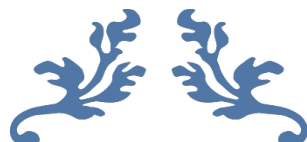




République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée
Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de master en Biologie
Option : Biologie ,Biochimie Appliquée.

Thème :



*L'effet de l'extrait standardisé de Ginkgo Biloba sur les altérations
rénales et hépatiques induit par les nitrites chez les lapins*



Elaboré par :

Nessrine Dridi

Nessrine Rais

Soutenu devant le jury

| | | | |
|---------------------------|-------|-----------------------|------------|
| Mr.GOUJIL .T | M.C.B | Université de Tébessa | Président |
| Mme. LAHMER.BELGUENDOZ. K | M.A.A | Université de Tébessa | Rapporteur |
| Mr. LAHMER .M | M.A.A | Université de Tébessa | Examineur |

Date de soutenance :

07/06/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ
وَالَّذِي جَعَلَ الْمَوْتَ
وَالْحَيَاةَ وَالَّذِي
يُعِيدُ النَّاسَ
وَالَّذِي جَعَلَ
الْمَوْتَ وَالْحَيَاةَ
وَالَّذِي يُعِيدُ
النَّاسَ

Dédicaces

Avec joie et plaisir, fierté et respect, je dédie ce

Modeste travail à ma grande famille

*À mes parents pour leur soutien infatigable, leur patience admirable
et leur affection continuelle, qui m'a beaucoup aidé dans ma vie et
durant mes études.*

*À mes frères et mes sœurs sur tout Abd Annacer et Charaf Eddine
pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.*

Aux bourgeons de la famille .

*A ma collègue Nessrine Rais qui m'encouragée pour terminer ce
travail.*

À tous mes amis Amele, Gamra, Madiha, Imene ...

Et a toutes les personnes qui méritent mon Respect .

Dridi

Dédicaces

Je dédie cet événement marquant de ma vie à la Mémoire de mon cher frère AHMED, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. J'espère que, il Apprécie cette humble geste comme preuve de Reconnaissance de la part d'une sœur qui a toujours Pense et prié pour lui, paix à son âme et que dieu L'accueil dans son vaste paradis.

A mes très chers parents. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir. Ce travail est le résultat de l'esprit de sacrifice dont vous avez faits, de vous prières et tes bénédiction de l'encouragement et le soutien que vous ne cessez de manifester. Que Dieu, vous accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur.

A ma très chers frère Moustafa et ma sœur Saïda qui sont toujours me soutenus et me donné la force pour persévérer dans les pires moments.

AUX chéries de mon cœur Abdrahmen et mouaad.

A ma collègue Nessrine dridi qui m'encouragée pour terminer ce travail.

A mes amis Maha, Madiha, Amira, Rania , Gamra, Rahil, Imen, Amel, Aya . Merci pour votre soutien morale.

A toutes les personnes qui méritent mon Respect.

Rais

Remerciement

C'est avant tout grâce à Allah que ce travail a pu être réalisé

*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à ma directrice de mémoire de fin d'étude madame **LAHMER BELGUENDOZ***

Karima, Nous tenons à vous exprimer notre plus grande reconnaissance pour votre encadrement dans ce travail, vos conseils et votre disponibilité. Nous avons toujours apprécié vos qualités pédagogiques, vos qualités humaines auprès des patients et votre convivialité qui vous permettent de fédérer ce travail. Nous vous remercions pour votre écoute et pour le temps que vous avez passé à l'élaboration de ce travail.

*Mr **GOUJIL T.** et Mr **LAHMER M.** Je suis très honoré de pouvoir vous compter parmi les membres de jury de mémoire. Je vous exprime à travers ce travail ma haute considération, et ma profonde gratitude.*

ملخص

النتريت مركب كيميائي يتكون من أكسدة الأمونيوم بالأكسجين بواسطة البكتيريا الأزوتية (ازوتوباكتر). يستخدم النتريت كمثبت للألوان في الصناعات الغذائية وكمضاف غذائي ومادة حافظة. يمكن أن يسبب التعرض لجرعة عالية من النتريت اضطرابات حيث يتحول إلى مادة سامة. تهدف دراستنا الحالية إلى معرفة تأثير النتريت على استجابة الكبد والكلى.

أظهرت الأرناب التي عولجت بجرعة 100 مجم / كجم من وزن الجسم من نتريت الصوديوم وحده لمدة ستة أسابيع وجود تغيرات تشريحية مختلفة من أرناب إلى آخر حسب مدة العلاج ، وأظهرت الدراسة النسيجية وجود التهاب وتليف في الكبد والكلى .

أظهرت الأرناب التي تلقت 20 مجم / كجم من وزن الجسم تانكان لمدة ثلاثة أسابيع بعد تلقي نتريت الصوديوم لمدة ستة أسابيع تحسناً في حالة الكبد والكلى مع انخفاض الالتهاب والتليف في كلا العضوين.

وبهذا يمكننا القول أن مستخلص الجنكوبيلوبا لديه إمكانيات علاجية كبيرة في تحسن الحالة الوظيفية الكلوية والكبدية والشفاء من الالتهاب والتليف التي يسببها النتريت.

الكلمات المفتاحية: نتريت الصوديوم, الجنكوبيلوبا, أرناب, التهاب, تليف.

Abstract

Nitrite is a chemical compound formed by the oxidation of ammonium with oxygen by nitrifying bacteria (*Azotobacter*). Nitrite is used as a color stabilizer in the food industry and as a food additive and preservative. Exposure to a high dose of nitrite can cause disturbances as it turns into a toxic substance. Our current study aims to find out the effect of nitrite on the response of the liver and kidneys.

Rabbits that were treated with a dose of 100 mg/kg body weight of sodium nitrite alone for six weeks showed different anatomical changes from one rabbit to another depending on the duration of treatment, and histological study showed inflammation and fibrosis in the liver and kidneys.

Rabbits receiving 20 mg/kg body weight Tanakan for three weeks after receiving sodium nitrite for six weeks showed improvement in liver and kidney status, with reduced inflammation and fibrosis in both organs.

Thus, we can say that the ginkgo biloba extract has great therapeutic potential in improving the condition of renal and hepatic function and healing the inflammation and fibrosis caused by nitrites.

Key words: sodium nitrite, ginkgo biloba, rabbit, inflammation, fibrosis.

Résumé

Le nitrite est un composé chimique formé par l'oxydation de l'ammonium avec de l'oxygène par des bactéries nitrifiantes (Azotobacter). Le nitrite est utilisé comme stabilisateur de couleur dans l'industrie alimentaire et comme additif alimentaire et conservateur. L'exposition à une dose élevée de nitrite peut provoquer des perturbations car il se transforme en une substance toxique. Notre étude actuelle vise à découvrir l'effet du nitrite sur la réponse du foie et des reins.

Les lapins qui ont été traités avec une dose de 100 mg/kg de poids corporel de nitrite de sodium seul pendant six semaines ont montré des changements anatomiques différents d'un lapin à l'autre en fonction de la durée du traitement, et l'étude histologique a montré une inflammation et une fibrose du foie et des reins.

Les lapins recevant 20 mg/kg de poids corporel de Tanakan pendant trois semaines après avoir reçu du nitrite de sodium pendant six semaines ont montré une amélioration de l'état du foie et des reins, avec une réduction de l'inflammation et de la fibrose dans les deux organes.

Ainsi, on peut dire que l'extrait de ginkgo biloba a un grand potentiel thérapeutique pour améliorer l'état de la fonction rénale et hépatique et guérir l'inflammation et la fibrose causées par les nitrites.

Mots clés : nitrite de sodium, ginkgo biloba, lapin, inflammation, fibrose.

Sommaire

ملخص

Abstract

Résumé

Table des matières

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Chapitre 01 : Nitrites

| | |
|--|---|
| 1 Nitrites..... | 3 |
| 2 La reminéralisation de l'azote..... | 3 |
| 3 Formation et recyclage de nitrate et nitrite en oxyde nitrique (NO) :..... | 4 |
| 4 Effets de nitrite sur l'organisme..... | 5 |
| 4.1 Mitochondrie comme régulateurs de la concentration nitrite..... | 5 |
| 4.2 Autres effets :..... | 6 |
| 5 Utilisation..... | 7 |

Chapitre 02 : Ginkgo Biloba

| | |
|---|----|
| 1 Plante et classification..... | 9 |
| 1.1 Plante..... | 9 |
| 1.2 Classification..... | 9 |
| 1.2.1 Nom commun..... | 9 |
| 1.2.2 Nom botanique..... | 9 |
| 2 Eléments actifs..... | 10 |
| 2.1 Flavonoïdes..... | 10 |
| 2.2 Diterpènes : ginkgolides A, B, C..... | 10 |
| 2.3 Tanins..... | 11 |
| 3 Effets de Ginkgo biloba..... | 12 |
| 4 Application..... | 13 |

Chapitre 03 : Le foie

| | |
|--|----|
| 1 Anatomie..... | 15 |
| 2 Histologie..... | 15 |
| 2.1 Le lobule hépatique..... | 15 |
| 2.2 L'artère hépatique..... | 16 |
| 2.3 La veine porte et ses branches..... | 16 |
| 3 Cellules du foie..... | 17 |
| 3.1 Cellules épithéliales (hépatocytes)..... | 17 |
| 3.2 Les cellules endothéliales sinusoidales du foie..... | 18 |

| | |
|--|----|
| 4 Les différentes fonctions hépatiques:..... | 18 |
| 4.1 Un rôle d'épurateur:..... | 18 |
| 4.2 Un rôle dans le système immunitaire:..... | 18 |
| 4.3 Un rôle de stockage et de production:..... | 18 |

Chapitre 04 : Le rein

| | |
|---|----|
| 1 Anatomie du rein..... | 21 |
| 2 Histologie des reins..... | 22 |
| 2.1 Cortex rénal..... | 22 |
| 2.2 Zone médullaire..... | 22 |
| 2.3 Néphron..... | 22 |
| 2.4 Les tubules contournés proximaux..... | 23 |
| 2.5 Anse de Henle..... | 23 |
| 2.6 Tubules contournés distaux..... | 23 |
| 3 Fonctions du rein..... | 24 |

Matériel et Méthodes

| | |
|--|----|
| 1 Matériel biologique..... | 26 |
| 1.1 Matériel animal..... | 26 |
| 1.2 Produits administrés..... | 26 |
| 1.3 Matériels de laboratoire..... | 27 |
| 1.4 Réactifs..... | 27 |
| 2 Méthode d'élevage et du traitement..... | 27 |
| 2.1 Description d'élevage..... | 27 |
| 2.2 Mode de traitement..... | 28 |
| 3 Etude histologique..... | 29 |
| 3.1 Prélèvement..... | 29 |
| 3.2 Fixation..... | 29 |
| 3.3 Déshydratation..... | 29 |
| 3.4 Imprégnation..... | 29 |
| 3.5 Inclusion..... | 30 |
| 3.6 Mise en bloc..... | 30 |
| 3.7 Confection des coupes histologiques..... | 30 |
| 3.8 Déparaffinage..... | 30 |
| 3.9 Réhydratation..... | 30 |
| 3.10 Coloration..... | 30 |
| 3.11 Montage et Observation microscopique..... | 31 |

| | |
|--------------------------------------|----|
| 4 Les altérations microscopique..... | 31 |
|--------------------------------------|----|

Résultats

| | |
|--|----|
| 1 Histologie du rein de l'animal témoin..... | 33 |
| 2 Histologie du foie de l'animal témoin..... | 34 |
| 3 Effet du traitement avec le nitrite de sodium seule après une semaine d'arrêt :..... | 34 |
| 4 Effet du traitement avec le nitrite de sodium seule après 2 semaines d'arrêt :..... | 36 |
| 5 Effet du traitement avec le nitrite de sodium seule après 3 semaines d'arrêt :..... | 38 |
| 6 Lapin témoin traité par le tanakan seul..... | 41 |
| 7 Effet du traitement avec le nitrite de sodium seule après une semaine de traitement avec le tanakan :..... | 42 |
| 8 Effet du traitement avec le nitrite de sodium seule après 2 semaines de traitement avec le tanakan :..... | 44 |
| 9 Effet du traitement avec le nitrite de sodium seule après 3 semaines de traitement avec le tanakan :..... | 46 |

Discussion

Conclusion

Bibliographie

Annexes

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1: Les étapes de la reminéralisation de l'azote organique en nitrate..... | 3 |
| Figure 2: Les trois réactions séquentielles de reminéralisation du nitrate et nitrite..... | 3 |
| Figure 3: Cycle d'azote..... | 4 |
| Figure 4: Formation et recyclage des nitrates (NO_3^-), nitrites (NO_2^-) et de l'oxyde nitrique (NO)..... | 5 |
| Figure 5: Sites of mitochondrial de la réduction des nitrites..... | 6 |
| Figure 6: Ginkgo biloba..... | 9 |
| Figure 7: Structure de diterpène : ginkgolide A, B..... | 11 |
| Figure 8: Tanins condensés..... | 12 |
| Figure 9: Le foie en vue de face..... | 15 |
| Figure 10: Lobule hépatique..... | 15 |
| Figure 11: Organisation structurelle et fonctionnelle du foie..... | 16 |
| Figure 12: Anatomie interne des reins..... | 21 |
| Figure 13: Les composants fonctionnels d'un néphron..... | 23 |
| Figure 14: Lapin de race néo-zélandais..... | 26 |
| Figure 15: Nitrite de Sodium..... | 26 |
| Figure 16: Nourriture utilisée dans l'élevage..... | 28 |
| Figure 17: Coupe transversale au niveau du rein du lapin témoin (médulla). Vue générale (A), montre les tubes collecteurs (TC). Détail (B), montre l'anse de Henlé (AH). ($G \times 10$, $G \times 40$, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 33 |
| Figure 18: coupe transversale au niveau du rein du lapin témoin (cortex). Vue générale (A) montre les glomérules (g), l'espace de bauman (eb) et les tubules (t) et. ($G \times 10$, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 33 |
| Figure 19: coupe transversale au niveau du foie du lapin témoin. Vue générale (A), détail (B). ($G \times 10$, $G \times 40$, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 34 |
| Figure 20: Coupe transversale au niveau du médulla rénale du lapin après l'arrêt de traitement pendant une seule semaine. Vue générale (A). ($G \times 10$, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 35 |
| Figure 21: Coupe transversale au niveau du médulla rénale du lapin après l'arrêt de traitement pendant une seule semaine. Vue générale (A), détail (B). ($G \times 10$, $G \times 40$, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 35 |
| Figure 22: Coupe transversale au niveau du foie du lapin après l'arrêt de traitement pendant une seule semaine. Vue générale (A), détail (B). ($G \times 10$, $G \times 40$, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 36 |
| Figure 23: Coupe transversale au niveau du médulla rénale du lapin après l'arrêt de traitement pendant deux semaine. Vue générale (A). ($G \times 10$, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 37 |
| Figure 24: Coupe transversale au niveau du cortex du lapin après l'arrêt de traitement pendant deux semaine. Vue générale (A), détail (B). ($G \times 10$, $G \times 40$, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 37 |

| | |
|---|----|
| Figure 25: Coupe transversale au niveau du foie du lapin après l'arrêt de traitement pendant deux semaine. Vue générale (A) . (G×10,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 38 |
| Figure 26: Coupe transversale au niveau du veine centrolobulaire du lapin apres l'arrêt de traitement pendant deux semaine. vue detail (b) . (g×40,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 38 |
| Figure 27: Coupe transversale au niveau du médulla rénale du lapin après l'arrêt de traitement pendant trois semaine. Vue générale (A). (G×10, fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 39 |
| Figure 28 : Coupe transversale au niveau du cortex du lapin après l'arrêt de traitement pendant trois semaine. Vue générale (A),détail (B) . (G×10, G×40,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 39 |
| Figure 29: Coupe transversale au niveau du foie du lapin après l'arrêt de traitement pendant trois semaine. Vue générale (A) . (G×10,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 40 |
| Figure 30: Coupe transversale au niveau du veine centrolobulaire du lapin après l'arrêt de traitement pendant deux semaine. Vue générale (A),détail (B) . (G×10, G×40,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 41 |
| Figure 31 : Coupe transversale au niveau du foie du lapin temoin traité par le tanakan seule.veu générale (A). (G×10,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 42 |
| Figure 32: Coupe transversale au niveau du foie du lapin témoin traité par le tanakan seule. Vue générale (A). (G×10,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)... | 42 |
| Figure 33: Coupe transversale au niveau du médulla du lapin après l'arrêt de traitement pendant une semaine. Vue générale (A),détail (B) . (G×10, G×40,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 43 |
| Figure 34: Coupe transversale au niveau du cortex du lapin après l'arrêt de traitement pendant une semaine. Vue générale (A),détail (B) . (G×10, G×40,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 43 |
| Figure 35: Coupe transversale au niveau du foie du lapin après l'arrêt de traitement pendant une semaine. Vue générale (A),détail (B) . (G×10, G×40,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 44 |
| Figure 36: Coupe transversale au niveau du médulla du lapin après l'arrêt de traitement pendant deux semaine. Vue générale (A) . (G×10,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 45 |
| Figure 37: Coupe transversale au niveau du cortex du lapin après l'arrêt de traitement pendant deux semaine. Vue générale (A) . (G×10,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 45 |
| Figure 38 : Coupe transversale au niveau du foie après l'arrêt de traitement pendant deux semaine. Vue générale (A) . (G×10,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 46 |
| Figure 39: Coupe transversale au niveau du médulla après l'arrêt de traitement pendant trois semaine. Vue générale (A),détail (B) . (G×10, G×40,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... | 47 |

Figure 40: Coupe transversale au niveau du cortex après l'arrêt de traitement pendant trois semaine. Vue générale (A),détail (B) . (G×10, G×40,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... 47

Figure 41: Coupe transversale au niveau du foie après l'arrêt de traitement pendant trois semaine. Vue générale (A) . (G×10,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... 48

Figure 42: Coupe transversale au niveau du veine centrolobulaire après l'arrêt de traitement pendant trois semaine. Vue générale (A),détail (B) . (G×10, G×40,fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin)..... 48

Liste des abréviations

ATP L'adénosine triphosphate

AH L'anse de Henlé

ALP Alcaline phosphatase

Ca²⁺ calcium

Cl⁻ chlore

e⁻ électrons

EGb 761 Extrait De Ginkgo Biloba

eNOS Endothéliale Du Monoxyde D'azote

Eb L'espace de bauman

Ep Espace porte

Fc Fibres de collagene

G. biloba Ginkgo biloba

GKA GinkgolideA

GKB GinkgolideB

GKC Ginkgolide C

G Glomerules

GR Globule rouge

Gv Glomérule vide

H⁺ Proton

HCO₃ Bicarbonate

i Activité inflammatoire

K⁺ potassium

Mg²⁺ magnésium

N₂ Azote

NOS l'oxyde nitrique synthase

NO₃⁻ Nitrate

NO₂⁻ Nitrite

NO Oxyde nitrique

P Paranchyme

ROS Espèces réactives d'oxygène

SOD Superoxyde dismutase

TC Tubes collecteurs

T Tubules

TGO Transaminase Glutamo-oxalo-acétique

TGP Transaminase glutamopyruvique

VC Veine Controlobulaire

XVIII ème 18eme Siècle

INTRODUCTION

Introduction

Le ginkgo biloba est un arbre d'origine orientale, leurs feuilles et graines utilisé comme un traitement de l'asthme, de la bronchite, de la tuberculose, des dysfonctionnements cognitifs, des maux d'estomac. Les feuilles de ginkgo biloba contiennent plusieurs éléments bioactifs [1]. Comme les acides organiques, les glucides, les acides gras et les lipides, les sels inorganiques et les acides aminés [2], flavonoïdes, tanins, ginkgolides A, B et C et le déterpène qui agissent comme un antioxydant, anti-inflammatoires et vasodilatatrice [3].

