

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire de Jijel

Institut des Sciences de la Nature

Mémoire

De Fin d'Etude En Vue de l'Obtention du
Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie

Option
Biochimie



Thème

Evaluation de l'Influence des
Extraits d'Algues Marines sur l'Hémostase

Encadré par :

Mr. *LAHOUEL Mesbah*

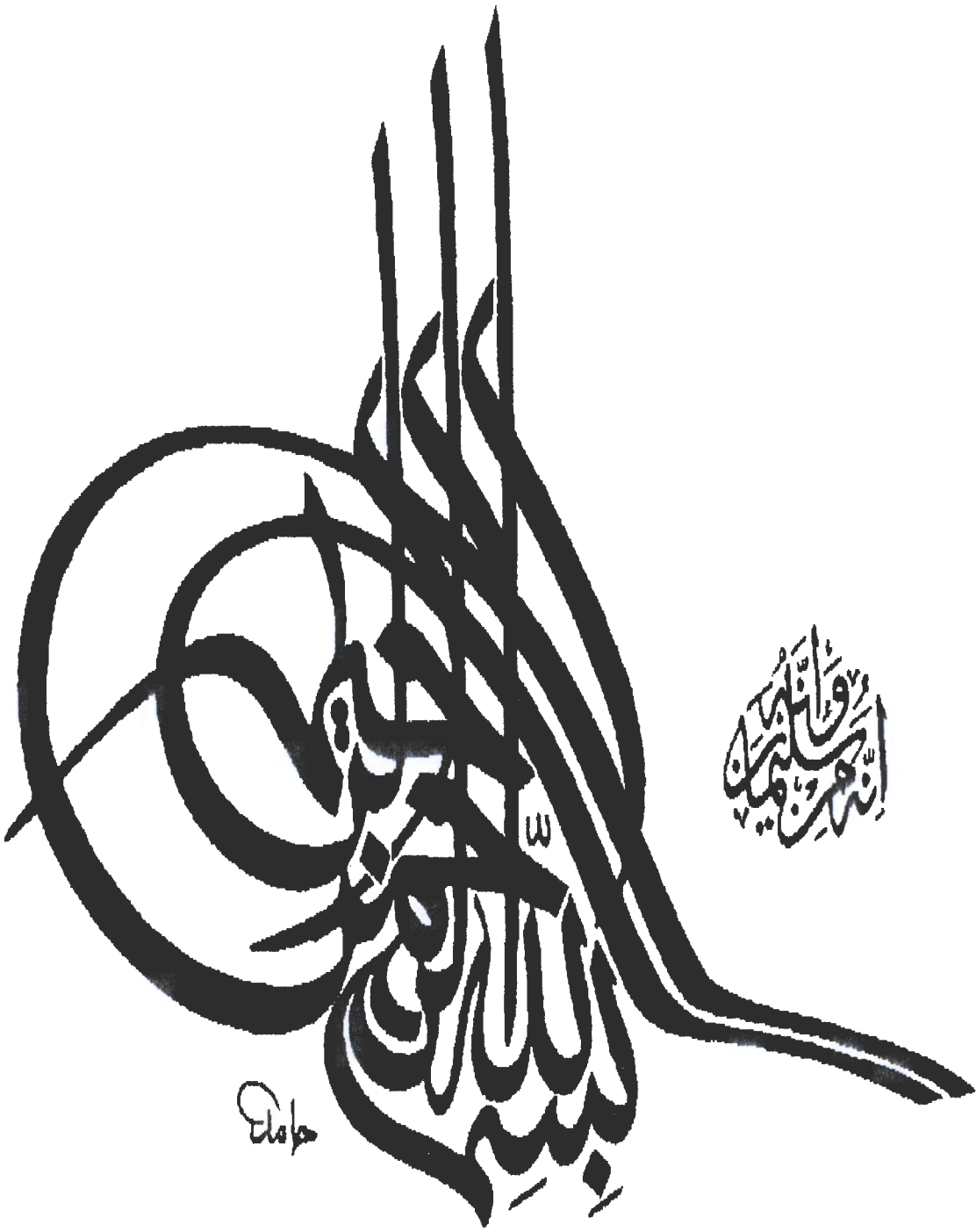
Présenté par :

SIFFOUR Nadjet

BENBRIKA Farida

ZELliche Hacina

Septembre 2002



الله أكبر
الله أكبر
الله أكبر

Ela



Remerciements



Nous tenons à remercier Mr-LAHOUEL Mesbah
d'avoir accepté de diriger ce travail.

Nous remercions également l'équipe du laboratoire
de biologie pour leur aide et leur soutien.

Nos remerciements s'adressent aussi aux membres
du personnel du laboratoire central de l'hôpital de Jijel.

Enfin nous remercions tous les enseignants de
l'institut de biologie.



Sommaire

Chapitre I: Introduction	1
Chapitre II : Analyse bibliographique	2
II-1- physiopathologie de l'hémostase	2
II-1-1- L'hémostase primaire	2
• Les éléments intervenants dans l'hémostase primaire	2
II-1-2- la coagulation	2
II-1-3- la fibrinolyse	4
II-2- les substances qui ont une influence sur l'hémostase	4
II-3- les tests d'exploration de l'hémostase	5
II-4- les algues marines	7
Chapitre III : Matériels et Méthodes	9
III-1- Evaluation de l'activité pharmacologique des extraits d'algues in vivo	9
III-1-1- Matériels	9
III-1-1-1- prélèvement des échantillons	9
A-Matériel végétal	9
• Préparation des extraits d'algues marines	9
B-Matériel Animal	9
• Les animaux	9
• Traitement des animaux	9
• Prélèvement du sang	10
III-1-2-Méthodes	10
• Comptage des plaquettes	10
• Mesure du taux de prothrombine (TP)	11
• Dosage du fibrinogène plasmatique	11
• Mesure de la rétraction du sang	12

III-2-Evaluation de l'effet pharmacologique des extraits d'algues in vitro.	12
• Evaluation de l'effet anticoagulant	13
• Evaluation de l'effet fibrinolytique	14
Chapitre IV : Résultats	15
IV-1- résultats d'études in vivo	15
• Evaluation le comptage des plaquettes	15
• Evaluation le taux de prothrombine	16
• Evaluation le dosage du fibrinogène plasmatique	18
• Evaluation de la rétraction du sang	20
IV-2- résultats d'étude in vitro	20
Chapitre V- Discussion	21
Chapitre VI- Conclusion	22
Bibliographie	23

INTRODUCTION

I- Introduction

La médecine populaire, tout particulièrement dans nos campagnes, utilise toujours et largement les plantes médicinales. La consommation à l'officine, aussi bien qu'à l'hôpital est également très importante.

