois des capillaires et des pores de la capsule glomérulaire rénale (Marieb, 2000). Elle consiste en un mécanisme d'ultrafiltration par le transfert de l'eau et des substances dissoutes le long d'un gradient de pression hydrostatique à travers une membrane semi-perméable (Dequiedt, 2011).

#### A. Filtration glomérulaire et débit sanguin rénal

Le débit de filtration glomérulaire (DFG) est le volume de liquide filtré par les reins en dépendance au nombre des néphrons fonctionnels et le débit sanguin rénal (DSR) correspondent au volume de sang délivré aux reins par unité de temps (Beloncle *et al.*, 2014).

Le filtrat formé est essentiellement du plasma sanguin dépourvu des protéines plasmatiques et des éléments figurés du sang (Marieb, 2000).

Le débit sanguin rénal ou le flux sanguin rénal qui constitue environ 20 à 25 % de débit cardiaque sert en premier lieu à l'obtention de taux de filtration glomérulaire (TFG) élevé (120 ml/min) (Silbernagl et Despopoulos, 2001).

#### I.4.1.2. Réabsorption

La réabsorption tubulaire correspond au passage de substances de la lumière tubulaire vers les capillaires péri-tubulaires (Nguyen *et al.*, 2008). C'est une modification tubulaire de l'ultrafiltrat glomérulaire ayant essentiellement le but de récupérer des substances indispensables dans la circulation sanguine notamment l'eau et les électrolytes qui seraient perdues par la filtration glomérulaire (Dequiedt, 2011). Outre l'eau, de nombreuses substances organiques ( $\text{HCO}_3^-$ , glucose, acides aminés, acide urique, urée, lactate, vitamine C, peptides, et bien d'autres) et des substances inorganiques ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ...) subissent une réabsorption tubulaire (Silbernagl et Despopoulos, 2001).

#### I.4.1.3. Sécrétion

La sécrétion tubulaire est un transport par l'épithélium au même titre que la réabsorption mais elle a lieu en sens opposé. Il s'agit donc d'un transfert individuel des capillaires tubulaires vers la lumière de tubule de certaines substances accélérant leur élimination hors de l'organisme (Sherwood, 2015). La sécrétion s'effectue le long des tubules rénaux et des tubules rénaux collecteurs par diffusion passive ou transport actif (Tortora et Derrickson, 2017).

### I.4.2. Rôle endocrine du rein

A côté de fonctions excrétrices urinaires, le rein possède plusieurs fonctions endocrines présentées par la production d'une grande variété de substances hormonales telles que l'érythropoïétine, la forme active de la vitamine D, la rénine, l'angiotensine II et plusieurs autres hormones vasoactives (Querin et Valiquette, 2000).

### I.4.3. Fonction métabolique

Avec le foie, les reins sont les seuls organes capables d'effectuer la néoglucogenèse. En cas de jeûne prolongé, le rein peut assurer jusqu'à 50 % de la néoglucogenèse (Ader *et al.*, 2003 ; Daroux *et al.*, 2009).

## II. La toxicité rénale

Le rein constitue l'un des principaux organes cibles de la toxicité induite par les xénobiotiques du fait de ses fonctions de filtration, transport, réabsorption et métabolisme de substances chimiques. De plus, certaines régions du rein ont des taux considérables d'enzymes métabolisant les xénobiotiques, en particulier le cytochrome P450 dans la partie droite du tubule proximal, une région particulièrement sensible aux dommages chimiques (Joan *et al.*, 2011).

Les reins reçoivent environ 25% du débit cardiaque au repos. en conséquence, les reins recevront des concentrations de substances toxiques plus élevées que les tissus mal perfusés. En outre, de fortes concentrations de métabolites toxiques sont en contact étroit avec les cellules tubulaires en raison de la concentration de l'urine, en particulier pendant les périodes de privation de liquide. (Gueguen, 2012 ; Baudoux et Nortier, 2017).

### II.1. Néphropathies d'origine toxique

Selon la définition de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 1991, la néphrotoxicité désigne toute maladie ou tout dysfonctionnement rénal directement ou indirectement consécutif à l'exposition à des médicaments, des produits chimiques ou des agents toxiques industriels ou environnementaux (Baudoux et Nortier, 2017).

Les néphrotoxicités d'origine iatrogène, professionnelle ou environnementale seraient l'étiologie la plus fréquente d'atteinte rénale aiguë dans la population générale. L'exposition à ces substances néphrotoxiques peut induire des effets transitoires ou définitifs et concerner les structures glomérulaires, tubulaires et plus rarement le tissu interstitiel (Gueguen, 2012).

L'accumulation intracellulaire de substances toxiques dans les cellules épithéliales des tubules proximaux a été considérée comme la principale cause responsable des néphropathies conduisant à une insuffisance rénale aiguë, voir à une insuffisance rénale chronique (Russo, 2012).

### II.2. Insuffisance rénale

#### II.2.1. Définition

L'insuffisance rénale (IR) correspond à l'altération du fonctionnement des reins qui ne filtrent plus correctement le sang. il s'agit d'insuffisance rénale aiguë (IRA) lorsque le dysfonctionnement est transitoire et réversible, et d'insuffisance rénale chronique (IRC) lorsque la destruction est irréversible et perdure depuis plus de trois mois (Inserm, 2012).

#### II.2.2. Types d'insuffisance rénale

##### II.2.2.1. Insuffisance rénale aiguë (IRA)

L'IRA est habituellement définie comme une diminution brutale de la fonction rénale qui est responsable non seulement d'une rétention de toxines dites « urémiques » et d'autres déchets azotés, mais également d'une déréglementation de l'homéostasie des fluides extracellulaires et des électrolytes. Elle est généralement réversible spontanément ou par traitement de la cause. La

vitesse de récupération dépend de son origine. C'est l'une des manifestations les plus courantes de lésion néphrotoxique (Moonen *et al.*, 2011 ; Lautrette *et al.*, 2012).

### II.2.2.2. Insuffisance rénale chronique (IRC)

L'IRC est caractérisée par la perte progressive, permanente et irréversible des fonctions rénales (fonctions d'épuration, d'excrétion, de régulation et fonctions endocrines). (Legender, 2012 ; Lacour et Massy, 2013). Elle résulte d'une destruction anatomique irréversible des néphrons. Elle est la conséquence commune de la réduction irréversible du parenchyme rénal fonctionnel au cours de maladies très diverses affectant les reins ou les voies excrétrices (Jungers *et al.*, 2011).

Dans 80% des cas, l'IRC est la conséquence de néphropathies primitives relatives à des lésions glomérulaires (glomérulonéphrites primitives), interstitielles (néphrites interstitielles) ou vasculaires (néphropathies vasculaires) (Legender, 2012).

### II.2.3. Étiologie de l'insuffisance rénale

Les causes d'IRA sont généralement regroupées en trois grandes catégories (Figure 3) :

#### Post-rénale obstructive (10%)

Un obstacle sur les voies urinaires d'origine prostatique, lithiasique par une masse, une tumeur ou de la fibrose pelvienne (Roupret et Lefèvre, 2006).

#### Pré-rénale fonctionnelle (30%)

Secondaire à une hypoperfusion rénale par hémorragie, diarrhée, vomissements, brûlures, diabète, diurétique, IEC (inhibiteurs de l'enzyme de convention), syndrome de levée d'obstacle, état de choc, insuffisance cardiaque, hépatique ou syndrome néphrotique (Roupret et Lefèvre, 2006).

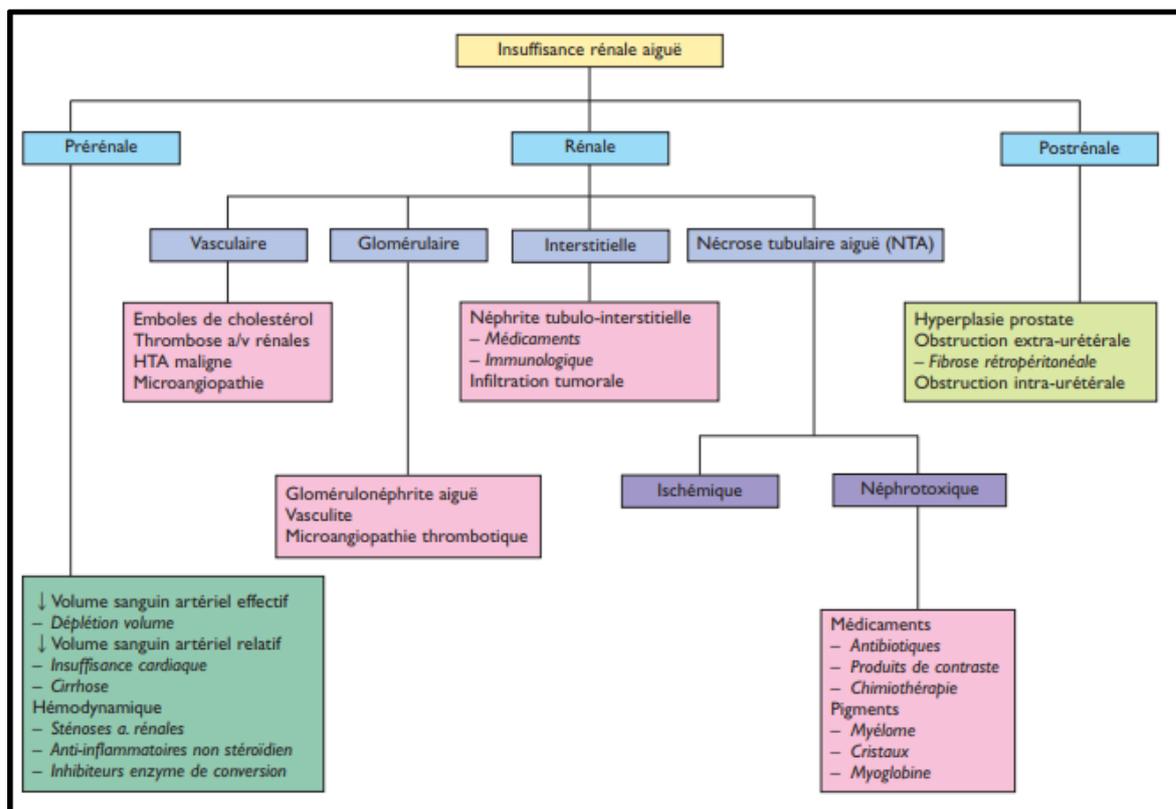


Figure 3 : Etiologies de l'insuffisance rénale aiguë (Ponte et Saudan, 2008)

**Rénale, Parenchymateuse organique (60%)** selon Roupret et Lefèvre ( 2006) par :

- Nécrose tubulaire, 80% : Lyse tumorale, antirétroviraux, myélome, choc, hémolyse, iatrogènes (aminosides, produit de contraste, chimiothérapie, ciclosporine, antibiotique, rhabdomyolyse).
- Néphropathie interstitielle, 10% : infections, immunoallergique, sarcoïdose.
- Néphropathie vasculaire, 5% : thrombose des veines ou des artères rénales.
- Glomérulonéphrite 5%.

Pour l'insuffisance rénale chronique on peut classer les étiologies par leur fréquence lors de l'hospitalisation de patients pour une au stade terminal (Maladies glomérulaire, Pyélonéphrites chronique, Néphropathies vasculaires, Polykystose, Néphropathies diabétiques) (Camps-Pradier, 2007).

### III. Modèle de néphrotoxicité : Gentamicine

#### III.1. La gentamicine

##### III.1.1. Généralité

La gentamicine (GM) est un aminoglycoside, utilisés cliniquement pour traiter les infections Gram-négatives et Gram-positives sévères (nosocomiales). Il a été isolé de *Micromonospora* en 1963, un genre de bactéries à Gram positif largement répandu dans l'eau et le sol. GM exerce une action bactéricide concentration-dépendante et est actif contre un large éventail d'espèces des bactéries à Gram négatif. (Kumana et Yuen, 1994 ; Changhua *et al.*, 2013).

##### III.1.2. Structure et propriétés chimiques

Le principe actif de la GM est un complexe formé d'oligosaccharides, dont le noyau est la désoxystreptamine. La gentamicine est un mélange formé de trois composants majeurs (C1, C1a et C2) ayant sensiblement la même activité (Figure 4). C'est un complexe basique hydrosoluble stable et très polaire (Weinstein *et al.*, 1963 ; Cutler *et al.*, 1972 ; Bochaton *et al.*, 1997 ; Plante, 2001).

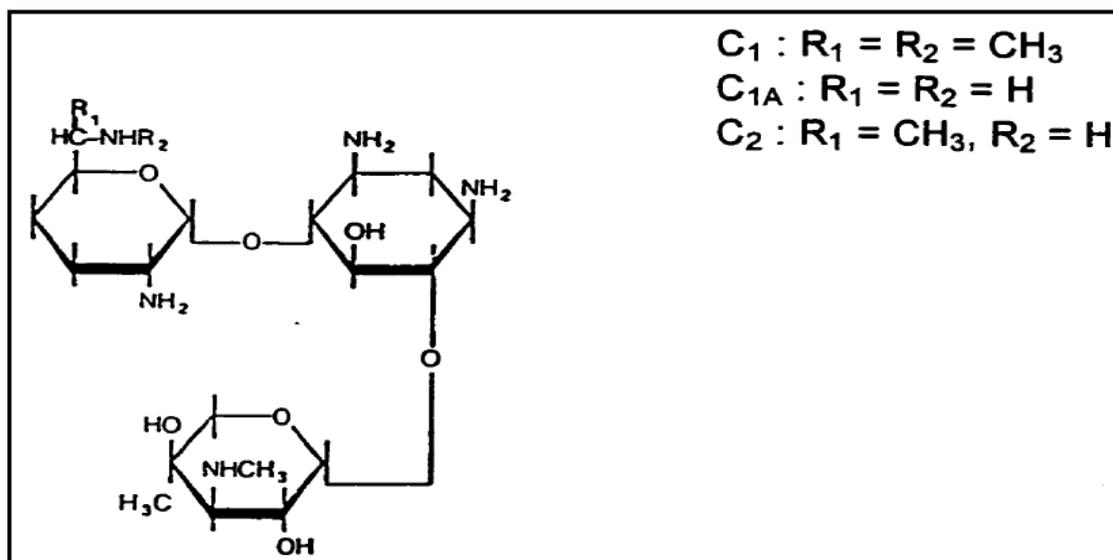


Figure 4 : Structure chimique de la gentamicine (Toumi, 2008)

### III.1.3. Pharmacologie de la gentamicine

#### III.1.3.1. Pharmacocinétique

##### III.1.3.1.1. Absorption

La gentamicine est polycationique à pH physiologique, ce qui la rend librement soluble dans l'eau et est donc mal absorbée par le tractus gastro-intestinal (Decker, 2018). Elle est donc administrée par voie intraveineuse, ou intramusculaire pour traiter les infections bactériennes. (Balakumar, 2010 ; Ramirez et Tolmasky, 2010 ; Craig, 2011).

##### III.1.3.1.2. Distribution et métabolisme

La polarité cationique élevée des aminosides empêche la majorité de la distribution intracellulaire. Ainsi, les concentrations d'aminosides dans les sécrétions et les tissus sont négligeables (Ali, 1995 ; Chambers, 2006). Ils diffusent relativement mal dans de nombreux tissus (graisse, os, muscles striés) Cependant, de hautes concentrations sont retrouvées dans le cortex rénal ainsi que dans l'endolymphe et la périlymphe de l'oreille interne, ce qui contribue à la néphrotoxicité et à l'ototoxicité causées par ces drogues (Davis *et al.*, 1984).

##### III.1.3.1.3. Elimination

La GM est éliminée sous forme active essentiellement par voie rénale (80 à 90 % de l'élimination sur 24 h) où les concentrations urinaires d'aminosides sont de 25 à 100 fois plus élevées que les concentrations sériques maximales obtenues une heure après l'administration (Levy *et al.*, 1986). L'élimination dépend de la dose et la vitesse de filtration glomérulaire (Ezaitouni *et al.*, 1999).

Seulement environ 2% de la dose administrée est excrétée extra-rénalement lorsque la fonction rénale est normale et chez les patients ayant une fonction rénale altérée, la demi-vie d'élimination est prolongée en fonction du degré de l'atteinte rénale, l'âge a également un effet important sur le processus d'élimination de la gentamicine où elle soit plus lente chez les personnes âgées que chez les personnes jeunes. Leur demi-vie d'élimination est d'environ deux heures chez les patients ayant une fonction rénale normale (Montange, 2018).

#### III.1.3.2. Pharmacodynamique

La première étape du mode d'action consiste en la pénétration intracellulaire via la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Ce passage intracellulaire est un transport actif dépendant d'un gradient électrochimique nécessitant de l'oxygène (Figure 5).

La seconde étape du mode d'action est l'inhibition protéique par laquelle la gentamicine se fixe principalement sur la sous-unité 30s du ribosome. Cette fixation est à l'origine de nombreuses erreurs dans les protéines synthétisées dont l'accumulation entraîne une désorganisation et une altération de la membrane cytoplasmique qui provoquent la mort de la bactérie hôte (Kotra *et al.*, 2000 ; Montange, 2018).

##### III.1.3.2.1. Effet post-antibiotique

La fixation irréversible sur le ribosome est responsable de l'effet post-antibiotique prolongé qui se définit comme étant la poursuite de l'action de l'antibiotique malgré la faible quantité restante dans l'organisme (Karlowsky *et al.*, 1994).

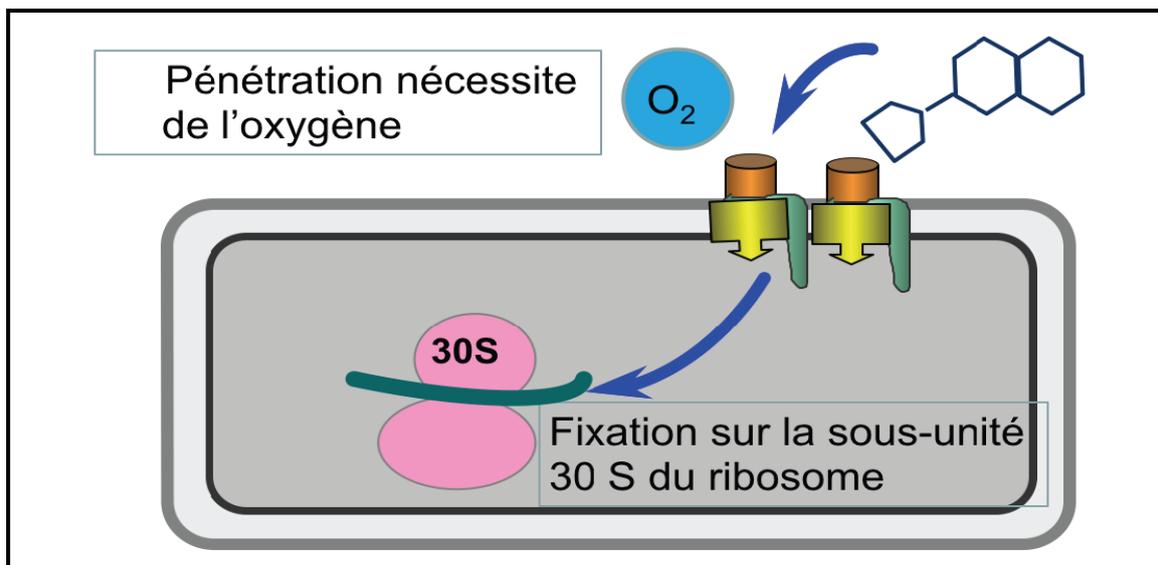


Figure 5 : Mécanisme d'action des aminosides (Kotra *et al.*, 2000)

### III.1.4. Mécanisme de la néphrotoxicité induite par la gentamicine

Traditionnellement, on a considéré que la néphrotoxicité aux aminosides résultait principalement de lésions tubulaires. Les altérations létales et sublétales des cellules tubulaires gênent la réabsorption et dans les cas graves, peuvent entraîner une obstruction tubulaire importante (Lopez-Novoa *et al.*, 2011).

#### III.1.4.1. Les effets tubulaires

##### A. Induction de l'apoptose et la nécrose des cellules tubulaires proximales

La cytotoxicité de la gentamicine se produit dans les types de cellules dans lesquelles le médicament s'accumule. Dans les reins, ces cellules constituent les cellules épithéliales du cortex, principalement dans la partie proximale (Pattyn *et al.*, 1988).

D'après El Mouedden *et al* (2000), Edwards *et al* (2007), Li *et al* (2009), le traitement des animaux de laboratoire avec la gentamicine entraîne l'apoptose, ainsi que la nécrose de cellules épithéliales tubulaires en culture.

L'apoptose pourrait dépendre de la concentration du médicament, comme avec d'autres composés cytotoxiques tels que le cisplatine et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. (Shibuya *et al.*, 2003 ; Saito *et al.*, 2006). Et pourrait dépendre aussi de l'assentiment des autres facteurs déclenchants ou prédisposants, tels que le degré de l'ischémie sur des points spécifiques du parenchyme rénal (Chiarugi, 2005).

##### B. Augmentation de la phospholipidose et les atteintes lysosomales

La néphrotoxicité de la gentamicine est une phospholipidose due à l'inhibition des enzymes responsables du métabolisme des phospholipides (Carlier *et al.*, 1982).

La gentamicine subit une réabsorption partielle par les cellules tubulaires proximales par endocytose qui entraîne la fusion de vacuoles endocytiques avec lysosomes où le médicament s'accumule (Giurgea-Marion *et al.*, 1986 ; Beauchamp *et al.*, 1991). Cette accumulation induit le processus de phospholipidose lysosomale, entraînant une nécrose tubulaire qui est un mécanisme pathologique clé contribuant à la toxicité rénale (Laurent *et al.*, 1983 ; Kadkhodae *et al.*, 2005).

Les lysosomes sont considérés comme le site principal de l'accumulation de GM dans les cellules proximales où elle induit une phospholipidose lysosomale en inhibant l'activité des phospholipases A1 et C et de la sphingomyélinase. Lorsque la concentration d'aminoglycoside dans les systèmes endosomaux dépasse un seuil indéterminé, elle perturbe les membranes de ces systèmes ainsi que leur contenu (Broe *et al.*, 1984 ; Beauchamp *et al.*, 1997 ; Laurent *et al.*, 1990 ; Yanagida *et al.*, 2004).

Il a été conclu que la gentamicine réduit le catabolisme des protéines rénales en diminuant l'activité des enzymes lysosomales (Olbricht *et al.*, 1991).

### C. Les lésions et les atteintes mitochondriales

Lorsque les membranes endosomales et endolysosomales sont perturbées par la gentamicine, cette dernière soit versée dans le cytosol, où elle peut agir directement ou indirectement sur la mitochondrie par l'activation de la voie intrinsèque de l'apoptose, l'interruption de la chaîne respiratoire et l'altération de la production d'ATP (Ngaha et Ogunleye, 1983).

### D. L'inhibition de la $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$

La  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$  est un composant clé de l'homéostasie du volume cellulaire, une déréglementation ou un gonflement dans la cellule peut entraîner une nécrose ou une apoptose ce qui affecte les voies tubulaires (DiBona et Powell, 1980 ; Lieberthal et Levine, 1996).

Le site d'inhibition de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$  n'a pas été localisé. Bien que, *in vivo*, la gentamicine inhibe l'activité de  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$  dans les tubes contournés proximaux (TCP) et non dans la branche ascendante de Henlé, des travaux *in vitro* ont montré que la gentamicine inhibe l'enzyme à la fois dans les TCP et les cellules de la branche de Henlé, lorsque les cellules ont été perméabilisées pour permettre au médicament d'entrer dans les cellules. La conclusion était que la gentamicine inhibe la  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$  dans les cellules de tubule rénal quand il accède au cytoplasme (Fukuda *et al.*, 1991).

### III.1.4.2. Les effets glomérulaires

#### A. La prolifération, l'apoptose des glomérules rénaux et l'augmentation de la contraction des cellules mésangiales

La gentamicine a des effets glomérulaires qui altèrent la filtration, elle engendre une contraction mésangiale et provoque la réduction de Kf (coefficient d'ultrafiltration) et du DFG (Schor *et al.*, 1981; Dos Santos *et al.*, 1991). Elle pourrait également causer un léger degré d'apoptose dans les cellules mésangiales suivie d'une prolifération réparatrice (Martínez-Salgado *et al.*, 2004).

La gentamicine active la contraction de cellules mésangiales en culture et de glomérules isolés. Plusieurs facteurs sont induits par la gentamicine augmentent la concentration de calcium intracellulaire et provoquent la contraction des cellules mésangiales comme le facteur activateur plaquettaire (PAF) (Rodriguez-Barbero *et al.*, 1995 ; Martínez-Salgado *et al.*, 1997). Ce dernier est un médiateur lipidique puissant sécrété par les cellules mésangiales en culture en réponse à divers stimuli, comme le lipopolysaccharide ou facteur de nécrose tumorale  $\alpha$  (Schlôndorff *et al.*, 1986 ; Neuwirth *et al.*, 1989 ; Camussi *et al.*, 1992).

D'après Rodríguez-Barbero *et al* (1995), la production du PAF augmente dans les glomérules chez des rats traités par la gentamicine, par conséquent l'administration de cette dernière joue un rôle majeur dans la médiation des effets glomérulaires responsable de la contraction des cellules

(Lopez-Novoa, 1999). En fait, les antagonistes du PAF inhibent partiellement les effets induits par la gentamicine.

### III.1.4.3. Les effets vasculaires

La gentamicine induit une réduction du débit sanguin rénal, cela provoque la chute de DFG et augmente la sensibilité des cellules tubulaires à la mort cellulaire par réduction de la disponibilité en oxygène et en ATP (Hishida *et al.*, 1994).

La production de plusieurs vasoconstricteurs est augmentée suivant un traitement à la gentamicine, notamment l'endothéline-1, le PAF, les métabolites de l'acide arachidonique, principalement des prostaglandines et thromboxane A2 provenant de cellules endothéliales et cellules mésangiales (Assael *et al.*, 1985 ; Persson, 1997).

La gentamicine active le système rénine-angiotensine et augmente sa concentration dans l'endothélium rénal (Hishida *et al.*, 1994).

La gentamicine altère également la relaxation des muscles lisses vasculaires en inhibant la libération des dérivés de facteur relaxant de l'endothélium et induit une marginalisation des leucocytes, conduisant à un colmatage vasculaire, une congestion et un infarctus dans les vaisseaux rétiniens après 48–72 h de traitement (De Nucci *et al.*, 1988 ; Hines et Vinore, 1993).