Le foie est parmi les organes qui ont une grande importance dans le fonctionnement du corps, qui joue un rôle central et multiple dans nombreux processus physiologiques. Le foie à des nombreuses fonctions vitales endocrine et exocrine. il joue aussi un rôle important dans la détoxification des médicaments et des substances toxiques [4]. Les maladies du foie, notamment la fibrose, la cirrhose, l'hépatite et l'hépatocarcinome, soient les principaux facteurs de morbidité et de mortalité [5].

Les reins sont aussi parmi les organes qui ont une importance dans le fonctionnement du corps, qui assurent les principales fonctions du système urinaire, ils assurent la régulation de la pression artérielle et l'excrétion des déchets et des substances étrangères [6].

Dans notre étude, nous avons essayé le mécanisme d'action des nitrites dans les altérations hépatique et rénale (inflammation et fibrose) observé lors de l'administration du nitrite de sodium et l'effet de l'extrait de ginkgo biloba (tanakan) qui possède des caractères antioxydants ayant la capacité d'empêché les voies d'action de nitrite de sodium et donc empêché le nitrite et exercé ses effets délétères. Pour mettre en évidence ce bute des études histologiques ont été réalisé après l'expérimentation.

CHAPITRE 01 :

NITRITE

1 Nitrites

Il existe deux sources principales de nitrate et de nitrite dans le corps. La voie l-arginine-NOS est une source majeure par l'oxydation rapide de l'oxyde nitrique en nitrite et nitrate. L'autre source majeure de nitrate et de nitrite est notre alimentation quotidienne (les légumes et la viande séchée) [7].

2 La reminéralisation de l'azote

La majeure partie de l'azote organique fixé dans l'océan est restituée sous forme de nitrate par le processus de reminéralisation. Cette régénération de l'azote minéral se produit en trois étapes : l'ammonification, l'oxydation de l'ammonium et l'oxydation du nitrite; les deux dernières étapes sont combinées dans ce qu'on appelle la nitrification. (figure.1)[8].

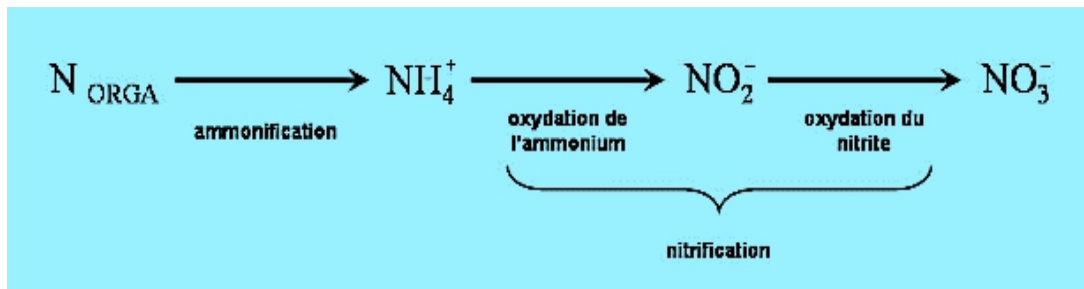


Figure 1: Les étapes de la reminéralisation de l'azote organique en nitrate [11].

Les trois réactions séquentielles de reminéralisations du nitrate et nitrite peuvent s'écrire de la façon suivante :

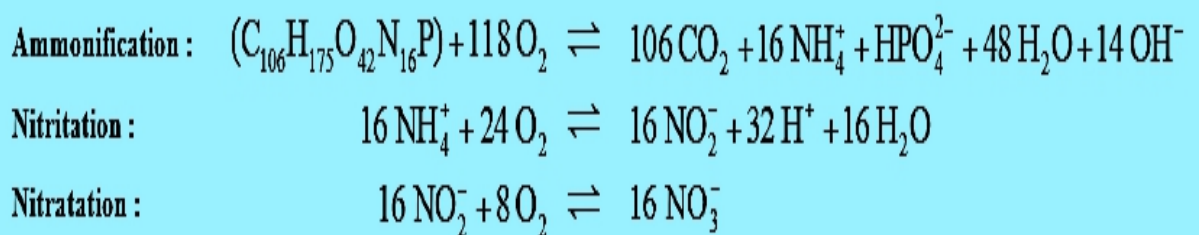


Figure 2: Les trois réactions séquentielles de reminéralisation du nitrate et nitrite [11].

Ammonification : Transformation d'azote organique en NH_4^+ .

Nitritation : oxydation de l'ammonium pour donner NO_2^- .

Nitratation : oxydation du nitrite.

La dénitrification (figure. 3) est le processus majeur de perte d'azote par voie gazeuse dans les sédiments et, d'une manière générale, le processus complet peut s'exprimer sous forme d'une réaction redox équilibrée, par laquelle le nitrate (NO_3^-) est entièrement réduit sous forme d'azote N_2 [11]:

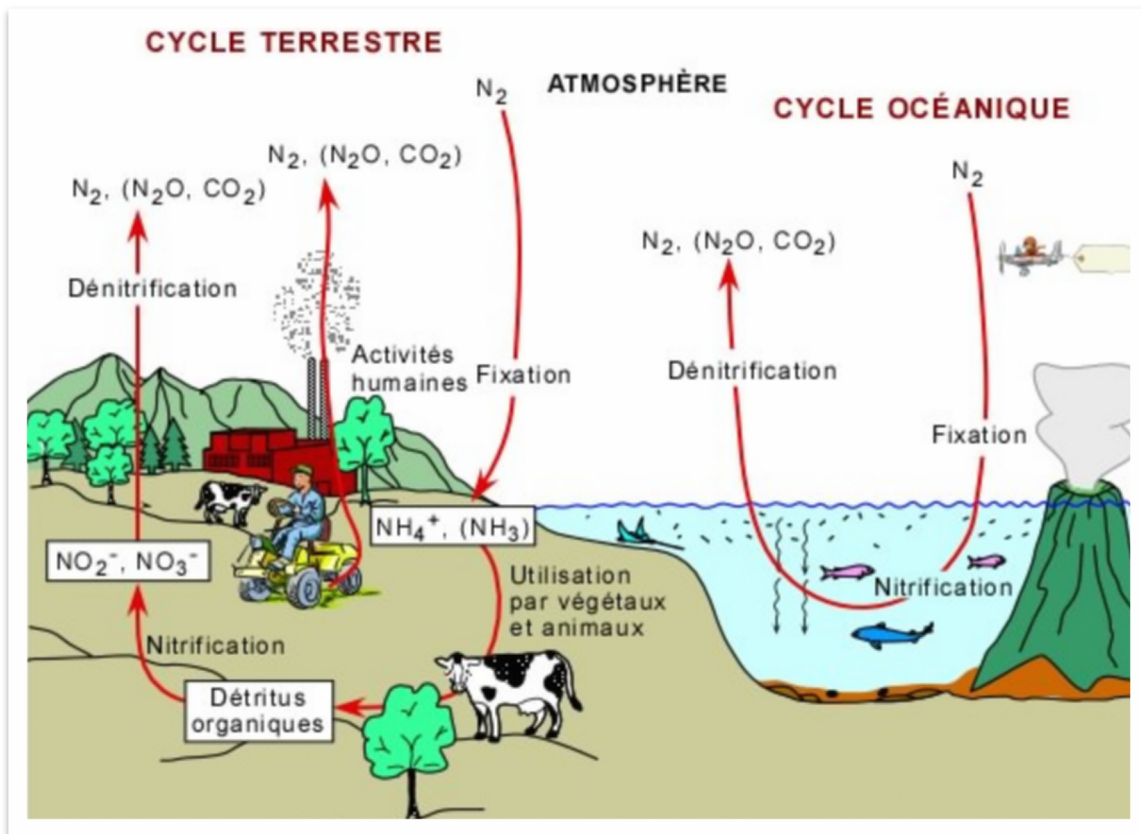


Figure 3: Cycle d'azote [9].

3 Formation et recyclage de nitrate et nitrite en oxyde nitrique (NO) :

En présence d'oxygène, l'oxyde nitrique synthase endothéliale (eNOS) catalyse l'oxydation de la L-arginine en NO. Le NO peut également être rapidement oxydé en nitrite et en nitrate (figure.4). Une source secondaire de NO vasculaire est procurée par l'alimentation. Il a été démontré que la consommation d'aliments riches en nitrate inorganique (légumes verts à feuilles, betterave) augmente la concentration de nitrate plasmatique, qui peut être sécrété dans la salive et réduit en nitrite par les bactéries commensales présentes dans la bouche. En bref, une fois le nitrate consommé, il est absorbé dans le tractus gastro-intestinal supérieur et entre dans la circulation. Alors qu'une grande partie du nitrate est excrétée, une petite proportion est activement absorbée par la glande salivaire et concentrée environ 20 fois

dans la salive. Une fois dans la salive, les bactéries commensales de la cavité buccale réduisent le nitrate en nitrite. Conformément au rôle central des bactéries commensales dans cette voie [10], le nitrite peut ensuite être réduit en NO par plusieurs mécanismes qui sont accélérés dans des conditions hypoxiques. Par conséquent, bien qu'une partie des nitrates et nitrites circulants soient excrétés par les reins, ils peuvent également être recyclés en NO [11].

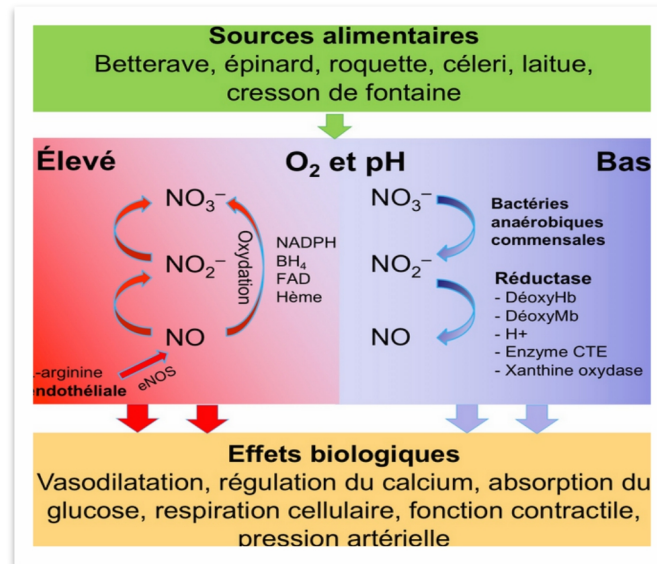


Figure 4: Formation et recyclage des nitrates (NO_3^-), nitrites (NO_2^-) et de l'oxyde nitrique (NO) [14].

4 Effets de nitrite sur l'organisme

4.1 Mitochondrie comme régulateurs de la concentration nitrite

La fonction mitochondriale fait partie intégrante du maintien de l'homéostasie cellulaire par la production d'ATP, la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) comprenant du monoxyde d'azote (NO) pour la signalisation et la régulation de la cascade apoptotique. Le nitrite, un métabolite du NO, a récemment été décrit comme une réserve endocrinienne de NO qui est réduite en NO biodisponible pendant l'hypoxie pour médier les réponses physiologiques. Les données suggèrent que les mitochondries peuvent jouer un rôle dans le métabolisme du nitrite et que le nitrite est un régulateur de la fonction mitochondriale [12].

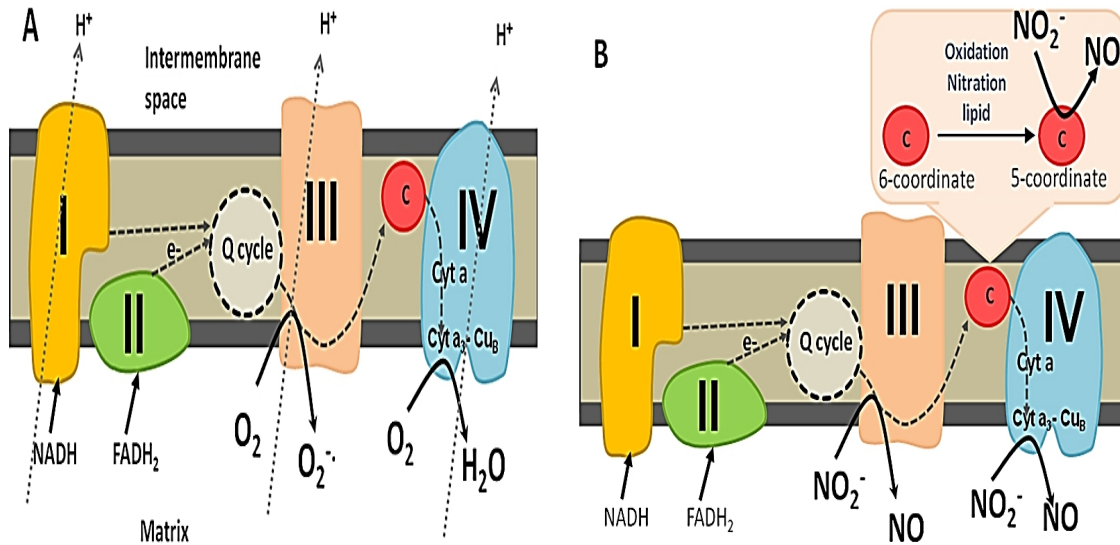


Figure 5 : Sites de mitochondries de la réduction des nitrites [15].

Durant la normoxie, les électrons entrent dans la chaîne respiratoire au complexe I ou II et sont acheminés à travers le cycle Q vers le complexe III. Alors que la plupart des électrons sont ensuite acheminés vers le cytochrome c puis vers le complexe IV, où l'oxygène se lie au centre bi nucléaire (cyt_a Cu_B) et agit comme accepteur d'électrons terminal, certains électrons s'échappent au complexe III pour générer du super oxyde. Les protons sont pompés de la matrice vers l'espace inter membranaire à travers les complexes pour établir un gradient de protons pour la génération d'ATP (figure.5, A). Pendant l'hypoxie, le nitrite peut être réduit au complexe III ou au cytochrome c oxydase (complexe IV). Si le cytochrome c est converti en sa forme penta coordonnée (par oxydation, nitration ou association avec un lipide anionique), il peut agir comme un site de réduction des nitrites (figure.5, B) [13].

4.2 Autres effets :

- Le nitrite ne provoque pas de cancer chez les animaux de laboratoire, mais une légère augmentation de son pourcentage provoque une tumeur [14]. L'effet des nitrates sur la fonction thyroïdienne peut être important si une carence nutritionnelle en iode existe simultanément [15].
- Une association entre les concentrations élevées de nitrates dans l'eau de boisson et l'incidence du goitre [18].

5 Utilisation

Les nitrites sont utilisés comme :

- Colorant et agent de conservation des aliments. C'est le cas des viandes et dérivés dans lesquels le nitrite de sodium est ajouté non seulement pour la salaison, mais aussi pour préserver la couleur rouge de l'hémoglobine qui autrement serait oxydée pour devenir brune.
- Dans la manufacture des teintures et du caoutchouc, dans l'industrie textile et photographique.
- Ils servent aussi d'inhibiteur de corrosion et d'antidote dans des cas d'empoisonnement au cyanure.
- Dans l'industrie, ils sont utilisés pour transformer des amines en sels de diazonium qui sont des colorants organiques [16].

CHAPITRE 02 :
GINKGO BILOBA

1 Plante et classification

1.1 Plante



Figure 6:Ginkgo biloba [17].

Le Ginkgo biloba, arbre dioïque à feuilles caduques est le seul survivant d'un ordre largement représenté jusqu'à la fin de l'ère tertiaire. D'origine orientale, il est caractérisé par des organes reproducteurs particuliers et par un fruit d'odeur nauséabonde (un ovule fécondé à arille pulpeuse). Il a été introduit en Europe au début du XVIII-ème siècle et il est cultivé en Corée, en Chine, dans le sud-ouest de la France et aux Etats-Unis [18].

1.2 Classification

1.2.1 Nom commun

Le Ginkgo biloba comme beaucoup de végétaux peut se reconnaître sous différentes dénominations, comme l'arbre aux quarante écus, ou l'arbre aux mille écus. Ce nom est inspiré de la couleur jaune vif que prendront ses feuilles lorsque l'automne arrivera puis lorsque celle-ci tombent, elles forment un tapis jaune d'or à son pied. De façon plus ponctuelle, il peut être présent sous le nom de noyer du Japon ou encore l'abricotier d'argent ou sous le diminutif de ginkgo.

1.2.2 Nom botanique

Cette plante appartient :

- ✓ La classe des Gymnospermes,

- ✓ L'ordre des Ginkgoales, A
- ✓ La famille des Ginkgoaceae,
- ✓ Genre Ginkgo,
- ✓ L'espèce Ginkgo biloba.

On peut noter que le Ginkgo biloba est l'unique représentant de son ordre de son genre et de la famille des Ginkgoaceae [19].

2 Eléments actifs

Les feuilles contiennent des lactones terpénoïdes comme les ginkgolides A, B et C, des sesquiterpènes lactones comme les bilobalides, des flavonoïdes, des tanins, des acides organiques comme l'acide ginkgolique et des lignanes. [20].

2.1 Flavonoïdes

Les flavonols et flavones sont les molécules les plus nombreuses retrouvées dans toutes les familles botaniques. La génine dérive du noyau phényl-gammabenzopyrone sur lequel sont fixés plusieurs groupements hydroxyles phénoliques. On y retrouve le kaempférol, le quercétol, le myricétol ou encore le fisétol. L'hétéroside est le rutoside encore nommé la rutine ou la sophorine, c'est lui qui possède une forte activité anti-oxydante, il piège les radicaux libres.

Les flavonoïdes être des puissants antioxydants et des récupérateurs radicaux menant à une diminution des niveaux de tissus des espèces réactives d'oxygène (ROS) et l'inhibition de l'oxydation des lipides membranaires [21].

2.2 Diterpenes: ginkgolides A, B, C

Les ginkgolides (figure.7) sont l'un des ingrédients médicinaux importants de Ginkgo biloba. Beaucoup d'études ont vérifié que les ginkgolides ont des effets anti-plaquettes-activateur, anti-apoptotique, antioxydant, neurotrophique, et neuroimmuno modulateurs [22].