L'action des différentes plantes médicinales est due à certains composants élaborés par la plante appelés « principes actifs ou substances bio-actives » ; ces principes actifs sont des composants naturellement présents dans cette plante et qui lui confèrent son activité thérapeutique.

De nombreux médicaments renferment des principes actifs extraits des plantes, par exemple la coumarine que l'on retrouve dans le mélilot entre dans la composition de nombreux médicaments anticoagulants. [10]

Parmi les plantes dites médicinales, les algues marines occupent aujourd'hui une place importante en médecine. Les algues sont des végétaux classées selon leur couleur en 3 types : Algues Vertes, brunes et rouges ; elles sont très riches en protéines, les polysaccharides, et les minéraux. [11]

Des recherches ont été faites sur différentes substances ayant une influence sur l'hémostase, la plupart de ces substances sont des anticoagulants (héparine), des antiagrégant (aspirine) mais sans aucun effet sur la lyse d'un caillot sanguin. Dans notre travail nous essaierons de rechercher l'effet des extraits d'algues sur l'hémostase et ce par la vérification de leur effet anticoagulant ou fibrinolytique. Cette influence est évaluée par la détermination de quatre paramètres : comptage des plaquettes, rétraction du sang, dosage du fibrinogène et la mesure du taux de prothrombine.

Analyse Bibliographique

II- Analyse bibliographique

II-1- Physiopathologie de l'hémostase :

L'hémostase est l'ensemble des mécanismes physiologiques permettant d'arrêter une hémorragie. [1]

II-1-1- l'hémostase primaire est la formation d'un caillot plaquettaire (thrombus blanc) suite à :

L'adhésion des plaquettes circulant au sous endothélium, et l'activation des plaquettes qui libèrent le contenu de leur granules.

En fin à l'agrégation des plaquettes entre elles pour former le thrombus blanc [14].

- Les éléments intervenants dans l'hémostase primaire

.a. la paroi vasculaire : constituée par les cellules endothéliales et cette dernière contient les fibres de collagène qui participent à l'adhésion plaquettaire [2] .

.b. les plaquettes : ce sont les élément les plus importants dans l'hémostase primaire, la diminution de leur nombre (<100 000/ml) entraîne des **thrombopénies**. Leur membrane plasmatique présente des glycoprotéines qui jouent un rôle essentiel dans l'adhésion plaquettaire (glycoprotéine Ib), et dans l'agrégation (glycoprotéine IIb, IIIa) [2] .

En cas de déficit en glycoprotéine Ib, les plaquettes n'adhèrent pas au collagène et ne fixent pas le facteur willebrand.

.c. Facteur willebrand : Il est nécessaire a l'adhésion des plaquettes au collagène [1].Tout anomalie de ce facteur empêche le phénomène d'adhésion des plaquettes, donc une maladie hémorragique[5] .

II-1-2- La coagulation :

C'est le passage du sang de l'état liquide à l'état de gel, par transformation d'une protéine soluble (le fibrinogène) en une protéine insoluble (la fibrine) [2] .

.a. les facteur de la coagulation :

La dénomination usuelle	Nomenclature international
Fibrinogène	I
Prothrombine	II
Thromboplastine tissulaire	III
Calcium	IV
Pro-accelirine	V
Pro-convertine	VII
Antihemophilique A	VIII
Antihemophilique B	IX
Stuart	X
F.rosenthal	XI
F.hagemann	XII
Facteur stabilisant la fibrine	XIII

Tout anomalie d'un ou de plusieurs de ces facteurs serait responsable de la maladie de **coagulopathie**.

La thrombophlébite est l'inverse de la coagulopathie caractérisée par la présence d'un taux élevé d'un des facteurs ou l'absence d'un des inhibiteurs de la coagulation-[5]

Un cas particulier c'est la présence d'anticorps anti-prothrombinase et anti prothrombine au cours des maladies auto- immunes.

.b. Mécanisme de la coagulation : elle comporte deux phase :

- La formation de la thrombine : c'est la transformation de prothrombine en thrombine sous l'action de la prothrombinase.
- La formation de la fibrine : c'est la transformation de fibrinogène en fibrine sous l'action de thrombine.[1]

.c. Les Inhibiteurs : les plus connus sont :

- L'antithrombine III : inhibe la thrombine .
- Protéine c et son cofacteur protéine S (vit K dépendant.) dégradent les facteurs actifs apparues au cours de la coagulation.

Il y a aussi l' α -macroglobuline et l' α_1 antitrypsine . [14]

II-1-3-La fibrinolyse :

Processus physiologique qui assure la disparition des caillots de fibrine [1]

.a. Les facteurs de la fibrinolyse :

- * Le plasminogène : il a la propriété de se lier étroitement a la fibrine.
- * La plasmine : capable de découper le caillot en fragments (produit de dégradation de la fibrine) qui seront éliminés dans la circulation.

- Les activateurs du plasminogène :

-Le TPA (tissu plasminogen activator) se fixe de façon spécifique sur la fibrine, caillot hémostatique , donc la fibrine est un inducteur de l'activité fibrinolytique .

-L'urokinase, et la pro-urokinase [1]

.b. Les inhibiteurs : Les plus connus sont :

- * L' α_2 antiplasmine : inactive la plasmine.
- * L' α_2 macroglobuline :inhibiteur important de la plasmine .
- * La C₁ inactivateur : inhibe l'activation du plasminogène .

.c. Les pathologies de la fibrinolyse :

- **Hyper-fibrinolyse** : les caillots se dissolvent avant la réparation tissulaire avec syndrome hémorragique liée a une libération massive de tpa.
- **hypo-fibrinolyse** : liée essentiellement à une production accrue de tpa, environ 40% de thromboses spontanées [14] ,

II-2 - Les substances qui ont une influence sur l'hémostase

.1. L'héparine, est un polysaccharide de type glycosaminoglycane. Il inhibe la coagulation par l'accélération de l'inactivation de plusieurs serines protéases XII_a, XI_a, IX et II_a) [3] .

