

République Algérienne Démocratique & Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et la Recherche scientifique
Université Dr Tahar-Moulay de Saida



Faculté de Science
Département de Biologie

Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option : Biochimie & Physiologie cellulaire

Thème :

Expérimentations sur les activités de l'extrait hydro-alcoolique des racines *d'Urtica dioica* contre l'hypertrophie bénigne de la prostate induite chez des souris par la testostérone et un régime hypercalorique. Etudes phyto-chimique, biologique et histologique.

Présenté par :

Mlle MEBARKI Daouia Hanane
Mlle KERRACH Khadidja

Soutenu le 14 / 07 /2019 devant le jury :

Président : Mr LASRI Boumediene	Prof	Université de Saida
Examineur : Mr TERRAS Mohamed	MCA	Université de Saida
Examineur : Mr RACHEDI Abdelkrim	MCA	Université de Saida
Encadreur : Mr BERROUKCHE Abdelkrim	Prof	Université de Saida

Année universitaire : 2018 – 2019

Remerciements

En premier lieu, nous tenons à remercier le grand Dieu qui nous à aidée et nous a donné le courage, la santé, la patience pour pouvoir réaliser ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements à notre encadreur, **Mr BERROUKCHE Abdelkrim**, pour l'aide compétent qu'il nous apporté, pour sa patience, sa confiance, son encouragement pour structurer ce travail et pour améliorer la qualité des différentes sections de notre mémoire, nous Le remercions vivement.

Nous remercie ainsi les membres de jury d'avoir accepté examiner ce modeste travail, A Monsieur le président **Dr Mr LASRI Boumediene**. D'avoir honoré ce jury ainsi que l'examineur **Dr TERRSS Mohamed** et **Dr RACHEDI Abdelkrim** d'avoir mettre en valeur notre travail.

Nos vifs remerciements vont également à **Mr Hamadi Habib**, **Mr Barken Rachide** et **Boubakri Abbes**

Un grand remerciement pour **Mr Boudou Farouk** et **Mr Fidah Haji**

Nous remercions tous les enseignants du département de **la Biologie** ainsi que les enseignants de **la biochimie et physiologie cellulaire**

Un remerciement exceptionnel à tous mes amis, et tous les étudiants de **master 2** de la **promotion 2019**.

Au terme de ce travail, il nous est agréable de remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce mémoire

Hanane et Khadîdja

Dédicace

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux Personnes les plus chères au monde, mes chers parents pour leurs amour Et bonté et que sans eux je n'aurai jamais pu atteindre mon objectif, que Dieu me les garde

** Mes chers frères : Mohamed Seddik, Djelloul, et Youcef*

** Ma chère grande mère Heddi Maghnia*

** Mes tantes, Mes oncles*

** Mes cousines Khadidja et Bouchra*

** Toute la famille Mébarki et Heddi*

** Ma chère copine et mon binôme Khadidja*

** Tous ceux qui me connaissent*

** À toute la promotion 2019*

Hanane

Je dédie ce travail :

*Mes parents qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout le long de
mes études*

Je dédie mes sœurs dont la disponibilité fut sans égal

Khaira, Aicha, Amina

** Toute la famille Kerrache et Cherifi*

**Je dédie à mon binôme Hanane qui a cru en moi jusqu'au bout et qui à toujours
était à mes cotés.*

**A tous mes proches et amies : Salima, Souhila, Imane, Hanane*

** A tous mes collègues et amis pour leurs conseils et leur soutien précieux.*

** A tous ceux qui me sont chers*

Khadîdja

Expérimentations sur les activités de l'extrait hydro-alcoolique des racines d'*Urtica dioica* contre l'hypertrophie bénigne de la prostate induite chez des souris par la testostérone et un régime hypercalorique. Etudes phytochimique, biologique et histologique.

Résumé

Introduction : L'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) est l'une des plus fréquentes pathologies affectant le système urogénital de l'homme âgé. *Urtica dioica* ou ortie, plante riche en antioxydants, est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les symptômes urinaires de l'HBP. **Objectif :** c'est d'évaluer l'extrait hydro-alcoolique des racines de l'ortie (ORT) contre HBP induite chez la souris par la testostérone et un régime hypercalorique. **Matériel et méthodes :** L'activité anti-oxydante de l'extrait des racines de l'ortie et le dosage des polyphénols ont été réalisés. Une expérimentation *in vivo* a englobé des dosages biochimiques et une étude histologique de la glande prostatique. Une population de 16 souris males répartis en 4 groupes ; un groupe témoin (TEM), un groupe (TESTO) recevant une injection intrapéritonéale de testostérone (0,5 mL / semaine) et sous un régime alimentaire hypercalorique, un groupe (TESTO-ORT) recevant la testostérone et 0,2 mL d'extrait hydro-alcoolique des racines d'ortie (14,8 mg/mL) et sous régime hypercalorique et un groupe (ORT) recevant l'extrait de l'ortie. **Résultats :** Le taux d'inhibition et la concentration de polyphénols étaient respectivement de 21,3 % et 60,3 d'acide gallique µg/mL. Le poids corporel des souris (TESTO) était de $41,15 \pm 1,62$ g à l'inverse du groupe TESTO-ORT qui avait un poids de $36,64 \pm 1,38$ g. Une diminution de la glycémie chez TESTO-ORT ($0,84 \pm 0,13$ g/L) était observée comparativement au TESTO ($1,09 \pm 0,32$ g/L). L'antigène spécifique de la prostate (PSA) était élevé chez TESTO (0,25 ng/mL) et moins élevée chez TESTO-ORT (0,18 ng/mL). Dans le TESTO, les glandes prostatiques et le tissu fibromusculaire présentaient un aspect hypertrophié alors que les animaux traités avec l'extrait de l'ortie avaient des glandes moins larges et des acini de forme régulière. **Conclusion :** *Urtica dioica* a un effet préventif chez les souris atteintes d'HBP probablement agissant par un système de défense antioxydatif.

Mots clés : Hypertrophie bénigne de la prostate ; *Urtica dioica* ; Testostérone ; Régime hypercalorique ; Antigène spécifique de la prostate

Experiments on *Urtica dioica* roots hydro-alcoholic extract activities against testosterone and a hyper-caloric diet induced mice benign prostatic hypertrophy; Phyto-chemical, biological and histological studies.

Abstract:

Introduction: Benign prostatic hypertrophy (BPH) is one of the most common pathologies affecting the urogenital system of the elderly man. *Urtica dioica* or nettle, a plant rich in antioxidants, is used in traditional medicine to treat the BPH urinary symptoms. **Objective:** to assess the hydroalcoholic extract of nettle root (NET) against BPH induced in mice by testosterone and a high calorie diet. **Materials and methods:** Antioxidant activity of nettle root extract and polyphenol assay were performed. *In vivo* experimentation included biochemical assays and histological study of the prostate gland. A population of 16 male mice divided into 4 groups; a control group (CON), a group (TESTO) receiving an intraperitoneal injection of testosterone (0.5 mL / week) and a high calorie diet, group (TESTO-NET) receiving hormone and 0.2 mL of hydroalcoholic extract of the nettle roots (14.8 mg / mL) and hypercaloric diet and a group (NET) receiving the extract of nettle. **Results:** The inhibition rate and the polyphenol concentration were respectively 21.3 % and 60.3 $\mu\text{g} / \text{mL}$ gallic acid. The body weight of the mice (TESTO) was 41.15 ± 1.62 g, in contrast to the TESTO-NET group which weighed 36.64 ± 1.38 g. A decrease in blood glucose in TESTO-NET (0.84 ± 0.13 g / L) was observed compared to TESTO (1.09 ± 0.32 g / L). Prostate-specific antigen (PSA) was increased in TESTO (0.25 ng / mL) and decreased in TESTO-NET (0.18 ng / mL). In TESTO, prostatic glands and fibro-muscular tissue exhibited an enlarged appearance whereas animals treated with nettle extract had narrower glands and acini of regular shape. **Conclusion:** *Urtica dioica* has a preventive effect in mice with BPH probably acting by an antioxidative defense system.

Key words: Benign prostatic hypertrophy; *Urtica dioica*; Testosterone; Hypercaloric diet; prostate specific antigen.

اختبارات تجريبية على نشاطات المستخلص المائي الكحولي للجذور *Urtica dioica* ضد تضخم البروستاتا الحميد عند الفئران الناجم عن التستوستيرون ونظام غذائي مفرط السعرات الحرارية . الدراسات النباتية والكيميائية والبيولوجية والنسجية.

ملخص

مقدمة: تضخم البروستاتا الحميد (BPH) هو واحد من الأمراض الأكثر شيوعاً التي تؤثر على الجهاز البولي التناسلي للرجل المسن. يستخدم *Urtica dioica* أو نبات القراص ، وهو نبات غني بمضادات الأكسدة ، في الطب التقليدي لعلاج أعراض المسالك البولية. **الهدف:** تقييم المستخلص المائي للكحول من جذر نبات القراص (ORT) ضد البروستاتا الحميد الناجم عن الفئران عن طريق التستوستيرون واتباع نظام غذائي عالي السعرات الحرارية. **المواد والطرق:** تم إجراء نشاط مضاد للأكسدة في خلاصة جذر نبات القراص وفحص البوليفينول. شملت التجارب في الجسم الحي فحوصات كيميائية حيوية ودراسة نسيجية لغدة البروستاتا. يبلغ عدد سكانها 16 الفئران الذكور مقسمة إلى 4 مجموعات. مجموعة مراقبة (TEM)، مجموعة (TESTO) تتلقى حقنة داخل الصفاق من هرمون التستوستيرون (0.5 مل / أسبوع) واتباع نظام غذائي عالي السعرات الحرارية ، ومجموعة تلقي هرمون تستوستيرون (TESTO-ORT) و 0.2 مل من هرمون تستوستيرون مستخلص كحول مائي لجذور نبات القراص (14.8 ملغم / مل) ونظام غذائي مفرط السعرات الحرارية ومجموعة (ORT) يتلقون خلاصة نبات القراص. **النتائج:** كان معدل تثبيط وتركيز البوليفينول على التوالي 21.3 % و 60.3 ميكروغرام / مل حمض الغال. كان وزن جسم الفئران 41.15 ± 1.62 (TESTO) جم ، على عكس مجموعة TESTO-ORT التي تزن 36.64 ± 1.38 جم. وقد لوحظ انخفاض في نسبة الجلوكوز في الدم في TESTO-ORT (0.13 ± 0.84 جم / لتر) مقارنة مع TESTO (0.32 ± 1.09 جم / لتر). كان مستضد البروستاتا الخاص (PSA) مرتفعاً في TESTO (0.25 نانوغرام / مل) وأقل في TESTO-ORT (0.18 نانوغرام / مل). في TESTO ، أظهرت الغدد البروستاتية والأنسجة الليفية العضلية مظهرًا موسعًا في حين أن الحيوانات التي عولجت باستخدام مستخلص القراص كانت بها غدد أضيق وأسبغ ذات شكل منتظم. **الخلاصة:** *Urtica dioica* له تأثير وقائي في الفئران مع احتمال عمل BPH بواسطة نظام دفاعي مضاد للأكسدة.

الكلمات الرئيسية: تضخم البروستاتا الحميد. *Urtica dioica*. هرمون تستوستيرون. نظام غذائي مفرط السعرات الحرارية. مستضد معين من البروستاتا

Sommaire

Introduction générale.....1

Chapitre I : Présentation de la plante « *Urtica dioica* »

1-Historique	03
2-Origine	03
3-Description générales.....	03
4-Habitat et culture.....	04
5-Répartition géographique de l'Ortie dioïque.....	04
6-Aspect botanique.....	05
7-Position de l'espèce.....	05
8-Différents types de la plante.....	05
9-Composition chimique.....	05
9-1-Composition chimique des parties aériennes.....	06
9-2-Composition chimique des racines.....	06
9-3-Composition chimique des poils urticants.....	06
10-Principales utilisations thérapeutiques.....	06
10-1-Utilisation thérapeutique traditionnel.....	06
10-2-Utilisation thérapeutique actuelle.....	07
10-3-Effets indésirables.....	08
11-Toxicité.....	09

Chapitre II : Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

1-Prostate.....	10
1-1-Définition.....	10
1-2-Structure.....	10
1-3 -Anatomie et histologie.....	11
1-4-Epithélium prostatique.....	12
2-Physiologie.....	13

2-Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

2-1-Introduction.....	14
2-2-Définition de l'hypertrophie de la prostate.....	15

3-Physiopathologie et étiologie.....	15
3-1-Développement de l'hypertrophie.....	16
3-2-Obstruction de la vessie.....	17
3-3-Symptômes de l'HBP.....	18
4-Traitement de l'hypertrophie bénigne de la prostate.....	18
4-1-Abstention et surveillance.....	18
4-2-Traitement médical.....	19
4-3-Phytothérapie.....	20

Chapitre III : Partie expérimentale

Objectif	23
-----------------------	-----------

1-Matériel végétal.....23

1-1-Récolte des feuilles de la plante « <i>Urtica dioica</i> ».....	23
1-2-Identification de la plante.....	23
1-3-Préparation de l'extrait hydroalcoolique des racines d' <i>Urtica dioica</i>	25
1-4- Détermination du rendement d'extraction.....	27
1-5-Activité antioxydante de l'extrait hydroalcoolique des racines d' <i>Urtica dioica</i>	27
1-5-1-Test de piégeage du radical libre DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazine).....	27
1-5-2-Teneur des polyphénols totaux.....	27

2- Expérimentation animal.....28

2-1-Préparation des animaux.....	28
2-2-Design expérimental.....	30
3-Analyses biochimiques.....	31
3-1-Prélèvements sanguins.....	31
3-2-Dosage de la glycémie (ou glucose sanguin).....	31
3-3- Dosage de l'urée	32
3-4-Dosage de la créatinine.....	32
3-5-Dosage du cholestérol.....	32
3-6-Dosage des transaminases (TGO-TGP).....	33
4-Dosages hématologiques.....	33
5-Dosage de l'antigène spécifique de la prostate (PSA).....	33
6-Etude histologique.....	34
6-1-Etude macroscopique.....	34
6-2-Etude microscopique.....	35

7-Analyses statistiques.....	36
------------------------------	----

Résultats et interprétation

1-Rendement d'extraction.....	37
2-Etude phyto-chimique.....	37
2-1-Activité anti-oxydante et piègeur de l'extrait d'ortie contre les radicaux DPPH.....	37
2-2-Détermination du taux des polyphénols totaux de l'extrait des racines d'ortie	38
3-Etude des paramètres anthropométriques.....	39
3-1-Variation du poids corporel.....	39
3-2-Variation du gain de poids corporel (%).....	39
4-Etude des paramètres biologiques.....	40
4-1-Paramètres biochimiques (Glycémie & profil lipidique).....	40
4-1-1-Variation de la concentration sanguine du glucose (Glycémie).....	40
4-1-2-Variation de la concentration sérique des triglycérides (TG).....	41
4-1-3-Variation de la concentration sérique du cholestérol total.....	42
4-2-Paramètres hépatiques (Variations sériques des transaminases TGO et TGP).....	43
4-3-Paramètres rénaux (Variation des taux plasmatiques de l'Urée & la Créatinine).....	45
4-4-Dosage sérique de l'antigène spécifique de la prostate (PSA).....	47
4-5-Paramètres hématologiques (Hématies, hémoglobine, lymphocytes & polynucléaires)...48	
5-Etude histologique.....	49
5-1-Examens macroscopiques.....	49
5-2-Examens microscopiques.....	50

Discussion.....	52
------------------------	-----------

Conclusion	55
-------------------------	-----------

Références bibliographiques.....	56
---	-----------

Annexe I	63
----------------	----

Annexe II.....	64
----------------	----

Annexe III.....	65
-----------------	----

AnnexeIV	66
----------------	----

Liste des Tableaux

Numéro	Titre	Pages
1	Propriété thérapeutique d' <i>Urtica dioica</i>	07
2	DL50 des différents extraits d' <i>Urtica dioica</i>	09
3	Etude des variations de l'ensembles des paramètres anthropométrique, biochimique et hématologiques des animaux traités avec l'hormone testostérone, l'extrait hydro-alcoolique (méthanol) des racines de la plante <i>Urtica dioica</i> sous un régime alimentaires hypercalorique (chocolat et fromage).	49
4	Caractéristiques morphologiques du tissu prostatique chez les différents groupes d'animaux.	50

Liste des Figures

Figure 01: <i>Urtica dioica</i>	04
Figure02 : Localisation de la prostate dans le corps humain.....	10
Figure 03 : Représentations schématiques de l'anatomie de la prostate.....	12
Figure 04 : le développement de la prostate.....	17
Figure05: Mécanisme d'action et cibles des différents médicaments.....	20
Figure06: Mécanisme d'action possible de l'Ortie dans l'hypertrophie bénigne de la prostate.....	22
Figure07 : Livres consultés pour confirmer l'identification de la plante <i>Urticadioica</i>	24
Figure 08: Application « PlantNet Identification Plante » utilisée pour confirmer l'identification de la plante <i>Urtica dioica</i>	24
Figure 09 : protocole de la préparation de l'extrait hydroalcoolique des racines d' <i>Urtica,dioica</i>	26
Figure10 : un groupe de souris répartis en 4 compartiments.....	29
Figure 11 : Injection intrapéritonéale de la testostérone à une souris male.....	29
Figure 12: Design expérimental.....	30
Figure 13 : Prélèvement oculaire du sang chez une souris.....	31
Figure 14 : Dissection d'une souris.....	34
Figure 15 : tissus suspects prélevés.....	35
Figure 16. : Taux d'inhibition (%) du radical DPPH selon les différentes concentrations de l'extrait.....	37
Figure 17 : Taux d'inhibition (%) du radical DPPH selon les différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	38
Figure 18: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	38
Figure19 : Détermination du poids corporel moyen chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie.....	39
Figure20 : Détermination du gain de poids chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie.....	40
Figure 21 : Détermination de la glycémie moyenne chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie.....	41

Figure 22 : Détermination du taux sanguin moyen des triglycérides chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie.....	42
Figure 23 : Détermination du taux sanguin moyen du cholestérol total chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie.....	43
Figure 24 : Détermination du taux sanguin moyen du TGO chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie.....	44
Figure 25 : Détermination du taux sanguin moyen de TGP chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie.....	45
Figure 26 : Détermination du taux sanguin moyen de l'urée chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie.....	46
Figure 27 : Détermination du taux sanguin moyen de la créatinine chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie.....	47
Figure 28 : Détermination du taux sanguin moyen du PSA chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie.....	48
Figure 29 : Examens microscopiques histologiques des glandes prostatiques des souris (Témoins, souris exposées à la testostérone, souris traitées avec l'extrait hydro-alcoolique des racines de l'ortie).....	51

Liste des abréviations

HBP : Hypertrophie bénigne de la prostate

DL50 : Dose létale médiane

PSA : Antigène Spécifique de la Prostate

PAP : Phosphatase Acide spécifique de la Prostate

AR : Récepteur Androgènes

Mg : Magnésium

Zn : Zinc

DHT : DiHydroTestostérone

TUBAs : Troubles Urinaires du Bas Appareil urinaire

IPSS : indice de symptôme de la prostate

QV : Qualité de Vie

SBAU : Symptômes du Bas Appareil Urinaire

SHBG: Sex Hormon Binding Globulin

COX: cyclooxygénase

TNF : Tumeur necrosis factor

ADA : l'activité de l'adénosine désaminase

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine

Abs : absorbance

EDTA: Éthylène diamine tétra acétique

GOD: glucose oxydase

POD: peroxydase

TGO: Glutamo oxaloacétate Transférase

TGP: Glutamopyruvate Transférase

NIH: National Institutes of Health

TESO : Testostérone

TEM : Temoin

TESTO-ORT : souris traitées avec testostérone et la plante ortie

ORT :Ortie

TG : Triglycérides

FNS: Formule et Numération Sanguine

ESM : erreur standard de la moyenne

Pi : poids corporel initial,

Pf : poids corporel final

Introduction général

La fréquence de la plupart des maladies s'accroît avec l'âge, et une majorité de personnes âgées se trouvent atteintes de plusieurs pathologies au fur et à mesure de leur vieillissement.

(DUTHEIL et SCHEIDEGGER 2006)

Les pathologies prostatiques peuvent avoir un retentissement direct ou indirect sur la sexualité à visée reproductive. Si les diverses fonctions sexuelles peuvent être altérées, leur retentissement varie beaucoup selon l'âge. Ainsi, les conséquences sur la fertilité dues aux troubles de l'éjaculation, portent beaucoup plus à conséquence chez le sujet jeune (en âge de procréer) qu'après 50 ans.

L'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) aussi appelée hyperplasie ou adénome c'est-à-dire augmentation du volume de la prostate affectant en général les hommes âgés de plus de 50 ans. Plus de 50 % des hommes âgés de 60 ans en sont atteints, et 90 % de ceux de plus de 80 ans.

Cette glande du système reproducteur masculin, qui produit le sperme, grossit tellement qu'elle appuie sur le canal de l'urètre et la vessie, entraînant ainsi des difficultés à uriner **(Agnes, 2016)**.

Cette pathologie prostatique peut être traitée naturellement avec des plantes médicinales notamment avec l'ortie « *Urtica dioica* », en arabe dit « لسع », en anglais « nettle » et en algérien « الحريف ».

L'ortie est une herbe utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties végétales aérienne ou souterraine (feuilles, tige ou racines) peut être utilisée dans la prévention et le soulagement contre les douleurs et symptômes de l'HBP.

Les extraits et les huiles essentielles de cette plante médicinale sont connus pour leur pouvoir pharmacologique et propriétés anti-inflammatoire, anti-oxydante et antimicrobienne.

L'Ortie est en réalité une plante riche en vitamines, minéraux, polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, terpènes, saponines et tanins leur procurant de nombreuses vertus médicinales. Elle est également utilisée dans d'autres domaines comme l'art culinaire ou le textile.

La présente étude a été réalisée pour évaluer les effets préventifs des extraits hydro-alcooliques des racines d'*Urtica dioica* contre l'hypertrophie bénigne de la prostate induite chez des souris par l'injection de l'hormone testostérone et l'exposition à un régime hypercalorique à base de chocolat et fromage.

