

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE JIJEL

Faculté des sciences

BC-14/05

Département De Biochimie Et De Microbiologie

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention d'un diplôme  
d'études universitaire supérieures en biologie moléculaire et cellulaire



Option biochimie



Thème

*Etude de l'effet hépatoprotecteur et curatif  
Des polyphénols, extraits à partir de la plante  
Ranunculus repens L, sur une hépatotoxicité  
induite par le tétrachlorure de carbone (CCl<sub>4</sub>).*

Membres de jury :

Président : Hendis Mohammed Essadek,

Examineur : Laïb Essaid.

Promoteur : Kebeieche Mohammed.

REALISE PAR :

- Krada Khaled.
- Messai Nassima.
- Boubellouta Houria.



Promotion : 2005



## Remerciement

*Nous tenons à remercier en premier lieu dieu de nous avoir donné la force et la volonté pour réaliser ce travail.*

*Nous remercions vivement notre honorable encadreur monsieur : KEBIECHE MOHAMMED qui nous a proposé ce sujet de recherche, et qui nous a encadré par ses conseils judicieux, ses encouragements, sa compréhension et sa totale disponibilité.*

*Nos remerciements vont aux membres du jury pour nous avoir honoré en acceptant de juger notre travail.*

*Nos remerciements vont aussi aux étudiants de post graduation (phytopharmacologie et chimie) et tous les personnes du laboratoire de recherche sous la direction de monsieur LAHOUEL MESBAH.*

*Nous voudrions exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude aux personelles des laboratoires de biologie et surtout Mme ASSIA*

*Nous remercions vivement tous les enseignants qui ont participé à notre formation.*

*Enfin, nous remercions toute personne qui a contribué de loin ou de près dans la réalisation de ce mémoire.*

Sommario

## SOMMAIRE

<b>Introduction générale</b> .....	<b>01</b>
<b>Chapitre I / La plante :</b>	
I-1 / Introduction .....	03
I -2/ La famille des Ranunculaceae .....	03
I -3/ Le genre des ranunculus.....	03
I -4/ L'espèce <i>Ranunculus repens L</i> .....	03
I -4-1/ Systématique .....	04
I -4-2/ Caractéristiques .....	05
<b>Chapitre II / Les poly phénols</b>	
II-1/ Introduction .....	06
II-2/ Définition .....	06
II-3/ Localisation et propriétés .....	06
II-4/ Classification .....	06
II-4-1/ Les flavonoides.....	07
II-4-1-1/ Définition.....	07
II-4-1-2/ Distribution .....	07
II-4-1-3/ Structure chimique.....	07
II-4-1-4/ Classification des flavonoïdes .....	08
II-4-1-5/ Biosynthèses des flavonoïdes .....	08
II-4-1-6/ Rôle des flavonoïdes .....	10
A- Rôle biologique .....	10
B-Role physiologique.....	10
C- Rôle pharmacologique .....	10
II-4-1-7/ Pharmacocinétiques des flavonoides.....	10
II-4-2/ Les tanins.....	11
II-4-2-1/ Définition.....	11
II-4-2-2/ Distribution et localisation.....	11
II-4-2-3/ Structure, classification et biogenèse.....	11
A- Tanins hydrolysables.....	11
B- Tanins condensés.....	12

II-4-2-5/ Propriétés pharmacologiques.....	12
II-4-2-6/ Effets toxiques. ....	13
 <b>Chapitre III/ Le foie :</b>	
III-1/ Définition.....	14
III-2/ Anatomie du foie.....	14
III-3/ Cytologie du foie.....	16
III-3-1/ L'hépatocytes.....	16
III-3-2/ Les cellules de Kupffer.....	17
III-3-3/ Les cellules de ITO .....	17
III-3-4/ Les cellules endothéliales.....	17
III-4/ La physiologie du foie.....	17
III-4-1-/Fonctions du foie.....	17
III-4-1-1/ Fonction métaboliques.....	17
III-4-1-2/ Conjugaison de la bilirubine et excrétion biliaire .....	17
III-4-1-3/ Biotransformation et fonction antitoxique et protectrice du foie.....	19
A –Mécanisme de la transformation.....	21
B – Sites intracellulaires de la transformation .....	21
III-4-1-4/ Autre fonctions .....	22
III-5/ Pathologie du foie .....	23
III-5-1/ Les hépatites virales.....	23
III-5-2/ Les tumeurs hépatiques.....	23
III-5-3/ Les lésions hépatiques. ....	23
III-6/ Exploration du foie.	
III-6-1/ Exploration non biochimique " clinique" .....	23
III-6-2/ EXPLORATION biochimique .....	23



	III-6-2-1/ Les transaminases.....	24
I	III-6-2-2/ Le MDA Malonedialdehyde .....	24
	III-6-2-3/ D'autre tests .....	24
	III-7/ Etude toxicologique.....	25
	III-7-1/ Définition .....	25
	III-7-2/ Type de toxicité .....	25
	III-7-2-1/ Toxicité médicamenteuse.....	25
	III-7-2-2/ Toxicité par les produits chimiques CCL <sub>4</sub> .....	26
	III-8/ La peroxydation lipidique et antioxydants .....	27
	III-8-1/ Le stress oxydatif.....	27
	III-8-1-1/ Définition .....	27
	III-8-1-2/ Les radicaux libres .....	27
	III-8-1-3/ Les types des radicaux libres .....	28
	III-8-1-4/ Rôle des radicaux libres dans la destruction des biomolécules .....	28
	A/ L'oxydation des protéines .....	28
	B/ L'action sur les acides nucléiques.....	28
	C/ L'oxydation des glucides .....	28
	D/ L'oxydation des lipides .....	28
	III-8-2/ La peroxydation lipidiques. ....	29
	III-8-2-1/ Définition .....	29
	III-8-2-2/ Les étapes de la peroxydation lipidique .....	29
	A/ Etape de départ. ....	29
	B/ Etape de diffusion .....	30
	C/ Etape de la fin.....	30
	III-8-2-3/ Le malonedialdéhyde .....	30
	III-8-3/ Les antioxydants. ....	31
	III-8-3-1/ Définition .....	31
	III-8-3-2/ Les types des antioxydants.....	31
	A/ Antioxydants enzymatiques .....	31
	B/ Antioxydants non enzymatiques.....	32
	C/ Les poly phénols .....	32

**Chapitre IV / Matériels et méthodes .**

IV-1/ Matériels.....	33
IV-1-1/ Les animaux .....	33
IV-1-2/ Les plantes .....	33
IV-2/ Méthodes.....	33
IV-2-1/ Extraction des poly phénols .....	33
IV-2-2/ Préparation des solutions administrées. ....	35
IV-2-2-1/ La solution poly phénolique.....	35
IV-2-2-2/ Le médicament "Cibétaine".....	35
IV-2-2-3/ La solution du CCl <sub>4</sub> .....	36
IV-2-3/ Voie d'administration des différentes solutions.....	37
IV-2-3-1/ Par gavage gastrique.....	37
IV-2-3-2/ Par voie IP.....	37
IV-2-4/ Traitements des animaux .....	38
IV-2-5/ Prélèvement des échantillons.....	39
IV-2-5-1/ Prélèvement du sang.....	39
IV-2-5-2/ Prélèvement du foie .....	39
A- Anesthésies.....	39
B- Dissection.....	39
C- Prélèvement du foie .....	39
IV-2-6/ L'étude de l'hépatotoxicité.....	41
IV-2-6-1/ Dosage des transaminases .....	41
A- Dosage du TGO.....	41
B- Dosage du TGP.....	42
IV-2-6-2/ Dosage du MDA. ....	43
IV-2-6-3/ Observation anatomopathologique.....	44
IV-3/ Analyse statistique. ....	44

**Chapitre V: Résultats et interprétation :**

V-1/ Evaluation des transaminase .....	45
VI-1/ Résultats du dosage du TGO.....	45

V-1-2/ Résultats des dosages TGP.....	47
V-2/ Evaluation du MDA.....	51
V-3/ Observations anatomopathologiques .....	53
V-3-1/ Foie témoin.....	53
V-3-2/ Foie intoxiqué par le CCL <sub>4</sub> .....	53
V-3-3/ Foie traité curativement.....	54
V-3-4/ Foie traité préventivement .....	55
V-3-5/ Foie traité par le médicament. ....	56
V-3-6/ Foie intoxiqué (Après 3 jours).....	59
<b>Chapitre VI/ Discussion .....</b>	<b>57</b>
<b>Chapitre VII / Conclusion.....</b>	<b>60</b>
<b>Annexe.....</b>	<b>61</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>62</b>



## Liste des tableaux

### Liste des tableaux

- Tab 01 : caractéristiques de la plante R.LL.....05.
- Tab 02 :Distribution et traitement des rats.....38
- Tab 03: composition des réactifs du TGO.....41
- Tab 04:Etapes de réalisation du dosages du TGO.....42
- Tab 05: composition des réactifs du TGP.....42
- Tab 06:Etapes de réalisation du dosages du TGP.....43
- Tab 07:Etapes de réalisation du dosages du MDA.....43
- Tab 08:Etapes de la réalisation de la courbe d'étalonnage pour le TGO... 45
- Tab 09: Résultats d'évaluation du TGO.....46
- Tab 10:Etapes de la réalisation de la courbe d'étalonnage pour le TGP... 48
- Tab 11 : Résultats d'évaluation du TGP.....49
- Tab 12 : Résultats d'évaluation du MDA.....52

## Liste des figures

### Liste des figures :

- Fig 01 : La plante *Ranunculus repens* L.....04.
- Fig. 02 : Squelette de base des flavonoides.....07
- Fig. 03 : Biosynthèse des flavonoides.....09
- Fig. 04 : Localisation du foie.....14
- Fig. 05: Le lobule hépatique..... 15
- Fig. 06 : L'hépatocyte..... 16
- Fig. 07 :Métabolisme de la bilirubine..... 18
- Fig. 08 :Mécanisme de production du MDA.....31
- Fig. 09:Protocole d'extraction des poly phénols.....34
- Fig. 10 L'administration par gavage gastrique.....37
- Fig. 11L'administration en IP..... 38
- Fig. 12 : Prélèvement du sang.....39
- Fig. 13 : Anesthésie des rats .....40
- Fig. 14: Dissection des rats..... 40
- Fig. 15 : Prélèvement du foie.....40
- Fig. 16:Courbe d'étalonnage du TGO.....45
- Fig. 17 : Evaluation du taux du TGO.....47
- Fig. 18:Courbe d'étalonnage du TGP.....48
- Fig. 19 : Evaluation du taux du TGP ..... 50
- Fig. 20:Courbe d'étalonnage du MDA.....51
- Fig. 21 : Evaluation du taux du MDA.....53
- Fig. 22 : Le foie d'un rat témoin.....54
- Fig. 23 : Le foie d'un rat intoxiqué par le CCl<sub>4</sub> .....54
- Fig. 24 : Le foie d'un rat traité curativement par l'extrait polyphénolique..55
- Fig. 25 : Le foie d'un rat traité préventivement.....55.
- Fig. 26 : Le foie d'un rat traité par le médicament.....56.
- Fig. 27 : Le foie d'un intoxiqué par CCl<sub>4</sub> (après 3 jours).....56

## Abréviations

### Liste des Abréviations :

- $\text{CCl}_4$  : Tetrachlorure de carbone.
- $\text{CCl}_3$  : Trichlorure de carbone.
- TGO : Transaminase glutamo oxaloacétique.
- TGP : Transaminase glutamo pyruvique.
- MDA : Malonedialdehyde.
- IP : Intrapéritoneale.
- KCl : Chlorure de potassium.
- TCA : Trichloacétique.
- TBA : Acide thiobarbiturique.
- BSP : Bromosulfophtaléine.
- Mg / kg : milligramme / kilogramme.
- ml / kg : millilitre / kilogramme.
- Nmol : nanomole.
- D.O: Densité optique.



Introduction

## Introduction

La connaissance par l'homme de l'utilisation des plantes comme remède naturel ou poisons toxiques est très ancienne ( 7<sup>ème</sup> siècle avant Jésus-Christ ) ce sont les médecins grecs ( hippocrate , aristote et surtout dioscoride ) qui ont conservé cette connaissance dans leur publications (HOSTETTMAN, 2000).

Oubliées pendant de nombreuses années , la phytothérapie connaît maintenant un regain de faveur, ce phénomène peut être expliqué par deux raisons principales : L'une est que les drogues de synthèse ont présenté beaucoup d'effets secondaires plus ou moins graves à l'organisme ,l'autre est que la connaissance des plantes et leurs constituants est très bien développée ces dernières années (VALNET, 1976).

Parmi ces plantes médicinales largement utilisées dans la thérapie traditionnelle on cite le *Thymus vulgaris* , *chanomilla recutita* , *quercus robur* , et *ranunculus repens L* qui présentent une nouvelle ligne de recherche phytochimique à cause de sa richesse en principes actifs (ENCYCLOPEDIE, 2002).

A coté de leur métabolisme primaire , ces plantes synthétisent des molécules de faible poids moléculaire ; les métabolites secondaires, qui font actuellement l'objet de nombreuses recherches pharmacologiques . Parmi ces éléments actifs on peut citer les alcaloïdes , les terpénoïdes , les huiles essentielles et surtout les polyphénols qui sont largement utilisés à cause de leur effets thérapeutiques ( ANTON,, 1999), tel que l'effet anti- inflammatoire ( BIDET et *al.* , 1987) , anti- oxydant ( HAYASE et KATO , 1989).

Cette utilisation est devenue fondamentale vis -à- vis de l'incapacité des médicaments de synthèse de guérir quelques maladies telle que : SIDA , Cancer , et les hépatites virales ...etc.

D'autre part les recherches concernant la peroxydation lipidique ont été développées à cause de son effet essentiel dans l'affection par plusieurs maladies comme le cancer de la peau , l'athérosclérose , la neurodégénération et le vieillissement . Cette peroxydation lipidique provoquée par les radicaux libres au moment des hépatotoxicités aiguës peuvent induire une cytolysse et une dégénération cellulaire qui conduit à une insuffisance hépatique difficile à être traitée par les

médicaments de synthèse qui se trouvent incapables de lutter contre les radicaux libres (DESMARCHELIER *et al.*, 1998 ; GIROTTI, 1998) ce qui nous oblige d'utiliser d'autres approches thérapeutiques pour capter ces radicaux libres et les désactiver .

Ceci nous a conduit à l'étude de l'activité antiradicaire de l'extrait polyphénolique de R.R.L , en reproduisant un modèle expérimental de lésion hépatique par intoxication avec CCL<sub>4</sub> . En prenant la CIBITAINE comme médicament de référence pour étude comparative .

Notre travail consiste en :

- La mise en évidence de l'effet hépato- toxique du tétrachlorure du carbone CCL<sub>4</sub> ;
- L'étude de l'effet curatif et préventif de notre extrait polyphénolique ;
- L'étude de l'effet antioxydant d'extrait polyphénolique.

Pour réaliser ce travail nous avons suivi la méthodologie suivante :

\* Etude bibliographique : Concernant la biologie et la classification de la plante R.R.L et l'aspect anatomo-physiopathologique du foie et son exploration fonctionnelle ainsi que la chimie et le mode d'action des polyphénols nous avons fait une étude sur la peroxydation lipidique et les antioxydants en général.

\* Etude pratique : Dans cette partie nous allons exposer la méthode d'extraction des polyphénols en premier lieu , en suite l'induction de l'hépatotoxicité par CCL<sub>4</sub> et on termine notre travail expérimental par des essais thérapeutiques par l'extrait polyphénolique .



# PARTICULAR BIBLIOGRAPHY

## I – LA PLANTE ; *RANUNCULUS REPES L* :

### I-1- introduction :

La plus part des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme, on les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie, elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus.

Parmi ces plantes la *Ranunculus repens L* présente un grand intérêt du fait de sa richesse par des substances d'intérêt pharmacologique (ENCYCLOPIDIE, 2002).

### I-2- La famille des Ranunculaceae :

La famille des Ranunculaceae comporte 5 tribus, 59 genres et entre 1500 et 1800 espèces (TREASE et EVANS, 1985). Elles sont cosmopolites, mais surtout présentent dans les régions tempérées et froides ou aux montagnes de l'hémisphère nord (DEYSSON, 1967 ; CHADEFAUD et EMBERGER, 1960). Ce sont des plantes presque toujours herbacées ; fleurs à étamines nombreuses ; carpelles en générale nombreux, formant à maturité un fruit multiple composé de nucules ou de follicules (CLINTOCK).

Beaucoup d'espèces sont dangereuses et certaines se classent parmi les plus toxiques de la flore terrestre (BRUNETON, 2001).

### I-3- Le genre des *Ranunculus* :

Ce genre est caractérisé par des fleurs actinomorphes à sépales et pétales distincts, bon nombre d'espèces du genre croissent dans des lieux humides, là où habitent les grenouilles, certaines sont même des plantes aquatiques submergées.

Les espèces les plus communes sont, sans conteste, le bouton d'or ou renoncule aigre = *R. acris L*, renoncule rampante = *R. repens L* et la renoncule bulbeuse = *R. bulbosus L* (BRUNETON, 2001).

### I-4- L'espèce *Ranunculus repens L* :

La renoncule rampante est vivace grêle de 15 à 40 cm de hauteur. Sa souche est courte, ses racines fibreuses. L'appareil végétatif comprend habituellement des rosettes et des stolons rampants, radicans aux nœuds (BRUNETON, 2001). Les premières feuilles sont plus larges que

longues et a base échancrée, les feuilles matures comportent 3 segments dont le bord est denté et profondément découpé (GORIS,1962). Les fleurs(25mm de diamètre environ ) d'un jaune brillant ; sépales étalées, beaucoup plus petites que les pétales , (HOLM et *al.*,1997) (Figure 01).



**Fig. (01) :** La plante *Ranunculus repens L.* (site internet 01)

#### I-4-1 : Systématique :

Les données systématiques de la plante sont les suivantes (MESSAILI) :

Embranchement	Spermaphytes ;
Sous embranchement	Angiospermes ;
Classe	Dicotylédones ;
Sous classe	Dilypétales/Choripétales/Ranunculoides ;
Série	Thalamiflores ;
Ordre	Dialycarpiques /Ranales / Polycarpiques ;
Famille	Ranunculaceae / Renonculacées ;
Tribu	Renonculées ;
Genre	Ranunculus / Renoncule ;
Espèce	<i>Ranunculus repens L</i> ;
Nom commun	Renoncule rampante ;
Nom arabe	Mergheris.



**I-4-2: Caractéristiques:**

Quelques caractéristiques de la plante *Ranunculus repens L.*, sont représentées dans le tableau 01 :

**Tab.(1) : Quelques caractéristiques de la plante *Ranunculus repens L.***

Origine de	Le nom de genre signifie petite grenouille car certaines espèces vivent dans des endroits marécageux.
Description	Plante de 20à 50cm. Se reconnaît facilement par ses tiges stolonifères aux nœuds (COLES,1977 ; SARUKHAN,1974).
Cycle	Plante pérenne se multipliant par stolons .floraison de Avril à juillet (SARUKHAN,1976).
Habitat	Très commune, se rencontre dans les lieux ombragés et suffisamment humides(prairies, jardins, chemins)jusqu'à 2300m (ALEX,2001).
Végétation	Mars à septembre (SARUKHAN,1976).
Les fleurs	Dimension (2x 2-3 ,5mm), jaune brun, forme lenticulaire(un coté plus bombé que l'autre coté).marginée a bec grêle en crochet de 0,5 à1mm ornements paroi verruqueux, fruit contenant les grains (HOLM et al.,1997).
Les fruits	Nombreux, réunis en petite masse globuleuse. le fruit est un akène à bec court (2,5à3,5x2à3mm),ovale et lisse .
Les feuilles	Vertes par fois tachées de blanc ou de noir , cortinaire globale ou un peu pubescents, radicales, velus et longuement pétiolées (GORIS,1962).
Toxicité	Plante caustique qui peut provoquer des brûlures buccales si elle est mâchée (MAZOYER,2002).

CUATRO

ELLOS

## II-Les polyphénols

### II-1-Introduction :

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui sont surtout illustrés en thérapeutique. Parmi ceux-ci on trouve les Polyphénols (MAROUF,2000).

### II-2- Définition :

Les polyphénols représentent un groupe de métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un ou de plusieurs groupes hydroxyles, modifiés ou non : attachés à des noyaux aromatiques (GUIGNARD et *al.*,1985), on trouve de nombreuses substances ; les noyaux simples en C6-C1 et C6-C3, les noyaux dérivant de l'extension du phényl propane en C6-C3-C6, comme les flavonoïdes (MAROUF,2000).

Les polyphénols constituent un groupe de substances variées et ubiquistes ; ils ont des structures chimiques extrêmement variées.

Plusieurs milliers de molécules ont été identifiées dans diverses plantes. On les répartit en différentes classes en fonction de la nature de leur squelette carboné. Les plus importantes sont les flavonoïdes et les tanins, mais on trouve aussi d'autres composés tels que les acides phénoliques, les lignanes, les esters, les stilbènes et de nouveaux composés sont identifiés continuellement(GUIGNARD et *al.*,1985 ;RICHTER,1993).