### III.1.4.5. La gentamicine induit le stress oxydatif et l'inflammation

Il a été suggéré que le stress oxydatif joue un rôle clé dans néphrotoxicité à la gentamicine (Marumo *et al.*, 1995). Dans un sens parallèle des données cliniques ont montré que la gentamicine augmente directement la production de EROs (Espèces Réactives d'Oxygène) mitochondriales, qui sont capables d'endommager de nombreuses molécules cellulaires, notamment les protéines, les lipides et les acides nucléiques, altérant ainsi la fonction cellulaire, conduisant à l'apoptose, contribuant à la contraction vasculaire et des cellules mésangiale et participent à l'inflammation (Figure 6) (Morales *et al.*, 2010).

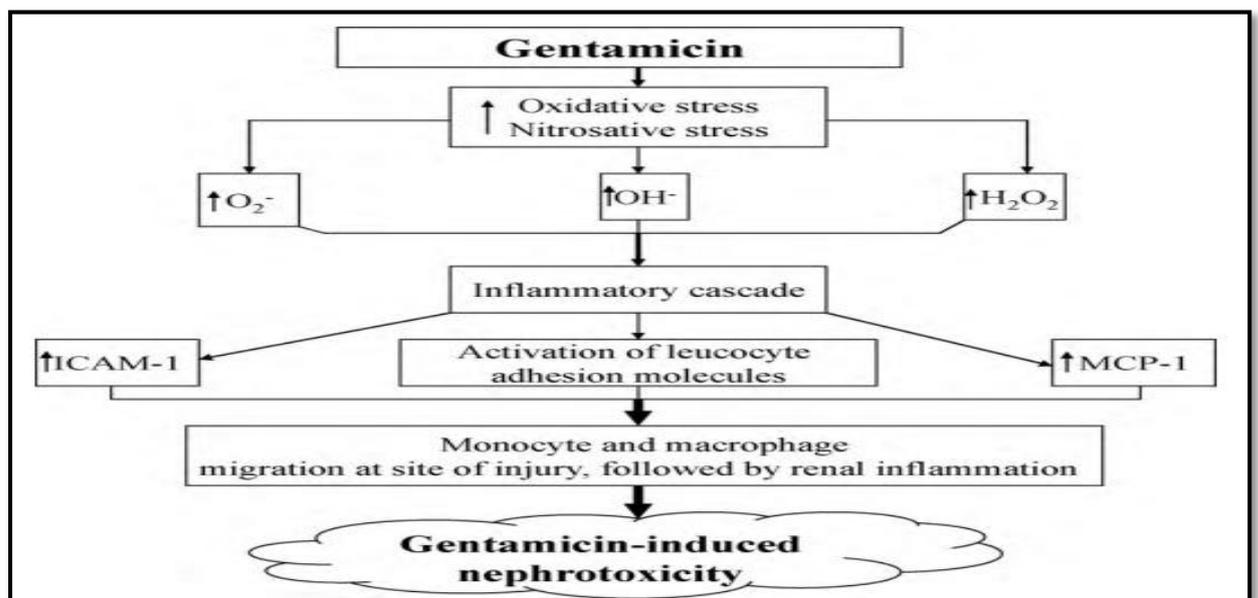


Figure 6 : Rôle pathologique d'espèces réactives de l'oxygène dans l'induction de la néphrotoxicité de la gentamicine (Balakumar *et al.*, 2010)

Selon Kourilsky *et al* (1982) et Geleilete *et al* (2002), des expérimentations animales et d'autres chez l'être humain ont démontré qu'une réponse inflammatoire est impliquée dans la néphrotoxicité induite par la gentamicine, avec une infiltration cellulaire, activation des cellules résidentes, par l'augmentation de la production de cytokines, et l'hyperperméabilité capillaire.

La réponse inflammatoire est lancée comme un mécanisme de défense et de réparation, il semble qu'elle contribue à la progression des lésions rénales. En fait, les stratégies de protection des lésions rénales induites par le gentamicine inhibent généralement les réponses inflammatoires (Bledsoe *et al.*, 2006).

Le facteur  $\kappa$ B (kappa-B) qui est un facteur nucléaire joue un rôle clé au début du processus de l'inflammation, qui suite à son activation par des ERO telle que l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène il participe à l'expression de cytokines pro-inflammatoires et iNOS, où il a été prouvé que l'inhibition de ce facteur protège le rein des dommages causés par la gentamicine (Tugcu *et al.*, 2006). le NO dérivé de iNOS peut réagir avec l'anion superoxyde et produire du peroxynitrite, un radical hautement réactif ayant des effets cytotoxiques dont il contribue aux dommages cellulaires et réduit la relaxation vasculaire (Xie *et al.*, 1994).

En tant que tel, l'inflammation et le stress oxydatif fournissent une connexion entre la nécrose, l'activation glomérulaire, vasculaire et la contraction, qui contribuent en fin de compte à la formation des dommages tubulaires principalement par une réduction du DSR (Lopez-Novoa, *et al.*, 2011).

### III.1.5. Les biomarqueurs de la néphrotoxicité

Afin de détecter une toxicité rénale, les marqueurs plasmatiques (créatinine et urée) étaient jusqu'à présent classiquement utilisés lors d'études précliniques, cliniques ainsi qu'en suivi de traitement de routine à l'hôpital. Du fait de leur manque de sensibilité et de spécificité, il est nécessaire de définir des biomarqueurs alternatifs (Dieterle *et al.*, 2010).

#### III.1.5.1. Les nouveaux biomarqueurs

##### A. Protéines de haut poids moléculaire

L'albumine est la protéine urinaire la plus abondante chez la plupart des espèces. Alors qu'un fort taux urinaire est invariablement associé à un dommage fonctionnel ou structural du glomérule, une faible augmentation peut résulter soit d'une augmentation de la filtration glomérulaire, soit d'une diminution de la réabsorption tubulaire (Russo *et al.*, 2007).

Une microalbuminurie est rapportée lors de l'administration de certains médicaments comme les antibiotiques, mais elle peut également avoir lieu en cas d'exercice physique important, d'hématurie, de déshydratation, de fièvre ou d'infection du tractus urinaire, la mesure des taux urinaires d'autres protéines de haut PM (transferrine, immunoglobuline G, haptoglobine ou  $\alpha$ 2-macroglobuline) a également montré son utilité pour estimer le degré d'atteinte glomérulaire (Tencer *et al.*, 2000 ; D'amico et Bazzi, 2003).

##### B. Protéines de bas poids moléculaire

Certaines protéines ayant un faible poids moléculaires comme la Cystéine-C, la BTP (B-trace protein) et la RBP (retinol binding protein) ont prouvé leur valeur comme marqueurs plus précoces et plus fiables que la créatinine en cas de réduction du débit de filtration glomérulaire ou comme index de lésion tubulaire rénale (Gueguen *et al.*, 2012).

### C. Protéines à activité enzymatique

Hormis le déficit de réabsorption, une atteinte cellulaire au niveau du TCP peut se manifester par un relargage dans les urines de certaines protéines cellulaires, plus particulièrement vers celles qui possèdent une activité enzymatique citant le NAG, la GST, PAL, et  $\alpha$ GT et finalement la perforine, granzyme B impliquée dans les phénomènes de lyse cellulaire et d'apoptose (Westhuyzen *et al.*, 2003).

### D. Marqueurs de l'inflammation/cytokines

Parmi les nouvelles molécules identifiées comme marqueurs potentiels de trouble rénaux, plusieurs proviennent du processus inflammatoire accompagnant la dysfonction rénale. Lors d'une atteinte rénale, la sécrétion de NGAL (Neutrophil gelatinase-associated lipocalin) augmente significativement et ce très tôt après le début de l'atteinte rénale, comme lors de l'administration d'un médicament néphrotoxique, L'IL-18 est une cytokine pro-inflammatoire produite lors de lésions inflammatoires ou ischémiques de nombreux organes dont le rein (tubule proximal) lors d'une atteinte rénale aiguë, il existe ainsi d'autres marqueurs comme Protéines liant les acides gras, la Cyr6 (Cysteine-rich protein 61), Chemokines liant l'élément CXCR3, qui interviennent dans la néphrotoxicité induite par les médicaments et les dommages causés par le choc ischémique (Bagshaw *et al.*, 2007).

### E. Protéines surexprimées en cas de souffrance tubulaire

Il apparaît aujourd'hui comme nouveaux biomarqueurs des molécules dont les rôles et fonctions ne sont pas encore bien établis :

- KIM-1 (Kidney Injury Molecule-1) ou TIM-1 (T-cell immunoglobulin and mucin domain 1) est une protéine transmembranaire qui est surexprimée dans les cellules tubulaires proximales après une déficience rénale aiguë ou chronique du fait d'ischémie ou d'une néphrotoxicité (Ichimura *et al.*, 1998).
- NHE3 (Sodium-hydrogen antiporter 3) est le transporteur le plus abondant dans les tubules rénaux et est localisé sur la membrane apicale des cellules des tubules proximaux. Après ischémie et/ou nécrose chez le rat, l'expression tissulaire de NHE3 et son taux urinaire augmentent (Kwon *et al.*, 2000).
- La Clusterine et l'ostéopontine sont des glycoprotéines exprimées dans les cellules de tubule proximal dont la concentration de la clusterine dans les urines augmente significativement lors des atteintes tubulaires et pas glomérulaires. Néanmoins l'excrétion urinaire de l'ostéopontine serait nettement augmentée au cours d'inflammation de l'appareil rénal (glomérulonéphrite et néphrite tubulo-interstitielle) (Xie *et al.*, 2001 ; Hidaka *et al.*, 2002).
- Endothéline-1 est un puissant vasoconstricteur sécrété par les cellules endothéliales vasculaires, où l'augmentation de son excrétion urinaire sans augmentation de sa concentration plasmatique suite à l'administration de certains médicaments comme les agents de radiocontraste pourrait rendre comme un outil pour le diagnostic de l'atteinte rénale aiguë induite par néphrotoxicité médicamenteuse (Fujisaki *et al.*, 2003).

## III.1.6. Autres toxicités de la gentamicine

### III.1.6.1. Ototoxicité et perturbation de la conduction nerveuse

Une ototoxicité peut survenir après administration de la gentamicine par voies parentérale (intraveineuse ou intramusculaire) (Rouas, 2010).

L'ototoxicité causé par la gentamicine est souvent bilatérale, symétrique et irréversible. L'incidence de l'ototoxicité induite par la gentamicine varie de 2 % à 25 % de patients traités avec des variations selon la durée d'exposition (Robert, 2013).

La gentamicine a également un effet neurobloquant de type curarisant par diminution de la libération d'acétylcholine à l'extrémité de l'axone et par compétition avec l'acétylcholine sur les récepteurs cholinergiques. Il en résulte une paralysie des muscles de la respiration et une dépression de l'activité cardiaque. Ces effets s'ajoutent aux effets dépresseurs exercés par les substances anesthésiques (Moisan, 2013).

## IV. L'espèce étudiée : *Acacia raddiana* (Savi)

### IV.1. Généralité

*Acacia tortilis* (Forssk.) Hayne subsp. *raddiana* (Savi) Brenan (communément appelée *A.raddiana* (Savi)) est un arbre légumineux originaire des régions sahélienne et saharienne du continent africain . C'est l'une des 155 espèces spontanées du genre acacia en Afrique (Ba *et al.*, 2002).

*Acacia raddiana* (Savi) est une sous-espèce qui appartient au genre *Acacia*, famille des Fabaceae, sous-famille de Mimosoideae (Pottier-Alapetite, 1979 ; Fagg, 1991). C'est un arbre ou arbuste épineux (Figure 7), pouvant atteindre 7 à 13 m de hauteur avec un diamètre de 40 à 50 cm avec une cime est fournie (Berkai, 2015). L'*Acacia raddiana* (Savi) se différencie des autres Acacias par l'existence des épines stipulaires brunes mesurant 1.5 à 2cm, sa silhouette en forme de parasol (Djebri, 1998 ; Dommergues *et al.*, 1999).

### IV.2. Systématique de l'espèce

D'un point de vue taxonomique et nomenclatural, la sous-espèce *Acacia tortilis* subsp.*raddiana* peut être classée selon APGII comme suit :

Règne: Plante  
 Embranchement: Spermatophytes  
 Sous-embranchement: Angiospermes  
 Classe: Dicotylédones  
 Sous classe: Résidées  
 Ordre: Rosales  
 Famille: Fabaceae  
 Sous famille: Mimosaceae  
 Genre: *Acacia*  
 Espèce: *tortilis* (Forsk.) Hayne  
 Subsp.: *raddiana* (Savi) Brena

Noms vernaculaires

En français : *Acacia*

En anglais : *Umbrella thorn*

En arabe : Talh, Talha, طلح.

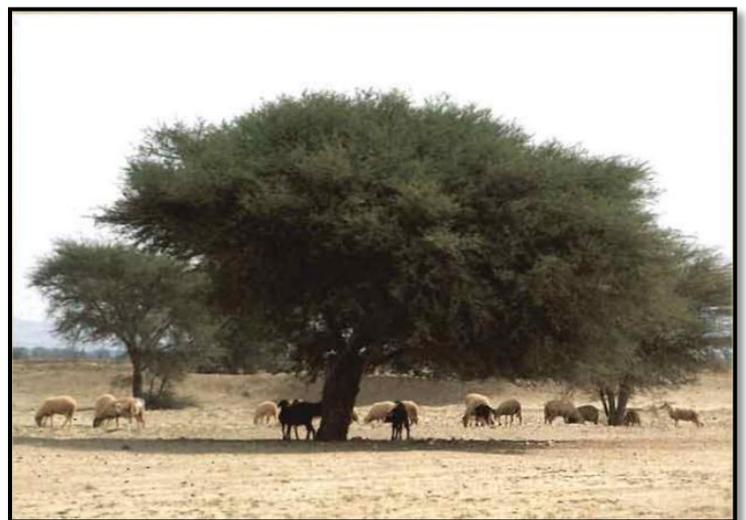


Figure 7 : Photographie d'*Acacia raddiana* (Savi)

(De Lajudie *et al.*, 2003)

### IV.3. Répartition géographique

Les espèces du genre *Acacia* couvrent des aires géographiques très diversifiées comprenant l'Afrique, l'Australie, l'Asie et l'Amérique (Guinet *et al.*, 1978). D'après (Le Floc'h et

Grouzis, 2003) l'espèce est de très large répartition, elle présente à la fois sous bioclimat tropical sec et aride du Sahel et du Sahara, mais également sous bioclimat méditerranéen aride et semi-aride.

En Algérie, *A.raddiana* (Savi) a une aire de répartition s'étalant sur les régions du Sahara occidental (Touat et Saoura) et central (Tidikelt et Hoggar), ces peuplements sont localisés dans la région de la Saoura où ils constituent des savanes désertiques, s'étendant vers le sud marocain en plus de quelques pieds dans le massif du Hoggar et Gourara (Hannani et Chehma, 2012).

#### IV.4. Composition chimique

Les légumineuses produisent une grande diversité de métabolites secondaires (Wink, 2013). Les espèces d'*Acacia* constituent une riche source de composés bioactifs, notamment des phénols, des alcaloïdes, des saponines, des terpénoïdes, des stérols, des polysaccharides, des acides aminés non protéiques, des acides gras et divers acides organiques (Steinmann et Ganzera, 2011).

Les flavonoïdes et les tannins (Tanins hydrolysables et condensés) se trouvent en grande quantité dans l'*Acacia raddiana* (Savi), ainsi que les anthocyanes (El Mousallamy *et al.*, 2001 ; Kebbas *et al.*, 2015).

La caractérisation des feuilles d'*Acacia raddiana* (Savi) par CCM a montré la présence de plusieurs types de tanins, flavonoïdes, les coumarines, les anthraquinones, les alcaloïdes, les saponines, les stérols et les terpènes. La xanthophylle et le carotène sont également présents, en plus de chlorophylle a et b et phéophytine (Slimani *et al.*, 2015 ; El Yahyaoui *et al.*, 2017).

#### IV.5. Propriétés thérapeutiques

Les plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique (Nostro *et al.*, 2000).

Diverses espèces d'*Acacia* ont été utilisées en médecine traditionnelle pour un large éventail de maladies (par exemple, diabète, infection virale, dysménorrhée, eczéma, paludisme, goutte, jaunisse, douleurs abdominales, problèmes rénaux, constipation, lèpre, pieux, pneumonie, rhumatisme, rhumatisme, fièvre et cancer) (Tableau I) (Bellakhdar, 1978 ; Boulos, 1995 ; Subhan *et al.*, 2018).

Les espèces d'*Acacia* ont fait l'objet de nombreux travaux scientifiques mettant en évidence des activités variées. La majorité d'entre elles concernent surtout des effets anti-inflammatoires, antiviraux, antimicrobiens, antioxydants, anticancéreux, antidiabétiques, immunomodulateurs, hépatoprotecteurs et cardioprotecteurs (Subhan *et al.*, 2018).

Toutes les espèces d'*Acacia* testées ont montré une activité antioxydante allant de modérée à élevée dans divers tests utilisés. Ainsi, les espèces d'*Acacia* constituent une source potentielle de récupération d'antioxydants naturels pouvant être utilisés dans les industries agro-alimentaires ou pharmaceutiques (Subhan *et al.*, 2018).

Tableau I : Potentiel thérapeutique pharmacologique de l'*Acacia tortilis*.

| Partie de la plante                               | Maladie                              | Activité pharmacologique   |
|---|--------------------------------------|--|
| Polysaccharide extrait à partir de gomme exsudats | Diabète                              | L'activité inhibitrice de la $\alpha$ -D-glucosidase par le polysaccharide de la gomme a été trouvée   |
| Écorce de la tige                                 | Maladie fongique                     | L'extrait de l'écorce de la tige a montré une forte activité contre <i>Candida albicans</i> avec MIC 125 $\mu\text{g}/250$ pg ml et MFC/ml. Il montre également une activité modérée contre <i>Aspergillus niger</i> avec la MIC et MBC = 1000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ (extrait de l'eau). Ainsi, il peut être utilisé comme un agent antifongique efficace |
| Tanin d'écorce                                    | Diarrhée                             | Le tanin forme des couches de protection sur la peau et les muqueuses de bétail, il est bénéfique en cas de diarrhée chez les bovins   |
| Écorce de la tige                                 | Maladies infectieuses                | L'écorce de la tige de l' <i>A. tortilis</i> , en Tanzanie, est pilée et trempée dans l'eau puis utilisée pour traiter les infections de la bouche et des problèmes dentaires et les maladies infectieuses   |
| Bois  | Toux sèche                           | En cas de toux sèche la drogue entière est appliquée sur du charbon et la fumée est absorbée par voie nasale   |
| Racine  | Toux et diphtérie                    | A Djibouti, en cas de diphtérie, les racines sont écrasées et trempées dans l'eau et prises par voie orale, alors que les plaies des feuilles ou des racines chauffées sont appliqués in situ. Les feuilles et la pâte de racine sont appliquées localement  |
| Ecorce des racines                                | Malaria                              | L'écorce de racine de l' <i>A. tortilis</i> possède une activité antipaludique   |
| L'extrait aqueux                                  | Hypercholestérolémie et inflammation | L'utilisation de l'extrait aqueux conduit à une diminution du cholestérol et à une diminution du poids chez les rats. <i>A. tortilis</i> inhibe la biosynthèse des prostaglandines et est également efficace dans les réactions inflammatoires et comme fébrifuge  |
| Extrait méthanolique de <i>A. tortilis</i>        | Leishmaniose et maladie parasitaire  | L'extrait méthanolique de <i>A. tortilis</i> a une activité contre le paludisme et la leishmaniose   |

(Yadav *et al.*, 2013)

Ce présent travail a porté sur l'étude de l'effet néphrotoxique de la Gentamicine et néphroprotecteur de l'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi). Les différentes analyses se sont déroulées durant une période de quatre mois allant du mois de mars au mois de juin. L'extraction et la caractérisation des composés phénoliques totaux de la plante médicinale ont été réalisées au niveau de Laboratoire PFE à l'Université Saad Dahlab-Blida-1. L'évaluation de la néphrotoxicité de la Gentamicine ainsi que l'effet néphroprotecteur de l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) ont été réalisées à l'unité de production du groupement Saidal Gué de Constantine-Alger.

## I. Matériel

### 1. Matériel végétal

La présente étude est réalisée sur les feuilles et les glomérules d'*Acacia raddiana* (Savi). La plante a été récoltée au début du mois de Décembre au niveau de la région de Abadla, wilaya de Béchar. Elle a été séchée à l'air libre et à l'ombre pendant dix jours et conservée ensuite dans des sacs en papier à l'obscurité tout en évitant l'humidité. Cette étape est réalisée dans le but de diminuer la teneur en eau de la plante (Figure 8), réduisant ainsi les réactions d'altération chimique, enzymatique, bactérienne et de permettre un broyage efficace.



Figure 8 : Photographie des parties étudiées d'*Acacia raddiana* (Savi) (Originale, 2019)

### 2. Matériel animal

L'étude a été réalisée sur 24 souris NMRI, des deux sexes dont le poids varie entre 25-30 g. Les souris sont logées dans des cages en plastique transparent où chaque cage regroupe 3 souris à une température ambiante de  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$  et d'humidité relative de  $56\pm 5\%$ . Avec un régime alimentaire de granulées d'origine ONAB (Office Nationale d'Alimentation de Bétail), de l'eau de manière *ad-libitum*. L'expérimentation a porté sur des souris saines et adultes.



Figure 9 : présentation d'un lot des souris (Originale, 2019)

### 3. Réactifs chimiques et matériel instrumental

Le matériel non biologique utilisé dans notre étude est composé de verreries, d'appareillage, de produits chimiques et de réactifs qui sont résumés dans l'annexe (1).

## II. Méthodes

### 1. Préparation de l'extrait méthanolique de l'*Acacia raddiana* (Savi)

#### 1.1. Broyage et tamisage

Le matériel végétal séché a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine qui a été tamisée sur un tamis de diamètre de  $125\ \mu\text{m}$  pour avoir une poudre homogène. La poudre végétale a été conservée dans un récipient en verre hermétiquement fermé.

## 1.2. Macération

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le méthanol aqueux pour extraire les principes actifs.

L'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi) est préparé par macération de 10g de la poudre à température ambiante dans 100 mL du méthanol à 80% pendant 72 heures à l'abri de la lumière et sous agitation. L'extrait est séparé de la poudre par filtration sur papier Wattman n°3. Le filtrat ainsi récupéré a été versé dans un bocal en verre sans couvercle et d'environ 10 cm de diamètre puis placé dans l'étuve réglée à une température  $\leq 40^{\circ}\text{C}$ , permettant ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par une couleur brun foncé, qui est considéré comme étant l'extrait brut. Le rendement de l'extrait a été calculé par rapport à la masse initiale de la matière sèche.

$$R (\%) = M / M_0 \times 100$$

- **R (%)** : Rendement exprimé en %
- **M** : Masse en gramme de l'extrait brut résultant.
- **M<sub>0</sub>** : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

## 2. Analyse phytochimique

### 2.1. Extraction des polyphénols et des flavonoïdes totaux

Les polyphénols et les flavonoïdes totaux sont extraits selon la méthode de (Zhang et al., 2010) avec quelques modifications. 0,1g de feuilles fraîches sont broyées dans 2 mL de méthanol à 80 %. Après centrifugation (12.000 trs. min<sup>-1</sup>, 30 min), le surnageant est récupéré et sera utilisé pour le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux.

### 2.2. Dosage des polyphénols totaux

#### 2.2.1. Principe

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée selon la méthode de Singleton et Rossi 1965 qui repose sur la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribereau, 1968).

#### 2.2.2. Méthode de dosage

0.25 mL de surnageant a été ajouté à 3.5 mL d'eau distillée, et 0.25 mL de réactif de Folin Ciocalteu. Après 3 mn, 1mL de solution de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 20% a été ajoutée. Les tubes ont été agités et incubés pendant 40 mn dans un bain Marie à 40 C°. Au bout de 40 mn une coloration bleue se développe, la densité optique a été mesurée à 760nm. La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique établie avec l'acide gallique et exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EqAG/g MVS).

### 2.3. Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes totaux ont été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996). 1mL de l'extrait (préparé dans du méthanol à 80% ) a été ajouté à 1mL de la solution d' $\text{AlCl}_3$  (2 %, dans le méthanol à 80%). Le mélange est vigoureusement agité et l'absorbance est lue à 440 nm après 10 min d'incubation à l'obscurité. La concentration des flavonoïdes a été calculée à partir de la courbes d'étalonnage établie avec la quercétine et exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par grammes de matière végétale sèche (mg EQ/g MVS).

### 2.4. Extraction et dosage des anthocyanes totaux

Les anthocyanes totales sont extraites selon la méthode modifiée de (Gould *et al.*, 2002). 50 mg de feuilles fraîches ont été broyées dans 2 mL de méthanol : HCl à 1% (99 : 1, V/V). Après centrifugation (12.000 trs.  $\text{min}^{-1}$ , 30 min), le surnageant a été récupéré. Deux lectures au spectrophotomètre sont faites, l'une à une densité optique de 530 nm, la seconde à 657 nm. Les anthocyanes totales sont calculées selon la formule suivante :

$$\frac{\Delta A \times 449.2 \times \text{Facteur de dilution}}{29600 \times \text{Poids (g)}}$$

- $\Delta A$  :  $A_{530} - 0.25A_{657}$
- **449.2** : poids moléculaire de la cyanidine-3-glucoside.
- **29600** : coefficient molaire d'extinction.

Les teneurs en anthocyanes sont exprimées en mg d'équivalents de cyanidine 3- glycoside.  $\text{mg}^{-1}$  MVS (mg eq Cya - 3 glc .  $\text{g}^{-1}$  MVS).

## 3. L'activité anti-radicalaire (DPPH)

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picryl hydrazyle ( $\alpha, \alpha$ -diphényl  $\beta$  picrylhydrazyle) est l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques (Blois, 1958 ; Brand-Williams *et al.*, 1995). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote.

La réduction du radical libre DPPH (2,2'-diphényl-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV- Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2 Diphényl 1 picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2 Diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune.