Notre projet renferme différentes parties à savoir

Introduction général

- Une revue bibliographique approfondie englobant deux chapitres, un sur la plante médicinale qui est l'ortie et l'autre sur la pathologie prostatique qui est l'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP).
- Une partie expérimentale répartie en une étude phyto-chimique et une étude in vivo.
- Interprétation des résultats obtenus et leur discussion tout en les comparant à une littérature riche en publications scientifiques nationales et internationales sur la santé par le naturel ou la médecine traditionnelle.

Chapitre I : Présentation de la plante

1-Historique

L'ortie, compagne des premiers campements préhistoriques, fut l'un des premiers légumes utilisés par l'homme, et même cultivé dès l'âge de pierre. Les bandelettes entourant les momies de l'Égypte ancienne étaient constituées de fibres d'ortie, (A-J. et B. Bertrand, 2001).

Dans la Grèce antique, au I^{er} siècle après Jésus-Christ, et Galien en soulignaient les propriétés diurétiques et laxatives et ont rapporté l'utilisation de l'ortie pour traiter l'asthme et certaines maladies de la rate. Le médecin grec Dioscoride décrivait déjà plusieurs utilisations possibles : ses feuilles fraîches pour les blessures infectées, son jus contre les saignements de nez, ses feuilles cuites mélangées à de la myrrhe pour provoquer les règles (Marie-Jo, 2005), (Gervais, 2005).

Une herboriste autrichienne du XX^{ème} siècle ''Maria Treben'' a dit que : « L'ortie remplace à elle seule toute une valise de médicaments » (Bertrand, 2005). Aujourd'hui, l'ortie est prescrite en cas de fièvre, d'arthrite, d'anémie et d'urticaire (Gervais, 2005).

2-Origine

L'ortie est originaire d'Eurasie. Elle est aujourd'hui répandue dans les zones tempérées sur tous les continents. L'ortie dioïque est indigène au Canada (Fontaine, 2010). L'ortie préfère les sols humides et riches, ainsi que les lieux où la terre a été cultivée.

Le terme *Urtica* tire son nom du latin *uro* ou *urere* qui signifie « je brûle », allusion à ses poils urticants dont le contact est très irritant. Le terme *dioica* vient de *dioïque*, ce qui signifie que les fleurs mâles et les fleurs femelles se trouvent sur des pieds séparés (Dufresne et Ouelle, 2009).

3-Description générales

L'Ortie dioïque est aussi appelée « Grande Ortie », « Ortie commune » ou « Ortie vivace ». L'Ortie est une plante élancée, mesurant de 60 à 90 cm de haut et pouvant dépasser 1 m 50... (Draghi, 2005) Elle se caractérise par des feuilles simples à long pétiole opposées deux à deux, de couleur verte foncée en raison de leur richesse en chlorophylle (Moutsie, 2008) et ses petites fleurs en grappes ou en « boulettes » de couleur verdâtre (Draghi, 2005).

Chapitre I : Présentation de la plante « urtica dioica »

Vivace, elle se propage rapidement grâce à ses organes souterrains constitués par des rhizomes cylindriques de 3 à 10 mm d'épaisseur et de longues racines de 1 à 5 mm d'épaisseur pourvues d'un chevelu de fines racines (Draghi, 2005).

Les tiges sont plus ou moins raides, quadrangulaires et couvertes de poils urticants (Dufresne et Ouelle, 2009).

Le genre *Urtica* est donc caractérisé par la présence de poils unicellulaires de forme conique sur la face supérieure des feuilles et sur la tige (Draghi, 2005).



Figure 01: *Urtica dioica* (Bouayed Debbagh 2016).

4-Habitat et culture

L'ortie pousse dans les régions tempérées du monde. Les jeunes pousses sont récoltées au printemps. Aujourd'hui, elle est naturalisée sur tous les continents où il y a des zones tempérées. Préférant un sol riche en azote, elle peut s'élever jusqu'à un mètre, et sa floraison, peu spectaculaire, se produit de juin à septembre. Elle colonise volontiers les abords des lieux habités qui sont négligés (Gervais, 2005).

5-Répartition géographique de l'Ortie dioïque

Parmi les espèces du genre, *Urtica dioica*, est la plus grande et la plus répandue. D'un vert sombre, elle est très commune en France, bien que plus rare en région Méditerranéenne. Elle est présente dans presque toutes les régions du monde de l'Europe et l'Afrique du Nord à l'Asie, ainsi qu'Amérique du Nord et du Sud et en Afrique du Sud. Elle est présente jusqu'à 2400 mètres d'altitude. Elle peut atteindre les sommets du Jura et du Massif Central, on la rencontre encore dans les Alpes et les Pyrénées (Draghi, 2005).

Chapitre I : Présentation de la plante « *urtica dioica* »

6-Aspect botanique

Nom latin : *Urtica dioica* L. Syn.

Noms français : Ortie dioïque, grande ortie, ortie piquante, ortie élevée.

Noms anglais: Nettle, Common Nettle, Stinging Nettle, Tall Nettle, Slender Nettle, Great Nettle (**Dufresne et Ouelle, 2009**).

Nom arabe : Hurrayq (**BOUGAR et BELKACEM KOURMI 2016**)

7-Position de l'espèce

Règne : Plantae (plantes)

Sous-règne : Tracheobionta (plantes vasculaire)

Embranchement : Magnoliophyta (phanérogames)

Sous-embranchement : Magnoliophytina (angiospermes)

Classe : Magnoliopsida (dicotyledones)

Sous-classe : Rosidaea (plantes vasculaire)

Sous-classe : Rosidaea (plantes vasculaire)

Sous-classe : Rosidaea (plantes vasculaire)

Ordre : Ueticales

Famille : Urticacées, Urticaceae (**Dufresne et Ouelle, 2009**)

Genre : *Urtica* L.

Espèces : *Urticadioica*

8-Différents types de la plante

L'ortie fait partie de la famille des Urticacées. Comptant près d'une cinquantaine de genres et 700 espèces, la famille des Urticacées est présente partout dans le monde. Il en existe 4 à 6 espèces en France mais la Grande Ortie ou Ortie dioïque (*Urtica dioica*.) est la plus commune de toutes. La Petite Ortie ou Ortie brûlante (*Urtica urens*.) se trouve également dans toute l'Europe bien qu'elle soit un peu plus localisée. (**A-J. et B. Bertrand2001**) (**Bertrand, 2005**).

9-Composition chimique

La composition chimique diffère selon la partie de plante que l'on étudie :

Chapitre I : Présentation de la plante « urtica dioica »

9-1-Composition chimique des parties aériennes

Les constituants des différentes parties aériennes (feuilles, tiges et fleurs) sont les flavonoïdes (1 à 2 %), des éléments minéraux (plus de 20 %) à savoir ; calcium, potassium et silicates partiellement solubles (1-4 %), des acides: acide caféique et ses esters, acide férulique et sinapique, acide caféylmalique (1,6 %), chlorogénique (trans-5-caféylquinique), citrique, fumarique, glycérique, malique, oxalique, phosphorique, quinique, succinique, thréonique et thréono-1,4-lactone, scopolétol, sitostérol, et sitostérol 3-O-β-D-glucoside, des lignanes (secoisolariciresinol- 3-hydroxy-α-ionol), glycoprotéines, lipides, sucres, acides aminés libres (30 mg/kg), tanins, traces de nicotine, une enzyme (cholineacétyl transférase) (**Draghi, 2005**).

9-2-Composition chimique des racines

-Lectine : phyto-hémagglutinines sont des glycoprotéines qui se lient à des groupements de sucres d'une manière hautement spécifique et sélective (**Draghi, 2005**).

-Phytostérols : stéroïdes et betasistosterol

-Lignanes

-composés phénoliques en C6-C3 (ac phénols, scopolétol, aldéhydes, alcools) et en C6-C2 (alcool homovanilique libre et glycosylé).

-Sels minéraux (**LERBET, 2017**).

9-3-Composition chimique des poils urticants

L'action urticante est due au liquide contenu dans les poils. Ce liquide est libéré au moindre choc après rupture de l'extrémité des poils, qui deviennent ainsi une véritable aiguille hypodermique. Les constituants de cette partie sont : l'acétylcholine, l'histamine et la 5-hydroxy-tryptamine (la sérotonine). Et une petite quantité de leucotriènes. (**Draghi, 2005**).

10-Principales utilisations thérapeutiques

10-1-Utilisation thérapeutique traditionnel

L'ortie est un remède traditionnel utilisé depuis des années contre l'anémie et le manque d'énergie. On dit que c'est un excellent fortifiant grâce à sa haute teneur en fer et autres minéraux. On dit aussi qu'elle stimule les fonctions digestives (lourdeurs et crampes d'estomac) (**Wichtl et Anton, 2003**).

La tisane d'ortie est toujours proposée par les phytothérapeutes comme remède traditionnel pour la goutte et les rhumatismes. En Allemagne, la tisane d'ortie est utilisée comme diurétique léger, mais elle n'est pas suffisamment puissante pour être associée à un traitement

Chapitre I : Présentation de la plante « urtica dioica »

de l'hypertension ou les problèmes cardiaques. Alors qu'en Russie, l'ortie est aussi employée pour les troubles biliaires et hépatiques (Bouayed Debbagh2016).

10-2-Utilisation thérapeutique actuelle

L'ortie dioïque appartient au monopole pharmaceutique. Elle est inscrite sur la liste des plantes médicinales retenues comme telles par la Pharmacopée dans le monde entier.

Aujourd'hui les propriétés médicinales de l'ortie sont reconnues de tous. La plupart des pratiques populaires ancestrales ont été confirmées par l'analyse et l'expérimentation. De nos jours, l'ortie rentre dans la composition d'une multitude de médicaments allopathiques et les recherches se poursuivent et viennent toujours confirmer certaines utilisations empiriques (Bouayed Debbagh2016).

Tableau01 : Propriété thérapeutique d'*Urtica dioica* (Bouayed Debbagh2016).

Propriétés Thérapeutiques	Actions
Traitement de cancer prostatique et d'hypertrophie bénigne de la prostate	Les effets de la racine d'ortie dans le traitement de l'HBP. (un effet comparable à celui de la tamsulosine).
Hypotenseur	Les racines d'ortie peuvent produire des réponses hypotensives à travers des effets vasodilatateurs, par la libération de l'oxyde d'azote endothélial et par l'ouverture des canaux potassiques, et à travers une action inotrope négative
Diurétique	Augmente le débit urinaire
Hépatoprotectrice, Dépurative,	Elimination des toxines accumulées dans l'organisme (urée- ions de chlorure). La feuille aide à ssainir autant la lymphe que le sang en

Chapitre I : Présentation de la plante « urtica dioica »

		diminuant l'acidité tout en régulant les facteurs inflammatoires.
Anti-anémique, Anti-agrégation plaquettaire	Anti-	Antifatigue grâce à la forte teneur en fer contenu dans la chlorophylle des feuilles.
Traitement de rhumatismes et Arthrose		Effet sur la maturation des cellules dendritiques myéloïdes humaines, avec diminution de l'induction la réponse des cellules T primaires du rhumatisme articulaire. Consolidation des cartilages grâce à sa richesse en Silice (surtout les racines)
Alopécie (chute des cheveux)		Stoppe la chute des cheveux. (surtout les Racines)

10-3-Effets indésirables

L'ortie ne doit pas être consommée en cas d'œdème par rétention due à une insuffisance cardiaque ou rénale. , l'ortie est incompatible avec un certain nombre de traitements médicamenteux, dont elle entrave ou au contraire accentue l'action, en particulier les diurétiques, les anti-inflammatoires, les anticoagulants, les sédatifs, de même que la digitaline et les traitements contre l'hypertension. Pour ce qui concerne le diabète, si la tradition considérait l'ortie comme l'un de ses remèdes, les études cliniques sont divergentes. La consommation de l'ortie n'est pas conseillée aux femmes enceintes ou qui allaitent, ainsi qu'aux enfants de moins de 12 ans (**Bouayed Debbagh2016**).

Chapitre I : Présentation de la plante « *urtica dioica* »

11-Toxicité

Les études toxicologiques ont montré que la DL50 (Dose létale médiane) de l'extrait aqueux des feuilles administré par voie intra péritonéale chez des souris est de 3,5 g / Kg

Tandis que la DL50 de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles administré par voie orale est de 5,77 g / Kg

Les études de toxicité réalisées sur les racines ont révélé que les valeurs des DL50 obtenues après injection intraveineuse de l'extrait aqueux et de l'infusé des racines chez le rat sont, respectivement 1,721 g/kg et 1,929 g/kg alors que la DL50 des extraits hydro-alcoolique administré par voie intra péritonéale est de 600mg/ kg. La dose toxique de l'huile fixe des graines d'ortie est supérieure à 12,8 ml/Kg. Enfin, La DL50 chronique par voie orale chez le rat est de 1,31g / kg (Ait Haj said et al.. 2016).

Tableau02 : DL50 des différents extraits d'*Urtica dioica* (Ait Haj said et al.. 2016).

	Extraits	Animaux testés	Voie d'administration	DL50 (mg/kg)	Références
Feuilles	Hydro-alcoolique	Souris	Orale	5770	[56]
	Aqueux	Souris	Intrapéritonéale	3500	[72]
Racines	Hydro-alcoolique	Rats	Intrapéritonéale	600	[82]
	Aqueux	Rats	Intraveineuse	1721	[81]
	Infusion	Rats	Intraveineuse	1929	[81]
	Infusion	Rats	Orale	>1310	[81]
Graines	Huiles fixes	Souris	Intrapéritonéale	> 12,8	[83]

Chapitre II : Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

1-Prostate

1-1-Définition

La prostate est une glande impaire, un organe génital male, présente uniquement chez l'homme. Sa fonction est de produire le liquide prostatique qui représente environ 30 % du sperme. Le liquide prostatique fluidifie le sperme et sert de nutriments pour les spermatozoïdes qu'il protège, par ailleurs. Il rend le sperme alcalin, ce qui permet aux spermatozoïdes de survivre dans le milieu acide du vagin de la femme.

La prostate se situe en-dessous de la vessie, en arrière du pubis, en avant de rectum. Elle entoure dans sa partie initiale, l'urètre, le canal par le quel sont expulsés l'urine et le sperme. Elle se trouve ainsi à la confluence formée par l'urètre des voies spermatiques. Elle est lui-même enveloppée dans un tissu conjonctif. Son volume croit de la naissance à la puberté pour se situer, pour un adulte sain, au poids de 20 à 25 g et la taille d'une balle de ping-pong (BILLARD 2018).

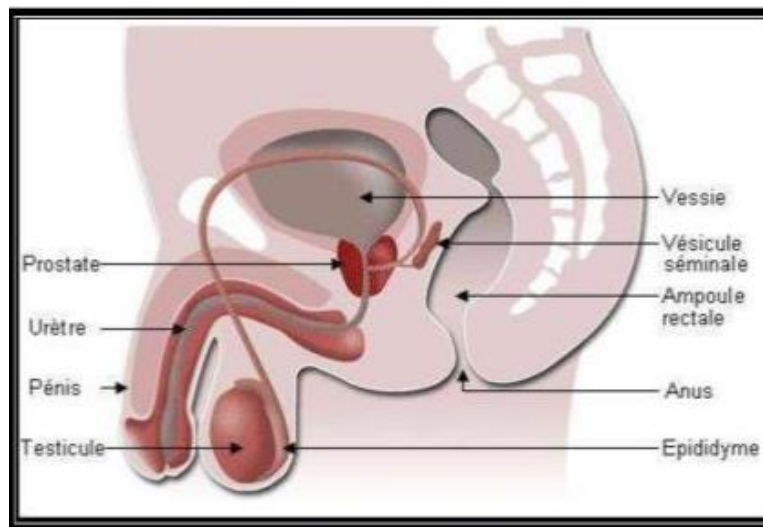


Figure02 : Localisation de la prostate dans le corps humain (BILLARD, 2018).

1-2-Structure

La prostate est constituée d'une capsule, d'un riche stroma myo-élastique et de glandes. La capsule est un tissu conjonctif dense et riche en fibres musculaires lisses. Elle entoure l'ensemble de la glande et émet des septums qui s'étendent partiellement pour dessiner des

Chapitre II : Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

lobules mal définis. Le stroma myo-élastique est caractérisé par la présence de faisceaux musculaires lisses entremêlés de tissu conjonctif. Il est aussi composé de vaisseaux de lymphatiques, de nerfs et de fibroblastes. Les glandes prostatiques, au nombre de 30 à 50, sont tubulo-alvéolaires et chacune d'elles peut être assimilée à une unité fonctionnelle ou lobule prostatique. Chaque unité comporte des acini constitués de cellules épithéliales sécrétoires hautement différenciées, responsables de la production de liquide prostatique. Elles sont disposées en trois groupes concentriques :

- un petit groupe de glandes muqueuses, s'ouvrant directement dans l'urètre ;
- un groupe de glandes sous-muqueuses, plus nombreuses, s'ouvrant dans l'urètre par des canaux courts.
- un groupe externe de glandes prostatiques principales, encore plus nombreuses, s'ouvrant dans l'urètre par des canaux longs.
- Les acini sont entourés d'une membrane basale qui les sépare du stroma (**POIRIER, 2009**).

1-3 -Anatomie et histologie

L'organisation anatomique de la prostate a fait l'objet de nombreuses études au cours du siècle dernier. Après la description des lobes prostatiques par Lowsley et al. en 1915, le modèle anatomique actuellement accepté est celui proposé par McNeal en 1981.

Chez l'homme, trois zones anatomiques et fonctionnelles ont été définies :

- Zone périphérique constitue plus de 70 % de la prostate glandulaire. Elle forme un disque de tissu dont les canaux rayonnent latéralement de l'urètre latéral et distal au *colliculus séminal* (ou *veru montanum* en ancienne nomenclature). La très grande majorité (plus de 85 %) des carcinomes se développent dans cette zone.
- Zone centrale constitue 25 % de la prostate glandulaire. Ses canaux se trouvent près des orifices du conduit éjaculatoire et suivent ces canaux et se ramifient latéralement près de la base de la prostate. Sa bordure latérale fusionne avec la bordure de la zone périphérique proximale, complétant en continuité avec la zone périphérique, un disque constitué de tissu sécréteur orienté dans un plan coronal. Elle est le siège de 5 % des cancers.

Entre les deux se trouve la zone de transition (5 % du volume prostatique glandulaire) qui contient les glandes dites mucosales. Elle est le site exclusif de l'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP), et le siège de 10% des cancers prostatiques (**ZABAIYOU, 2017**).

Chapitre II : Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

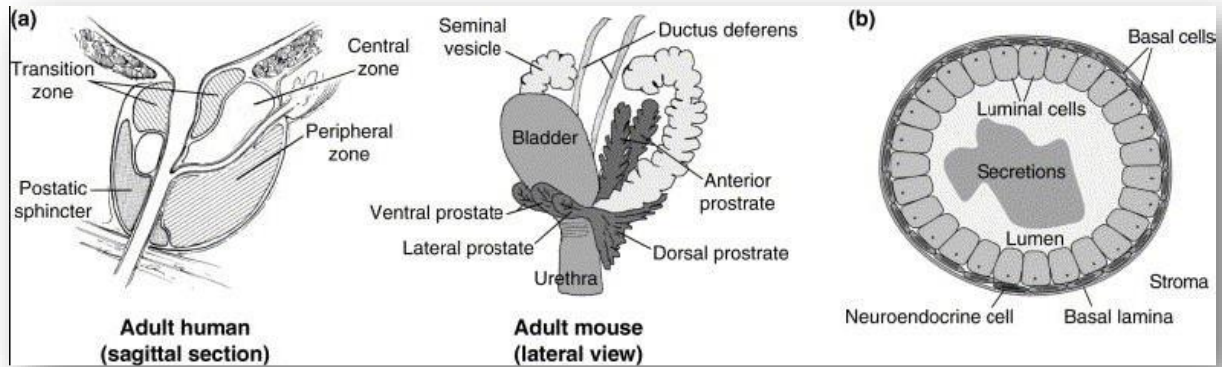


Figure 03 : Représentations schématiques de l'anatomie de la prostate. Comparaison schématique entre la prostate humaine (gauche) et la prostate de souris (La même chez le rat) (droite) (Abate-Shen et Shen, 2002).

Chez les rongeurs, à l'inverse, la prostate n'est pas constituée en une glande unique mais est séparée en 4 lobes doubles : antérieurs, dorsaux, latéraux et ventraux. Ces lobes sont disposés circonférentiellement autour de la vessie (Figure 3) et présentent des motifs caractéristiques de ramification canalaire et de production des protéines sécrétoires (Sugimura et al. 1986).

Même s'il n'existe pas une analogie claire entre la structure lobulaire de la prostate des rongeurs et l'architecture zonale de la prostate humaine, sur les bases anatomiques, pathologiques et moléculaires on considère que les lobes dorsolatéraux correspondent à la zone périphérique humaine, tandis que les lobes ventraux correspondent à la zone centrale (Berquin et al. 2005).

1-4-Epithélium prostatique

L'épithélium prostatique est caractérisé par la présence de 3 types de cellules.

-Les plus abondantes sont **les cellules luminales** sécrétrices. Ce sont des cellules androgéno-dépendantes qui produisent les protéines sécrétoires prostatiques, notamment l'antigène spécifique de la prostate (PSA), la phosphatase acide spécifique de la prostate (PAP), les polyamines et les prostaglandines. Ces cellules sont caractérisées par l'expression du récepteur aux androgènes (AR), de la cytokératine 8 et 18 et du marqueur de surface CD57 (okada et al. 1992)

- Le deuxième type cellulaire est les cellules basales. Elles incluent des cellules souches qui donnent naissance à plusieurs sous populations de cellules progénitrices.

Chapitre II : Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

Ces cellules expriment la cytokératine 5 et 14 ainsi que le marqueur CD44. Elles sont caractérisées par une faible expression des androgènes et ne produisent pas les protéines sécrétoires prostatiques (**Brawer et al. 1985; Nagle et al. 1987**).