### II-3- Localisation et propriétés :

Les polyphénols sont probablement, les composés naturels les plus répandus dans la nature, on les trouve essentiellement dans les cellules épidermiques des fruits et légumes, ainsi que dans les fleurs de plusieurs plantes (GUIGNARD et *al.*,1985 ;MAROUF,2000).

L'ensemble des propriétés physico-chimiques des polyphénols végétaux fait de ces substances des écrans efficaces contre les rayons ultraviolets du soleil (GUIGNARD et *al.*,1985).

### II-4-Classification :

Dans notre étude on s'intéresse à deux groupes essentiels : Les flavonoïdes et les tanins.



## II-4-1-Les flavonoïdes :

### II-4-1-1-Définition :

Comme le laisse supposer sa dénomination historique (du latin, *flavus* : jaune), ce groupe très important et très étendu comprend des composés de couleurs jaune, cependant il compte aussi des composés de couleurs variées ou même incolores (BONNER et VARNER,1965).

Les flavonoïdes sont généralement polyphénoliques, largement réponsus dans le règne végétal, avec plus de 4000 composés ayant des propriétés pharmacologiques divers (GUIGNARD *et al.*,1985)

### II-4-1-2-Distribution et localisation :

Les flavonoïdes sont surtout abondants chez les plantes supérieures,particulièrement dans certains familles : Apiacées, Astéracées, Légumineuses, Polygonacées et Rutacées. Chez les seules Astéracées, une trentaine de types flavonoidiques ont pu être identifiés (GUIGNARD *et al.*,1985). Présentent dans tous les organes aériens, ils ont une teneur maximale dans les organes jeunes (feuilles et boutons floraux) (ADENOT,2000).

### II-4-1-3-Structure chimique :

Le poids moléculaire des flavonoïdes est plus faible que celui des autres substances polyphénoliques en générale.

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atome de carbone qui constituent deux noyaux benzénique en C6 (désignés par A et B) réunis par un hétérocycle de 3 atomes de carbone (désignés par C) (Figure 02).

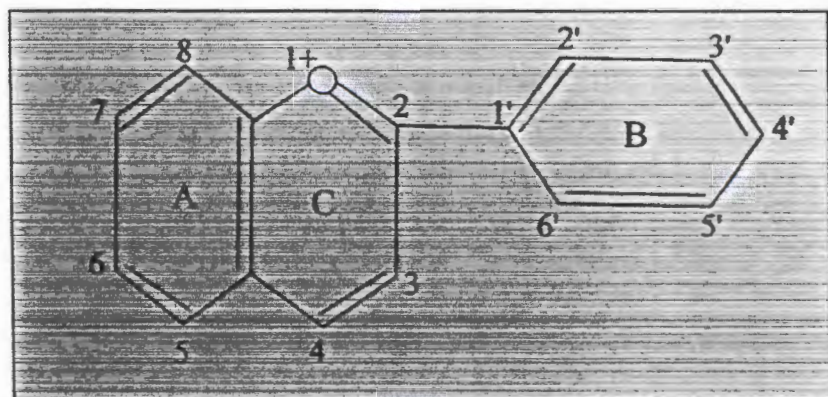


Fig.(02) :Squelette de base des flavonoïdes.  
(COOK et SAMMAN ,1996).

#### II-4-1-4-Classification des flavonoïdes :

Dans les flavonoïdes au sens large, on inclut tous les composés en C6-C3-C6. Structuralement, ils se répartissent en une douzaine de classes dont les plus importantes sont les suivantes (BRUNETON ;1993) :

- \_ 2- phénylbenzopyriliums : anthocyanes ;
- \_ 2-phénylchromones : flavones, flavonols, flavonones, isoflavones ... etc. ;
- \_ 2- phénylchromones : flavanes, flavan-3-ols, flavan-3,4-diols, chalcones et dihydrochalcones ;
- \_ 2- benzylidène coumaranones = aurones.

Parmi les flavonoïdes présentant le plus d'intérêt, nous citons:

-A- Les anthocyanes qui par suite de leur ionisation, présentent des couleurs différentes pour les divers pH : du rouge-orange en milieu acide au bleu-mauve en milieu alcalin (GUIGNARD et *al.*1985).

En réalité, la couleur dépend aussi du nombre d'OH non méthylés.

-B- Les anthocyanidines, sont les aglycones des anthocyanes. Les aglycones se distinguent les uns des autres principalement par l'arrangement des substitutions sur le cycle B. Lors de l'établissement de la structure de la flavane, les dérivés de l'acide cinnamique servant d'unités de base à ce cycle seraient déjà substitués spécifiquement (BONNER et VARNER,1965).

-C- Les flavanones, Les composés de ce groupe ont une double liaison de moins que les flavones dans leurs hétérocycle (BONNER et VARNER,1965).

-D- Les flavones, Une flavone sous forme de composé libre entre dans la composition de la substance farineuse produite par la primevère farineuse (*Primula farinosa*) (BONNER et VARNER,1965).

-E- Les flavonols, Les flavonols sont dérivés des flavones par l'addition d'un nouveau groupe hydroxyle en position 3, mais leur biosynthèse emprunte une autre voie (BONNER et VARNER,1965).

#### II- 4-1-4- Biosynthèses des flavonoïdes :

La biosynthèse des flavonoïdes se fait à partir d'un précurseur commun, la 2,4,6,4' tétrahydroxy-chalcone par l'action d'enzymes. Cette chalcone est métabolisée en différentes classes de flavonoïdes.

Des étapes ultérieures, surtout de glycosylation et d'acylation, amènent les flavonoïdes à la forme définitive dans laquelle ils se trouvent in vivo (HARBONNE,1988 ;HASLAM,1993 ;BLANCHEMAISON,2000) (Figure 03)

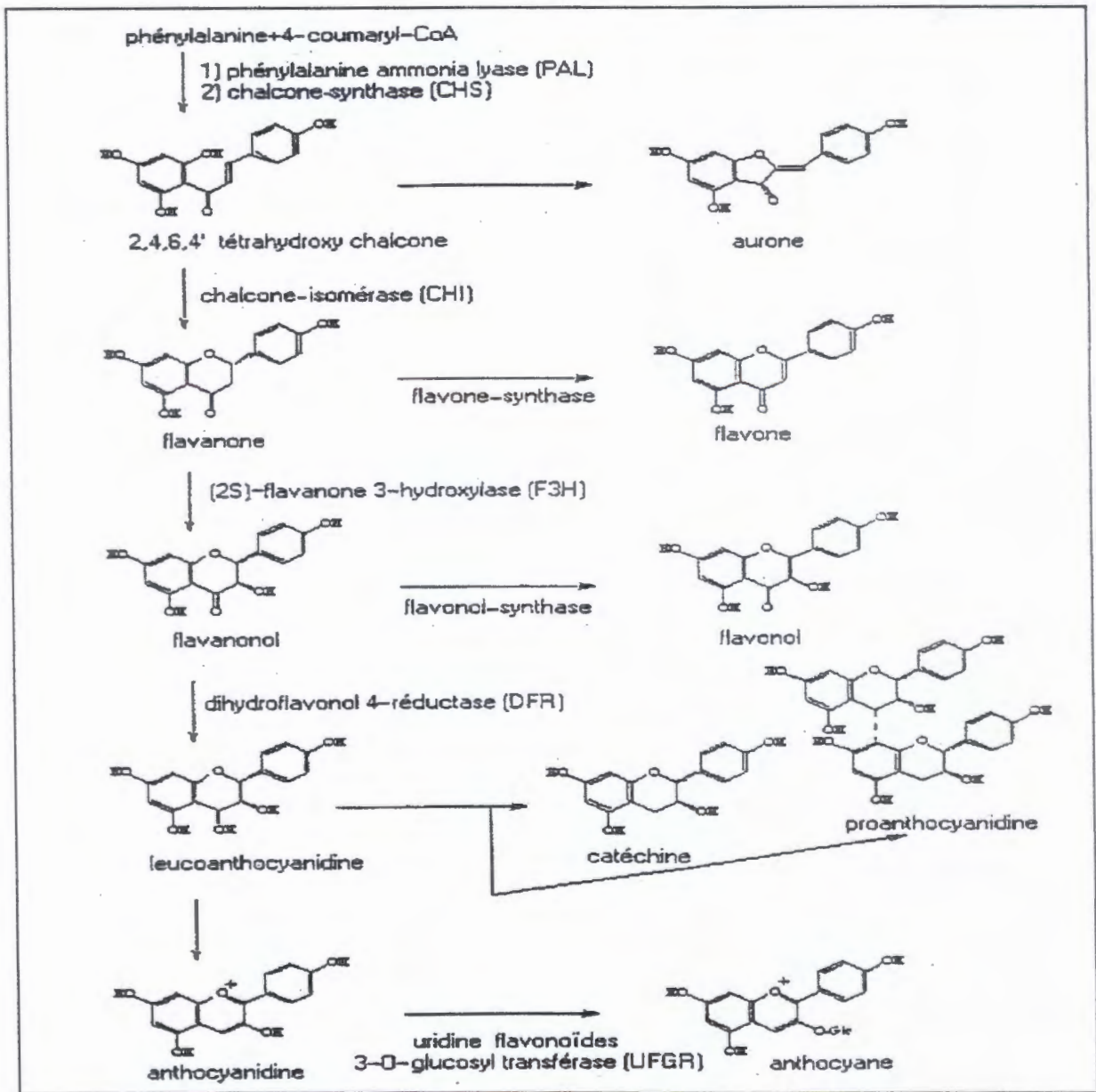


Fig. 03 : Schéma de biosynthèse des flavonoïdes (Site internet 02).



#### II-4-1-5-Rôles des flavonoïdes :

**-A- Rôle biologique :** Le rôle biologique des flavonoïdes dans la répartition des espèces, les mécanismes de pollinisation est évident et l'on peut parler de leur importance écologique. En donnant leur couleur aux fleurs et aux fruits, ils participent aux processus de pollinisation et de dispersion. L'intervention, comme co-pigments des flavones n'a toutefois été reconnue que pratiquement (GUIGNARD *et al.*, 1985).

**-B- Rôle physiologique :** Il est mal connu en raison de leurs structures polyphénoliques, ils pourraient jouer un rôle dans les chaînes d'oxydoréduction et modifier certaines réactions concernant la croissance, la respiration et la morphogenèse. Les flavonoïdes, dont l'absorption en UV est importante, protègent la plante vis-à-vis des rayonnements nocifs : des esters de l'acide caféique sont présents dans les chloroplastes (GUIGNARD *et al.*, 1985).

**-C- Rôle pharmacologique :** Il semblerait que ces composés phénoliques possèdent de fortes potentialités pharmaceutiques et puissent être amenés à jouer un rôle important dans l'arsenal thérapeutique à l'avenir : des études récentes ont mis en évidence des propriétés anti-oxydantes, ainsi que des effets spécifiques sur les cellules de l'immunité ou l'inhibition de certaines enzymes. Les flavonoïdes seraient également anti-viraux, anti-inflammatoire anti-cancéreuse (GUIGNARD *et al.*, 1985).

#### II-4-1-6 -Pharmacocinétique des flavonoïdes :

Après ingestion orale, les flavonoïdes sont dégradés par la flore intestinale :

-Flavonones et flavones en acide phénylpropionique puis hydroxylés et méthylés ;

-Falvanoles en acide phénylvalérique et acide benzoïque (BLANCHEMAISON, 2000).

Les flavonoïdes qui traversent la muqueuse intestinale sont en majorité transportés jusqu'au foie via la veine porte, sous forme liée à l'albumine, le foie a la capacité de modifier les flavonoïdes et leurs métabolites, il peut les méthyler, réduire le groupement carbonyle de l'hétérocycles, changer le nombre de position des groupements hydroxyles, ou encore produire des dérivés conjugués avec un sulfate ou un acide glucuronique (BOKKENHEUSER, 1987 ; (SHIMAMURA, 1993).



Les dérivés conjugués des flavonoïdes sont excrétés dans l'urine et surtout dans la bile (HUGUES,1996). Avec la bile ils sont déversés au niveau du duodénum et comme les flavonoïdes non absorbés, ils sont soumis à l'action des enzymes bactériennes dans le colon, ce qui peut conduire à la formation des dérivés de fragmentation ou à l'hydrolyse des acides glucuroniques et des sulfates, avec libération des métabolites de flavonoïdes. Ces derniers pourraient être réabsorbés et subir ainsi une circulation entéro-hépatique permettant de maintenir une concentration non négligeable dans le sang. (HEKETT , 1986).

La demi-vie des flavonoïdes est 11 heures (CD PROVIDAL,1997).

## **II-4-2- Les Tanins :**

### **II- 4-2-1-Définition :**

Composés phénoliques hydrosolubles ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines telles que l'albumine (BRUNETON,1993 ; GUIGNARD et *al.*,1985).

### **II- 4-2-2-Distribution et localisation :**

Ils sont largement distribués chez les plantes supérieures, telles que le châtaignier, le chêne, les Anacardiaceae, les légumineuses ou les Combretaceae, dans les vacuoles, le cytoplasme et parfois dans les parois cellulaires, Les tanins se rencontrent dans les feuilles, les tissus vasculaires, l'enveloppes des graines, le liège, les fruits non mûrs... etc. Chez certains espèces, ils atteignent des teneurs très importantes autorisant l'exploitation industrielle (BRUNETON,1993).

### **II-4-2-3-Structure, classification et biogénèse :**

On distingue les tanins hydrolysables ou tannoïdes qui sont des polymères de l'acide gallique et tanins vrais condensés ou proanthocyanidols (GUIGNARD et *al.*,1985).

#### **- A- Tanins hydrolysables :**

Ce sont des esters d'un sucre « glucose » ou d'un polyol apparenté et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol « acide gallique », dans le cas des tanins galliques, ou « acide hexahydroxydiphénique HHDP », dans le cas des tanins ellagiques.

En règle générale les tanins galliques sont des esters de l'acide gallique et du glucose, l'acide

gallique est issue du métabolisme de l'acide shikimique. La glucosylation fait intervenir l'uridine diphosphoglucose (UDP- glucose) et l'on admet habituellement que le monogalloylglucose formé peut ensuite, par transacylation, conduire à un diester et ainsi de suite jusqu'au pentagalloylglucose qui est le tanin le plus commun, il occupe une position centrale dans le métabolisme des tanins (BRUNETON,1993).

#### **- B- Tanins condensés :**

Ce sont des polymères flavaniques. Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone le plus souvent 4 - 8 ou 4 - 6 .

Ces flavan-3-ols sont issus du métabolisme des flavonoïdes, ils sont formés par hydroxylation en 3 d'une flavanone, les 2.3-dihydroflavon-3-ols, obtenus sont ensuite réduits en flavan-3,4-diols puis en flavan-3-ols par un mécanisme qui demeure inexpliqué (BRUNETON,1993).

#### **II-4-2-4- Propriétés biologiques des tanins :**

La plupart des propriétés biologiques des tanins sont liées au pouvoir qu'il ont de former des complexes avec les macromolécules en particulier avec les protéines (BRUNETON,1993).

Les tanins ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux, ils précipitent également les protéines de la salive ce qui correspond à leur action astringente. Cette propriété rend les tissus riches en tanins peu consommables par les herbivores. De même la précipitation des enzymes extracellulaires secrétés par les microorganismes infestant rend difficile la pénétration par les bactéries et les champignons ; l'importance quantité de tanin rencontrée chez les plantes parasitées correspond à une réaction de défense.

La disparition des tanins chez de nombreux fruits lors de leurs maturation indique qu'ils peuvent, comme de nombreux autres composés phénoliques, être réutilisés par la plante (GUIGNARD et *a.l*,1985).

#### **II-4-2-5-Propriété pharmacologiques :**

Les applications des drogues à tanins sont restreintes et découlent de leur affinité pour les molécules protéiques. Par voie interne, elles exercent un effet antidiarrhéique. Par voie externe, elles imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les



couches sous-jacentes. Les tanins ont des potentialités dans l'inhibition de la peroxydation des lipides. Des effets inhibiteurs de la réplication des virus ont également été décrits in vitro de façon générale, les tanins sont des inhibiteurs enzymatiques : blocage de la 5-lipoxygénase, inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, de l'activation de la hyaluronidase...etc. Quelques tanins ellagiques s'opposent à la mutagénicité de certains cancérigènes et à la transplantation de tumeurs expérimentales (BRUNETON, 1993).

#### **II-4-2-6-Effets Toxiques :**

Les tanins exercent leur effet toxique soit directement, soit par l'intermédiaire de leur produits d'hydrolyse. Celles-ci peuvent avoir lieu sous l'action des bactéries du rumen. L'action défavorable des tanins sur la digestibilité des nutriments et, notamment, de l'azote alimentaire, est expliquée par l'aptitude de ces molécules à se combiner avec les protéines alimentaires, les rendant inattaquables par les enzymes protéolytiques. En outre, les tanins peuvent inactiver directement les enzymes digestives (GUIGNARD *et al.*, 1985)

Des études épidémiologiques ont suggéré que la fréquence anormale de cancer de l'œsophage observée dans certaines zones géographiques pourrait être attribuée à la consommation régulière des boissons riches en tanins (BRUNETON, 1993).

Enfin, si les végétaux riches en tanins peuvent être dangereux, on peut inversement les utiliser comme antidote dans les intoxications par les plantes à alcaloïdes. Ils ont, en effet, la propriété de précipiter certains d'entre eux (GUIGNARD *et al.*, 1985).

CHAPTER

WORLD



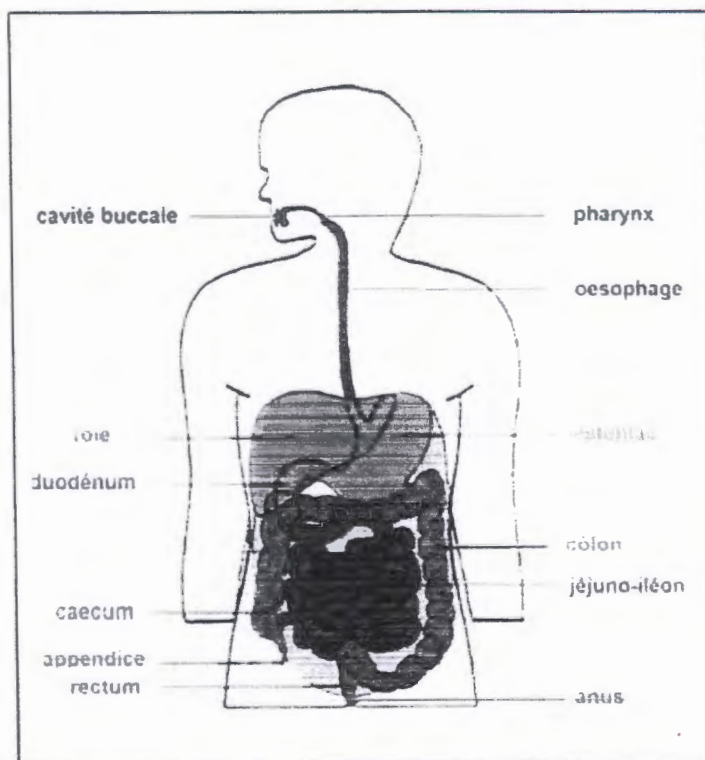
### III-Le foie

#### III-1-Définition :

Le foie (du grec *,hepar* ,d'où l'adjectif hépatique) est la plus volumineuse glande du corps humain (ERNEST et *al*,1993). C'est un organe métabolique complexe, responsable de la mise en réserve et de la distribution des nutriments en provenance de l'intestin, de la biotransformation et de l'élimination des déchets endogènes et exogènes d'où il devient l'organe principal de détoxification et d'épuration (J-L-ADER et *al*,2003).

#### III-2-Anatomie du foie :

Le foie, avec sa couleur rouge brune , est situé sous le diaphragme dans la partie inférieure droite de la cage thoracique, sa masse varie chez l'adulte de 1200 à 1500g, est il contient en outre 800 à 900g de sang (Figure 04).



**Fig. ( 04 ) : Localisation du foie dans le corps humain (CD dictionnaire thésaurus).**

La forme générale du foie est triangulaire dont les dimensions varient de 28cm de longueur, 16cm de hauteur et 8cm d'épaisseur (KAMINA et DI MARINO,1998).

Le foie singularise par rapport à la plupart des autres organes par son double apport sanguin : l'artère hépatique lui apporte le sang de la circulation générale (30%), tandis que la veine porte lui apporte le sang provenant de l'ensemble du tube digestif est surtout de l'intestin (70%), ce qui lui permet de recevoir les nutriments absorbés par l'intestin avant leur passage dans la circulation générale (MEYER,1983).

L'unité de structure du foie est le lobule, formation polyédrique, dont chaque angle est occupé par un espace porte. Chaque espace porte contient une branche de l'artère hépatique, une branche de la veine porte et 1 ou 2 canaux biliaires. Le diamètre moyen du lobule est de 0.25mm ; et le foie contient entre 50000 et 100000 lobules (CERF et *al.*,1978) (Figure 05).