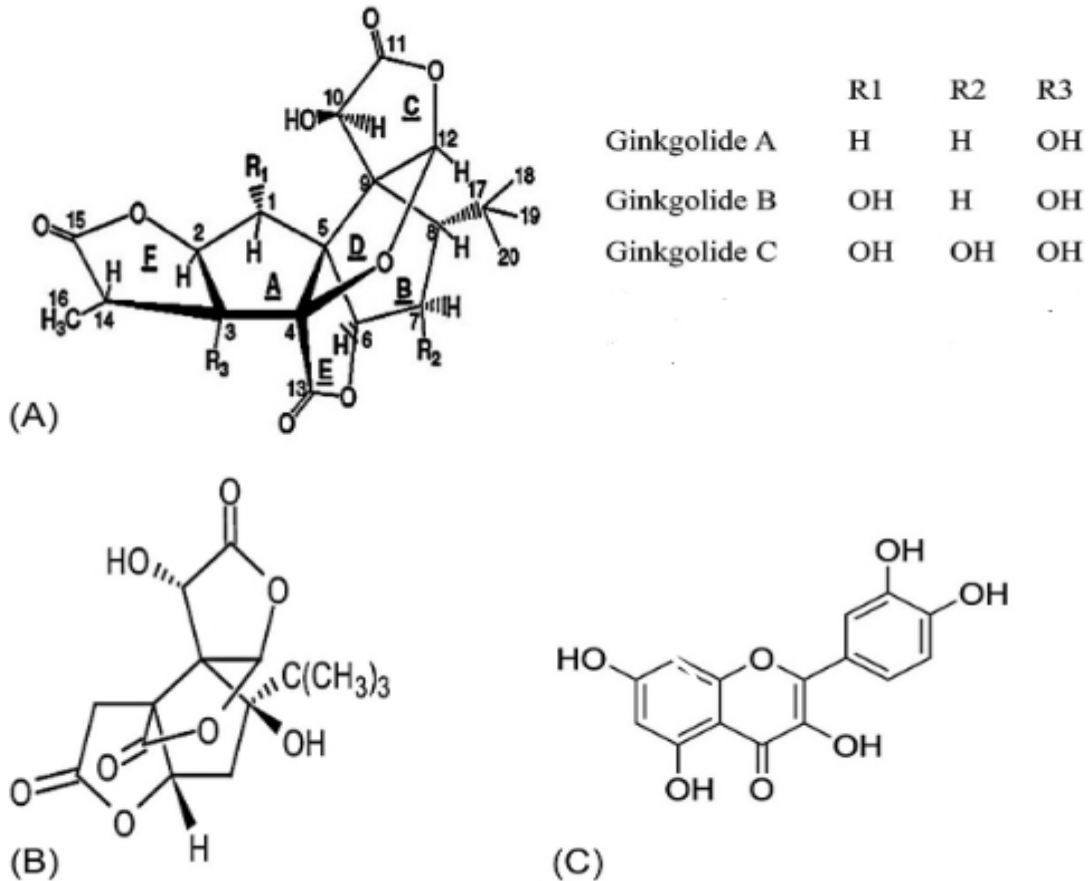


Figure 7: Structure de diterpène : ginkgo A, B, C [23].

2.3 Tanins

Ce sont des substances d'origine végétale, des métabolites secondaires des plantes et de structures poly-phénoliques, ayant un poids moléculaire élevé. Ils sont solubles dans les solvants polaires comme les solutions aqueuses ou l'alcool, leur solubilité est plus importante à chaud qu'à froid ou encore quand leur degré de polymérisation diminue.

Leur affinité pour les protéines notamment les fibres de collagène présentes dans la matrice extracellulaire de l'organisme animal [24].

Les tanins sont appréciés pour leurs propriétés astringentes, défensives contre certains parasites et vasoconstrictives, et un effet anti diarrhéique et cicatrisants.

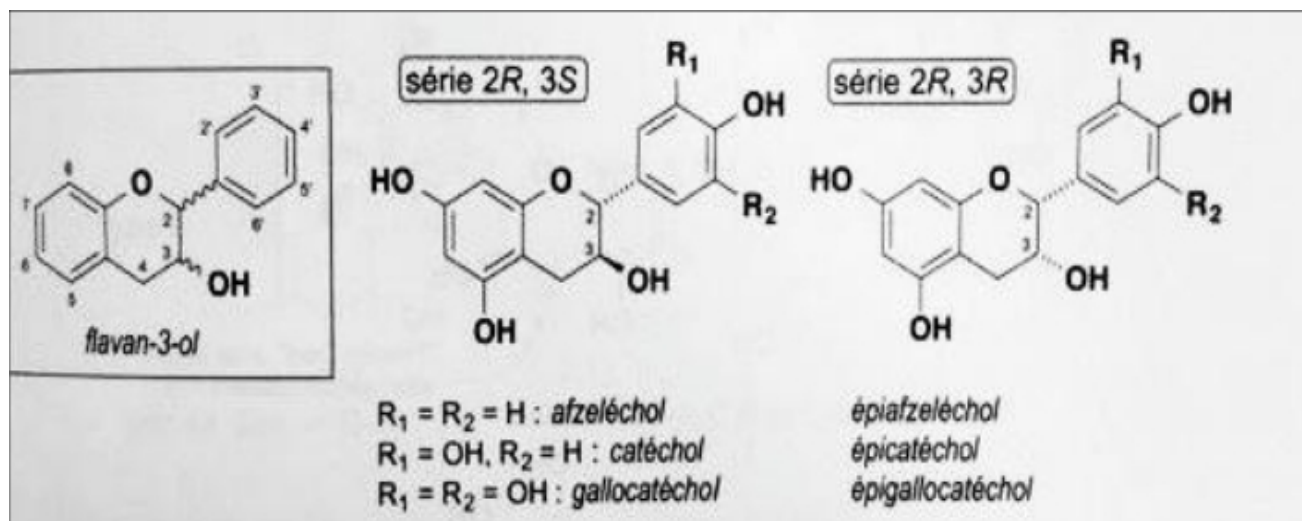


Figure 8: Tanins condensés [27].

Il existe deux principaux extraits standardisés sur le marché qui sont utilisés dans la plupart des études de laboratoire présentées par la suite. L'EGb 761 qui est constitué de 24% de ginkgolides et 6% de terpénoïdes et le LI 1370 constitué de 25% de glycosides flavonoïdes et 6% de terpénoïdes [23].

3 Effets de Ginkgo biloba

Effet pharmacologique

G. biloba est utilisé en médecine traditionnelle chinoise depuis de nombreuses années pour le traitement de l'asthme, de la bronchite, de la tuberculose, des dysfonctionnements cognitifs, des maux d'estomac, etc. et a été testé et cliniquement jugé efficace comme complément alimentaire et médicament. Pour l'amélioration de la mémoire, le traitement ou la prévention de la maladie d'Alzheimer et d'autres troubles neurologiques [25], il a une action sur tout le système circulatoire. Il a une activité anti-inflammatoire, il soulage les douleurs liées aux crises hémorroïdaires et améliore la circulation sanguine [26].

Effet chimique

Ils sont antioxydants et ralentissent les effets inhérents au vieillissement. Ils ont pour effet d'être vasculo-protecteurs, antioxydants (L'extrait de la feuille de Ginkgo peut également améliorer les activités des enzymes antioxydants comme la super oxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase, la catalase et/ou l'hémisphère-oxygénase-1, contribuant ainsi indirectement à la formation d'un antioxydant) [27].

4 Application

Le Ginkgo biloba a été commercialisé dans six spécialités à base de plante : la plupart sous forme de solution buvable (Tanakan, Tramisal, Vitalogink, Ginkogink, et Ginkmongo) ou de comprimé (Ginkgo Biogaran et Tanakan). Appartenant à la classe des vasodilatateurs périphériques, ils sont aujourd'hui autorisés dans :

- Le traitement d'appoint à visée symptomatique du déficit pathologique cognitif et neurosensoriel chronique du sujet âgé.
- Le traitement symptomatique de la claudication intermittente des artériopathies chroniques oblitérantes des membres inférieurs.
- Le traitement d'appoint des baisses d'acuité et troubles du champ visuel présumés d'origine vasculaire.
- Le traitement d'appoint des baisses d'acuité auditive et de certains syndromes vertigineux et/ou acouphènes présumés d'origine vasculaire [28].

CHAPITRE 03 :

LE FOIE

1 Anatomie

Le foie est un organe volumineux qui occupe une partie importante de l'abdomen du lapin. Classiquement le foie est divisé en 2 lobes majeurs, droit et gauche, qui sont séparés par une scissure médiane [29].

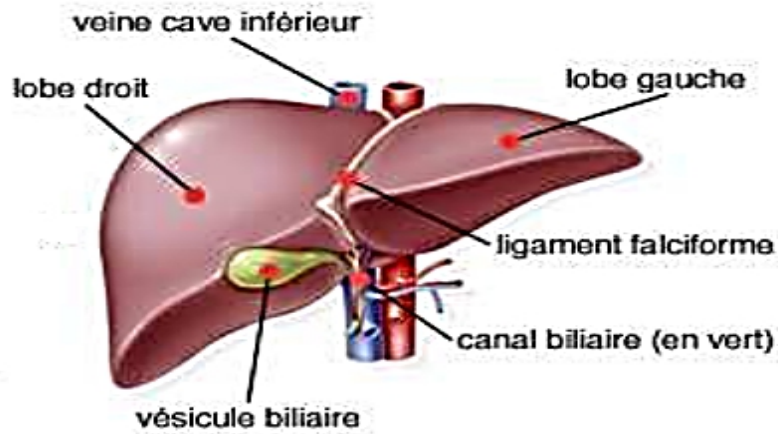


Figure 9: Le foie en vue de face [32].

2 Histologie

2.1 Le lobule hépatique

Cette unité décrit l'organisation structurale des cellules hépatiques. Il se présente comme une structure hexagonale centrée sur une veine Centro lobulaire. Chaque lobule est bordé par une couche mince de tissu de connexion contenant du collagène (figure.10). A chaque angle de l'hexagone, se trouve une triade portale constituée de vaisseaux de la veine porte, de l'artère hépatique et d'un canal biliaire. Le lobule hépatique lui-même est composé de rangées d'hépatocytes orientées de manière radiale et séparées par les sinusoides hépatiques.

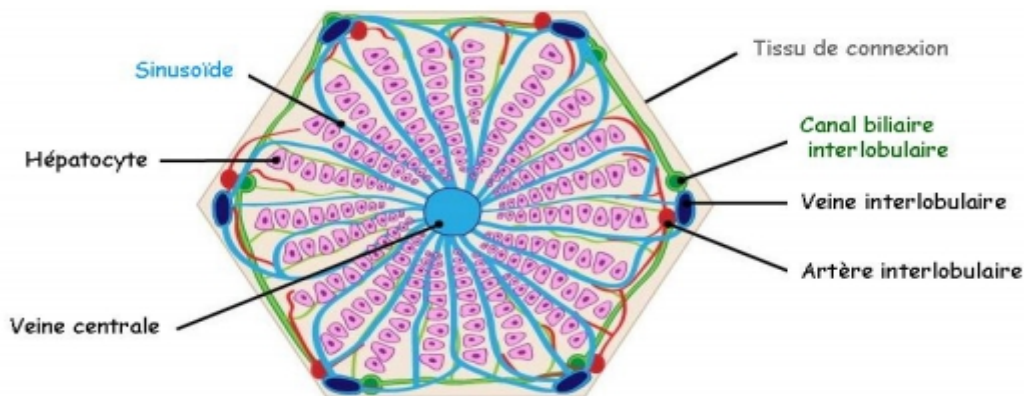


Figure 10: Lobule hépatique [30].

Dans la structure hépatique il existe 3 zone principale sont :

- **La zone I** : elle est composée des six à huit hépatocytes, dits péricapillaires, les plus proches des triades hépatiques. Cette zone correspond à la partie de l'acinus recevant en premier le flux sanguin et ces différentes composantes : l'oxygène, les nutriments et les différentes hormones. C'est donc dans cette zone, la mieux pourvue en oxygène et en nutriments, qu'ont lieu les processus nécessitant le plus d'énergie. Le métabolisme oxydatif y est donc prédominant.
- **La zone II** : cette zone intermédiaire est constituée de six à dix hépatocytes.
- **La zone III** : elle est la plus éloignée des triades hépatiques. Elle correspond aux deux ou trois hépatocytes, dits péricapillaires, les plus proches de la veine centrale. A ce niveau le niveau d'oxygène est le plus faible. Les processus réductifs y sont donc prédominants [33].

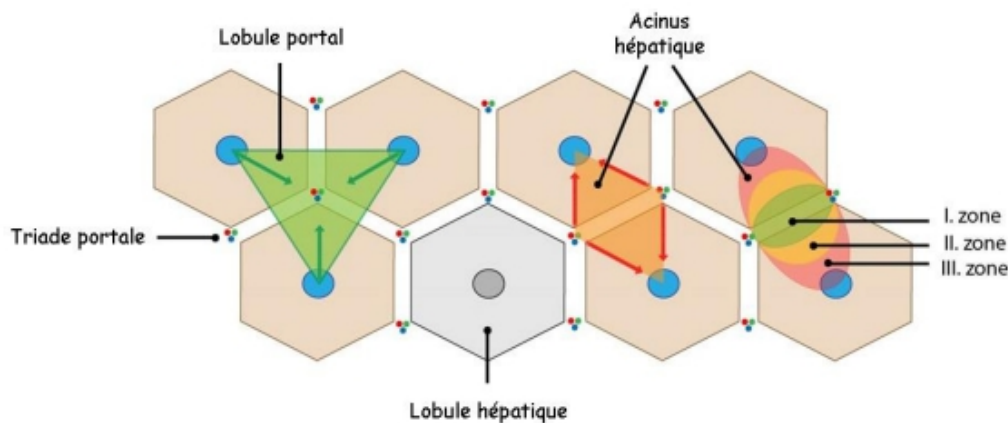


Figure 11: Organisation structurelle et fonctionnelle du foie [33].

2.2 L'artère hépatique :

La vascularisation artérielle hépatique est caractérisée par son extrême variabilité. La disposition habituelle est caractérisée par l'atrophie des artères hépatiques droite et gauche, et par une artère hépatique commune moyenne née du tronc coeliaque qui, après la naissance de l'artère gastroduodénale, prend le nom d'artère hépatique propre. Elle donne deux branches : branche droite et branche gauche de l'artère hépatique. L'artère hépatique propre donne plusieurs collatérales : l'artère pancréaticoduodénale, l'artère pylorique et l'artère cystique [33].

2.3 La veine porte et ses branches

La veine porte amène au foie le sang veineux de la portion sous diaphragmatique du tube digestif, du pancréas et de la rate. Elle naît de la confluence de trois troncs veineux : la veine mésentérique supérieure, la veine splénique et la veine mésentérique inférieure qui se jette le

plus souvent dans la veine splénique pour constituer le tronc spléno-mésaraïque, ce confluent portal est situé à la hauteur de la deuxième vertèbre lombaire un peu à droite de la ligne médiane. Au niveau du hile hépatique la veine porte se divise en deux branches qui pénètrent à l'intérieur du parenchyme hépatique et s'y ramifient en :

- Une branche droite courte dont la direction continue celle du tronc principal.
- Une branche gauche longue qui s'en écarte presque à angle droit et chemine dans le hile avant de pénétrer dans le foie.

Au cours de son trajet, la veine porte reçoit des collatérales : la veine coronaire stomachique, la veine pylorique, la veine pancréatico-duodénale supérieure droite et les veines cystiques [33].

3 Cellules du foie

3.1 Cellules épithéliales (hépatocytes)

Représentant 60% du nombre total des cellules du foie et 80% de la masse hépatique, les hépatocytes sont des cellules d'environ 30µm de diamètre, mono- ou binucléées, le degré de ploïdie évoluant avec l'âge. Ils sont impliqués dans un grand nombre de fonctions hépatiques comme le métabolisme, la synthèse ou encore le stockage et sont polarisées selon trois pôles assurant des fonctions particulières :

- Le pôle sinusoïdal est situé au niveau de la face basolatérale de l'hépatocyte et est en contact avec la matrice extracellulaire de l'espace de Disse (espace situé entre les hépatocytes et les vaisseaux sanguins) et les cellules endothéliales des sinusoïdes. Les villosités de la membrane plasmique à ce pôle augmentent la surface d'échange avec le sang assurant ainsi la sécrétion et l'absorption d'hormones et d'autres métabolites.
- Le pôle biliaire ou apical permet quant à lui la sécrétion des acides biliaires dans les canalicules biliaires. Ces derniers dans lesquels est déversée la bile ne possèdent pas de membrane propre mais consistent en un sillon ménagé entre les membranes plasmiques de deux hépatocytes adjacents au sein d'une même travée. Ils constituent le point de départ du système de collecte et d'évacuation de la bile.
- Le pôle latéral assure la cohésion entre les hépatocytes voisins par le biais de jonctions intermédiaires et serrées et les échanges inter-hépatocytaires par la présence de jonctions de type gap.

3.2 Les cellules endothéliales sinusoidales du foie

Ce sont des cellules spécialisées qui séparent les hépatocytes et les cellules étoilées hépatiques du sang provenant de l'intestin et du tissu adipeux viscéral et peuvent acquérir de nouvelles propriétés pro-inflammatoires et stimulantes de la fibrose [33].

4 Les différentes fonctions hépatiques :

4.1 Un rôle d'épurateur :

Le foie est l'organe central de détoxification permettant à l'organisme d'éliminer des substances endogènes ou exogènes (dites xénobiotiques). Alors que les substances hydrosolubles peuvent être directement éliminées par les reins, les substances lipophiles doivent au préalable être transformées par le foie.

Classiquement ce processus de transformation est divisé en trois grandes phases et a lieu au niveau des hépatocytes : la phase I permet l'hydroxylation du composé à éliminer, la phase II la conjugaison de ce dernier avec une protéine. Ces deux étapes permettent de transformer le composé souvent très hydrophobe en une molécule hydrosoluble plus facile à éliminer. La phase III consiste en l'excrétion active de ce dernier, à l'aide de transporteurs transmembranaires, soit dans le flux sanguin afin d'être éliminé au niveau rénal, soit dans la bile pour être éliminé via les fèces, après sécrétion de la bile au niveau de l'intestin [31].

4.2 Un rôle dans le système immunitaire :

Comme décrit précédemment, les deux tiers de l'afflux sanguin hépatique provient de la veine porte après être passé au niveau de nombreux organes dont l'intestin. Le sang est donc porteur de nombreux antigènes issus notamment des nutriments. Le foie contient de nombreuses cellules du système immunitaire inné, les cellules de Kupffer, les cellules dendritiques et les cellules NK (naturel killer). Le foie constitue donc une de premières lignes de défense immunitaire, après l'intestin, contre les différents pathogènes et toxines. Il permet également de mettre en place un seuil de tolérance contre les antigènes issus de l'alimentation [32].