-Le troisième type cellulaire est les cellules neuroendocrines. Ce sont des cellules androgénie dépendantes dispersées dans la membrane basale et, la sérotonine ainsi que divers autres neuropeptides, dont le rôle est la régulation de la croissance, de la différenciation et de l'activité sécrétrice de l'épithélium prostatique (**Abrahamsson, 1996**).

2-Physiologie

En raison de la localisation au carrefour des voies spermatiques et urinaires, la prostate est impliquée dans la miction, la fertilité et l'éjaculation. Les sécrétions prostatiques participent à la formation du sperme et constituent 30 % du volume du plasma séminal, soit 0,5 à 1 ml. Celui-ci est essentiellement composé de liquide sécrété par les vésicules séminales, les glandes bulbo-urétrales (glandes de Cowper) et la prostate. Les sécrétions prostatiques se présentent sous la forme d'un liquide blanchâtre, trouble, avec un pH acide de 6,4. Elles contiennent :

- protéines
- électrolytes (Mg, Zn)
- cholestérol contenu dans des vésicules membranaires de phospholipides (Prostasomes)
- acide citrique

Les principales protéines sont **l'antigène spécifique prostatique (PSA)**, la phosphatase acide prostatique, la protéine de sécrétion prostatique (spermine, qui donne son odeur au sperme) et l'albumine. L'antigène spécifique prostatique est une glycoprotéine, dont le poids moléculaire est de 34 kd. Sa fonction est de liquéfier le sperme en hydrolysant les protéines sécrétées par les vésicules séminales ; elle libère donc les spermatozoïdes du coagulum du sperme. Parmi les électrolytes sécrétés, le zinc joue un rôle important, antibactérien et dans la liquéfaction du sperme. Le pH acide du liquide prostatique est un facteur de vitalité et de mobilité des spermatozoïdes.

Le rôle physiologique de la prostate lors de la miction est probablement mineur. **La zone fibromusculaire antérieure**, en se relâchant, pourrait avoir une fonction de déverrouillage prostatique lors du déclenchement de la miction.

En ce qui concerne l'éjaculation, la prostate prend surtout une part active dans la première phase. Durant cette phase, la musculature lisse de la prostate, de l'épididyme, du canal

Chapitre II : Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

déférent et du canal éjaculateur se contracte et les différents constituants du sperme accumulent dans l'urètre prostatique. Ce dernier se dilate entre les sphincters lisses proximaux et strié distal et forme le sinus prostatique.

Lors de la deuxième phase de l'éjaculation, le rôle de la prostate est moindre. Le sphincter lisse du col est fermé tandis que le sphincter distal s'ouvre. Le sperme est projeté à travers le méat urétral sous l'effet des contractions de l'urètre, des vésicules séminales et des muscles du périnée. Les contractions compriment la prostate qui évacue une nouvelle quantité de liquide prostatique.

Chez le patient ayant subi une **adénomectomie prostatique**, le sphincter lisse est détruit et le col de la vessie reste béant. Lors de l'éjaculation, le sperme prend le chemin le plus facile : il reflue dans la vessie. C'est l'éjaculation rétrograde (**POIRIER, 2009**).

2-Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

2-1-Introduction

Les pathologies de la prostate peuvent être classées en deux groupes :

A- Les pathologies entraînant des modifications anatomiques et physiologiques :

- Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)
- Maligne : Cancer de la prostate

B - Les pathologies infectieuses de fréquence également importante :

- **Prostatite aiguë**
- **Prostatite chronique**

Outre les symptômes caractéristiques de chacune de ces pathologies, les complications qu'elles peuvent entraîner sont nombreuses et variées. Elles sont de deux ordres :

- mécaniques : compression des structures de voisinage, avec retentissement néfaste sur l'appareil génito-urinaire. Un cancer de prostate peut envahir les organes de voisinage (vessie, rectum) et produire des métastases (os, adénopathies) ;
- infectieuses : l'HBP peut se compliquer d'une cystite ou d'une prostatite. Les prostatites peuvent se compliquer de septicémie, d'abcès de la prostate.

Ces complications revêtent ainsi de nombreux aspects, dont certains peuvent mettre en jeu la survie du patient (**POIRIER, 2009**).

Chapitre II : Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

2-2-Définition de l'hypertrophie de la prostate

L'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) est une affection liée à l'âge qui affecte les hommes âgés à partir de 50 ans. (Nyamai et al. 2016). L'HBP est caractérisée par une augmentation du nombre des cellules épithéliales de la prostate

Du fait que la prostate entoure l'urètre, l'accroissement de la taille de la prostate peut bloquer le flux urinaire, il en résulte une difficulté à uriner avec augmentation de la fréquence. Il y a deux composantes dans ces symptômes ; d'une part, l'obstruction statique conséquence de l'augmentation de taille de la glande, d'autre part, l'obstruction dynamique due à l'activation des muscles lisses de la vessie.

Cette activité étant hormono-dépendante, l'approche thérapeutique comprend l'utilisation de médicaments qui altèrent l'action et la concentration de la testostérone, visant à réduire la taille de la prostate (obstruction statique) et d'antagonistes des récepteurs ah qui influent sur l'obstruction dynamique en diminuant la force des muscles (capasso et al.2003).

La testostérone est le principal androgène circulant. Elle est produite de façon quasi exclusive (plus de 95%) par les cellules de Leydig du testicule, situées autour et entre les tubes séminifères, qui représentent 5% du volume de la glande Le nombre maximum de cellules de Leydig, atteint peu après 20 ans, est de 500 millions par testicule (Nistal et al.1986). La sécrétion globale de testostérone est de 5 à 7,5 mg/24h chez l'homme adulte normal (Vierhapper H et al.2000). Le contenu en testostérone du testicule de l'homme adulte est d'environ 1 µg/g de testicule, ce qui montre que la quasi-totalité de la testostérone sécrétée est libérée dans la circulation (Winters S.J., Clark B.J. 2003).La testostérone stimule la croissance de la glande prostatique; elle est transformée par la Sa-réductase en dihydrotestostérone (DHT), qui est l'hormone androgène active dans la prostate. La DHT se lie à un récepteur spécifique, et ce complexe favorise la synthèse protéique, le métabolisme cellulaire et la division. La DHT augmente de 4 à 6 fois dans l'hypertrophie prostatique. L'action de la testostérone sur la prostate peut être évitée par les inhibiteurs de la 5α réductase (capasso et al.2003).

3-Physiopathologie et étiologie

La pathogenèse de l'hyperplasie bénigne de la prostate n'est pas entièrement élucidée. Ce développement débute vers la quatrième décennie pour ne devenir macroscopique que vers la

Chapitre II : Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

sixième ou septième décennie, c'est-à-dire chez le sujet âgé. Il existe deux grandes théories pathogéniques de l'HBP :

- ➔ Selon la théorie hormonale, une stimulation androgénique est nécessaire pour que la croissance de l'adénome se fasse, notamment par la DHT. La DHT provient de la double hydroxylation de la testostérone sous l'action d'une enzyme, la 5 α -réductase. En outre, son absence élective (ou la castration pré-pubertaire) inhibe le développement de la prostate.
- ➔ Dans la théorie stromale, les premiers nodules d'adénome apparaissent dans la région sus-montane, riche en cellules mésenchymateuses. L'HBP résulte d'un déséquilibre entre prolifération cellulaire et apoptose, avec une prolifération importante tant du stroma fibreux que des cellules épithéliales glandulaires. (Mc Ginley I et al. 1974).

3-1-Développement de l'hypertrophie

Si on se réfère à la classification anatomique de Mc Neal, schématiquement l'HBP se développe aux dépens de la zone de transition et des cellules des glandes péri-urétrales, c'est-à-dire dans la partie antéro-supérieure de la prostate, située autour de l'urètre, depuis le col vésical jusqu'au colliculus séminal.

Au départ se constituent un ou plusieurs nodules qui se multiplient et s'étendent de proche en proche aux tissus prostatiques voisins, jusqu'à envahir au maximum la totalité de la zone de transition. La portion inférieure de la prostate sera par la suite plus refoulée qu'envahie.

Il est important de noter :

- que cette extension proliférative, bien que pouvant être importante, ne franchit jamais une barrière naturelle : la capsule externe.
- que cette prolifération bénigne reste harmonieuse et respecte globalement l'architecture générale de la prostate, à l'exception du sillon médian.

Ces deux caractéristiques différencient l'HBP des tumeurs malignes qui détruisent l'architecture prostatique et peuvent, quand elles sont évoluées, franchir la capsule externe et envahir les structures voisines. (POIRIER, 2009).

Chapitre II : Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

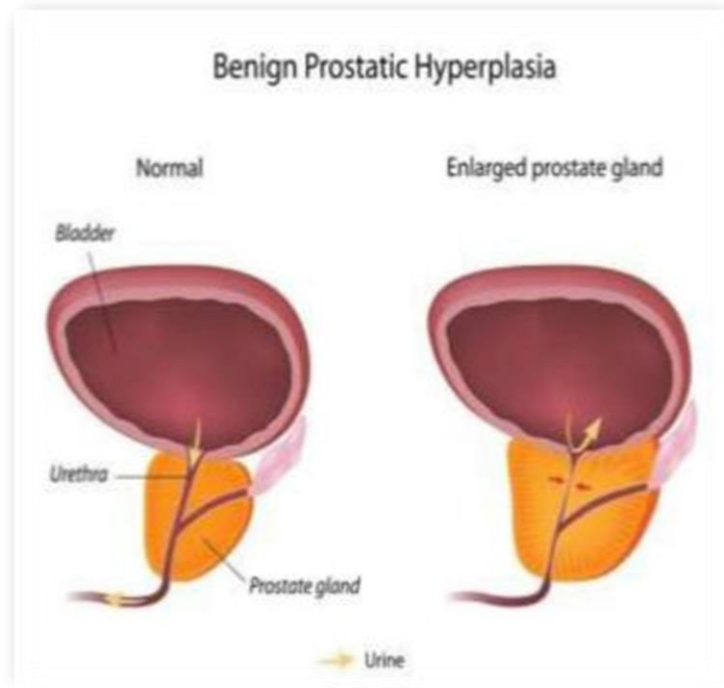


Figure 04 : le développement de la prostate (BILLARD, 2018).

3-2-Obstruction de la vessie

La présence des nodules hyperplasiques développés aux dépens de la zone transitionnelle, déforme l'urètre prostatique et le col vésical. Mais la physiopathologie des TUBAs n'est que très partiellement liée à l'hypertrophie prostatique. La tension des muscles lisses intra- et péri-prostatiques est médiée par le système nerveux autonome (innervation adrénergique) par le biais des récepteurs α_1 adrénergiques qui contrôlent la contraction des fibres musculaires lisses.

L'HBP se caractérise par :

- une augmentation de la densité des récepteurs α_1 par fibre musculaire lisse (D'Addessi et al. 2002).
- une augmentation de l'excitabilité de ces récepteurs α_1 .

L'influence des récepteurs β_2 (musculorelaxants) du dôme vésical diminue au profit des récepteurs α_1 (musculocontractants). Il est à noter que 47% de la pression urétrale est due au tonus α_1 adrénergique (Furuya S. et al. 1982).

Chapitre II : Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

3-3-Symptômes de l'HBP

Les symptômes de l'HBP sont connus sous le nom de symptômes du tractus urinaire inférieur et peuvent être subdivisés en symptômes de stockage et en symptômes de miction (**Abrams et al ... 2009**).

Les symptômes de stockage : incluent la nycturie, la fréquence et l'urgence à uriner.

- Les symptômes de miction : comprennent l'intermittence, l'hésitation, le dribble, la tension et une diminution du débit urinaire. La gravité de l'HBP peut être mesurée à l'aide du questionnaire international IPSS (indice de symptôme de la prostate), qui contient des questions sur les symptômes urinaires et des questions sur la qualité de vie (QV) concernant l'importance des symptômes pour le patient (**Madersbacher et al.2007**). La plupart des symptômes qui conduisent à la constriction hyperplasie de la prostate, mais certains hommes ont une hyperactivité concomitante de la vessie hyperactive ou du détrusor vésical.

En plus du traitement de l'HBP, ces hommes devront donc besoin d'un traitement pour la vessie hyperactive (**Nyamai et al.2016**).

4-Traitement de l'hypertrophie bénigne de la prostate

Le traitement de l'HBP doit être considéré comme un traitement de confort. Le but principal de la prise en charge est d'améliorer la qualité de vie du patient. Le médecin a plusieurs choix thérapeutiques fonction du gène du patient : simple surveillance, utilisation d'un traitement médicamenteux, thérapie minimale invasive ou recours à la chirurgie.

4-1-Abstention et surveillance

Une étude récente a montré que 80% des patients connaissent une stabilité de leurs troubles urinaires. 20% seulement des patients risquent de s'aggraver sans traitement sur 5 ans. Une rétention aiguë d'urine ne survenant que dans 5% des cas (**Madersbacher et al. 2007**).

L'ensemble des textes de recommandations étudiés sont convergents et considèrent que l'abstention thérapeutique avec surveillance est une attitude valable vis-à-vis des patients présentant des TUBAs consécutifs à une HBP non compliquée en cas de gêne légère. Il n'existe pas de seuil quantitatif consensuel pour considérer la gêne symptomatique comme légère. Dans la plupart des études récentes, la gêne est considérée comme légère quand le score I-PSS est inférieur à 8.

Chapitre II : Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

Si le médecin choisit l'abstention thérapeutique pour son patient, ce dernier devra être suivi annuellement par un bilan comparable au bilan initial (surveillance clinique, débitmétrie, résidu post-mictionnel, PSA). Cette stratégie permettra au médecin de détecter tout changement survenu depuis l'année précédente notamment si les symptômes ont progressé ou sont devenus trop gênants et impliquent la mise en place d'un traitement. (**Madersbacher et al. 2007**).

4-2-Traitement médical

Les traitements médicaux des symptômes du bas appareil urinaire en rapport avec une hyperplasie bénigne de prostate (SBAU-HBP) ont pour objectifs l'amélioration des symptômes urinaires, l'amélioration de la qualité de vie et la prévention des complications. Les recommandations de prise en charge ont longtemps consisté à hiérarchiser les traitements disponibles en fonction de leur « efficacité » pour les faire correspondre avec la sévérité des symptômes évalués par l'International Prostate Symptom Score (IPSS). Ces arbres décisionnels sont utiles et ont largement participé à la standardisation des pratiques, mais ils sont aujourd'hui dépassés.

En effet, d'un côté, les symptômes du bas appareil urinaire (SBAU) des phases de vidange et de stockage se côtoient et sont responsables d'une gêne très variable d'un individu à l'autre. De l'autre, les molécules disponibles ont évolué pour offrir des mécanismes d'action et des profils de tolérance très différents. Enfin, les patients ont également changé, avec l'association croissante de pathologies associées et de poly-médications. Chaque patient doit donc faire l'objet d'une prise en charge individuelle, adaptée à sa symptomatologie, à ses plaintes et à ses antécédents. Les traitements médicaux sont tributaires de considérations culturelles, ce qui explique les variations considérables observées dans les pratiques des différents pays développés. (**Descazeaud et al. 2009**).

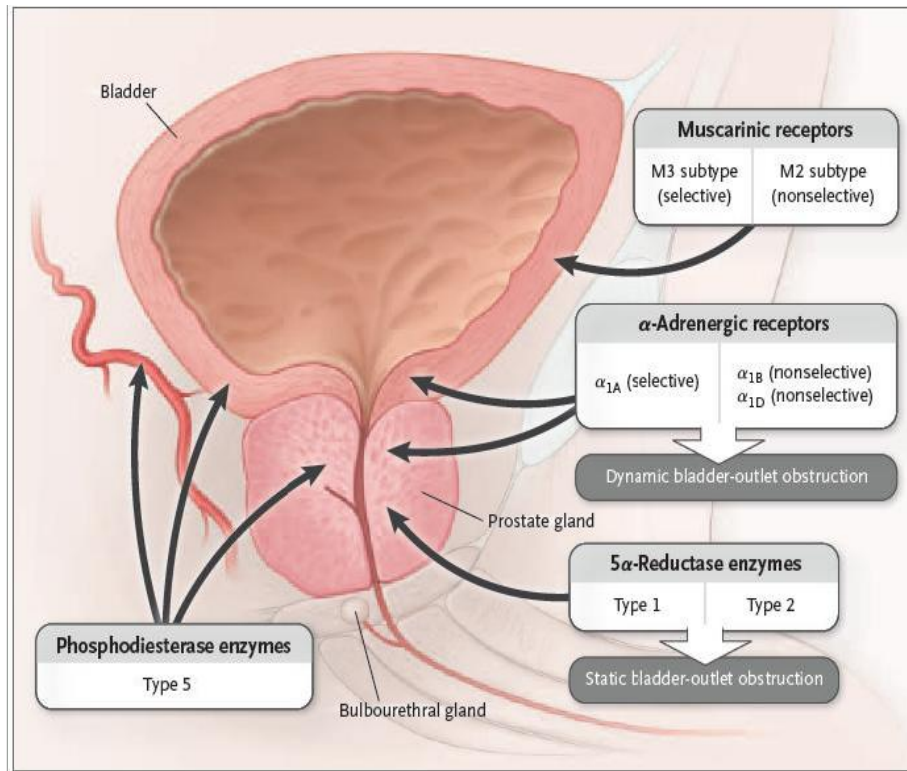


Figure05: Mécanisme d'action et cibles des différents médicaments (Descazeaud et al. 2009).

4-3-Phytothérapie

Activité des racines dans l'hypertrophie bénigne de la prostate

L'efficacité des extraits de racines d'Ortie dans les troubles mictionnels dus à une hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) n'a pas été totalement démontrée. Les substances actives ne sont pas complètement identifiées et plusieurs mécanismes d'action sont proposés.

Le mode d'action est sûrement lié au métabolisme hormonal et les effets anti-inflammatoires font l'objet d'hypothèses. Les parties aériennes n'ont aucun effet sur la prostate mais possèdent une action diurétique (BRUNETON 2016).

Dans le traitement de l'HBP, un certain nombre de mécanismes d'action de la racine ont été postulés, notamment des diurétiques légers et des médicaments puissants. Activités anti inflammatoires probablement dues à la présence de scopolétine (Allkanjari et Vitalon, 2015) L'extrait de racine, in vitro, inhibe la liaison du sexe globuline de liaison aux hormones (SHBG) (*Sex Hormon Binding Globulin*), il s'agit est une protéine plasmatique qui se lie aux hormones sexuelles (oestrogènes et androgènes) et régule ainsi leur fraction libre plasmatique. Elle possède aussi des sites de liaison pour les récepteurs membranaires situés dans le tissu prostatique et l'endomètre. (Draghi, 2005). Le SHBG a pour fonction de réguler la concentration d'androgènes et d'oestrogènes libres dans le plasma et d'interférer au niveau de

Chapitre II : Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)

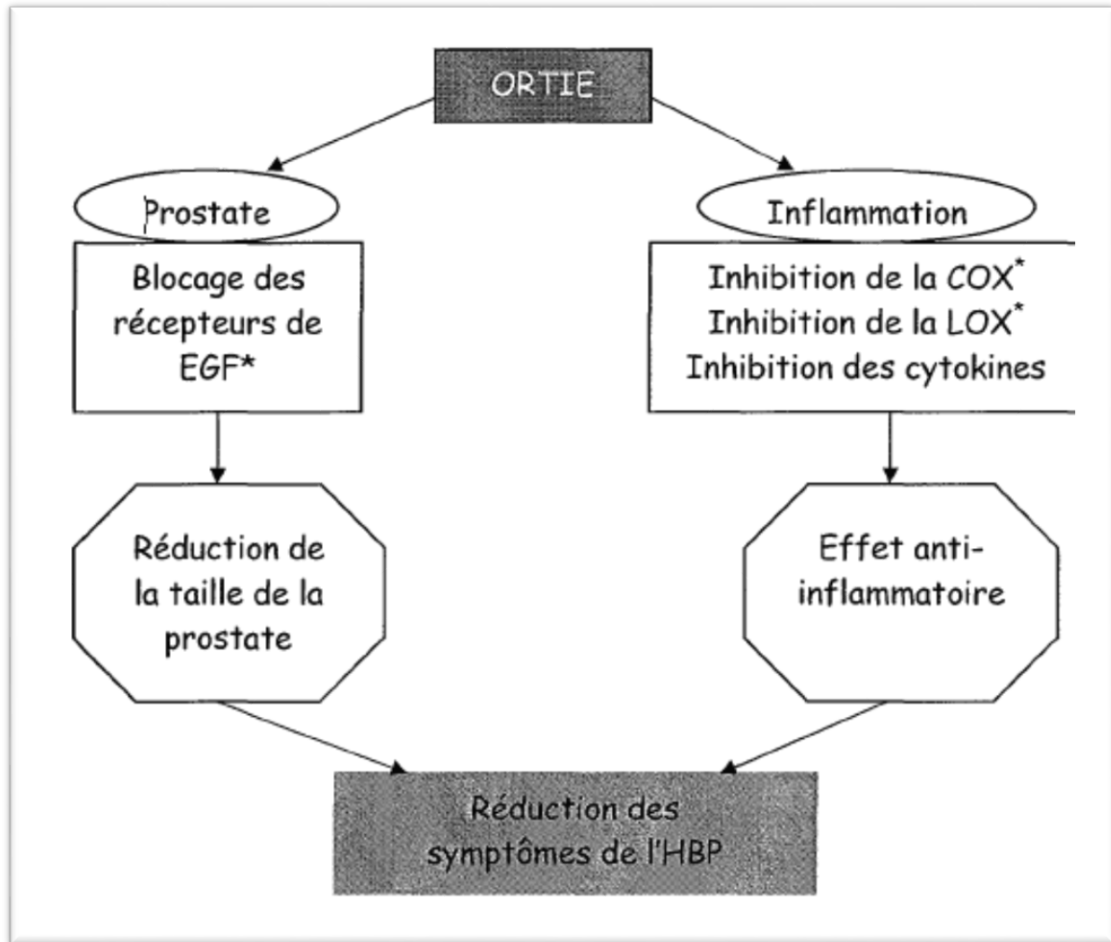
ses récepteurs sur la membrane cellules de la prostate, empêcheraient ces hormones d'interagir, elles-mêmes, avec leurs récepteurs. **(Dreikorn ,2000)**.