### 3.1. Méthode de dosage

L'activité du piégeage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par Lopes-Lutz *et al* (2008). 50 $\mu\text{L}$  de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations (10 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  ; 20 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  ; 30 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  ; 40 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  ; 50 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) sont ajoutés à 1,95 mL de la solution méthanoïque du DPPH (0,025g/L). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 50 $\mu\text{L}$  de méthanol avec 1.95 mL de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration.

### 3.2. Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$\%AAR = [ (Abs_0 - Abs_1) / Abs_0 ] \times 100$$

- **%AAR** : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire.
- **Abs<sub>1</sub>** : Absorbance de l'échantillon.
- **Abs<sub>0</sub>** : Absorbance du contrôle négatif.

## 4. Induction de la néphrotoxicité par la gentamicine

Pour induire une néphrotoxicité chez les souris, nous avons utilisé de la Gentamicine<sup>®</sup> une fois par jour à une dose de 100 mg.kg<sup>-1</sup> PC pendant sept jours consécutifs permettant de provoquer une néphrotoxicité chez les souris (Whiting et al., 1981).

### 4.1. Traitement des animaux

Dans le cadre de cette étude, 15 souris saines des deux sexes pesant entre 25 et 30 g ont été utilisées. Les animaux ont été logés dans des conditions de laboratoire standard (12 h de lumière et 12 h d'obscurité) dans une chambre à température contrôlée (20 ± 2°C) pendant toute la durée de l'expérimentation. Les animaux ont eu accès à la nourriture et à l'eau *ad-libitum* tout au long de l'étude.

Les souris ont été divisées en 5 lots de trois souris chacun :

- **Lot I** : Les souris ont reçu l'eau physiologique à 0.9% seul ;
- **Lot II** : Les souris ont reçu quotidiennement, par voie intrapéritonéale, 100 mg.kg<sup>-1</sup> de Gentamicine<sup>®</sup> ;
- **Lot III** : Les souris ont reçu quotidiennement, par gavage 200 mg.kg<sup>-1</sup> à raison de 0.5mL par souris de Vitamine C et 30 minutes après, par voie intrapéritonéale, 100 mg.kg<sup>-1</sup> de Gentamicine<sup>®</sup> ;
- **Lot IV** : Les souris ont reçu quotidiennement, par gavage 200 mg.kg<sup>-1</sup> à raison de 0.5mL par souris de l'extrait de plante et 30 minutes après, par voie intrapéritonéale, 100 mg.kg<sup>-1</sup> de Gentamicine<sup>®</sup> ;
- **Groupe V** : Les souris ont reçu quotidiennement, par gavage 200 mg.kg<sup>-1</sup> à raison de 0.5mL par souris de l'extrait de plante.

### 4.2. Sacrifice des animaux, récupération des reins

Vingt-quatre heures après la dernière dose de Gentamicine<sup>®</sup>, les animaux ont été pesés à nouveau et anesthésiés à l'éther et sacrifiés. Immédiatement après le sacrifice, les deux reins de chaque souris ont été récupérés et rincés par l'eau physiologique saline (0,9% NaCl), l'un des reins a été immergé dans une solution tamponnée de paraformaldéhyde à 10% pour les coupes

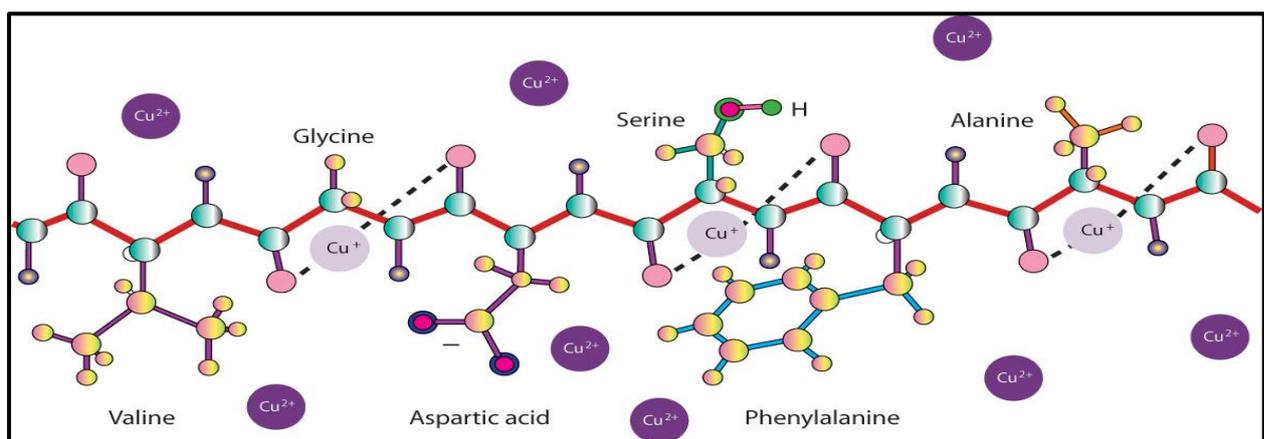
histologiques et l'autre a été conservé à  $-20^{\circ}\text{C}$  pour les dosages du taux de Malondialdéhyde (MDA), des protéines totales, et de la catalase (CAT).

### 4.3. Préparation de l'homogénat tissulaire

0,1 g de rein conservé a été broyé dans 0.1% de Triton X-100 pour les protéines, 1% de Triton X-100 pour la Catalase et dans un tampon phosphate pour le MDA à l'aide d'un homogénéisateur Potter pour obtenir à la fin un homogénat total à 1:10 (p/v). Les homogénats ont été centrifugés à  $4\,000\text{ tr. min}^{-1}$  ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) pendant 15 min pour déterminer le MDA, les concentrations en protéines, et la CAT.

## 5. Dosage Des Protéines par la méthode de Lowry (Lowry *et al.*, 1951)

Les teneurs en protéine des solutions enzymatiques ont été dosées selon la méthode de **Lowry *et al.* (1951)**. Elle repose sur deux réactions différentes, la première est la réaction des protéines avec le sel de cuivre en milieu alcalin ; la deuxième réaction est la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu (phosphotungstomolybdique) (Figure 10). La solution protéique donne une coloration bleue qui résulte de la réaction de cuivre avec les liaisons peptidiques et la réduction de l'acide phosphotungstomolybdique des acides aminés : tyrosine, tryptophane et la cystéine. Les espèces réduites qui résultent absorbent à 750 nm.



**Figure 10** : Interaction des ions de cuivre avec les protéines (2016, [www.genotech.com/bulletins/protein-assays-introduction.pdf](http://www.genotech.com/bulletins/protein-assays-introduction.pdf))

### 5.1. Extraction des protéines (Munro et Downie, 1964)

1ml de TCA à 1% est mis dans un tube en verre contenant 100  $\mu\text{L}$  de l'homogénat suivie d'une centrifugation à  $4000\text{ tr. min}^{-1}$  pendant 15min. Le surnageant est éliminé, et le culot est repris dans 1ml de TCA à 1% et centrifugé à  $4000\text{ tr. min}^{-1}$  pendant 15min, le surnageant est éliminé une deuxième fois, les bords supérieurs des tubes sont séchés par la suite avec du papier filtre. Le culot est repris dans un mélange d'alcool/éther (v/v) et centrifugé à  $4000\text{ tr. min}^{-1}$  pendant 5min, le surnageant est jeté, les bords supérieurs des tubes sont séchés par la suite avec du papier filtre. Ensuite le culot est lavé avec 1 ml d'éther éthylique et centrifugé à  $4000\text{ tr. min}^{-1}$  pendant 5min, le culot parfaitement séché à l'air chaud, est repris dans 1 ml de NaOH (1M).

## 5.2. Préparation de la solution de dosage

**Solution A** : Elle est préparée à partir de 3 solutions :

Solution 1 : 0,5 mL de tartrate de sodium et de potassium à 2% ;

Solution 2 : 0,5 mL de sulfate de cuivre  $\text{CuSO}_4$  à 1% ;

Solution 3 : 50 mL de carbonate de sodium à 2% (dans  $\text{NaOH}$  0,1 N).

**Solution B** : Réactif de Folin - Ciocalteu dilué de moitié dans l'eau distillée.

## 5.3. Méthode de dosage

200  $\mu\text{L}$  de préparation protéique a été ajouté à 1 ml de solution A. Le milieu réactionnel a été agité et laissé au repos pendant 10 minutes à  $25^\circ\text{C}$ . À la fin du temps d'incubation, un volume de 100  $\mu\text{L}$  de solution B a été ajouté. Le mélange a été incubé pendant 30 min à l'obscurité pour permettre le développement de la couleur. La densité optique du test a été mesurée à 750 nm. La densité optique obtenue a été ensuite convertie en mg de protéine grâce à une droite d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions. Le sérum albumine bovine (BSA) a été utilisé comme protéine de référence.

## 6. Dosage de l'activité de la catalase cytosolique

L'activité de la catalase cytosolique est déterminée selon la méthode de Aebi (1984). L'enzyme CAT catalyse le peroxyde d'hydrogène en eau ( $\text{H}_2\text{O}$ ) et en oxygène ( $\text{O}_2$ ). À 240 nm, l'absorption UV du peroxyde d'hydrogène peut être mesurée. La valeur d'absorption du peroxyde d'hydrogène diminue lorsqu'elle est décomposée par la CAT. Ainsi, l'activité de la CAT peut être calculée en mesurant la diminution de l'absorption du peroxyde d'hydrogène.

50  $\mu\text{L}$  d'échantillon a été ajouté à 950  $\mu\text{L}$  de tampon phosphate (50 mM, pH 7,4), la réaction a été déclenchée par l'addition de 500  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30mM) fraîchement préparé. le dosage a été effectué avec une cuve en quartz. La réaction est contrôlée par une lecture continue du changement d'absorbance à 240 nm après chaque 15 secondes dans un intervalle de temps de deux minutes.

La catalase étant une enzyme à cinétique non Michaélienne, donc non saturable, l'activité de catalase sera estimée en calculant la constante de vitesse de premier ordre de disparition de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Aebi, 1984). La constante de vitesse de disparition de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (K) est définie telle que :

$$K = 2.303/T \times \text{Log } A_1/A_2$$

- **K** : Constante de vitesse de la réaction.
- **T** : intervalle de temps en minute.
- **A<sub>1</sub>** : absorbance au temps zéro.
- **A<sub>2</sub>** : absorbance après deux minutes.

L'activité de l'enzyme est calculée selon l'équation suivante :

$$U/\text{mg} = K/n$$

- **n** : masse de protéines en mg.

## 7. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

La peroxydation lipidique est estimée par la détermination des quantités de malondialdéhyde (MDA) selon la méthode de Yagi (1976). Le MDA est l'un des produits terminaux de l'oxydation lipidique dans l'état de stress oxydatif.

Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100°C) entre une molécule de MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment de couleur rose ayant une absorbance maximale à 532 nm (Figure 11).

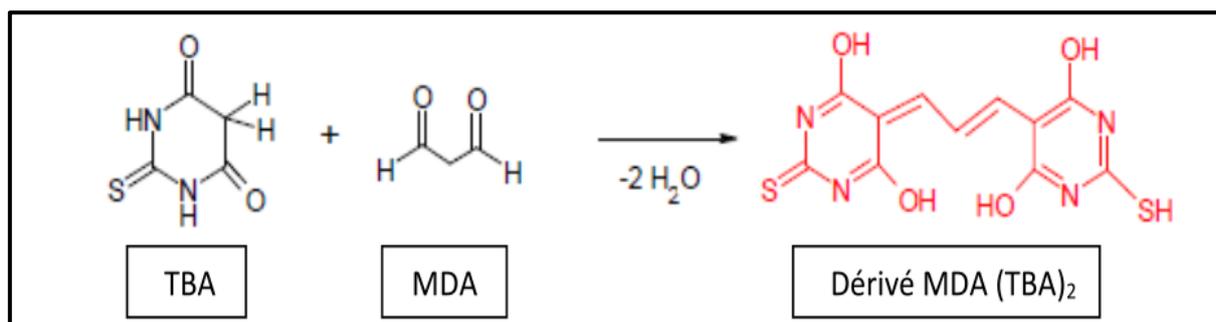


Figure 11 : Le mécanisme de la quantification de la réaction de TBARS. (Schaur et al, 2015)

## 7.1. Méthode de dosage

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 100µL d'échantillon, 400 µL de réactif TBA (20% TCA ; 0.375% TBA ; 0.01% Butylhydroxytoluène (BHT) ; (HCL) 1N) et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100°C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La concentration de TBARS (Thiobarbituric reactive species) a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ( $\epsilon = 1.53 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ). Les résultats sont exprimés en  $\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$  Protéines.

## 8. Réalisation des coupes Histologiques

Les coupes histologique du tissu rénal des différents lots ont été réalisés au niveau du laboratoire d'Anatomie pathologique, CHU Salim Zemirli-El Harrach. Les techniques histologiques passent par plusieurs opérations qui s'enchaînent. La technique utilisée est celle proposée par Martoja et Martoja-Pierson (1967) à l'hématoxyline & éosine passant par opérations qui s'enchaînent comme suivant :

### 8.1. La fixation

Réalisée dans le formol à 10 % qui se polymérise avec les polypeptides entraînant leur insolubilité.

### 8.2. Lavage, déshydratation et éclaircissement

Le lavage est fait dans de l'eau courante, ensuite, puis les pièces sont déshydratées en les amenant graduellement depuis le liquide de lavage jusqu'à l'alcool absolu par des bains successifs, puis on passe à l'éclaircissement en mettant les pièces dans un solvant de la paraffine qui est le xylène dans notre cas.

### 8.3. L'inclusion

Les pièces sont incluses dans un bain de paraffine fondue pendant deux heures. La paraffine va peu à peu pénétrer les tissus en remplaçant le solvant.

## 8.4. Construction des blocs

Après la saturation des pièces par la paraffine fondue, on passe à l'inclusion définitive dans de petits moules à fond plat qui servent à donner la forme du bloc. Ce dernier peut se conserver pendant des années sans dommage.

## 8.5. Préparation des coupes, étalement sur lame

Le bloc de paraffine est collé au porte-objet puis débité en tranches minces grâce à un microtome. Les coupes sont collées sur des lames de verre recouvertes d'un film de gélatine (liquide d'étalement). Ensuite, les lames sont séchées à l'étuve 37°C.

## 8.6. La coloration

Cette étape permet de mettre en évidence spécifiquement les différentes structures tissulaires et cellulaires et pour cela, on met les lames dans un bain d'hématoxyline pendant 3 min, suivi d'un bain d'éosine pendant 5 min, et on rince dans deux bains successifs d'éthanol à 90%, puis on laisse sécher.

## 8.7. L'étude microscopique

Les examens qualitatifs des tissus préparés et l'obtention de leurs photos ont été réalisés à l'aide d'un microscope optique de type *Leica* (DM500) en utilisant les grossissements (Gx100 et Gx400) et photographiés par une caméra.

## 9. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* (Test d'induction d'œdème à la carragénine)

L'objet de ce test est de déterminer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de *Acacia raddiana* (Savi) selon le test de Levy (1969).

L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

La comparaison de la réduction de l'œdème après l'administration du produit anti-inflammatoire à tester et du produit de référence permet d'évaluer l'activité anti-inflammatoire.

### 9.1. Mode opératoire

Une dose de 200 mg.kg<sup>-1</sup> d'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi) est dissoute dans le diméthylsulfoxyde (DMSO). L'efficacité de ce dernier est appréciée en comparaison avec un produit anti-inflammatoire de référence (Diclofénac 75mg.kg<sup>-1</sup>).

Neuf souris de race NMRI, des deux sexes, pesant en moyenne 30g, sont réparties en 3 lots, à raison de 3 souris par lot. Les souris sont soumises à une photopériode de 12h lumière, elles doivent être mises à jeun 18h avant le test, tout en ayant un accès libre à l'eau. Les souris sont traitées comme suit :

#### ▪ Au temps T<sub>0</sub> :

**Lot témoin** : chaque souris reçoit 0,5 ml du DMSO par gavage ;

**Lot à testé** : chaque souris reçoit 0,5 ml de la solution de l'extrait de la plante par gavage ;

**Lot de référence** : chaque souris reçoit 0,5 ml de la solution du produit de référence par gavage.

▪ **Au temps  $T_0+30$  min :**

L'inflammation est provoquée en injectant 0.1mL d'une solution de carraghénine à 2% sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche de chaque souris (Figure 12).

▪ **Au temps  $T_0+ 4h 30min$  :**

Après quatre heures et demie, l'activité anti-inflammatoire est évaluée en sacrifiant les souris par l'éther, puis en coupant les pattes postérieures au niveau de l'articulation (Figure 13). Chaque partie est pesée séparément en utilisant une balance analytique.



Figure 12 : Photographie d'injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche (Originale, 2019)



Figure 13 : photographie du découpage des pattes postérieures à hauteur de l'articulation (Originale, 2019)

## 9.2. Evaluation des résultats de l'effet anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire est exprimée par le calcul du :

Pourcentage d'augmentation de l'œdème (% Aug) des pattes gauches par rapport des pattes droites de chaque lot selon la formule :

$$\%Aug = \frac{\text{Moyenne des poids de la PG} - \text{Moyenne des poids de la PD}}{\text{Moyenne des poids de la PG}} \times 100$$

Pourcentage de réduction (%Red) selon les formules :

$$\%Red \text{ du lot traité par le produit testé} = \frac{\% \text{ aug lot 1} - \% \text{ aug lot 2}}{\% \text{ aug lot 1}} \times 100$$

$$\%Red \text{ du lot traité par le produit de référence} = \frac{\% \text{ aug lot 1} - \% \text{ aug lot 3}}{\% \text{ aug lot 1}} \times 100$$

## 10. Analyse statistique

Les logiciels STATISTICA (Version 10.0 ; Statsoft Inc.2011), Excel (Version 1.7 ; Microsoft 2007), ont été utilisés pour les analyses statistiques et la conception des graphiques. Les valeurs présentées dans les différents graphiques et tableaux représentent les moyennes de 3 répétitions  $\pm$  l'écart type de cette moyenne. Nous avons utilisé les tests de l'analyse des variances ANOVA pour comparer entre les valeurs du groupe témoin et celles des groupes traités par l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi), le test post hoc de Tukey pour déterminer les groupes homogènes et faire ressortir les différents significatives entre les moyennes des groupes au seuil de  $P < 0,05 < 0,01 < 0,001$ . Enfin le calcul du coefficient de corrélation ( $r$ ) nous a permis d'évaluer le lien et le profil d'évolution de certains paramètre mis deux à deux.

## I. Caractérisation phytochimique

### I.1. Rendement de l'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi)

L'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles et des glomérules d'*Acacia raddiana* (savi) par macération dans le méthanol aqueux (80%), nous a permis de déterminer le rendement de leur extrait brut qui est dprésenté dans le tableau II.

**Tableau II : Rendement en polyphénols de l'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi)**

| Solubilité   | Rendement     |
|--------------|---------------|
| Méthanol-Eau | 14,81 ± 1,35% |

L'extraction de composés phénoliques de notre extrait a donné un rendement égal à 14,8 ± 1,35%, dont nous avons utilisé une poudre à la place de la plante entière car d'après Perva-Uzunalic *et al* (2006), l'extraction soit améliorée du fait de rendre l'échantillon plus homogène ce qui augmente surface du contact avec le solvant et faciliter sa pénétration à l'intérieur des cellules qui ne sont pas détruites après le broyage. Cela pour dire que le rendement d'extraction est tributaire de plusieurs facteurs qui peuvent influencer les performances de l'extraction, tels que la taille des particules, la nature du solvant, la température, le temps d'extraction et le degré d'agitation.

Nous avons opté pour le méthanol 80% pour l'extraction des composés phénoliques des feuilles et des glomérules d'*A.raddiana* (Savi) car il a été rapporté dans la littérature que la combinaison méthanol-eau pourrait donner le meilleur rendement d'une macération. Cependant la dégradation de polyphénols provoquerait la diminution de rendement d'extraction avec la progression de temps (Mohammedi et Atik, 2011 ; Naima *et al.*, 2015).

Alain *et al* (2015) ont rapporté un rendement de l'extrait éthanolique et hydro-éthanolique de 5,6% et 15,2% respectivement sur *l'Acacia polyacantha*. Ces résultats nous ont permis de constater que l'eau augmente la surface de contact, permettant ainsi l'augmentation du rendement de l'extraction.

Moure *et al* (2000) et Trabelsi *et al* (2010) ont montré que la présence de l'eau dans les solvants mixtes augmenterait la perméabilité des tissus végétaux et favoriserait le phénomène de diffusion de masse dans l'étape d'extraction.

En outre, Bouchouka (2016) a trouvé un rendement de 19,62% sur la *Genista saharae*. Ces résultats montrent que le méthanol a une bonne capacité à faire extraire les composés phénoliques de la plante dû à l'affinité de ces composés phénoliques au solvant polaire.

Notre étude s'est basée sur la macération des feuilles et les glomérules d'*A. raddiana* (Savi) dû à leur richesse en composés phénoliques dans cette partie. Ceci a été confirmé par Falleh *et al* (2008), dont les rendements sont plus élevés dans les feuilles par rapport aux autres parties de la plante telle que les tiges et racines.

## I.2. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols de l'extrait hydroalcoolique de *l'Acacia raddiana* (Savi) est exprimée en mg d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG. g<sup>-1</sup>MVS) :

$$\text{Teneur en polyphénols (mg EAG.g}^{-1}\text{ MVS)} = 15,19 \pm 0,35$$

Le dosage des polyphénols totaux est fait par la méthode de Folin-Ciocalteu. Cette méthode est considérée comme la meilleure méthode de détermination du taux des polyphénols totaux des extraits de plantes, car elle est standardisée, simple, reproductible et les interférences avec la matrice de l'échantillon qui est souvent coloré sont minimisés à la grande longueur d'onde d'absorption utilisée (765 nm) (Djeridane *et al.*, 2010 ; Huang *et al.*, 2005).

Nos résultats indiquent que la teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique est de l'ordre de 15,19 mg EAG. g<sup>-1</sup>MVS, cette teneur est inférieure à celle obtenue par Karoune (2016) avec *l'Acacia raddiana* (Savi) (23,94 mg EAG.g<sup>-1</sup> MVS) qui rapportent que les teneurs les plus élevés en polyphénols seraient obtenues avec une macération méthanolique (Naima *et al.*, 2015).

L'éthanol en combinaison avec l'eau permet une meilleure extraction des polyphénols totaux. Alors l'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols (Sripad *et al.*, 1982) par modulation de la polarité du solvant organique (Koffi *et al.*, 2010 ; Mohammedi et Atik, 2011). Cette augmentation est peut être dû à l'affaiblissement des liaisons d'hydrogène dans les solutions aqueuses. Elle pourrait également être due à l'augmentation de la basicité et de l'ionisation des polyphénols dans de telles solutions (Sripad *et al.*, 1982). La solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupements hydroxyles, de poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonique de squelette de base (Mohammedi et Atik, 2011).

Les valeurs de nos résultats sont inférieures que celles trouvées dans certaines espèces appartenant à la famille des Fabaceae telle que *H. ledifolium* qui révèle une composition en polyphénols de  $17,3 \pm 1,0$  mg EAG.g<sup>-1</sup> MVS via une macération méthanolique (Tawaha *et al.*, 2007).

L'extraction des polyphénols par macération, bien que généralement longue et exige des solvants organiques qui sont chers et dangereux pour la santé, est la seule méthode utilisable dans le cas de l'extraction d'un ensemble de molécules fragile (Ben Amor, 2008 ; Garcia-Salas *et al.*, 2010). Par exemple, l'extraction au Soxhlet se fait à la température d'ébullition du solvant ce qui entraînerait la dégradation thermique des composés thermosensibles, contrairement à la macération qui se déroule à température ambiante, (Popovici *et al.*, 2009).

## I.3. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes est obtenue à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec des concentrations croissantes en quercétine. Elle est exprimée en mg d'équivalents de quercétine par g de matière végétale sèche (mg EQ. g<sup>-1</sup> MVS) :

$$\text{Teneur en flavonoïdes (mg EQ.g}^{-1}\text{ MVS)} = 4,57 \pm 0,0311$$

Le résultat de notre dosage a donné une valeur de  $4,57 \pm 0,031$  mg EQ.  $g^{-1}$  MVS. Ce résultat est très inférieur à celui trouvé par Sadiq *et al* (2015) chez *Acacia nilotica* (L.) Del. qui est de l'ordre de  $37,53 \pm 0,82$  mg EQ.  $g^{-1}$  MVS.

En ce qui concerne le solvant d'extraction, quel que soit le mode d'extraction, l'éthanol et l'acétone restent les meilleurs extracteurs des flavonoïdes.

L'éthanol et l'eau sont préférables car ils ont l'avantage d'être non polluants, moins chers et non toxiques par rapport à d'autres solvants comme le méthanol.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Boussahel (2011) sur *Retama sphaerocarpa* (L.) Boisse ( $4,62 \pm 0,13$  mg EQ.  $g^{-1}$  MVS).

#### I.4. Dosage des anthocyanes totaux

La teneur en anthocyanes est exprimée en mg d'équivalents de cyanidine-3-glucoside.  $g^{-1}$  MVS (mg eq Cya-3-glc.  $g^{-1}$  MVS) :

$$\text{Teneur en anthocyanes (mg eq Cya-3-glc. } g^{-1} \text{ MVS)} = 0,022 \pm 0,0036$$

Le dosage des anthocyanes sur l'extrait méthanolique a donné une valeur de  $0,022 \pm 0,0036$  mg eq Cya-3-glc.  $g^{-1}$  MVS. Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Kebbas (2016) sur les feuilles d'*Acacia raddiana* (Savi) qu'ils étaient de l'ordre de  $0,12 \pm 0,06$  mg eq Cya-3-glc.  $g^{-1}$  MVS.

Cela serait peut être dû aux conditions climatiques auxquelles elles sont soumises vu que Kebbas (2016) a étudié un *Acacia raddiana* qui provient de la région de Tamanrasset alors que nos plantes proviennent de la région de Béchar, leur âge, ainsi que leur localisation géographique.

Le dosage des anthocyanes effectué par Mida (2012) sur l'extrait méthanolique des feuilles de *Desmodium adscendens* (une espèce appartenant à la famille des Fabaceae) a révélé une teneur en anthocyanes assez supérieur à celle obtenu par notre extrait ( $0,413$  mg eq Cya-3-glc.  $g^{-1}$  MVS contre  $0,022 \pm 0,0036$  mg eq Cya-3-glc.  $g^{-1}$  MVS).