4.3 Un rôle de stockage et de production :

Le foie stocke de nombreux composés, par exemple le fer ou des vitamines. Les composés stockés par le foie sont ensuite libérés dans la circulation selon les besoins de l'organisme. Le foie est également un organe où a lieu la synthèse d'un grand nombre de protéines utiles à l'ensemble de l'organisme. Ainsi, la majorité des protéines circulant au niveau sanguin est produite et sécrétée par le foie : il s'agit notamment des différentes protéines «cargos» plasmatiques telles que l'albumine, la transferrine, les lipoprotéines mais aussi des protéines

reliées au système immunitaire telles que le complément, ainsi que la plupart des facteurs impliqués dans la régulation de la coagulation [36]. Du fait de ses capacités de stockage et de synthèse, le foie a un rôle clef dans la régulation du métabolisme énergétique de l'organisme. Il adapte son action selon le statut nutritionnel de celui-ci et est la plaque tournante connectant différents tissus tels que le muscle squelettique et le tissu adipeux [34].

CHAPITRE 04 :

LE REIN

1 Anatomie du rein

Les reins sont au nombre de deux. Leur forme est comparable à celle d'un haricot à deux faces lisses, antérieure et postérieure et à deux bords l'un externe convexe et l'autre interne concave. Ils ont deux extrémités, l'une supérieure et l'autre inférieure les deux reins sont appliqués sur la paroi abdominale postérieure, en arrière du péritoine, l'un à droite, l'autre à gauche de la colonne vertébrale, chaque rein est orienté obliquement en bas et latéralement. Le rein présente une échancrure au niveau du hile où pénètre l'artère rénale et naît la veine rénale et le bassinet.

Si l'on coupait un rein en deux (comme illustré dans la figure 12), deux régions distinctes seraient révélées :

- Une partie extérieure superficielle, rougeâtre, de texture lisse, appelée cortex rénal
- Une région interne profonde, d'un brun rougeâtre, appelée zone médullaire [33].

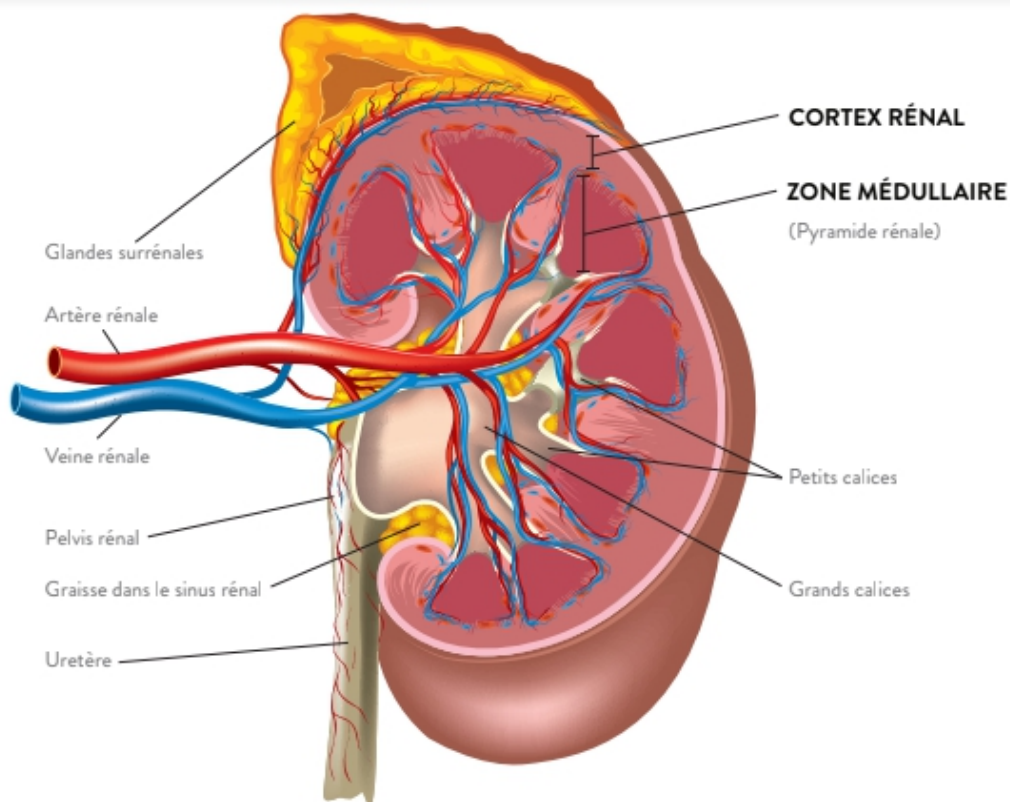


Figure 12: Anatomie interne des reins [34].

2 Histologie des reins

2.1 Cortex rénal

Le cortex rénal fait référence à la zone de texture lisse qui s'étend de l'extérieur (capsule rénale) aux bases des structures striées de forme conique appelées pyramides rénales et dans les espaces entre les deux. La capsule rénale est la membrane qui recouvre la surface du rein [37].

2.2 Zone médullaire

La zone médullaire se compose de 8 à 18 pyramides rénales. La base de chaque pyramide fait face au cortex rénal, et le sommet de chaque pyramide, appelé papille rénale, est orienté vers le hile rénal (la zone du rein d'où sortent l'uretère, les vaisseaux sanguins, les vaisseaux lymphatiques et les nerfs). Les parties du cortex rénal qui s'étendent entre les pyramides rénales sont appelées colonnes de Bertin. Un lobe rénal se compose des éléments suivants :

- Une pyramide rénale
- La zone recouvrant le cortex rénal
- La moitié de chaque colonne de Bertin [38].

2.3 Néphron

Le cortex rénal et la zone médullaire constituent ensemble la partie fonctionnelle du rein, appelée parenchyme.

Le parenchyme contient environ un million structures microscopiques appelées néphrons, qui sont les unités de filtration du rein.

Chaque néphron se compose de deux parties (figure.13)

- Un corpuscule rénal
- Un tubule rénal

Un corpuscule rénal se compose du glomérule (un réseau capillaire) et de la capsule (de Bowman) du glomérule, cupule épithéliale à double paroi qui entoure les capillaires glomérulaires. Cette configuration crée une membrane de filtration fine et poreuse, ce qui permet le passage de l'eau et de petits solutés, mais empêche la filtration de la plupart des protéines plasmatiques, cellules sanguines et plaquettes. Le liquide filtré passe dans le tubule rénal.

Le tubule rénal se compose de trois parties principales, qui sont (dans l'ordre dans lequel le liquide passe):

- Le tubule contourné proximal (fixé sur la capsule glomérulaire)
- L'anse de Henlé (segment du néphron)

- Le tubule contourné distal [38].

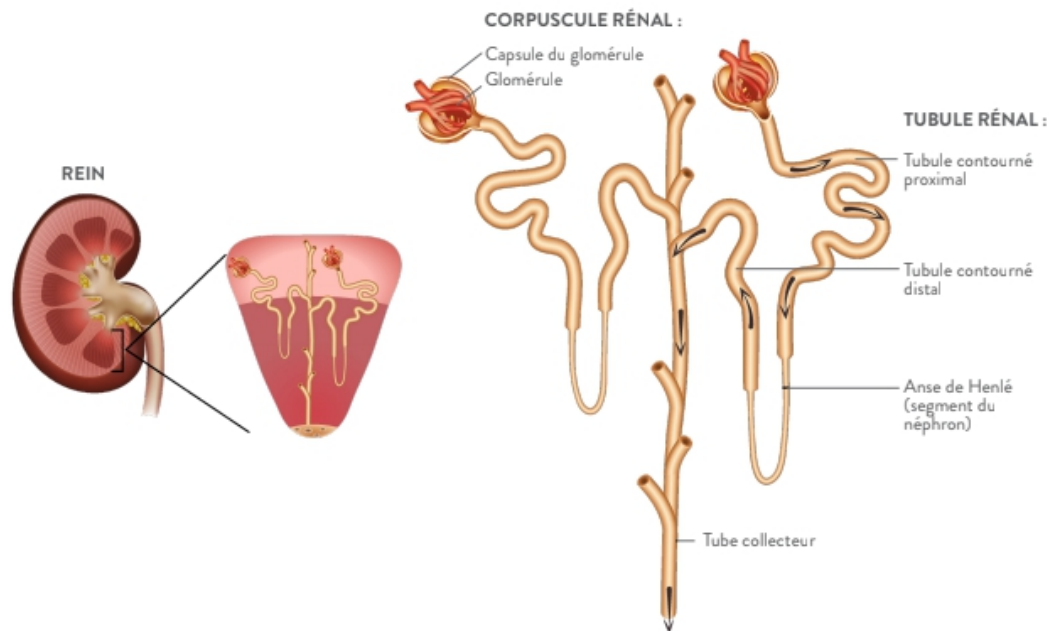


Figure 13: Les composants fonctionnels d'un néphron [35].

2.4 Les tubules contournent proximaux

Le tubule contourné proximal est fixé sur la capsule glomérulaire et est la première structure à travers laquelle passe le liquide. Les tubules contournés proximaux réabsorbent la plus grande quantité de solutés et d'eau du liquide filtré.

Les substances réabsorbées incluent le glucose, les acides aminés, l'acide lactique, les vitamines hydrosolubles, et des ions du type Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , HCO_3^- et HPO_4^- . En même temps, les déchets produits tels que le NH_4^+ , l'urée et de petites quantités de créatinine sont sécrétés dans les urines [38].

2.5 Anse de henlé

L'anse de Henlé connecte les tubules contournés proximaux et distaux. La branche descendante de cette structure pénètre dans la zone médullaire. Elle fait ensuite un virage en épingle et remonte vers le cortex rénal. Environ 80 à 85 % des néphrons se trouvent dans la partie externe du cortex rénal. Les autres 15 à 20 % de néphrons sont enfouis dans le cortex. Une quantité supplémentaire d'ions et d'eau filtrés est réabsorbée par l'anse de Henlé [38].

2.6 Tubules contournes distaux

La résorption du reste des ions de type Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} et de l'eau se poursuit lorsque le liquide s'écoule le long du tubule contourné distal. Au moment où le liquide atteint l'extrémité

du tubule contourné distal, 90 à 95 % des solutés et de l'eau filtrés sont revenus dans la circulation sanguine. Les substances restantes qui n'ont pas été réabsorbées sont excrétées dans les urines [38].

3 Fonctions du rein

Le rein assure plusieurs fonctions essentielles pour l'organisme :

- D'une part, il épure l'organisme de ses déchets endogènes [produits du catabolisme : urée, ammoniac...] ou exogènes [toxiques, médicaments, pesticides...].
- D'autre part, il joue un rôle crucial dans l'homéostasie du milieu intérieur car il assure le maintien de l'équilibre de l'eau et de nombreux ions et solutés [sodium, potassium, calcium, phosphore, protons...], ce qui permet, entre autres, le contrôle du pH et de la pression sanguine.
- Les cellules rénales produisent de l'érythropoïétine qui stimule la prolifération et la différenciation des érythrocytes au niveau de la moelle osseuse hématopoïétique ainsi que la synthèse d'hémoglobine.
- Le rein est également un site de production majeur de la rénine, une enzyme impliquée dans la voie de synthèse de l'angiotensine II, un puissant vasoconstricteur.
- Il joue ainsi un rôle important dans la régulation de la pression systémique sanguine.
- Participe à la régulation hormonale du métabolisme phosphocalcique. La fonction endocrine du rein n'est pas encore totalement élucidée, la recherche découvre encore des nouveaux facteurs sécrétés par le rein impliqué dans l'homéostasie de l'organisme. On peut citer l'exemple de la rénalase découverte en 2005 (une monoamine oxydase sécrétée, dont l'un des sites de production majeurs du rein. Elle est impliquée dans la dégradation de dopamine, l'épinéphrine et la norépinéphrine et semble ainsi être impliquée dans le contrôle de la pression et la fonction cardiaque) [36].

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1 Matériel biologique

1.1 Les animaux

Notre étude a été réalisée sur Vingt-quatre (24) lapins de la race néo-zélandais de sexes mâle et femelle de la région locale (wilaya de Tébessa). Les lapins pesant entre 1970 et 3100g au début de l'expérimentation, ces animaux sont mis chaque un par cage dans l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université Larbi Tebessi, pendant la durée de l'expérimentation (9 semaines)



Figure 14: Lapin de race néo-zélandais.

1.2 Produits administrés

Dans ce travail, nous avons utilisé deux produits le Nitrite de Sodium NaNO_2 sous forme de sel et le Tanakan :

- **Nitrite de sodium NaNO_2**

Le nitrite de sodium NaNO_2 se présente sous la forme d'une poudre blanche ou légèrement jaunâtre, hygroscopique, inodore, à saveur salée.



Figure 15: Nitrite de Sodium

- **Tanakan**

Le Tanakan est un extrait de Ginkgo biloba standardisé (EGb 761) titré à 24% des hétérosides de ginkgo et 6% de ginkgolides-bilobalides.

Tanakan solution buvable :

1 ml de solution contient 40 mg d'extrait sec de feuilles de Ginkgo biloba L. composé de :

- Ginkgolides A, B, C (1,1 à 1,4 mg).
- Bilobalide. (1,0 à 1,3 mg).
- Flavonoïdes exprimés en glycosides de flavone (8,8 à 10,6 mg).

1.3 Matériels de laboratoire

Afin d'analyser les échantillons, on a eu recours au matériel suivant:

- ❖ Microscope muni des objectifs (10x4, 10x10, 10x40, 10x100objectif a immersion).
- ❖ Lames et lamelles.
- ❖ Microtome (LEICA).
- ❖ Agitateur.
- ❖ Etuve.
- ❖ Plaque chauffante (MEDAX).
- ❖ Barre de Leuckart.

1.4 Réactifs

- ❖ Formol Liquide.
- ❖ Alcool (à 100°,96°,70°).
- ❖ Eau distillée.
- ❖ Xylène.
- ❖ Paraffine.
- ❖ Colorants (hématoxyline, picroindigocarmin).
- ❖ Baume de Canada.

2 Méthode d'élevage et du traitement

2.1 Description d'élevage

Les lapines sont logées dans des cages métalliques, contient toutes les conditions de vie appropriées. Le poids a été mesuré de façon régulière (au début de l'expérience et après chaque semaine durant tout le traitement). Ils ont libre accès à l'eau et à la nourriture (aliments granulés pour lapins SARL la production locale CEREGRAN).



Figure 16:Nourriture utilisée dans l'élevage.

2.2 Mode de traitement

Après la période de 30 jours d'adaptation, L'ensemble des lapins ont été divisé en quatre groupes. Les lapins ont été gavés avec des gélules contenant 100mg nitrite de sodium /kg du poids corporel du lapin et/ou 20mg de Tanakan /kg du poids corporel pendant neuf semaines.

Groupe 1: Témoin n'a été pas traité par le nitrite de sodium et Tanakan.

Groupe 2: Le traitement a été appliqué par gavage avec des gélules contenant de NaNO_2 (100 mg/Kg) pendant six semaines consécutives, ensuite le traitement a été arrêté. Pendant les trois semaines suivantes, les lapins ont été gardés en observation sans aucun traitement.

Après chaque semaine, trois lapins ont été sacrifiés :

N1: Pendant six semaines, le groupe de trois (3) lapins a été traité avec NaNO_2 uniquement, après une semaine d'arrêt du traitement le groupe a été sacrifié.

N2: Pendant six semaines, le groupe de trois (3) lapins a été traité avec NaNO_2 uniquement, après deux semaines d'arrêt du traitement le groupe a été sacrifié.

N3: Pendant six semaines, le groupe de trois (3) lapins a été traité avec NaNO_2 uniquement, après trois semaines d'arrêt du traitement le groupe a été sacrifié.

Groupe 3: Le traitement a été fait comme le groupe 2 pendant six semaines (avec NaNO_2), ensuite le traitement a été arrêté. Pendant les trois semaines suivantes, les lapins ont été traités avec le Tanakan à 20 mg/Kg.

NT1: Pendant six semaines, le groupe de trois (3) lapins a été traité avec NaNO_2 uniquement suivi d'une semaine de traitement avec du Tanakan seul puis sacrifié

NT2: Pendant six semaines, le groupe de trois (3) lapins a été traité avec NaNO₂ uniquement, suivi de deux semaines de traitement avec du Tanakan seul puis sacrifié.

NT3: Pendant six semaines, le groupe de trois (3) lapins a été traité avec NaNO₂ uniquement, suivi de trois semaines de traitement avec du Tanakan seul puis sacrifié.

Groupe 4 : Pendant trois semaines, les lapins ont gavé du Tanakan seul à 20 mg/Kg.

3 Etude histologique

Dans notre étude, nous avons réalisé une étude histologique afin d'observer l'effet du traitement sur le foie et les reins.

La technique histologique a pour but l'observation microscopique de tissus biologiques. Des coupes très fines de tissu sont réalisées et déposées sur des lames de verre. Pour pouvoir réaliser ces coupes, le tissu doit être durcit ; on le congèle ou on l'inclue dans la paraffine. Les coupes sont en suites fixées, afin de rendre le tissu imputrescible. Puis on colore les coupes pour pouvoir observer les différentes régions au microscope. Enfin, on recouvre d'une lamelle de verre qu'on colle avec le Baume de Canada.

3.1 Prélèvement

Le prélèvement effectué sur un organe (foie, rein) doit se faire aussi délicatement que possible afin de ne pas meurtrir les tissus. Une fois obtenu, ce prélèvement doit immédiatement être immergé dans un grand volume de liquide fixateur.

3.2 Fixation

La fixation a pour but la conservation des structures dans un état aussi proche que possible de leur état vivant, avec arrêt de toutes activités mitotique et enzymatique. Le foie et les reins sont mis pendant 15 jours dans le fixateur (formol).

3.3 Déshydratation

Le but de cette technique est d'éliminer l'eau contenue dans les organes, par un passage du prélèvement dans des bains d'alcool de concentrations croissantes (70°,96°et 100°). Cette étape prépare l'inclusion, vu que la paraffine est hydrophobe.

3.4 Imprégnation

Cette étape signifie le passage du prélèvement dans un liquide intermédiaire afin d'éliminer les traces d'alcool (la paraffine étant non miscible à l'alcool). On utilise dans cette étape d'imprégnation le xylène (deux bains)

3.5 Inclusion

Elle a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion utilisé est la paraffine. Le prélèvement baigne dans de la paraffine fondue (chauffée à 60° C pendant 4h dans une étuve) donc devenue liquide et qui infiltre alors toute la pièce.

3.6 Mise en bloc

Après 4heures d'inclusion, la paraffine liquide est coulée dans un petit moule en métal «barres de Leuckart». Après refroidissement, on se trouve alors en présence d'un bloc de paraffine, dur, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse.

3.7 Confection des coupes histologiques

Le passage du bloc de paraffine dans un microtome permet de réaliser des sections de 5 µm disposées en séries régulières sous forme d'un ruban.

La confection des coupes histologiques comporte alors 3 étapes :

- ✓ L'étalement : de segments de ruban de paraffine sur une lame de verre contenant une eau gélatineuse.
- ✓ Le collage : les lames de verre sont placées sur une plaque chauffante, réglée à une température de 40°C, pendant 15 min.
- ✓ Le séchage de la préparation : en inclinant les lames.

3.8 Déparaffinage

Le déparaffinage consiste, comme son nom l'indique, à éliminer la paraffine, c'est-à-dire le milieu d'inclusion. Les lames sont placées sur une plaque chauffante (de 60°C) pendant 15 min. afin d'obtenir la liquéfaction et donc l'élimination de la paraffine périphérique.