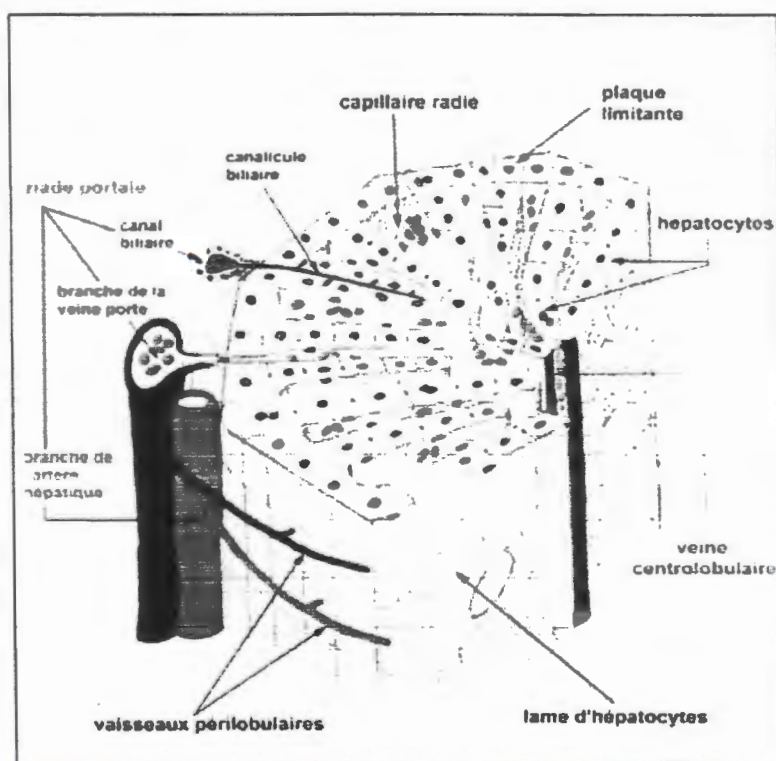


Fig. (05) : Structure du lobule hépatique (CD dictionnaire thésaurus).

### III-3- Cytologie du foie:

Le parenchyme hépatique est constitué de lames unicellulaires d'hépatocytes en contact étroit avec les espaces vasculaires. Le sang circule en effet dans des sinusoïdes dont la paroi est formée d'une simple couche de cellules endothéliales et par des cellules de Kupffer dotées d'un important pouvoir phagocytaire (CERF et *al.*,1978).

#### III-3-1-L'hépatocyte :

Les hépatocytes sont des cellules polyédriques dont le diamètre est de 20 à 30  $\mu\text{m}$ . Leur volume est d'environ 11000  $\mu\text{m}^3$  (J-P-BENHAMOU et *al.*,2000 ;1991). Le foie normal contient environ 100 milliards d'hépatocytes qui occupent environ 80% de son volume (Figure 06) (J-P-BENHAMOU et *al.*,2000).

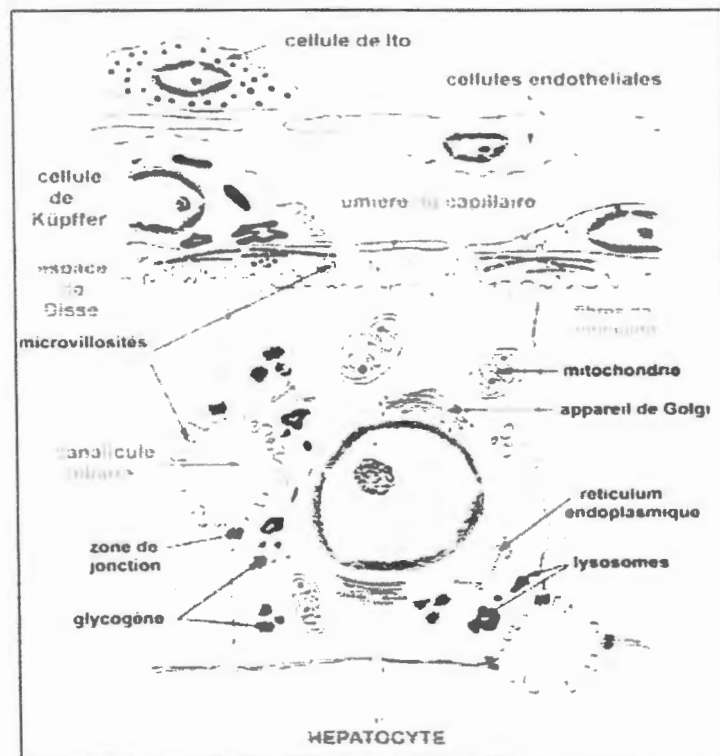


Fig. (06) : Composition du tissu hépatique (CD dictionnaire thésaurus).

### III-3-2- Les cellules de kupffer :

Les cellules de kupffer sont des macrophages, dont le cytoplasme contient de nombreuses inclusions et qui sont accrochées à la face liminale des cellules endothéliales, faisant ainsi saillie dans la lumière des sinusoides (J-P-BENHAMOU et *al.*,2000 ;BERNARD,1989).

### III-3-3- Les cellules de Ito :

Sont des cellules sinusoidales situées dans l'espace de Disse, ce sont des cellules dont le cytoplasme contient des vacuoles lipidiques riches en vitamine A et des myofibrilles (J-P-BENHAMOU et *al.*,2000 ;BERNARD,1989).

### III-3-4- Les cellules endothéliales :

Ce sont des cellules sinusoidales séparées du pole sinusoidale de l'hépatocyte par l'espace de Disse. Elles ne sont pas jointives : un large espace intercellulaires les sépare (J-P-BENHAMOU et *al.*,2000).

## III-4- La physiologie du foie :

### III-4-1- Fonctions du foie :

Du fait de l'importance de sa masse cellulaire, et de sa richesse en enzymes, le foie assure de nombreuses fonctions que l'on peut classer comme suit :

#### III-4-1-1- Fonctions métaboliques :

Le foie est l'organe essentiel et central du métabolisme des glucides,des protéines et des lipides (WRIGHT,1980).

#### III-4-1-2-Conjugaison de la bilirubine et excrétion biliaire :

En conjuguant la bilirubine, le foie lui confère les propriétés de solubilité nécessaires à son élimination dans la bile.

Le métabolisme hépatique de la bilirubine comprend trois étapes (Figure 07) :

- Le transfert de la bilirubine du sang au réticulum endoplasmique de l'hépatocyte ;
- La conjugaison de la bilirubine;
- L'excrétion de la bilirubine conjuguée dans les canalicules biliaires.

Le transfert de la bilirubine du sang à l'hépatocyte est mal connu.





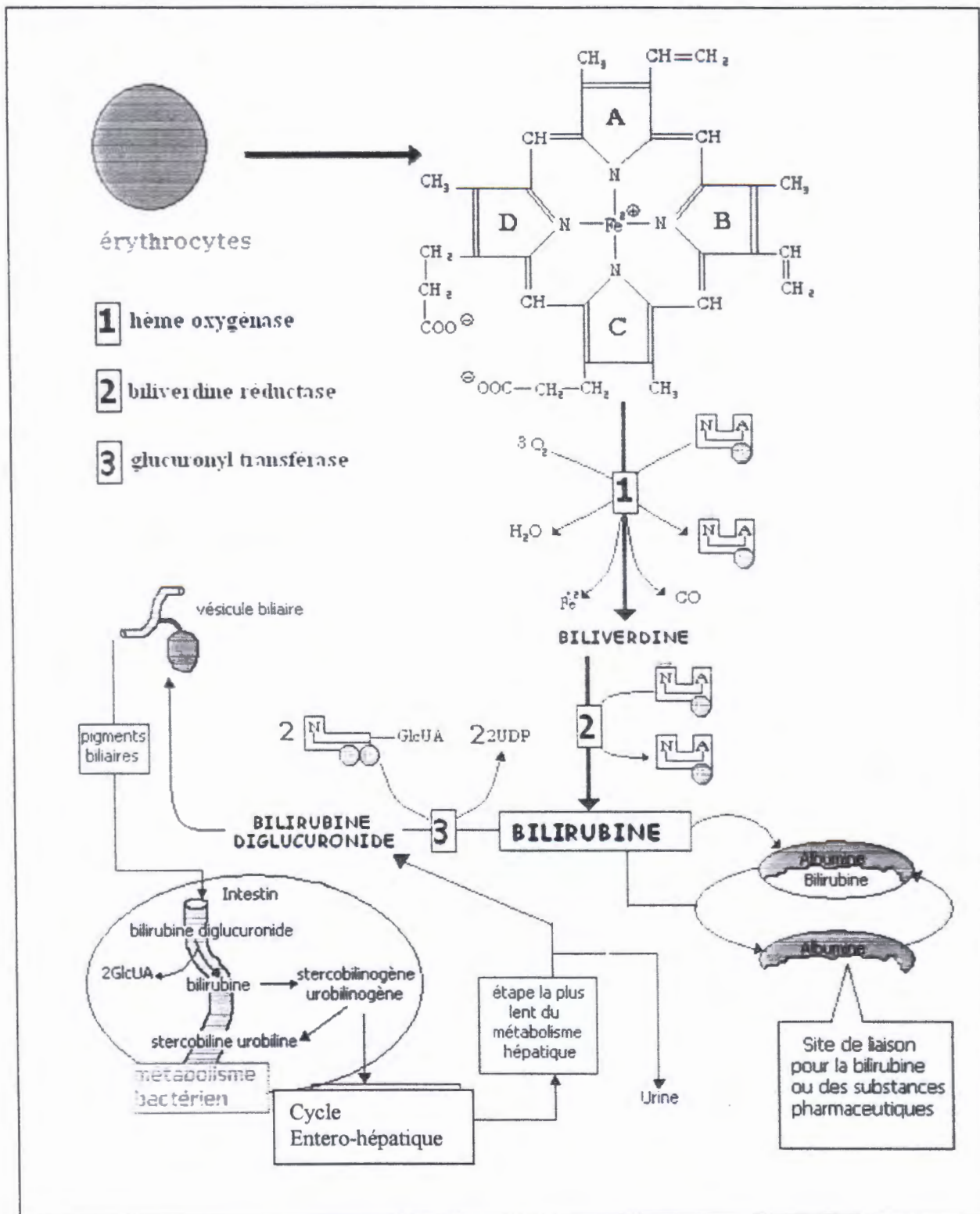


Fig.(07) : Métabolisme de la Bilirubine (KOOLMAN,1999)

Le franchissement de la membrane plasmique de l'hépatocyte semble être assuré par un système qui a toutes les apparences d'un transporteur membranaire : il est saturable et il est sujet à un phénomène de compétition par des substances comme le bromosulfophtalène. Dans le cytosol de l'hépatocyte, la bilirubine est transportée jusqu'au réticulum endoplasmique sous forme liée à des protéines anioniques, les ligandines, qui ont la même affinité que l'albumine pour la bilirubine (DORE,1986).

La conjugaison a pour but de transformer la bilirubine insoluble en une forme soluble, qui peut facilement être excrétée dans la bile. La conjugaison consiste en deux estérifications successives entre le carboxyle de la bilirubine et l'hydroxyle du carbone 1 de l'acide glucuronique. La première estérification, catalysée par l'uridine diphosphate glucuronyl transférase (UDP), forme le monoglucuronide de bilirubine. La deuxième estérification, qui pourrait être catalysée par un enzyme différent, forme le diglucuronide de bilirubine (DORE,1986).

Chez l'adulte, la bilirubine sécrétée dans la bile est à 70 % sous forme de diglucuronide et à 16 % sous forme de monoglucuronide. Une fraction de la bilirubine est conjuguée au xylose et au glucose. Dans la bile on trouve également un peu de bilirubine non conjuguée (DORE,1986).

Pour gagner les canalicules biliaires, la bilirubine doit se détacher des microsomes, traverser le pôle biliaire de la cellule et franchir la membrane qui sépare l'hépatocyte du canalicule biliaire. Bien qu'il ne soit pas très bien connu, le processus requiert de l'énergie et est l'étape limitante dans le métabolisme hépatique de la bilirubine. S'il fait défaut, la bilirubine conjuguée est régurgitée dans le sang et comme elle est soluble, elle est éliminée dans l'urine. S'il y a présence de bilirubine dans l'urine, il s'agit donc de bilirubine conjuguée. En raison de sa solubilité dans l'eau, la bilirubine conjuguée n'est pas considérée comme toxique.

La bilirubine conjuguée confère à la bile sa couleur jaune vert (DORE,1986).

#### **III-4-1-3 : biotransformation et Fonction antitoxique et protectrice du foie :**

Maître d'oeuvre du métabolisme intermédiaire, le foie est le principal site - et

parfois le seul - capable de neutraliser les substances toxiques produites par catabolisme. La transformation de l'ammoniaque toxique en urée non toxique est l'exemple le plus éminent de détoxification hépatique. Le dérivé est généralement éliminé. Il peut aussi arriver que le dérivé soit réintroduit dans le métabolisme intermédiaire. Un exemple de récupération est la transformation de l'acide lactique en acide pyruvique (DORE,1986).

La transformation des métabolites insolubles en dérivés plus solubles et partant facilement éliminables est une part importante du processus de détoxification hépatique. C'est dans le foie que sont transformés le cholestérol, la bilirubine et les hormones stéroïdiennes. Dans le cas des hormones, les dérivés sont toujours moins actifs que la substance initiale (DORE,1986).

Le milieu extérieur apporte quotidiennement à l'organisme des substances qui lui sont nouvelles et étrangères. Ces substances, qu'on appelle xéno biotiques, comprennent des médicaments de même que de nombreux polluants tant alimentaires qu'industriels : colorants, insecticides, pesticides, solvants. Les xéno biotiques dont la structure s'apparente à celle des substances endogènes peuvent profiter des mêmes systèmes enzymatiques de transformations hépatiques. Sous l'action enzymatique, le xénobiotique est transformé en dérivé plus soluble, que le rein peut éliminer avec plus de facilité. Mais il ne s'agit pas ici d'un phénomène de détoxification au sens strict car il arrive que le dérivé soit plus actif ou plus toxique que la substance initiale (DORE,1986).

La toxicité du méthanol, par exemple, est due en réalité à ses deux dérivés : la formaldéhyde et l'acide formique. Les hydrocarbures aromatiques comme le benzopyrène et le benzanthracène, trouvés dans la fumée de cigarette, deviennent cancérigènes au cours de leurs transformation en dérivés phénoliques : l'époxyde, formé à titre d'intermédiaire, réagit avec l'ADN et exerce une action mutagène (DORE,1986).

Dans le cas des xénobiotiques, on préfère utiliser le terme de métabolisme hépatique plutôt que de détoxification (DORE,1986).



**A- Mécanisme de la transformation :**

La transformation hépatique procède selon deux mécanismes fondamentaux. Le premier mécanisme implique une modification structurale de la substance par des réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse; le deuxième mécanisme fait appel à des réactions de conjugaisons avec des substances très polaires comme la glycine, le sulfate ou l'acide glucuronique. Que le processus de transformation emprunte l'un ou l'autre mécanisme, ou les deux, le dérivé est toujours plus polaire que la substance initiale (DORE,1986).

La transformation des métabolites endogènes fait généralement appel aux deux mécanismes. La substance est d'abord modifiée par réaction d'oxydation, de réduction ou d'hydrolyse; le dérivé obtenu est ensuite conjugué à une substance polaire. Par exemple, le cholestérol est d'abord oxydé en acide cholique et celui-ci est ensuite conjugué avec de la glycine ou de la taurine c'est ainsi que sont élaborés les acides biliaires. Les hormones stéroïdiennes sont réduites sur leurs doubles liaisons et sur leurs fonctions cétoniques et les dérivés obtenus sont conjugués à l'acide glucuronique ou au sulfate. Par exception, la bilirubine est directement conjuguée à deux acides glucuroniques (DORE,1986).

Il y a 4 types de conjugaison :

- \* Conjugaison avec la glycine : les acides aromatiques qui ne peuvent être catabolisés dans l'organisme, se combinent avec la glycine avant d'être excrétés ;
- \* Suflo-conjugaison : de nombreux composés phénoliques se conjuguent dans le foie avec le sulfate et sont excrétés sous forme d'esters- sulfates ;
- \* Glycuro-conjugaison :de nombreuses drogues et hormones contenant des groupes OH « alcooliques ou phénoliques » se combinent avec l'acide glycuronique pour former des composés glycuro-conjugués excrétés dans l'urine ;
- \*Conjugaison avec l'acide acétique : les composés aromatiques aminés se combinent dans le foie avec l'acide acétique pour former les dérivés acétylés correspondants(CERF et *al.*, 1978)

**B -Sites intercellulaires de la transformation :**

Les enzymes de transformation sont localisées dans le cytosol, les mitochondries et le réticulum

endoplasmique. La transformation de l'acide lactique en acide pyruvique et de l'éthanol en acide acétique a lieu dans le cytosol. Les catécholamines, les dérivés du tryptophane, la sérotonine et certains médicaments sont désaminés dans les mitochondries. La transformation de l'ammoniaque en urée par les enzymes du cycle de Krebs Henseleit se partage entre les mitochondries et le cytosol. Dans le réticulum endoplasmique sont localisés deux systèmes de transformation d'un très grand intérêt médical : le premier système met en oeuvre l'UDP-glycuronyltransférase alors que le second système est connu sous le terme de système des cytochromes P450 (CERF *et al.*, 1978).

#### **A- L'UDP-glucuronyl transférase :**

L'UDP-glucuronyl-transférase catalyse l'établissement d'une liaison de type osidique entre l'acide glucuronique et le composé à détoxifier. La réaction porte sur la fonction hydroxyle du carbone 1 de l'acide glucuronique. Par exception, la bilirubine établit une liaison ester entre ses fonctions carboxyliques et l'acide glucuronique. Les glucurono-conjugués sont éliminés par voies biliaire et rénale.

La conjugaison à l'acide glucuronique est le mode de transformation emprunté par les stéroïdes hormonaux, la bilirubine et les xénobiotiques de nature phénolique ou chez lesquels la transformation fait apparaître une fonction phénolique (WRIGHT,1980).

#### **B- Système des cytochromes p450 :**

Le système des cytochromes p450 est un système oxydatif capable d'hydroxyler les chaînes aliphatiques et les noyaux aromatiques, de désaminer, d'enlever des groupements alkyles à l'oxygène, à l'azote et au soufre. Le système est composé de deux protéines: une NADPH cytochrome p450 réductase, relativement spécifique pour certaines substances, et le cytochrome p450, ce cytochrome est presque uniquement présent dans la fraction microsomale de certaines cellules et cela de façon irréversible à de très nombreuses substances (CERF *et al.*, 1978; DORE, 1986).

Le substrat se combine avec la forme oxydée du cytochrome p450 , qui est réduite par un électron. Ainsi se forme un complexe contenant un oxygène activé. Ce complexe lui même va se décomposer pour former d'une part un produit oxydé, d'autre part un cytochrome oxydé. (SAMSON , 1980).

**III-4-1-4-Autres fonctions :** le foie joue d'autres fonctions telles que la synthèse de la totalité de l'albumine et des facteurs de coagulation...etc (MEYER,1983),le stockage du glycogène et des

graisses de certaines vitamines...etc,la fonction de circulation et la distribution des nutriments (WRIGHT,1980)

### **III-5-Pathologies du foie :**

Le foie peut être le site de manifestation de plusieurs maladies, parmi lesquelles on peut citer les suivantes :

#### **III-5-1-Les hépatites virales :**

Le terme hépatite virale est habituellement réservé aux virus qui infectent le foie de façon élective. Sont exclus de cette définition des virus comme l'*herpès simplex*, le virus *Epstein-Barr* ou le *cytomégalovirus* qui sans avoir une prédilection pour le foie peuvent à l'occasion être cause d'hépatite (CERF et al,1978).

#### **III-5-2-Les tumeurs hépatiques :**

On sait qu'il est possible d'induire expérimentalement des tumeurs du foie par administration répétée et prolongée de certains toxiques industriels, ou de certains toxines naturelles, qui peuvent provoquer des angio-sarcomes et plus rarement des hépatomes (NEZELOF,1983)

#### **III-5-3-Les lésions hépatiques :**

Provoquer par différents d'intoxications,plusieurs types de lésions peuvent être s'installer : stéatose ,nécrose, choléstase et cirrhose (DOMERT et BOURNEUF,1986).

### **III-6-Exploration du foie :**

C'est l'ensemble d'examens biologique ou cliniques permettant d'évaluer l'intégrité structurale de même que les capacités fonctionnelles de l'hépatocyte.

#### **III-6-1- Exploration non biochimique « clinique » :**

L'examen clinique du foie se fait sur un malade reposant sur un plan horizontal ferme,cet examen clinique sont: L'inspection,la percussion,l'auscultation l'imagerie par résonance magnétique et la scintigraphie (J-P-BENHAMOU et al.,2000).