.2. La vit K (phylloquinase), est un antihémorragique intervient dans la synthèse hépatique de la prothrombine .

La diminution de vit K entraîne l'allongement du temps de coagulation-[4]

.3. certains médicaments peuvent inhiber toutes les fonctions plaquettaires :

-**L'aspirine** (acide acétylsalicylique), inhibe in-vitro ou après administration in vivo les fonctions plaquettaires de sécrétion et d'agrégation. Elle inhibe le site actif de la cyclo – oxygenase en l'acétylant . Il s'agit d'une liaison covalente irréversible . elle acétyle également le fibrinogène et par ce mécanisme , augmente l'activité des médicaments fibrinolytiques. A doses élevées, elle peut également diminuer le taux de prothrombine et prolonger le temps de saignement. [3]

- **La ticlopidine** dérivée des thiénopyridines est un inhibiteur original, inhibe l'agrégation plaquettaire et la libération de diverses substances par les plaquettes, elle agit non pas en inhibant les cyclooxygénase mais en s'opposant aux effet de l'ADP. [3]

- **Le paracétamol** produit des troubles de l'hémostase caractérisés par une déficience aigue évolutive des facteurs de la coagulation ce qui peut être dangereux en cas d'association de ce médicament avec des anticoagulants.

4- Les venins, notamment les venins de serpent sont des mélanges complexes des protéines (plus d'un millier dans un venin) qui chacune, possède une activité biologique spécifique pour le mécanisme hémostatique, les venins de serpent exercent des effets activateurs ou inhibiteurs, par exemple :

- **le convulexine** : est un activateur plaquettaire

le bothrojaracine (découvert dans le venin de nathrops jararaca) est un inhibiteur de la thrombine .[13].

II-3- Les tests d'exploration de l'hémostase :

Les informations biologiques fournies aux cliniciens pour assurer un diagnostic ou suivre un traitement doivent être fiables, d'autant qu'elles sont quantitatives et qualitatives.

II-3-1- Exploration de l'hémostase primaire :

- **Numération des plaquettes** : les valeurs normales sont comprises entre 150,000 et 400,000 par micro litre.
- **Le temps de saignement** : est le délai nécessaire au sang de coaguler après une

incision standard.

Les valeurs normales sont comprises entre 4 et 8 min

- **La rétraction du caillot :** il consiste à apprécier la thrombothénine plaquettaire qui, dans la phase terminale de la formation du clou plaquettaire, entraîne la rétraction du caillot de fibrine. [5]

II-3-2- Exploration de la coagulation :

* Les testes globaux :

- **Le temps de coagulation sanguin :** test consiste a mesurer la vitesse de coagulation du sang total, la valeur normale à 37 c° est inférieur 2 a 10 minutes.
- **Le temps de coagulation plasmatique :** c'est le temps de recalcification du plasma (temps de Hawell) Les valeurs normales sont comprises entre 1 min 30 sec et 2 min 30 sec. [5]

* Les testes semi-analytique :

- **Temps de quick :** c'est la mesure du temps de coagulation d'un plasma citraté en présence d'extrait tissulaire ou phospholipides tissulaires et de chlorure de calcium. . [5]

Il explore les facteur VII X V II et I , les valeurs normales entre 11 et 14 secondes.

- **Temps de thrombine :** c'est le temps de coagulation d'un plasma citraté en présence de thrombine, les valeurs normales sont comprises entre 20 et 25 sec, ce teste est perturbé par les anomalies du fibrinogène et la présence éventuelle d'héparine dans le plasma. . [5]
- **Temps de céphaline- kaolin :** c'est le temps que met un plasma citraté a coaguler en présence de céphaline et de kaolin lorsqu'on ajoute du chlorure de calcium. La céphaline, qui est un phospholipide fournit l'équivalent du facteur II plaquettaire le Kaolin assure l'activation du facteur XII et XI les valeurs d'un plasma témoin entre 40 et 50 sec. . [5]

* Les tests analytiques :

- **Dosage du fibrinogène :** S'effectué par pesée d'un caillot plasmatique ou par dosage des protéines après dissolution de ce caillot le taux sanguin du fibrinogène chez un adulte normal, est de 3 a 4 g/l. [5]



II-4- Les Algues marines :

Les plantes médicinales sont divisées en 2 grandes catégories, plantes terrestres et plantes marines. Les plantes d'origine terrestre ont été toujours utilisées à titre curatif thérapeutique, préventif ou diagnostique par contre l'utilisation des plantes d'origine marine constitue un terrain plus ou moins vierge aux investigations. [9].

L'algue végétale chlorophyllienne sans racine, ni vaisseau, vit dans la mer, l'eau douce ou l'air humide.

L'algue marine sans fleur ni sève, ni racine possède pourtant les mêmes cellules que les plantes terrestres.

- Classification des algues :

on distingue deux grandes catégories d'algues :

les micro algues, organismes unicellulaires et macro-algues, végétaux macroscopiques, généralement fixés sur les fonds marins.

Il existe trois grandes catégories d'algues macroscopiques caractérisées par l'état pigmentaire de ces végétaux : les algues brunes, rouges et vertes.

a- embranchement des chlorophytes (ou algues vertes) des eaux douces et eaux marines à chlorophylles a et b elles possèdent de l'amidon, comme les plantes supérieures elles vivent en surface ou à très faible profondeur.

Il existe 8000 espèces (ex : *Ulva lactuca*).

b- Embranchement des phéophytes (ou algues brunes) eaux marines, chlorophylles a + c + fucosanthine + caroténoïdes très abondants. Elles peuvent descendre plus profondément que les algues vertes (*Ascophyllum nodosum*).

c- embranchement des rhodophytes (ou algue rouge)

eaux douces et eaux marines, chlorophylles a + b + phycobilines algues des profondeurs (ex : *Chondrus crispus*). [11].