Les lignanes contenues dans le L'ortie semble avoir une grande affinité pour SHBG. Les polysaccharides et les lectines peuvent bloquer la liaison entre le facteur de croissance épidermique, sécrété par le tissu prostatique et ses récepteurs, avec suppression du métabolisme cellulaire de la prostate et sa croissance **(Capasso et al. 2003)**. De plus, les lectines peuvent contribuer aux activités anti proliférantes et anti-inflammatoires de la prostate **(Thomson, 2004)**.

Les polysaccharides stimulent l'activité des lymphocytes T et l'activation du complément. Acides maliques et caféiques montrent une activité anti-inflammatoire, in vitro et in vivo, par inhibition de la COX et de lipoxygénase. L'extrait d'ortie inhibe l'activité du TNF **(Obertreis et al ... 1996)**, La prolifération des cellules de la prostate **(Konrad et al. 2000)** et l'activité de l'aromatase **(Allkanjari et Vitalon, 2015)**. L'aromatase est une enzyme clé du métabolisme des stéroïdes: elle intervient dans la conversion de la testostérone en oestrogènes. Avec l'âge, le rapport androgènes /oestrogènes dans le sang et la prostate tend en faveur des oestrogènes. Donc, l'inhibition de l'aromatase conduit à une diminution des taux d'oestrogènes, et donc pourrait influencer sur la taille de la prostate. **(Draghi, 2005)**.

L'ortie inhibe l'activité de l'adénosine désaminase (ADA), l'enzyme clé du métabolisme des nucléotides. L'inhibition est en fonction de la dose, ce pourrait être l'un des mécanismes conduisant à une amélioration des symptômes du patient. **(Durak et al. 2004)**.

Chapitre II : Hypertrophie bénigne de la prostate (HBP)



COX = cycloxygénase, LOX = lipoxygénase, EGF Factor Epidermal Growth

Figure06: Mécanisme d'action possible de l'Ortie dans l'hypertrophie bénigne de la prostate (Capasso et al ... 2003).

Chapitre III : Partie expérimentale

Objectif

Notre projet de recherche consiste à évaluer les effets préventifs de l'extrait hydroalcoolique des racines d'ortie (*Urtica dioica*) contre l'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) chez un modèle animal (les souris).

1-Matériel végétal

1-1-Récolte des feuilles de la plante « *Urtica dioica* »

Le matériel végétal, utilisé dans cette présente étude, était constitué des racines d'une plante médicinale nommée **ortie** dont le nom scientifique est *Urtica dioica* récoltée durant la saison d'automne vers le mois d'octobre 2018 dans une zone dépolluée plus précisément dans les campagnes la région de Ain Sultane, commune de Rabahia , wilaya de Saida.

Les racines d'ortie ont été séchées à une température ambiante dans un endroit sec à l'abri de l'humidité pendant une période plus ou moins longue jusqu'à l'étape de la préparation des extraits.

1-2-Identification de la plante

La plante *Urtica dioica* a été identifiée et authentifiée par l'écologiste et botaniste docteur TERRAS Mohamed au niveau du Laboratoire de Recherche en Ressources Hydrique et Environnement, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Tahar-Moulay de Saida. L'identification de la plante a été basée sur l'utilisation de deux ouvrages scientifiques spécialisés en botanique et biologie végétale tels que l'encyclopédie des plantes et la bible des plantes médicinales. La confirmation de l'authentification de la plante a été réalisée à l'aide d'une application smartphone appelée « *PlantNet Identification Plante* ». Il s'agit d'une application permettant d'identifier les plantes simplement en les photographiant avec un Smartphone ou un téléphone mobile (Figure 08). Le Smartphone, utilisé dans notre travail, portait la marque Huawei et la série Nova 3i.

Chapitre III : Partie expérimentale

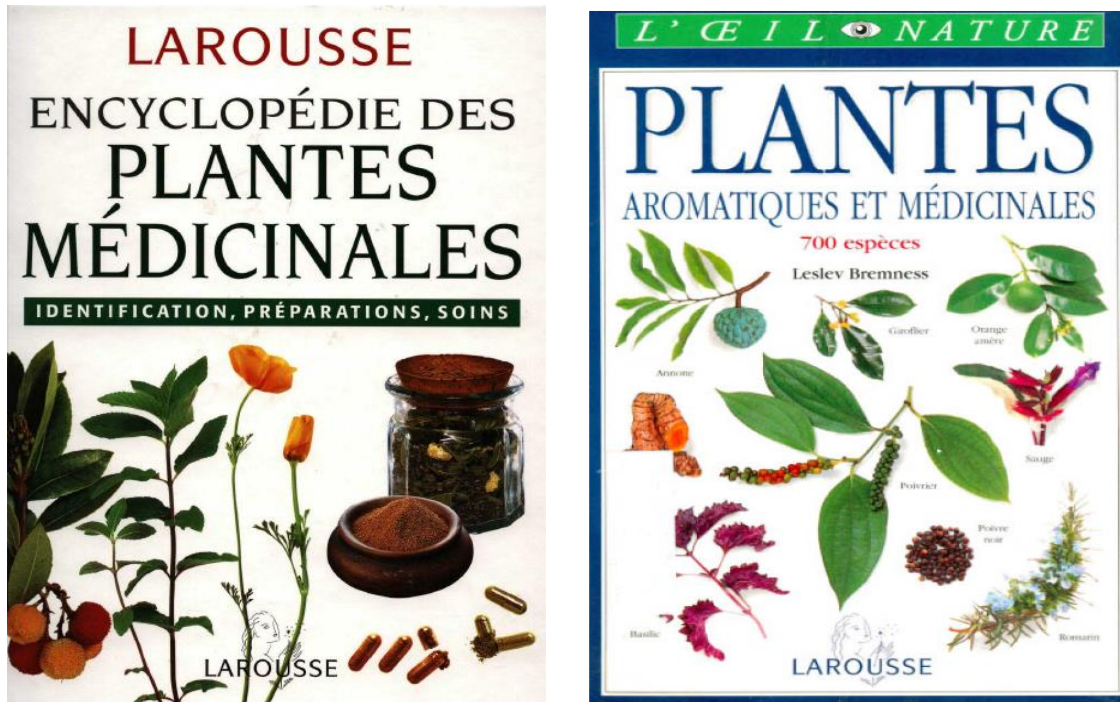


Figure07 : Livres consultés pour confirmer l'identification de la plante *Urticadioica*

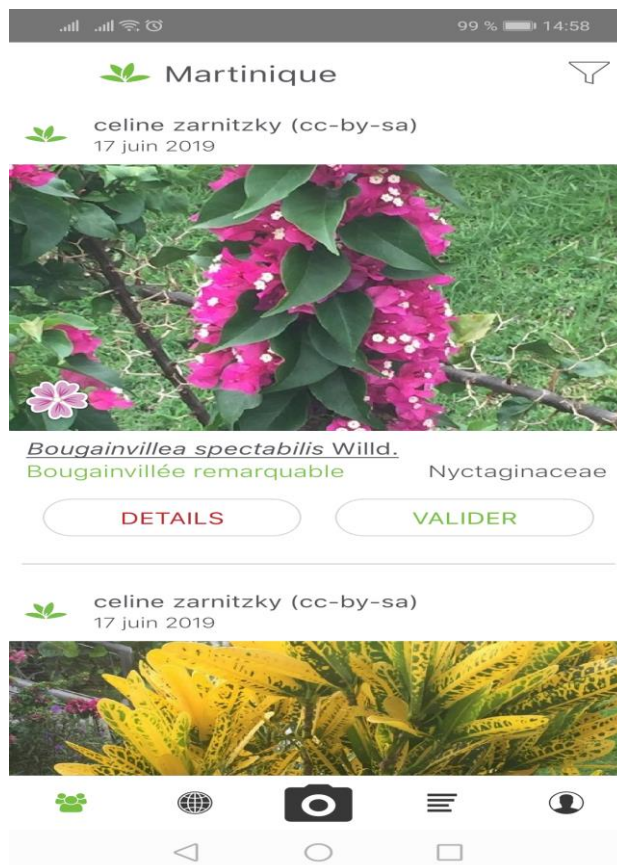


Figure 08: Application « PlantNet Identification Plante » utilisée pour confirmer l'identification de la plante *Urtica dioica*.

Chapitre III : Partie expérimentale

1-3-Préparation de l'extrait hydroalcoolique des racines d'*Urtica dioica*

La méthode d'extraction, choisie dans cette présente étude, pour préparer un extrait hydroalcoolique à partir de la poudre des racines de la plante *Urtica dioica* c'est bien la méthode de la macération froide.

Cette méthode a été réalisée selon le protocole décrit par (Testai et al .2002). Une quantité de 150 g des racines ont été réduites en poudre à l'aide d'un moulin électrique (Moulinex) La poudre des racines *Urtica dioica* a été dissoute dans un mélange de solvants constitué d'un volume de 1400 mL d'eau distillée et d'un volume de 600 mL de méthanol.

Le mélange a été placé à l'abri de la lumière et abandonné pour l'étape d'agitation pendant une période de 72 heures.

Le mélange a été filtré sur un papier filtre Wattman N°1. Le filtrat obtenu a été évaporé à l'aide d'un rota-vapeur en fixant la température d'évaporation à 60° C. Cette étape consiste à séparer le solvant organique (Méthanol) de l'extrait des racines des feuilles d'ortie.

Par la suite, l'extrait hydroalcoolique des racines de la plante a été séché dans une étuve pendant 48 h.

L'extrait sec a été pesé puis dissout-on dans de l'eau physiologique.

L'extrait a été conservé à une température de moins de 4°C jusqu'à son utilisation.

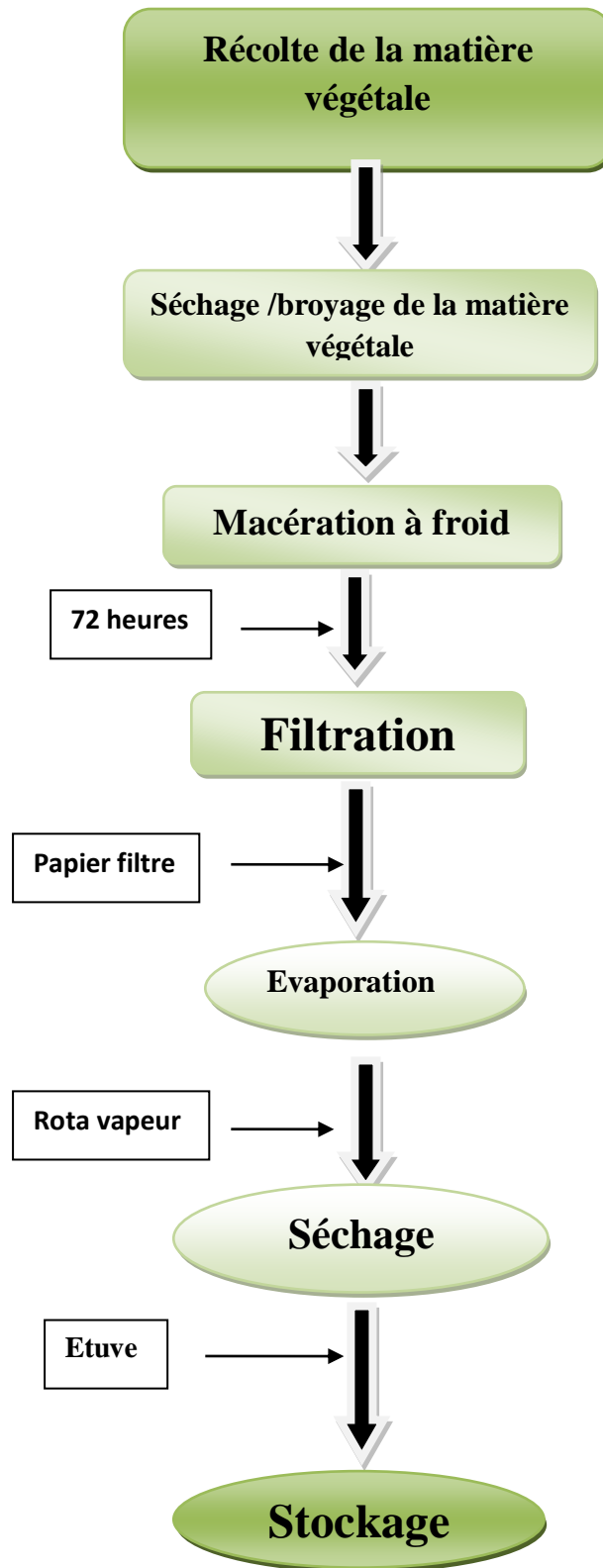


Figure 09 : protocole de la préparation de l'extrait hydroalcoolique des racines d'Ortica, dioica

Chapitre III : Partie expérimentale

1-4- Détermination du rendement d'extraction

Le rendement de l'extrait (R_{EXT}) est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu après macération (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est donné par la formule suivante :

$$R_{EXT} = (M/M') \times 100$$

1-5-Activité antioxydante de l'extrait hydroalcoolique des racines d'*Urtica dioica*

1-5-1-Test de piégeage du radical libre DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazine)

A température ambiante, le radical DPPH présente une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons. Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 515 nm (**Moon & Shibamoto, 2009**).

Un volume de 50 μ l de solution méthanolique de l'extrait à différentes concentrations, sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 μ l de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%). Les valeurs de l'IC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire

$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100.$$

-5-2-Teneur des polyphénols totaux

Les composés phénoliques totaux ont été dosés à l'aide du réactif de Folin Ciocalteu, selon la méthode de Singleton et Rosi (**Serairi-Beji et al, 2017**). Le réactif de Folin Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique. Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Boizot et Charpentier 2006**). La coloration bleue produite, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans le milieu réactionnel. Un volume de 100 μ L de l'extrait à différentes concentrations, sont ajoutés à 0,5 mL d'eau distillée et à 0,125 mL de réactif Folin-Ciocalteu. Le mélange a été agité et incubé pendant 6 min avant d'ajouter 1,25 ml de Na_2CO_3 (7%). La solution a ensuite été ajustée avec de l'eau distillée à un volume final de 3 mL et mélangée soigneusement. Après incubation à l'obscurité, l'absorbance a été lue à 760 nm par rapport à un blanc préparé. (**Serairi-Beji et al 2017**) Les teneurs totales en composés phénoliques ont été exprimées en milligrammes

Chapitre III : Partie expérimentale

d'équivalent acide gallique par gramme de résidu sec (mg GAE g⁻¹ DR) sur la courbe d'étalonnage avec l'acide gallique (Serairi-Beji et al 2017). Les teneurs totales en composés phénoliques ont été exprimées en milligrammes d'équivalent acide gallique par gramme de résidu sec (mg GAE g⁻¹ DR) sur la courbe d'étalonnage avec l'acide gallique. (Serairi-Beji et al 2017).

2- Expérimentation animal

2-1-Préparation des animaux

L'élevage des souris a été réalisé au niveau de l'animalerie du Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Tahar-Moulay de Saida. L'entretien des animaux a été effectué dans une pièce éclairée 12 heures par jour, il s'agit d'une photopériode de 12 heures / 24 heures dont la température était maintenue constante (22 à 25 °C). Les souris, utilisés dans notre étude, ont été logées et séparés dans quatre cages en plastiques. Ils avaient libre accès à l'eau et à la nourriture. Les animaux ont été traités conformément au principe et directive énoncés dans le manuel sur lésion et l'utilisation des animaux d'expérimentation.

2-2-Design expérimental

Une population d'une vingtaine de souris male, âgés de 8 semaines ayant un poids variant entre 35 et 45 gr, ont été répartis en 4 groupes. Chaque groupe renfermait 4 souris. Chaque cage a été séparée en 4 compartiments ou box ou pourrait être logé qu'une seule souris. Cette procédure permettait de contrôler la prise alimentaire ou la quantité d'aliments consommée par jour (figure 10).

La période d'expérimentation était de 30 jours.

Les animaux ont été répartis comme suit :

Groupe 1 : Témoins recevaient une alimentation standard (30 gr / jour), cette alimentation a été achetée au niveau de l'ONAB (office nationale de l'alimentation du bétail).

Groupe 2 : Animaux ont été injectés par voie intra péritonéale avec de la testostérone (0,5 mL / semaine), recevaient une alimentation standard (30 gr) et un régime hypercalorique (10 gr de chocolat et une portion de fromage).

Groupe 3 : Animaux recevaient une injection de testostérone, un régime standard, un régime hypercalorique et ils étaient injectés par voie intra péritonéale avec un extrait hydroalcoolique des racines d'*Ortica dioica* (0,2 mL / 3 jours).

Groupe 4 : Animaux recevaient un régime standard, un régime hypercalorique et ils étaient injectés par voie intra péritonéale avec un extrait hydroalcoolique des racines d'*urtica dioica* (0,2 mL / 3 jours).

Chapitre III : Partie expérimentale



Figure10 : un groupe de souris répartis en 4 compartiments



Figure 11 : Injection intra péritonéale de la testostérone à une souris male.

Chapitre III : Partie expérimentale

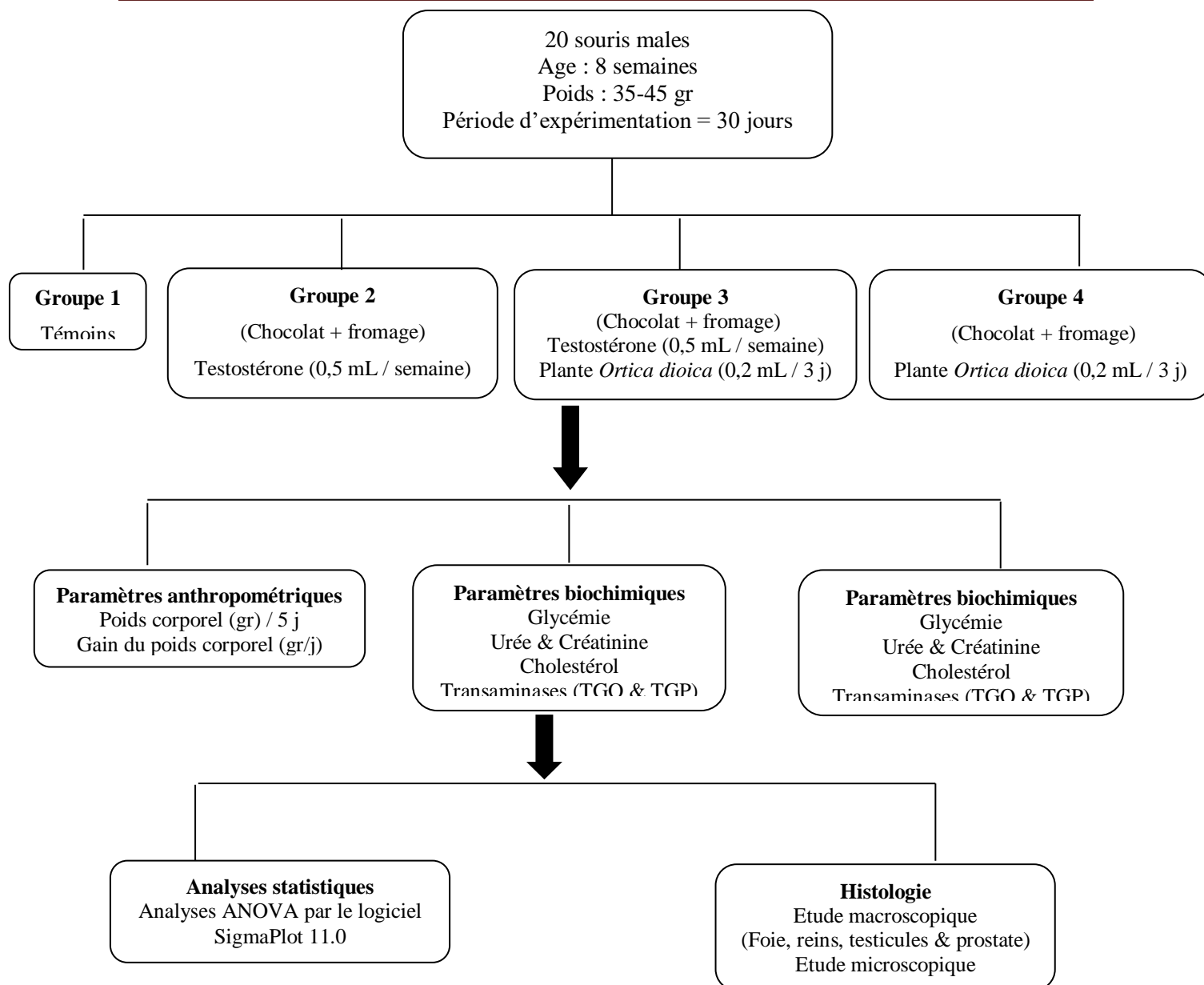


Figure 12: Design expérimental

Chapitre III : Partie expérimentale

3-Analyses biochimiques

3-1-Prélèvements sanguins

Sur toute la période d'expérimentation de 30 jours, trois intervalles de 10 jours de chacun ont été planifiés pour effectuer des prélèvements sanguins. Les échantillons de sang ont été prélevés au niveau des zones oculaires des souris. Les quantités de sang ont été récupérées dans des tubes héparine destinés pour les dosages biochimiques alors que des tubes EDTA ont été programmés pour les analyses hématologique.



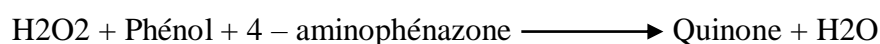
Figure 13 : Prélèvement oculaire du sang chez une souris.

3-2-Dosage de la glycémie (ou glucose sanguin)

La détermination de la glycémie a été réalisée par la méthode enzymatique au glucose oxydase (selon la fiche technique Spinreact).

Principe

Le glucose est transformé par l'enzyme glucose oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce dernier, en présence de peroxydase (POD), oxyde le chromogène incolore (4-aminophénazone) en un composé coloré en rouge-violet (quinoneimine) (Kaplan, 1984), selon les réactions suivantes :



Chapitre III : Partie expérimentale

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon, calculé par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505nm

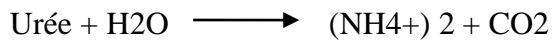
3-3- Dosage de l'urée

Le dosage de l'urée a été réalisé par la méthode cinétique enzymatique à l'uréase (selon la fiche technique Spinreact).