#### **III-6-2- Exploration biochimique :**

Par le rôle clé que le foie exerce sur le métabolisme intermédiaire, un trouble



hépatocytaire risque d'entraîner de nombreuses anomalies biochimiques. Ces anomalies se traduisent par des variations dans les concentrations sanguines de plusieurs enzymes et substances élaborées dans le foie.

Donc l'étude de ces paramètres enzymatiques peut nous donner beaucoup d'informations sur l'état du foie.

#### **III-6-2-1 -Les transaminases :**

Le dosage des enzymes transaminases sériques TGO ou SGOT « transaminase glutano-oxaloacétique » et TGP ou SGPT « transaminase glutamopyruvique » est un indice de l'importance de la destruction hépatocytaire.

Ces deux enzymes catalysent le transfert d'un groupement NH<sub>2</sub> de l'aspartate pour le TGO et l'alanine pour le TGP à l' $\alpha$ -cétoglutarate.

Le TGP est exclusivement hépatique tandis que le TGO est présent dans plusieurs tissus : cœur, rein, foie, muscles, cerveau et squelette (ZAGURY, 2001) et même dans l'hépatocyte. Le TGP est un enzyme cytoplasmique, tandis que le TGO se trouve surtout dans le cytoplasme que dans les mitochondries (ALFONSO, 1998).

Les activités des TGO et TGP dans les globules rouges sont respectivement de 15 et de 7 fois supérieure à celles du plasma. Il faut donc éviter l'utilisation de tout sérum hémolysé (J-P-BENHAMOU *et al.*, 2000).

Ces deux enzymes sont les plus détectables au cours d'une hépatotoxicité aiguë.

#### **III-6-2-2-Le malonedialdéhyde MDA**

Le malonedialdéhyde est un aldéhyde produit par cyclisation au cours d'une lipoperoxydation des phospholipides membranaires.

Il apparaît aujourd'hui comme le meilleur marqueur pour détecter la présence d'une peroxydation lipidique (JADOT, 1994).

#### **III-6-2-3-D'autres tests :**

Parmi les autres tests répondus dans l'exploration du foie nous citons : le dosage de la bilirubine (SILBERNAGL et DOSPOPOULOS, 2002), de la phosphatase alcaline (BERNARD, 1989) et le Test d'élimination de la BromeSulphonePhtaline BSP (WRIGHT, 1980).

### III-7-Etude toxicologique :

Le foie est l'organe essentiel de remaniement des nutriments, c'est aussi l'organe essentiel du métabolisme des xénobiotiques. La grande résistance des hépatocytes à l'anoxie et à l'hyperglycémie associée à la formation in situ des métabolites principaux contribue à faire de cet organe un modèle privilégié en toxicologie permettant l'observation directe des réponses cellulaires (ETIENNE,1993).

#### III-7-1- Définition :

La toxicologie est la science qui s'intéresse de l'études des dommages résultant de la présence de quelques substances dites toxiques dans le corps, ainsi de définir les différents mécanismes de ses altérations et reconnaître le traitement convenable (DOMERT et BOURNEUF ;1986).

#### III-7-2 -Types de toxicité :

Il y a 2 types de toxicité (HADMAN et al. ,1998) :

-**Toxicité aiguë** : c'est la toxicité d'une substance qui, absorbée par un individu à une dose élevée, provoque des troubles immédiats .

-**Toxicité chronique** : appelée aussi toxicité à long terme, elle représente la toxicité d'une substance prise par petites doses longtemps répétées qui ne provoquent pas des troubles immédiats mais aboutit au bout d'un certain temps à des troubles de l'organisme.

#### III-7-2 -1-Toxicité médicamenteuse :

Tous les médicaments quelque soient leurs voies d'absorption, passent par le réseau vasculaire hépatique. Les structures épithéliales et conjonctives du foie ont la faculté de capter, d'absorber, de métaboliser, d'excréter ou d'accumuler presque tous les composés chimiques.

Théoriquement les médicaments utilisés en pathologie humaine ont subi, avant d'être commercialisés, des testes expérimentaux rigoureux et variés de non toxicité notamment hépatique sur l'animal. Il ne devraient donc pas ou peu avoir d'accidents liés aux thérapeutiques chimiques.

On peut estimer d'après des revues générales de la littérature que près de 200 médicaments ont provoqués des troubles hépatiques de façon tout à fait exceptionnelle ou de façon plus fréquente, pouvant aller jusqu'à l'interdiction de leur utilisation (NEZELOF,1983).

- **Mécanisme de la toxicité médicamenteuse :**

Les médicaments directement agressifs vis-à-vis du foie ayant depuis longtemps été éliminés de la pharmacopée, trois mécanismes de la toxicité hépatique peuvent être décrits :

- A) -Le médicament, à dose usuelle, est inoffensif, mais le surdosage provoque chez tous les sujets des lésions hépatiques proportionnelles à la dose (exemple : le paracétamol ingéré dans un but de suicide) ;
- B) -Le médicament, à dose thérapeutique, provoque des lésions chez un certain nombre de sujet en raison de la formation d'un métabolite toxique (réactif) ;
- C) -Le médicament déclenche, chez un petit nombre de sujets, des réactions immunoallergiques responsables des lésions hépatique (NEZELOF,1983).

### III-7-2-2-Toxicité par les produits chimiques :

- **Le  $\text{CCL}_4$  :**

Le tétrachlorure de carbone ou tétrachlorure méthane ( $\text{CCL}_4$ ) est un hydrocarbure halogéné aliphatique, c'est un liquide dense, claire, incolore, ininflammable, d'odeur caractéristique, la voie respiratoire est la voie d'entrée principale, mais l'absorption percutanée peut contribuer à l'hépatotoxicité (WINDHOLZ et al.,1983) le  $\text{CCL}_4$  a été la molécule la plus communément utilisée (LEXA et al, 1989; FRANK, 1992,ETIENNE et al.,1993).

- **Mécanisme d'action du  $\text{CCL}_4$  :**

Le  $\text{CCL}_4$  représente l'un des substances les plus toxique pour le tissu hépatique, il est facilement absorbé par le tube digestif, l'absorption chez le rat est de 86 % pendant 24 heures (PAUL et RUBINSTEIN, 1963), ce composé se diffuse de manière préférentielle dans les tissus adipeux et se retrouve en concentration plus élevées dans la moelle osseuse, le cerveau, le foie, le rein et le sang (Mc.COLLISTER et al., 1951). Le  $\text{CCL}_4$  est métabolisé dans les membranes microsomaux des cellules en un radical trichlorométhyle fortement toxique, qui provoque la peroxydation des lipides (RECKNAGEL GLENDE,1973 ;LINGAN,1989 ;SHARMA et al., 1989), qui se lie aux enzymes cellulaires ( cytochrome p450), aux lipides aux protéines de diverses membranes cellulaires en particulier le réticulum endoplasmique hépatique et les détruit (FRANK,1992 ;GLENDE et al.,1976; PLAA,1980), l'exposition chronique à de plus faibles doses cause des altérations du foie (hypertrophie, changements des taux enzymatiques sériques, infiltration graisseuse et nécrose centrolobulaire) (GOSSELIN et al.,1984) certaines expériences ont mis en évidence une augmentation de l'incidence



d'angio sarcomes, de cancers de la thyroïdes, de reins multi kystiques et de tumeurs de la glande mammaires chez le rat (national concert institut, 1976 ;REUBER et GLOVER, 1970 ;ALBERT et *al.*, 1972 ;TIMBREU ;1982) .

Les effets les plus graves de CCL<sub>4</sub> frappent le foie, les altérations hépatiques peuvent provoquer la mort dans les quelques jours à deux semaines qui suivent l'absorption (DREISBACH, 1983).

Les effets aigues et chroniques de l'exposition au CCL<sub>4</sub> sont escacerbés par l'ingestion d'éthanol, et par l'exposition à l'acétone, à d'autres alcools, comme l'alcool isopropylique ou isobutylique et à des solvants comme le n-héxane, le n-pentane et le n-heptane. (PLPA,1980; CHARBONNUEAU et *al.*, 1985; FOUAND et *al.* , 1976).

### III-8-La peroxydation lipidique et antioxydants :

#### III-8-1-Le stress oxydatif :

##### III-8-1-1-Définition :

Terme général utilisé habituellement pour parler du perte d'équilibre entre la production des radicaux libres et les antioxydants (HALLIWELL,1997).

##### III-8 -1-2-Les radicaux libres :

Un radicale libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécules possédant un électron non apparié (célibataire) sur leur orbitale externe. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives qui cherchent dans leur environnement un électron pour s'apparier (c'est-à-dire pour former une liaison chimique) (JADOT,1994). Elles se caractérisent par son non stabilité et réagisse avec d'autres molécules plus stable pour accepter un électron (travail comme un oxydant) pour se débarrasser d'un électron (travail comme un réducteur) (DODET,1991).

Les radicaux libres se devisent en 3 catégories selon l'élément qui contient l'électron libre :

- Radicaux avec oxygène central : radical peroxyde(O<sub>2</sub><sup>•</sup>) ;
- Radicaux avec carbone central : radical tri chlorure de carbone (CCL<sub>3</sub><sup>•</sup>) ;
- Radicaux avec sulfure central (DODET,1991 ;GIRROTI,1998).

### III-8-1-3-Les types des radicaux libres :

Il y a plusieurs types des radicaux libres :

Anion super oxyde  $O_2^{\bullet-}$ , peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , le radical hydroxyle  $OH^{\bullet}$ , le mono-oxygène  $O^{\bullet}$ , le radical alcoxyle  $RO^{\bullet}$  et peroxyde  $ROO^{\bullet}$  et l'oxyde nitrogène  $NO^{\bullet}$  (FAVIER, 1998 ; CLAVEL et *al.*, 1985 ; DODET, 1991).

### III-8-1-4-Rôle des radicaux libre dans la destruction des biomolécules :

La production incontrôlable des radicaux libres conduit directement a des défauts dans les biomolécules comme l'oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucide (MATES et SANCHEZ-JIMENEZ, 1999). Aussi les formes libres d'oxygène attaquent les membranes cellulaires et les constituants internes de la cellule, ce qui modifie l'activité des récepteurs et conduit à une fuite des constituants tels que l'enzyme LDH ( lactate déshydrogénase) (KORTHUIS et GRANGER, 1993).

#### A- L'oxydation des protéines :

Les protéines qui contiennent un groupement sulfhydryle (SH) sont les plus sensibles aux attaques des radicaux libres tels que les enzymes cellulaires et les protéines de transport ce qui conduit à les désactiviez. Aussi elle peut conduire à un changement dans la nature protéique par la formation des ponts dityrosine ou en entraînant un changement dans quelques acides aminés qui composent la protéine, tout ça conduit à une hypersensibilité de ces protéines à l'action des enzymes protéases (LOGANI et DAVIS, 1980 ; DIANZANI et *al.*, 1981 ; HENDERSON et *al.*, 1999).

#### B – L'action sur les acide nucléiques :

La molécule d'ADN représente une cible essentiel des radicaux libres qui vont changer sa nature. Les radicaux hydroxyles (OH) vont transformer les résidus thymine en thymine glycol et en 5 hydroxyméthyluracil et les guanines en 8 – hydroxyguanine, aussi l'oxydation du désoxyribose conduit à la répture des deux chaînes d'ADN. Tous ces changement réagissent négativement sur la répllication du génome (KEYER et IMLAY, 1996).

#### C – L'oxydation des glucides :

Le glucose peut être oxydé en présence de quelques métaux ce qui libère le céto-aldéhyde,  $H_2O_2$  et  $l'OH^{\bullet}$ , le ceto-aldéhyde résultant s'attache avec les protéines se qui conduit à la répture des liaisons proteines-glucide, ceci conduit à la glycation (FAVIER, 1998 ; YAN et *al.*, 1994).

### D – L'oxydation des lipides :

Les formes plus actives d'oxygène peuvent entraîner l'oxydation des lipides car ces dernières sont plus sensibles à cette opération surtout celles composées de plusieurs acides gras insaturés au niveau des membranes cellulaires, cette oxydation conduit à la formation de plusieurs molécules toxiques tels que les diènes conjugués, les peroxydes, les aldehydes et les alcanes ce qui conduit à des défauts dans les fonctions enzymatiques et les transporteurs membranaires, aussi elle conduit à la formation de concentrations élevées des dérivés d'oxydation ce qui déséquilibre la diffusion membranaire (GIROTTI, 1998).

#### III-8- 2-La peroxydation lipidiques :

##### III-8-2-1-Définition :

La peroxydation lipidique est une oxydation exagérée des lipides des membranes cellulaires, des lipoprotéines et de toute molécules contiennent dans sa composition des lipides. Elle se fait dans les phospholipides insaturés, les glucolipides et le cholestérol par 3 mécanismes : la photo oxydation, l'oxydation enzymatique par l'enzyme lipoxigénase et l'auto oxydation.

L'opération de peroxydation lipidique a un grand rôle dans la formation du cancer cutané, l'athérosclérose, la neurodégénération et d'autres maladies (DESMARCHELIER et al., 1998 ; GIROTTI, 1998).

##### III-8-2-2-Les étapes de la peroxydation lipidique :

La peroxydation lipidique des polyacides gras insaturés libérés à partir des glycérophospholipides membranaires grâce à l'action de l'enzyme phospholipase Plase A2 est divisée en 3 étapes : départ, diffusion et fin.

##### A – Etape de départ :

Le radical hydroxyl  $\text{OH}^\bullet$  va attaquer un polyacide gras insaturé (LH) ce qui conduit à la formation d'un radical lipidique ( $\text{L}^\bullet$ ) et la stabilité du radical hydroxyl qui se transforme en eau selon la réaction suivante :





Aussi l'ion peroxyde ( $O_2^{\bullet}$ ) et peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  entrent directement ou indirectement dans le départ des réactions non enzymatiques de la peroxydation lipidique (DESMARCHEIIEER et *al.*,1998).

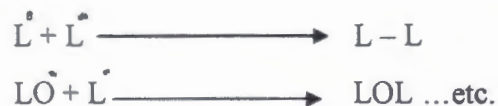
#### B – Etape de diffusion :

Les radicaux libres dans les réactions d'élongation se transforment à d' autres radicaux responsables de la marche des séries des réactions, car la production d'un seul radical est responsable des transformations chimiques de différentes molécules , et les réactions se continuent dans les endroits où se trouvent les lipides qui consomment l'oxygène pour donner de nouveaux radicaux libres ou par formation du peroxyde ROOH selon la réaction suivante (SCHOEICH et *al.*,1989) :



#### C – Etape de la fin :

Chaque radical lipidique ( $L^{\bullet}$ ) est considéré comme une source de quelques molécules (LOOH) hydroxylipoperoxydes , et l'étape de la fin se termine après la production des composés stables résultants de la liaison de deux types des radicaux lipidiques (HALLIWELL,1994). , selon la réaction suivante :



Le résultat de cette peroxydation est la libération du malonedialdéhyde (MDA) (Figure 08).

#### III-8-2-3- Le malonedialdéhyde :

Les peroxydes lipidiques se dégradent rapidement en aldéhydes. Le dernier des maillons de la réaction radicalaire en chaîne est la production de malonedialdéhyde (MDA) obtenu par cyclisation. Il s'agit d'un corps qui, par ces deux fonctions aldéhydes très réactives, lie transversalement les lipides, l'ADN et les protéines à l'intérieur des cellules. Ces derniers se trouvent ainsi « figés » et entraînent le ralentissement des échanges et des processus métaboliques. Les modifications des protéines de structure du tissu conjonctif entraînent une augmentation des pontages entre les molécules, ce qui perturbe la circulation des nutriments à travers la matrice extracellulaire (JADOT ,1994).

III-8 -3 -Les antioxydants :

III-8 -3-1-Définition :

Les antioxydants ou scavengers sont toute molécule capable de retarder ou d'inhiber l'oxydation de n'importe molécule dans des concentrations basses par rapport aux molécule oxydantes (KRINSKY,1992 ;WALL,2000). , aussi elles peuvent être définis comme toutes molécules capables de réparer les défauts des radicaux libres (KERKENI ;1998).

III-8-3-2-Les types des antioxydants :

A – Antioxydants enzymatiques : Il y a 3 :

1.Superoxyde dismutase (SOD) : C'est une protéine métallique se retrouve dans tous les organismes : animaux et végétaux ( DODET,1991 ;FAVIER,1998). Cet enzyme catalyse la

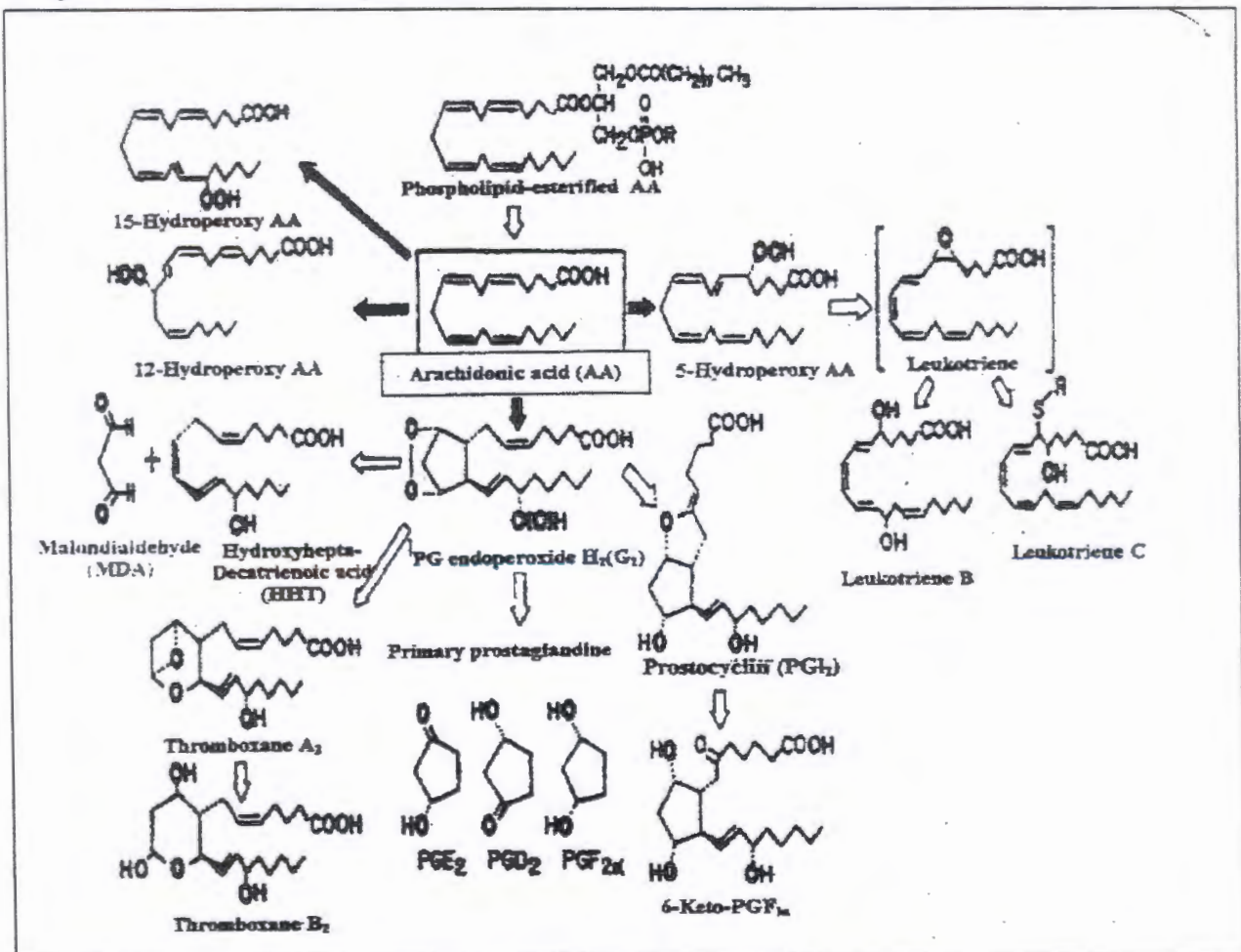


Fig.8 :Mécanisme de production de l'MDA (HAYASHI,1982).

transformation d'un radical peroxyde à un peroxyde et  $H_2O_2$  . Il y a plusieurs types du SOD :

Mn – SOD , Cu –Zn –SOD, Fe –SOD , le SOD extracellulaire et Ni – SOD (MATS et SANCHEZ-JIMENEZ,1999 ;DESHPANDE et *al*,1996 ;CANNIO et *al*,1998).

**2.Catalase :** c'est un tétra élément composé de 4 sous- unités , son rôle est d'accélérer la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et en di oxygène . La catalase a une forte concentration dans le foie et les globules rouges ( FAVIER,1998), elle peut être inhibée par le cyanure et l'azide (DESHPANDE et *al*,1996).

**3.Glutathion peroxydase (GPX) :** Le glutathion est le thiol intracellulaire le plus abondant, on le trouve dans toutes les cellules (LAHOUEL,1985). Il se compose de trois aminoacides . il est responsable de la détoxification et de l'élimination des substances toxiques grâce à l'action du glutathion S –transférase (STOCKER,1993).