Photo 1. Ulva lactuca



Photo 2. Ascophyllum nodosum



Photo 3. Chondrus crispus

Matériel

et

Méthodes

Chapitre III: Matériel et Méthodes:

III-1- Evaluation in-vivo de l'activité pharmacologique des extraits d'algues marines :

III-1-1 MATERIELS :

III-1-1-1 Prélèvement des échantillons :

A- Matériel végétal

Nous avons utilisé 3 types d'algues marines, algues vertes, rouges et brunes. Ces algues sont prélevées à partir de la région d'EL-AOUANA et transportées jusqu'au laboratoire de l'université.

L'extraction est réalisée sur des algues fraîches et séchées puis broyées.

Dans notre étude nous avons utilisé quatre extraits d'algues marines déjà préparés par un autre groupe de travail (travaillant dans le même laboratoire).

1-l'extrait d'algues vertes, l'extraction dans le solvant benzène

2-l'extrait d'algues rouges, l'extraction dans le solvant benzène

3-l'extrait d'algues brunes, l'extraction dans le solvant benzène

2-l'extrait d'algues brunes, l'extraction dans le solvant éthanol.

La dose de l'extrait d'algues : 1 g d'extrait d'algues diluée dans 5 ml d'eau distillée

B- Matériel animal

Les expériences sont réalisées sur des Rats (mâles et femelles) de souches wistar albinos.

a- traitement des animaux :

nous avons utilisé 15 rats pour l'étude, et sont repartis en 5 lots chaque lot contient 3 rats.

* 1^{er} lot (témoin) : 3 rats reçoivent 1,5 ml l'eau distillée.

- 2^{em} lot (traité) : 3 rats reçoivent dans les mêmes conditions 1,5 ml d'extrait d'algues verts

* 3^{em} lot (traité) : 3 rats reçoivent 1,5 ml d'extrait d'algues rouges.

* 4^{em} lot : 3 rats reçoivent 1,5 ml l'extrait d'algues brunes (benzène)

* 5^{em} lot : 3 rats reçoivent 1 ml l'extrait d'algues brunes (éthanol)

- **Voies d'administration des extraits :** l'extrait d'algues administré par voie orale a l'aide d'un gavage gastrique (seringue munies d'un catheter en plastique

b- prélèvement de sang :

le sang est prélevé dans des tubes citratés (pour le taux de prothrombine, et le dosage de fibrinogène) ,dans des tubes secs (pour la rétraction du sang), et des tubes contenant l' EDTA (pour le comptage des plaquettes) dans un rapport 1/10.

- le sang prélevé dans les tubes citratés (1 volume de citrate trisodique à 3,8% pour 9 volumes de sang) est centrifugé à 2500 tours/min pendant 10 minutes. Les plasmas obtenus sont utilisés immédiatement ou congelés.

III.1-2- METHODES :

L'influence des quatre extraits d'algues marines sur l'hémostase (la coagulation du sang) est évaluée par la détermination de quatre paramètres : - la numération des plaquettes, le taux de prothrombine, le dosage de fibrinogène et la rétraction du sang. L'étude de ces paramètres s'effectue sur de sang prélevé après 3 jours et 8 jours de l'administration des extraits.

A- comptage des plaquettes :

- **Principe :**

La numération des plaquettes peut se faire d'une façon automatique ou manuelle, dans ce cas la numération est fait au microscope optique après la lyse les globules rouges et blancs par le liquide de dilution (procaïne) [6].

- **mode opératoire :**

nous avons prélevé le sang dans un tube en plastique contient l'anticoagulante (1 volume EDTA pour 9 volume de sang)

On réalise une dilution du sang 1/100 (sang + procaïne à 3%) après 30 minutes , le sang dilué est déposé dans une cellule de comptage (cellule de thomas) recouverte par une lamelle.

On laisse la cellule 15 minutes avant de faire la lecture pour la sédimentation des plaquettes puis on compte les plaquettes au microscope optique a l'objectif 40.

- **calcul :**

le calcul dans un mm^3 de sang : $n \times 100 \times 10 = N \text{ plaquettes}/\text{mm}^3$

n : le nombre trouvé

100 : la dilution

10 : nombre de bandes

les valeurs normales sont comprises entre $(150-400) \times 10^3/\text{mm}^3$

B- mesure du taux de prothrombine (TP) :

Elle est réalisée à l'aide de Kit et selon la méthode de Bio-Maghreb.

- **principe :**

le temps de quick : c'est la mesure du temps de coagulation ou de transformation de prothrombine en thrombine en présence de thromboplastine et du Ca^{++} ainsi que les facteurs V, VII, II, X.

le taux de prothrombine c'est le pourcentage du temps de quick. [8]

- **mode opératoire :**

préparation de réactif : on ajoute à la poudre le solvant (4ml) et on agite délicatement jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. La conservation est de 30 minutes à $+4^\circ$.

nous avons prélevé le sang sur citrate trisodique (3,8%) (1 volume d'anticoagulant pour 9 volumes du sang).

On porte préalablement la thromboplastine au bain marie à 37°C . après la centrifugation, on dépose 100ul de plasma citraté dans un tube qu'on laisse au bain marie pendant 2 minutes. Puis on ajoute 200ul de thromboplastine au plasma, au même moment on déclenche le chronomètre. On agite le mélange à l'aide d'un crocher jusqu'à l'apparition d'un caillot. le temps d'apparition du caillot est le temps de quick.

A l'aide d'un tableau joint dans le Kit on peut déterminer le taux de prothrombine. Les valeurs usuelles dans un sujet normal sont de (70-100)%.

c- Dosage du fibrinogène.

- **principe :**

en présence de concentration élevées de thrombine et de concentration faible de fibrinogène, le temps de coagulation d'un plasma citraté est proportionnel au taux de fibrinogène.

- **Mode opératoire :**

Préparation de réactif : on ajoute a la poudre (réactif 1) 2 ml eau distille . on laisse la solution 30 minutes à une température de 18c°-25°c .

On porte préalablement le reactif1 (thrombine calcique) dans un tube au bain marie à 37°c. on met 200ul de plasma à tester (le plasma est dilué au 1/10 en reactif2) dans un tube au bain marie à 37°c. après l'incubation d'une minute on ajoute 200ul de réactif 1 (thrombine calcique) en plasma, au même temps on déclenche le chronomètre. On agit le mélange a l'aide d'un crocher jusqu'à l'apparition d'un mince filament . on note le temps de coagulation, à l'aide d'un tableau joint dans le Kit on peut déterminer le dosage de fibrinogène. Les valeurs normales sont comprises entres 2 et 4,5 grammes de fibrinogène par litre de plasma.