Principe

L'urée est hydrolysée enzymatiquement en ions d'ammoniac (NH_4^+) et dioxyde de carbone (CO_2).

Les ions d'ammoniac formés réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite (NaClO) en présence du catalyseur nitroprusside pour former l'indophénol vert (Kaplan, 1984), selon les réactions suivantes :



L'intensité de la couleur est mesurée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 580nm.

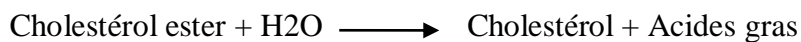
3-4-Dosage de la créatinine

La méthode utilisée pour le dosage de la créatinine est une méthode colorimétrique (Kit Chronolab). La Créatinine réagit avec le picrate alcalin en produisant une coloration orangé.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de la créatinine dans l'échantillon, la densité optique est mesurée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 492 nm.

3-5-Dosage du cholestérol

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré, selon les réactions ci-dessous :



L'intensité de la couleur est mesurée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505nm.

Chapitre III : Partie expérimentale

3-6-Dosage des transaminases (TGO-TGP)

L'aspartate amino transférase ASAT (TGP) et l'alanine amino transférase ALAT (TGO), font partie d'un groupe d'enzymes, les amino transférases ou transaminases, qui catalysent la transformation réversible des acides α -cétoniques en acides aminés par transfert de groupes amines.

L. Aspartate + α -cetoglutarate \longrightarrow Oxaloacétique + L. glutamate.

Alanine + α -Cetoglutarate \longrightarrow Pyruvate + glutamate.

L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de ces enzymes dans le sang, calculé par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505nm.

4-Dosages hématologiques

Les paramètres hématologiques à savoir le taux d'hémoglobine(Hb), d'hématocrite (Ht), le nombre de globules rouges, le nombre de globules blancs et les plaquettes sont déterminés à l'aide d'un Coulter de type Sysmex XE-2100.

5-Dosage de l'antigène spécifique de la prostate (PSA)

Le **PSA** est une molécule produite exclusivement chez l'homme par la glande prostatique.

Elle est présente dans le sperme à la concentration de l'ordre du mg/l, et passe dans le sang à la concentration de l'ordre du ng/ml. (**Christian, 2006**).

Il existe plusieurs méthodes de dosage du PSA qui sont basées sur des techniques immunologiques (réaction antigène-anticorps) selon un principe par compétition ou par extraction-saturation en utilisant des marqueurs isotopiques, enzymatiques, luminescents ou fluorescentes. Après l'utilisation soit d'anticorps monoclonaux soit polyclonaux. Les limites de détection varient entre 0.1 et 0.6 pour les limites inférieures et 40 à 220 pour celles supérieures.

-A la fin des expérimentations (après 30 jours), les animaux ont été anesthésiés par le chloroforme par voie d'inhalation et puis sacrifiés. Les expérimentations sur les animaux ont été menées conformément aux directives et recommandations sur l'utilisation et les soins des animaux de laboratoire, publiées par National Institutes of Health (NIH) des États-Unis. Ces expérimentations devraient être approuvées par un comité d'éthique institutionnelle de l'Université Tahar-Moulay de Saida, Algérie.

Chapitre III : Partie expérimentale

Principe

Des échantillons de sang ont été prélevés au niveau oculaire de l'animal. Le sang prélevé a été mis dans des tubes héparines à une température ambiante du laboratoire (20 °), puis centrifugé à une vitesse de 3000 tr / min pendant 10 min pour la séparation du sérum.

Les concentrations sériques du PSA total ont été mesurées à l'aide d'un appareillage automate mini analyseur VIDAS (Bio Merieux, Marcy-l'Etoile, France). La méthode utilisée était un dosage enzymatique fluorescent de type sandwich « ELISA » en phase hétérogène où les molécules des marqueurs biologiques (PSA) sont capturées entre deux anticorps monoclonaux murins. Les niveaux sériques du PSA ont été obtenus en deux étapes pour une détection finale par fluorimétrie. Un contrôle de qualité a été effectué pour chaque kit utilisé VIDAS-PSA afin de valider les résultats.

6-Etude histologique

6-1-Etude macroscopique

A la fin des expérimentations (après 30 jours), les animaux ont été anesthésiés par le chloroforme par voie d'inhalation et puis sacrifiés. Différents organes ont été prélevés pour faire l'objet d'une étude histologique macroscopique, à savoir ; le foie, les reins, les testicules et la prostate (figure14 et 15). 10 % jusqu'à leur utilisation.

Plusieurs paramètres ont été évalués comme le poids des tissus, leur aspect, couleur et dimensions (longueur et largeur). Ces tissus ont été conservés pour une étude microscopique.

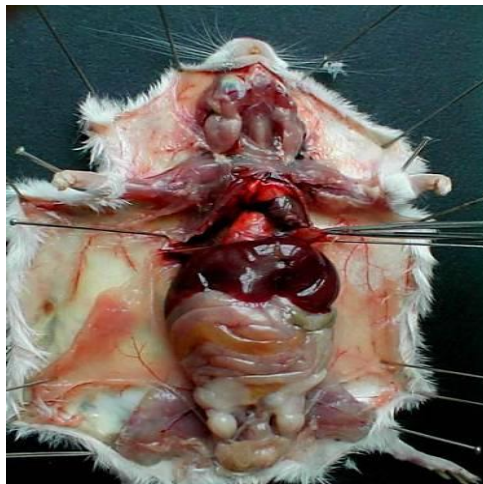


Figure 14 : Dissection d'une souris
(FRANCE Académie de Rennes sous licence Creative Commons BY-NC-ND)

Chapitre III : Partie expérimentale

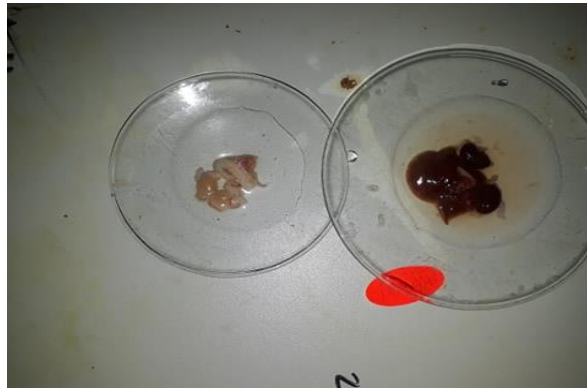


Figure 15 : tissus suspects prélevés (foie, reins, testicules et prostate).

6-2-Etude microscopique

Les coupes histologiques ont été réalisées au sein **du Service d'Anatomopathologie du Centre Hospitalier de Nice, France**. La technique utilisée est celle décrite par (Houlod, 1984) qui comporte les étapes suivantes :

Fixation : La fixation des échantillons a été faite dans le formaldéhyde 10 %. Les prélèvements réalisés sont alors mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

Inclusion et réalisation des blocs

La paraffine utilisée pour l'inclusion des prélèvements n'étant pas miscible à l'eau, une étape de déshydratation est nécessaire avant l'inclusion. Les échantillons ont été déshydratés dans des bains successifs d'éthanol à 80 %, 90 % et absolu puis dans 4 bains successifs de toluène. Les échantillons ont ensuite été inclus transversalement dans des moules métalliques. Cette étape a été réalisée à l'aide d'un distributeur de paraffine liquide à 55°C.

Réalisation des coupes

Après refroidissement, à une température - 20°C, des blocs de paraffine contenant les prélèvements, trois niveaux de coupes de 4 µm d'épaisseur ont été réalisés à l'aide d'un microtome manuel Microm HM 340 E (Thermo scientific, Illkirch). Ces coupes ont été étalées sur des lames, dépliées dans un bain d'eau gélatineuse chaude, puis les lames ont été déposées sur une plaque chauffée à 55°C permettant le collage du prélèvement sur la lame.

Coloration

Pour la coloration, on a utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine) ; qui nécessite la présence de l'alcool acide (100 ml d'alcool éthylique à 70 % + 50 ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100 ml d'eau distillée + 2 ml Ammoniaque) et solution d'Eosine

Chapitre III : Partie expérimentale

(100 ml Eosine solution aqueuse à 3%, 125 ml alcool éthylique à 95%, 375 ml d'eau distillée et 2 gouttes d'acide acétique).

7-Analyses statistiques

Les données et résultats étaient exprimés en valeurs moyennes et en leurs erreurs standards des moyennes (Mean \pm SEM). L'étude statistique a été effectuée par le test de l'analyse de la variance (one-way ANOVA) suivi du test de Tukey afin de comparer tous les résultats des groupes d'animaux. Ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel informatique SigmaPlot version 11.0

Résultats et interprétation

1-Rendement d'extraction

La technique de macération a permis d'obtenir un extrait hydro-alcoolique des racines d'*Urtica dioica* de couleur marron avec une odeur aromatique et un rendement de 9,86%.

2-Etude phyto-chimique

2-1-Activité anti-oxydante et piègeur de l'extrait d'ortie contre les radicaux DPPH

Les figures 16, 17, montre que l'extrait hydro-méthanolique brut des racines de la plante *Urtica dioica* et de l'acide ascorbique possédait des activités inhibitrices, oxydantes et piègeurs des radicaux DPPH proportionnelles à des concentrations croissantes de l'extrait brut et de l'acide ascorbique.

La concentration de l'extrait de l'ortie analysée était de 14,8 mg/mL correspondant à un taux d'inhibition de 21,3 % par rapport à la concentration de l'acide ascorbique 0,3 mg/mL ayant un taux d'inhibition de 86,6 %.

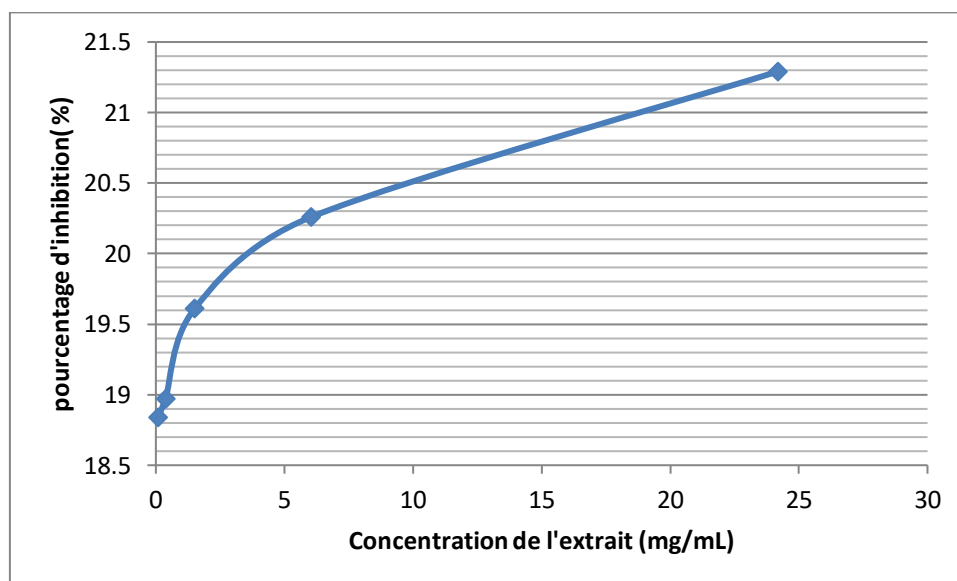


Figure 16. : Taux d'inhibition (%) du radical DPPH selon les différentes concentrations de l'extrait

Chapitre III : Partie expérimentale

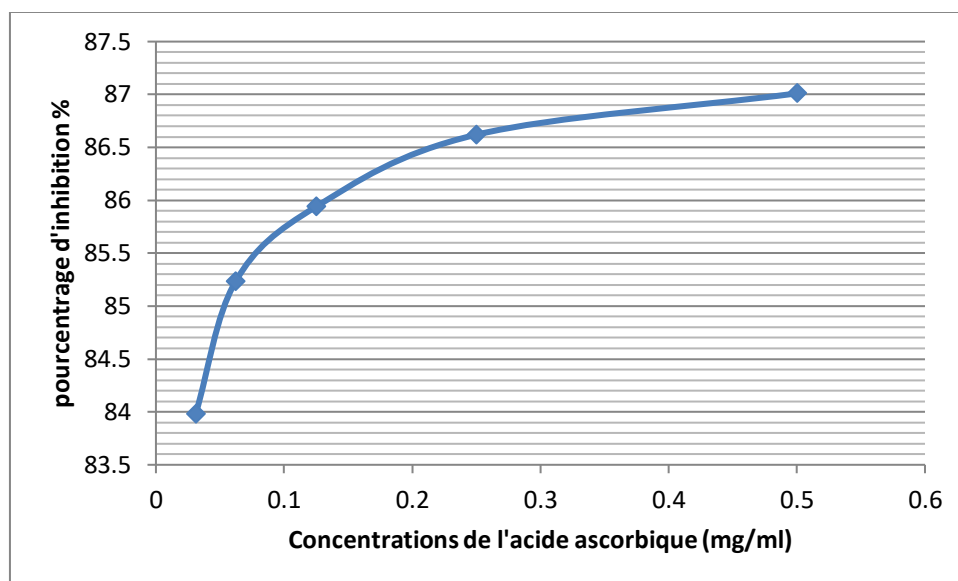


Figure 17 : Taux d'inhibition (%) du radical DPPH selon les différentes concentrations de l'acide ascorbique

2-2-Détermination du taux des polyphénols totaux de l'extrait des racines d'ortie

A une concentration de l'extrait hydro-méthanolique d'ortie avoisinant les 50 mg/mL correspondait une absorbance 0,38 et un taux de polyphénols totaux 208,5 $\mu\text{g/mL}$. Concernant l'échantillon étudié, l'extrait avait une concentration de 14,8 mg/mL correspondant à une absorbance de 0,11 et un taux de polyphénols totaux de 60,3 $\mu\text{g/mL}$.

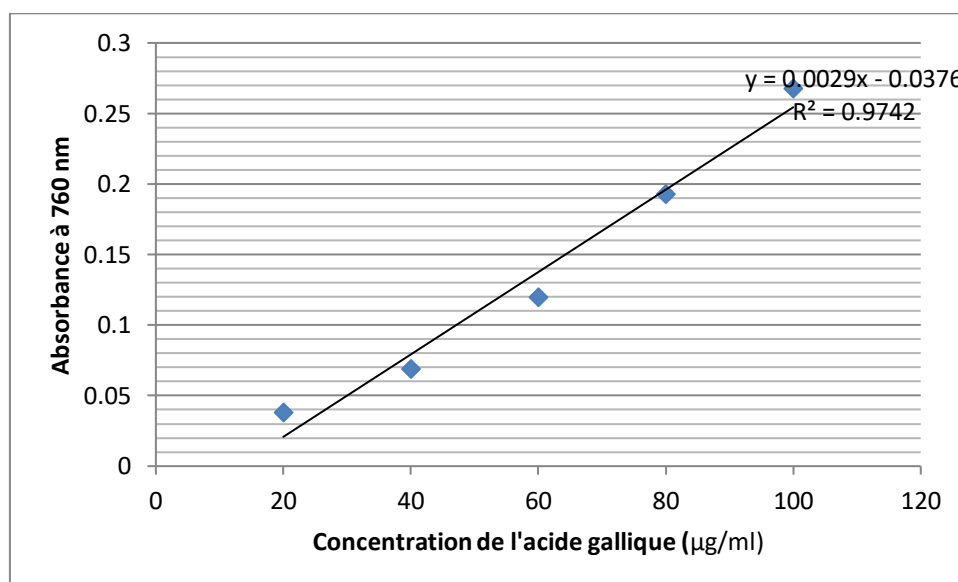


Figure 18: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

3-Etude des paramètres anthropométriques

3-1-Variation du poids corporel

Cette présente étude a révélé une variation significative des poids corporels des animaux des différents groupes ($p < 0,05$). La figure 19 montre ces variations anthropométriques.

Le poids des souris traitées avec l'hormone testostérone (groupe TESTO) a présenté une augmentation hautement significative du poids corporel comparativement aux souris témoins. Par contre le poids des animaux (TESTO-ORT), initialement exposés à la testostérone puis traités avec l'extrait hydro-méthanolique des racines de l'ortie, a diminué par rapport au groupe TESO.

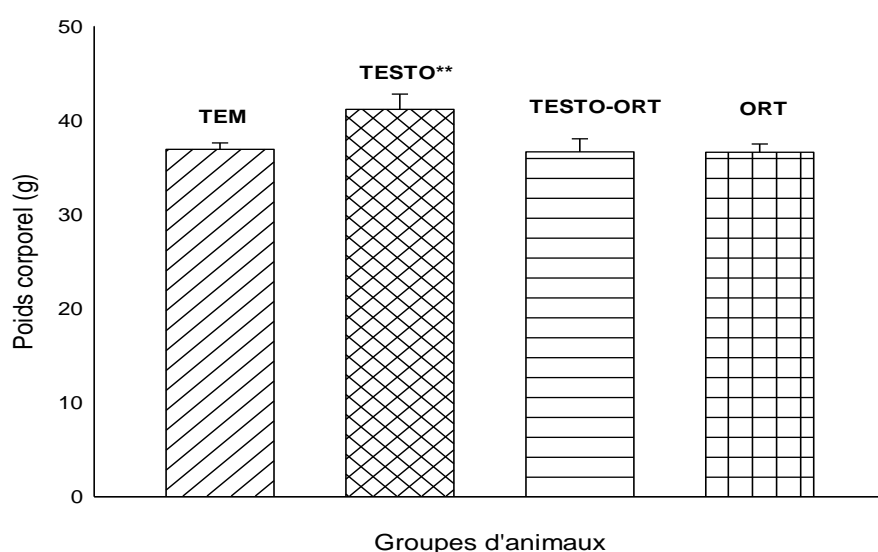


Figure19 : Détermination du poids corporel moyen chez des souris témoins et des souris traitées avec testostérone et Ortie

3-2-Variation du gain de poids corporel (%)

Ces résultats venaient encore confirmer la variation du poids corporels des souris. Cette fois ci, c'est le facteur gain du poids a été évalué (figure20). Toujours les souris traitées avec l'hormone testostérone (groupe TESTO), par injection intra péritonéale, ont développé un gain de poids élevé contrairement aux animaux traités avec la testostérone et l'extrait hydro-alcoolique des racines d'*Urtica dioica* (groupe TESTO-ORT) et les animaux traités seulement avec l'extrait de la plante (ORT) qui avaient enregistré un faible gain de poids (figure20).

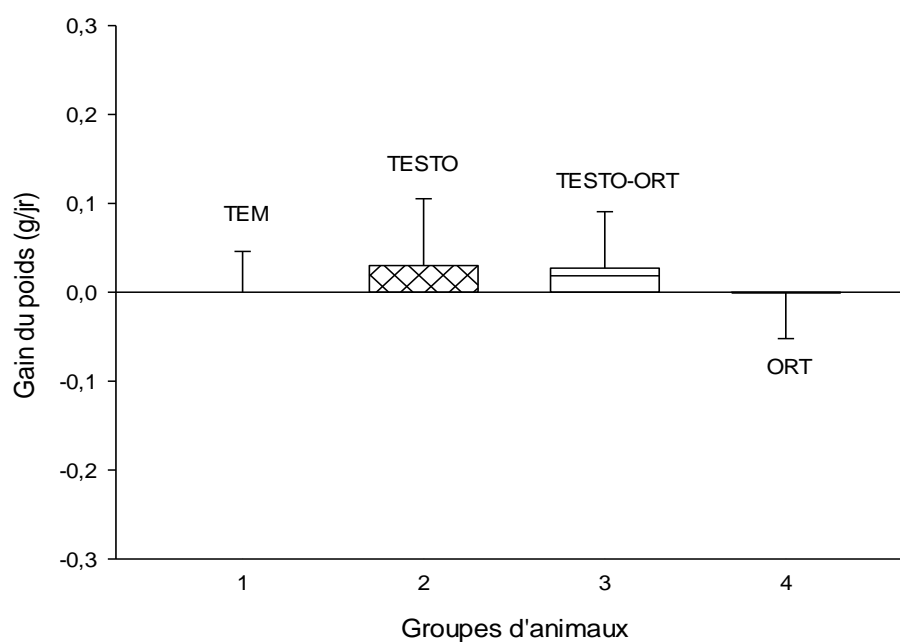


Figure20 : Détermination du gain de poids chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie.

4-Etude des paramètres biologiques

4-1-Paramètres biochimiques (Glycémie & profil lipidique)

4-1-1-Variation de la concentration sanguine du glucose (Glycémie)

Aucune variation significative de la concentration sanguine du glucose (ou glycémie) n'a été constatée dans les différents groupes d'animaux ($p > 0.05$) (figure21).

La glycémie était un peu moins élevée, mais non significative, chez les groupes de souris traités avec l'extrait de la plante ortie (Groupes TESTO-ORT et ORT) comparativement aux autres groupes d'animaux (groupes TEM et TESTO) qui avaient affiché un taux sanguin du glucose plus ou moins élevé (figure21).