3.9 Réhydratation

La réhydratation permet l'élimination de la paraffine intracellulaire, en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degrés décroissant (100°, 95°,70°), puis dans de l'eau distillée.

3.10 Coloration

Le but de la coloration est d'accentuer les contrastes afin de différencier les différents constituants tissulaires. Les colorations les plus fréquemment utilisées associent deux ou trois colorants différents. Dans notre travail, nous avons utilisé la Coloration de l'hématoxyline-picroindigocarmin, cette coloration se fait de la manière suivante :

1 : Hématoxyline: un bain de 10 min.

2 : Rinçage à l'eau.

3 : Picroindigocarmin : un bain d'une minute.

4 : Alcool 100 : un bain d'une minute.

5 : Xylène: 2 bains successifs d'une minute chacun.

3.11 Montage et Observation microscopique

Les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique 'Baume de Canada' dont l'indice de réfraction est proche de celui du verre.

On obtient, ainsi, une lame histologique prête à être observée au microscope optique.

4 Les altérations microscopique

L'observation microscopique permet de distinguer plusieurs altérations chez les lapins traité.

Dans notre étude, nous avons classé les altérations observées en degré de fibrose et d'inflammation de la manière suivante :

- Degré ,pour l'inflammmation.
- Degré',pour fibrose.

Degré 0 : pas d'inflammation et fibrose.

Degré 1 : inflammation et fibrose minime.

Degré 2 : inflammation et fibrose moyenne .

Degré 3 : inflammation et fibrose intense.

RÉSULTATS

1 Histologie du rein de l'animal témoin

On observe qu'il n'y a pas aucune altération au niveau du cortex ou médulla (ni inflammation ni fibrose). Le cortex (figure.18. A) est structuré en glomérules de Malpighi au niveau desquels se trouvent des capillaires sanguins entouré de l'espace de Bowman et des différentes sections des tubules contournés proximaux et distaux possédant un épithélium intact. La médulla montre les différentes sections ascendantes et descendantes des anses de Henlé (figure.17.B) ainsi que les sections des tubes collecteurs (figure.17.A).

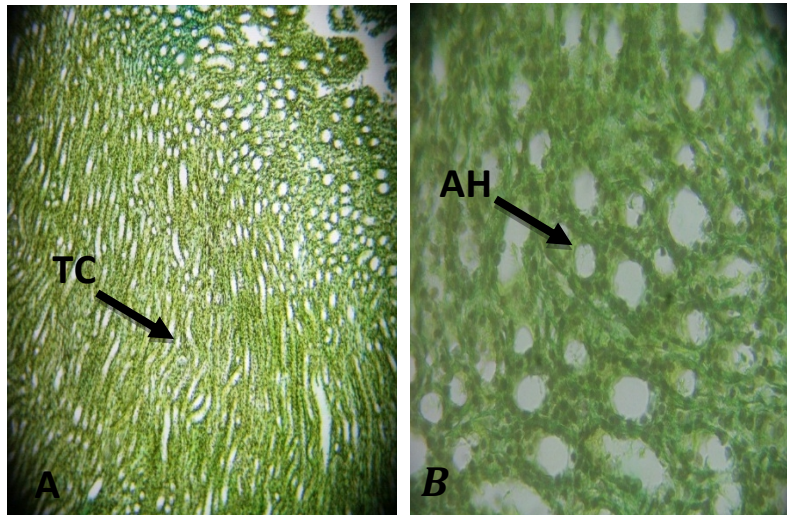


Figure 17: Coupe transversale au niveau du rein du lapin témoin (médulla). Vue générale (A), montre les tubes collecteurs (TC). Détail (B), montre l'anse de Henlé (AH). (G×10, G×40, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

- ❖ Degré =0
- ❖ Degré' =0

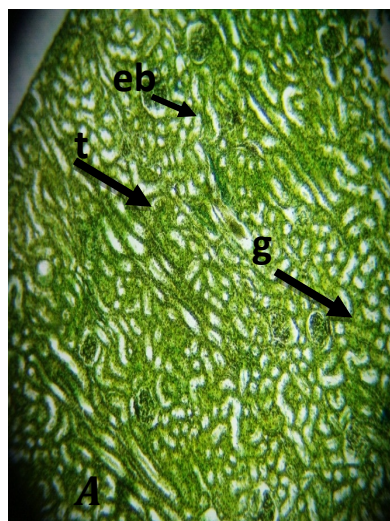


Figure 18: Coupe transversale au niveau du rein du lapin témoin (cortex). Vue générale (A) montre les glomérules (g), l'espace de bauman (eb) et les tubules (t) et. (G×10, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

On observe qui n'y a pas aucune altération au niveau du cortex ou médulla (ni inflammation ni fibrose).

- ❖ Degré =0
- ❖ Degré' =0

2 Histologie du foie de l'animal témoin

On observe qui n'y a pas aucun altération au niveau de parenchyme hépatique (P) organisé en travées de cellules hépatiques, ni au niveau de l'espace porte (Ep) qui comporte l'artère hépatique (figure.19.A), le canal biliaire et la veine porte, ni au niveau de la veine controlobulaire (VC) (figure.19.B). Quelques cellules de Kupffer sont retrouvées au niveau des capillaires sinusoïdes.



Figure 19: coupe transversale au niveau du foie du lapin témoin. Vue générale (A), détail (B). (G×10, G×40, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

On observe qu'il n'y a pas aucune altération au niveau de parenchyme (P), l'espace porte (Ep) « artère, canal biliaire et veine porte », et veine controlobulaire (VC).

- ❖ Degré =0
- ❖ Degré' =0

3 Effet du traitement avec le nitrite de sodium seule après une semaine d'arrêt :

Au niveau de la médulla rénale, on observe que l'un des lapins révèle un détachement des cellules épithéliales au niveau des tubes collecteurs mais ne présente ni inflammation, ni fibrose (degré = 0 degré' =0) (figure.20. A), par contre l'autre lapin présente une intense activité inflammatoire (amas de lymphocytes) au niveau des tubes collecteurs de degré = 3 sans présenter de fibrose (degré' =0) (figure.20. A).



Figure 20: Coupe transversale au niveau du médulla rénale du lapin après l'arrêt de traitement pendant une seule semaine. Vue générale (A). (G×10, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Au niveau du cortex rénale, on observe que les deux lapins répondent de la même manière (aucune altération au niveau des tubules, ni inflammation ni fibrose), degré=0 degré'= 0. par contre l'autre lapin révèlent une inflammation au niveau des tubules, degré=1 degré'= 0.

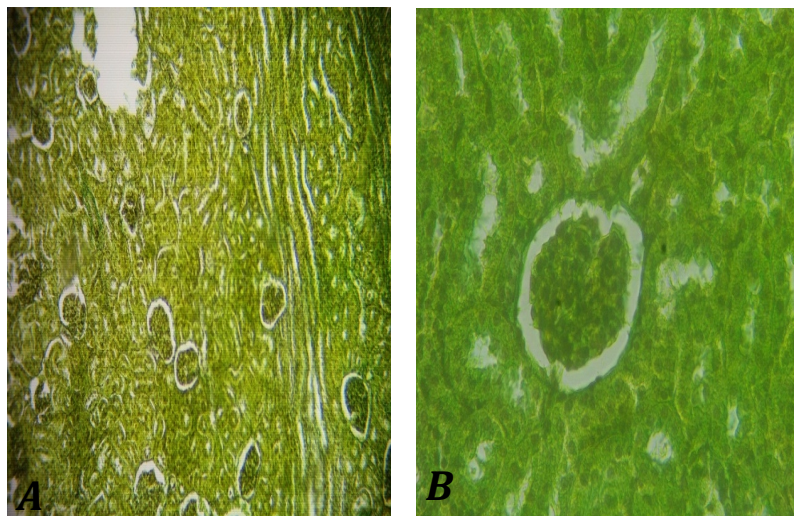


Figure 21: Coupe transversale au niveau du cortex rénale du lapin après l'arrêt de traitement pendant une seule semaine. Vue générale (A), détail (B). (G×10, G×40, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Au niveau du foie les deux lapins ont répondu de manière différente. Le premier montre un aspect normale du veine centrolobulaire et révèlent une mini activité inflammatoire (amas des noyaux noir) et une accumulation de collagène (fibrose) au niveau de l'espace porte, degré=1 et degré'= 1 (figure.22.A), le deuxième lapin montre que la veine centrolobulaire (figure.20.B) est devenu plus grande et entouré par une couche fine de collagène et possède une activité inflammatoire et peu de collagène au niveau de l'EP, degré = 2 degré' =1 (figure.22.A).



Figure 22: Coupe transversale au niveau du foie du lapin après l'arrêt de traitement pendant une seule semaine. Vue générale (A), détail (B) . (G×10, G×40, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

4 Effet du traitement avec le nitrite de sodium seule après 2 semaines d'arrêt :

Au niveau du médulla rénale, on note que l'une des lapins possède une activité inflammatoire (amas des noyaux noir) et une fibrose (amas du collagène) qui entoure les tubes collecteurs, degré = 2 degré' =1. Le médulla de la deuxième lapin presente des alterations tissulaire ,ces alterations révèlent une inflammation (amas des noyaux noir) avec l'apparition d'une fibrose au niveau des tubes collecteurs (amas des fibres du collagene), degré = 1 degré' =2.A) par contre l'autre montre une structure normale de la médulla, degré=0 degré'=0 (figure.23.A).

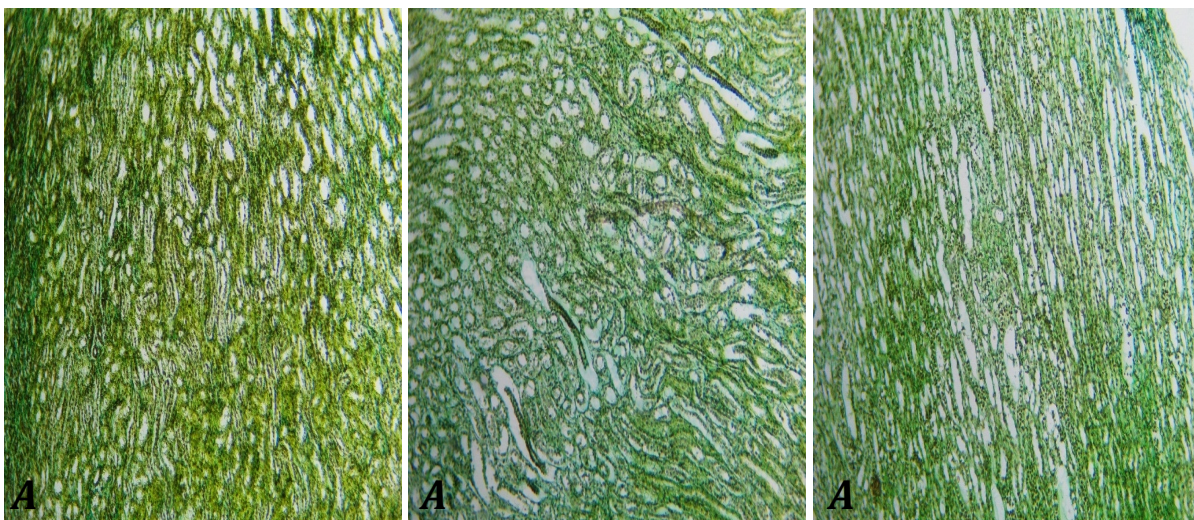


Figure 23: Coupe transversale au niveau du médulla rénale du lapin après l'arrêt de traitement pendant deux semaines. Vue générale (A). (G×10, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Au niveau du cortex rénale, on observe que le premier lapin révèle une activité inflammatoire (amas des noyaux noir) et accumulation du collagène au niveau des tubules et autour des glomerules, degré=3 degré'= 3(figure.24.A). Les deux autres lapins montrent des alterations au niveau des tubules ou on observe une accumulation des noyaux noir (inflammation),et les fibres du collagène entoure les tubules et les glomerules (fibrose), degré=2 degré'= 2(figure.24.B).

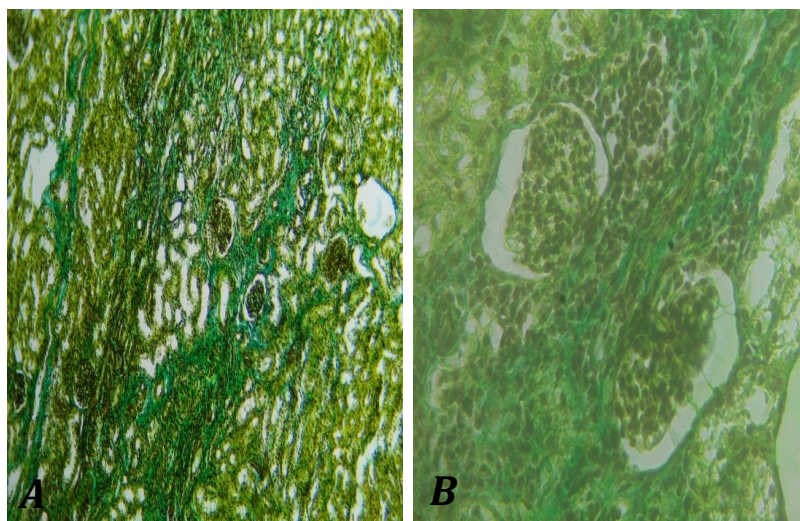


Figure 24: Coupe transversale au niveau du cortex du lapin après l'arrêt de traitement pendant deux semaines. Vue générale (A), détail (B) . (G×10, G×40, fixateur formol,coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Au niveau du foie,les trois lapins réponde de manière divergent , le veine centrolobulaire(figure.26.B) de l'une des lapin devenu plus grand et remplie par certains globules rouge et presente une distrubtion des fibres du collagene (fibrose), et inflammation caracterisé par des amas des cellules inflammatoires, degré = 2 degré' =1. L'espace porte de la deuxième lapin révèle une distrubtion d'inflammation (veine porte,canale billiare, artère) ,pas de fibrose, degré = 2 degré' =0. Le dernier montre une structure normale du l'espace porte et la veine porte (ni inflammation ni fibrose) , Le veine centrolobulaire déformé et remplie par des globules rouge (GR) avec une couche mince du collagène, degré=0 degré'= 0 (figure.25.A).

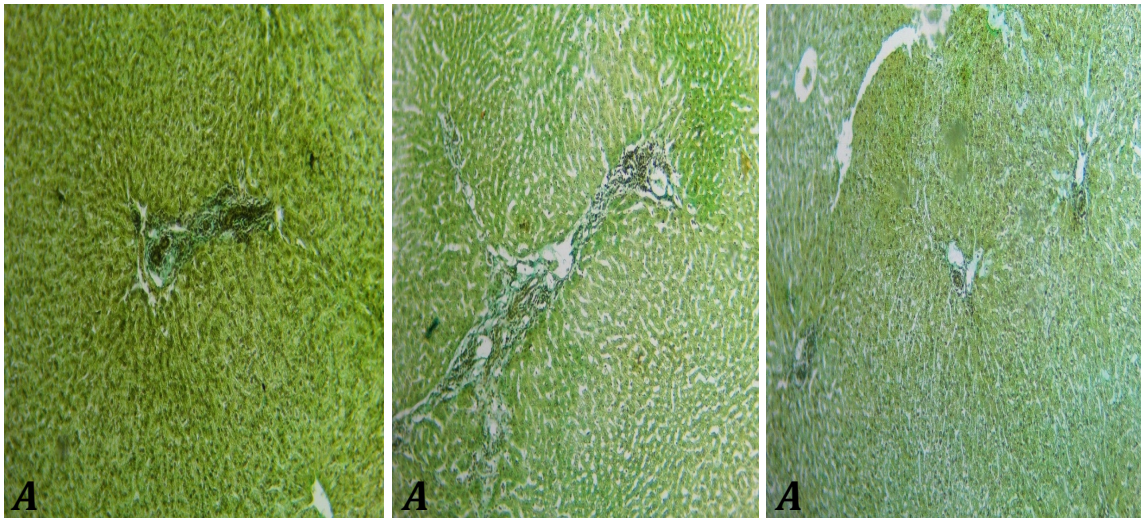


Figure 25: Coupe transversale au niveau du foie du lapin après l'arrêt de traitement pendant deux semaines. Vue générale (A). (G×10, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

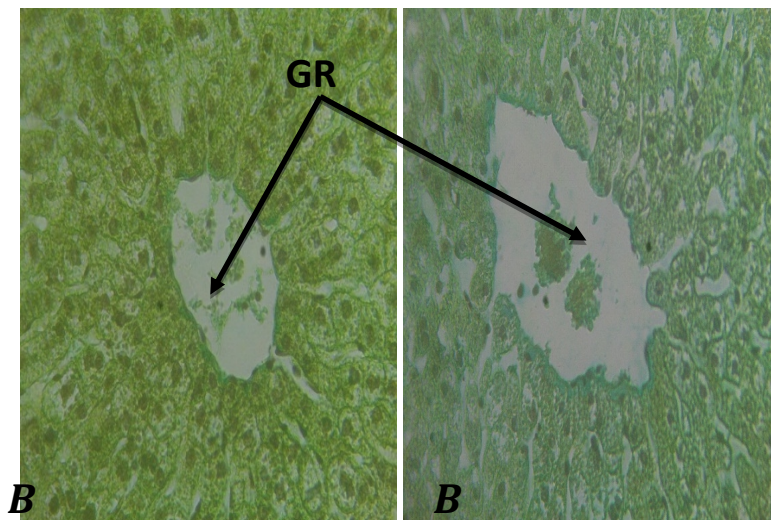


Figure 26: Coupe transversale au niveau du veine centrolobulaire du lapin après l'arrêt de traitement pendant deux semaines. Vue détail (B). (g×40, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

5 Effet du traitement avec le nitrite de sodium seule après 3 semaines d'arrêt :

Au niveau du médulla, deux lapins ne possèdent aucune altération (ni inflammation ni fibrose), degré=0 degré'= 0. En revanche le dernier lapin révéler une activité inflammatoire au niveau des tubes collecteurs et les fibres de collagène les entourent (fibrose), degré=2 degré'= 2 (figure.27.A).