## II. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par le test de DPPH

L'activité antioxydant de notre extrait a été évaluée par le test DPPH. Les résultats présentés dans la Figure 14 de l'activité antiradicalaire de l'extrait de l'*Acacia raddiana* (Savi), montrent que l'extrait présente une valeur d'IC50 supérieur à celle de référence (acide ascorbique) (Figure 15) qui présente une valeur d'IC50 de 20 et  $0,153$  mg.  $mL^{-1}$  respectivement. Donc, l'extrait possède une activité antiradicalaire modérée à celle de l'acide ascorbique.

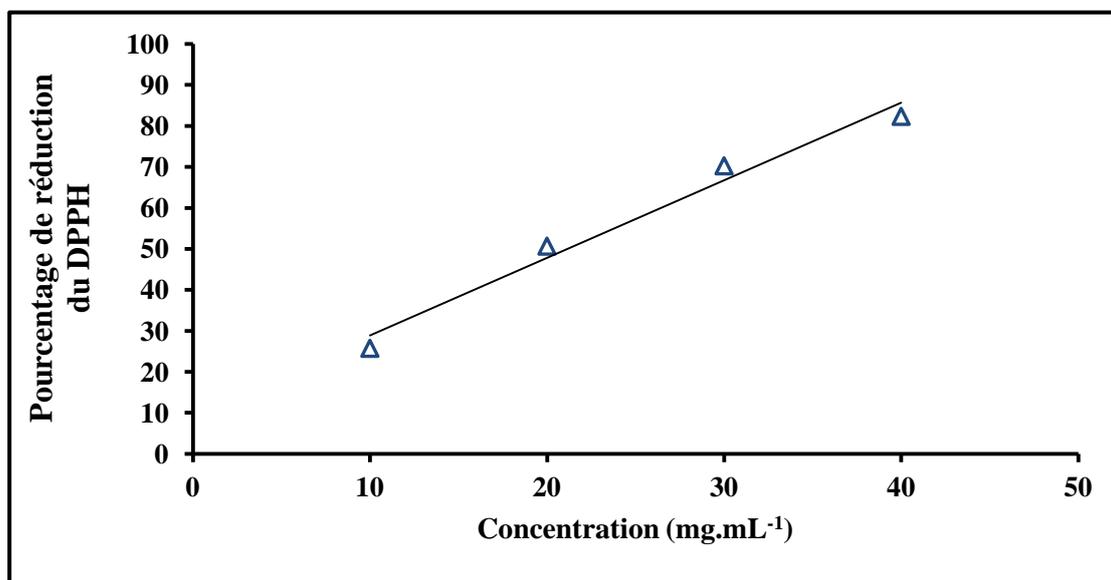


Figure 14 : Pourcentage de réduction du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi)

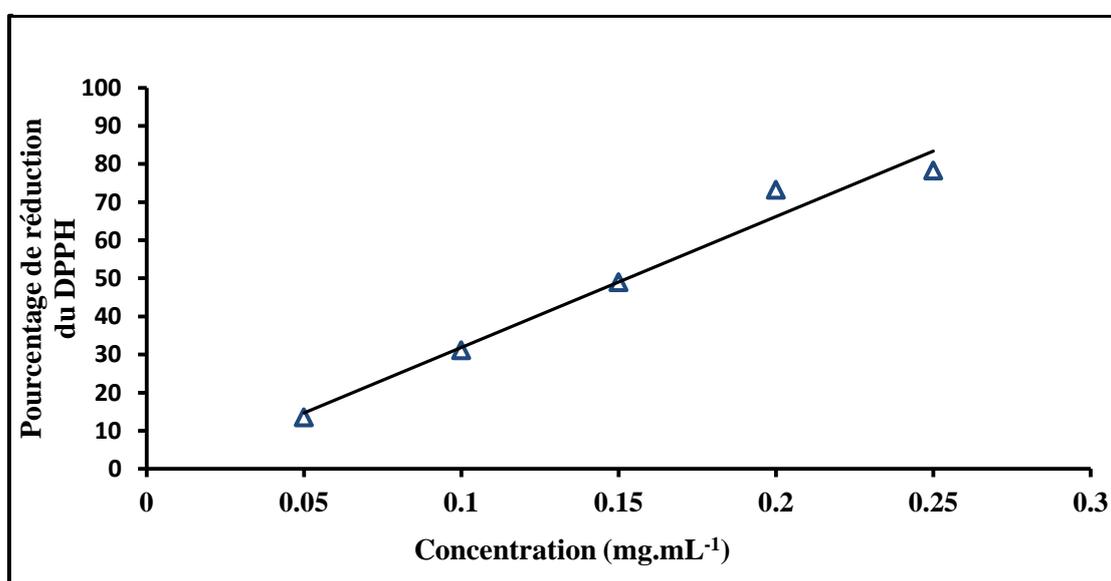


Figure 15 : Pourcentage de réduction du DPPH en fonction de la concentration de l' Acide ascorbique

Dans cette étude, l'effet antioxydant de l'*Acacia raddiana* (Savi) a été mesuré par la méthode de piégeage du radical libre *in vitro*.

D'après nos résultats, l'*Acacia raddiana* (Savi), est une plante contenant des composés phénoliques (Polyphénols :  $15,19 \pm 0,35$  mg EAG. g<sup>-1</sup>MVS ; Flavonoïdes :  $4,57 \pm 0,0311$  mg EQ.g<sup>-1</sup> MVS et Anthocyanes :  $0,022 \pm 0,0036$  mg eq Cya-3-glc.g<sup>-1</sup>MVS) avec une activité antiradicalaire modérée à celle de l'acide ascorbique.

Plus la valeur de l'IC50 est petite, plus l'activité antioxydante de l'extrait testé est grande (Pokorny *et al.*, 2001).

Selon la littérature, il existe une relation entre la structure des polyphénols et leur capacité à piéger les radicaux libres. Il a été suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire (Yang *et al.*, 2008).

De Pooter et Schamp (1986) ont démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, le tocophérol, les flavonoïdes et les tannins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène. Donc, nous pouvons suggérer que le pouvoir antioxydant de notre extrait dépend de la qualité des composés phénoliques et de leur quantité. En effet, des études ont pu démontrer que cette activité antioxydante contre le radical libre DPPH dépend non seulement de la richesse en polyphénols mais aussi de la nature phénolique, la structure et les interactions synergique (Djeridane *et al.*, 2006).

Les résultats de Le *et al* (2007) suggèrent que l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) contient des agents piégeurs de radicaux libres agissant comme antioxydants primaires. L'action de ces antioxydants est supposée être due à leur capacité de donner des atomes d'hydrogène ou des électrons dérivés principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes. Cette corrélation a été également rapportée par Kintzios et ses collaborateurs (2010), qui ont trouvé que les extraits méthanoliques de quelques plantes médicinales ont des effets piégeurs de radicaux DPPH plus grands que ceux de leurs extraits aqueux.

Il est reconnu que les flavonoïdes constituent la classe la plus importante des polyphénols qui a montré un très haut potentiel d'activités biologiques telle que l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne, anticancéreuse et antiallergique (Anyasor *et al.*, 2010 ; Chao *et al.*, 2002 ; Igbinsa *et al.*, 2009; Thitilertdecha *et al.*, 2008). Nous avons confirmé alors que l'activité antioxydante exercée par l'extrait d'*A.raddiana* (Savi) est due à sa teneur en polyphénols particulièrement à celle de la classe des flavonoïdes (Tableau IV).

Selon Ksouri *et al* (2008), les activités antioxydantes sont plus variables dans les espèces de la plante (inter-espèce) que dans les mêmes espèces (intra-espèce). Cela pourrait être dû à certaines conditions tel que la localisation géographique de la plante et conditions climatique.

### III. Évaluation de la néphrotoxicité de la Gentamicine et l'effet néphroprotecteur de l'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi)

#### III.1. Effet de la gentamicine et l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) sur la teneur en protéines totales

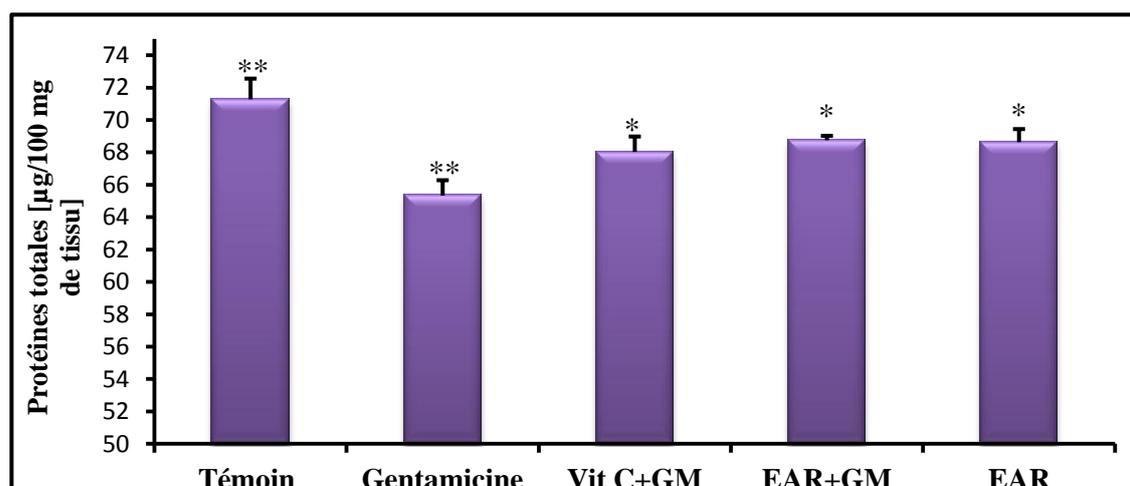


Figure 16 : Effet de la gentamicine et l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) sur la teneur en protéines totales. Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions, les barres verticales représentent l'écart-type.\* P < 0.05, \*\* P < 0.01 ou \*\*\* P < 0.001 représentent les niveaux de significativité des différences entre les souris normales et les souris traitées par la gentamicine évalués par ANOVA suivi par le test post hoc de Tukey.

Comme le montre la Figure 16, les souris traitées uniquement par la Gentamicine® ont présenté une diminution hautement significative du taux de protéines totales par rapport au groupe témoin ( $P < 0,001$ ) indiquant la présence de lésions rénales. Cependant, la teneur en protéines totales chez les souris traitées simultanément par la GM et l'extrait de *Acacia raddiana* (Savi) a augmenté significativement ( $P < 0,05$ ) en comparaison avec le témoin négatif.

Les protéines sont très sensibles aux attaques radicalaires, surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées (Favier, 2003). Nous constatons alors que la diminution du taux des protéines totales dans le lot témoin reviendrait probablement aux effets toxiques des espèces radicalaires résultant suite au traitement par la Gentamicine®, par contre l'augmentation du taux de protéines totales chez les souris du lot co-traitées par la Gentamicine® et l'extrait de *Acacia raddiana* (Savi) pourrait être dû à l'activité anti radicalaire de ce dernier qui est connu par sa richesse en composés antioxydants (Figure 14).

El Gamal *et al* (2014) ont évalué l'activité de l'extrait de Betterave (*Beta vulgaris* L), un excellent antioxydant dans la protection de l'effet néphrotoxique de GM chez les rongeurs, ils ont retrouvé que les rats traités seulement par la GM présentent une diminution significative des taux de protéines totales ( $P < 0,05$ ), ce qui constitue un indicateur d'une insuffisance rénale due au stress oxydatif induit par la gentamicine. Néanmoins l'administration de l'extrait de *Beta vulgaris* L avec des doses progressives (250 et 500 mg.Kg<sup>-1</sup>PC) en parallèle avec le traitement de la gentamicine avait montré une augmentation significative de taux des protéines totales. Cela indique clairement que l'extrait de *Beta vulgaris* L a la capacité d'induire la prolifération cellulaire ce qui pourrait être superposé à nos résultats concernant l'effet de *Acacia raddiana* (Savi) dans l'amélioration de taux des protéines totales.

Il a été prouvé que la co-administration de la Gentamicine et l'acide sinapique chez les rats augmente significativement la teneur en protéines totales de manière dose-dépendante par rapport à ceux à qui on a administré la Gentamicine uniquement (Ansari *et al.*, 2016).

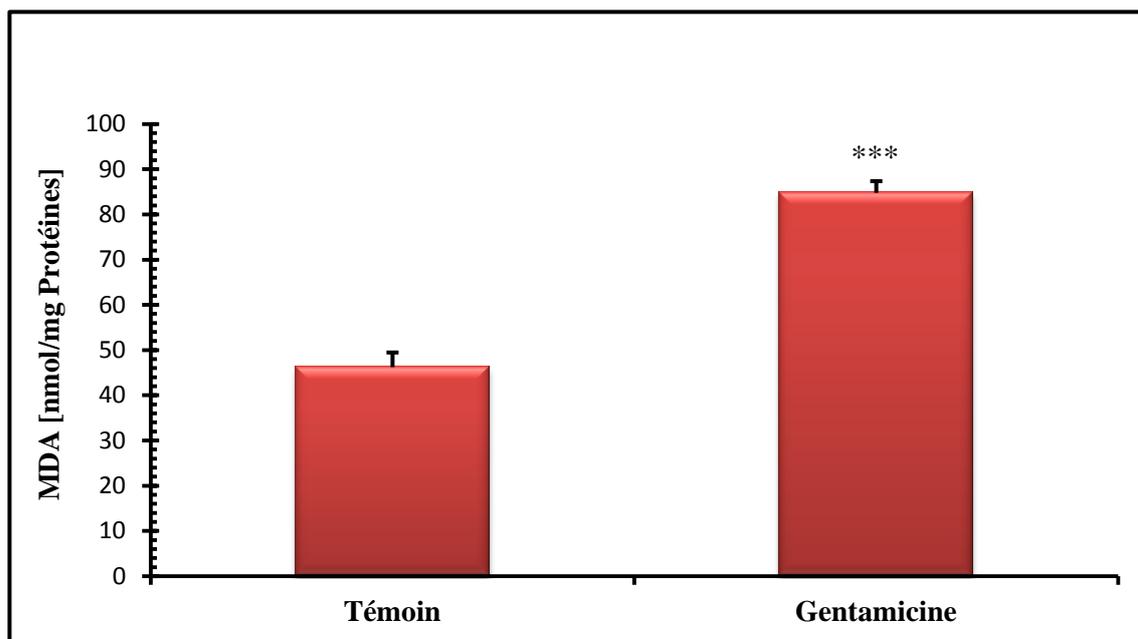
L'acide sinapique (SA) est un dérivé de l'acide hydroxycinnamique polyphénol avec la substitution de 3,5-diméthoxy et 4-hydroxyle dans le groupe phényle de l'acide cinnamique. Il peut être largement obtenu de fruits et légumes, et connu par ses puissants effets antioxydant et anti-inflammatoire observés *in vitro* et *in vivo* ainsi son activité néphroprotectrice contre les agents rénotoxiques a été déjà démontré (Ansari *et al.*, 2017). Puisque *Acacia raddiana* est riche en polyphénols, elle pourrait avoir le même impact néphroprotecteur que l'acide sinapique.

## III.2. Effet de la Gentamicine sur les paramètres du stress oxydant

Il a été suggéré que le stress oxydatif joue un rôle clé dans la néphrotoxicité de la Gentamicine. Ceci est principalement basé sur une myriade d'études conduites dans des modèles expérimentaux démontrant que le co-traitement avec une variété d'antioxydants protège des dommages rénaux induits par la Gentamicine, bien que les données cliniques ne soient pas aussi concluantes (Cuzzocrea *et al.*, 2002 ; Morales *et al.*, 2002 ; Ali, 2003 ; Koyner *et al.*, 2008).

### III.2.1. Effet de la Gentamicine sur la peroxydation lipidique (MDA)

La figure 17 représente la variation du taux rénale de malondialdéhyde MDA chez des souris traités quotidiennement avec la Gentamicine® et des souris normales.



**Figure 17 : Effet de la Gentamicine<sup>®</sup> sur le taux de malondialdéhyde (MDA) dans les reins des souris.** Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions, les barres verticales représentent l'écart-type. \* P < 0.05, \*\* P < 0.01 ou \*\*\* P < 0.001 représentent les niveaux de significativité des différences entre les souris normales et les souris traitées par la gentamicine évalués par ANOVA suivi par le test post hoc de Tukey.

D'après les résultats obtenus, nous observons une augmentation très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ) du taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau rénale chez les souris recevant la Gentamicine<sup>®</sup> par rapport aux souris témoins ( $46.19 \pm 3.24 \text{ nmol.mg}^{-1} \text{ Protéines}$  vs  $84.74 \pm 2.57 \text{ nmol.mg}^{-1} \text{ Protéines}$ ).

La Gentamicine induit un stress oxydatif d'origine mitochondriale dans les cellules du tubule proximal en culture et des modèles animaux. Ce stress oxydant est impliqué dans son effet cytotoxique (Morales *et al.*, 2010).

*In vivo* et *in vitro*, la Gentamicine favorise la génération des EROs en modifiant la respiration des mitochondries, conduisant à la génération de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . En outre, les lésions rénales induites par les aminosides sont associées à des élévations marquées dans les niveaux de la lipoperoxydation (Ali, 2003), à la formation de nitrotyrosine (Cuzzocrea *et al.*, 2002), et à l'oxydation des protéines dans le cortex rénal (Sener *et al.*, 2002).

L'indicateur des dommages du rein que nous avons étudié est le MDA, pour juger de la gravité de la lésion rénale aiguë. Le MDA est un produit de dégradation lors de la peroxydation d'acides gras polyinsaturés dans la membrane cellulaire. La présence du MDA dans l'homogénat est souvent un indicateur du stress oxydatif. (Alhassan *et al.*, 2009). Il peut détériorer quelques mécanismes physiologiques dans le corps humain, à cause de sa capacité de réagir avec des molécules comme l'acide désoxyribonucléique et des protéines (Jahromi *et al.*, 2017).

Nous avons remarqué d'après la Figure 17, que l'administration journalière de la Gentamicine<sup>®</sup> à une dose de  $100 \text{ mg.Kg}^{-1} \text{ P.C}$  a provoquée une augmentation significative du taux de MDA rénale ( $84 \pm 2.57 \text{ nmol.mg}^{-1} \text{ Protéines}$ ). Ce résultat suggère que la Gentamicine maximise le stress oxydatif et la génération de radicaux libres (Ademiluyi *et al.*, 2013) et

provoque l'inhibition du système de défense antioxydant ce qui endommagera les lipides membranaires (peroxydation lipidique) (Almohawes, 2017).

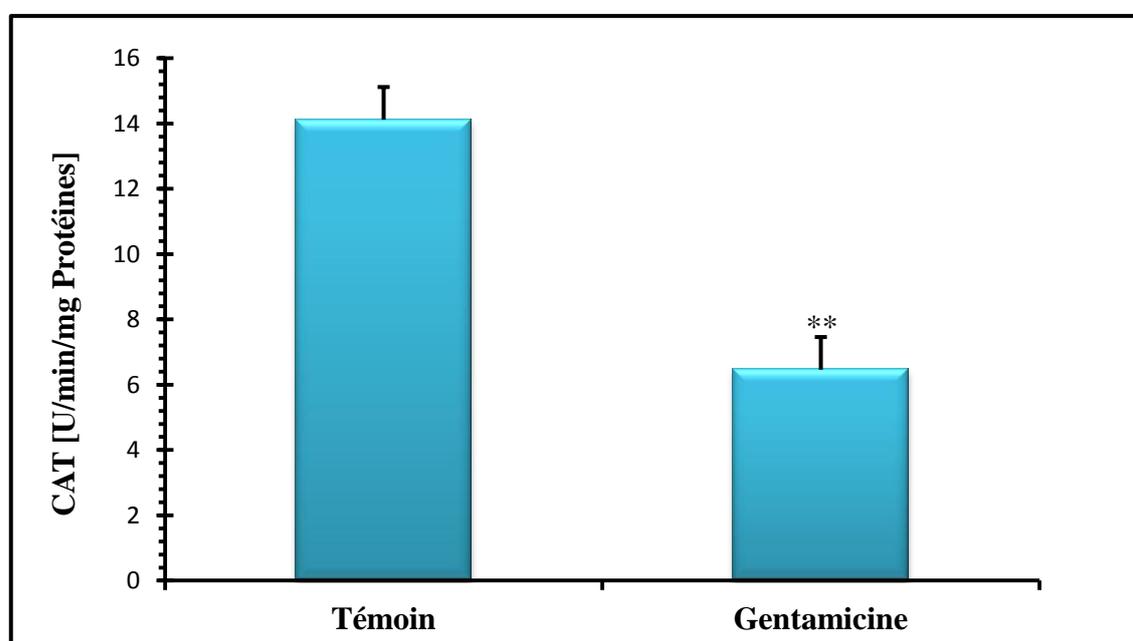
Nos résultats sont conformes à ceux publiés par Hajihashemi *et al* (2017), Govindappa *et al* (2018), et par Cao *et al* (2019) qui ont montré que les taux de MDA dans le rein étaient significativement élevés après 7 jours de traitement par la gentamicine à une dose de 100 mg. Kg<sup>-1</sup> en comparaison avec le groupe de contrôle.

Ces résultats viennent donc pour confirmer les premières conclusions de Chashmi *et al* (2016) qui ont suggérés que le taux de MDA rénal des souris a été élevé d'une manière significative ( $P \leq 0.05$ ) dans les mêmes conditions que nous avons abordé.

Le MDA, produit final de la peroxydation des lipides dans les tissus, entraîne une diminution de la teneur en acides gras polyinsaturés, qui sert de substrat aux radicaux libres. L'interaction entre des médicaments cationiques tels que les aminosides et les phospholipides anioniques est considérée comme la première étape du développement de la toxicité de la Gentamicine (Eisenberg *et al.*, 1987; Wiland et Szechcinski, 2003). La Gentamicine et certains antibiotiques agissent comme des chélateurs du fer. En outre, il a été démontré que la Gentamicine provoque la libération du fer des mitochondries corticales rénales. Le complexe fer-gentamicine formé est un catalyseur puissant pour la formation de radicaux libres et favorise la génération de EROs (Baliga *et al.*, 1999 ; Priuska et Schacht, 1995 ; Yanagida *et al.*, 2004).

### III.2.2. Effet de la gentamicine sur l'activité de la catalase (CAT)

La figure 18 représente l'effet d'un traitement de 7 jours par la Gentamicine<sup>®</sup> sur l'activité de la catalase dans les reins des souris par rapport aux souris normales.



**Figure 18 : Effet de la gentamicine sur l'activité de la catalase dans les reins des souris.** Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions, les barres verticales représentent l'écart-type. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  ou \*\*\*  $P < 0.001$  représentent les niveaux de significativité des différences entre les souris normales et les souris traitées par la gentamicine évalués par ANOVA suivi par le test post hoc de Tukey.

Les résultats obtenus dans notre travail ont montré que l'administration journalière de la Gentamicine® (100 mg. Kg<sup>-1</sup>) a provoqué une diminution hautement significative ( $p \leq 0.01$ ) de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) par rapport aux souris normales ( $6.45 \pm 2.25$  U/min/mg Protéines contre  $14.11 \pm 2.49$  U/min/mg Protéines).

La génération des EROs induit des lésions cellulaires mais l'organisme utilise son système antioxydant pour la protection contre ces dommages oxydatif. Ce système contient les antioxydants enzymatiques : GPX, GST, CAT, SOD et les antioxydants non enzymatiques : les polyphénols et les vitamines (Haleng *et al.*, 2007).

Diverses études ont montré que la Gentamicine est capable de perturber l'équilibre rédox en réduisant l'activité antioxydante du corps, telles que la SOD, la GPx et la CAT. En outre, il en résulte des taux élevés de radicaux libres et éventuellement de multiples complications telles que la peroxydation des lipides et la production de MDA (Quiros *et al.*, 2011; Randjelovic *et al.*, 2017; Yadav *et al.*, 2017).

La catalase est une enzyme présente dans les cellules des organismes vivants. (Flora, 2009). Elle est considérée comme une enzyme peroxisomale se trouvant aussi dans les autres compartiments cellulaire (Castaldo *et al.*, 2016). Elle catalyse la dismutation d'eau oxygénée en eau (H<sub>2</sub>O) et en oxygène (O<sub>2</sub>).

Les résultats trouvés dans notre étude sont en accord avec ceux rapportés par Al Suleimani *et al* (2017), Sun *et al* (2018), et Hasanvand *et al* (2018), qui ont constaté que chez les souris, un traitement par la Gentamicine à une dose de 100 mg.Kg<sup>-1</sup> a montré une diminution significative de l'activité de la catalase tissulaire par rapport aux souris témoins normales.

Un déséquilibre entre les processus d'oxydation et de réduction conduit à une production excessive de EROs par la Gentamicine. Dans cette étude, les souris normales traitées avec de la Gentamicine® pendant 7 jours consécutifs entraînent un phénomène d'inhibition de l'activité des enzymes antioxydantes. Des résultats similaires ont été rapportés par Nitha et Janardhanan (2008), Manikandan *et al* (2011), Heidarian *et al* (2017), et Sun *et al* (2018).