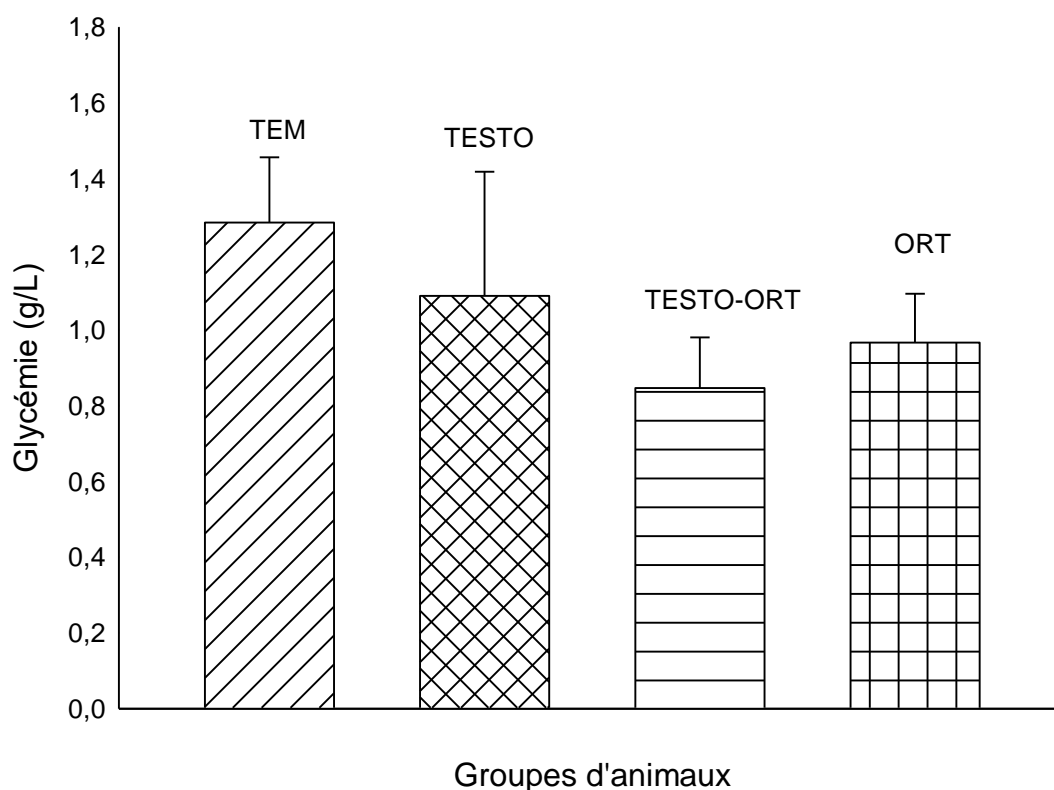


Figure 21 : Détermination de la glycémie moyenne chez des souris témoins et des souris traitées avec testostérone et Ortie

4-1-2-Variation de la concentration sérique des triglycérides (TG)

Aucune variation significative de la concentration sanguine des triglycérides(TG) n'a été constatée dans les différents groupes d'animaux ($p > 0.05$) (figure21).

A l'exception du groupe d'animaux traités avec l'hormone testostérone et l'extrait hydro-alcoolique des racines de la plante ortie (TESTO-ORT) qui ont présenté un taux de TG légèrement élevé. Alors que les TG était moins élevés, mais non significative, chez les autres groupes (Groupes TEM, TESTO et ORT) (figure22).

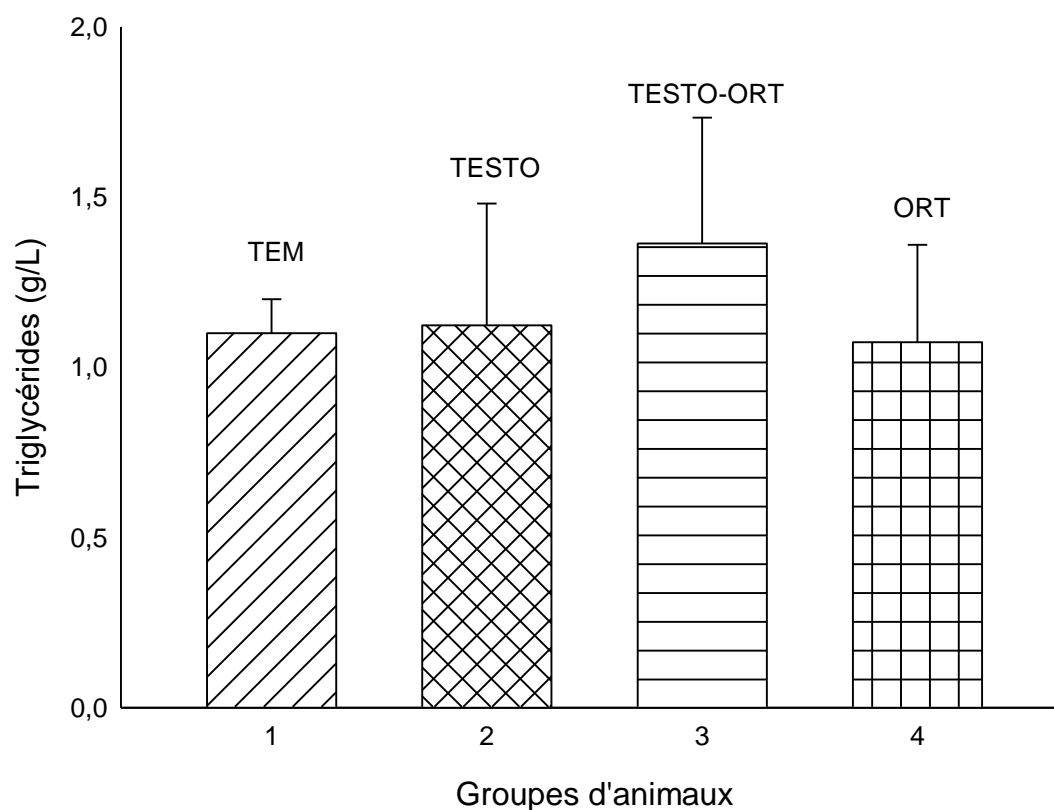


Figure 22 : Détermination du taux sanguin moyen des triglycérides chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie

4-1-3-Variation de la concentration sérique du cholestérol total

Aucune variation significative de la concentration sanguine du cholestérol total n'a été observée dans les différents groupes d'animaux ($p > 0.05$) (figure22).

Ni l'hormone testostérone ni l'extrait hydro-alcoolique des racines de la plante *Urtica dioica* n'ont eu des effets hypo ou hyper cholestérolémiantes chez les animaux des différents groupes étudiés à savoir ; les groupes TEM, TESTO, TESTO-ORT et ORT (figure23).

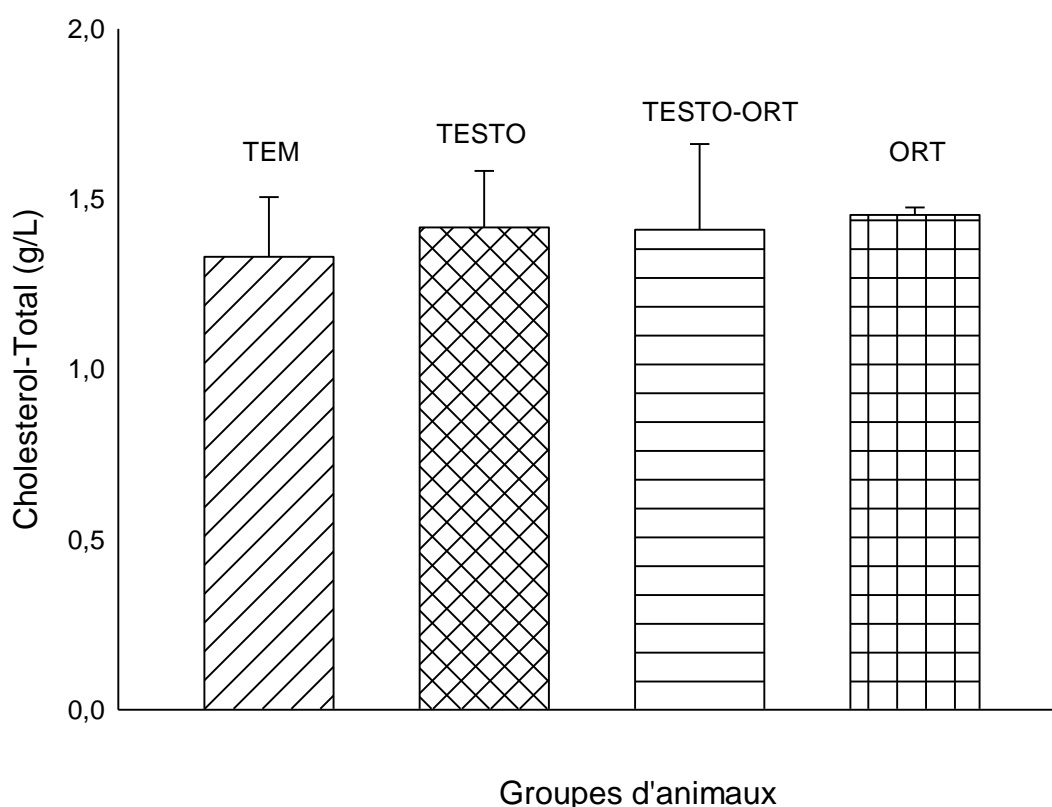


Figure 23: Détermination du taux sanguin moyen du cholestérol total chez des souris témoins et des souris traitées avec testostérone et Ortie

4-2-Paramètres hépatiques (Variations sériques des transaminases TGO et TGP).

Comme le montre la figure 24, les activités hépatiques de l'enzyme transaminase TGO étaient extrêmement significatives chez les animaux traités avec la testostérone (groupes TESTO et TESTO-ORT) ($p < 0,01$) comparativement au groupe des animaux témoins. Cette élévation sérique de TGO est un signe d'un dysfonctionnement hépatique. Le traitement des animaux uniquement avec l'extrait hydro-alcoolique des racines de la plante *Urtica dioica* a suggéré une diminution considérable plasmatique de TGO.

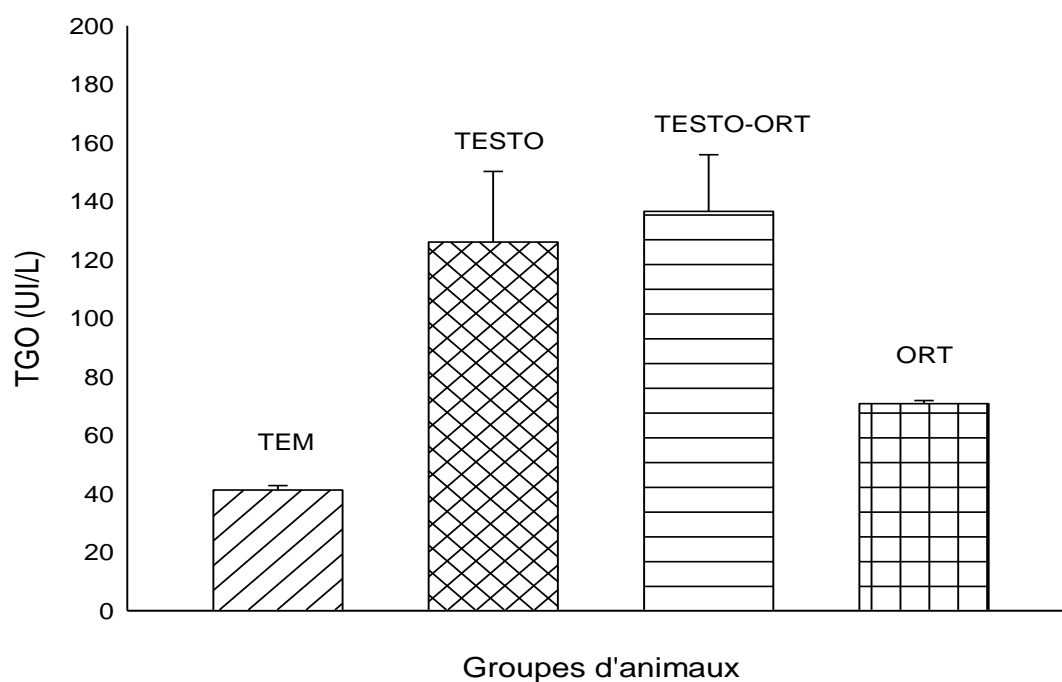


Figure 24: Détermination du taux sanguin moyen du TGO chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie

La figure 25 présente les résultats des activités hépatiques de l'enzyme transaminase TGP. Elles étaient extrêmement significatives chez les animaux traités avec la testostérone (groupes TESTO et TESTO-ORT) ($p < 0,01$) comparativement au groupe des animaux témoins. Cette élévation sériqye de TGO est un signe d'un dysfonctionnement hépatique. Le traitement des animaux uniquement avec l'extrait hydro-alcoolique des racines de la plante *Urtica dioica* a suggéré une diminution considérable plasmatique de TGP.

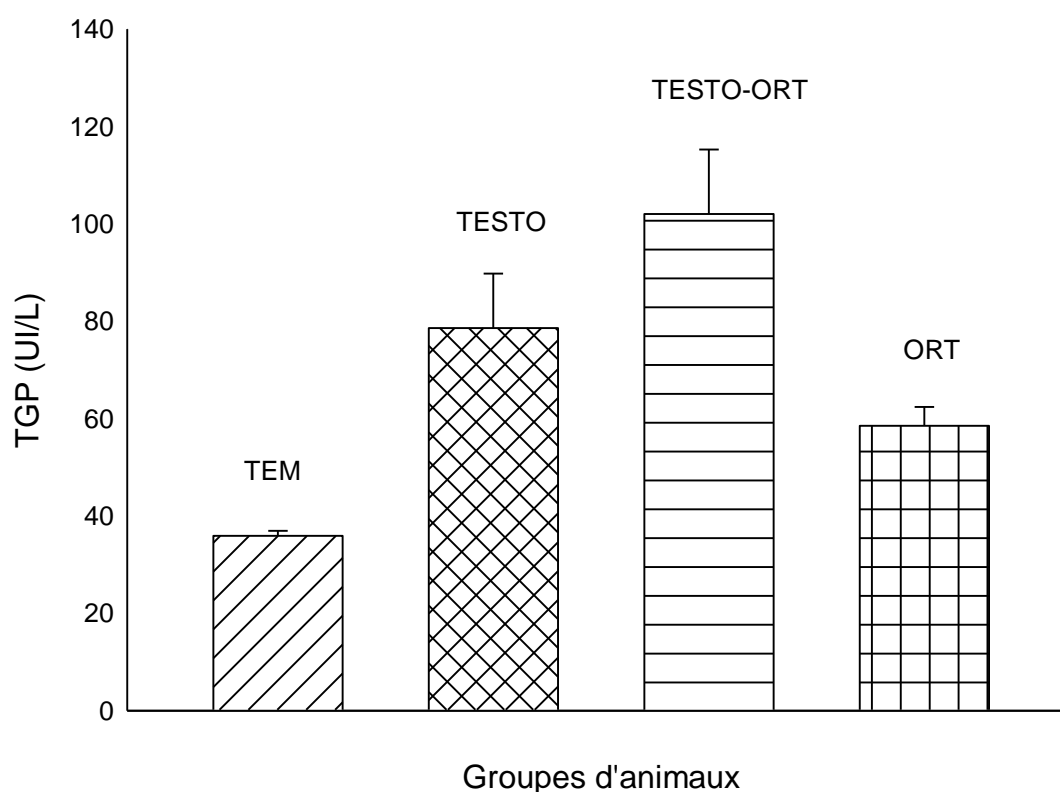


Figure 25 : Détermination du taux sanguin moyen de TGP chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie

4-3-Paramètres rénaux (Variation des taux plasmatiques de l'Urée & la Créatinine)

Comme le montre les figures 26 , 27 , les concentrations sériques des déchets métaboliques rénaux à savoir l'urée et la créatinine étaient légèrement, de manière insignifiante, réduites chez les animaux traités avec la testostérone (groupes TESTO et TESTO-ORT) ($p > 0,05$), comparativement au groupe des animaux témoins. Le traitement des souris avec uniquement de l'ortie n'a eu aucune influence sur ces paramètres. La mesure de l'urée et la créatinine permettra d'évaluer le fonctionnement du tissu rénal. L'utilisation de l'extrait hydro-alcoolique des racines de la plante *Urtica dioica* n'a induit ni une augmentation ou diminution significative de ces marqueurs biochimiques.

Chapitre III : Partie expérimentale

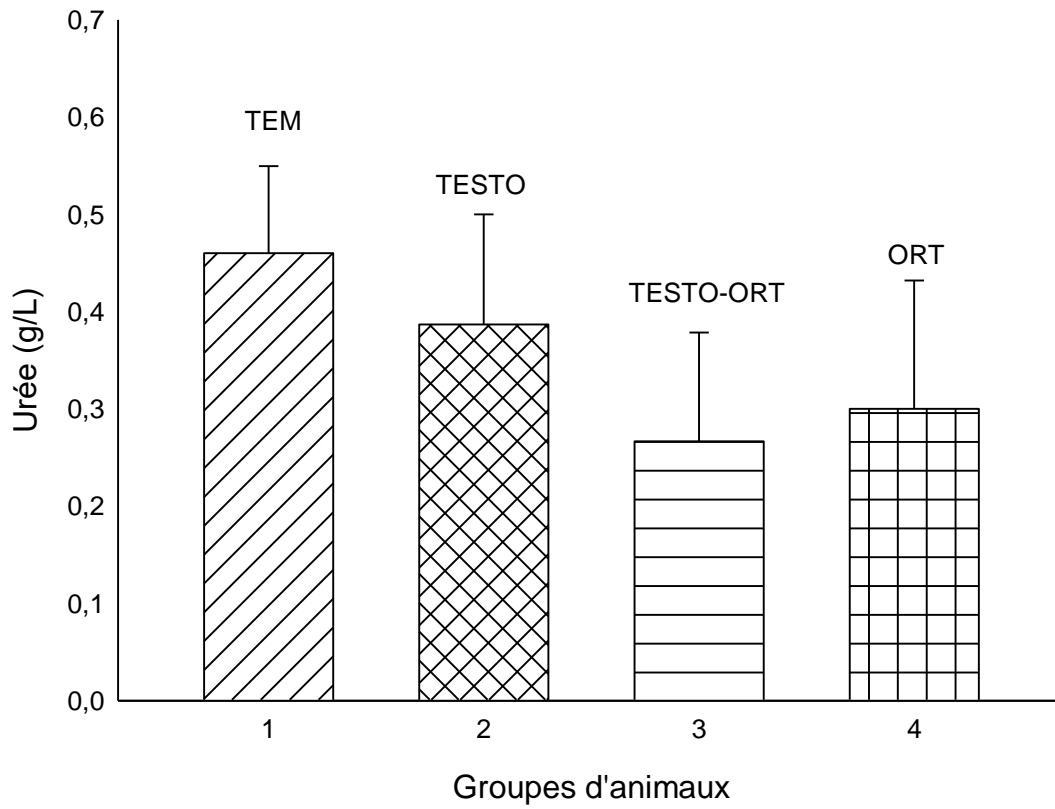


Figure 26 : Détermination du taux sanguin moyen de l'urée chez des souris témoins et des souris traités avec testostérone et Ortie.

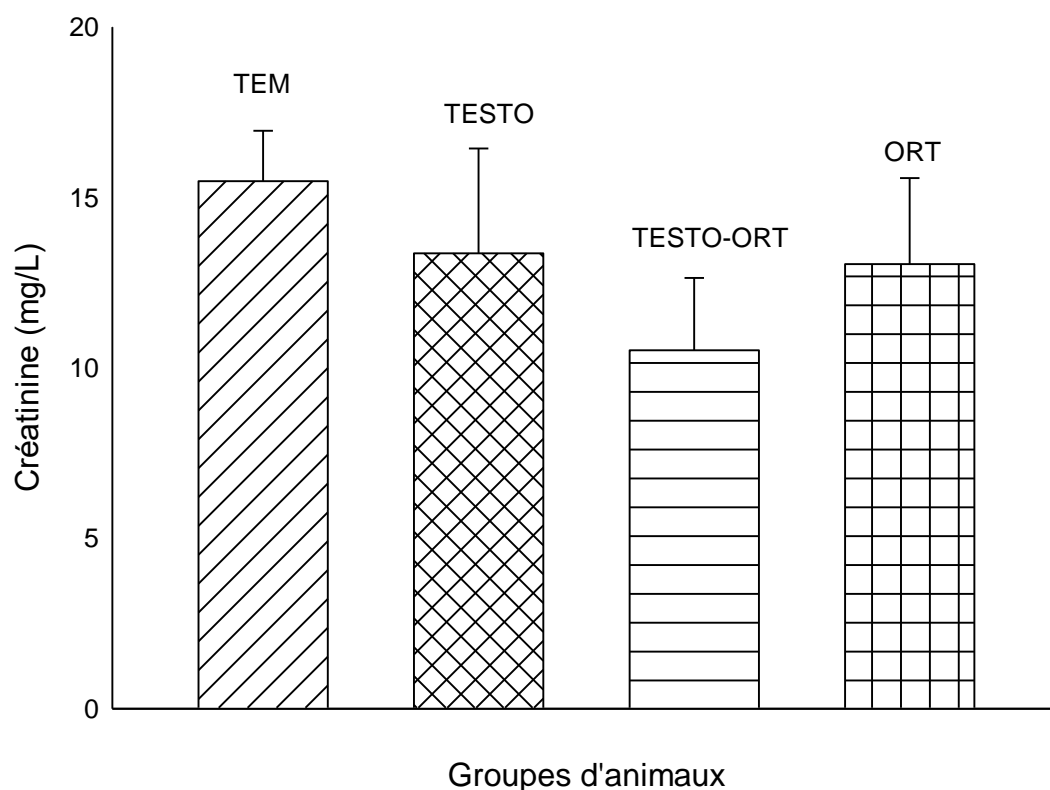


Figure 27 : Détermination du taux sanguin moyen de la créatinine chez des souris témoins et des souris traitées avec testostérone et Ortie.

4-4-Dosage sérique de l'antigène spécifique de la prostate (PSA)

Le dosage sérique du marqueur tumoral de la glande prostatique a été effectué chez les souris mâles des différents groupes étudiés (TEM, TESTO, TESTO-ORT et ORT). L'antigène spécifique de la prostate (PSA) était élevé chez les animaux traités uniquement avec l'hormone testostérone (0,25 ng/ mL) comparativement aux animaux témoins (0,11 ng/mL) (figure27).

Le traitement des animaux des groupes (TESTO-ORT et ORT) avec l'extrait hydro-alcoolique des racines de la plante *Urtica dioica* a entraîné une diminution du PSA comparativement au groupe d'animaux traités avec seulement l'hormone testostérone (figure28).