#### **B – Antioxydants non enzymatiques :**

**1.Vitamine A :** C'est une vitamine liposoluble capable d'ajouter un proton  $H^+$  aux dérivés de la lysine qui se trouvent dans le pigment rhodopsine de l'œil (DESHPANDE et *al*.,1996).

**2.Vitamine E :** S'appelle aussi tocophérol (MAGNIN,1992), il est le meilleur antioxydant liposoluble . Il inactive la peroxydation par le transfert d'un atome d'hydrogène et se transforme donc en un radical inactif (AL.MALAIKA,2000).

**3.Vitamine C :** Il se caractérise par une structure similaire de celle des glucides à 6 carbones . Il se compose d'un cycle lactone qui se compose d'un groupement ene-diol et deux groupements alcool. La fonction ene-diol est l'élément fonctionnel dans la vit C est le responsable de la transformation de l'acide ascorbique en acide dehydroascorbique au moment de l'oxydation (ROUGEREAU,1997).

**4.Les Antioxydants métalliques :** Le fer, le cuivre et le sélénium jouent un rôle antioxydant en agissant comme co-enzymes des enzymes antioxydants tels que le SOD ,la catalase le glutathion (GPX) (DESHPANDE et *al*.,1996).

**5-Les polyphénols :** Ces substances d'origine végétale, nommées parfois "vitamine P" sont des anti-oxydants plus forts que la vitamine E et ils sont régénérés par la vitamine C (ROBAK et GRYGLEWSKI, 1988).



# Partie Pratique

WORLD

WORLD

WORLD

WORLD

WORLD



## IV - Matériels et Méthodes :

### IV-1- Matériels :

#### IV-1-1- Les animaux :

Nos expériences ont été réalisées sur des rats Wistar de souche albinos femelles provenant de l'institut Pasteur d'Alger, leur poids varie entre 180g et 300g. Durant les essais, ces animaux sont élevés dans des cages en plastique ou en métal avec libre accès à la nourriture (croquettes) et à l'eau.

L'animalerie est soumise à une photopériode de 15/24 heures et maintenue à une température entre 20 et 27°C.

#### IV-1-2- La plante :

La plante *Ranunculus repens L* a été accueillie dans son milieu systématique (région de Texenna, Wilaya de Jijel), après sa floraison la fin du mois d'Avril 2005.

## IV-2- Méthodes :

### IV-2-1- Extraction des polyphénols :

L'extraction a été réalisée au niveau du laboratoire de pharmacologie de l'institut de biologie de l'Université de Jijel selon le protocole suivant (Figure 09) (BRUNETON, 1993).

- **Le séchage** : Après la cueillette de la plante (jeune pousse) et le lavage par l'eau distillée, nous l'avons séché à l'air libre pendant une semaine, puis dans l'étuve à 45°C pendant 3 jours.
- **Le broyage** : Nous avons procédé au broyage de la plante à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.
- **La macération** : Nous avons mis 130g du matériel végétal dans 1000 ml d'une solution hydro-éthanolique d'un pourcentage consécutif de 20% et 80% et laissé macérer pendant 3 jours.
- **La filtration** : Elle est faite par une gaze, puis sur papier filtre.
  - **L'évaporation** : Pour éliminer l'éthanol, nous avons passé le macérât par le Rotavapor à température égale à 50°C à 120 tours/mn jusqu'à l'obtention d'une petite quantité de la phase aqueuse.
- **Le dégraissage** : Dans une fiole à décantation nous avons mélangé la phase aqueuse obtenue avec le chloroforme (v/v) afin d'éliminer les lipides, suivie d'une décantation dans une fiole pour séparer la phase aqueuse contenant nos extraits.
- **L'affrontement par le n-butanol** : La phase aqueuse récupérée précédemment est mélangée avec le n-butanol (v/v) dans une fiole, suivie par une décantation pendant 24 heures pour séparer la phase n-butanolique contenant les extraits polyphénoliques.



● **L'évaporation à sec** : La phase n- butanolique est soumise à une évaporation à sec ou Rota vapor à 50°c pour obtenir enfin nos extraits en poudre

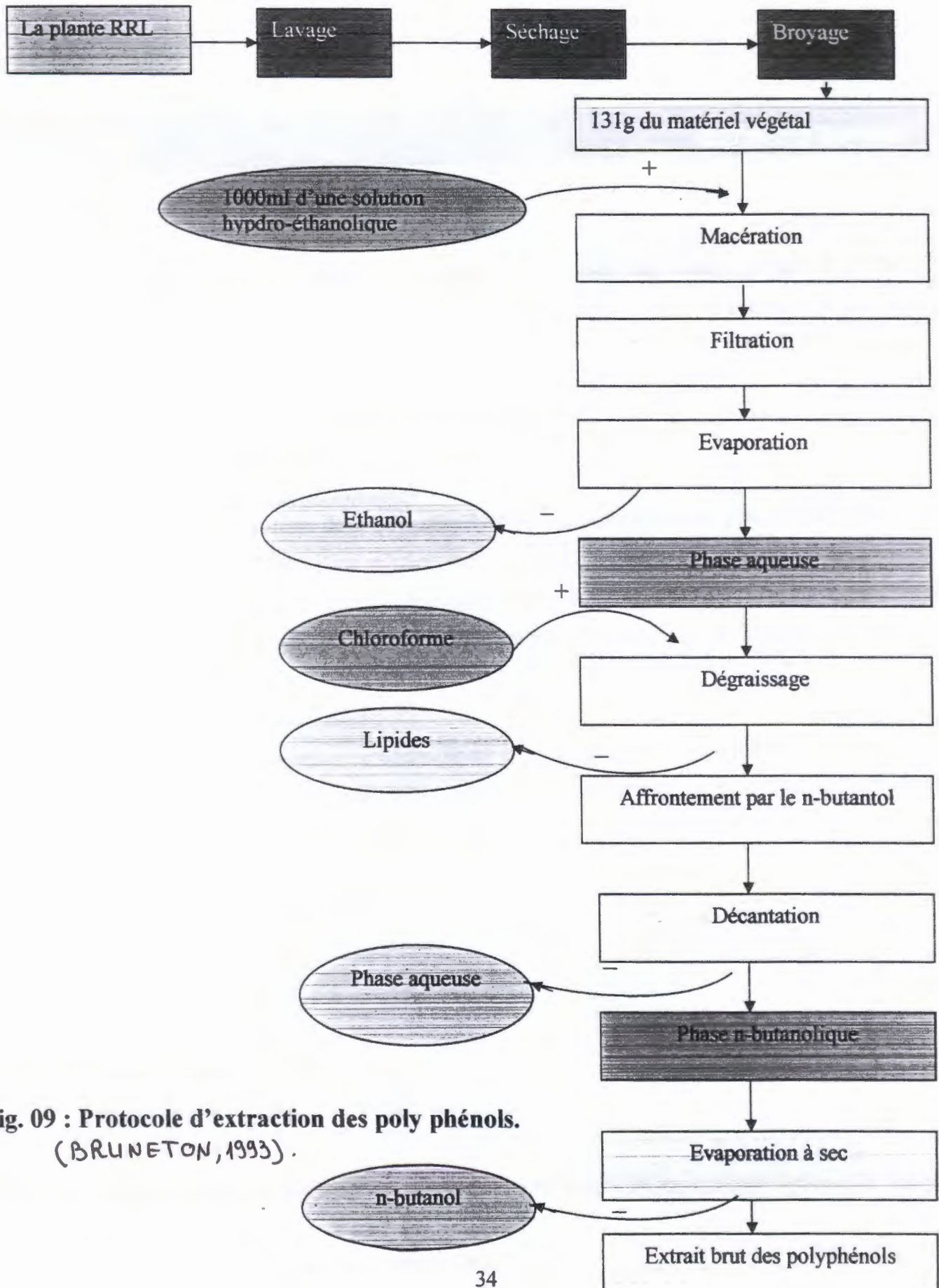


Fig. 09 : Protocole d'extraction des poly phénols. (BRUNETON, 1993).

- **posologie pour 1 kg :**

$$\begin{array}{l} 6 \text{ g} \longrightarrow 60 \text{ kg} \\ X \text{ g} \longrightarrow 1 \text{ kg} \end{array} \} x = 0,1 \text{ g}$$

- **Dose pour un rat de 200 g :**

$$\begin{array}{l} 0,1 \text{ g} \longrightarrow 1000 \text{ g} \\ X \text{ g} \longrightarrow 200 \text{ g} \end{array} \} x = 0,02 \text{ g / rats de 200g}$$

Pour bien calculer les volumes administrés, on fait une dilution à 1/10 du médicament ( solution mère de médicament ).

- **Préparation de la solution mère :**

135 ml d'eau distillée ont été additionner a 15 ml du médicament ( soit 3 ampoules, donc 6 g de citrate de bétaine ).

- **Calcule du volume administré :**

$$\begin{array}{l} 6 \text{ g} \longrightarrow 150 \text{ ml} \\ 0,02\text{g} \longrightarrow x \text{ ml} \end{array} \} x = 0,5 \text{ ml / rats de 200g .}$$

Donc pour un rat de 200g la dose administrée est 0,5 ml de la solution mère , soit 0,02 g du citrate de bétaine .

#### IV-2-2-3- La solution de $\text{CCL}_4$ :

Pour induire une hépto toxicité aiguë par le  $\text{CCL}_4$  ,la dose recommandée est : 1 ml / kg dans l'huile d'olive (20%) (MONTILIA et *al.*, 1990).

- **Soit, pour un rat de 200 mg :**

$$\begin{array}{l} 1 \text{ ml} \longrightarrow 1000 \text{ g} \\ X \text{ ml} \longrightarrow 200 \text{ g} \end{array} \} x = 0,2 \text{ ml / rats de 200 g}$$

Le  $\text{CCL}_4$  doit être administré dissous dans l'huile d'olive à 20 % (v/v)

- **Préparation de la solution mère :**

Elle été préparée en mélangeant 4 ml du  $\text{CCL}_4$  avec 16 ml d'huile d'olive .

- **Calcule du volume administré :**

$$\begin{array}{l} 4 \text{ ml } \text{CCL}_4 \longrightarrow 20 \text{ ml} \\ 0,2 \text{ ml} \longrightarrow x \text{ ml} \end{array} \} x = 1 \text{ ml / rats de 200 g}$$

Donc pour un rat de 200 g la dose administrée est 1 ml de la solution mère , soit 0,2 ml du  $\text{ccl}_4$  .

### IV-2-3-Voies d'administration des différents solutions :

#### IV-2-3-1-Par gavage gastrique :

La CIBETAINE est administrée par gavage gastrique selon la méthode suivante (Figure 10) :

La nuque du rat a été fixée par l'index et le pouce de façon à tenir la peau du rat dans la paume de la main gauche, l'administration s'effectue par la main droite qui porte la seringue menue d'une sonde métallique, cette dernière applique une pression sur la base de la langue pour assurer une ouverture bucco-pharyngienne et permet sa pénétration dans l'oesophage.

#### IV-2-3-2-Par voie IP :

Le  $CCL_4$  et la solution polyphénoliques sont administrés en IP selon la méthode suivante :

La nuque du rat a été fixée par l'index et le pouce de façon à tenir la peau du rat dans la paume de la main gauche, l'administration s'effectue par la main droite qui porte la seringue menue d'une aiguille très fine qui sera entrée dans le péritoine du rats sans toucher les vicères internes (Figure 11).



**Fig.10 :Méthode d'administration par gavage gastrique.**





**Fig. 11: Méthode d'administration en IP.**

#### **IV-2-4 -Traitement des animaux :**

Après l'arrivée des animaux, les rats ont été soumis à une période d'adaptation à l'environnement de l'animalerie pour s'habituer aux nouvelles conditions avant d'être utilisés, puis nous avons procédé à la distribution des rats en 5 lots :

- 1<sup>er</sup> Lot (L1) : Lot témoin négatif, contient 3 rats, reçoivent l'eau distillée par gavage gastrique.
- 2<sup>ème</sup> Lot (L2) : Lot témoin positif intoxiqué, contient 6 rats, reçoivent le CCL<sub>4</sub> seul.
- 3<sup>ème</sup> Lot (L3) : Lot traité (traitement curatif), contient 3 rats, reçoivent le CCL<sub>4</sub> puis la solution polyphénolique pendant 3 jours.
- 4<sup>ème</sup> Lot (L4) : Lot traité (traitement préventif), contient 4 rats, reçoivent la solution polyphénolique pendant 3 jours puis le CCL<sub>4</sub> le jour suivant.
- 5<sup>ème</sup> Lot (L5) : Lot standard, contient 4 rats, reçoivent le CCL<sub>4</sub> le 1<sup>er</sup> jour puis le médicament (Cibétaine) pendant 3 jours.

La distribution et les traitements des rats sont récapitulés dans le tableau 02 :

**Tab. 02 : Distribution et traitement des rats :**

Lots	Reçoit
Lot1 : Témoin négatif	1 ml d'eau distillée
Lot2 : Témoin positif	~ 1 ml du CCL <sub>4</sub>
Lot3 : Traitement curatif	~ 1 ml du CCL <sub>4</sub> à J et puis ~ 2 ml des polyphénols à J2, J3 et J4
Lot4 : Traitement préventif	~ 2 ml des polyphénols à J1, J2, J3 puis ~ 1 ml du CCL <sub>4</sub> à J4
Lot5 : Standard	~ 1 ml du CCL <sub>4</sub> à J1 puis ~ 0,5 ml du médicament à J2, J3 et J4.

### IV-2-5 : Prélèvement des échantillons :

#### IV-2-5-1- Prélèvement du sang :

Le sang est prélevé par ponction à l'aide d'une cathéter hémotube « tube à hématocrite » dont le bout est induit délicatement au niveau rétro-orbitaire dans le sinus carvéneux riche en sang, le sang monte alors par capillarité et sera récupérée dans des tube secs contenant un anticoagulant (l'héparine).

Le sang est centrifugé à 3500 tours/minute pendant 10 mn, les sérums obtenus sont conservés dans des épindoffes jusqu'à la réalisation des dosages des transaminases (Figure 12).

#### IV-2-5-2- Prélèvement du foie :

##### A-Anesthésie des animaux :

Afin d'anesthésier les rats, nous avons imbibé dans l'éther une compresse stérile et l'avons administrée avec le rat dans une cage en verre fermée, le rat va mourir par asphéxie après l'inhalation de l'éther (Figure 13).

##### B- Dissection :

Les rats sont fixés sur le dos à l'aide d'épingles posées sur chaque patte, est la dissection a été faite au niveau de l'abdomen à l'aide d'une pince et une paire de ciseaux (Figure 14).

##### C-Prélèvement du foie :

Le foie est prélevé à l'aide d'une pince afin de faire à priori une observation anatomopathologique; et on procède à postériori à une homogénéisation de 1g du tissu hépatique par un homogénéisateur dans une solution de K Cl 1,15% à température 4 °C en raison de 1g/3 ml

L'homogénat obtenu est prêt pour le dosage du Malonedialdehyde (MDA) (Figure 15).

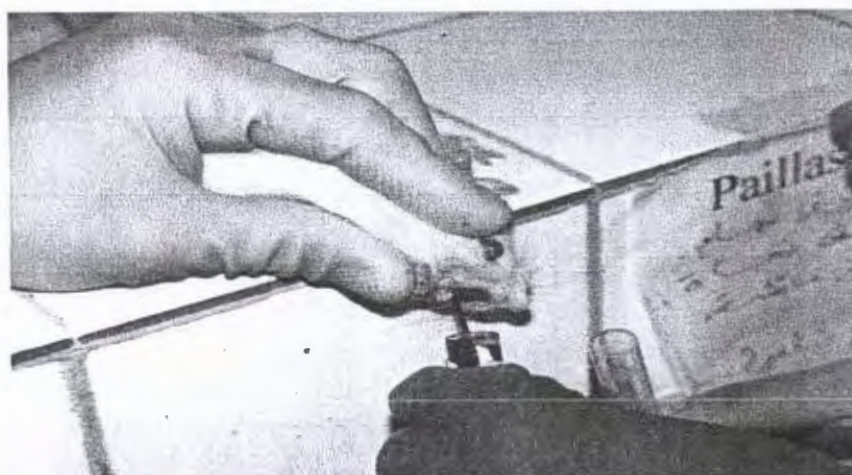
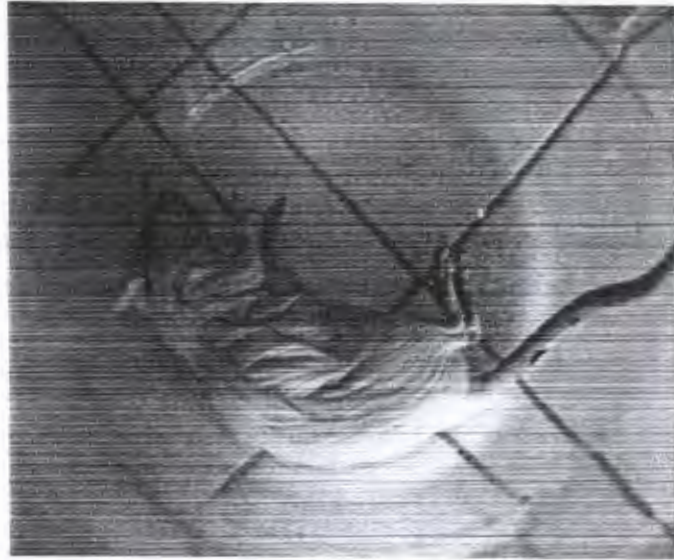


Fig.12 : Méthode de prélèvement du sang chez le rat.





**Fig.13 :Méthode d'anesthésie des rats.**



**Fig.14 :Dessection des rats.**



**Fig.15 :Plèvement du foie.**



#### IV-2-6 -L'étude de l'hépatotoxicité :

Pour l'exploration biochimique au cours de notre étude, nous avons procédé aux dosages des deux enzymes : TGO et TGP plus le MDA. Ainsi qu'une comparaison anatomopathologique a été faite pour montrer les différences tissulaires entre les foies enlevés des différents rats.

##### •Lieu des dosages :

Le dosage des transaminases a été réalisé au niveau du laboratoire central de l'hôpital de Jijel, en utilisant les réactifs biomérieux. La lecture est faite à l'aide d'un spectrophotomètre de type SECOMAN basic.

Le dosage de l'MDA a été réalisé au niveau du laboratoire de phytochimie et de toxicologie de l'institut de biologie de l'Université de Jijel, en utilisant le TBA comme réactif. La lecture est faite à l'aide d'un spectrophotomètre de type ULTRASPEC 100 pro.

#### IV-2-6-1 : Dosage des transaminases :

##### A : Dosage du TGO :

•**Principe** : Le principe du dosage du TGO repose sur la détermination colorimétrique de l'aspartate aminotransférase ASAT ou TGO par la méthode de Reitman et Frankel selon la réaction suivante :



L'oxalocétate formé est dosé sous forme de son dérivé 2,4- dinitrophénylhydrazone à  $\lambda = 505 \text{ nm}$

•**Réactifs utilisés** : le kit biomérieux permettant la détermination du TGO comporte 3 réactifs et l'expérience nécessite aussi du soude 0,4 N. Le tableau 03 représente la composition des 3 réactifs.

**Tab.03:composition des différents réactifs utilisés pour la détermination du TGO :**

Réactif 1 : Substrat TGO	- Tampon phosphate pH 7,5	85 m mol/l
	- Aspartate	200 m mol/l
	- $\alpha$ -cétoglutarate	2 m mol/l
Réactif3 : Réactif de coloration	- 2,4 dinitrophénylhydrazine	1 m mol/l
	- Hcl	0,1 l/l
Réactif4 : étalon	- Pyruvate	

•**Protocole d'évaluation du TGO**: Le dosage du TGO est effectué selon la méthode résumée dans le tableau 04.

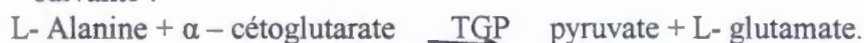
**Tab. 04: Etapes de la réalisation du dosage du TGO :**

Réactifs	Volumes
Réactif 1	1 ml
Incuber 5 minutes à 37c°	
Sérum	0,2 ml
Mélanger et mettre à 37c° exactement 1heur	
Réactif 3	1 ml
Mélanger laisser 20 minutes à température ambiante	
Soude 0,4N	10 ml
Mélanger, attendre 5 minutes. Photométrer dans les mêmes conditions que la courbe d'étalonnage.	

Les concentrations de TGO par millilitre de sérum sont obtenues par projection des différentes densités optiques (DO) de nos échantillons sur la courbe d'étalonnage.

**B- Dosage du TGP :**

● **Principe :** Le principe du dosage du TGP repose sur la détermination de l'alanine aminotransférase ALAT ou TGP par la méthode de Reitman et Frankel selon la réaction suivante :



Le pyruvate formé est dosé sous forme de son dérivé 2,4- dinitrophenylhydrazone à  $\lambda = 505 \text{ nm}$ .

