Centre d'Etudes Doctorales : Sciences et Techniques et Sciences Médicales

Avis de Soutenance

THESE DE DOCTORAT

Présentée par

Madame FATIMA EZZAHRA ELOUMARI

Discipline : Biomédecine et pathologies humaines
Spécialité : Pharmacologie

Sujet de la thèse

Towards an herbal grug for the prevention and treatment of urolithiasis

Formation Doctorale " Sciences Médicales et Recherche Translationnelle"

Thèse présentée et soutenue **le mercredi 12 juillet 2023 à 10h** à la Faculté de Médecine et de Pharmacie et Médecine Dentaire de Fès, devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Titre	Etablissement	
Mohamed EL HASSOUNI	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mehraz de Fès	Président
Noureddine ELAOUAD	PES	Faculté Polydisciplinaire de Larache	Rapporteur
Touria ZAIR	PES	Faculté des Sciences de Meknès	Rapporteur
Sanae ACHOUR	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie et Médecine Dentaire de Fès	Rapporteur
Basmat Amal CHOUHANI	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie et Médecine Dentaire de Fès	Examinateur
Amina BARI	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mehraz de Fès	Examinateur
Tarik SQALLI HOUSSAINI	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie et Médecine Dentaire de Fès	Directeur de Thèse
Dalila BOUSTA	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mehraz de Fès	Co-Directeur de Thèse

Laboratoire de recherche : Epidémiologie et Recherche en Sciences de la Santé
Etablissement : Faculté de Médecine et de Pharmacie et Médecine Dentaire de Fès

Résumé de la thèse

La lithiase urinaire est une maladie connue depuis l'Antiquité. Elle est multifactorielle, récidivante et peut conduire à l'insuffisance rénale et à la perte de la fonction rénale dans certains cas. L'objectif de notre travail est de sélectionner une plante médicinale marocaine pour traiter les calculs urinaires et de mettre en évidence ses propriétés pharmacologiques in vitro et in vivo contre les cristaux d'oxalate de calcium. Trois plantes ont été choisies.

Notre étude a porté tout d'abord sur l'évaluation de la composition chimique de ces plantes (extraits totaux et fractions polyphénoliques) par analyse GC/MS. Ensuite, l'étude de l'activité anti-lithiasique de l'extrait total ainsi que les fractions polyphénoliques in vitro contre les cristaux d'oxalate de calcium. Ensuite, nous avons étudié cette activité in vivo contre les calculs rénaux induits par l'éthylène glycol dans le modèle animal des rats Wistar, le profil de prédiction de toxicité ADMET a également été étudié in silico. Une autre activité a été évaluée, à savoir l'effet antibactérien contre les calculs de struvite induits par des souches bactériennes et l'activité anti-struvite des polyphénols.

Les résultats obtenus ont montré que les extraits avait un potentiel de dissolution remarquable ($p < 0,05$) par rapport aux autres extraits après deux semaines. La perte de masse pour les extraits d'A.S (L.) et A.G était respectivement de 23,8 ± 2,12 mg (taux de dissolution (DR) = 60,86 ± 1,48%) contre 1,8 ± 0,85 mg (DR=1,73 ± 0,1%). Après 6 semaines, le taux de dissolution obtenu par l'extrait d'A.S (L.) était de 86,38 ± 1,06 % contre 81,41 ± 7,4 % pour le citrate de potassium. En revanche, il ne dépassait pas 3,23 ± 0,23 % pour l'extrait de gomme arabique. L'effet sur le taux d'inhibition de la nucléation de l'oxalate de calcium a montré que le tourteau d' A.S (L.) a inhibé la nucléation avec un pourcentage allant de 83,78 ± 2 % à 80,06 ± 2,22 %, ($R = 0,99$; $p < 0,005$).Par ailleurs, le taux d'inhibition de la nucléation de l'extrait de A.G a varié de 27,79 ± 1,6 à 0,5 mg/mL à 43,77 ± 3,8 à 1 mg/mL ($R = 0,95$; $p < 0,005$). Les fractions de polyphénols et de saponines présentaient toutes deux un pourcentage d'inhibition de la nucléation à peu près similaire. Les polyphénols de romarin ont inhibé l'étape de nucléation avec un pourcentage allant de 70 ± 0,94 % à 80 ± 3,5 %, ce qui est relativement similaire à la Cit.K à la concentration de 0,5mg/ml, avec $R > 0,97$ et CV <10 %. Les résultats de l'activité antibactérienne ont montré que la fraction de saponine avait une CMI allant de 12,5 à 50 mg/ml sur les deux bactéries (Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae). En revanche, la CMI de la fraction polyphénolique n'est que de 50 mg/ml pour les deux bactéries. La fraction polyphénolique de R.O P présente une activité antibactérienne contre trois souches bactériennes, à savoir Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus et Escherichia coli. L'activité anti-struvite a révélé une diminution significative du nombre de cristaux en présence des fractions testées. D'autre part, des cristaux agrégés plus nombreux ont été observés en présence du contrôle positif (cystone).