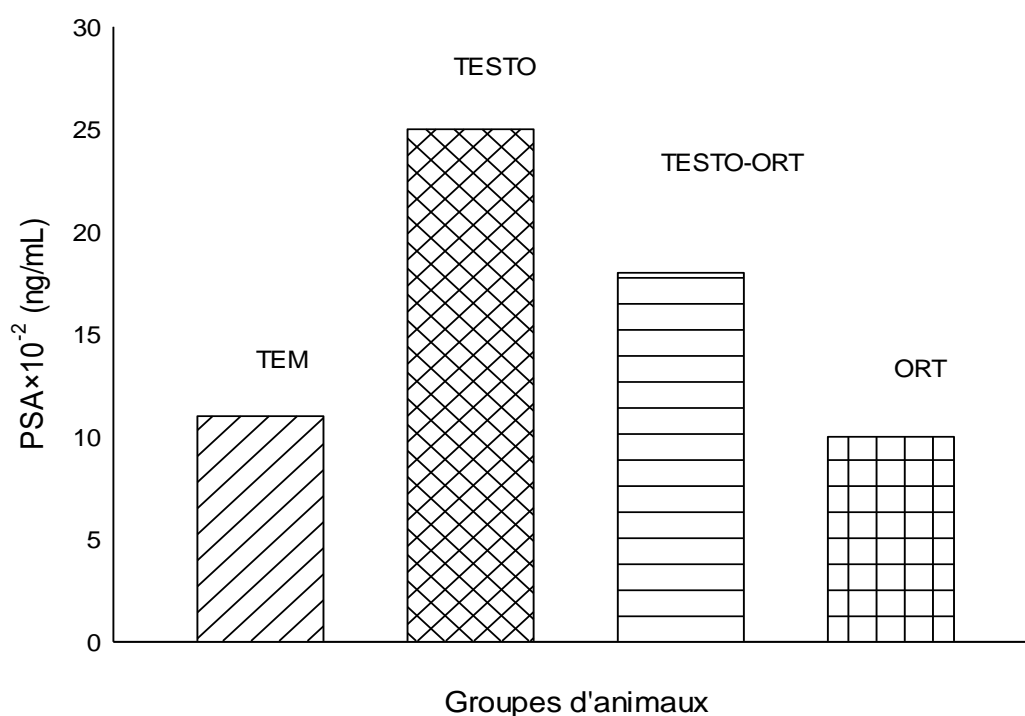


Figure28 : Détermination du taux sanguin moyen du PSA chez des souris témoins et des souris traitées avec testostérone et Ortie.

4-5-Paramètres hématologiques (Hématies, hémoglobine, lymphocytes & polynucléaires)

Les analyses du sang et du sérum prélevés chez les animaux des différents groupes étudiés ont permis d'obtenir une formule numéraire sanguine (FNS).

Les résultats n'ont révélé aucun signe d'anémie. Le nombre de globules rouges, le taux d'hémoglobine et l'hématocrites étaient presque similaires chez l'ensemble des animaux (Tableau03).

Les taux de globules blancs (lymphocytes et polynucléaires) étaient élevés chez les souris traitées avec l'hormone testostérone et l'extrait hydro-alcoolique des racines de la plante *Urtica dioica* (groupe TESTO-ORT) et aussi chez les souris traitées uniquement avec l'extrait de la plante d'ortie (groupe ORT) (Tableau03).

Les concentrations sériques élevées des cellules immunitaires chez les groupes TESTO-ORT et ORT témoignaient de la présence d'une réaction immunitaire inflammatoire.

Chapitre III : Partie expérimentale

Tableau03 : Etude des variations de l'ensembles des paramètres anthropométrique, biochimique et hématologiques des animaux traités avec l'hormone testostérone, l'extrait hydro-alcoolique (méthanol) des racines de la plante *Urtica dioica* sous un régime alimentaires hypercalorique (chocolat et fromage).

<i>Paramètres étudiés</i> (Valeur moyenne \pm <i>ESM</i>)	TEM	TESTO	TESTO-ORT	ORT	<i>p-valeur</i>
Poids corporel (g)	36,9 \pm 0,67	41,15 \pm 1,62	36,64 \pm 1,38	36,59 \pm 0,88	0,031
Gain de poids (g/j) $\times 10^{-3}$ (Pi – Pf) / 30 j	0,0 \pm 0,0	30 \pm 7	27 \pm 6	-0,8 \pm 0,5	0,97
Glycémie (g/L)	1,28 \pm 0,17	1,09 \pm 0,32	0,84 \pm 0,13	0,96 \pm 0,12	0,52
Triglycérides (g/L)	1,1 \pm 0,1	1,12 \pm 0,35	1,36 \pm 0,37	1,07 \pm 0,28	0,89
Cholestérol total (g/L)	1,33 \pm 0,17	1,41 \pm 0,16	1,41 \pm 0,65	1,45 \pm 0,02	0,96
TGO (UI/L)	125 \pm 1,5	126 \pm 24,2	136,5 \pm 19,4	70,5 \pm 6,5	0,006
TGP (UI/L)	35,88 \pm 1,04	78,56 \pm 11,2	102 \pm 13,23	58,5 \pm 3,88	0,009
Urée (g/L)	0,46 \pm 0,08	0,38 \pm 0,11	0,26 \pm 0,11	0,30 \pm 0,13	0,63
Créatinine (mg/L)	15,47 \pm 1,48	13,36 \pm 3,57	10,51 \pm 2,12	13,04 \pm 2,52	0,63
PSA (ng/mL)	0,11	0,25	0,18	0,10	-
Globules rouges(M/ul)	9,73	8,10	9,43	9,79	-
Hémoglobine(g/dl)	15,4	13,1	13,4	15,1	-
Hématocrite %	46,6	41,2	42,1	44,1	-
Globules blancs(K/ul)	4,3	4,8	13,9	10, 2	-
Plaquettes (K/ul)	314	380	926	907	-

ESM : erreur standard de la moyenne, TEM : souris témoins, TESTO : souris traitées avec l'hormone testostérone, TESTO-ORT : souris traitées avec testostérone et la plante ortie, ORT : souris traités avec la plante ortie, Pi : poids corporel initial, Pf : poids corporel final, j : jours, TGO : ; TGP : , UI, PSA

5-Etude histologique

5-1-Examens macroscopiques

Les résultats de l'étude macroscopique s'étaient intéressés au tissu prostatique. Cet organe pourrait constituer une cible de l'hormone testostérone et d'un régime alimentaire hypercalorique.

Le tissu prélevé a fait l'objet de plusieurs évaluations comme la détermination du poids, la taille, l'aspect et la couleur. Ces appréciations sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Chapitre III : Partie expérimentale

Ce volet a été entamé dans le but de vérifier s'il y'a eu des modifications morphologiques tissulaires comme la présence de kystes ou de nécroses, des œdèmes et des congestions vasculaires, hyperplasie ou hypertrophie au niveau des échantillons d'organes prélevés chez les souris males des différents groupes (tableau04).

Tableau04 : Caractéristiques morphologiques du tissu prostatique chez les différents groupes d'animaux.

Glande prostatique	TEM	TESTO	TESTO-ORT	ORT	<i>p-valeur</i>
Aspect	Normal, spongieux	Hyperplasie, volumineux	Moins hyperplasique	Normal	-
Forme	Régulière, ronde	Irrégulière,	Plus ou moins régulière	Régulière	-
Couleur	Rougeatre	Rougeatre	Rougeatre	Rougeatre	-
Taille (L×l en cm)	1,5 ×0,9	2,4 ×1,1	1,9×0,12	1,7×0,43	-
Poids tissulaire (gr)	0,66	0,99	0,70	0,50	-
Poids corporel (gr)	39,60±0,67	41,15±1,62	36,64±1,38	36,59±0,88	0,031
Index (Pdtp / Pdcrp)×10 ⁻²	16,66	24,00	19,10	13,66	-

Pdtp (poids tissulaire prostatique), Pdcrp (poids corporel)

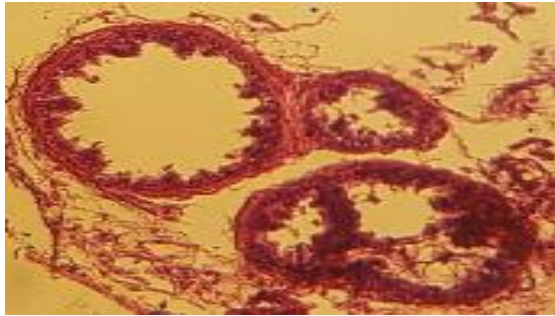
5-2-Examens microscopiques

Chez le groupe des souris traités avec l'hormone de testostérone et sous régime alimentaire hypercalorique (groupe TESTO), la prostate présentait une architecture tissulaire et cellulaire désorganisée. Dans ce meme groupe, les glandes prostatiques présentaient des acini très larges, hypertrophiés parfois meme éclatés. Le tissu fibromusculaire, le stroma et les espaces interglandulaires étaient également de grande taille voire hypertrophiés (figure28). La structure tissulaire de la prostate était méconnaissable. Les acini ou les glandes prostatiques avaient des formes irrégulières et très éloignées les unes des autres contrairement au groupe des souris témoins qui avaient des glandes prostatiques de forme et de taille normale et régulières non hypertrophiés (figure29).

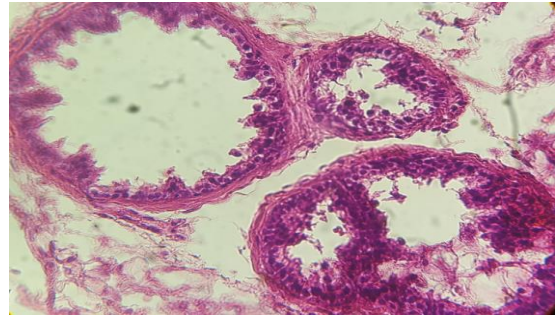
Chez le groupe des souris, traitées préalablement par l'hormone testostérone puis traitées avec l'extrait hydro-acoologique des racines de la plante *Urtica dioica*, ont montré une structure tissulaire et cellulaire plus ou moins organisée. Les glandes prostatiques, ou acini, étaient moins hypertrophiées. Les espaces interglandulaires, ou tissu mésenchymateux fibromusculaire, étaient moins larges comparativement au groupe TESTO.

Chapitre III : Partie expérimentale

Chez le groupe des souris traitées uniquement avec l'extrait hydro-alcoolique (méthanol) des racines de la plante ortie, le tissu prostatique présentait une structure et une organisation presque identiques à celle des animaux du groupe témoin (figure28).



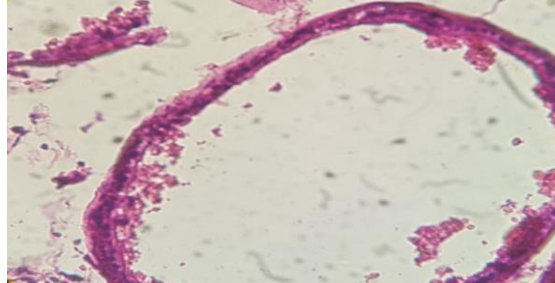
Groupe TEM : microphoto de la glande prostatique observée au microscope optique (Hem-Eos $\times 10$)



Groupe TEM : la glande prostatique (Hem-Eos $\times 40$)



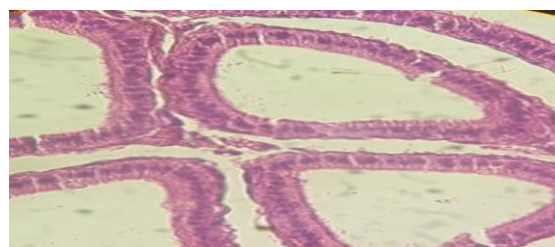
Groupe TESTO : Eclatement et hypertrophie des acinis (EHA) de la prostate, hypertrophie du stroma fibreux (HSF) interglandulaire (Hem-Eos $\times 10$)



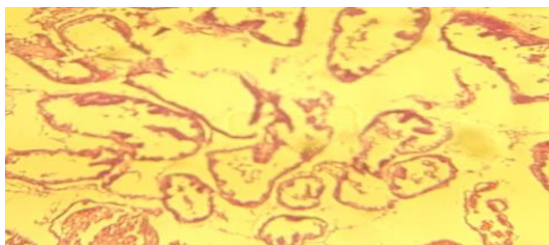
Groupe TESTO : EHA et HSF (Hem-Eos $\times 40$)



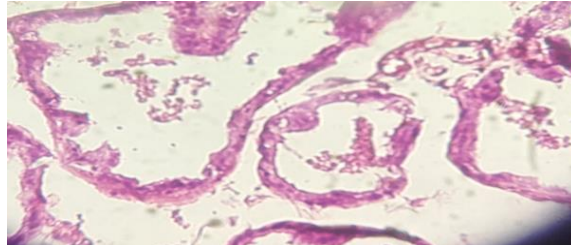
Groupe TESTO-ORT : Acini glandulaires prostatiques gardent leur aspect plus ou moins réguliers (fleche) et un espace interglandulaire moins large (fleche) (Hem-Eos $\times 10$)



Groupe TESTO-ORT : Acini glandulaires prostatiques et stroma fibreux mésenchymateux restaurant leur architecture tissulaire moins hypertrophique (Hem-Eos $\times 40$)



Groupe ORT : glandes prostatiques ressemblant à celles normales des souris males témoins (Hem&Eos $\times 10$)



Groupe ORT : glandes prostatiques ressemblant à celles normales des souris males témoins (Hem&Eos $\times 40$)

Figure 29 : Examens microscopiques histologiques des glandes prostatiques des souris (Témoins, souris exposées à la testostérone, souris traitées avec l'extrait hydro-alcoolique des racines de l'ortie).

Discussion

L'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) est un problème de santé publique fréquent chez les hommes âgés de plus de 50 ans affectant la qualité de vie.

L'étiologie, ou les causes, de l'hyperplasie prostatique est multifactorielle et surtout hormonale (**Marker et al. 2003**) sans ignorer les altérations biochimiques et la prolifération tissulaire prostatique accrue qui joueraient un rôle clé dans le développement de l'HBP (**Li et al. 2007**).

La testostérone est l'hormone sexuelle mâle ou androgène de principe. La testostérone joue un rôle important dans la croissance et le développement des organes reproducteurs mâles tels que les testicules et la prostate.

La testostérone est convertie en sa forme dihydrotestostérone (DHT) par l'enzyme 5 α -réductase. Le métabolite DHT se fixe aux récepteurs androgéniques. Une fois lié, le complexe récepteur-hormone entre dans le noyau de cellules et se fixe sur des gènes spécifiques au niveau des séquences nucléotidiques appelées éléments de réponse d'hormone. Ceci modifie la transcription d'ADN et la synthèse des protéines résultant des effets androgéniques de la testostérone (**mandel, 2019**).

L'Ortie « *Urtica dioica* » est en réalité une plante riche en vitamines et minéraux et antioxydants telles que les composés phénoliques. Elle possède de nombreuses vertus médicinales qui remontent à l'Antiquité, ses vertus sont utilisées en phytothérapie: fortifiantes, anti-inflammatoires, astringentes ou antihistaminiques. Sa richesse en minéraux et vitamines fait d'elle une excellente plante nutritionnelle (**Draghi, 2005**).

L'ortie renferme des inhibiteurs de l'alpha-glucosidase, l'enzyme qui transforme les sucres alimentaires en sucres simples pour être absorbés. Lorsque cette enzyme est inhibée, les glucides sont moins bien absorbés, donc leur effet sur la glycémie est réduit. L'ortie paraît donc intéressante en cas de glycémie élevée pour diminuer le sucre sanguin.

Une autre étude menée pour l'évaluation de l'activité antidiabétique *in vivo*, a mis en évidence l'effet hypoglycémiant des extraits aqueux d'ortie sur des rats diabétiques. Ce résultat s'explique à cet égard, par l'inhibition de l'absorption intestinale du glucose (**Bnouham et al 2003**). D'autre part, les études réalisées sur des îlots de Langerhans ont prouvé l'action stimulatrice de l'ortie sur la sécrétion d'insuline, accompagnée d'une diminution du taux de sucre. Les tests effectués sur des rats normaux et diabétiques, après injection intra péritonéale de l'extrait aqueux, ont raffermi ce résultat (**Farzam et all 2003**).

Chapitre III : Partie expérimentale

Certains travaux de recherches, menés par l'université de Tulane en New Orlean aux USA, ont présenté les mêmes résultats. Au terme de leur projet, des souris sans récepteur à la testostérone ont toutes présenté une faible sécrétion d'insuline induisant des taux très élevés de glucose dans le sang par rapport aux souris du groupe témoin. Ce résultat suggère que la production d'insuline est dépendante de la testostérone. (**Lebrun, 2016**).

Les principaux composés bioactifs d'*Urtica dioica* (ou ortie) restent indéterminés, bien que de nombreux composés aient été rapportés dans des extraits aqueux ou hydro-alcoolique d'*Urtica dioica* à savoir : les acides gras, les stérols, les flavonoïdes, les protéines, les polysaccharides et lectines (**Akbay et al. 2003; Ganzera et al. 2005**).

Certaines macromolécules (les polysaccharides et les glycoprotéines) sont considérées comme des composants pharmacologiques.

Lichius et al. a rapporté que la fraction de polysaccharide des extraits méthanoliques d'*Urtica dioica* a montré un effet inhibiteur sur la croissance des cellules du carcinome prostatique et sur celles de l'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) (**Lichius et al. 1999**).

L'agglutinine est une lectine présente dans les racines d'ortie. Elle a comme rôle l'inhibition directe de la prolifération des cellules tumorales Hela et bloquent la liaison de l'EGF à son récepteur, et est considérée comme responsable des effets inhibiteurs du développement de l'HBP (**Wagner et al. 1994**).

Les protéines présentes dans la plante *Urtica dioica* étaient impliquées dans l'inhibition de la prolifération des cellules prostatiques (**Konrad et al. 2000**) et le développement du tissu fibreux (**Durak et al. 2004**). Protéines, ou glycoprotéines, pourraient être responsables des effets de synergie dans l'inhibition de l'HBP.

Jusqu'à présent, seuls les extraits des racines d'*Urtica dioica* ont montré des activités thérapeutiques contre l'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) et sont beaucoup utilisés comme médicaments en Europe.

Les extraits des feuilles d'*Urtica dioica* sont utilisés comme remèdes anti-inflammatoires dans la polyarthrite rhumatoïde (**Schulze-Tanzil et al. 2002**).

Le marqueur tumoral prostatique (ou PSA) est un marqueur spécifique de la glande de la prostate mais certainement pas du cancer de la prostate. Les facteurs favorisant l'augmentation du taux de PSA sont multiples : le cancer de la prostate, l'HBP (**Descazeaud and al. 2014**). PSA est une sérine protéase produite presque exclusivement par les cellules épithéliales de la prostate. Le taux sérique du PSA a subi une augmentation chez les souris suite à des injections successives de l'hormone de testostérone. Une élévation sérique du PSA

Chapitre III : Partie expérimentale

total a été montrée dans différentes pathologies prostatiques incluant le cancer de la prostate mais aussi l'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) (Noel et al. 2012).

De nombreux travaux de recherches indiquaient que les composants de la racine d'ortie pouvaient interférer avec plusieurs mécanismes impliqués dans la pathogénie de l'hypertrophie bénigne de la prostate (Ait Haj said et al. 2016). Le traitement avec les extraits des racines d'ortie permet une diminution de 70 % du volume de la prostate, avec une réduction du nombre de mictions. Sans correspondre à une guérison définitive, il s'agit tout de même d'une augmentation appréciable de confort (Hegel, 2016). Ces études sont plus ou moins similaires aux résultats de cette présente étude qui ont montré une diminution de PSA chez le groupe d'animaux qui étaient traités par l'extrait d'*Urtica dioica*. On peut conclure que l'ortie a un effet préventif contre l'hypertrophie bénigne de la prostate.

Conclusion

Conclusion

L'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) a été reconnue comme un problème de santé publique affectant généralement les hommes âgés de plus de 50 ans. Cette pathologie a un impact très important sur la qualité de la vie du patient.

L'un des principaux facteurs étiologiques du développement de l'HBP est la prolifération des cellules prostatiques à médiation hormonale. L'androgène, ou l'hormone sexuelle male, est la testostérone responsable de cette multiplication cellulaire prostatique bénigne.

Cette présente étude a montré que l'augmentation du poids de la prostate chez un modèle animal a été directement corrélée à l'association testostérone-régime hypercalorique. Dans la littérature, il a été déjà démontré que la combinaison testostérone-obésité chez certains animaux a induit une élévation du volume et du poids de la glande prostatique.

Il a été déjà établi que la stimulation androgénique (testostérone) peut amplifier le degré du stress oxydatif au niveau des cellules prostatiques par le biais de l'activation des voies métaboliques. Par opposition, les médicaments ou drogues à effets anti androgéniques peuvent limiter le stress oxydatif responsable de l'HBP.

Les données de notre étude ont montré que le traitement des animaux, porteurs d'HBP induite par testostérone et un régime alimentaire hypercalorique, avec l'extrait hydro-alcoolique des racines de la plante médicinale Ortie (*Urtica dioica*) a réduit le poids du tissu prostatique à l'inverse des effets de l'hormone testostérone.

La plante aromatique *Urtica dioica* a montré qu'elle avait une activité anti-oxydante contribuant à ses activités anti androgéniques.

Cette étude peut constituer un support scientifique pour de futurs travaux d'investigations sur le traitement de l'HBP à l'échelle cellulaire et moléculaire tout en dévoilant les mécanismes d'action des composés bioactifs comme les isoflavones envers les cellules prostatiques hyperplasiques.

Références bibliographique

References bibliographiques

A

- Abate-Shen C. and Shen MM. (2002). Mouse models of prostate carcinogenesis. Trends Genet. 18(5): S1–S.
- Abrahamsson PA. (1996). Neuroendocrine differentiation and hormone-refractory prostate cancer. Prostate Suppl.; 6: 3–8.
- Abrams P, Chapple C, Khoury S, Roehrborn C, de la Rosette J; International Scientific Committee (2009) Evaluation and treatment of lower urinary tract symptoms in older men. J Urol 181: 1779-1787.
- Amal Ait Haj said¹, Ibrahim sbai El Otmani², Sanae Derfoufi³, Adnane Benmoussa (2016) Nutritional and therapeutic potential of nettle (*Urtica dioica* L.) Hegel Vol. 6 N° 3-2016
- Agnes NUSS Hypertrophie Bénigne de la Prostate 26/ 10/ 2016.
- A-J. et B. Bertrand, Légumes de demain - Saveurs d'ortie, Editions de Terran, 2001
- Akbay P, Basaran AA, Undeger U, Basaran N, 2003. In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L. Phytoter. Res. 17, 34–37.
- Allkanjari Olta, Annabella Vitalon What do we know about phytotherapy of benign prostatic hyperplasi 21 January 2015.