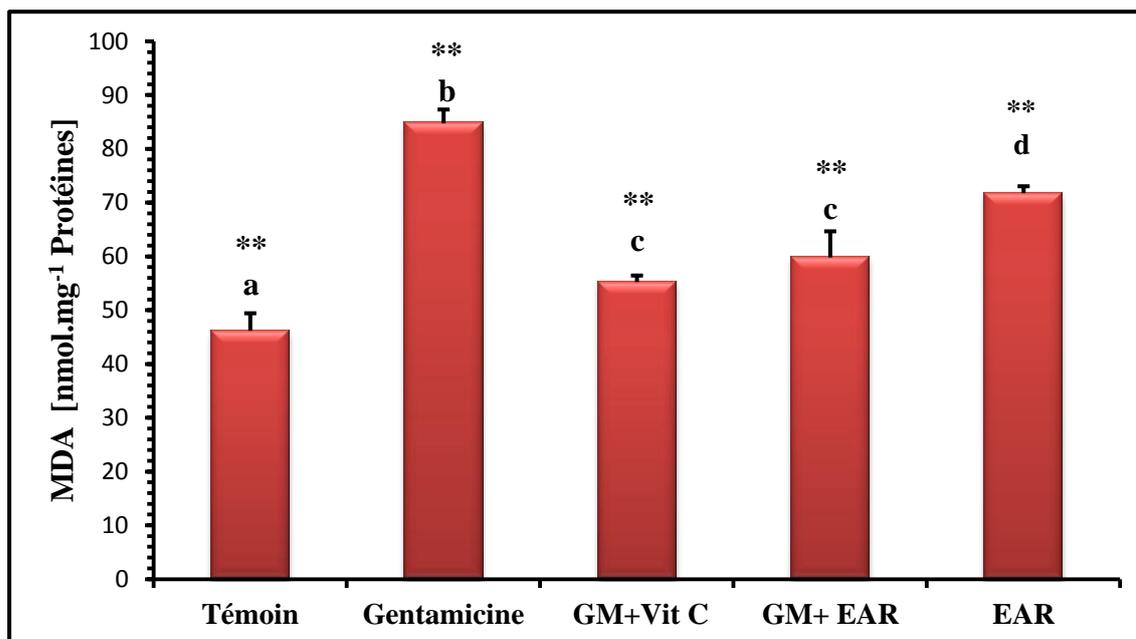
De nombreuses études ont montré que les enzymes antioxydantes, notamment la catalase, sont inactivées par les EROs, en particulier le radical anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) et le peroxyde d'hydrogène (Halliwell et Gutteridge, 1984 ; Pigeolet *et al.*, 1990).

D'après Rachid et Khan (2017), la Gentamicine entraîne une surproduction des EROs mais également une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes qui est considérée comme l'une des causes associées à la toxicité rénale de cet antibiotique. Cette réduction est due à la génération de peroxyde d'hydrogène par les mitochondries. Cette production a été augmentée de manière dose-dépendante par la gentamicine. En outre, il a été également démontré que la gentamicine augmente la production de radicaux hydroxyle et anion superoxydes dans les mitochondries du cortex rénal (Ali *et al.*, 2011 ; Lopez-Novoa *et al.*, 2011 ; Walker *et al.*, 1999).

### III.3. Effet de l'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi) sur les Paramètres du stress oxydant

#### III.3.1. Effet de l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) sur la peroxydation lipidique (MDA)

La Figure 19 représente la variation du taux de MDA dans les reins des souris co-traitées quotidiennement avec la Gentamicine<sup>®</sup> et l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) et chez celles co-traitées avec de la vitamine C par rapport aux témoins.



**Figure 19 : Effet de la co-administration de l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) et de l'acide ascorbique (Vitamine C) sur la peroxydation lipidique (MDA).** Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions, les barres verticales représentent l'écart-type. \* P < 0,05, \*\* P < 0,01 ou \*\*\* P < 0,001 représentent les niveaux de significativité des différences entre témoin et les groupe traités, évalués par ANOVA suivi par le test post hoc de Tukey.

GM : Gentamicine ; Vit C : Vitamine C ; EAR : Extrait d'*Acacia raddiana*.

D'après la Figure 19 les taux du MDA étaient significativement réduits dans le tissu de souris co-traitées avec l'extrait d'*Acacia raddiana* par rapport au groupe traité par la Gentamicine<sup>®</sup> seule. L'administration de l'extrait d'*A.raddiana* a réduit de manière très hautement significative (P ≤ 0,001) le taux de MDA qui a passé de (84,74 ± 2,57 nmol.mg<sup>-1</sup> Protéines) dans le groupe de GM seule à (59,82 ± 4,85 nmol.mg<sup>-1</sup> Protéines) dans le 4<sup>ème</sup> lot.

L'augmentation des EROs dans la néphrotoxicité induite par la Gentamicine peut être due soit à une augmentation de la production, soit à une diminution de leur élimination après l'épuisement des systèmes antioxydants (Cho *et al.*, 2003). Cependant, dans notre étude expérimentale, l'administration simultanée de 200 mg.Kg<sup>-1</sup> d'extrait d'*Acacia raddiana* avec la Gentamicine<sup>®</sup> avait pour effet de réduire le taux de MDA rénal (30,11%) par rapport au groupe traité à la Gentamicine seule. Ces résultats suggèrent que le système antioxydant déséquilibré dans les reins traités par la Gentamicine est normalisé par l'effet protecteur de l'extrait d'*A.raddiana* qui confèrent un effet positif sur la réduction de la peroxydation lipidique en augmentant la défense anti-oxydante.

La diminution du taux de MDA après traitement des souris par l'extrait d'*A.raddiana* (Savi) est expliquée par l'effet anti-péroxydant des molécules actives de l'extrait qui est très riches en substances bioactives telles que les flavonoïdes, les acides phénoliques, et les tannins. Ces substances sont reconnues par leur activité antioxydante intense (Kebbas, 2016 ; Lassouane, 2015).

Selon Griendling ( 2000), les acides phénoliques sont divisés en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque tels que l'acide gallique ou vanillique et les dérivés de l'acide cinnamique tels que l'acide caféique, coumarique, sinapique et férulique. les espèces d'Acacia sont connues par leur richesse en ces substances antioxydantes puissantes.

En effet, les activités protectrices des composés phénoliques sont dues à trois mécanismes: le transfert d'atome d'hydrogène (HAT), le transfert d'électron unique (SET) et la chélation des métaux de transition. (Santos-Sánchez *et al.*, 2019).

De nombreuses études (Aldahmash *et al.*, 2016; Bustos *et al.*, 2016; Karaca *et al.*, 2018) ont montré que les produits naturels de plantes médicinales (polyphénols), indiquent la forte activité antioxydante qui pourrait agir contre l'endommagement du rein par la Gentamicine.

De même, Parlakpinar *et al* (2005) ont montré également une diminution du MDA rénal suite à l'administration d'acide caféique à des rats intoxiqués par la Gentamicine.

Nos résultats conforment à ceux d'Afsar *et al* (2019), qui ont signalé que l'extrait d'*Acacia hydaspica* inhibait la peroxydation des lipides et réduisait le stress oxydatif en abaissant le taux de MDA et en améliorant le système antioxydant total dans le foie des rats traités à la doxorubicine.

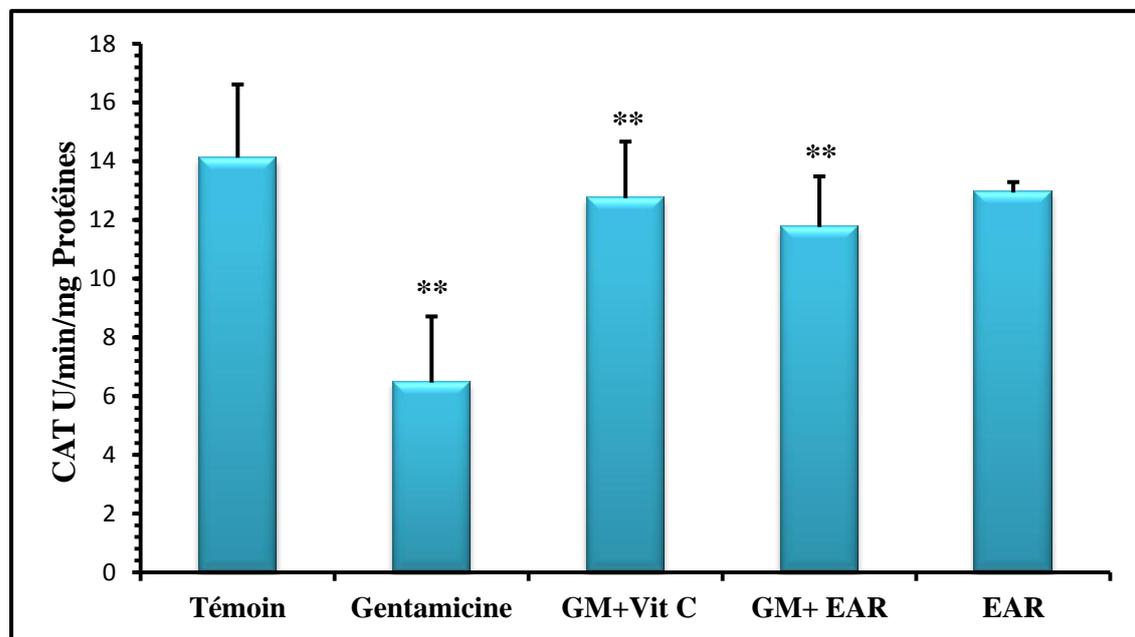
En 2004, Balasubashini *et al* ont constaté que le traitement à l'acide férulique avait eu des effets bénéfiques en atténuant le stress oxydatif chez les sujets diabétiques. Une diminution significative des niveaux de substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS), d'hydroperoxydes et d'acides gras libres a été démontrée. Cela montre que l'acide férulique est efficace contre la peroxydation lipidique. Comme l'acide férulique constitue l'un des composés phytochimique d'*A.raddiana* il contribue alors à l'inhibition de l'expression des TBARS comme il a été observé dans notre étude (Figure19).

En ce qui concerne le 3<sup>ème</sup> lot qui a été co-traité avec la Gentamicine+vitamine C. nous avons remarqué une réduction de la peroxydation lipidique par la diminution du taux de MDA tissulaire qui a passé de  $(84,74 \pm 2,57 \text{ nmol.mg}^{-1} \text{ de Protéines})$  dans le groupe gentamicine à  $(55,25 \pm 1,21 \text{ nmol.mg}^{-1} \text{ Protéines})$  dans le 3<sup>ème</sup> groupe. Cela suggère que l'acide ascorbique est capable de protéger contre la peroxydation des lipides par l'activité de piégeage de l'oxygène, en neutralisant la peroxydation lipidique et les lipides membranaires insaturés. Ces résultats sont conformes à ceux trouvés par Moreira *et al* en 2014. qui ont prouvé que l'acide ascorbique réduit la néphrotoxicité induite par la gentamicine chez les rats par le contrôle d'EROs

D'après notre étude, il en ressort que le co-traitement avec l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi), des souris traitées par la gentamicine®, pourrait effectivement protéger les cellules de la néphrotoxicité induite par la Gentamicine et atténuer ainsi sa toxicité. Nous estimons que son action est principalement de protéger les structures membranaires des cellules contre les effets destructeurs des radicaux libres, pour empêcher la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés notamment les phospholipides, incité par la Gentamicine.

### III.3.2. Effet de l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) sur l'activité de la catalase

L'effet néphroprotecteur de l'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi) a été évalué par la co-administration de 200 mg.Kg<sup>-1</sup> de l'extrait en comparaison avec l'acide ascorbique (Vitamine C) à une dose de 200 mg.Kg<sup>-1</sup>. Les résultats sont représentés dans la Figure 20.



**Figure 20 : Effet de la co-administration de l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) et de l'acide ascorbique (Vitamine C) sur l'activité de la catalase.** Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions, les barres verticales représentent l'écart-type. \* P < 0,05, \*\* P < 0,01 ou \*\*\* P < 0,001 représentent les niveaux de significativité des différences entre témoin et les groupe traités, évalués par ANOVA suivi par le test post hoc de Tukey.

GM : Gentamicine ; Vit C : Vitamine C ; EAR : Extrait d'*Acacia raddiana*.

Dans la présente étude, nous avons observé que le co-traitement de souris avec l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) à une dose de 200 mg.Kg<sup>-1</sup> pendant 7 jours a permis de protéger le tissu rénal des souris de la néphrotoxicité induite par la Gentamicine®. Cela est prouvé par l'amélioration significative ( $p \leq 0,05$ ) de l'activité de la catalase par rapport au groupe traité uniquement avec la Gentamicine® ( $11,75 \pm 1,72$  U/min/mg Protéines vs  $6,45 \pm 2,25$  U/min/mg Protéines). Cette augmentation est à l'ordre de 45,05%. Cependant, l'activité de la catalase rénale reste inférieure à celle observée chez les souris témoins normales ( $p > 0,05$ ).

Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Mahmoud et Farag (2017), Hasanvand *et al* (2018) et Karaca *et al* (2018), qui ont montré que des effets antioxydants d'autres plantes ont été observés contre les dommages rénaux induits par la Gentamicine.

Les polyphénols sont des substances que l'on trouve dans toutes les plantes et reuferment plus de 8000 composés naturels (Djeridane *et al.*, 2006). La majorité des effets biologiques à l'origine des polyphénols sont attribués en partie aux propriétés antioxydantes de ces composés naturels. En effet, ils sont capables de piéger les radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, les superoxydes et les peroxydes. Ils sont également capables de piéger les ions métalliques, car ils possèdent des propriétés chélatantes (Niki, 2010).

L'*Acacia raddiana* (Savi) est une source de composés originaux, et plus particulièrement de métabolites secondaires bioactifs tel que les polyphénols (El-Mousallamy *et al.*, 2001). Le potentiel antioxydant de l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) est dû à sa teneur élevée en composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les anthraquinones, les caroténoïdes, les alcaloïdes et les saponines (Kebbas, 2016 ; Lassouane, 2015).

Des résultats similaires ont été rapportés chez *A. confusa* et *A. auriculiformis*, montrant une activité antioxydante puissante à la fois *in vitro* et *in vivo* (Payne *et al.*, 2013 ; Chang *et al.*, 2001 ; Singh *et al.*, 2007 ; Tung *et al.*, 2011).

Selon Subhan *et al* (2018), toutes les espèces d'*Acacia* testés ont montré une activité antioxydante modérée à élevée dans divers tests utilisés. Ainsi, les espèces d'*Acacia* constituent une source potentielle d'antioxydants naturels.

Concernant le groupe co-traité à la fois avec la vitamine C et la Gentamicine<sup>®</sup>, nous avons trouvé des résultats similaires à ceux du lot N°4, avec une amélioration de l'activité de la catalase qui a augmenté de (6,45 ± 2,25 U /min/mg de protéine) à (12,73 ± 1,92 U /min/mg Protéine) par rapport au groupe N°2, indiquant un probable mode d'action entre l'acide ascorbique qui est un puissant antioxydant, et les composants bioactifs d'*Acacia raddiana* (Savi).

Cela suggère que les deux substances étudiées ont pu protéger le tissu rénal des dommages causés par la Gentamicine.

Après avoir démontré que la gentamicine est la cause du stress oxydatif, nous avons tenté d'explorer la possibilité de l'empêcher en effectuant un traitement antioxydant. Pour ce faire, nous avons choisi la vitamine C, ce traitement vise également à comparer son effet antioxydant à celui de l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi).

La vitamine C est un puissant antioxydant naturel qui arrête la propagation des processus de peroxydation et réagit avec la vitamine E oxydée liée à la membrane, la ramenant ainsi à sa forme native (Nagaoka *et al.*, 2007). Elle a montré un effet bénéfique dans de nombreuses conditions où le stress oxydatif est généré.

Les données de la présente étude indiquent que le traitement simultané de Vit C avec la Gentamicine<sup>®</sup> a montré une amélioration significative de l'activité de la catalase. Notre étude est en accord avec les résultats de l'étude réalisée par Moreira *et al* (2014) qui indique que la vitamine C a des effets positifs sur la néphrotoxicité induite par la gentamicine chez les rats.

Hong et ses collaborateurs en (2017) ont également observé une protection contre un puissant agent néphrotoxique 4-aminophénol, le 4-amino-2,6-dichlorophénol, en utilisant 0,18 mg.Kg<sup>-1</sup> i.p. dose de vitamine C. Dans une autre étude réalisée par Bradberry et Vale, un effet protecteur significatif de la vitamine C (0,5 mg.Kg<sup>-1</sup> jour<sup>-1</sup>) a été observé contre la néphrotoxicité induite par le chrome chez les rats.

D'après les Figures 19 et 20, l'administration orale de l'extrait d'*A.raddiana* à des souris normales et à une dose de 200 mg.Kg<sup>-1</sup> a donné une activité enzymatique de la catalase inchangée et comparable à celle des souris témoins (12,93 ± 0,35 U/min/mg de Protéines contre 14,11 ± 2,49 U/min/mg de Protéines). Cependant nous avons observé une augmentation hautement significative (P < 0.001) du taux du MDA tissulaire des souris du 5<sup>ème</sup> lot par rapport aux souris témoins (71.77 ± 1.28 nmol.mg<sup>-1</sup> Protéines vs 46.19 ± 3.24 nmol.mg<sup>-1</sup> Protéines). Ces résultats pourraient être due à la forte dose administrée aux souris normales non traitées par la Gentamicine<sup>®</sup>. Cette dose a probablement causée un effet inverse provoquant un déséquilibre du système Rédox. Ce qui

signifie que cette dose aurait vraisemblablement induit un effet pro-oxydant en augmentant la peroxydation lipidique.

En effet, ces résultats corroborent ceux d'Hajiani *et al* (2008), qui ont réalisé une étude qui avait pour objectif d'examiner l'effet pro-oxydant de la vitamine E face à son effet antioxydant et ceci en fonction du temps et de la dose en vitamine E. Ils ont observé que la vitamine E a un effet antioxydant quand elle est administrée à de faibles doses et sur des périodes courtes et permet l'augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes. Par contre à fortes doses et sur des périodes assez longues, la teneur en MDA augmente accompagnée d'une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes.

#### IV. Etude histologique

L'étude histopathologique a été réalisée au microscope optique *Leica* (DM500). Tous les échantillons ont été examinés par un certain nombre de paramètres morphologiques comprenant l'aspect épithélial et glomérulaire, la dilatation des vaisseaux et des tubules, la présence d'hémorragies et la présence de cellules inflammatoires .

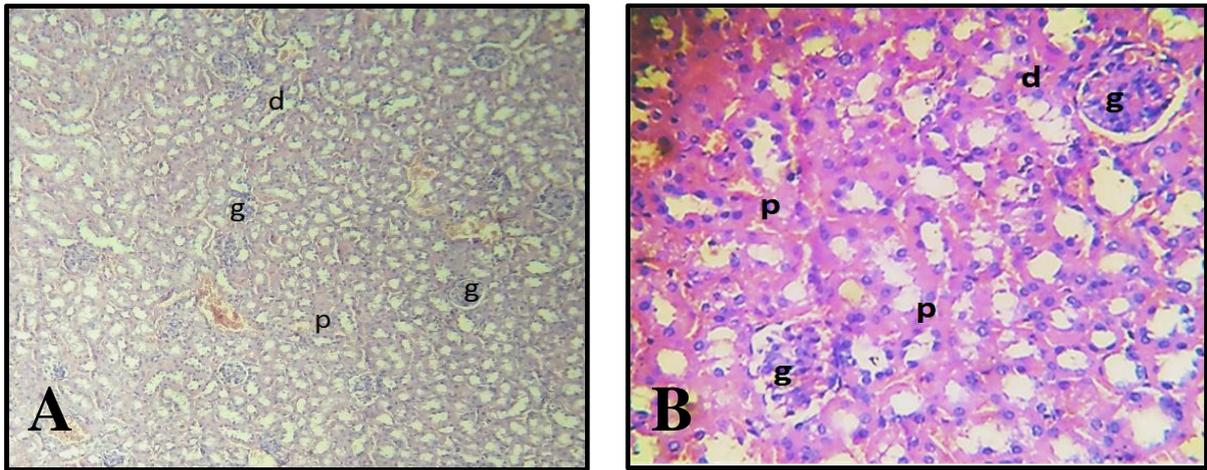
Nous avons observé dans le tissu rénal des souris non traités par la GM, des glomérules intacts avec des tubules rénaux montrant un épithélium normal (Figure 21 A et B) tandis que les souris souffrant de néphropathie induite par la GM (Lot2) ont présenté une fibrose rénale, une dilatation des vaisseaux et donc des hémorragies intertubulaires, une congestion, une atrophie complète des glomérules, une desquamation de l'épithélium tubulaire, une vacuolisation cytoplasmique abondante et une infiltration lymphocytaire.

Ces caractéristiques histologiques étaient relativement améliorées chez les souris du Lot 4 traités par l'extrait de l'*Acacia raddiana* (Savi) (200 mg.Kg<sup>-1</sup> PC jour<sup>-1</sup>) par rapport aux souris traitées uniquement par GM (Lot2) dont les capillaires glomérulaires ont conservé leurs caractéristiques normales avec un nombre relativement élevé de cellules mésangiales et un aspect tubulaire ordinaire.

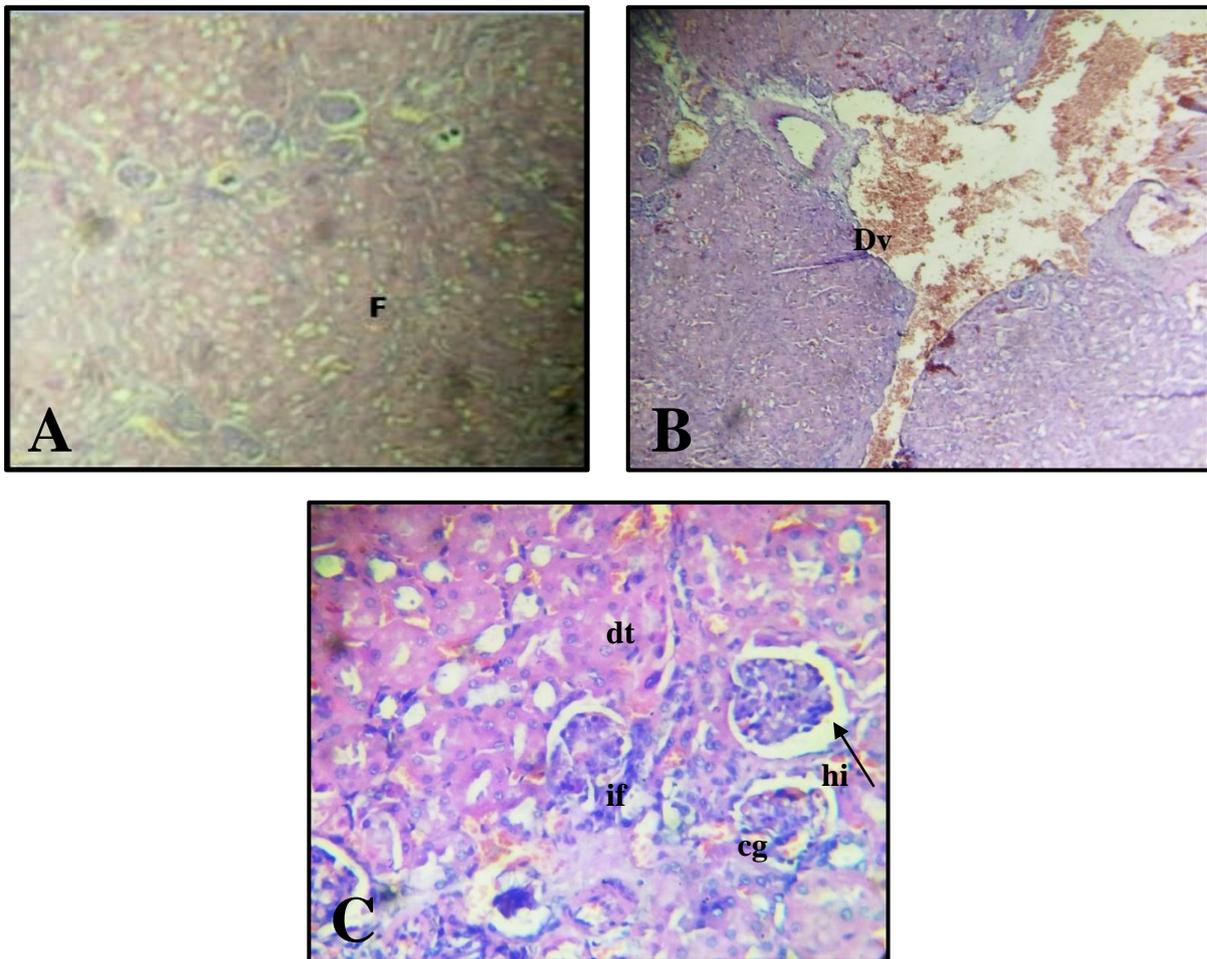
Bien que les causes primitives des atteintes rénales soient multiples, la majorité des néphropathies évoluent vers le développement d'une fibrose rénale qui est définie par une accumulation exagérée de matrice extracellulaire (Klein *et al.*, 2011). Ce qui explique la présence de fibrose chez les souris traitées uniquement par la gentamicine (Figure 22 ,A).

L'utilisation de molécules issues des essences végétales pourrait constituer une solution intéressante. En effet, l'utilisation de l'acide sinapique comme traitement contre la néphrotoxicité induite par la Gentamicine permet la restauration de l'architecture normale des tubules rénaux, indiquant ainsi une atténuation efficace de l'inflammation et du nécrose, ce qui propose que l'acide sinapique pourrait être une molécule cible appropriée pour la protection rénale contre la toxicité de la GM ( Ansari *et al.*, 2016).

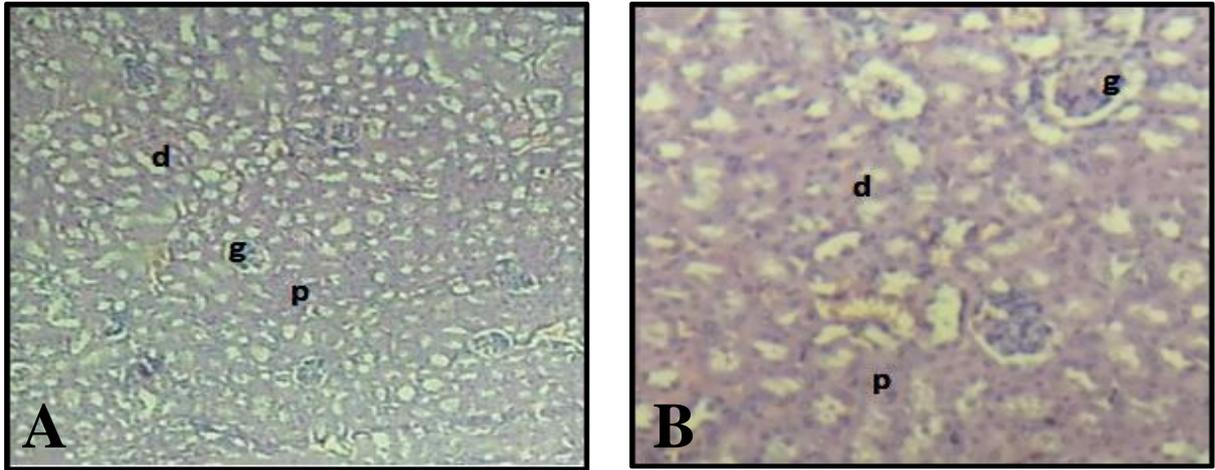
L'évaluation de potentiel néphroprotecteur de l'extrait éthanolique de la carotte (*Daucus carota* L) a permis d'observer après un examen microscopique une morphologie tubulaire rénale normale avec un glomérule intact chez les rats témoins non traités par la GM par contre la majorité des événements histopathologiques d'intoxication à la GM ont été montrés chez le groupe animal traité uniquement par la GM. Cependant l'administration de l'extrait de *Daucus carota* L permettait la réparation tissulaire des dommages causés par la GM (Sodimbaku *et al.*, 2016).