D-Mesure de la rétraction du sang :

- **Principe :**

Il consiste à apprécier la thrombosthenine plaquettaire qui dans la phase terminale de la formation du clou plaquettaire [6]

- **Mode opératoire :**

On prélève le sang sur tubes secs. Puis on place les tubes au bain -marie à 37°c . après la coagulation totale et après l'incubation de quatre heures à 37°c, on examine le degré de rétraction (totale-partielle -nulle).

III-2- Evaluation de l'effet pharmacologique des extraits d'algues marines in-vitro :

Nous avons utilisé 12 extraits d'algues déjà préparés par un autre groupe de travail, l'extraction est faite dans des différents solvants comme suit :

- 1-Algue verte dans l' éthanol
- 2-Algue verte dans le méthanol
- 3-Algue verte dans le benzène
- 4-Algue verte dans le chloroforme
- 5-Algue rouge dans l' éthanol
- 6-Algue rouge dans le méthanol
- 7-Algue rouge dans le benzène

8-Algue rouge dans le chloroforme

9-Algue brune dans l' éthanol

10-Algue brune dans le méthanol

11-Algue brune dans le benzène

12-Algue brune dans le chloroforme

Pour le sang on utilise le sang des rats normaux

- **la méthode de travail :**

nous avons déterminé l'effet anticoagulant et fibrinolytique en présence d'extrait d'algue marine

a- Evaluation de l'effet anticoagulant :

on prélève le sang sur des tubes contenant l'extrait d'algue

tubes	Extrait d'algue marine (ml)	Sang (ml)
1	0,5 ml extrait d'algue vert (éthanol)	+ 2 ml
2	0,5 ml extrait d'algue vert (méthanol)	+ 2 ml
3	0,5 ml extrait d'algue vert (benzène)	+ 2 ml
4	0,5 ml extrait d'algue vert (chloroforme)	+ 2 ml
5	0,5 ml extrait d'algue rouge (éthanol)	+ 2 ml
6	0,5 ml extrait d'algue rouge (méthanol)	+ 2 ml
7	0,5 ml extrait d'algue rouge (benzène)	+ 2 ml
8	0,5 ml extrait d'algue rouge (chloroforme)	+ 2 ml
9	0,5 ml extrait d'algue brune (éthanol)	+ 2 ml
10	0,5 ml extrait d'algue brune (méthanol)	+ 2 ml
11	0,5 ml extrait d'algue brune (benzène)	+ 2 ml
12	0,5 ml extrait d'algue brune (chloroforme)	+ 2 ml

b- Evaluation de l'effet fibrinolytique :

on prélève le sang sur tubes secs , après la coagulation

on ajoute l'extrait d'algue pour observer l'effet fibrinolytique.

tubes	Sang (ml)	Extrait d'algue marine (ml)
1	+ 2 ml	0,5 ml extrait d'algue vert (éthanol)
2	+ 2 ml	0,5 ml extrait d'algue vert (méthanol)
3	+ 2 ml	0,5 ml extrait d'algue vert (benzène)
4	+ 2 ml	0,5 ml extrait d'algue vert (chloroforme)
5	+ 2 ml	0,5 ml extrait d'algue rouge (éthanol)
6	+ 2 ml	0,5 ml extrait d'algue rouge (méthanol)
7	+ 2 ml	0,5 ml extrait d'algue rouge (benzène)
8	+ 2 ml	0,5 ml extrait d'algue rouge (chloroforme)
9	+ 2 ml	0,5 ml extrait d'algue brune (éthanol)
10	+ 2 ml	0,5 ml extrait d'algue brune (méthanol)
11	+ 2 ml	0,5 ml extrait d'algue brune (benzène)
12	+ 2 ml	0,5 ml extrait d'algue brune (chloroforme)

Résultats

IV – RESULTATS :

IV-1 Résultats de l'étude in-vivo :

Notre étude de l'effet des extraits d'algues marines sur l'hémostase , comporte une analyse hématologique et hémostatique de sang , après 3 jours et 8 jours de l'administration . nous avons étudié quatre paramètres pour évaluer l'effet des extrait.

IV-1-1 Evaluation du comptage des plaquettes :

Tableau 1 : évaluation le nombre des plaquettes après 3 et 8 jours de traitement

	Témoin	Lot traité par l'extrait dans le solvant benzène			Lot traité par l'extrait dans le solvant éthanol
	Eau distillée	Algue verte	Algue rouge	Algue brune	Algue brune
Nombre des plaquettes après 3 jours ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	776 \pm 74	589 \pm 137	725 \pm 95	695 \pm 57	669 \pm 94
Nombre des plaquettes après 8 jours ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	776 \pm 74	523 \pm 19	474 \pm 40	400 \pm 45	550 \pm 97

Nous avons constaté dans ce tableau une diminution légère du nombre du plaquette par rapport au témoin . Cette diminution ne change pas après 8 jours.

IV -1-2- Evaluation du taux de prothrombine :