L'effet des fractions testées in vivo sur les paramètres sériques a montré, une augmentation de la créatinine, de l'urée et du calcium chez le groupe EG, par rapport au groupe témoin. L'administration

simultanée de fractions ou de cystone a diminué de manière significative la créatinine, l'urée et le calcium sériques par rapport au groupe EG, à l'exception du groupe traité avec A.S P-C à une dose de 50mg/kg. En revanche, le taux de magnésium a augmenté dans tous les groupes traités pour atteindre sa valeur normale. En ce qui concerne le profil hépatique, les niveaux d'ALT et d'AST ont augmenté de manière significative ($p < 0,05$) dans le groupe EG par rapport au groupe témoin. Cependant, aucune des fractions testées n'a eu d'effet sur les niveaux d'AST. Les protéines totales n'ont pas montré de changement statistiquement significatif dans les groupes traités. L'analyse histopathologique des reins n'a révélé aucun dépôt d'oxalate de calcium ni aucune autre anomalie dans le segment du néphron des groupes traités. En revanche, plusieurs dépôts d'oxalate de calcium à l'intérieur des tubules et une dilatation des tubules proximaux ainsi que des inflammations interstitielles ont été observés dans le tissu rénal des rats du E.G, accompagnés d'un foyer microglomérulaire aigu. L'analyse du profil ADME-Toxicité des polyphénols du tourteau. montre que les cinq molécules ont une bonne absorption intestinale humaine (IHA supérieure à 74 %), une bonne distribution définie par la perméabilité à la barrière hémato-encéphalique (BHE). Elles ne présentent aucun effet inhibiteur sur les cytochromes. Selon le test AMES, les cinq molécules sont considérées comme des inhibiteurs non toxiques. L'analyse du profil ADME-Toxicité de R.O (L.) confirme que tous les composés chimiques font partie de l'œuf d'Egan jaune, à l'exception de certains composés. Il a donc été prévu qu'ils traversent passivement la barrière hémato-encéphalique (BHE). Le composé chimique marqué C4 ne devrait pas être évacué du système nerveux central (SNC) par la P-glycoprotéine. Ensuite, les propriétés pharmacocinétiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité (ADMET) confirment à nouveau que les inhibiteurs candidats ont été prédits sans toxicité, puisque la toxicité AMES, l'hépatotoxicité et la sensibilisation cutanée ont été prédites négativement. En outre, ils ont été prédits avec une absorption intestinale humaine (HIA) supérieure à 90 %.

Enfin, sur la base des résultats du modèle in vivo et de la prédiction in silico de l'ADMET, les polyphénols d'AS atténuent les calculs d'oxalate de calcium à la dose de 25 mg/kg, mais peuvent provoquer certains des effets secondaires à la dose de 50 mg/kg. D'autre part, les polyphénols de R.O diminuent les cristaux d'oxalate de calcium à la dose de 50 mg/kg sans aucun effet secondaire. Les deux fractions ont également un effet inhibiteur significatif sur les cristaux de struvite ainsi que les bactéries qui induisent ce type de lithiase. Cependant, d'autres études devraient être menées sur l'ancrage des molécules présentes dans les fractions étudiées ainsi que sur l'étude de leur toxicité.

Mots clé : lithiase urinaire ; plantes médicinales ; in vivo ; GC/MS ; ADMET