B

- Bernard Bertrand, Les secrets de l'ortie. Le compagnon végétal (9^e édition), 2005.
- Berquin IM., Min Y., Wu R., Wu H. and Chen YQ. (2005). Expression signature of the mouse prostate. J Biol Chem.; 280(43):36442–36451.
- BILLARD Roger Comment soigner l'hypertrophie bénigne de la prostate par les plante (11 juillet 2018).
- Bnouham M, Merhfour FZ, Ziyyat A, Mekhfi H, Aziz M, Legssyer A. Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*. Fitoterapia 2003;74:677-81.

Références bibliographique

- Bouayed Debbagh Labiba Contribution à l'étude de l'effet antibactérien et antioxydant de l'extrait aqueux d'Urtica dioica (l'Ortie) 23 Juin 2016.
- BOUGAR Nadia BELKACEM KOURMI Zahira Contribution à la caractérisation physico-chimique et anti-bactérienne de l'extrait de la plante urtica dioica L (ortie dioïque) 2016.
- Brawer MK., Peehl DM. Stamey TA, and Bostwick DG. (1985). Keratin immunoreactivity in the benign and neoplastic human prostate. *Cancer Res.*; 45: 3663–3667.
- BRUNETON Jean Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales. - 3ème édition Paris: éd. Tee & Doc; Cachan: éd. Médicales Internationales, 1999.- 1120p.
- Boizot N., and Charpentier .J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra.* pp 79-82.

C

CAPASSO FRANCESCO TIMOTHY S. GAGINELLA GIULIANO GRANDOLINI ANGELO A. Izzo *Phytotherapy A Quick Reference to Herbal Medicine* (2003).

D

- D'Addressi A, Martire M, Cannizzaro C, Porreca A, Menchinelli P, Alcini A, Alcini E, Benign prostatic hyperplasia : correlations between receptor density and binding affinity of alpha(1)-adrenoreceptors and several clinical parameters, *Urol Int*, 2002, 68, 246-250
- Descazeaud and al. : Bilan initial, suivi et traitement des troubles mictionnels en rapport avec hyperplasie bénigne de prostate : recommandation du CTMH de l'AFU. *Prog Urol* 2012 ; 22, 977–988.
- Descazeaud A. Traitement médical de l'hyperplasie bénigne de prostate. *113 Prog Urol* 2009;19(12):890—2.
- Draghi Francine, L'Ortie Dioïque (Urtica dioica L.) : Etude bibliographique, Thèse de doctorat en Pharmacie, Université Henri Poincaré Nancy 1- France, 2005.

Références bibliographique

-Dreikorn.K, Phytoterapeutic agents in the treatment of benign prostatic hyperplasia, Curr. Urol. Rep. 1 (2000) 103-109.

-Durak, H. Biri, E. Devrim, S. Sözen, A. Avci, Aqueous extract of *Urtica dioica* makes significant inhibition on adenosine deaminase activity in prostate tissue from patients with prostate cancer, Cancer. Biol. Ther. 3(9) (2004) 855-897.

-DUTHEIL Nathalie et SCHEIDEGGE Suzanne Les pathologies des personnes âgées vivant en établissement 2006.

F

-Furuya S, Kumamoto Y, Yokoyama E, Tsukamoto T, Izumi T, Abiko Y, Alpha adrenergic activity and urethral pressure in prostatic zone in benign prostatic hypertrophy, J Urol, 1982, 128, 836-839.

-Farzami Bijan, D. Ahmadvand, S. Vardasbi, F.J. Majin, Sh. Khaghani Induction of insulin secretion by a component of *Urtica dioica* leave extract in perfused Islets of Langerhans and its in vivo effects in normal and streptozotocin diabetic rats 19 June 2003.

G

-Ganzera M, Piereder D, Sturm S, Erdelmeier C, Stuppner H, 2005. *Urtica dioica* agglutinin: separation, identification and quantitation of individual isolectins by capillary electrophoresis and capillary electrophoresis–mass spectrometry. Electrophoresis 26.

- Gervais Poirier, Les Produits Gervol : Ortie (*Urtica dioica*), Caplan (Québec) GOC 1EO (418) 388 - 2005.

K

-Konrad, H.H. Müller, C. Lenz, H. Laubinger, G. Aumüller, J.J. Lichius, Antiproliferative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle root (*Urtica dioica*) extract, Planta. Med. 66(1) (2000) 44-47.

Références bibliographique

L

- LERBET Brigitte L'ortie (2017).
- Li W, Wu C, Febbo PG, Olumi AF, 2007. Stromally expressed c-Jun regulates proliferation of prostate epithelial cells. *Am. J. Pathol.* 171, 1189-1198.
- Lichius J, Renneberg H, Blaschek W, Aumuller G, Muth C, 1999. The inhibiting effects of components of stinging nettle roots on experimentally induced prostatic hyperplasia in mice. *Planta Med.* 65, 666–668.
- LEBRUN ANNE-LAURE Testostérone: un déficit favorise le diabète de type 2 29.04.2016

M

- Madersbacher S, Marszalek M, Lackner J, Berger P, Schatzl G, The Long-Term Outcome of Medical Therapy for BPH, *Eur Urol*, 2007, 51, 1522-33.
- Marker PC, Donjacour AA, Dahiya R, Cunha GR, 2003. Hormonal, cellular and molecular control of prostatic development. *Dev. Biol.* 253, 165-174.
- Mandal Ananya Effets physiologiques de testostérone Feb 27, 2019.
- Marie-Jo Vanstippen, La grande ortie (*Urtica Dioica*), Cercles des Naturalistes de Belgique (CNB) – Section Les Sources, 2005.
- Mc Ginley I, Guerrero J, Gautier T, Peterson RE. Steroid 5 α - reductase deficiency in man: an inherited form of male pseudohermaphroditism. *Science* 1974; 186:1213- 25.
- Moon J. K. & Shibamoto T. (2009). Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 57: 1655–1666.
- Moutsie, (2008)., L'ortie, une amie qui vous veut du bien, l'encyclopédie d'utovie, Edition d'utovie.

N

- Nagle RB. Ahmann FR., McDaniel KM., Paquin ML. Clark VA., and Celniker A. (1987). Cytokeratin characterization of human prostatic carcinoma and its derived cell lines. *Cancer Res.*; 47: 281–286.

Références bibliographique

- NOEL Michèle, Jean-Marc Annales du Contrôle National de Qualité des analyses de biologie médicale, Décembre(2012).

-Nyamai DW1, Arika WM1, Rachuonyo HO2, Wambani JR3 and Ngugi MP1 Herbal Management of Benign Prostatic Hyperplasia (2016).

- Nistal M., Paniagua R., Regadera J., Santamaria L., Amat P. (1986). A quantitative morphological study of human Leydig cells from birth to adulthood. Cell Tissue Res, 246, 229-236.

O

-Obertreis, T. Ruttkowski, T. Teucher, B. Behnke, H. Schmitz, Ex-vivo in-vitro inhibition of lipopolysaccharide stimulated tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta secretion in human whole blood by extractum urticae dioicae foliorum, Arzneimittelforschung. 46(4) (1996) 389-394.

-Okada 1 Hiyoshi, Airo Tsubura 2, Akiharu Okamura 3, Hideto Senzaki 2, Yuji Naka 1, Yosuke Komatz 1, and Sotokichi Morii 2 Keratin profiles in normal/hyperplastic prostates and prostate carcinoma (1992).

P

-POIRIER Joséphine L'hypertrophie bénigne de la prostate et son traitement médicamenteux, Etude bibliographique, Thèse de doctorat en Pharmacie UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1(2009).

S

-Serairi-Beji Raja Wissem Aidi Wannas Amel Hamdi Rabeb Tej Riadh Ksouri Moufida Saidani-TounsiMokhtar Lachaal Najoua Karray-Bouraoui Antioxidant and hepatoprotective effects of *Asparagus albus* leaves in carbon tetrachloride-induced liver injury rats 21 September 2017.

- Schulze-Tanzil, G., Behnke, B., Klingelhofer, S., Scheid, A., Shakibaei, M., 2002. Effects of the antirheumatic remedy hox alpha – a new stinging nettle leaf extract – on matrix metalloproteinases in human chondrocytes in vitro. Histol. Histopathol. 17, 477–485.

Références bibliographique

-Sugimura Y., Cunha GR. and Donjacour AA. (1986). Morphogenesis of ductal networks in the mouse prostate. Biol Reprod.; 34(5): 961–971.

T

-Testai a Lara, Silvio Chericoni b, Vincenzo Calderone a, Giulia Nencioni b, Paola Nieri a, Ivano Morelli b, Enrica Martinotti a Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies (16 February 2002)

-Thomson PDR at Montvale, USA, (2004) PDR for Herbal Medicines, third ed.

V

- Vierhapper H., Nowotny P., Waldhausl W. (2000). Production rates of testosterone in patients with Cushing's syndrome. Metabolism, 49, 229-231.

W

- Wagner H, Willer F, Samtleben R, Boos G, 1994. Search for the antiprostatic principle of stinging nettle (*Urtica dioica*) roots. Phytomedicine 1, 213–224.

- Wichtl M, Anton R.(2003) ;. Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2^e édition française. Paris: éd. Tee & Doc; Cachan. Médicale Internationales : 692.

- Winters S.J., Clark B.J. (2003). Testosterone Synthesis, Transport, and Metabolism. In: Contemporary Endocrinology: Androgens in Health and Disease. Bagatell C.J., Bremner W.J., eds., Totowa, NJ, Humana Press Inc, 3-22.

Z

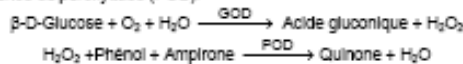
-ZABAIYOU Nada Etude du stress oxydatif dans l'hypertrophie bénigne de la prostate et mise en évidence de l'effet de la propolis contre le cancer de la prostate in vivo sur un modèle animal de rat Wistar et ex vivo sur les cellules LNCaP du cancer de la prostate hormono sensibles. En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat en Sciences, Université Mohammed Seddik Benyahia – Jijel. 23 /10 / 2017.

Annexes

Détermination quantitative du glucose
IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

 Le glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique. Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit, se détache au moyen d'un accepteur chromo génique d'oxygène, de phénol-amprone en présence de peroxydase (POD):

 L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de glucose présent dans l'échantillon teste^{1, 2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

 Le glucose est la meilleure source d'énergie pour les cellules de l'organisme; l'insuline facilite l'entrée de glucose dans les cellules. Le diabète mellitus est une maladie qui se produit en cas d'hyperglycémie, provoquée par un déficit d'insuline^{1, 3, 4}. La diagnostic clinique doit tenir compte de données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1 Tampon	TRIS pH 7,4 Phénol	92 mmol/L 0,3 mmol/L
R 2 Enzymes	Glucose oxydase (GOD) Peroxydase (POD) 4 - Aminophénazone (4-AF)	15000 U/L 1000 U/L 2,6 mmol/L
GLUCOSE CAL	Patron primaire de détection du glucose	100 mg/dL

PREPARATION

Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans un flacon de tampon R 1. Fermer et mélanger doucement jusqu'à dissoudre le contenu. Stabilité: 1 mois au réfrigérateur (2-8°C) ou 7 jours à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination.

Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption du blanc à 505 nm ≥ 0,10.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 505 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire

ECHANTILLONS

 Sérum ou plasma, sans hémolyse¹ ni LCR. Le sérum doit être séparé dès que possible du caillot. Stabilité: Le glucose dans le sérum ou le plasma est stable 3 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
 Longueur d'ondes: 505 nm (490 – 550)
 Cuvette: 1 cm d'éclairage
 Température 37°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipéter dans une cuvette:

	Blanc	Modèle	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Modèle (Réactif R 2) (µL)	--	10	--
Echantillon (µL)	--	--	10

- Mélanger et incubé pendant exactement 5 minutes à 37°C or 20 minutes à température ambiante (15-25°C).
- Lire l'absorption (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

CALCULS

$$\frac{(A)\text{Echantillon}}{(A)\text{Modèle}} \times 100 (\text{modèle conc.}) = \text{mg/dL de glucose dans l'échantillon}$$

Facteur de conversion: mg/dL x 0,0555= mmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

 Sérum ou plasma:
 60 – 110 mg/dL ≈ 3,33 – 6,10 mmol/L
 LCR:
 60 – 80 % de la valeur en sang

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE
Gamme de mesures: Depuis la limite de détection 0,04 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité 500 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Moyenne (mg/dL)	95,8	241	95,4	248
SD	0,81	1,43	1,55	3,73
CV (%)	0,83	0,59	1,58	1,50

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,0036 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,99.

Equation de la Courbe de régression: y=1,0x + 0,12.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Aucune interférence n'a été relevée avec: l'hémoglobine jusqu'à 4 g/L, la bilirubine jusqu'à 20 mg/L, la créatinine jusqu'à 100 mg/L, la galactose jusqu'à 1 g/L.

 Différentes drogues ont été décrites, ainsi que des substances pouvant interférer dans la détermination de la glucose^{3, 4}.

REMARQUES

- GLUCOSE CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec une extrême précaution. En effet, il peut être contaminé très facilement.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Kaplan A. Glucose. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1032-1036.
- Trinder P. Ann Clin Biochem 1969; 6: 24-33.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

 Ref:1001150 R1: 4 x 125 mL, R2: 4 → 125 mL, CAL: 1 x 5 mL
 Ref:1001151 R1: 4 x 250 mL, R2: 4 → 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
 Ref:1001152 R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL

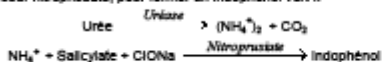
Détermination quantitative d'urée

IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'urée catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH₃) et en anhydride carbonique (CO₂). Les ions ammoniac réagissent avec salicylate et hypochlorite (ClONa), en présence du catalyseur nitroprussiate, pour former un Indophénol vert :



L'intensité de couleur formée est proportionnelle à la concentration d'urée en le test à diminution de la concentration de NAD⁺ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'urée est le résultat final du métabolisme des protéines; elle se forme dans le foie à partir de sa destruction. Il peut apparaître un taux d'urée élevé dans le sang (urémie) dans le cadre de régimes excessives en protéines, de maladies d'insuffisances cardiaques, d'hémorragies, d'hypovolémie et d'obstructions rénales 144. Le diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et des données de laboratoire.

REACTIFS

R 1	Tampon phosphates pH 6,7	50 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
	Salicylate de sodium	400 mmol/L
	Nitroprussiate de sodium	10 mmol/L
R 2	Hypochlorite de sodium (ClONa)	140 mmol/L
	Hydroxyde de sodium	150 mmol/L
R 3	Uréase	30000 UI/L
UREA CAL	Patron primaire de détection d'urée 50 mg/dL	

PRECAUTIONS

R2: Corrosif (C); R35: provoque des brûlures graves. S26 En cas de contact avec les yeux, laver à grande eau claire immédiatement et se rendre chez un médecin. S37/39 Utiliser des gants adaptés et des protections pour les yeux/les mains. S45 En cas d'accident ou de malaise se rendre au plus chez le médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

PREPARATION

- Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) une tablette de R3 dans le flacon de R1. Refermer et mélanger doucement jusqu'à dissolution complète du contenu. Stabilité: 4 semaines à 2-8°C ou 7 jours à température ambiante (15-25°C). - Le R2 ClONa prêt à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la capsule, et si les capsules sont maintenues hermétiquement fermées à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée. Indices de détérioration des réactifs: - Présence de particules et turbidité. - Absorbance (A) du blanc à 580 nm > 0,32.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 580 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire (Pipettes).

ECHANTILLONS

- Sérum ou plasma héparinisé¹: Ne pas utiliser de sels d'ammonium ni de fluorure comme anticoagulants.
- Urine²: Diluer l'échantillon à 1/50 dans de l'eau distillée; mélanger. Multiplier le résultat obtenu par 50 (facteur de dilution). Eviter le développement de bactéries, en réglant le pH < 4. L'urée est stable 5 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 580 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 37/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette:

	Blanc	Étalon	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon (µL)	--	10	--
Echantillon (µL)	--	--	10

- Mélanger et incubé 5 min à 37°C ou 10 min à température ambiante.

5. Pipeter:

	Blanc	Étalon	Echantillon
R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0

- Mélanger et incubé 5 min. à 37°C ou 10 min. À température ambiante.
- Lire l'absorbance (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes à 15-25°C.

CALCULS

$$\frac{(A)_{\text{Échantillon}} - (A)_{\text{Blanc}}}{(A)_{\text{Étalon}} - (A)_{\text{Blanc}}} \times 50 \text{ (Étalon conc.)} = \text{mg/dL d'urée dans l'échantillon testé}$$

10 mg/L d'urée BUN divisé par 0,466 = 21 mg/L d'urée = 0,36 mmol/L d'urée³.

Facteur de conversion: mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Ref. 1002120 et 1002210). Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre. Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE

Sérum: de 15 à 45 mg/dL (2,49-7,49 mmol/L)
Urine: de 20 à 35 gr/24 heures

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CHARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesure: Depuis la limite de détection de 0,3 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 200 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Moyenne (mg/dL)	40,0	139	40,0	142
SD	1,27	3,50	1,86	3,75
CV (%)	3,17	2,50	4,64	2,63

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,00505 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x). Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,9941.

Equation de la Courbe de régression: y=0,9972x + 0,011.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Comme anticoagulants, il est conseillé d'utiliser de l'héparine. Ne jamais utiliser de sels d'ammonium ou de fluorure¹. Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination de l'urée^{4,5}.

REMARQUES

- UREA CAL: Étant donné la nature du produit, manipuler avec précaution. Peut être contaminé très facilement.
- Le matériel utilisé et l'eau distillée ne doivent ni contenir d'ammonium, ni de sels.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Kaplan A. Urée. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Tabacco A et al. Clin Chem 1979; 25: 336-337.
- Fawcett J K et al. J Clin Path 1980; 13: 156-169.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Taitz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001331	Cont.	R1: 2 x 150 mL, R2: 2 x 150 mL, R3: 2 → 150 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001329		R1: 5 x 50 mL, R2: 5 x 50 mL, R3: 5 > 50 mL, CAL: 1 x 5 mL



Annexe III-1 : macération froide



Annexe III-2 : filtration



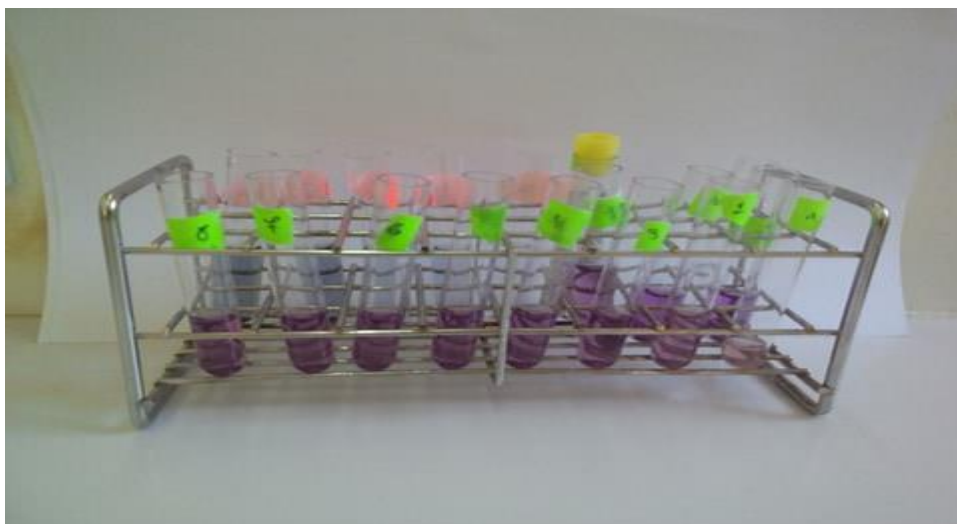
Annexe III-3 : rotavapeur



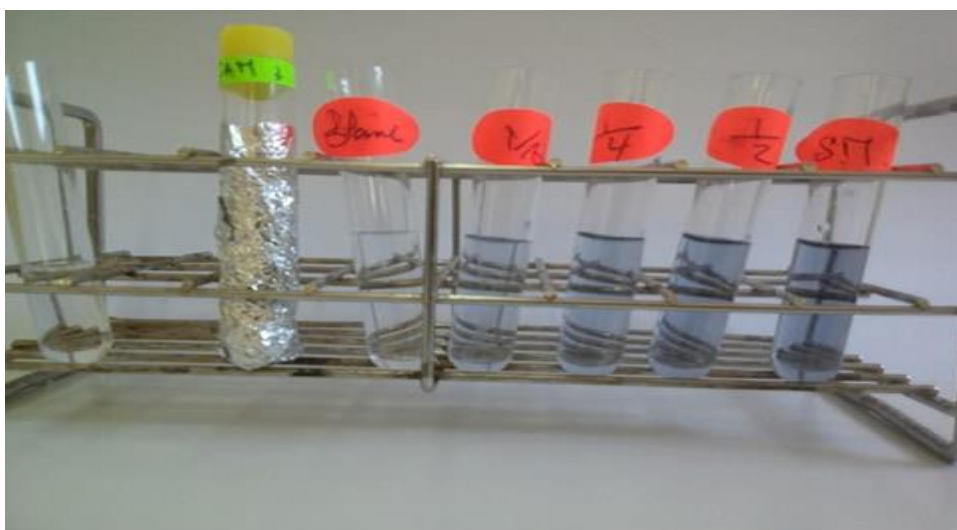
Annexe III-4 : spectrophotomètres



Annexe III-5 centrifugeuse



Annexe IV -1 : Test de DPPH



Annexe IV -2 : Teneur des polyphénols totaux