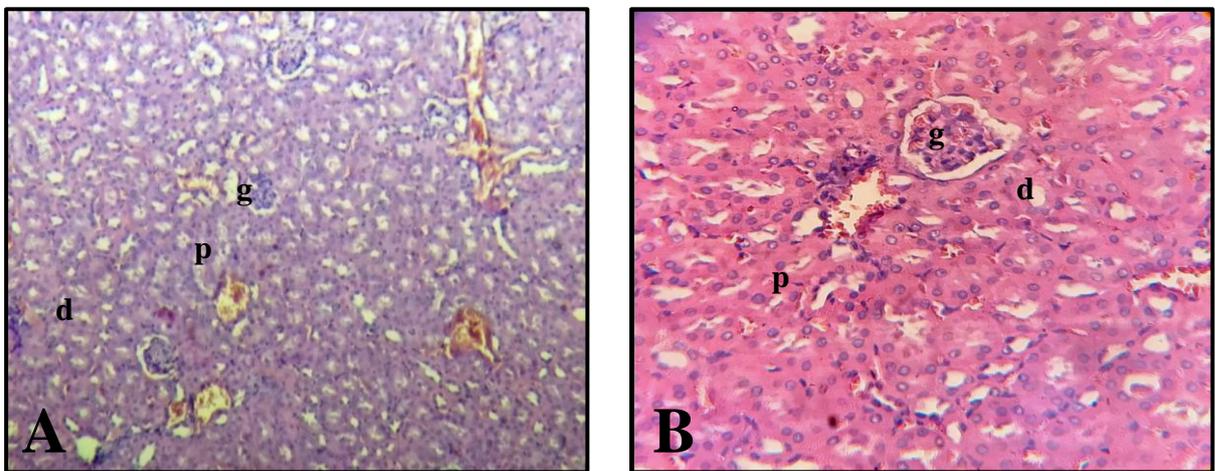
**Figure 21 : Photomicrographie d'une coupe histologique de rein colorée par H&E chez des souris NMRI du groupe témoin. A : (Gx100) ; B : (Gx400)**  
 g : Glomérule, p : Tube contourné proximale, d : Tube contourné distal.



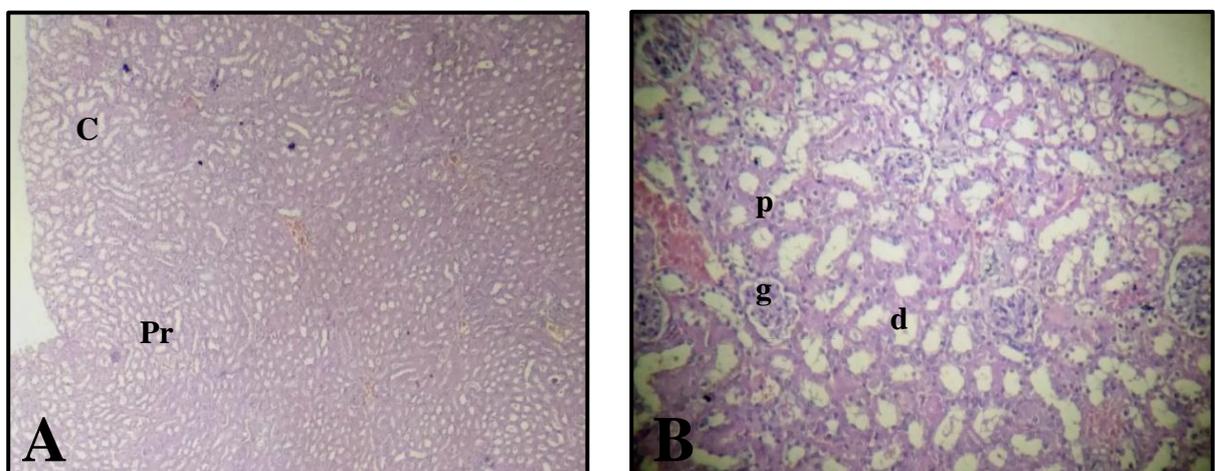
**Figure 22 : Photomicrographie d'une coupe histologique de rein colorée par H&E chez des souris NMRI du groupe traité par GM uniquement. A et B : (Gx100) ; C : (Gx400)**  
 F : Fibrose, Dv : Dilatation de vaisseau, dt : Dommage tubulaire, if : Infiltration des cellules inflammatoires, cg : Congestion glomérulaire, hi : Hémorragie interstitielle, Atrophie glomérulaire partielle (flèche).



**Figure 23 : Photomicrographie d'une coupe histologique de rein colorée par H&E chez des souris NMRI du groupe traité par GM + VitC (200mg.Kg<sup>-1</sup>P.C). A : (Gx100) ; B : (Gx400).**  
g : Glomérule intacte, p & d : Tubules normaux.



**Figure 24 : Photomicrographie d'une coupe histologique de rein colorée par H&E chez des souris NMRI du groupe traité par GM +EAR (200mg.Kg<sup>-1</sup>P.C). A : (Gx100) ; B : (Gx400).**  
g : Glomérule intacte, p & d : Tubules normaux.



**Figure 25 : Photomicrographie d'une coupe histologique de rein colorée par H&E chez des souris NMRI du groupe traité par l'EAR uniquement (200mg.Kg<sup>-1</sup>P.C). A : (Gx100) ; B : (Gx400).**  
g : Glomérule intacte, p & d : Tubules normaux, C : Cortex, Pr : Parenchyme rénale.

D'après les résultats retrouvés par Nasri *et al* (2013) il n'y avait presque aucune variation histologique chez les rats traités par la gentamicine et l'extrait de *Zingiber officinalis* à la fois. Ceci signifie que le gingembre avait des propriétés préventives mais non curatives contre la toxicité tubulaire induite par un traitement à la GM et que ses activités, antioxydante et néphroprotectrice pourraient être mise en place grâce à la présence de polyphénols et de flavonoïdes..

L'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) de part sa teneur élevée en polyphénols, en flavonoïdes et en anthocyanes a eu une activité néphroprotectrice remarquable. De plus, l'administration simultanée de la GM et de l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) n'a révélé aucune modification histologique. Cette observation suggère donc qu'il y a bien un effet préventif assuré par notre extrait contre la néphrotoxicité de la GM. Cependant, nous ne pouvons tirer aucune conclusion quant à son effet curatif puisque nous n'avons pas examiné l'effet post-traitement avec l'extrait d'*A. raddiana* pour la régénération des cellules tubulaires suite à une administration journalière de la GM seule pendant 7 jours.

Dans le contexte à la recherche des moyens néphroprotecteurs contre la rénotoxicité de la Gentamicine Abdel-Raheem *et al* (2009) ont montré l'efficacité de l'utilisation des composés ayant une activité antioxydante tel que les flavonoïdes dans la prévention et l'amélioration des effets indésirables causés par la GM, il a été rapporté dans leur étude que la quercétine un flavonol alimentaire améliorait le stress oxydant vu sa capacité dans le piégeage des radicaux libres en présentant un effet protecteur contre les dommages induits par la GM, ainsi une analyse histopathologique faisait voir la restauration de l'aspect tissulaire normal des reins des rats traités par la GM et la quercétine en même temps. Par conséquence nous pourrions annoncer que l'*Acacia raddiana* (Savi) ait un effet néphroprotecteur en faisant face aux effets toxiques de la Gentamicine par le biais de sa teneur considérable en flavonoïdes.

## V. Activité anti-inflammatoire in vivo (Œdème des pattes induit par la carragénine chez la souris )

Nous avons évalué l'effet de l'extrait méthanoïque des feuilles et des glomérules d'*Acacia raddiana* (Savi) sur l'inflammation aiguë selon le test de Levy (1969). Le modèle de l'œdème des pattes induit par la Carragénine a été effectué chez des souris de race NMRI.

**Tableau III : L'effet de l'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi) sur l'œdème des pattes induit par la Carragénine**

| Groupe / Paramètres   | % d'Augmentation de l'œdème | % de réduction de l'œdème |
|---|-----------------------------|---------------------------|
| <b>Groupe témoin (-)</b>  | 47,74 ± 0,24 %              | -                         |
| <b>Groupe témoin (+)<br/>(Diclofénac 75mg)</b>  | 27,06 ± 0,02%               | 43,31 ± 0,26%             |
| <b>Groupe testé (extrait<br/>d'<i>Acacia raddiana</i><br/>(Savi) 200mg.Kg<sup>-1</sup>)</b> | 33,12 ± 0,09 %              | 30,63 ± 0,19 %            |

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire rapportés dans le Tableau III montrent l'effet de l'*Acacia raddiana* (Savi) sur l'œdème induit par la Carragénine et les variations du pourcentage d'augmentation et de réduction d'œdème.

Un développement d'œdème au niveau des pattes postérieures gauches des souris du groupe contrôle a été observé après quatre heures et demi de l'injection de la carragénine où le pourcentage d'augmentation d'œdème est de  $47,74 \pm 0,24\%$  et cela montre une différence significative ( $P \leq 0,05$ ) avec l'augmentation de l'œdème de  $33,12 \pm 0,09\%$  et  $27,06 \pm 0,02\%$  pour les souris des lots traités avec l'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi) et le Diclofénac ( $75\text{mg.Kg}^{-1}$ ) respectivement.

Chez les souris du groupe traité par Diclofénac ( $75\text{mg}$ ), la réduction de l'œdème dans les pattes postérieures gauches par rapport à celle des souris du groupe contrôle ne dépasse pas  $43,31 \pm 0,26\%$  par contre elle est de  $30,63 \pm 0,19\%$  chez les souris du groupe traité par l'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi). Cependant, il n'y a aucune différence statistique ( $P > 0,05$ ) entre l'effet de Diclofénac qui est un produit de référence et l'effet de l'extrait de l'*Acacia raddiana* (Savi). Ceci suggère de l'extrait méthanolique pourrait avoir une efficacité dans la réduction de l'inflammation comparable à celle du Diclofénac, en prenant en considération les données toxicologiques de la plante qui jusqu'à ce jour n'ont pas été étudiées.

Des études ont montré que la GM induit des lésions rénales par surproduction d'espèces oxygénées réactives et une inflammation des cellules tubulaires proximales (Rodrigues *et al.*, 2014).

Les cellules et les agents inflammatoires jouent un rôle majeur dans la néphrite tubulo-interstitielle induite par la Gentamicine et la fibrose. En fait, pratiquement tous les types de cellules du rein sont capables de produire des chimiokines pro-inflammatoire (Bledsoe *et al.*, 2006).

La Gentamicine a induit une augmentation des cytokines inflammatoires rénales (TNF- $\alpha$  et IL-6) qui jouent un rôle important dans l'insuffisance rénale aiguë associée à la toxicité induite par les aminosides (Javid *et al.*, 2010 ; Sahu *et al.*, 2014).

*Acacia raddiana* (Savi) est parmi les plantes les plus utilisées en médecine traditionnelle grâce à la présence de plusieurs métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, stérols et triterpènes, alcaloïdes, sucres réducteurs, quinones, irridoides et saponines. Ceux-ci peut effectivement doter des propriétés antibactériennes, anti-inflammatoire et antiseptique qui sont très importantes et largement recherchées (El Yahyaoui *et al.*, 2017).

Les plantes d'*Acacia* sont très riches en substances bioactives, composés secondaires pouvant être indiqués dans la promotion de la santé, de la prévention et le traitement des maladies (Gupta *et al.*, 2019).

Les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les acides gras et les polysaccharides (gommes) constituent les principales classes de phytoconstituants de genre *Acacia*. D'autres rapports de base de données pharmacologiques ont révélé des activités anti-inflammatoires et anti-oxydantes significatives des acacias (Rather et Mohammad, 2015 ; Gupta *et al.*, 2019).

La puissante activité anti-inflammatoire des huiles essentielles de *A. mearnsii* a confirmé son utilisation traditionnelle dans le traitement de diverses maladies inflammatoires (Opeyemi *et al.*, 2014). Ceci pourrait être étendu à l'ensemble des espèces du genre *Acacia*.

Les résultats obtenus corroborent ceux de Bukhari *et al* (2010) où l'extrait d'*Acacia modesta* ( $50\text{--}200\text{ mg.Kg}^{-1}$  PC) a produit un effet anti-inflammatoire marqué sur l'œdème de pattes de rat induit par la carraghénine et qui est comparable à celui du Diclofénac.

Selon Opeyemi *et al* (2014) le développement de l'œdème est un événement en trois phases libération d'histamine et de sérotonine dans la phase initiale (0 à 2 h), de cytokines dans la deuxième phase (3 h) et de prostaglandine dans la troisième phase (0,4). Les effets anti-inflammatoires d'*A.Mearnsii* sont très puissants de la 1<sup>ère</sup> à la 4<sup>ème</sup> heure. Ainsi, ils inhibent à tous les stades du développement de l'œdème. Les effets anti-inflammatoires des huiles essentielles de *A.mearnsii* ont été démontrés par le changement de taille de la patte en utilisant un agent phlogistique dont les effets seraient significatifs après trois heures ou plus du traitement. Ceci est comparable avec la durée d'action de l'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi) que nous avons obtenu.

Le traitement des souris avec l'extrait de l'*A.raddiana* a donné un effet similaire que l'extrait des feuilles *A.nilotica* avec réduction significative ( $P < 0,05$ ) de l'œdème de pattes induit par le formol selon les travaux de Safari *et al* (2016). Cependant Les effets anti-inflammatoires des extraits peuvent être dus à leur teneur en flavonoïdes, en tanins, en alcaloïdes et en saponines.

## VI. Mécanisme néphroprotecteur de l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) contre la néphrotoxicité induite par la Gentamicine

À la lumière de l'ensemble de nos résultats, nous avons constaté que la gentamicine a agit sur la peroxydation lipidique révélée par l'augmentation du taux de MDA, sur le système antioxydant à travers la réduction de l'activité de la catalase et elle a eu une action négative sur la synthèse des protéines totales. De plus, l'étude histopathologique a révélé des dommages tissulaires considérables ce qui est responsable d'une atteinte rénale aigüe .

En effet, il a été démontré d'après Lopez *et al* (2011) que la gentamicine a un mécanisme de toxicité plurifactoriel puisqu'elle agit à plusieurs niveaux comme il est illustré dans les Figure 16, 17, 18 et 22. Cependant à travers l'utilisation de l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) qui s'avère être riche en polyphénols, en flavonoïdes et en anthocyanes, nous avons observé une nette amélioration de l'état général du rein (Figure 24). Ceci est dû vraisemblablement à son action à la fois comme piègeur de radicaux libres et donc une forte réduction de la peroxydation lipidique, une amélioration de système antioxydant endogène dans notre cas la catalase, une hausse de protéines et une activité anti-inflammatoire comparable à celle de Dicloféc ( $p > 0,05$ ).

Les composés phénoliques, notamment les acides phénoliques, les flavonoïdes et les proanthocyanidines, sont largement répandus dans les plantes en tant que mécanisme de protection contre les stress biotiques et abiotiques. La présence de plusieurs groupes hydroxyle rendent ces composés bons donneurs d'atomes d'électrons ou d'hydrogène, neutralisant les radicaux libres et d'autres espèces réactives de l'oxygène (Zhang *et al.*, 2016).

Il a été rapporté que l'acide rosmarinique qui est un composé phénolique efficace pour inhiber la néphrotoxicité de la GM grâce à (i) ses propriétés antioxydantes, (ii) ses effets anti-inflammatoires en réduisant la transcription de NF $\kappa$ B, (iii) l'augmentation de l'activité anti Bcl-2 et de glutathion transférase. Cela suggère donc l'utilisation thérapeutique potentielle de l'acide rosmarinique en tant qu'agent néphroprotecteur contre les antibiotiques aminoglycosides par le biais de l'amélioration de système antioxydant rénal et l'activité des enzymes antioxydantes (Tavafi et Ahmadvand ,2011). Comme l'*Acacia raddiana* (Savi) a une teneur importante en polyphénol, flavonoïdes et anthocyanes, elle pourrait assurer donc des effets néphroprotecteurs similaires à ceux de l'acide rosmarinique.

D'après Ghaznavia *et al* (2017), l'acide gallique est l'un des composés polyphénoliques les plus importants dans les plantes ayant une excellente activité antioxydante et anti-inflammatoire ce qui le qualifie comme un moyen préventif contre la néphrotoxicité à la GM dont la Co-administration d'acide gallique et GM a augmenté significativement l'activité de CAT, SOD et GPx par conséquent cela nous permettrait à mettre en parallèle le mécanisme exercé par l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) à titre de prévention contre la néphrotoxicité induite par la GM en se focalisant sur son activité anti-inflammatoire et l'augmentation significative de l'activité de catalase (Tableau III) (Figure 20).

Notre extrait serait un agent néphroprotecteur contre l'effet toxique de la GM au vue de son importante activité antioxydante (Figure 14). De plus, le mode d'administration per os pourrait contribuer à cet effet positif puisqu'une étude menée par Vicente-Vicente *et al* (2017) a montré que plus de quarante produits provoqueraient une amélioration de la néphrotoxicité aux aminosides dépendamment de la dose et que les produits administrés par voie orale étaient plus efficaces que par la voie intrapéritonéale.

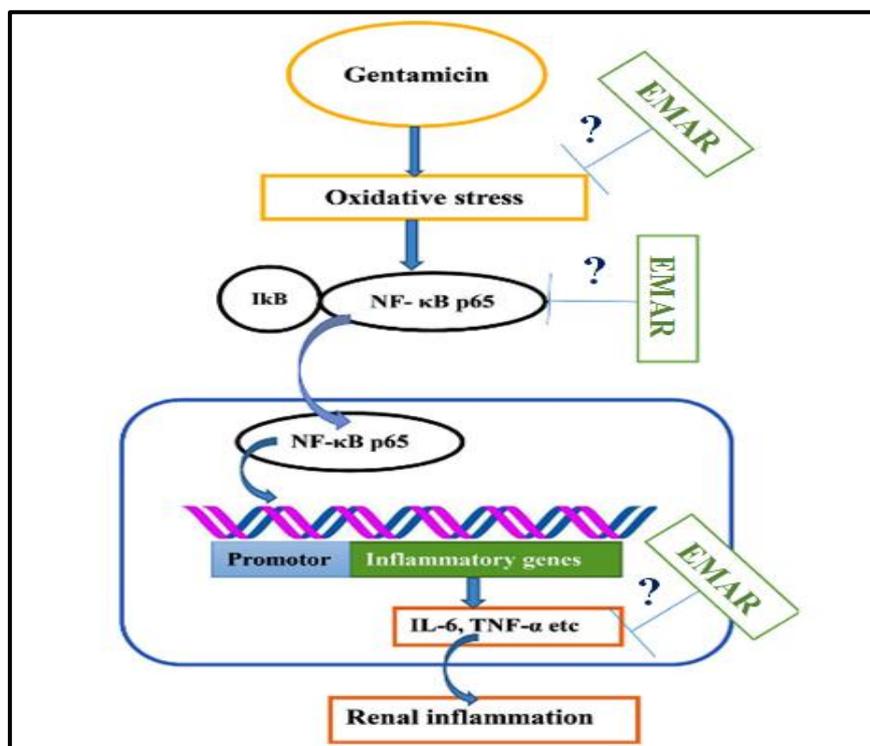


Figure 26 : Représentation schématique du mécanisme d'action possible de l'EMAR contre la néphrotoxicité induite par la Gentamicine (Photo modifiée de Vysakh *et al.*, 2018)

La néphrotoxicité médicamenteuse (NTx) demeure un problème d'actualité, avec des conséquences économiques et médicales. Elle affecte tous les segments du néphron. La récupération de la fonction rénale repose sur l'identification des facteurs de risque, un diagnostic précoce, l'arrêt (si possible) rapide de l'agent causal et dans certains cas un traitement d'appoint.

Malgré leurs effets bénéfiques sur les bactéries Gram négatif les aminoglycosides (Gentamicine) ont des effets néphrotoxiques bien connus via des modifications morphologiques, biochimiques et fonctionnelles du rein où plusieurs facteurs interviennent dans la progression de cette pathologie qui représente une cause primordiale de l'insuffisance rénale dans le monde.

Dans un contexte où nous sommes à la recherche d'agents néphroprotecteurs particulièrement contre la néphrotoxicité induite par la Gentamicine, de nombreux modèles expérimentaux ont montré que les plantes médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médicale et celui de l'industrie pharmaceutique.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité néphroprotectrice (antioxydante et anti-inflammatoire) de l'extrait méthanolique d'*Acacia raddiana* (Savi) suite à une néphrotoxicité induite par la Gentamicine chez des souris NMRI. L'administration intra-péritonéale de la Gentamicine® (100 mg.Kg<sup>-1</sup>) pendant 7 jours a provoqué une perturbation de système de défense antioxydant, ce qui génère un état de stress oxydant par une augmentation significative de taux de MDA, la diminution de taux des protéines totales ainsi que l'activité de système antioxydant endogène (Catalase). Cela est accompagné d'une fibrose tissulaire, une nécrose tubulaire, une atrophie glomérulaire, une hémorragie interstitielle et une infiltration lymphocytaire.

Théoriquement, la physiopathologie de la toxicité rénale aux aminosides a montré l'activation de processus inflammatoire suite à l'expression de facteur nucléaire NFκB, des cytokines pro-inflammatoires et les iNOS.

La co-administration de l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi) et de la Gentamicine® diminue le niveau de la toxicité en modulant le taux des biomarqueurs de stress oxydant (la diminution de la peroxydation lipidique, l'amélioration de taux des protéines totales et l'amélioration de l'activité de la catalase. Ceci est combiné avec le maintien d'un état histologique normal (absence de lésions tubulaires) et une réduction significative (30,63 % vs 43,31 % pour le Diclofénac) de l'œdème des pattes induit par la carragénine.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence l'action protectrice d'*Acacia raddiana* (Savi) et sa capacité à moduler les effets toxiques causés par la Gentamicine. Cet effet néphroprotecteur revient à la richesse de l'extrait d'*A.raddiana* (Savi) en composés bioactif (polyphénols, flavonoïdes et anthocyanes) qui mènent à une activité antioxydante et anti-inflammatoire efficaces, qui pourraient intervenir à plusieurs niveaux dans la cellule (membranaire, cytoplasmique et nucléaire).

Cette présente étude, qui constitue une recherche préliminaire dans le domaine de l'analyse des polyphénols comme agents néphroprotecteurs, gagnerait à être approfondie par l'analyse d'autres aspects et d'autres paramètres à savoir :

- L'identification de l'effet de l'extrait d'*A.raddiana* (Savi) sur le taux plasmatique de plusieurs paramètres de fonctionnement rénal et d'inflammation comme la créatinine, l'urée et les marqueurs de l'inflammation.
- L'évaluation de l'effet curatif contre les lésions induites par la gentamicine de l'extrait d'*Acacia raddiana* (Savi).
- L'évaluation de la toxicité aigüe par voie orale de l'extrait pour déterminer la dose moyenne qui provoque la mort de 50% des animaux (dose létale 50 ou DL50).
- Il serait également souhaitable de développer cette étude en mesurant d'autres paramètres du stress oxydant (SOD, GPX, GSH, NADPH ..... ) et les autres biomarqueurs de l'inflammation (NO, iNOS ... ) . Aussi, serait-il intéressant d'étudier l'action de l'extrait sur l'expression de certains facteurs de transcription et des voies de signalisation impliqués dans le mécanisme de la toxicité.

1. Abdel-Raheem, I. T., Abdel-Ghany, A. A., & Mohamed, G. A. (2009). Protective effect of quercetin against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(1), 61-67.
2. Abdelsameea, A. A., Mohamed, A. M., Amer, M. G., & Attia, S. M. (2016). Cilostazol attenuates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 68(4), 247-253.
3. Ademiluyi, A. O., Oboh, G., Owoloye, T. R., & Agbebi, O. J. (2013). Modulatory effects of dietary inclusion of garlic (*Allium sativum*) on gentamycin-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(6), 470-475.
4. Ader, J. L., Carré, F., Dinh-Xuan, A. T., Duclos, M., Kubis, N., & Mercier, J. (2003). Physiologie rénale (pp.181). *Physiologie.-2 ème édition*. Paris: Masson.
5. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. In *Methods in enzymology* (pp.121-126). Academic Press.
6. Afsar, T., Razak, S., & Almajwal, A. (2019). Effect of *Acacia hydaspica* R. Parker extract on lipid peroxidation, antioxidant status, liver function test and histopathology in doxorubicin treated rats. *Lipids in health and disease*, 18(1), 126.
7. Al Suleimani, Y. M., Abdelrahman, A. M., Karaca, T., Manoj, P., Ashique, M., Nemmar, A., & Ali, B. H. (2018). The effect of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin on gentamicin nephrotoxicity in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, 1102-1108.
8. Alain, K. Y., Pascal, A. D. C., Boniface, Y., Paul, T. F., Alain, A. G., Felicien, A., ... & Dominique, S. K. C. (2015). Chemical characterization and biological activities of extracts from two plants (*Cissus quadrangularis* and *Acacia polyacantha*) used in veterinary medicine in Benin. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(6), 91-96.
9. Alhassan, A. J., Sule, M. J., Aliyu, S. A., & Aliyu, M. D. (2009). Ideal hepatotoxicity model in rats using Carbon Tetrachloride (CCl<sub>4</sub>). *Bayero journal of jure and applied sciences*, 2(2), 185-187.
10. Ali, B. H. (1995). Gentamicin nephrotoxicity in humans and animals: some recent research. *General Pharmacology: The Vascular System*, 26(7), 1477-1487.
11. Ali, B. H. (2003). Agents ameliorating or augmenting experimental gentamicin nephrotoxicity: some recent research. *Food and Chemical Toxicology*, 41(11), 1447-1452.
12. Almohawes, Z. N. (2017). Protective effect of melatonin on gentamicin induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 12, 129-135.
13. Amini, F. G., Rafieian-Kopaei, M., Nematbakhsh, M., Baradaran, A., & Nasri, H. (2012). Ameliorative effects of metformin on renal histologic and biochemical alterations of gentamicin-induced renal toxicity in Wistar rats. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 17(7), 621.
14. Andrade, L., & de Sousa, D. (2013). A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes. *Molecules*, 18(1), 1227-1254.
15. Ansari, M. A., Raish, M., Ahmad, A., Ahmad, S. F., Mudassar, S., Mohsin, K., & Bakheet, S. A. (2016). Sinapic acid mitigates gentamicin-induced nephrotoxicity and associated oxidative/nitrosative stress, apoptosis, and inflammation in rats. *Life sciences*, 165, 1-8.
16. Ansari, M. A., Raish, M., Ahmad, A., Alkharfy, K. M., Ahmad, S. F., Attia, S. M., & Bakheet, S. A. (2017). Sinapic acid ameliorate cadmium-induced nephrotoxicity: in vivo possible involvement of oxidative stress, apoptosis, and inflammation via NF-κB downregulation. *Environmental toxicology and pharmacology*, 51, 100-107.