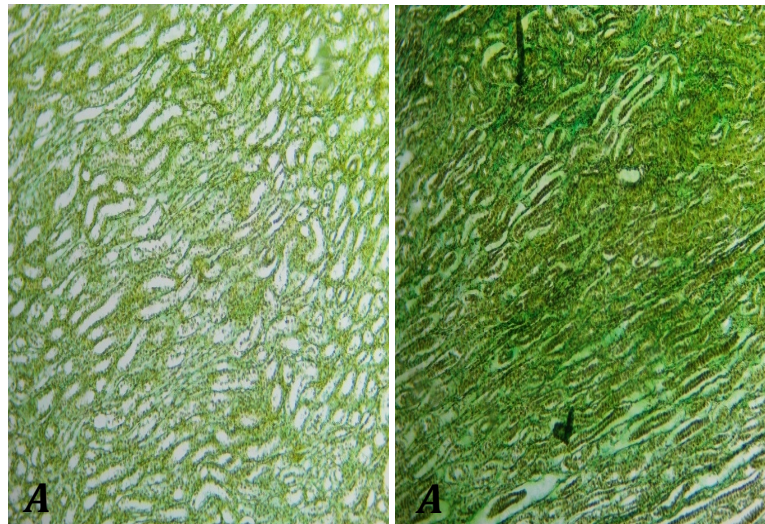


Figure 27: Coupe transversale au niveau du médulla rénale du lapin après l'arrêt de traitement pendant trois semaines. Vue générale (A). (G×10, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Au niveau du cortex rénale, on observe une accumulation des noyaux noirs (inflammation) et des fibres du collagène (fibrose) et d'autre part certains glomérules montrent une dégénérescence avec un atrophie plus ou moins accentuée des anses capillaires à l'intérieur des glomérules (figure.28.B), degré=1 degré'= 1. L'autre lapin ne montre pas une alteration au niveau de cette région mais le dernier montre que l'espace de Bowman (eb) est devenu plus grand (signe de sclérose) et certains glomérules sont vides (figure.28.A), le degré et degré' est de l'ordre 0 pour les deux dernier lapins.

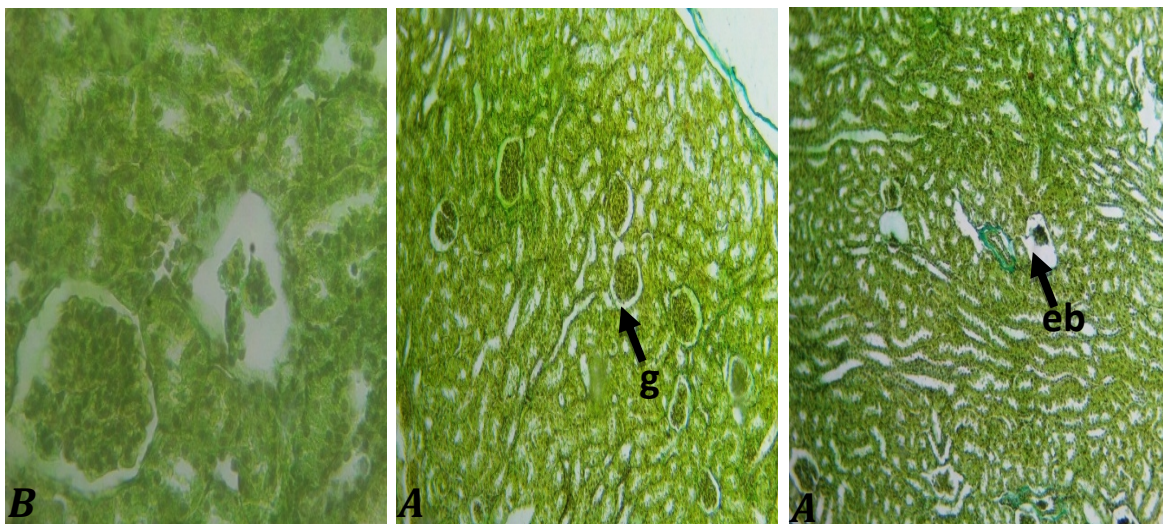


Figure 28 : Coupe transversale au niveau du cortex du lapin après l'arrêt de traitement pendant trois semaines. Vue générale (A), détail (B). (G×10, G×40, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Au niveau du foie les trois lapins réponde de manière différentes.le première lapin révèle que la veine centrolobulaire est devenu plus grand et entourée par une couche mince du collagène(figure.30.A), L'espace porte présente une activité inflammatoire très intense avec une fibrose (amas des fibres du collagène), degré = 3 degré' =2 (figure.29.A).

Une accumulation des globules rouges au niveau des vaisseaux sanguin (figure.30.B) a été observer chez la deuxième lapin avec une veine centrolobulaire qui est devenu plus grand (figure.30.A) et une mini activité inflammatoire et amas des fibres du collagène (fibrose) au niveau de l'espace porte(veine porte,visicule billiaire,artère) ont été révélé, degré=1 degré' =1. chez le dernier lapin, on a remarqué le fusionnement des viens centrolobulaire avec une amas des fibres du collagene (fc) et elles sont devenu très grand et remplie avec le plasma, Il n'ya pas aucun activité inflammatoire par contre il y'a une amas des fibres du collagène (fibrose) au niveau de l'espace porte, degré = 0 degré' =2.

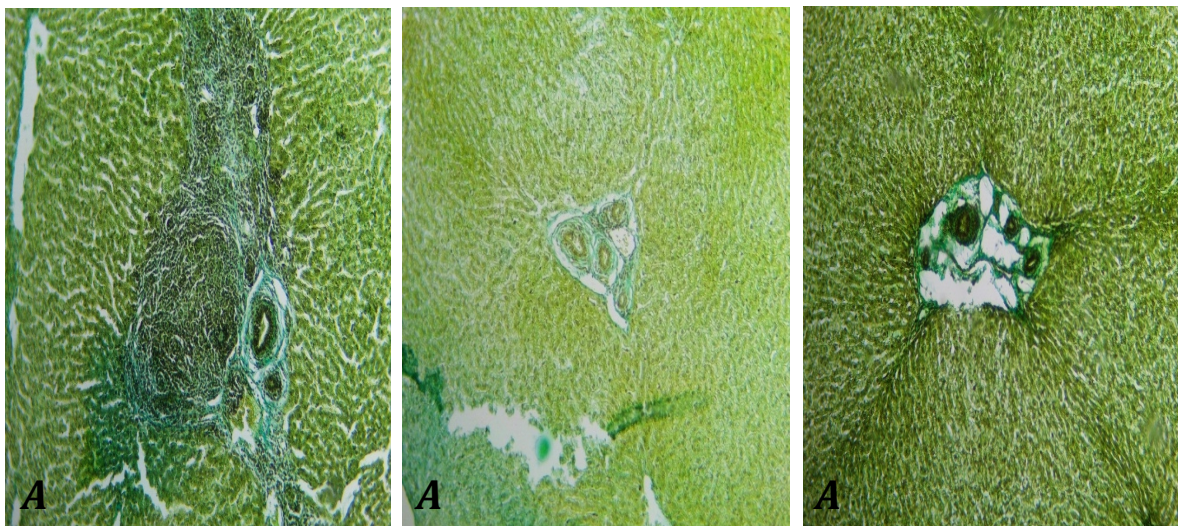


Figure 29: Coupe transversale au niveau du foie du lapin après l'arrêt de traitement pendant trois semaines. Vue générale (A). (G×10, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

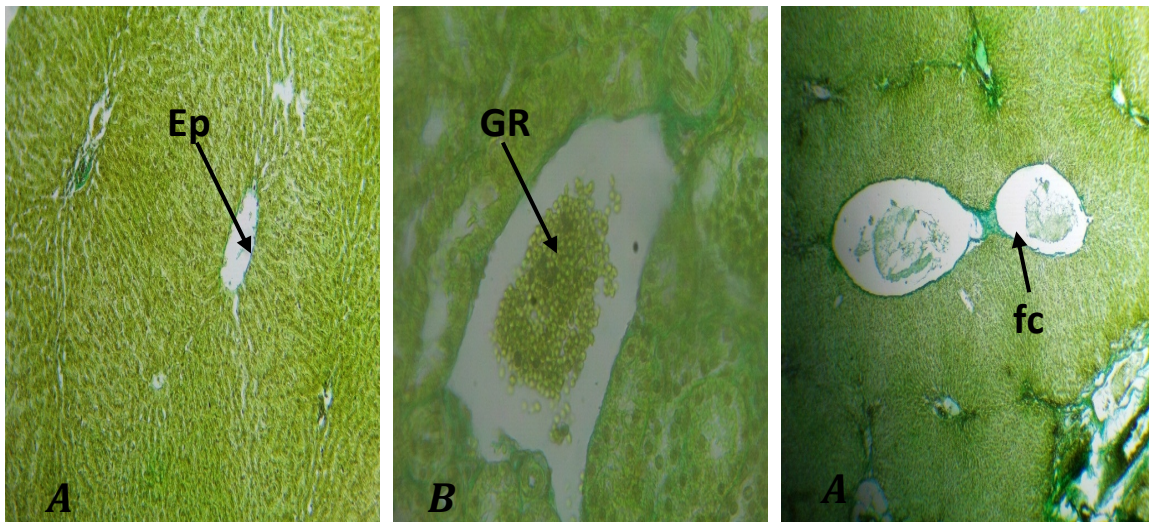


Figure 30: Coupe transversale au niveau de la veine centrolobulaire du lapin après l'arrêt de traitement pendant deux semaines. Vue générale (A), détail (B) . (G×10, G×40, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Ainsi , nos résultats ont montré que les altérations induites par les nitrites seules en fonction du temps étaient variables d'un lapin à l'autre mais que, en général, leurs degré d'inflammation et fibrose est accentuée au niveau du foie, ou en révèlent une amas des noyaux noir (inflammation) et des fibres du collagène (fibrose) tout au tour de l'espace porte évaluée de degré 0 (pas d'inflammation et pas du fibrose) jusqu'au degré 3 (inflammation et fibrose aiguë). Au niveau du rein en a observé que au cours de la première semaine le cortex reste intacte (les glomerules et tubules sont sains) mais le medulla d'une des lapin possède une inflammation, les deux altérations a suivi sont augmentée au cours de la deuxième semaine , au cours de la troisième semaine le medulla de deux lapins est sain l'autre est moyennement altéré et le cortex possède une altération minime.

6 Lapin témoin traité par le tanakan seul

Au niveau du rein de lapin témoin traité par le tanakan seule en observe qui n'ya pas aucun alteration, pas d'inflammation ou fibrose au niveau du médulla et cortex, degré=0 degré' =0(figure.31.A).

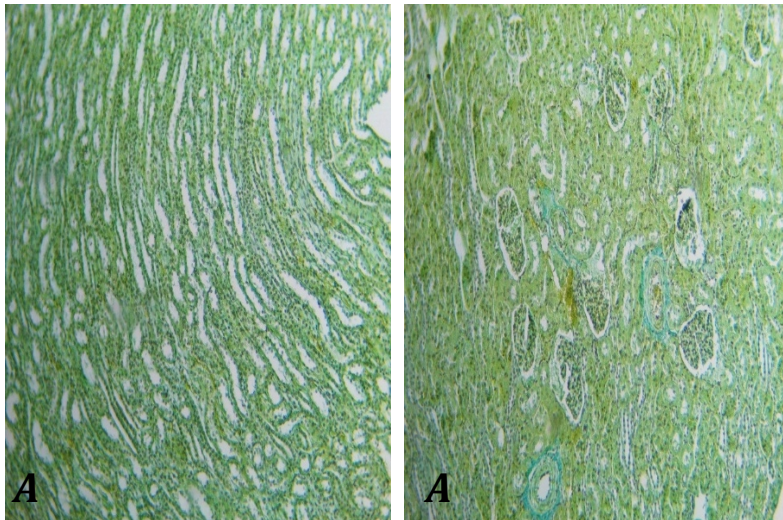


Figure 31 : Coupe transversale au niveau du foie du lapin témoin traité par le tanakan seule. Vue générale (A). (G×10, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Au niveau du foie de lapin témoin traité par le tanakan seule on observe que n'y a pas d'altération (inflammation et fibrose), (espace porte, veine centrolobulaire saine), degré=0 (figure.32.A).

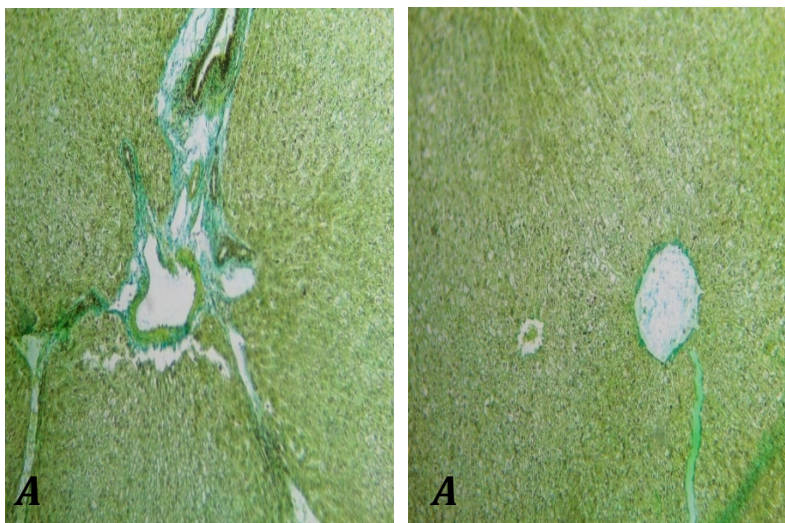


Figure 32: Coupe transversale au niveau du foie du lapin témoin traité par le tanakan seule. Vue générale (A). (G×10, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

7 Effet du traitement avec le nitrite de sodium seule après une semaine de traitement avec le tanakan :

Au niveau de la médulla rénale, on a noté que l'un des lapins traités est sain (ne présente aucune altération) (figure.33.A), l'autre montre qu'il y a un détachement des cellules hépatothéliales (CH) au niveau des tubes collecteurs, pas d'inflammation et de fibrose (figure.33.B), degré=0. Par contre, le dernier lapin possède une activité

inflammatoire (i) au niveau des tubes collecteurs (amas des noyaux noir) et une amas des fibres de collagène (fc), signe de fibrose (figure.33.A), degré=1 degré' =1.

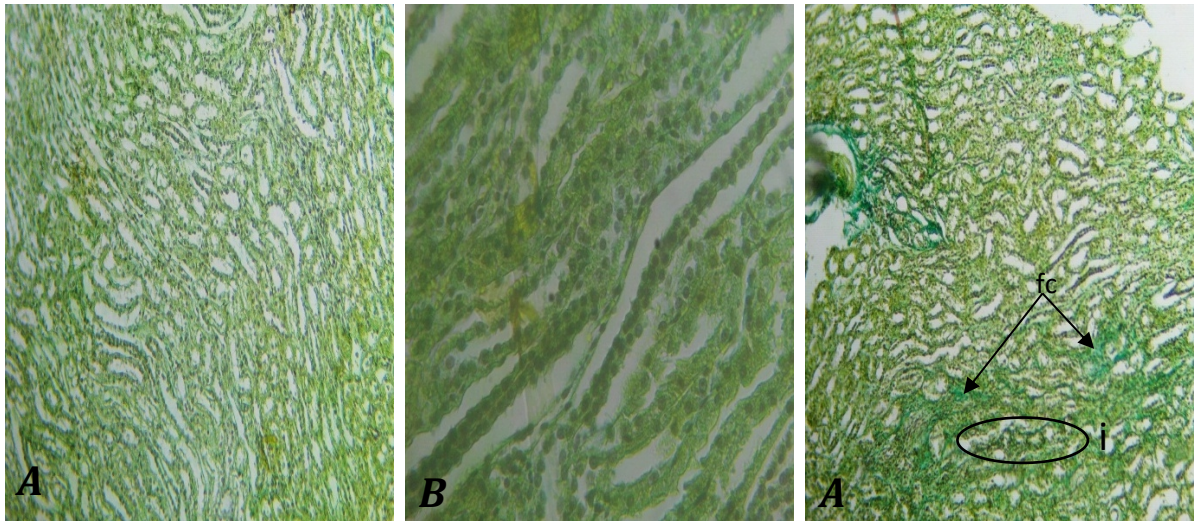


Figure 33: Coupe transversale au niveau du médulla du lapin après l'arrêt de traitement pendant une semaine. Vue générale (A), détail (B). (G×10, G×40, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Au niveau du cortex reinale on observe que deux des lapins traité sont sains (ne presente aucun alteration ni inflammation ni fibrose) (figure.34.A),mais les glomerules de l'une d'eux sont vides (gv) signe de dégénérescence (figure.34.A), degré=0 degré' =0.En revanche, les glomerules et les tubules du dernier lapin sont entouré par une amas des fibres de collagène (signe de fibrose) (figure.34.B), degré=0 degré' =2.

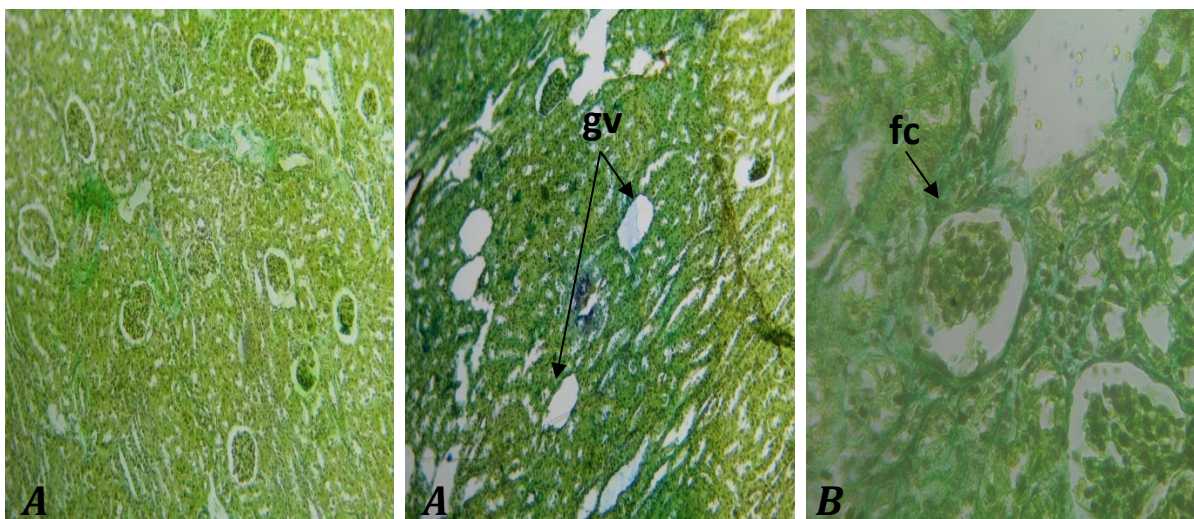


Figure 34: Coupe transversale au niveau du cortex du lapin après l'arrêt de traitement pendant une semaine. Vue générale (A), détail (B). (G×10, G×40, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Au niveau du foie, on observe que l'une des lapins présente une activité inflammatoire (amas des noyaux noirs) au niveau de l'espace porte, leur veine centrolobulaire déformée (devenue plus grande) et remplie avec le plasma (P) (figure.35.A), degré=1 degré' =0. Les deux autres lapins montrent que l'espace porte ne possède pas d'activité inflammatoire par contre la veine centrolobulaire devenue plus grande et truffée par certains globules rouges (GR) (figure.35.B), degré=0 degré' =0.