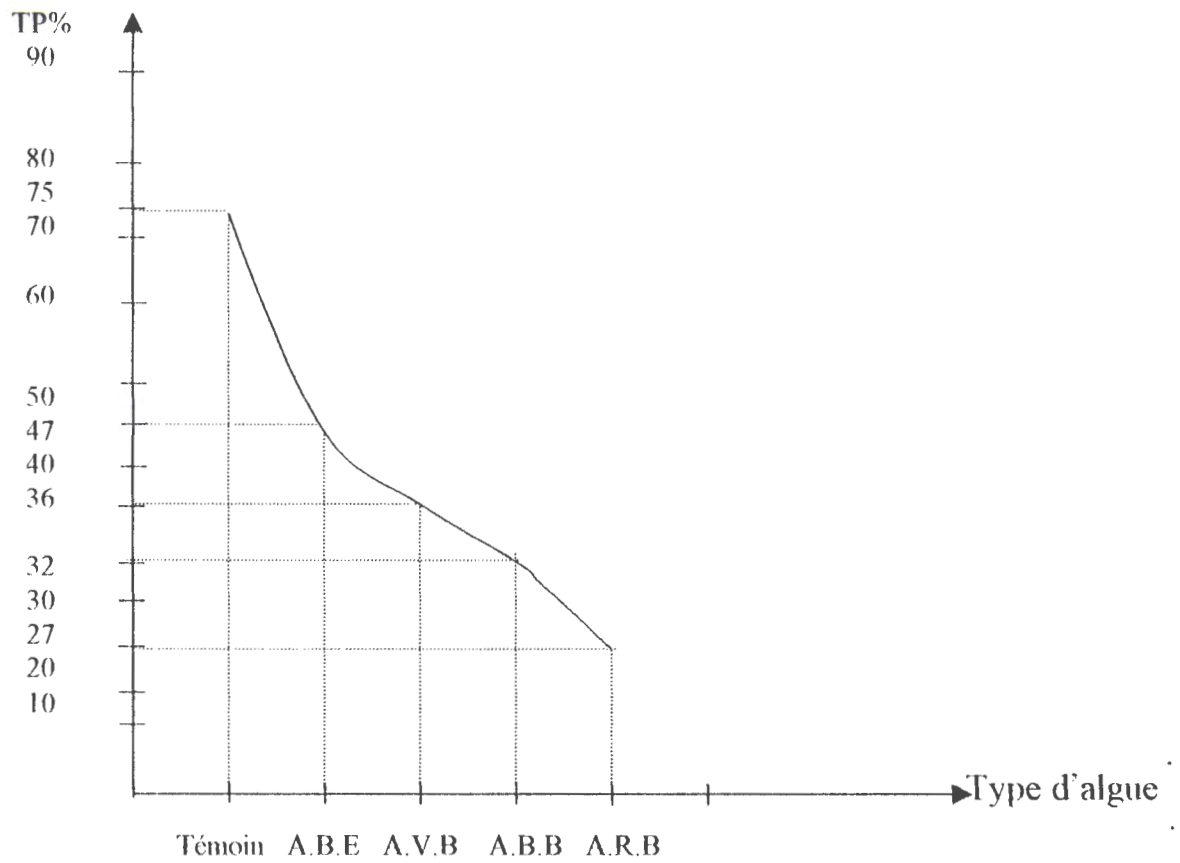


Fig1 : courbe représentant les variations du taux de prothrombine après 3 jours de traitement.

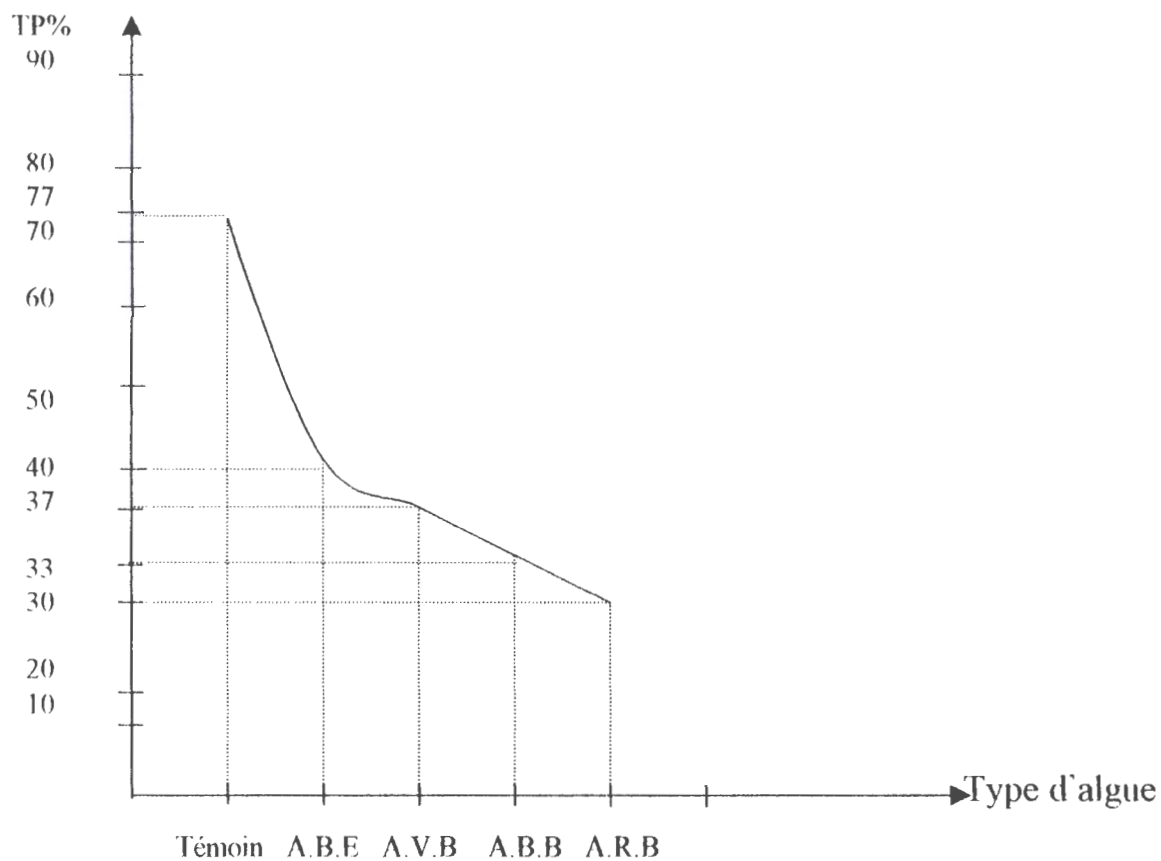


Fig2 : courbe représentant les variations du taux de prothrombine après 8 jours de traitement.

A.B.E : extrait d'algue brune, le solvant éthanol

A.V.B : extrait d'algue verte, le solvant benzène

A.B.B : extrait d'algue brune, le solvant benzène

A.R.B : extrait d'algue rouge, le solvant benzène

Le traitement par l'extrait d'algue modifie le taux de prothrombine . on observe une diminution du taux de prothrombine après 3 jours de traitement, et les même résultats après 8 jours par rapport au témoin.

Le taux est diminué de 27% lorsque le traitement est effectué par l'extrait d'algue rouge (benzène).