17. Assael, B. M., Chiabrande, C., Gagliardi, L., Nosedà, A., Bamonte, F., & Salmona, M. (1985). Prostaglandins and aminoglycoside nephrotoxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 78(3), 386-394.
18. Avoseh, O. N., Oyedeji, O., Aremu, K., Nkeh-Chungag, B. N., Songca, S. P., Oluwafemi, S. O., & Oyedeji, A. O. (2015). Chemical composition and anti-inflammatory activities of the essential oils from *Acacia mearnsii* de Wild. *Natural product research*, 29(12), 1184-1188.
19. Ba, S., Willems, A., De Lajudie, P., Roche, P., Jeder, H., Quatrini, P., & Boivin-Masson, C. (2002). Symbiotic and taxonomic diversity of rhizobia isolated from *Acacia tortilis* subsp. *raddiana* in Africa. *Systematic and applied microbiology*, 25(1), 130-145.
20. Bagshaw, S. M., Langenberg, C., Haase, M., Wan, L., May, C. N., & Bellomo, R. (2007). Urinary biomarkers in septic acute kidney injury. *Intensive care medicine*, 33(7), 1285-1296.
21. Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., & Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46(11), 1086-1089
22. Balakumar, P., Rohilla, A., & Thangathirupathi, A. (2010). Gentamicin-induced nephrotoxicity : do we have a promising therapeutic approach to blunt it?. *Pharmacological Research*, 62(3), 179-186.
23. Balasubashini, M. S., Rukkumani, R., Viswanathan, P., & Menon, V. P. (2004). Ferulic acid alleviates lipid peroxidation in diabetic rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(4), 310-314.
24. Baliga, R., Ueda, N., Walker, P. D., & Shah, S. V. (1999). Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. *Drug metabolism reviews*, 31(4), 971-997.
25. Baudoux, T., & Nortier, J. L. (2017). Nephrotoxicity of herbal products. In *Toxicology of Herbal Products* (pp. 307-344). Springer, Cham.
26. Beauchamp, D., Gourde, P., & Bergeron, M. G. (1991). Subcellular distribution of gentamicin in proximal tubular cells, determined by immunogold labeling. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 35(11), 2173-2179.
27. Beauchamp, D., Laurent, G., Grenier, L., Gourde, P., Zanen, J., Heuson-Stiennon, J. A., & Bergeron, M. G. (1997). Attenuation of gentamicin-induced nephrotoxicity in rats by fleroxacin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 41(6), 1237-1245.
28. Bekhedda, R. R. (2017). Diagnostic écologique et conservation d'*Acacia tortilis* ssp *raddiana* (savi) brenan dans la région de Taghit willaya de Bechar. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master en foresterie. Université Abou Baker Belkaid.Tlemcen (pp3-5).
29. Bellakhdar, J. (1978). Médecine traditionnelle et toxicologie ouest-sahariennes: contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine. Editions techniques nord-africaines.
30. Beloncle, F., Asfar, P., Radermacher, P., & Lerolle, N. (2014). La modification du débit sanguin rénal influe-t-elle sur le débit de filtration glomérulaire?. *Réanimation*, 23(4), 352-358.
31. Ben Amor, B. (2008). Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs: texturation par détente instantanée contrôlée (DIC). Thèse de doctorat en Génie des Procédés Industriels. Université de la Rochelle. France.(pp-187).

32. Bledsoe, G., Crickman, S., Mao, J., Xia, C. F., Murakami, H., Chao, L., & Chao, J. (2006). Kallikrein/kinin protects against gentamicin-induced nephrotoxicity by inhibition of inflammation and apoptosis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 21(3), 624-633.
33. Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199.
34. Bochaton, C., Rochegude, S., & Roubille, R. (1997). Les aminoglycosides. *Lyon pharmaceutique*, 5(48), 226-239.
35. Boubchir, M.A. (2002). Néphrologie (pp.29-31). Alger. Office de Publication Universitaires.
36. Boulos, L. (1995). Notes on *Acacia Mill.* Studies in the Leguminosae of Arabia: I. *Kew Bulletin*, 327-337.
37. Bradberry, S. M., & Vale, J. A. (1999). Therapeutic review: is ascorbic acid of value in chromium poisoning and chromium dermatitis?. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 37(2), 195-200.
38. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
39. Brunner, L. S., Bare, B., Smeltzer, S., & Suddarth, D. S. (2011). *Soins infirmiers en médecine et chirurgie 4: Fonctions rénale et reproductrice* (Vol. 4). De Boeck Supérieur.1643-1774.
40. Bukhari, I. A., Khan, R. A., Gilani, A. H., Ahmed, S., & Saeed, S. A. (2010). Analgesic, anti-inflammatory and anti-platelet activities of the methanolic extract of *Acacia modesta* leaves. *Inflammopharmacology*, 18(4), 187-196.
41. Bunel, V., Antoine, M. H., Nortier, J., Duez, P., & Stévigny, C. (2015). Nephroprotective effects of ferulic acid, Z-ligustilide and E-ligustilide isolated from *Angelica sinensis* against cisplatin toxicity in vitro. *Toxicology in vitro*, 29(3), 458-467.
42. Bustos, P. S., Deza-Ponzio, R., Páez, P. L., Albesa, I., Cabrera, J. L., Virgolini, M. B., & Ortega, M. G. (2016). Protective effect of quercetin in gentamicin-induced oxidative stress in vitro and in vivo in blood cells. Effect on gentamicin antimicrobial activity. *Environmental toxicology and pharmacology*, 48, 253-264.
43. Buxeraud, J., & Faure, S. (2016). Les aminosides ou aminoglycosides. *Actualités pharmaceutiques*, 55(558), 13-16.
44. Camps-Pradier, E. (2007). S'entraîner en urologie-néphrologie(pp.14).Masson.
45. Cao, L., Zhi, D., Han, J., Kumar Sah, S., & Xie, Y. (2019). Combinational effect of curcumin and metformin against gentamicin-induced nephrotoxicity: Involvement of antioxidative, anti-inflammatory and antiapoptotic pathway. *Journal of Food Biochemistry*, e12836.
46. Carlier, M. B., Rollman, B., Van Hoof, F., & Tulkens, P. (1982). Mechanism of aminoglycoside-induced lysosomal phospholipidosis: in vitro and in vivo studies with gentamicin and amikacin. *Biochemical pharmacology*, 31(23), 3861-3870.
47. Carlson, B. M., MD. (2018). The Urinary System. In *The Human Body: Linking Structure and Function* (pp. 559-563). Elsevier.
48. Castaldo, S. A., Freitas, J. R., Conchinha, N. V., & Madureira, P. A. (2016). The tumorigenic roles of the cellular REDOX regulatory systems. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
49. Chambers, H. F. (2006). Pharmacokinetics : The Dynamics of Drug Absorption, Distribution, Metabolism, and Elimination. In J. G. Hardman, L. E. Limbird, P. B. Molinoff, R.

- W. Ruddon, & A. G. Gilman (Eds.), Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics (pp.1152–1172). New York: McGraw-Hill.
50. Chandrasekara, A. (2018). Phenolic Acids. *Encyclopedia of Food Chemistry*. 535-545.
  51. Chang, S. T., Wu, J. H., Wang, S. Y., Kang, P. L., Yang, N. S., & Shyur, L. F. (2001). Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3420-3424.
  52. Chashmi, N. A., Emadi, S., & Khastar, H. (2017). Protective effects of hydroxytyrosol on gentamicin induced nephrotoxicity in mice. *Biochemical and biophysical research communications*, 482(4), 1427-1429.
  53. Chen, C., Chen, Y., & Chen, B. (2013). Medicinal Application of Gentamicin: From Past to Future. In Kruger, E. (Ed.). *Gentamicin: Biosynthesis, Medicinal Applications and Potential Side Effects* (pp1-15). Nova Biomedical.
  54. Chiarugi, A. (2005). "Simple but not simpler": toward a unified picture of energy requirements in cell death. *The FASEB Journal*, 19(13), 1783-1788.
  55. Cho, Y. W., Park, J. H., Kim, S. H., Cho, Y. H., Choi, J. M., Shin, H. J., ... & Kwon, I. C. (2003). Gentamicin-releasing urethral catheter for short-term catheterization. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 14(9), 963-972.
  56. Craig, W. A. (2011). Optimizing aminoglycoside use. *Critical care clinics*, 27(1), 107-121.
  57. Cutler, R. E., Gyselynck, A. M., Fleet, W. P., & Forrey, A. W. (1972). Correlation of serum creatinine concentration and gentamicin half-life. *JAMA*, 219(8), 1037-1041.
  58. Cuzzocrea, S., Mazzon, E., Dugo, L., Serraino, I., Di Paola, R., Britti, D., ... & Salvemini, D. (2002). A role for superoxide in gentamicin-mediated nephropathy in rats. *European journal of pharmacology*, 450(1), 67-76.
  59. D'Amico, G., & Bazzi, C. (2003). Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 12(6), 639-643.
  60. Daroux, M., Gaxatte, C., Puisieux, F., Corman, B., & Boulanger, É. (2009). Vieillesse rénale: facteurs de risque et néphroprotection. *La presse médicale*, 38(11), 1667-1679.
  61. Davis, R. R., Brummett, R. E., Bendrick, T. W., & Himes, D. L. (1984). Dissociation of maximum concentration of kanamycin in plasma and perilymph from ototoxic effect. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 14(3), 291-302.
  62. De Broe, M. E., Paulus, G. J., Verpooten, G. A., Roels, F., Buysens, N., Wedeen, R., ... & Tulkens, P. M. (1984). Early effects of gentamicin, tobramycin, and amikacin on the human kidney. *Kidney international*, 25(4), 643-652.
  63. De Lajudie, P., BÂ, S., N'DIAYE, A., LORQUIN, J., NEYRA, M., Willems, A., & Gillis, M. (2003). Diversité taxonomique et propriétés symbiotiques de rhizobia nodulant *Acacia raddiana* au nord et au sud du Sahara. In *Un arbre au desert, Acacia raddiana* (pp. 145). IRD Editions.
  64. De Nucci, G., Gryglewski, R. J., Warner, T. D., & Vane, J. R. (1988). Receptor-mediated release of endothelium-derived relaxing factor and prostacyclin from bovine aortic endothelial cells is coupled. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(7), 2334-2338.
  65. Decker, B. S., & Molitoris, B. A. (2018). Aminoglycoside-Induced Nephrotoxicity. In C. McQueen, *Comprehensive toxicology* (p. 258). Elsevier Science.

66. Dequiedt, P. (2011). Les fonctions du rein. In *Équilibre hydro-électrolytique, Physiologie-Physiopathologie-Pratique clinique* (pp.4-6). Eds. Lavoisier. Paris, Médecine Sciences Publications.
67. DiBona, D. R., & Powell Jr, W. J. (1980). Quantitative correlation between cell swelling and necrosis in myocardial ischemia in dogs. *Circulation research*, 47(5), 653-665.
68. Dieterle, F., Sistare, F., Goodsaid, F., Papaluca, M., Ozer, J. S., Webb, C. P., ... & Sultana, S. (2010). Renal biomarker qualification submission: a dialog between the FDA-EMEA and Predictive Safety Testing Consortium. *Nature biotechnology*, 28(5), 455.
69. Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J. M., & Stocker, P. (2010). RETRACTED: Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2599-2606.
70. Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
71. Dommergues, Y., Duhoux, E., & Diem, H. G. (1999). *Les arbres fixateurs d'azote: caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux avec référence particulière aux zones subhumides et arides*. Espaces 34.
72. Dos Santos, O. F. P., Boim, M. A., Barros, E. J., & Schor, N. (1991). Role of platelet activating factor in gentamicin and cisplatin nephrotoxicity. *Kidney international*, 40(4), 742-747.
73. Douglas, C., Rebeiro, G., Crisp, J., & Taylor, C. (2012). *Potter & Perry's fundamentals of nursing-Australian version*. Elsevier Health Sciences APAC.
74. Edwards, J. R., Diamantakos, E. A., Peuler, J. D., Lamar, P. C., & Prozialeck, W. C. (2007). A novel method for the evaluation of proximal tubule epithelial cellular necrosis in the intact rat kidney using ethidium homodimer. *BMC physiology*, 7(1), 1.
75. Eisenberg, J. M., Loss, L. E., Koffer, H., Talbot, G. H., Glick, H. A., Shusterman, N. H., ... & Strom, B. (1987). What is the cost of nephrotoxicity associated with aminoglycosides?. *Urology*, 31(6 SUPPL. 6), 45-56.
76. El Gamal, A. A., AlSaid, M. S., Raish, M., Al-Sohaibani, M., Al-Massarani, S. M., Ahmad, A., & Rafatullah, S. (2014). Beetroot (*Beta vulgaris L.*) extract ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity associated oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rodent model. *Mediators of inflammation*, 2014.
77. El Mouedden, M., Laurent, G., Mingeot-Leclercq, M. P., Taper, H. S., Cumps, J., & Tulkens, P. M. (2000). Apoptosis in renal proximal tubules of rats treated with low doses of aminoglycosides. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44(3), 665-675.
78. El Yahyaoui, O., Ouaziz, N. A., Guinda, I., Sammama, A., Kerrouri, S., Bouabid, B., ... & Bengueddour, R. (2017). Phytochemical screening and thin layer chromatography of two medicinal plants: *Adansonia digitata* (Bombacaceae) and *Acacia raddiana* (Fabaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(1), 10-15.
79. El-Mousallamy, A. M. D., Barakat, H. H., Souleman, A. M. A., & Awadallah, S. (1991). Polyphenols of *Acacia Raddiana*. *Phytochemistry*, 30(11), 3767-3768.
80. Ezaitouni, F., Rhou, H., Benamar, I., Ouzeddoun, N., Bayahya, R., & Balafrej, I. (1999). Rein et aminosides. *Médecine du Maghreb*. 77.
81. Fagg, C. (1991). *Acacia tortilis*: fodder tree for desert sands. *Acacia tortilis: fodder tree for desert sands.*, (91-01).

82. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379.
83. Favier, A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimiques. *L'actualité Chimique*.108-115.
84. Ferrera, R., & Caro, D. (2007). L'appareil Urinaire. In *Clés de biologie humaine: PCEM: Anatomie, physiologie, pathologie, étymologie* (pp .....). Décines: Alpha-Pict.
85. Floc'h, L., & Grouzis, M. (2003). *Acacia raddiana*, un arbre des zones arides à usages multiples. In *Un arbre au desert, Acacia raddiana* (pp. 28-29). IRD Editions.
86. Flora, S. J. (2009). Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(4), 191-206.
87. Fujisaki, K., Kubo, M., Masuda, K., Tokumoto, M., Hirakawa, M., Ikeda, H., ... & Hirakata, H. (2003). Infusion of radiocontrast agents induces exaggerated release of urinary endothelin in patients with impaired renal function. *Journal of Clinical and Experimental Nephrology*, 7(4), 279-283.
88. Fukuda, Y., Malmborg, A. S., & Aperia, A. (1991). Gentamicin inhibition of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in rat kidney cells. *Acta physiologica scandinavica*, 141(1), 27-34.
89. Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12), 8813-8826
90. Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12), 8813-8826.
91. Geleilate, T. J., Melo, G. C., Costa, R. S., Volpini, R. A., Soares, T. J., & Coimbra, T. M. (2002). Role of myofibroblasts, macrophages, transforming growth factor-beta endothelin, angiotensin-II, and fibronectin in the progression of tubulointerstitial nephritis induced by gentamicin. *Journal of nephrology*, 15(6), 633-642.
92. Gerin, F., Erman, H., Erboga, M., Sener, U., Yilmaz, A., Seyhan, H., & Gurel, A. (2016). The effects of ferulic acid against oxidative stress and inflammation in formaldehyde-induced hepatotoxicity. *Inflammation*, 39(4), 1377-1386.
93. Giurgea-Marion, L., Toubeau, G., Laurent, G., Heuson-Stiennon, J. A., & Tulkens, P. M. (1986). Impairment of lysosome-pinocytic vesicle fusion in rat kidney proximal tubules after treatment with gentamicin at low doses. *Toxicology and applied pharmacology*, 86(2), 271-285.
94. Govindappa, P. K., Gautam, V., Tripathi, S. M., Sahni, Y. P., & Raghavendra, H. L. S. (2019). Effect of *Withania somnifera* on gentamicin induced renal lesions in rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29(2), 234-240.
95. Griendling, K. K., Sorescu, D., & Ushio-Fukai, M. (2000). NAD (P) H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circulation research*, 86(5), 494-501.
96. Gueguen, Y., Rouas, C., & Leblond, F. A. (2012). Les biomarqueurs d'atteinte rénale. *Néphrologie & Thérapeutique*, 8(3), 146-155.
97. Gueutin, V., Deray, G., Isnard-Bagnis, C., & Janus, N. (2011). La physiologie rénale. *Journal de Pharmacie Clinique*, 30(4), 209-214.
98. Guinet, P., & Vassal, J. (1978). Hypotheses on the differentiation of the major groups in the genus *Acacia* (Leguminosae). *Kew Bulletin*, 509-527.

99. Gupta, R. C., Doss, R. B., Lall, R., Sinha, A., Srivastava, A., & Malik, J. K. (2019). Babool (*Acacia nilotica*). In *Nutraceuticals in Veterinary Medicine* (pp. 103-111). Springer, Cham.
100. Hajiani, M., Golestani, A., Shariftabrizi, A., Rastegar, R., Payabvash, S., Hassanzadeh Salmasi, A., ... & Pasalar, P. (2008). Dose-dependent modulation of systemic lipid peroxidation and activity of anti-oxidant enzymes by vitamin E in the rat. *Redox report*, 13(2), 60-66.
101. Hajhashemi, S., Hamidizad, Z., Rahbari, A., Ghanbari, F., & Motealeghi, Z. A. (2017). Effects of cobalamin (Vitamin B12) on gentamicin induced nephrotoxicity in rat. *Drug research*, 67(12), 710-718.
102. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
103. Hall, J. E. (2015). Guyton and Hall textbook of medical physiology. *Philadelphia, PA: Saunders Elsevier*, 107.
104. Halliwell, B., & Gutteridge, J. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical journal*, 219(1), 1.
105. Hannani, A., & Chehma, A. (2012). Développement végétatif et longévité de l'Acacia raddiana au Sahara septentrional. *Revue des Bio Ressources*, 2(1), 50-57.
106. Hasanvand, A., Kharazmkia, A., Mir, S., Khorramabadi, R. M., & Darabi, S. (2018). Ameliorative effect of ferulic acid on gentamicin-induced nephrotoxicity in a rat model; role of antioxidant effects. *Journal of Renal Injury Prevention*, 7(2), 37-77.
107. Heidarian, E., Jafari-Dehkordi, E., Valipour, P., Ghatreh-Samani, K., & Ashrafi-Eshkaftaki, L. (2017). Nephroprotective and anti-inflammatory effects of Pistacia atlantica leaf hydroethanolic extract against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of dietary supplements*, 14(5), 489-502.
108. Henry, N., & Sèbe, P. (2008). Anatomie des reins et de la voie excrétrice supérieure. *EMC, Néphrologie*, 18-001.
109. Hidaka, S., Kränzlin, B., Gretz, N., & Witzgall, R. (2002). Urinary clusterin levels in the rat correlate with the severity of tubular damage and may help to differentiate between glomerular and tubular injuries. *Cell and tissue research*, 310(3), 289-296.
110. Hines, J., Vinos, S. A., & Campochiaro, P. A. (1993). Evolution of morphologic changes after intravitreal injection of gentamicin. *Current eye research*, 12(6), 521-529.
111. Hishida, A., Nakajima, T., Yamada, M., Kato, A., & Honda, N. (1994). Roles of hemodynamic and tubular factors in gentamicin-mediated nephropathy. *Renal failure*, 16(1), 109-116.
112. Hodgson, E., & Levi, P. E. (2004). Nephrotoxicity. *A textbook of modern toxicology*, 273-278. John Wiley & Sons.
113. Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
114. Ichimura, T., Bonventre, J. V., Bailly, V., Wei, H., Hession, C. A., Cate, R. L., & Sanicola, M. (1998). Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *Journal of Biological Chemistry*, 273(7), 4135-4142.
115. Institut national de la santé et de la recherche médical (Inserm). Insuffi sance rénale. Mars 2012. [www.inserm.fr/thematiques/circulation-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/insuffi\\_sance-renale](http://www.inserm.fr/thematiques/circulation-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/insuffi_sance-renale).

116. Jahromi, M. F., Liang, J. B., Ebrahimi, R., Soleimani, A. F., Rezaeizadeh, A., Abdullah, N., & Shokryazdan, P. (2017). Protective potential of *Lactobacillus* species in lead toxicity model in broiler chickens. *animal*, *11*(5), 755-761.
117. Jungers, P., Man, N. K., Joly, D., & Legendre, C. (2011). *L'insuffisance rénale chronique: prévention et traitement*. Lavoisier.
118. Kadkhodae, M., Khastar, H., Faghihi, M., Ghaznavi, R., & Zahmatkesh, M. (2005). Effects of co-supplementation of vitamins E and C on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. *Experimental physiology*, *90*(4), 571-576.
119. Kalayarasan, S., Prabhu, P. N., Sriram, N., Manikandan, R., Arumugam, M., & Sudhandiran, G. (2009). Diallyl sulfide enhances antioxidants and inhibits inflammation through the activation of Nrf2 against gentamicin-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *European journal of pharmacology*, *606*(1-3), 162-171.
120. Karaca, Z. M., Ozen, H., Akgoz, M., & Cigremis, Y. (2018). Effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on vascular endothelial growth factor a (VEGF-A) gene expression in gentamicin-induced acute renal nephrotoxicity. *Medicine*, *7*(4), 805-9.
121. Karlowsky, J. A., Zhanel, G. G., Davidson, R. J., & Hoban, D. J. (1994). Postantibiotic effect in *Pseudomonas aeruginosa* following single and multiple aminoglycoside exposures in vitro. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *33*(5), 937-947.
122. Kebbas S.(2016). Contribution à l'étude de la physiologie d'*Acacia tortillis* (Forssk) Haynesubsp *raddiana* (Savi) Brenan : Effet du déficit hydrique. Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences Biologiques. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene .Algérie. pp 75- 83.
123. Kebbas, S., Lutts, S., & Aid, F. (2015). Effect of drought stress on the photosynthesis of *Acacia tortilis* subsp. *raddiana* at the young seedling stage. *Photosynthetica*, *53*(2), 288-298.
124. Kelly, C. R., & Landman, J. (2012). *The Netter Collection of Medical Illustrations- Urinary System e-Book* (Vol. 5). Elsevier Health Sciences.
125. Kintzios S, Papageorgiou K, Yiakoumettis I, Baricevic D and Kusar A (2010). Evaluation of the antioxidants activities of four Slovene medicinal plant species by traditional and novel biosensory assays. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *53*, 773-776.
126. Klein, J., Miravete, M., Buffin-Meyer, B., Schanstra, J. P., & Bascands, J. L. (2011). La fibrose tubulo-interstitielle rénale-Menace fantôme ou dernière croisade?. *médecine/sciences*, *27*(1), 55-61.
127. Koffi E., Sea T., Dodehe Y. &Soro S.(2010). Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *J. Animal & Plant Sci.* Vol. 5. pp. 550-558.
128. Kotra, L. P., Haddad, J., & Mobashery, S. (2000). Aminoglycosides: perspectives on mechanisms of action and resistance and strategies to counter resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *44*(12), 3249-3256.
129. Kourilsky, O., Solez, K., Morel-Maroger, L., Whelton, A., Duhoux, P., & SRAER, J. D. (1982). The pathology of acute renal failure due to interstitial nephritis in man with comments on the role of interstitial inflammation and sex in gentamicin nephrotoxicity. *Medicine*, *61*(4), 258.
130. Koyner, J. L., Ali, R. S., & Murray, P. T. (2008). Antioxidants. *Nephron Experimental Nephrology*, *109*(4), e109-e117.
131. Kumana, C. R., & Yuen, K. Y. (1994). Parenteral aminoglycoside therapy. *Drugs*, *47*(6), 902-913.