● **Réactifs utilisés :** Le kit biomérieuse permettant la détermination du TGP comporte 3 réactif, et l'expérience nécessite aussi du soude 0,4 N. Le tableau 05 représente la composition des 3 réactifs (Figure 05)

**Tab.05: Composition des différents réactif utilisés pour la détermination du TGP**

Réactif 2 : Substrat TGP	- Tampon phosphate pH7,5 ..... 95 m mol/l
	- Alanine ..... 200 m mol/l
	- $\alpha$ - céto glutarate ..... 2 m mol/l
Réactif 3 :	- 2,4 dinitrophénylhydrazine 1 m mol/l
	- Hcl 0,1 l/l
Réactif 4 :	-Pyruvate

- **Protocole d'évaluation du TGP :** Le dosage du TGP est effectué selon la méthode résumée dans le tableau 06.



Tab.06 : Etapes de la réalisation du dosage du TGP :

Réactifs	Volumes
Réactif 2	1 ml
Incuber 5 minutes à 37c°	
Sérum	0,2 ml
Mélanger et mettre à 37c° exactement 30 minutes	
Réactif 3	1 ml
Mélanger, laisser 20 minutes a température ambiante	
Soude 0,4 N	10 ml
Mélanger, attendre 5 minutes. Photométrer dans les mêmes conditions que la courbe d'étalonnage.	

Les concentrations de TGP par millilètre de serum sont obtenues par projection des différentes densités optiques (DO) de nos échantillons sur la courbe d'étalonnage

#### IV-2-6-2 : Dosage du M.D.A « évaluation du stress oxydatif » :

● **Principe** : Détermination colorimétrique de la formation des substances réageant avec le TBA (Acide thiobarbiturique) dites TBARS « thiobarbituric acid reactive substances » en se basant sur la réaction de deux molécules de TBA avec une seule molécule du MDA dans un milieu acide (TCA), qui donne une coloration « rose » a la température d'ébullition où le produit de la réaction est extrait par le n-butanol et pour lequel la densité optique est mesurée à  $\lambda=532\text{nm}$ .

● **Réactifs utilisés** :

- Solution de KCl 1,15% ;
- Solution de TCA 20% ;
- Solution de TBA 0,65% ;
- Solution du n-butanol.

● **Protocole d'évaluation MDA** : Le dosage du MDA est effectué selon le protocole récapitulé dans le tableau 07.

Tab 07- étapes de la réalisation de dosage du MDA :

Solution (ml)	Tube Blanc	Tube échantillon
homogénate tissulaire	-	0,5
KCl(ml)	0,5	-
TCA	2,5	2,5
TBA	1	1
Incubation dans le bain marie à 100c° pendant 45 min Après refroidissement ;		
n-butanol	4	4
Centrifugation a 3000rpm pendant 15mn à 4 c° ;		
Photométrer la phase n-butanol dans les mêmes condition de la courbe d'étalonnage		

Puis on fait la projection des différentes densités optiques obtenues sur la courbe d'étalonnage pour obtenir les concentrations en nanomole du MDA/ml de sérum.



### IV-2-6-3 -Observation anatomopathologique :

Une observation anatomopathologique est effectuée sur les organes prélevés juste après le sacrifice à l'aide d'une loupe, elle permet de mettre en évidence des modifications tissulaires et cellulaires qu'on peut ne pas déceler à travers les dosages biochimiques et enzymatiques.

### IV-3- analyse statistique :

Les résultats numériques et graphiques sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type.

Nous avons également fait la comparaison des moyennes par le test de Student , pour tester la signification de la différence entre la moyenne des deux lots traité et témoin. Pour cela on doit calculer la valeur de t qui est donné par la formule suivante :

$$t = \frac{XA - XB}{\sqrt{\frac{s^2}{NA} + \frac{s^2}{NB}}} \quad \text{Avec : } S^2 = SA^2 (NA-1) + SB^2 (NB-1) + (NB-1)$$

xa : moyenne pour le lot témoin.

xb : moyenne pour le lot traité.

$|XA - XB|$  Signifie la valeur absolue de la différence entre les deux moyennes.

N : le nombre de rats.

Après le calcul de t, on cherche dans la table de t la valeur correspondante au degré de liberté qui est égale à : na + nb -2 .La valeur trouvée par le calcul de t nous renseigne sur la signification de la différence entre le lot témoin et le lot traité selon le risque d'erreur P.

$P > 0.05$  : la différence n'est significative ( ns)

$0.05 > P > 0.01$  : la différence est significative ( \* ).

$0.01 > P > 0.001$  : la différence est hautement significative ( \*\* ) .

$P < 0.001$  : la signification est très hautement significative ( \*\*\* ) .

Le calcul de ce test est réalisé par le logiciel EXCEL 5.0.

# CHAPTER 14 RESULTS AND CONCLUSIONS

**V- Résultats et interprétation :**

Les résultats de notre étude sont divisés en deux parties : des résultats concernant l'évaluation biochimique de l'hépatotoxicité et des différentes préparations testées « dosage du TGO, TGP, et MDA », et des résultats concenant l'étude histologique.

**V-1 -Evaluation <sup>des</sup> transaminases :**

**V-1-1 Résultats des dosages du TGO :**

●**Courbe d'étalonnage :** Pour réaliser la combe d'étalonnage du TGO (Figure 10), on doit suivie les étapes représentée dans le tableau 08 .

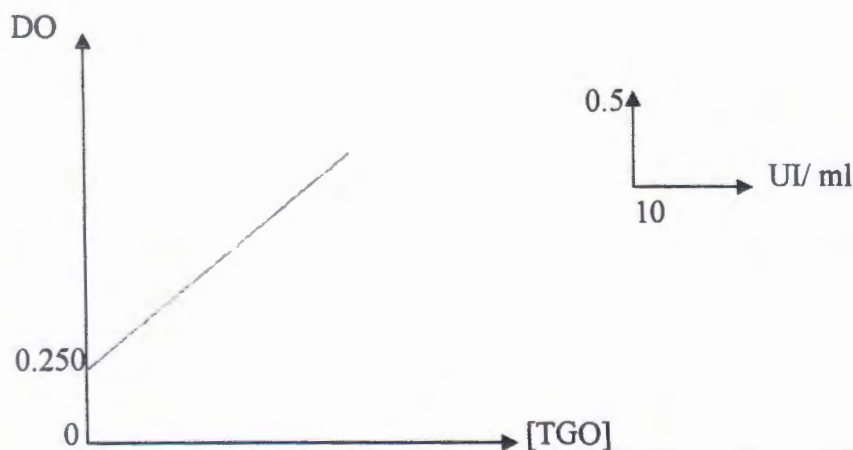
**Tab.08 : Etapes de la réalisation de la combe d'étalonnage pour le TGO**

N° de tubes	1	2	3	4	5	6
Eau distillée (ml)	0,2	0,2	0,2	2,0	0,2	0,2
Réactif 1 (ml)	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5
Réactif 4 (ml)	-	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Réactif 3 (ml)	1	1	1	1	1	1
Mélanger . Laisser 20 min ,à température ambiante.						
Sonde 0,4 N (ml)	10	10	10	10	10	10
Mélanger. Attendre 5 minutes. Photométrer.						
Unités TGO / ml	0	22	55	95	150	215

●**Etablissement de la courbe**

-En abxisse : nombre d'unités /ml.

-En ordonnée : densités optiques.



**Fig. 10 : Courbe d'étalonnage du TGO.**



Les résultats du dosage du TGO sont rassemblés dans le tableau 09 et représentés en histogrammes dans la figure 17.

**Tab.09 : Evaluation du taux du TGO. [UI/ml].**

Lots	Rats	Résultats	Moyen + écart type
L1	1	182	177 ± 11.35
	2	185	
	3	164	
L2	1	263	292.33 ± 14.96**
	2	301	
	3	299	
	4	293	
	5	294	
	6	304	
L3	1	154	154.67 ± 4.07 ***
	2	159	
	3	151	
L4	1	289	290.27 ± 9.77(ns)
	2	281	
	3	304	
	4	287	
L5	1	123	126.95 ± 3.50 ***
	2	128	
	3	125	
	4	131	
L6	4	220	225.67 ± 5.50
	5	231	
	6	226	

NB : Le lot L6 représente le même lot L2 mais 3 jours après l'administration de toxique

L1 : lot témoin.

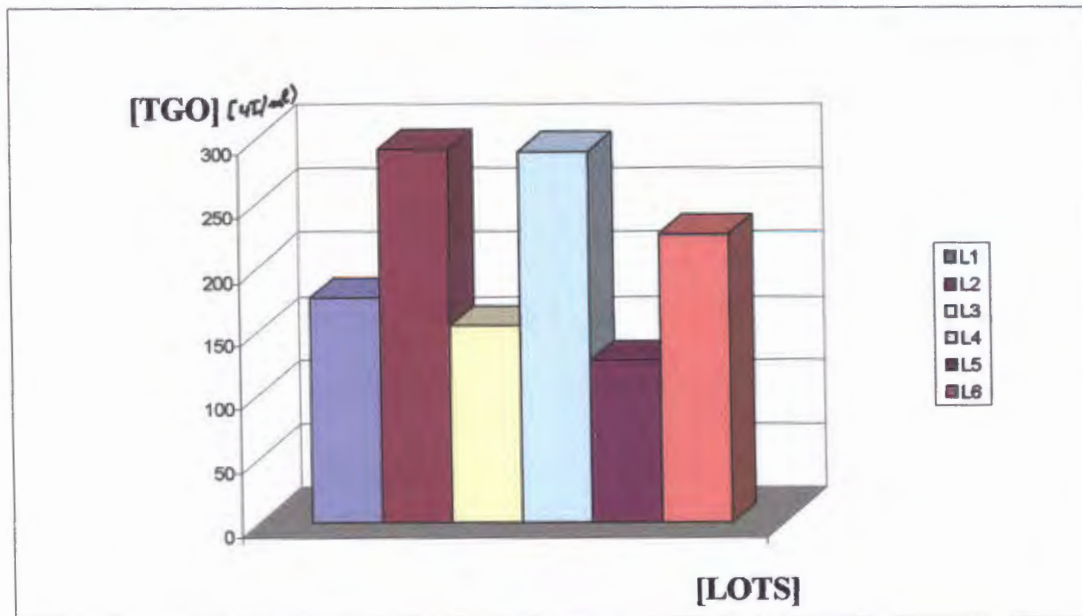
L2 : lot intoxiqué par CCL<sub>4</sub> pendant le 1<sup>er</sup> jour.

L3 : lot traité curativement.

L4 : lot traité préventivement.

L5 : lot traité par le médicament.

(test de Student : ns p>0,05, \* p>0,01, \*\*p>0,001, \*\*\*p>0,0001)



**Fig. 14 :** Evaluation du taux du TGO chez les différent lots.

Nous avons constaté chez le lot intoxiqué une augmentation hautement significative ( $p < 0,001$ ) qui atteint la valeur ( $292 \pm 15$  UI/ml) 24 heures après l'administration du  $CCL_4$ , par rapport à la valeur normale qui est dégagée par les témoins ( $177 \pm 11$  UI/ml).

Pour le lot curatif, nous constatons une chute très hautement significative ( $p < 0,001$ ), par rapport au lot toxique, trois jours après l'administration de l'extrait poly phénolique, qui atteint la valeur de ( $155 \pm 4$  UI/ml). Cette valeur ne présente aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) avec celle constatée après l'administration du médicament (CIBETAINE) qui à entrainer une diminution de la concentration du TGO vers la valeur ( $127 \pm 3,5$  UI/ml).

D'autre part nous observons une différence hautement significative entre les résultats de lot traité curativement pendant trois jours par l'extrait polyphénolique et Celle observées avec le lot intoxiqué trois jours après l'administration de  $CCL_4$  dont la diminution naturelle n'atteint que la valeur de ( $226 \pm 5,5$  UI/ml).

Chez le lot traité préventivement, nous ne constatons aucune diminution ( $290 \pm 10$  UI/ml), et le test de student apparaît non significatif avec le lot intoxiqué.

#### V-1-2 Résultats des dosages du TGP :

● **Courbe d'étalonnage :** Pour réaliser la combe d'étalonnage du TGP (Figure 18), on doit suivie les étapes représentée dans le tableau 10.

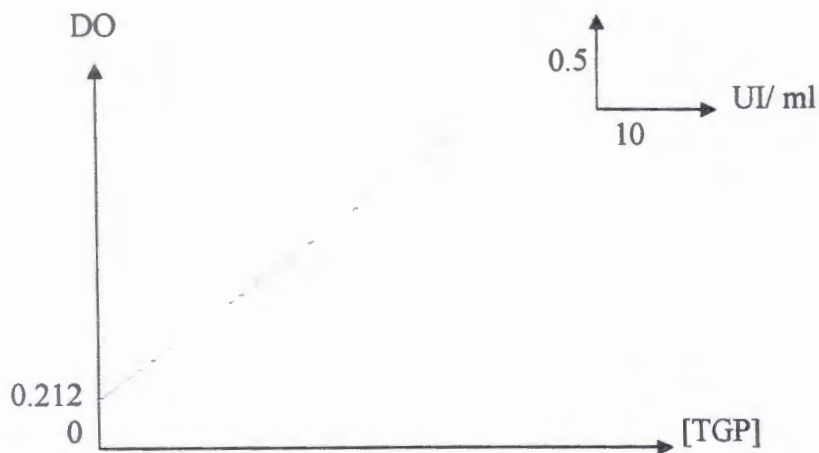
**Tab.10 : Etapes de la réalisation de la courbe d'étalonnage pour le TGP :**

N° de tubes	1	2	3	4	5	6
Eau distillée (ml)	0,2	0,2	0,2	2,0	0,2	0,2
Réactif 2 (ml)	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5
Réactif 4 (ml)	-	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Réactif 3 (ml)	1	1	1	1	1	1
Mélanger . Laisser 20 min ,à température ambiante.						
Sonde 0,4 N (ml)	10	10	10	10	10	10
Mélanger. Attendre 5 minutes. Photométrer.						
Unités TGP / ml	0	22	55	95	150	215

● **Etablissement de la courbe**

-En abscisse : nombre d'unités /ml.

-En ordonnée : densités optiques.

**Fig. 18 : Courbe d'étalonnage du TGP.**



Les résultats du dosage du TGP sont rassemblés dans le tableau 11 et représentés en histogrammes dans la figure 19 :

**Tab.11: Evaluation du taux du TGP. [ $\mu\text{I/ml}$ ].**

Lots	Rats	Résultats	Moyen + écart type
L1	1	84	77.67 ± 10.96
	2	84	
	3	65	
L2	1	251	263 ± 9.14**
	2	258	
	3	259	
	4	276	
	5	263	
	6	271	
L3	1	67	62.67 ± 4.50***
	2	58	
	3	63	
L4	1	195	161.50 ± 31.64**
	2	133	
	3	182	
	4	136	
L5	1	57	58 ± 1.41**
	2	58	
	3	57	
	4	60	
L6	4	185	194.67 ± 10
	5	205	
	6	194	

NB : Le lot L6 représente le même lot L2 mais 3 jours après l'administration du toxique

L<sub>1</sub> : lot témoin.

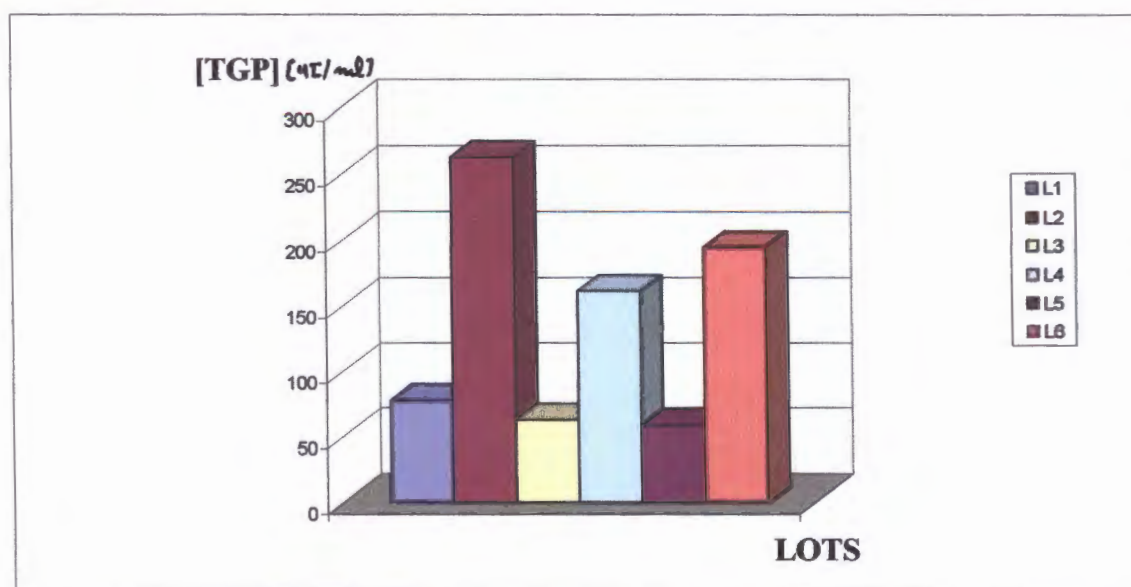
L<sub>2</sub> : lot intoxiqué par CCL<sub>4</sub> pendant le 1<sup>er</sup> jour.

L<sub>3</sub> : lot traité curativement.

L<sub>4</sub> : lot traité préventivement.

L<sub>5</sub> : lot traité par le médicament.

(test de Student : ns  $p > 0,05$ , \*  $p > 0,01$ , \*\*  $p > 0,001$ , \*\*\*  $p > 0,0001$ )



**Fig.19: Evaluation du taux du TGP chez les différent lots.**

Nous constatons une différence hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre le lot témoin, et le lot intoxiqué où la valeur du TGP atteint ( $263 \pm 9$  UI /ml) qui représente une élévation presque à **300%** de la valeur des témoins ( $78 \pm 11$  UI /ml).

Chez le lot traité curativement, nous observons après l'administration de l'extrait polyphénolique une diminution de la concentration du TGP à une valeur ( $63 \pm 4,5$  UI /ml) voisine de celle des témoins, ~~le~~ test de student très hautement significatif en ~~le~~ comparant avec le lot intoxiqué. Cette valeur est très proche à celle obtenue après traitement par le médicament ( $58 \pm 1$  UI/ml) dont la différence est n'est pas significative. Ce résultat reste très loin de celui observé chez le lot intoxiqué trois jours après l'administration de  $CCL_4$ , où le retour à la normale n'atteint jusqu'à maintenant que la valeur ( $195 \pm 10$  UI/ml), aussi loin de celle des témoins, et le test de student est hautement significatif dans le premier cas et significatif dans le deuxième.

Alors que chez les rats traités préventivement, il ya une diminution de la concentration du TGP jusqu'à ( $161,5 \pm 32$  UI /ml) valeur présente une différence significative ( $p > 0,01$ ) avec celle du médicament et aucune différence avec celle de lot intoxiqué, après trois jours, où la valeur atteint ( $195 \pm 10$  UI/ml).

NB : nous notons que la diminution observée chez le lot traité préventivement est plus grande que celle constatée avec le lot intoxiqué après trois jours.

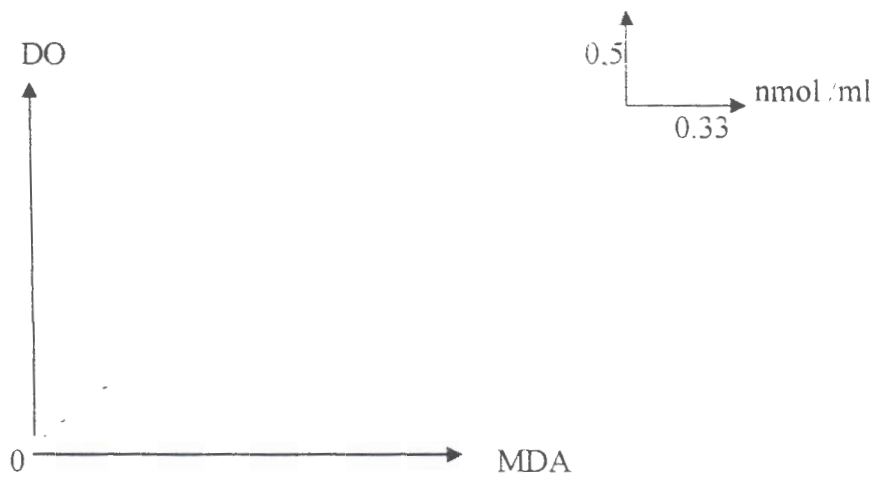
**V-2: Evaluation du MDA**

• Courbe d'étalonnage du MDA :

Les mesures qui nous ont permis de dessiner la courbe d'étalonnage (Figure 20) sont les suivantes

Concentration du MDA ( nmol/ml)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7
DO (nm)	0,091	0,149	0,269	0,320	0,410	0,493	0,598

Ces mesures de la gamme étalon sont pris tels qu'ils sont du TP mis au point par les étudiants du laboratoire de recherche en phytochimie de l'université de Jijel, puisque nous n'avons pas beaucoup de réactifs pour préparer nous même la gamme étalon



**Fig. 20: Courbe d'étalonnage du MDA.**

Les résultats du dosage du MDA sont rassemblés dans le tableau 12 et représentés en histogrammes dans la figure 21 :



Tab.19 : Evaluation du taux du MDA.