IV-1-3- Evaluation du dosage du fibrinogène plasmatique :

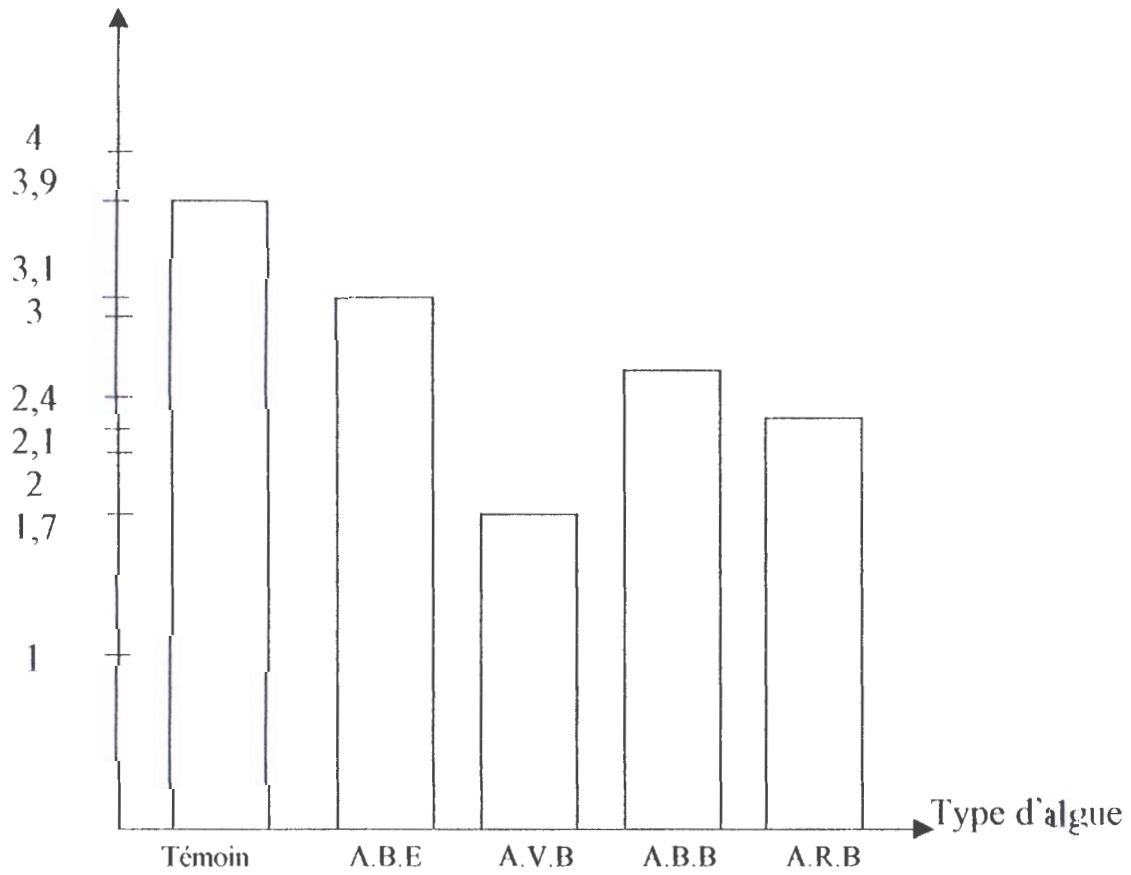


Fig 3 : histogramme représentant les variations du fibrinogène après 3 jours de traitement par l'extrait d'algue marine.

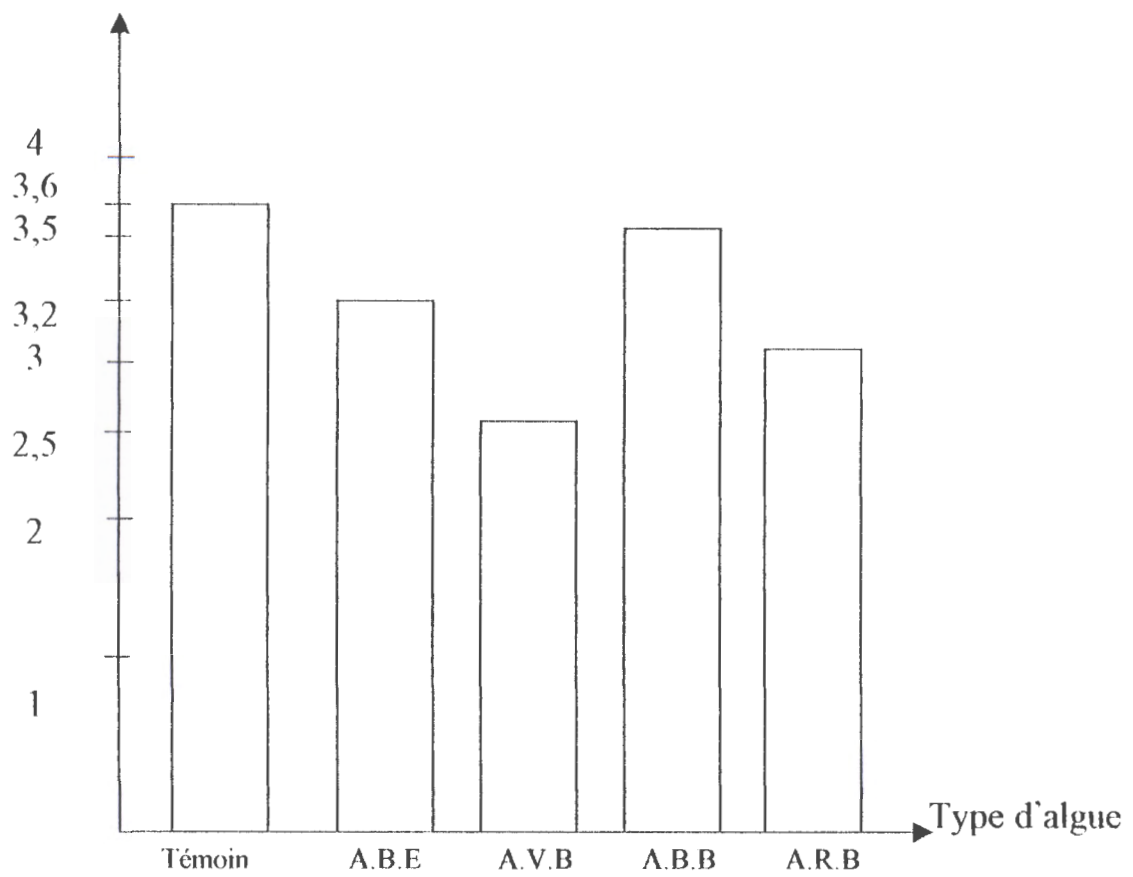


Fig4 : histogramme représentant les variations du fibrinogène après 8 jours de traitement par l'extrait d'algue marine.