132. Kwon, T. H., Laursen, U. H., Marples, D., Maunsbach, A. B., Knepper, M. A., Frøkiær, J., & Nielsen, S. (2000). Altered expression of renal AQPs and Na<sup>+</sup> transporters in rats with lithium-induced NDI. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 279(3), F552-F564.
133. Lacour, B. (2013). Physiologie du rein et bases physiopathologiques des maladies rénales. *Revue francophone des laboratoires*, 2013(451), 25-37.
134. Lacour, B., & Massy, Z. (2013). L'insuffisance rénale aiguë. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2013(451), 55-58.
135. Lassouane, N. (2015). Etude des mécanismes d'adaptation de jeunes plants d'acacia arabica (Lam.) Willd. ssp. adansonii et parkinsonia aculeata L. soumis à un déficit hydrique. Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences Biologiques. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene .Algérie. p148.
136. Laurent, G., Kishore, B. K., & Tulkens, P. M. (1990). Aminoglycoside-induced renal phospholipidosis and nephrotoxicity. *Biochemical pharmacology*, 40(11), 2383-2392.
137. Laurent, G., Maldague, P., Carlier, M. B., & Tulkens, P. M. (1983). Increased renal DNA synthesis in vivo after administration of low doses of gentamicin to rats. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 24(4), 586-593.
138. Lautrette, A., Heng, A. É., Jaubert, D., Hssain, A. A., Deteix, P., & Souweine, B. (2012). Insuffisance rénale aiguë du sujet âgé. *Néphrologie & Thérapeutique*, 8(1), 57-62.
139. Le K, Chiu F and Ng K (2007). Identification and quantification of antioxidants in Fructuslycii. *Food Chemistry*, 105, 353-363.
140. Legender, C. (2012). Maladie rénale chronique. *La revue du praticien*, 62(1), 27-75.
141. Levy, J., Burns, J. L., Mendelman, P. M., Wong, K., Mack, K., & Smith, A. L. (1986). Effect of tobramycin on protein synthesis in 2-deoxystreptamine aminoglycoside-resistant clinical isolates of Haemophilus influenzae. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 29(3), 474-481.
142. Levy, L. (1969). Carrageenan paw edema in the mouse. *Life sciences*, 8(11), 601-606.
143. Li, J., Li, Q. X., Xie, X. F., Ao, Y., Tie, C. R., & Song, R. J. (2009). Differential roles of dihydropyridine calcium antagonist nifedipine, nitrendipine and amlodipine on gentamicin-induced renal tubular toxicity in rats. *European journal of pharmacology*, 620(1-3), 97-104.
144. Lieberthal, W., & Levine, J. S. (1996). Mechanisms of apoptosis and its potential role in renal tubular epithelial cell injury. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 271(3), F477-F488.
145. Lopez-Novoa, J. M., Quiros, Y., Vicente, L., Morales, A. I., & Lopez-Hernandez, F. J. (2011). New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney international*, 79(1), 33-45.
146. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193, 265-275.
147. Mahmoud, Y. I., & Farag, S. (2017). Kiwifruit ameliorates gentamicin induced histological and histochemical alterations in the kidney of albino mice. *Biotechnic & Histochemistry*, 92(5), 357-362.
148. Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynara scolymus L.). *Nature & Technology*, (9), 35.
149. Manikandan, R., Beulaja, M., Thiagarajan, R., Priyadarsini, A., Saravanan, R., & Arumugam, M. (2011). Ameliorative effects of curcumin against renal injuries mediated by inducible nitric oxide synthase and nuclear factor kappa B during gentamicin-induced toxicity in Wistar rats. *European journal of pharmacology*, 670(2-3), 578-585.

150. Marieb, E. N. (2000). Le système urinaire. In *Biologie humaine: Anatomie et physiologie*(pp.490). Bruxelles: De Boeck Université.
151. Martínez-Salgado, C., Eleno, N., Morales, A. I., Pérez-Barriocanal, F., Arévalo, M., & López-Novoa, J. M. (2004). Gentamicin treatment induces simultaneous mesangial proliferation and apoptosis in rats. *Kidney international*, 65(6), 2161-2171.
152. Martinez-Salgado, C., Rodriguez-Barbero, A., Rodriguez-Puyol, D., Pérez de Lema, G., & Lopez-Novoa, J. M. (1997). Involvement of phospholipase A2 in gentamicin-induced rat mesangial cell activation. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 273(1), F60-F66.
153. Martoja, R., & Martoja-Pierson, M. (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale. Paris: Masson. 345.
154. Meltzer, J. S. (2019). Renal physiology. In *Pharmacology and Physiology for Anesthesia* (pp. 782-794). Elsevier
155. Mida, K. G. R., Chtistelle, A. N. T., Akhanovna, M. B. J., & Yves-Alain, B. (2012). Phenols et Flavonoïdes totaux dans les extraits organiques de dix plantes utilisées dans la tradithérapie du cancer du Sein en Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, 68(2), 182-190.
156. Mohammedi, Z., & Atik, F. (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from Tamarix aphylla (L.) Karst. . *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2 (1) : 609-615.
157. Montange, D. (2018). Aminositides. In *Pharmacologie des anti-infectieux* (p.59). Elsevier Masson
158. Moonen, M., Fraipont, V., Radermacher, L., Masset, C., Firre, E., & Warling, X. (2011). L'insuffisance rénale aiguë: du concept à la pratique. *Néphrologie & Thérapeutique*, 7(3), 172-177.
159. Morales, A. I., Buitrago, J. M., Santiago, J. M., Fernández-Tagarro, M., López-Novoa, J. M., & Pérez-Barriocanal, F. (2002). Protective effect of trans-resveratrol on gentamicin-induced nephrotoxicity. *Antioxidants and Redox Signaling*, 4(6), 893-898.
160. Morales, A. I., Demaille, D., Prieto, M., Puente, A., Briones, E., Arévalo, M., ... & El-Mir, M. Y. (2010). Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. *Kidney international*, 77(10), 861-869.
161. Moreira, M. A., Nascimento, M. A., Bozzo, T. A., Cintra, A., da Silva, S. M., Dalboni, M. A., & Higa, E. M. (2014). Ascorbic acid reduces gentamicin-induced nephrotoxicity in rats through the control of reactive oxygen species. *Clinical nutrition*, 33(2), 296-301.
162. Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., ... & Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food chemistry*, 72(2), 145-171.
163. Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M. J., & Lema, J. M. (2000). Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 3890-3897.
164. Munro, H. N., & Downie, E. D. (1964). Extraction of protein from tissues during treatment with organic lipid solvents. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 106, 516-524.
165. Nagaoka, S. I., Kakiuchi, T., Ohara, K., & Mukai, K. (2007). Kinetics of the reaction by which natural vitamin E is regenerated by vitamin C. *Chemistry and physics of lipids*, 146(1), 26-32.
166. Naima, R., Oumam, M., Hannache, H., Sesbou, A., Charrier, B., Pizzi, A., & Charrier-El Bouhtoury, F. (2015). Comparison of the impact of different extraction methods on

- polyphenols yields and tannins extracted from Moroccan Acacia mollissima barks. *Industrial Crops and Products*, 70, 245-252.
167. Nasri, H., Nematbakhsh, M., Ghobadi, S., Ansari, R., Shahinfard, N., & Rafieian-Kopaei, M. (2013). Preventive and curative effects of ginger extract against histopathologic changes of gentamicin-induced tubular toxicity in rats. *International journal of preventive medicine*, 4(3), 316.
168. Ngaha, E. O., & Ogunleye, I. O. (1983). Studies on gentamicin-induced labilization of rat kidney lysosomes in vitro: Possible protection by selenium. *Biochemical pharmacology*, 32(18), 2659-2664.
169. Nguyen, S. H., Bourouina, R., & Allin-Pfister, A. C. (2008). *Manuel d'anatomie et de physiologie(pp.51)*. Wolters Kluwer France.
170. Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(4), 503-515.
171. Nitha, B., & Janardhanan, K. K. (2008). Aqueous-ethanolic extract of morel mushroom mycelium *Morchella esculenta*, protects cisplatin and gentamicin induced nephrotoxicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 46(9), 3193-3199.
172. Olbricht, C. J., Fink, M., & Gutjahr, E. (1991). Alterations in lysosomal enzymes of the proximal tubule in gentamicin nephrotoxicity. *Kidney international*, 39(4), 639-646.
173. Parlakpinar, H., Tasmemir, S., Polat, A., Bay-Karabulut, A., Vardi, N., Ucar, M., & Acet, A. (2005). Protective role of caffeic acid phenethyl ester (cape) on gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. *Toxicology*, 207(2), 169-177.
174. Pattyn, V. M., Verpooten, G. A., Giuliano, R. A., Zheng, F., & De Broe, M. E. (1988). Effect of hyperfiltration, proteinuria and diabetes mellitus on the uptake kinetics of gentamicin in the kidney cortex of rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 244(2), 694-698.
175. Payne, S. E., Kotze, A. C., Durmic, Z., & Vercoe, P. E. (2013). Australian plants show anthelmintic activity toward equine cyathostomins in vitro. *Veterinary parasitology*, 196(1-2), 153-160.
176. Persson, P. B. (1997). Physiological regulation of renal blood flow and glomerular filtration rate by the endothelium and smooth muscle. *Blood purification*, 15(4-6), 219-227.
177. Perva-Uzunalić, A., Škerget, M., Knez, Ž., Weinreich, B., Otto, F., & Grüner, S. (2006). Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food chemistry*, 96(4), 597-605.
178. Pigeolet, E., Corbisier, P., Houbion, A., Lambert, D., Michiels, C., Raes, M., ... & Remacle, J. (1990). Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals. *Mechanisms of ageing and development*, 51(3), 283-297.
179. Plante, I. (2002). Etude de la néphrotoxicité induite par l'association médicamenteuse gentamicine-amphotéricine B: Effet de l'heure d'administration. Mémoire présenté pour l'obtention du grade de maître ès sciences en microbiologie-immunologie. Université Laval. Canada. 5p. Online : <http://www.collectionscanada.gc.ca/obj/s4/f2/dsk3/ftp04/MQ60648.pdf>.
180. Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. H. (Eds.). (2001). *Antioxidants in food: practical applications*. CRC press.
181. Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. (4) : 8p.

182. Pottier-Alapetite, G. (1979). Flore de la Tunisie.
183. Priuska, E. M., & Schacht, J. (1995). Formation of free radicals by gentamicin and iron and evidence for an iron/gentamicin complex. *Biochemical pharmacology*, 50(11), 1749-1752.
184. Quérin, S., & Valiquette, L. (2000). *Physiopathologie des maladies du rein et des voies urinaires*(pp3-6). Saint-Hyacinthe, Québec: Edisem.
185. Quiros, Y., Vicente-Vicente, L., Morales, A. I., López-Novoa, J. M., & López-Hernández, F. J. (2011). An integrative overview on the mechanisms underlying the renal tubular cytotoxicity of gentamicin. *Toxicological sciences*, 119(2), 245-256.
186. Rafieian-Kopaei, M., Baradaran, A., Merrikhi, A., Nematbakhsh, M., Madihi, Y., & Nasri, H. (2013). Efficacy of co-administration of garlic extract and metformin for prevention of gentamicin–renal toxicity in wistar rats: A biochemical study. *International journal of preventive medicine*, 4(3), 258.
187. Ramhariya, R., Ganeshpurkar, A., Ayachi, C., Kanojia, P., Bansal, D., & Dubey, N. (2015). Ameliorative effect of rutin on gentamicin-induced nephrotoxicity in murine model. *Austin J Pharmacol Ther*, 3(1), 1066e70.
188. Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resistance Updates*, 13(6), 151-171.
189. Randjelovic, P., Veljkovic, S., Stojiljkovic, N., Sokolovic, D., & Ilic, I. (2017). Gentamicin nephrotoxicity in animals: current knowledge and future perspectives. *EXCLI journal*, 16, 388.
190. Rashid, U., & Khan, M. R. (2017). Fagonia olivieri prevented hepatorenal injuries induced with gentamicin in rat. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 88, 469-479.
191. Rather, L. J., & Mohammad, F. (2015). Acacia nilotica (L.): a review of its traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 2, 12-30.
192. Robert , D . (2013). Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive .Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Angers. (pp. 39-40).
193. Rodrigues, F. A., Prata, M. M., Oliveira, I. C., Alves, N. T., Freitas, R. E., Monteiro, H. S., & Havt, A. (2014). Gingerol fraction from Zingiber officinale protects against gentamicin-induced nephrotoxicity. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(4), 1872-1878.
194. Rodriguez-Barbero, A., Bosque, E., Rivas-Cabaero, L., Arévalo, M., & López-Novoa, J. M. (1992). Effect of platelet activating factor antagonist treatment on gentamicin nephrotoxicity. *Mediators of inflammation*, 1(1), 23-26.
195. Rodriguez-Barbero, A., Lopez-Novoa, J. M., & Arevalo, M. (1997). Involvement of platelet-activating factor in gentamicin nephrotoxicity in rats. *Experimental nephrology*, 5(1), 47-54.
196. Rodriguez-Barbero, A., Rodriguez-Lopez, A. M., Gonzalez-Sarmiento, R., & López-Novoa, J. M. (1995). Gentamicin activates rat mesangial cells. A role for platelet activating factor. *Kidney international*, 47(5), 1346-1353.
197. Rouas, C. (2010). *Etude des mécanismes mis en jeu lors d'une exposition à l'uranium appauvri sur le système de détoxification in vivo et in vitro*. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur de L'universite paris xi.(p35).
198. Roupêt, M., & Lefèvre, J. (2006). *Urologie, nephrologie*. Paris: Editions Vernazobres-Grego.

199. Russo, G., Cioffi, G., Di Lenarda, A., Tuccia, F., Bovelli, D., Di Tano, G., & Tarantini, L. (2012). Role of renal function on the development of cardiotoxicity associated with trastuzumab-based adjuvant chemotherapy for early breast cancer. *Internal and emergency medicine*, 7(5), 439-446.
200. Russo, L. M., Sandoval, R. M., McKee, M., Osicka, T. M., Collins, A. B., Brown, D., ... & Comper, W. D. (2007). The normal kidney filters nephrotic levels of albumin retrieved by proximal tubule cells: retrieval is disrupted in nephrotic states. *Kidney international*, 71(6), 504-513.
201. Sadiq, M. B., Hanpithakpong, W., Tarning, J., & Anal, A. K. (2015). Screening of phytochemicals and in vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of leaves, pods and bark extracts of *Acacia nilotica* (L.) Del. *Industrial Crops and Products*, 77, 873-882.
202. Safari, V. Z., Kamau, J. K., Nthiga, P. M., Ngugi, M. P., Orinda, G., & Njagi, E. M. (2016). Antipyretic, antiinflammatory and antinociceptive activities of aqueous bark extract of *Acacia nilotica* (L.) Delile in albino mice. *Pain Manage Med*, 2(113), 2.
203. Saito, Y., Nishio, K., Ogawa, Y., Kimata, J., Kinumi, T., Yoshida, Y., ... & Niki, E. (2006). Turning point in apoptosis/necrosis induced by hydrogen peroxide. *Free radical research*, 40(6), 619-630.
204. Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. In *Antioxidants*. IntechOpen.
205. Schaur, R., Siems, W., Bresgen, N., & Eckl, P. (2015). 4-Hydroxy-nonenal—a bioactive lipid peroxidation product. *Biomolecules*, 5(4), 2247-2337.
206. Schor, N., Ichikawa, I., Rennke, H. G., Troy, J. L., & Brenner, B. M. (1981). Pathophysiology of altered glomerular function in aminoglycoside-treated rats. *Kidney international*, 19(2), 288-296.
207. Sedrati, A. (2014). Etude de l'antibiorésistance des souches bactériennes à l'origine des infections infantiles à l'EPH d'Ouargla. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie appliquée.
208. Sener, G., Sehirli, A. Ö., Altunbas, H. Z., Ersoy, Y., Paskaloglu, K., Arbak, S., & Ayanoglu-Dulger, G. (2002). Melatonin protects against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of pineal research*, 32(4), 231-236.
209. Sherwood, L. (2015). *Physiologie humaine* (pp451). De Boeck Supérieur.
210. Shibuya, H., Kato, Y., Saito, M., Isobe, T., Tsuboi, R., Koga, M., ... & Mizuguchi, J. (2003). Induction of apoptosis and/or necrosis following exposure to antitumour agents in a melanoma cell line, probably through modulation of Bcl-2 family proteins. *Melanoma research*, 13(5), 457-464.
211. Silbernagl, S., & Despopoulos, A. (2001). Atlas de poche de physiologie, 3e éditions. *Édition Médecine-Science/Flammarion*.
212. Silbernagl, S., & Despopoulos, A. (2009). *Color atlas of physiology*. Flammarion médecine-sciences.
213. Singh, R., Singh, S., Kumar, S., & Arora, S. (2007). Evaluation of antioxidant potential of ethyl acetate extract/fractions of *Acacia auriculiformis* A. Cunn. *Food and chemical toxicology*, 45(7), 1216-1223.
214. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

215. Slimani, A., Moussaoui, A., & Laazouni, H. (2015). Phytochemical screening, antifungal and antimycotoxicological effect of *Acacia raddiana* leaves of south-west Algeria. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(10):852-856.
216. Sodimbaku, V., Pujari, L., Mullangi, R., & Marri, S. (2016). Carrot (*Daucus carota* L.): Nephroprotective against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Indian journal of pharmacology*, 48(2), 122.
217. Sripad, G., Prakash, V., & Rao, M. N. (1982). Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. *Journal of Biosciences*, 4(2), 145-152.
218. Steinmann, D., & Ganzera, M. (2011). Recent advances on HPLC/MS in medicinal plant analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 55(4), 744-757.
219. Subhan, N., Burrows, G. E., Kerr, P. G., & Obied, H. K. (2018). Phytochemistry, Ethnomedicine, and Pharmacology of *Acacia*. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 57, pp. 247-326). Elsevier.
220. Sun, H., Yang, H., Ruan, H., Li, W., He, X., Wang, L., & Zhang, J. (2018). The protective effect of sika deer antler protein on gentamicin-induced nephrotoxicity in vitro and in vivo. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 50(3), 841-850.
221. Tajiri, K., Miyakawa, H., Marumo, F., & Sato, C. (1995). Increased renal susceptibility to gentamicin in the rat with obstructive jaundice. *Digestive diseases and sciences*, 40(5), 1060-1064.
222. Tavafi, M., & Ahmadvand, H. (2011). Effect of rosmarinic acid on inhibition of gentamicin induced nephrotoxicity in rats. *Tissue and Cell*, 43(6), 392-397.
223. Tavafi, M., Ahmadvand, H., & Toolabi, P. (2012). Inhibitory effect of olive leaf extract on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 6(1).
224. Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., & El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food chemistry*, 104(4), 1372-1378.
225. Tencer, J., Bakoush, O., & Torffvit, O. (2000). Diagnostic and prognostic significance of proteinuria selectivity index in glomerular diseases. *Clinica chimica acta*, 297(1-2), 73-83.
226. Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2017). *Manuel d'anatomie et de physiologie humaines*. De Boeck supérieur.
227. Tryggvason, K., Patrakka, J., & Wartiovaara, J. (2006). Hereditary proteinuria syndromes and mechanisms of proteinuria. *New England Journal of Medicine*, 354(13), 1387-1401.
228. Tugcu, V., Ozbek, E., Tasci, A. I., Kemahli, E., Somay, A., Bas, M., & ÖZdogan, H. K. (2006). Selective nuclear factor  $\kappa$ -B inhibitors, pyrolium dithiocarbamate and sulfasalazine, prevent the nephrotoxicity induced by gentamicin. *BJU international*, 98(3), 680-686.
229. Tung, Y. T., Chang, W. C., Chen, P. S., Chang, T. C., & Chang, S. T. (2011). Ultrasound-assisted extraction of phenolic antioxidants from *Acacia confusa* flowers and buds. *Journal of separation science*, 34(7), 844-851.
230. Vysakh, A., Abhilash, S., Kuriakose, J., Midhun, S. J., Jyothis, M., & Latha, M. S. (2018). Protective effect of *Rotula aquatica* Lour against gentamicin induced oxidative stress and nephrotoxicity in Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, 1188-1194.
231. Walker, P. D., Barri, Y., & Shah, S. V. (1999). Oxidant mechanisms in gentamicin nephrotoxicity. *Renal failure*, 21(3-4), 433-442.

232. Weinstein, M. J., Luedemann, G. M., Oden, E. M., Wagman, G. H., Rosselet, J. P., Marquez, J. A., & Black, J. (1963). Gentamicin, 1 a new antibiotic complex from *Micromonospora*. *Journal of medicinal chemistry*, 6(4), 463-464.
233. Westhuyzen, J., Endre, Z. H., Reece, G., Reith, D. M., Saltissi, D., & Morgan, T. J. (2003). Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 18(3), 543-551.
234. Wheater, P. R., Young, B., & Heath, J. W. (2001). *Histologie fonctionnelle*. De Boeck Supérieur.
235. Whiting, P. H., Petersen, J., & Simpson, J. G. (1981). Gentamicin-induced nephrotoxicity in mice: protection by loop diuretics. *British journal of experimental pathology*, 62(2), 200.
236. Wiland, P., & Szechcinski, J. (2003). Proximal tubule damage in patients treated with gentamicin or amikacin. *Pol J Pharmacol*, 55(4), 631-7.
237. Wink, M. (2013). Evolution of secondary metabolites in legumes (Fabaceae). *South African Journal of Botany*, 89, 164-175.
238. Xie, Q. W., Kashiwabara, Y., & Nathan, C. (1994). Role of transcription factor NF-kappa B/Rel in induction of nitric oxide synthase. *Journal of Biological Chemistry*, 269(7), 4705-4708.
239. Xie, Y., Sakatsume, M., Nishi, S., Narita, I., Arakawa, M., & Gejyo, F. (2001). Expression, roles, receptors, and regulation of osteopontin in the kidney. *Kidney international*, 60(5), 1645-1657.
240. Yadav, N., Sharma, S., Sharma, S., & Sharma, K. (2017). Critical Analysis of protective role of plants against gentamicin induced nephrotoxicity. *Indian J Environ Sci*, 21, 1-34.
241. Yadav, P., Kant, R., & Kothiyal, P. (2013). A Review on *Acacia tortilis*. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 3(2), 93-96.
242. Yagi, K. (1976). A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.*, 15, 212-216.
243. Yanagida, C., Ito, K., Komiya, I., & Horie, T. (2004). Protective effect of fosfomycin on gentamicin-induced lipid peroxidation of rat renal tissue. *Chemico-biological interactions*, 148(3), 139-147.
244. Zhang, G., He, L., & Hu, M. (2011). Optimized ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Prunella vulgaris* L. and evaluation of antioxidant activities in vitro. *Innovative food science & emerging technologies*, 12(1), 18-25.
245. Zhang, H., & Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33-42.

Site web :

Transfusion sanguine, Les reins : <https://www.toutsurlatransfusion.com/transfusion-sanguine/medecine-transfusionnelle/organes-et-le-sang.php>. Consulté le 14-03-2019.

G-BioScience, Protein assays Handbook & Selection guide : <http://www.genotech.com/bulletins/protein-assays-introduction.pdf>. Consulté le 11-04-2019.

---

## Annexe 1 : Réactifs chimiques et matériel instrumental

### I.1 Verrerie et autres :

- Pissette
- Compresse
- Lames de bistouri
- Ciseaux.
- Pincettes.
- Plaque de contention.
- Flacons
- Micropipette (de 10µl à 1000µl),
- Pipettes graduées (1ml, 5ml, 10ml)
- Tubes à essai.
- Tubes en verre.
- Portoirs.
- Bêchers de 50ml et 250ml,
- Erlenmeyer de 250ml
- Cuves.
- Boîtes de Pétri.
- Lames et lamelles.
- Embouts de contenance de 1000 µl.
- Embouts de contenance de 200 µl.
- Spatule.
- Entonnoir.
- Papier absorbant
- Cassettes d'inclusion.

### I.2 Réactifs chimiques

- Ether Ethylique.
- Triton X-100.
- Acide trichloracétique.
- Alcool.
- Hydroxyde de sodium NaOH.
- Tartrate de Na+ K+.
- Sulfate de cuivre CuSO<sub>4</sub>.
- Sulfate de carbonate de sodium.
- Folin ciocalteu.
- Phosphate de potassium monobasique KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.
- Butyl-Hydroxtoluène (BHT).
- Phosphate disodique Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.
- Peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
- Eau distillée.
- Méthanol
- Carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>
- Acide gallique
- Acide thiobarbiturique
- HCl
- Trichlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub>
- DPPH
- Vitamine C
- Formol
- DMSO

## Annexe 2 : Analyse Statistiques

### - Les Protéines totales

| Tukey HSD test; Variable: Total prot (Spreadsheet5)<br>Marked differences are significant at $p < ,05000$ |          |          |          |          |          |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| Var1  | {1}      | {2}      | {3}      | {4}      | {5}      |
|   | M=71,273 | M=65,330 | M=68,030 | M=68,750 | M=68,630 |
| lot 1 {1}   |          | 0,000235 | 0,009862 | 0,043105 | 0,033588 |
| lot2 {2}  | 0,000235 |          | 0,029864 | 0,006971 | 0,008816 |
| lot 3 {3}   | 0,009862 | 0,029864 |          | 0,863989 | 0,923061 |
| lot 4 {4}   | 0,043105 | 0,006971 | 0,863989 |          | 0,999828 |
| lot 5 {5}   | 0,033588 | 0,008816 | 0,923061 | 0,999828 |          |

### - La Catalase

| Newman-Keuls test; Variable: CAT (Spreadsheet5)<br>Marked differences are significant at $p < ,05000$ |          |          |          |          |          |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| Var1  | {1}      | {2}      | {3}      | {4}      | {5}      |
|   | M=14,117 | M=6,4593 | M=12,737 | M=11,756 | M=12,931 |
| lot 1 {1}   |          | 0,008104 | 0,690120 | 0,510991 | 0,489768 |
| lot2 {2}  | 0,008104 |          | 0,010496 | 0,010698 | 0,015112 |
| lot 3 {3}   | 0,690120 | 0,010496 |          | 0,565966 | 0,908913 |
| lot 4 {4}   | 0,510991 | 0,010698 | 0,565966 |          | 0,761755 |
| lot 5 {5}   | 0,489768 | 0,015112 | 0,908913 | 0,761755 |          |

### - Le MDA

| Newman-Keuls test; Variable: MDA (Spreadsheet5)<br>Marked differences are significant at $p < ,05000$ |          |          |          |          |          |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| Var1  | {1}      | {2}      | {3}      | {4}      | {5}      |
|   | M=46,200 | M=84,749 | M=55,253 | M=59,827 | M=71,774 |
| lot 1 {1}   |          | 0,000176 | 0,003946 | 0,000728 | 0,000205 |
| lot2 {2}  | 0,000176 |          | 0,000205 | 0,000200 | 0,000467 |
| lot 3 {3}   | 0,003946 | 0,000205 |          | 0,087770 | 0,000299 |
| lot 4 {4}   | 0,000728 | 0,000200 | 0,087770 |          | 0,000727 |
| lot 5 {5}   | 0,000205 | 0,000467 | 0,000299 | 0,000727 |          |