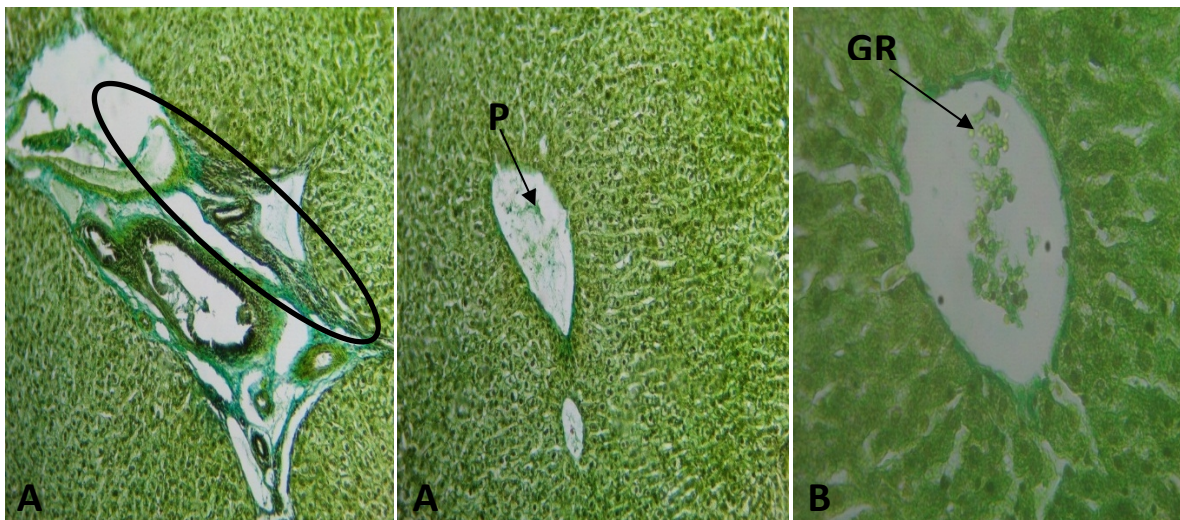


Figure 35: Coupe transversale au niveau du foie du lapin après l'arrêt de traitement pendant une semaine. Vue générale (A), détail (B). (G×10, G×40, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

8 Effet du traitement avec le nitrite de sodium seule après 2 semaines de traitement avec le tanakan :

Au niveau de la médulla rénale, on observe que l'une des lapins révèle une activité inflammatoire (amas des noyaux noirs) au niveau des tubes collecteurs, degré=2 degré' =0. Les deux autres lapins ne montrent aucune altération ni fibrose ni inflammation, (figure.36.A) degré=0 degré' =0 (figure.36.A).

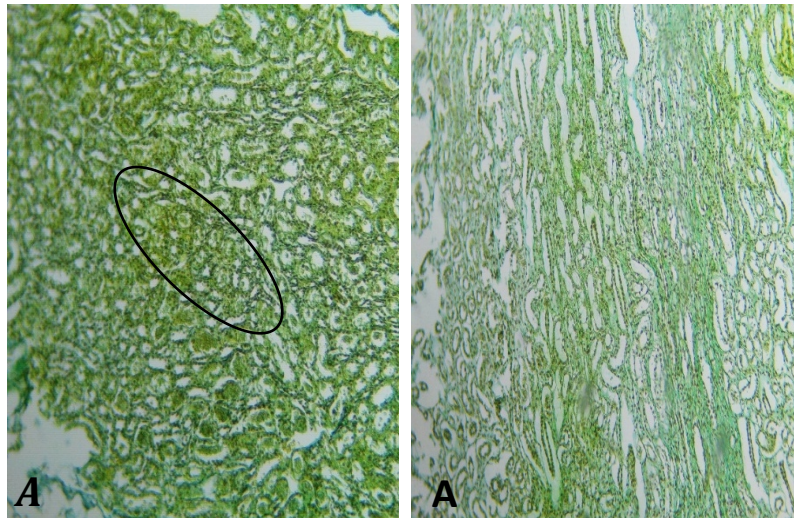


Figure 36: Coupe transversale au niveau du médulla du lapin après l'arrêt de traitement pendant deux semaines. Vue générale (A). (G×10, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Au niveau du cortex rénale, on observe que les trois lapins répondent diversement, le premier lapin révèle une mini activité inflammatoire et les tubules sont entouré par des fibres du collagène (signe de fibrose), degré=1 degré' =1 ; le deuxième lapin présente une mini activité inflammatoire (amas des noyaux noir) et pas de fibrose, degré=1 degré' =0. Le dernier lapin montre que les glomérules et les tubules sont sains (ne présente aucun alteration), degré=0 degré' =0 (figure.37.A).

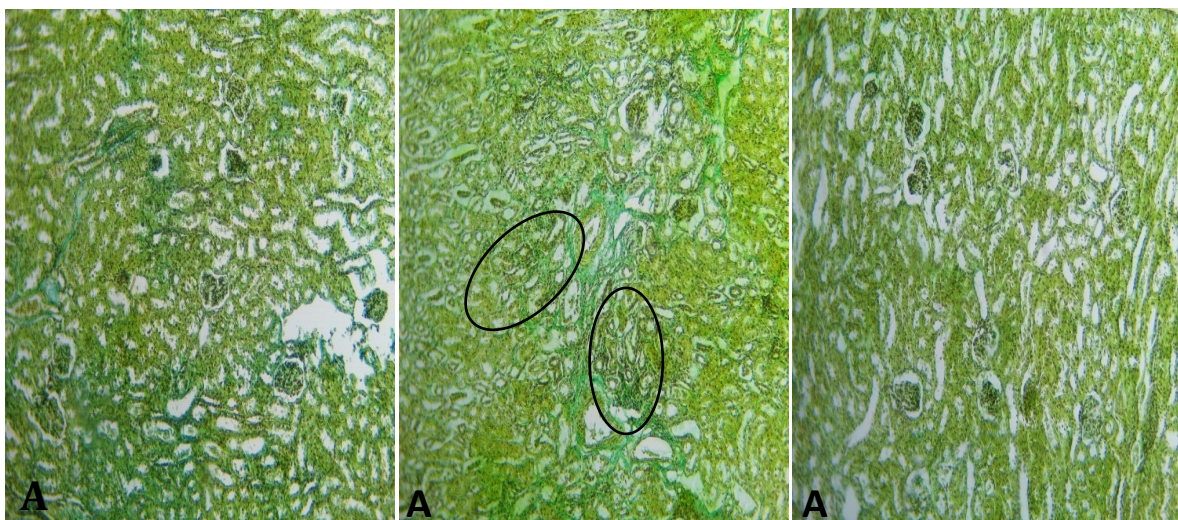


Figure 37: Coupe transversale au niveau du cortex du lapin après l'arrêt de traitement pendant deux semaine. Vue générale (A). (G×10, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Au niveau du foie les trois lapins réponde différemment.le premier révèle une activité inflammatoire intense (amas des noyaux noir tout au tour de l'espace porte) ,une amas des fibres de collagene(fibrose) est vusialisé au niveau de l'ecpace porte (veine porte, canal biliaire,artère) par contre le veine centrolobulaire est d'aspect normale,degré=3 degré' =3.le deuxième ne presente aucun alteration ni fibrose ni inflammation, degré=0 degré' =0.le dernier montre que l'espace porte possède une activité inflammatoire et des amas des fibres de collagène (fibrose),par contre le veine centrolobulaire a une aspect normale , degré=2 degré' =2 (figure.38.A).

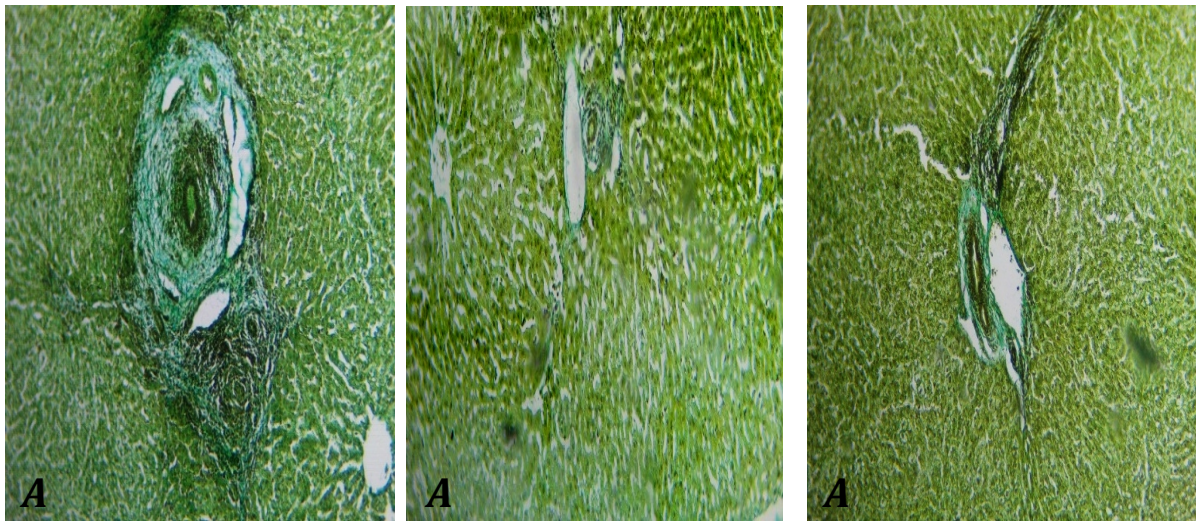


Figure 38 : Coupe transversale au niveau du foie après l'arrêt de traitement pendant deux semaine. Vue générale (A). (G×10, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmine).

9 Effet du traitement avec le nitrite de sodium seule après 3 semaines de traitement ave le tanakan :

Au niveau du médulla rénale, on observe que l'un des lapins montre une légère activité inflammatoire (amas des noyaux noir) au niveau des tubes collecteurs et les fibres de collagène ont les entourent, c'est un signe de fibrose (figure.39.A) , degré=1 degré' =2. Les deux autres lapins révèlent qu'il ya une mini activité inflmmatoire tout au tour des tubes collecteurs ,pas de fibrose (figure.39.B), degré=1 degré' =0.

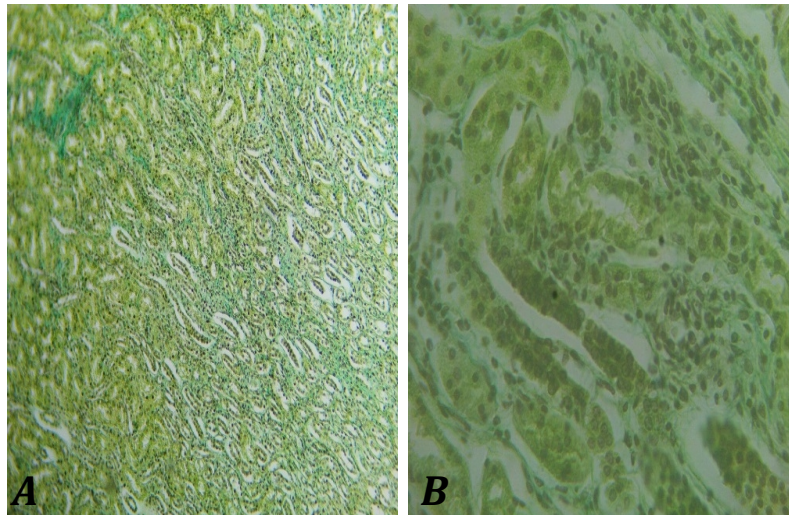


Figure 39: Coupe transversale au niveau du médulla après l'arrêt de traitement pendant trois semaines. Vue générale (A), détail (B). (G×10, G×40, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Au niveau du cortex les trois lapins possèdent une mini activité inflammatoire au niveau des tubules (amas des noyaux noir), pas de fibrose (figure.40.A et B), degré=1 degré' =0.

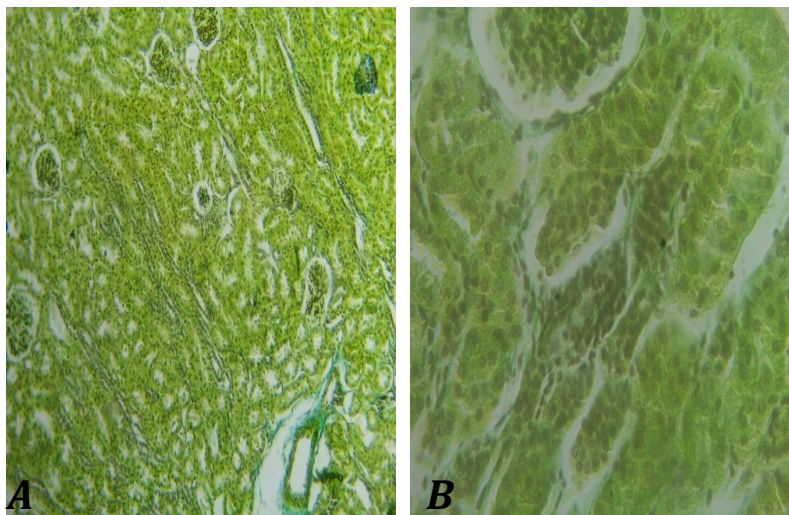


Figure 40: Coupe transversale au niveau du cortex après l'arrêt de traitement pendant trois semaines. Vue générale (A), détail (B). (G×10, G×40, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

Au niveau du foie, les trois lapins répondent différemment, le premier révèle une minimale activité inflammatoire (amas des noyaux noir) (figure.41.A), la veine centrolobulaire est moyennement grande par rapport à leur taille normale (figure.42.A), degré=1 degré' =0 ; le deuxième montre que la veine centrolobulaire a un aspect normal mais il y a une activité inflammatoire minimale au niveau de l'espace porte, les fibres de collagène ont propagé tout au tour de la paranchyme hépatique et lié les espaces portes les uns aux autres, c'est un signe de fibrose (figure.42.A), degré=1 degré' =2. Le troisième montre que l'espace porte ne possède aucune altération (inflammation, fibrose) (figure.41.A), en revanche la veine centrolobulaire

est plus grand par rapport a leur aspect normale et remplie avec des globules rouge (figure.42.B) , degré=0 degré' =0.

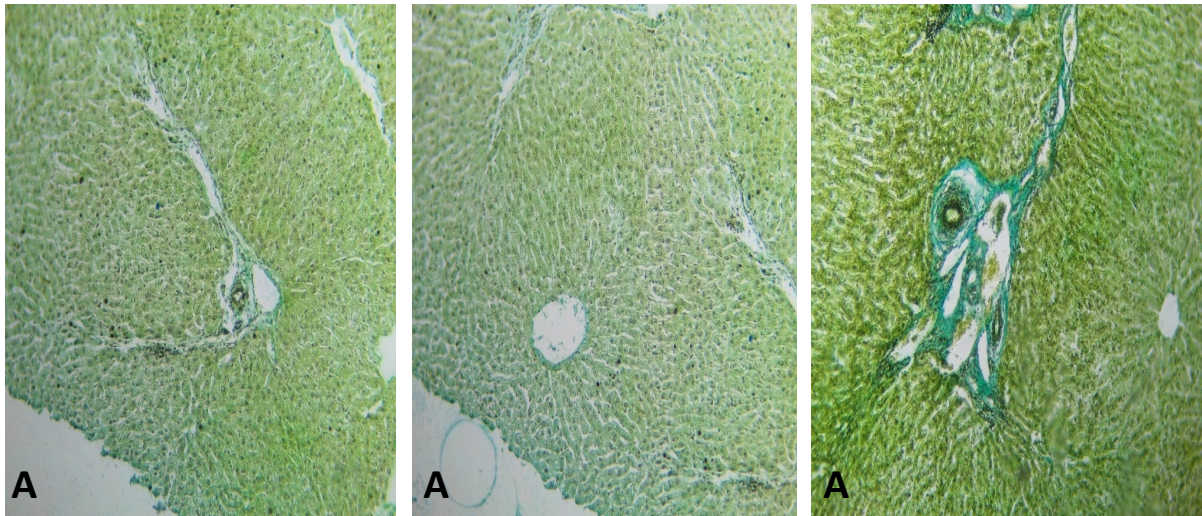


Figure 41: Coupe transversale au niveau du foie après l'arrêt de traitement pendant trois semaines. Vue générale (A). (G×10, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

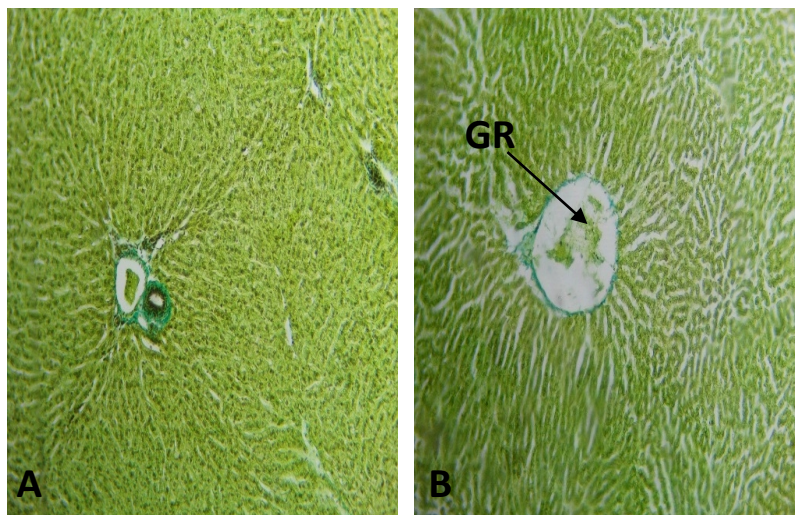


Figure 42: Coupe transversale au niveau du veine centrolobulaire après l'arrêt de traitement pendant trois semaines. Vue générale (A), détail (B). (G×10, G×40, fixateur formol, coloration hématoxyline et picroindigocarmin).

En fonction du temps, nous avons noté que les lapins traité avec les nitrites puis avec le tanakan révelent que au niveau de deux organes etudier (foie et rein) l'inflammation est diminiué,ou en observent que l'espace porte du foie et réintègre à leurs taille normale et ne possède aucun activité inflammatoire et le médulla et cortex reinale montre une activité inflammatoire minime ,la quantité du collagène est diminiué au cours du temps (de fibrose aiguë j'usqu'au fibrose modéré).

En résultat final, nous estimons que l'extrait de ginkgo biloba (tanakan qui en a été utilisé dans notre étude) contient des molécules naturelles bioactives qui réagissent comme un anti-inflammatoire.

DISCUSSION

Dans notre étude, nous avons essayé d'évaluer l'effet de l'extrait standardisé du Ginkgo biloba administré pendant trois semaines sur les altérations hépatiques et rénales induites par les nitrites libérés par le nitrite de sodium après six semaines de gavage. Cette recherche a été faite pour l'objectif de réduire l'évaluation l'activité inflammatoire ainsi que l'activité fibrotique au cours de la période du traitement. Ceci a été réalisé en parallèle avec des lapins témoins à qui rien n'a été administré afin de voir si la régression de l'atteinte hépatique et rénale pouvaient être spontanée.