Lots	Rats	Résultats	Moyen + ecart type
L1	1	0.036	0.024 ± 0.01
	2	0.015	
	3	0.021	
L2	1	0.184	0.188 ± 0.01**
	2	0.190	
	3	0.190	
L3	1	0.081	0.073 ± 0.01***
	2	0.062	
	3	0.078	
L4	1	0.113	0.109 ± 0.035**
	2	0.106	
	3	0.110	
L5	1	0.028	0.026 ± 0.011**
	2	0.026	
	3	0.026	
L6	1	0.146	0.134 ± 0.066
	2	0.126	
	3	0.132	

NB : Le lot L6 représente le même lot L2 mais 3 jours après l'administration de la toxique

L<sub>1</sub> : lot témoin.

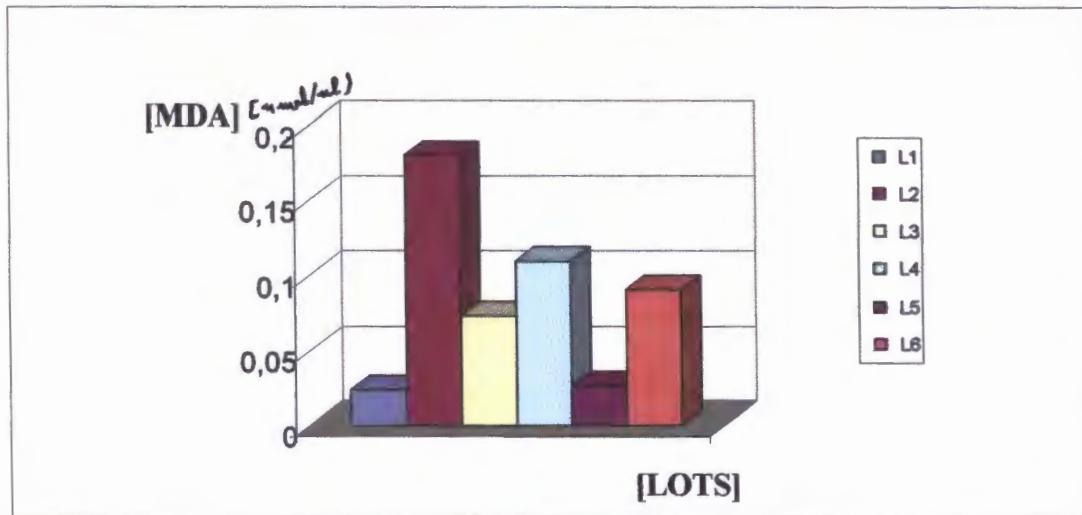
L<sub>2</sub> : lot intoxiqué par CCL<sub>4</sub> pendant le 1<sup>er</sup> jour.

L<sub>3</sub> : lot traité curativement.

L<sub>4</sub> : lot traité préventivement.

L<sub>5</sub> : lot traité par le médicament.

(test de Student : ns p>0,05, \* p>0,01, \*\*p>0,001, \*\*\*p>0



21  
Fig. 18: Evaluation du taux du MDA chez les différent lots.

Après l'administration de CCL<sub>4</sub> nous observons chez le lot intoxiqué une augmentation de la concentration du MDA ( $0,180 \pm 0,01$  nmol/ ml) 7 fois plus que la normal ( $0,024 \pm 0,01$  nmol /ml) cette différence significative est diminuée chez le lot traité curativement à ( $0,073 \pm 0,01$  nmol / ml) valeur proche à celle observée avec le médicament ( $0,026 \pm 0,01$  nmol/ml) et moins de celle observée avec le lot intoxiqué ,après trois jours, où la concentration à diminuer naturellement à ( $0,134 \pm 0,06$  nmol / ml),et la différence est hautement significative.

Dans le lot traité préventivement nous constatons une faible diminution du MDA ( $0,109 \pm 0,03$  nmol /ml). Valeur présente une différence significative avec celle observée chez le médicament et proche au celle du lot intoxiqué, après trois jours.

### V-3-Observation anatomopathologique

#### 1/ foie témoin :

Anatomiquement, il se présente sous forme d'une masse polylobé, a contenus réguliers, la surface lisse est homogène ne présente aucun signe de souffrance, ni même la présence de nodules kystiques .

La couleur est brun foncée témoignant d'une bonne irrigation sanguine (Figure 19).

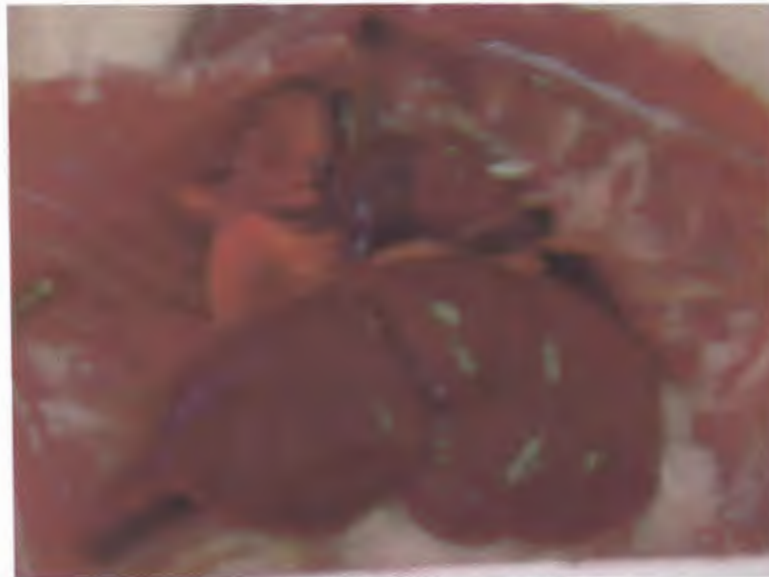
#### 2/ foie intoxiqué par CCL<sub>4</sub> :

On observe de profondes modifications aussi bien du Point structurel que fonctionnel . En effet, le foie se présente sous forme d'une masse légèrement rétractée , par rapport au témoin avec fusion des lobes hépatiques , de plus on note une transpiration sur tout la surface du foie témoignant d'une souffrance importante de la circulation sanguine ( au niveau portale et centro lobulaire ) . De nombreuses plaques (blanches sur la micrographie ) sont observés et correspondent à des zones

nicrosées (Figure 13).

**3/ foie traité curativement :**

Présente une structure tout à fait comparable à celle du témoin , la couleur , les lobules et le volume sont conservés (Figure 14).

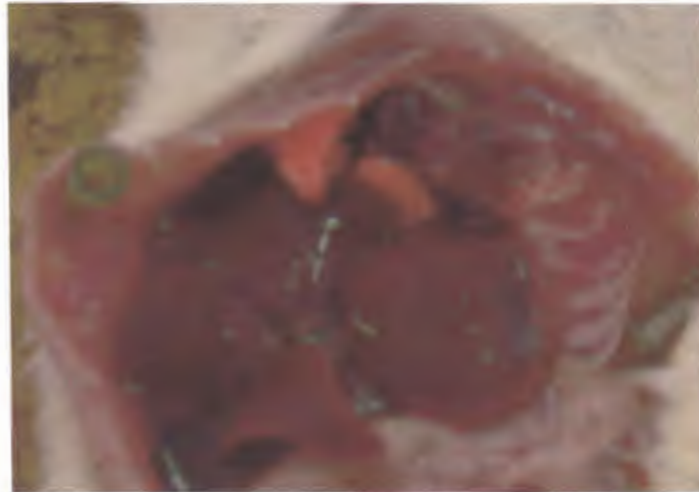


**Fig. 14:** Foie d'un rat témoin.



**Fig. 13 :** Foie d'un rat intoxiqué par le CCL<sub>4</sub>

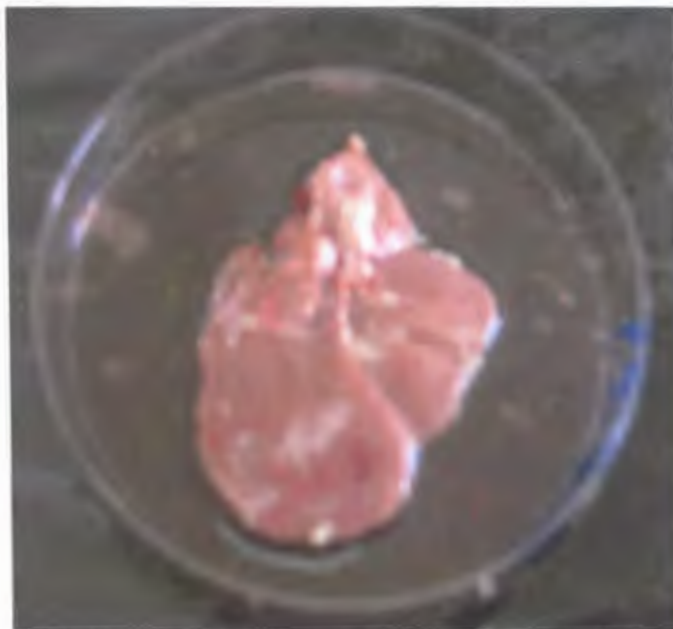




**Fig. 24:** Foie d'un rat traité curativement par les polyphénols.

**4/ foie traité préventivement :**

La structure du foie est légèrement comparable à celle des rats traités par le médicament " CIBITAÏNE" toute fois on observe la présence disparats des plaques nécrotiques ainsi qu'une recoloration (même si elle est insuffisante ) des lobules bien conservés (Figure 25).



**Fig. 25:** Foie d'un rat traité préventivement par les polyphénols.

**5/ foie traité par «CIBITAÏNE».**

Structure et volume grossièrement conservés par rapport à ceux du témoin , les lobes hépatiques sont nettement séparés , toute fois on observe que le contenu du foie est moins prononcé que celle du témoin, ce qui traduit un rétablissement partiale et non totale de la circulation sanguine (Figure 26).



**Fig. 26 : Foie d'un rat traiter par le médicament**

**6/ foie intoxiqué par CCL<sub>4</sub> (après 3 jours) :**

On observe des modifications aussi bien du Point structurel que fonctionnel . En effet, le foie se présente sous forme d'une masse légèrement rétractée , par rapport au témoins avec fusion des lobes hépatiques , de plus on note petite une transpiration sur toute la surface du foie témoignant d'une souffrance de la circulation sanguine ( au niveau portale et centro lobulaire ) . Quelques plaques (blanches sur la micrographie ) sont observés et correspondent à des zones nécrosées , ces plaques nécrotiques sont plus abondants dans le lot d'animaux sacrifiés après 24 heures que ceux sacrifiés après 72 heures (Figure 27).



**Fig. 27 : Foie d'un rat intoxiqué par le CCL<sub>4</sub> (après 3 jours).**

CHAPTER

IN DISCUSSION



## VI - DISCUSSION:

La plus parts des produits chimiques , dont l'organisme est toujours en contact , présentent des effets indésérables plus ou moins néfastes .

La toxicologie est la science qui s'intéresse à l'étude de ces effets néfastes en déterminant leur mécanismes d'action , les sites et les organes cibles ainsi de chercher des traitements pour les différentes manifestations et dysfonctionnements provoqués par ces produits .

Le foie est l'organe le plus soumis aux effets toxiques des produits chimiques et des médicaments parce qu'il représente le lieu de métabolisme d'un grand nombre de ces derniers . Cette toxicité est due principalement aux métabolites réactifs comme dans le cas de l'intoxication par le  $CCL_4$  .

Le  $CCL_4$  représente l'un des substances les plus toxiques pour le corps et notamment sur le tissu hépatique où il provoque des altérations structurelles traduites par des lésions tissulaires réversibles ( en cas d'intoxication aiguë ) et des nécroses centrolobulaires , ainsi que des modifications fonctionnelles exprimées par une mauvaise circulation sanguine (GOSSELIN et *al.* , 1984 ) après sa transformation en son métabolite réactif :Le  $CCL_3$  . Sachant que selon Rees et Sinha (1960) , cette substance provoque la destruction d'environ 41% des cellules hépatiques de rats après 24 heures de l'intoxication . Ces intoxications sont généralement traitées par des médicaments de synthèse qui présentent de multiples effets secondaires .

En effet , la famille des polyphénols contient des substances pouvant diminuer cette toxicité et pour quoi pas l'annuler totalement parce qu'ils ont une structure qui leur permet de piéger les radicaux libres en les neutralisant ( CLERMENT , 2001).

Pour vérifier les effets hépatoprotectrices et curatifs des poly phénols sur une hépatotoxicité aiguë induite par le  $CCL_4$  à une seule dose de 1 ml / kg , nous avons réalisé une étude expérimentale chez les rats . Nous avons étudié chez ces rats , les conséquences hépatologiques d'un traitement curatif et préventif par les polyphénols administrés à une dose de 200 mg / kg .

Les paramètres mesurés qui rendent compte à la fois de l'intoxication des lots traités par le toxique seul et de l'effet protecteur ou curatif de nos extraits sont :

- Les enzymes transaminases TGO ( glutamate oxaloacetate transaminases ) et TGP ( glutamate pyruvate transaminases ) plasmatiques sont les plus communément utilisés , ils rendent compte de l'altération des endomembranes ou de la nécrose cellulaire ;
- La malonedialdéhyde (MDA) renseigne sur l'intensité de la lipopéroxydation .

En effet , après l'administration de CCL<sub>4</sub> , nous avons constaté au terme des premières 24 heures qui suivent l'administration une élévation remarquable du TGP (263 ± 09 UI / ml) , TGO (292 ± 15 UI / ml) et du MDA (0,188 ± 0,001 nmol / ml) .

Ces résultats (TGO,TGP) s'expliquent par l'installation d'une cytolysse hépatique (destruction d'un certains nombre des cellules hépatiques ) qui a conduit à la libération de quelques constituants intracellulaires , TGO et TGP inclus , dans les sérum sanguin .

L'élévation de TGP est supérieure à celle du TGO à cause de leur répartition différente le TGP est une enzyme sytoplasmique , tandis que le TGO se trouve dans le cytoplasme et les métochondries (VAUBOURDOLLE , 1996 ) . Cela signifie pour certains auteurs que les lésions cellulaires sont encore discrètes avec seulement libération des enzymes cytoplasmiques (SHERLOCK , 1968 ; BOIVINS ,1961 ) .

Pour ce qui concerne le MDA , l'augmentation est due à la peroxydation des lipides membranaires par le CCL<sub>4</sub>, qui a pu détruire les membranes après avoir inhiber les mécanismes de défenses hépatocytaires ce qui les rendent facilement affectés par le stress oxydant, parce qu'il a été transformé en un radical trichlorométhyl (CCL<sub>3</sub>) fortement toxique au niveau des microsomes hépatiques en présence du cytochromeP450( LINKGAN , 1989 ; SHARMA et al , 1989 ; LEXA et al , 1989 ; SADEQUE , 1997 ) . Ceci reflète l'effet toxique du CCL<sub>4</sub> et indique donc l'installation d'une hépato-toxicité aiguë. Ceci est comparable à plusieurs travaux (BANDY et al.,1981 ;DHURNAL et al. ;HASE et al.,1996)

L'administration de l'extrait polyphénolique à nos rats à titre curatif à une dose de 200 mg / kg pendant 3 jours nous a permis de constater une diminution très hautement significative des trois paramètres ; TGP (63 ± 0,01 UI / ml), TGO (155 ± 4 UI/ml) et MDA (0,073 ± 0,01 nmol/ml). Ce retour aux valeurs normales indique que les principes actifs qui constituent notre extrait polyphénolique de la plante RRL possèdent une activité inhibitrice de la peroxydation lipidique et donc ont un effet anti oxydant.

Cette capacité de lutter contre les radicaux libres est due à la structure hétérocyclique des polyphénols qui les permette de piéger les radicaux libres et de les neutraliser (CLERMONT,2001 ) . Cet effet est remarquable à celui du médicament (CIBETAINE).

Ce même traitement à titre préventif durant 3 jours n'a donné aucune différence pour le TGO (290 ± 08 UI / ml) . Alors que pour le TGP on distingue une différence significative entre le



lot intoxiqué et celui pré-traité par l'extrait ( $161 \pm 31,6$  UI / ml) . Pour ce qui concerne le MDA , la différence remarquée est hautement significative ( $0,109 \pm 0,03$  nmol / ml). Les données bibliographiques dites que la demi-vie des flavonoïdes (fraction majoritaire dans les polyphénols) est de 11 heures (CD providal , 1997) . Ceci peut expliquer la petite chute du TGP et du MDA c'est à dire au moment que le  $CCL_4$  arrive aux cellules hépatocytaires , il ne rencontre qu'une petite quantité des polyphénols , parce que la majorité a été éliminé dans la bile, c'est pour cela le  $CCL_4$  a pu donner son métabolite réactif ( $CCL_3$ ) qui a détruit les cellules et provoqué une cytolysse hépatique. Pour ce qui concerne la concentration du TGO , on n'a pas vue le même constat , ceci pourrait être expliqué par une faute de manipulation de paillasse au moment du dosage de ce paramètre



CHAPTER

THE

CONCLUSION

## VII- Conclusion :

La recherche dans le monde végétal des molécules utilisables en thérapeutique pouvant servir de point de départ à la synthèse de nouveaux médicaments (plus efficace et sans effets indésirables), reste un domaine de recherche très fructueux.

L'étude de l'extraction des polyphénols à partir de la plante RRL, et l'étude de leur activité pharmacologique sur des rats de laboratoire aux quels nous avons administré le  $\text{CCl}_4$  a permis :

- De vérifier l'hépatotoxité de ce produit chimique ( $\text{CCl}_4$ ) par la modification apparente obtenue de certains paramètres tels que : la TGP, TGO et MDA ;
- De confirmer l'activité curative de l'extrait polyphénolique qui s'avère positive dans ce cas pathologique, puisque leur administration a permis de réduire les taux élevés des paramètres indiquant l'hépatotoxité ;
- De confirmer l'effet scavenger des polyphénols sur les radicaux libres.

Le protocole expérimental suivi dans notre étude, nous a permis de confirmer l'effet hépatoprotecteur des polyphénols, ceci ne reflète pas forcément l'absence de cet effet d'ailleurs déterminé par plusieurs études (DIALLO, 1987 ; RICE – EVANS, 2003).

Cette étude reste insuffisante pour confirmer les résultats précédents, pour cela une étude approfondie est recommandée à fin d'étudier plus clairement le mécanisme d'action des polyphénols, ainsi qu'un changement du protocole expérimental devient nécessaire en tenant compte de la demi-vie de polyphénols pour bien étudier l'effet préventif.

Aussi une séparation et purification bien précise des différents constituants présentés dans l'extrait polyphénolique et l'étude de leurs activités hépatoprotectrice et curative de chacun d'eux est nécessaire pour attribuer l'effet qu'on a obtenu à telle ou telle fraction.