Les lapins traités avec le nitrite de sodium seule montrent que au niveau du foie la présence d'une inflammation et d'une fibrose observée au niveau de l'espace porte et/ou dans le lobule, sous la forme de petits amas de cellules inflammatoires de type lymphocytaire évaluée au cours du temps (de degré 0 à 3) ainsi que la présence de lésions du parenchyme hépatique qui serait le reflet d'une nécrose hépatocytaire. L'espace porte montre un élargissement important avec présence de fibres collagène ainsi que pour la veine centrolobulaire qui a augmenté de diamètre et qui ont montré une accumulation de collagène elle aussi. L'étude des paramètres biochimiques hépatiques de ces lapins a montré une augmentation significative des transaminases TGO (enzyme qui se trouvent dans les cellules essentiellement localisé à l'intérieur des mitochondries) et TGP (enzyme qui se trouvent dans les cellules essentiellement localisé dans le foie au niveau du cytoplasme des hépatocytes) [37] La perturbation dans l'équilibre de l'activité de ces enzymes hépatiques pourrait être attribuée aux effets toxiques des composés nitroso formés dans l'environnement acide de l'estomac causant une nécrose hépatique sévère [38]. Lors de la mort des hépatocytes, les enzymes lysosomiaux déversés vont libérer, entre autre des cytokines issues de la matrice extracellulaire. Les cytokines et les débris cellulaires provenant des cellules mortes provoquent l'activation des cellules de Kupffer dans les sinusoides hépatiques et attirent des cellules inflammatoires telles que les lymphocytes. Les cellules inflammatoires recrutées vont sécréter divers facteurs de croissance ou cytokines qui seront à l'origine de la fibrose [39].

L'inflammation qui peut s'observer dans les espaces portes et/ou dans le lobule, sous la forme de petits nids inflammatoires intrasinusoidaux, le plus souvent lympho-cytaires dans les hépatites virales. L'inflammation est d'intensité variée, est majoritairement composée de cellules mononucléées lymphocytaires dans les hépatites virales. Dans les espaces porte,

l'accumulation de matrice extracellulaire entraîne leur élargissement, avec constitution de bandes fibreuses qui, atteindre les espaces portes et/ou veines centrolobulaires adjacents pour finir par stade de cirrhose[40] .

Au niveau du rein, nous avons noté que les altérations observées qui consistait en la présence d'inflammation et de fibrose, augmentaient progressivement au cours de deux premiers semaine et diminue au cours de la troisième semaine. L'examen histologique montre que les lapins traité par le nitrite de sodium présente une inflammation et fibrose sous forme d'amas des noyaux noir et des fibres de collagène au niveau de la médulla et des tubules rénaux , les glomerules ne montrent pas une activité inflammatoire. Le monoxyde d'azote (NO) est un facteur essentiel de la régulation de l'hémodynamique rénale, Le blocage pharmacologique de sa synthèse endothéliale entraîne une néphropathie vasculaire comportant une composante inflammatoire et une composante fibrotique qui concourent à la perte fonctionnelle du rein [41].

L'augmentation des concentrations plasmatiques en urée et créatinine, signe de l'altération rénal . Elle pourrait être la conséquence de l'altération des épithélium des tubules rénaux lors du processus inflammatoire. Les nitrates à fortes doses administré aux rats pendant cinq mois induisent une augmentation des concentrations plasmatique en urée et créatinine qui pourraient donc être considérés comme facteurs de l'insuffisance rénale [42] Un infiltrat inflammatoire apparait lors d'une perturbation au niveau des cellules,cette séquestration serait probablement due :soit a la production excessive des radicaux libres oxgénées par les nitrites qui jouent un role particulièrement important au cours de cette altération,soit à la diminution du taux de l'oxygène à l'intérieure de la cellule suite a l'inhibition rapide de la respiration mitochondriale par des liaisons réversible à l'atome de fer centrale du cytochrome c oxydase à la place de l'oxygène [43].

Le NO induit une fibrose au niveau des reins. La fibrose est divisé en quatre phases : la premier phase de dommage et de l'activation cellulaire impliquant les macrophages et les fibroblastes ; la deuxième phase de signalisation caractérisé par la sécrétion de facteur de croissance et de cytokines ; la troisième phase fibrose ou il y'a accumulation de matrice extracellulaire par le biais d'inhibiteur de protéases ; la quatrième phase de destruction rénale avec oblitération tubulaire et capillaire [44].

L'extrait de ginkgo biloba (EGb) possède diverses activités biologiques et différents effets pharmacologiques, à savoir effet antioxydant, effet anti-inflammatoire et effet modulateur de la réponse immunitaire et aussi diminuer l'inflammation et empêcher la fibrose hépatique [45].

Au niveau du foie, l'inflammation a diminué et on observe que l'espace porte du foie réintègre à sa taille normale et ne possède aucune activité inflammatoire. L'EGB agit comme un traitement de la nécrose et a prouvé son effet thérapeutique confirmé par le dosage des paramètres biochimiques montrant une amélioration des taux de la TGO, la TGP, la bilirubine avec des taux d'albumine et de APL normaux [49]. L'EGB était efficace pour inverser la cirrhose hépatique [46]. EGB est considéré comme un anti-radicalaire, il peut inhiber les fonctions des ROS par la captation directe des ions superoxydes, les radicaux hydroxyles, les radicaux peroxydes et le monoxyde d'azote. De très nombreuses études rapportent que l'EGB a la capacité de renforcer l'activité de la SOD et à diminuer la peroxydation lipidique lors du stress oxydatif [47], il peut aussi améliorer la microcirculation sinusoidale, diminuer l'inflammation et empêcher la fibrose hépatique [48].

En effet le tanakan est un extrait de ginkgo biloba standardisé. Elle est essentiellement utilisée pour son action anti-oxydant et pour son activité « anti-fibrose ». Le EGB a une activité anti-oxydant, il piège les radicaux. C'est un vasodilatateur, un inhibiteur de la grégation plaquettaire, il améliore l'irrigation tissulaire et stimule les neurotransmetteurs. Il exerce aussi une activité anti-inflammatoire en supprimant la production d'oxygène et d'azote [49].

CONCLUSION

Conclusion

Notre étude visée à évaluer la réponse fibrogénique et l'activité inflammatoire rénale et hépatique induite par les nitrites de sodium chez les lapins néo-zélandais, Les effets ont été observé sur le plan histologique.

L'administration de nitrite de sodium a montré l'induction de plusieurs altérations histologique, fibrose (amas des fibres de collagène) et infiltration inflammatoire (amas des noyaux noirs) au niveau des reins et foie.

Les altérations observer ou niveau de deux organes, montre la présence d'une inflammation apparait d'une perturbation des cellules au sein de ces organes, de plus nos résultats illustrent l'apparition des dépôts de fibrose. Ce qui confirme l'effet toxique de nitrite de sodium sur les reins et le foie.

Sur le plan histologique, le tanakan est un médicament efficace qui permet à empêcher l'apparition de la fibrose et l'activité inflammatoire au niveau de deux organes étudié (foie et rein), Le tanakan agir comme un médicament par son mécanisme d'action qui consiste a la captation directe des radicaux libre.


BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Grussenmeyer, V. (2019). *Phytothérapie en clinique vétérinaire canine: quelques clés pour commencer* (Doctoral dissertation)
- [2] Song W, Guan HJ, Zhu XZ, Chen ZL, Yin ML, Cheng XF. 2000. Protective effect of bilobalide against nitric oxide-induced neurotoxicity in PC12 cells. *Acta Pharmacol Sin* 21. Pp: 415-20 .
- [3] Cazin, F. J. (1876). *Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigènes et acclimatées, avec un atlas de 200 plantes lithographiées: Ouvrage couronné par l'Académie de médecine et par la Société de médecine de Marseille. Par H [enry] Cazin*. P. Asselin. Effet secondaire
- [4] Ross, Wilson f. 2011. Anatomie Et Physiologie Normales Et Pathologique .Edition/Elsevier Masson. pp470-488
- [5] Gordillo M, Evans T, Gouon-Evans V. 2015. Orchestrating liver development-Development 142 Pp: 2094-2108
- [6] Tortora Et Derrickson .2007. Principe D'anatomie Et De Physiologie .6eme Ed. Paris De Book. Pb :1076-1086 .
- [7] Woessner, M. N., McIlvenna, L. C., Ortiz de Zevallos, J., Neil, C. J., & Allen, J. D. (2018). Dietary nitrate supplementation in cardiovascular health: an ergogenic aid or exercise therapeutic? *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 314(2), H195-H212.
- [8] Bouskill, N., Tang, J., Riley, W. J., & Brodie, E. L. (2012). Trait-based representation of biological nitrification: model development, testing, and predicted community composition. *Frontiers in microbiology*, 3, 364.
- [9] IDRISSE, L. (2006). Nitrates et nitrites Polluants qui menacent la santé et l'environnement. *Les technologies de laboratoire*, 1(1).
- [10] Shiva, S. (2010). Mitochondria as metabolizers and targets of nitrite. *Nitric Oxide*, 22(2), 64-74.
- [11] Woessner, M. N., McIlvenna, L. C., Ortiz de Zevallos, J., Neil, C. J., & Allen, J. D. (2018). Dietary nitrate supplementation in cardiovascular health: an ergogenic aid or exercise therapeutic? *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 314(2), H195-H212.
- [12] Shiva, S. (2010). Mitochondria as metabolizers and targets of nitrite. *Nitric Oxide*, 22(2), 64-74.
- [13] Chandel, N. S., Maltepe, E., Goldwasser, E., Mathieu, C. E., Simon, M. C., & Schumacker, P. T. (1998). Mitochondrial reactive oxygen species trigger hypoxia-induced transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(20), 11715-11720.
- [14] Speijers, G. J. A., Van Went, G. F., Van Apeldoorn, M. E., Montizaan, G. F., Janus, J. A., Canton, J. H., ... & De Zwart, D. (1989). Integrated criteria document nitrate; effects. Appendix to RIVM Report No. 758473012.
- [15] Höring H et al. (1985) [The influence of subchronic nitrate administration in drinking-water on the thyroid.] *Schriften Reihe für Gesundheit und Umwelt*, 1:1-15 (in German)

- [16] Chébékoué, S. F. (2009). Évaluation du risque cancérigène associé à la contamination de l'eau potable de puits municipaux par les nitrates/nitrites dans certaines régions rurales du Québec.
- [17] Tarun Belwal, Lalit Giri, Amit Bahukhandi, Mohd. Tariq, Pushpa Kewlani, Indra D. Bhatt and Ranbeer S. Rawal Centre for Biodiversity Conservation and Management, G.B. Pant National Institute of Himalayan Environment and Sustainable Development (GBPNIHESD), Kosi-Katarmal, Almora, India.
- [18] Pasteur, L. (2013). *La maladie d'Alzheimer: intérêt des molécules d'origine naturelle* (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- [19] Cadet, E. (2017). *Etude phytochimique et emplois de plantes veinotoniques* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- [20] Grussenmeyer, V. (2019). *Phytothérapie en clinique vétérinaire canine: quelques clés pour commencer* (Doctoral dissertation).
- [21] Schauenberg, P., & Paris, F. (2005). *Guide des plantes médicinales: analyse, description et utilisation de 400 plantes*. Delachaux et Niestlé.
- [22] Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales* (No. 581.634 B7).
- [23] Tarun Belwal, Lalit Giri, Amit Bahukhandi, Mohd. Tariq, Pushpa Kewlani, Indra D. Bhatt and Ranbeer S. Rawal Centre for Biodiversity Conservation and Management, G.B. Pant National Institute of Himalayan Environment and Sustainable Development (GBPNIHESD), Kosi-Katarmal, Almora, India
- [24] Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales* (No. 581.634 B7).
- [25] Tarun Belwal, Lalit Giri, Amit Bahukhandi, Mohd. Tariq, Pushpa Kewlani, Indra D. Bhatt and Ranbeer S. Rawal Centre for Biodiversity Conservation and Management, G.B. Pant National Institute of Himalayan Environment and Sustainable Development (GBPNIHESD), Kosi-Katarmal, Almora, India.
- [26] Cazin, F. J. (1876). *Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigènes et acclimatées, avec un atlas de 200 plantes lithographiées: Ouvrage couronné par l'Académie de médecine et par la Société de médecine de Marseille. Par H [enry] Cazin*. P. Asselin. Effet secondaire.
- 27 Song W, Guan HJ, Zhu XZ, Chen ZL, Yin ML, Cheng XF. 2000. Protective effect of bilobalide against nitric oxide-induced neurotoxicity in PC12 cells. *Acta Pharmacol Sin* 21. Pp: 415–20.
- [28] Pasteur, L. (2013). *La maladie d'Alzheimer: intérêt des molécules d'origine naturelle* (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- [29] MOUAD, A. (2013). *Actualités chirurgicales dans la transplantation hépatique chez l'enfant* (Doctoral dissertation).
- [30] Ploton, M. (2018). *Impact de la phosphorylation de FXR par la PKA sur son activité transcriptionnelle et sur la régulation de la néoglucogenèse hépatique* (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II).
- [31] Modica, S., Bellafante, E., & Moschetta, A. (2009). Master regulation of bile acid and xenobiotic metabolism via the FXR, PXR and CAR trio. *Front Biosci*, 14, 4719-4745./

- Sendensky, A., & Dufour, J. F. (2011). Liver physiology. In *Chronic Liver Failure* (pp. 33-45). Humana Press.
- [32] Sendensky, A., & Dufour, J. F. (2011). Liver physiology. In *Chronic Liver Failure* (pp. 33-45). Humana Press./ Tso, P., & McGill, J. (2003). The Physiology of the Liver. *Medical Physiology, RA Rhoades, GA Tanner, eds.(Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins)*, 514-525.
- [33] Rouvière, H., & Delmas, A. (2002). *Anatomie humaine: descriptive, topographique et fonctionnelle. Système nerveux central, voies et centres nerveux* (Vol. 4). Elsevier Masson.
- [34] Chopra, S., Cherian, D., Verghese, P. P., & Jacob, J. J. (2013). Physiology and clinical significance of natriuretic hormones. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 17(1), 83.
- [35] Chopra, S., Cherian, D., Verghese, P. P., & Jacob, J. J. (2013). Physiology and clinical significance of natriuretic hormones. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 17(1), 83.
- [36] Hammoutene, A., & Rautou, P. E. (2020). Rôle de l'autophagie des cellules endothéliales sinusoidales du foie dans la stéatohépatite non alcoolique. *médecine/sciences*, 36(8-9), 700-702.
- [37] MlleKhaoula Jouini .Mme Djemaa Rahmani2020.Modulation pharmacologique de la réponse hépatique induite par des nitrites chez les lapins.memoire de master .spécialité biochimie .
- [38] Abdel-Rahman HG, Abd-El-Fattah ME, Youssef MF, Essawi EART, Elsedawy MEI.2018. The protective effect of different doses of alphalipoic acid against hepatotoxicity of sodium nitrite in rat. *Int J Dev Res* 08(11) Pp: 24140–24145 .
- [39] Kawda ,TKuroki,MUoya,MInoue,K.Kobayashi, Smooth muscle action expression in rat hepatic stellate cell is regulated by nitric oxide and cGMP production,*Biochimie Biophys Commun*,1996,229,238-42.
- [40] Poté, N., & Paradis, V. (2013). Pathologie hépatique Cirrhose et carcinome hépatocellulaire: indications et rôles de la biopsie hépatique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2013(448), 39-48.
- [41] Bourre, J. M., Buson, C., & L'hirondel, J. L. (2011). Nitrates, nitrites, oxyde nitrique (NO): nouvelles perspectives pour la santé?. *Médecine & Nutrition*, 47(2), 43-50.
- [42] Zaki,A.Ahmed, A impact de nitrate inorganique sur l'aspect morphologique du rein,Volume 60 ,Number1 .
- [43] Alekseyenko, B.S .Akshay pendyal ,B.S.D .G.Beiser,M.D.Jeeva,P.Munasinghe ,PhD ;Stasia A.Anderson PhD ;Christopher F.Chesley,T.L.VandenHoek,MD ;Mark T.Gladwin ,Thérapie de nitrite après un arrêt cardiaque Réduite réactive Oxygen Species génération,améliore cardiaque et la fonction neurologique et améliore la survie via L'inhibition réversible du complexe mitochondrial, *Cameron*,2009,120,897-905.
- [44] Schwendenein, Laboratoryparameters as a diagnostic tool for practitioners in renal disease of dogs and cats, *TierarztlMschr*, 1989,76,244-248.
- [45] Pehlivan M1,Dalbeler Y, Hazinedaroglu S, Arikan Y, Erkek AB, Günal O, Türkçapar AG.2002. An assessment of the effect of Ginkgo Biloba EGb 761 on ischemia reperfusion injury of intestine-Hepato-gastroenterology. 49(43) Pp: 201-204.

- 
- [46] Atef M. Al-Attar.2013. Attenuating Effect of Ginkgo biloba Leaves Extract on Liver Fibrosis Induced by Thioacetamide in Mice-Journal of Biomedicine and Biotechnology. Pp1-9
- [47] Maitra I,Marocci L,Droy –Lefaix MT.and Packer L.1995.peroxyl radical scavenging activity of Ginkgo biloba extract EGB .Biochemical Pharmacology .11 :1649-1655.
- [48] Liu S,Yu,ChenH,Luo S .Yu H.2006.Thérapeutique effects and molecular mechanisms of ginkgo biloba Extract on liver fibrosis in rat .the American Journal of Chinese Medicine.1 :99-114.
- [49]Allard.M. Presse Med. 1986.Treatment of the disorders of aging with the Ginkgo biloba extract.From pharmacology to clinical medicine .Pb: 1540-1545.



ANNEXES

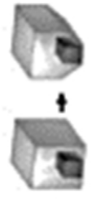
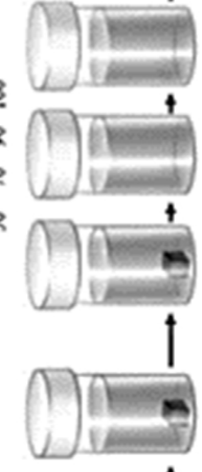
11 étapes

Formol

Alcool
50° 70° 90° 100°

Toluène
ou xylène

Paraffine



1-Prélèvement

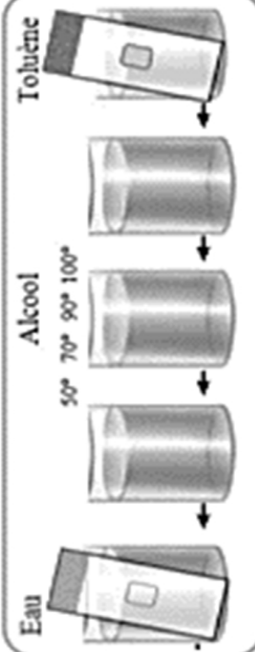
2-Fixation

3-Dehydratation

4-Imprégnation

5-Inclusion
paraffine

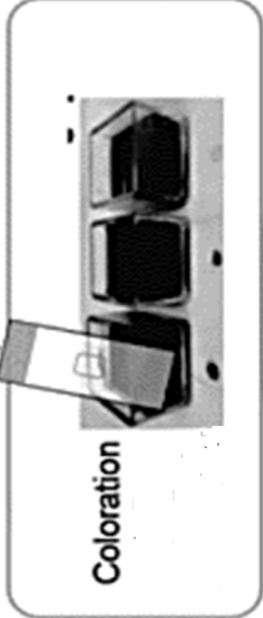
6-Mise en bloc



9-Réhydratation

8-Deparaffinage

7- Confection de
coupe histologique



Coloration



Au microscope optique

- Grossissements (objectifs) : x2
- x10, x20, x40, voire x100



11-Montage et Observation



10-Coloration