Аннака



## Annexe

Résultats du test de Student:

entre	Paramètres		
	TGO	TGP	MDA
L1 et L2	0.0033**	0.0036**	0.002**
L3 et L2	0.0003***	0.0009***	0.0002***
L3 et L5	0.183(ns)	0.23 (ns)	0.013*
L3 et L6	0.0013**	0.004**	0.003**
L2 et L4	0.306 (ns)	0.035*	0.002**
L4 et L5	0.008**	0.02*	0.0003**
L4 et L6	0.9 (ns)	0.305 (ns)	0.02*

Test de Student : ns  $p > 0,05$ , \*  $p > 0,01$ , \*\*  $p > 0,001$ , \*\*\*  $p > 0,0001$ )

## ERRATUM

Le CCL <sub>4</sub> s'écrit dans tous les pages CCl <sub>4</sub>			
Le CCL <sub>3</sub> s'écrit dans tous les pages CCl <sub>3</sub>			
ERREUR	Page	Line	Correction
Anti-inflamatoire anticancéreuse	10	16	Anti-inflammatoires Anti-cancéreuses
Differents d'intoxication	23	16	Differents types d'intoxication
III-6-1 [le titre ]	23	21	III-6-1- Examens cliniques:
PLPA,1980	27	8	PLAAGL,1980
sulfydryle	28	13	sulphydryl
polyacides gras	29	19	Polyacides gras
avec le	50	18	avec le
après trois	50	18	après trois
Fig.25:...préventivement par....	55	-	Fig.25:...préventivement par...
l'ogane	57	7	l'organe

## Références

- ADER JL., CARRE F., DINH AT., DUCLOS M., KERCIER J., MION F., FREFANT et ROMAN S.** (2003). Physiologie : l'essentiel du cours – Masson – paris .p: 257-261.
- ADENOT M.** (2000) . Initiation à la chimie médicinale: les voies de la découverte des médicaments . Ellipses . p: 74-81.
- ALEX JF.** (2001) . Ontario. weeds – descriptions . illustration and keys to their identification . ontario ministry of Agriculture . food and rural affairs guelph. Ontario . Canada.
- AL. MALAIKA S.** (2000). Learning from mother nature: exploiting a biological antioxidant for the melt stabilization of polymers . Modest, palenon. P:3-7.
- ALPERT AE., ARKHANGELSKY AV., LUNIS AM et PANINA NP.** (1972). Experimental hepatopathies and carcinoma of the breast rats . B jull . EKSP. Biol. . Med .74. p: 78.
- ANTON R.** (1999). Plantes thérapeutiques tradition , pratique officinale , science et thérapeutique. Tec et Doc . éd .3<sup>ème</sup> . P=25 .
- BACH O., MAXRE M et DEYSSON G.** (1967). Cours de botanique générale: organisation et classification des plantes vasculaires . tome II, 2<sup>ème</sup> partie (systématique). Société d'édition d'enseignement supérieur . Paris .5<sup>ème</sup> ed p: 220-227.
- BALCELLS A.** (1998). Examens de laboratoire pour le praticien .MASSON. p:125-127.
- BANDEY GP., SHRIVASTAVA PN., KUSHWAH H. et DUTTA IC.** (1981). protective action of livol in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in dogs .ind .J.pharmacol . 14(4). P: 351-353.
- BENHAMOU J.P., BELGHITI j et DURAND F.** (2000). Maladies du foie et des voies biliaires. 4<sup>ème</sup> ed .Médecine- sciences. Flammarion . paris . p: 6- 17.
- BERNARD S.** (1989). Biochimie clinique: instrument et techniques .2<sup>ème</sup> ed .Malone . paris .p : 185-205.
- BIDET O., GAIGNAULT J.C., GIRARD P et TRTIN F.** (1987). Inflammation . Allergie douleur et acide arachidomique: du jardin des hespérides à la cascade de l'acide arachidomique : les flavonoides . l'actualité chimique . p : 89-97.
- BLANCHE MAISON P.** (2000). les phlébotamiques de 1930 à nos jours . Act Med Anjiologie ; 54-p: 4-473.
- BOIVIN P., AUZEPH PH et FAUVERT R.** (1981). "Le syndrome de cytolysé hépatique " Annales de biologie clinique.
- BOKKENHENHEUSER VD., SHACKLETON CHL., WINTER J.** (1987). Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal bacteroides. From humans – biochem. J.248.. P/: 953-956.
- BONNER J et VARNER JE.** (1965). Plant biochemistry. plantes .biochimie . academic press New york and london.p:553-618.



## Référence

- BRUNETON J.** (1993). Pharmacognosie phytochimie : plantes médicinales 3<sup>ème</sup> ed .Paris .p:266-350.
- BRUNETON J.** (2001). Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux 2<sup>ème</sup> ed Londres , new york ,paris .p: 395-396.
- CANNIO R., FIORENTINO G., MORANO A., ROSSI M and BARTOLUCCIN S.** (2000). Oxygen : friend or foe ? archoeal superoxide dixmutase in the peroextracellular oxidative stress . frontiers in bioxiencie , 5: d 768-779.
- CD.DICTIONNAIRE** thesaurus de la medicine + cours pour externe.
- CD.le providale.** (1997).
- CERF M et al .** (1978). Physiologie : physiologie endocrinienne ety metabolique . physiologie digestive. TOME I .Jb . bailliése .Paris .p:299-346.
- CHADEFAUD M et EMBERGER L.** (1960). Traité de botanique (systématique) . tome II MASSON et C<sup>oe</sup> EDITEURS . paris VI<sup>e</sup> . P/ 956-969.
- CHARBONNEAU M. , BRODEUR J., DOUSOUICH Pet PLAA GL.** (1986) .Correlation between acetone protentiated CCl<sub>4</sub> induced liver in jury and blood comentrations after inhalation oral administration . toxicol .APP. pharmacol. 840 p: 286.
- CLAVEL J.P., J and THUILLIE RA.** (1985). Lipides peroxydation et radicaux libres , rôle en biologie cellulaire et en pathologie . path .BIOL ; 33(1). P: 61-69.
- CLERMONT F.** (2001). Absorption et métabolisme splanchrmique des flavonoides chez le rat .
- COLES SH .** (1977). Ranunculus repens L. In europe watsonia-11- p: 353-366.
- COOK N.C et SAMMAN S .** (1996). Flavonoids – chemistry . metabolism . cardio protective effects ,and dietry soirce . nutritional biochemistry ,7. p:66-76.
- DESPAND S., DESHPANO US. et SALUNEKHE D.K.** (1996). Nutritional and health aspects of food antioxidants technological, toxicological and health perspectives . food antioxi-dants .Ed : Madhair et al .New york .p:361-468.
- DESMARCHELIER C ., COUSSIO J et CIICCIA G.** (1998). Antioxidant and free radical xavengig effects in extracts of the medicinal herb Achyrochine satureioides (lam) DC.(" marcela") . Braz J Med Biol Res .31(9) .p: 1163-1170.
- DHUMAL MS ., MANE IH et PATEL SS.** (1989). Effect of liv.52.on carbon tetrachloride. Indian J. pharmac .21 p: 93 -96.
- DIALLO B ., VANMAELEN M., KISO Yet HIKINOH .** (1978). J. Ethnopharmacol .20. p: 239-243.
- DINZANT M.U ., POLIG ., GRAVELA E ., CHIARPOTTO et ABBANO E .** (1981). Influence of lipid peroxidation on secretion bry isolated hepatocytes .J. lipids. 16(11). P: 823-829

## Références

- DODET B.** (1991). La classe aux radicaux libres oxygénés .J:Biofutur .p: 23-34.
- DOMARIA et BOURNEF J.**(1986). Nouveau larousse médical-paris.
- DORE D.**(1986) Biochimie chimique.Flammarion editions.P :450-500.
- DREISACH RH .**(1983). Handbook of poisoning prevention . diagnosis and treatment . 11<sup>ème</sup> edition . large Medical publications . los .Altos.CA.
- ENCYCLOPEDIE** (2002): *LAROUSSE ENCYCLOPÉDIE des plantes médicinales : Identification, préparation, soins . LAROUSSE. Paris .*
- FAVIER A.**(1998) –stress oxydante et mécanisme cellulaires . effets deleteres des radicaux libres et défences antioxydants. Deuxieme colloque international. Elements trace .radicaux libres et pathologie oxydatives. Tunisie .17-18 Avril 1998.
- FOLLAND DS ., SCHAFFNER W. , GINN HE ., CROFFORD OB et MCMURRAY DR.** (1976). Carbon tetrachloride toxicity potentiated by isopropyl alcohol Inverigation of an industrial outbreak .J. Am Med .Assoc 236.p:1853.
- FOURNIER E.** (1993). Toxicology . Ellepsis . p:442-445.
- FRANCK LU .**(1992). Toxicology , données générales , procéduses d'évaluation, organs cibles , evaluation du risqué p:175-184.
- GARDNER E., GRAY .DJ., ORAHILLY R.** (1993). Anatomné . volume 2- Alger .p:376-184.
- GIRROTTI A.W.**(1998). Lipid hydroperoxide generation , turnover , and effector action in biological systems .J:lipid research-39:p:1529-1542.
- GLENDÉ ., HRUSEKEWYC2 AM ., RECKNAGEL RO .** (1976). GRItical role of lipid peroxidation in carbon tetrachloride induced losse of amino pyrimide demethy – lase , cytochrome p<sub>450</sub> and glucose 6- phosphatase . biochem . pharma- col .250.p:2163.
- GORIS A .** (1967). Manuel de botanique .vigot freres , etueurs .paris –VI<sup>e</sup> .p: 218-228.
- GOSELIN RE ., SMITHRP ., HODGE HC .** (1984). Clinical diagnosis and commercial products .5<sup>e</sup> ed williams and wilkins , Baltimore.MD.
- GUIGNARD JL ., COSSON.L., HENRY M.** (1985). Alirégé de phytochimie . MASSON .p: 138-154.
- HALLIWELL B.** (1994). Free radicals , Antioxidants . and human disease : curiosity , caus , or consequence ? free radicals and antioxidants .J the lanced .344. p: 721-724.
- HALLIWEL B.** (1997). Autioxidants and human disease : general introduction. nutrition reviews; 55(1),p:544-552.



## Références

- HARBORNE JB .**(1988). The flavonoides : recent advances in "plant pigments" Goodwin twed , Academic press londres, p:299-313.
- HAROMAN JG et al .**(1998). Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments .9<sup>ème</sup> éd .MC .GRAW-Hill.
- HASE K .,KAOOTA S .,BASNET P et a.l .**(1996). Protective effect of celosion .an acidic polysaccharid.on chemically and immunologically induced . liver injuries . boil . pharm bull . 19 (4). P: 567-572.
- HASLAM E.** (1993). Shikimic acid . metabolism and metabolites . john W. sons ed.
- HAYASE F and KATO M.** antioxidant compounds of sweet potatoes .J. Nutri-Sci vitamininol. 30- p:37-46.
- HAYASHI** (1982). *My life and oxygen* . Ed: NOZKI et al .Academic press ,Inc . 1-13 .
- HECKETT AM.** (1986). The metabolism of flavonoids compounds in mommals .ALAN. R .liss.INC.New york. P:177-990.
- HENDERSON G.L.,CHEN J. J et SCHENKER S.** (1999). Ethanol, oxidative stress. Reactive Aldehydes and the fetur. J: frontiers in bioxiencie.4.d 541-550.
- HOLML .,dall J., HOLM ., E., PANCHO J et HERBERGER J.** (1997). World Weeds .natural histories and distribution JOHN Wiley and sons . INC. TORONTO.camda.
- HOSTETTMANN K .** (2000). Tout savoir sur le pouvoir des plantes . sources de médicaments . faure SA.P/1.
- HUGUES DP .** (1996). Médecine et nutrition . simarre Aed . Nuti ; T 32. N° 1.P/23.
- JADOT G .** (1981). Le rat de laboratiore : reactif biologique MASSON . p:17.
- JADOT G .** (1994). Antioxydants et vieillissement . Jahn libbey eurotext. P: 34.52.
- KAMINA PetMARINO DI . V.** (1998). Anatomie : introduction à la chimique 8- ABDOMEN, Appareil digestif et rien .tome 2. 1<sup>ère</sup> ed . MATOINE. Paris . p:24-28 .
- KERKENI A.** (1998). Radicaux libres. Systèmes antioxydants et pathologies oxyodatives. Deuxième colloque international. Eléments trace , radicaux libres et pathologie oxydatives . Manashi .17. 18 April 1998.
- KAYER K et IMLAY J.A.** (1996). Superoxide accelerates DNA Damage by elevating free . Iron levels .J. biochemistry.93. p: 13635-13640.
- KOOLMAN J., ROHM K.M .**(1999).Atlas de poche de biochimie. Édition médecine xience flammarion .p:189-264.
- KORTHUIS R J ., GRANGER ON .**(1993). Reactive oxygen metabolites . neutrophils and the pothogenesis of ixhemic. Tissue/ reperfusion . clin caradiol , 16:I19-I26.



## Références

**KRINSKY N.I.** (1992). Mmechanism of action of biological antioxidants. Proc SOC ExpBiol Med .200 .p:248-254.

**LAHOUEL M.** (1985). Etude de la toxicité hématologique . hépatique et rénale de deux médicaments anticacéraux . la dextrorubicine et la CCNE chez le rat . thèse de doctorat . rouen France . p: 32-35.

**LAROUSE.** (2002). Encyclopedie des plantes médicinales: Identification , répartition , soins – LAROUSSE .PARIS.

**LEXA A et al.**(1989). Cholaretic and hépatoprotectives properties of eupatoroum connabium in the rat , planta Med .SS. p:127-132

**LELOUCH S.** (2001). Hépto-gastio- eutérologie. Edition. Estem .p:14

**LING N.,GANK H.** (1989). Antihépatotoxic principales of solanum. Capsicastrum. Planta Med .55.48-50.

**LOGANT M.K et DAVIES R .E.** (1980). Lipid oxydation: biologic effects and antioxidants. A .Review .J. lipids .15(6). P:485-495.

**MAGNIN.P.**(1992). Les vitamins . presse universitaires de france.p:73-104.

**MAROUF A .** (2000). Dictionnaire de botanique , les phanérogames . MASSON xiences . DUNOD.paris.p:66-82.

**MATES J.M et SANCHEZ-JIMENE2 F.** (1999). Antioxidant enzymes and their Implications in pathophysiologic processes. J: FRONTions in bioxiencie.4:d 339-345.

**MAZOYER M et COLLABORATEURS S.** (2002). LAROUSSE agricole. Larouse éd .p:543.

**MC CLINTOCK D .,** ( ). Des plantes à fleurs. Delachaux et Nie stlé , editeurs .p: 1.7

**MECOLLISTER DD et al.**(1951). The alisorption. Distribntion and élimination of radioactive carbon tétrachloride by moukeys upon xposure to .low . vapor . concentrations J. pharuracol. EXP. Ther .10<sup>2</sup> :p: 112.

**MESSAILI B .** Botomique : systématique des spermaphytes . office des publications universitaires , Alger .p:13-44

**MEYER P .** (1983). Physiologie . humaine. Flammarion ed C<sup>1o</sup>. p :111-165.

**NATIONAL caucer Institute.** (1976). Carcinogenesis bioassay of trichloro ethylene .NCI. CG . TR . ?? Departement of Health .education and Welfare publication WO.(NTH) 76. 802, carcinogen bioassay and program resources branch, carcinogenesis program . dicrsion of cancer, cause and

**NEZELOF C .**(1983). Nouvelles acquisition en pathologie HERMANN.p:23-26

## Références

- PAUL BB et RUBINSTEINO D.** (1963). Metabolism of carbon tétrachloride and chloroform by rat .8. pharmacol. EXP.thier .141:141.
- PLAAGL.** (1980). Toxic responses of liver . dans .casarelt and Doull's toxicology the basic . science of poisons 2<sup>ème</sup> ed . 5 doull , CDKLAASSE N etMO. Anudur (editeurs) Macrillon , New
- RECKNAGEL RO.s GLENDE EA .** (1973) . carbon tetrachloride hépatotoxicity :an exemple of lethal claerage . CRC . CRIT . REV . toxicol . 2 : p : 263 – 297 .
- REES KR et SINHA KP.** (1960).Blood enzymes in liver In jury J : path. Bact. 80. P: 297-307.
- RETMAN S . FRANKEL S .** (1957) . American jornal clinic pathologie . p : 28 – 56
- REUBER MD et GLOUEREL .** (1970) . cirrhosis and carcinoma of the liver in mal rats given . subcutane ous carbon tetrachloride j. Nath . concer – IDST ? 44 : 419 .
- RICE – EVENS C .** (2003) . serial revieu . flavonoids and isolfavones (plytoestrogens : Absorption , ELSEVIER . p : 827 – 828 . ; Metabolism , and bioadivity
- RICHTER G .** (1993) . Métabolisme des végétaux ; physiologie et biochimie . PRESSES polytechniques et universitaires Romandes . p : 328. 339 .
- ROBAK et GRYGLEWSKI R J .** (1988) . flavonoids are scawengers of superoxide anions . biochem pharmacol ; 37 ; p : 837 – 841 .
- ROUGEREAU A .** (1997) . vitamine c . thérapeutiques 25 – 202 – F- 10 .
- SADEQUE A.JM and call .** (1997) .human cyp2cg and cyp2Ac mediate formation of the hepatotoxim 4-eme- valproic acid . pharmacol . EXP ; 283(2) . p : 689 – 703 .
- SARUKHAN J .** (1974) . studies on plant demography . ranunculus repens L.R . bulbosusl and R . acris L.II . reproductive stratigie and population dynamics .
- SARUKHAN J .** (1976) . on relative prossures and energy allocation in populations of Ramunculus reprens , R . bulbosus and R . acris . Ann . Missouri Bot . Garden . 62 . p : 290 – 308 . (IN : HOLM et al . 1997 ) .
- SCHONEICH C ., ASMUS K – D ., DILLINGERU . et VON BRUCHHAUSEN F .** (1989) . Thiyl radical attack on polyum saturated fatty acids : a possible route to lipid peroxidation . J : Bichem biophys res commun . 161(1) . p : 113 – 120
- SHARMA AK et al.**(1989).Hépatoprotective effects of Wedelia calendulacea,J.Ethno-pharmacol,25,P:93-102.
- SHERL OCK S .** (1968) . " Diseases of the liver and biliary system " . 4 edition ox ford .

## Références

**SHIMAMURA H** and Coll .(1993) identification of tissues responsible for the conjugative metabolism of liquiritigenin in rats . analysis is based on metabolic Kinetics. Boil. Pharm . bull. 16. p : 899-907

**SILBERNAGL S** et **DESPOPOULOS A** . (2001) . Atlas de poche de physiologie . 3 ed . Medecine. Sciences – Flammarion- paris. P: 248-251

**SITE INTERNET:**[http://www.fleurs-des-champs.com/phototheque/detail\\_fleurs/ranunculus-repens](http://www.fleurs-des-champs.com/phototheque/detail_fleurs/ranunculus-repens).

**SITE d'internet :** <http://www.meurbres.lycos.fr/mourad/flavonoides/htm1>.

**STOKER R** . (1993) . Natural antioxidants and atherosclerosis . Asia pac J clim Nutr .2 (suppl 1) . p : 15-20 .

**TIMBRELL JA** . (1982) . tissue, lission . IN : principales of biochemical toxicology . London . Taylor and Francis

**TREASE GE .; EVANS WC** . (1985). pharmacognosy . 12 edition . English language book society Bahllière Tindall. P: 180-181.

**UCHYAAMA M** and **MIHARA H** . (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test . analytical bio chemistry , 86, p : 271-278.

**VALNET J** . (1976) . Aromathérapie : traitement des maladies par les essences des plantes . 8 ed . Paris . p : 15.

**OVAUBOUR DOLL M** . (1996) . conférence et métabolisme spatial chimique des flavonoïdes chez les rats .

**WALL J** . (2000) Antioxidants in prevention of reperfusion damage of vascular endothelium. J . pharmacology . Review . 1. p: 66-71.

**WINDHOKZ M** et al (1983) . The merck index . 10 edition . MERCK et co, INC , Rahway . NJ .

**WRIGHTS ., KEELE CE** et **NEIL E** . (1980) . Physiologie appliqué à la médecine . 2 édition . médecine . sciences . Flammarion . Paris. P: 494-499.

**YAN S . D** . et al . (1994). Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors / binding protein . J : Biol chem. . 269 (13) . p: 2889-2897.



<b>Présenté par :</b>	<b>Date de soutenance</b>	<b>Membres de jury</b>
* KRADA KHALED	Le : 28-09-2005	• HENDIS M <sup>ed</sup> Essadek Pré.
* MESSAI NASSIMA		• LAIE Essaid Exa.
* BOUBELLOUTA FOURIA		• KEBEJECHÉ M <sup>ed</sup> Etc.

**Titre :** Etude de l'effet hépatoprotecteur et curatif des polyphénols, extraits à partir de la plante *Ranunculus repens L.*, sur une hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone (CCl<sub>4</sub>).

**المخلص:** تعتبر النباتات السببية مصدرا أساسيا للعناصر الفعالة المستعملة في صناعة الأدوية. نتاوات دراستنا التائير العلاجي والوقائي للفينولات المتعددة المستخلصة من الحوتان الزاحف RRL على التسمم الكبدي الحاد المعرض برباعي كلورور الكربون (CCl<sub>4</sub>). أدى استعمال متعددات الفينول إلى نقصان في معدل إنزيمات (TGP, TGO) وكذلك إلى MDA إلى مستويات متوافقة مع الدواء المرجعي CIBETAINE وهذا ما يؤكد الدور العلاجي والوقائي لمتعددات الفينول وكذلك دورها في تثبيط فوف الأكسدة الليبيدية.

**Résumé :** les plantes médicinales représentent une source essentielle des principes actifs utilisés dans la synthèse des médicaments.

Notre étude concerne l'effet curatif et préventif des polyphénols extraits à partir de la plante RRL sur l'hépatotoxicité aiguë induite par le tétrachlorure de carbone (CCl<sub>4</sub>).

L'administration des polyphénols a diminuer les taux des transaminases (TGO, TGP) et le MDA à des valeurs correspondantes à celles constatées avec le médicament (CIBETAINE). Ceci confirme l'effet curatif et préventif des polyphénols ainsi que leur rôle dans l'inhibition de la peroxydation lipidique.

**Summary :** The medicinal plants represent an essential source of the active ingredients used in the synthesis of the drug

Our study relates to the curative and preventive effect of polyphenols extracted starting from the plant RRL on the acute hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>).

The administration of polyphenols has to decrease the rates of transaminases (TGO, TGP) and the MDA with values corresponding to those noted with drug (CIBETAINE). This confirms the curative and preventive effect of polyphenols like their role in inhibition of the lipidic peroxidation.

**Mots clés :** Foie, CCl<sub>4</sub>, Toxicité hépatiques, Peroxydation lipidique, TGO, TGP, MDA, Polyphénols, *Ranunculus repens L.*