Après 3 jours et 8 jours les résultats de dosage du fibrinogène plasmatique se trouvent dans la normale par rapport au témoin et les valeurs usuelles.

		Après 3 jours	Après 8 jours
		totale	totale
		totale	Totale
		totale	Totale
		totale	Totale
Algue brune (éthanol)		totale	Totale

Dans ce tableau nous n'avons observé aucun effet des extraits d'algues sur la rétraction du sang.

IV-2- Résultats d'étude in-vitro :

Après 6 heures on observe :

Une coagulation partielle (c'est à dire un petit caillot) dans tous les tubes qui contiennent l'extrait avant le prélèvement du sang et aucun effet dans les tubes qui contiennent l'extrait après la coagulation du sang . Ces résultats montrent que les extraits d'algues marines sont des anticoagulants par contre ils n'ont aucun effet fibrinolytique.

Discussion

et

Conclusion

V- Discussion :

-le monde végétal a toujours suscité des recherches en matière des nouvelles molécules chimiques naturelles et pharmacologiquement actives. Des milliers de plantes en sont des sources peu exploitées, parmi lesquelles figurent les algues marines. Ces algues sont très riches en protéines et en polysaccharides. Elles renferment des compositions métaboliques secondaires ayant des effets biologiques actives même contre le cancer [7].

D'autres études effectuées sur les algues ont permis de déterminer leur rôle important dans le domaine médical : dans le traitement des tumeurs, la coagulation du sang (thrombose), en plus ils ont un effet antimicrobien, antiviral atoxique et même des effets sur les réactions immunitaires [12].

Dans les différents lots traités par l'extrait d'algue marine , nous avons enregistré une diminution légère du nombre des plaquettes par rapport au témoin après 3 et 8 jours de traitement.

On constate une diminution du taux de prothrombine surtout chez les rats traités par les substances algales extraites dans le benzène. Cette diminution peut entraîner des risques hémorragiques. Les résultats ne changent pas après 8 jours. Par contre les valeurs du dosage de fibrinogène plasmatique et la rétraction du sang restent dans les limites de la normale.

Donc l'extrait d'algue marine agit négativement sur le taux de prothrombine (sur certains facteurs de la coagulation) et aucun effet sur dosage de fibrinogène plasmatique et la rétraction du sang et sur la lyse d'un caillot sanguin. Les extraits d'algues marines sont des anti- coagulants . Notre étude in-vitro montre clairement cet effet , puisqu'on a

observé une inhibition de la coagulation du sang dans les tubes contenant au préalable les extraits d'algues marines.

VI- la conclusion :

Les algues marines ont une très bonne réputation dans les applications cosmétologiques mais elles demeurent moins connues dans le domaine pharmaceutique.

Nous nous sommes alors intéressés dans notre étude à la description des algues de la côte Jijélienne et surtout à rechercher des effets hémostatiques des substances extraites de ces algues.

Les résultats que nous avons obtenu nous ont permis de :

- dénombrer 12 espèces d'algues vertes rouges et brunes.

-et de montrer que ces extraits provoquent une modification de deux paramètres (le nombre des plaquettes et le taux de prothrombine). On note aussi qu'il y a un effet anticoagulant ou anti-thrombotique sur le sang, mais la capacité de la lyse d'un caillot sanguin est nulle. Qu'elle est la substance bio active des algues qui a influence sur la coagulation du sang ?. pour ce la il faut faire des recherches sur la purification et identification de la substance anticoagulante qui est présente dans les algues.

Bibliographie

- [1]- Sultan-C, Gouault-M H, Imbert-M : Aide mémoire d'hématologie, eds Flammarion (5^{em} édition),1996,pp359 .
- [2]- Bernard.J, Levy.J.P, Varet.B, Rain.J.D,Sultan.Y : Hématologie , eds Masson (7^{em} édition),1990,pp346 .
- [3]- Schorederet-M : Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques , eds Frison-Roche (3^{em} édition),1989,pp918 .
- [4]- Domart.A et Bourneuf.J : Larousse médical ,1990,pp1142 .
- [5]- Farida.M :Manuel d'hémostase , eds OPU,1993,pp205 .
- [6]- Khodja.M.A et Bouzerara.H : Contribution à l'étude de l'hémostase : Aspects théorique et pratique ,Mémoire de DUEA , analyse biologique et biochimique (université Constantine),2000 .
- [7]- BAHA.A et AKKAL.R : Etude Biochimique de deux espèces d'algues marines de l'Est Algérien, Mémoire de DES en biochimie (université de Constantine),1999 .
- [8]- Benchkit.N : Intérêt de la courbe d'étalonnage dans l'exploration du TP taux de prothrombine à partir d'un pool plasmatique, mémoire de TSS en biologie clinique (Jijel),2000 .
- [9]- LAHOUEL-M « recherche des substances bio-actives à partir de plante médicinales terrestres et marines (Jijel),2001.
- [10]- [WWW.entraco.com](http://www.entraco.com) / santé, les plantes / principes actifs.
- [11]- [http:// perso, wanadoo.Fr / lemscl / bretagne t-merveilles / alg.htm](http://perso.wanadoo.fr/lemscl/bretagne-t-merveilles/alg.htm).
- [12]- [http://www.Fao.Org / docrep /XO169F /XO169FO4.htm](http://www.Fao.Org/docrep/XO169F/XO169FO4.htm) .
- [13]- www.google.fr/larecherche: les substances toxiques sur l'hémostase.
- [14]- [www.google.fr /la recherche](http://www.google.fr/la_recherche) :la definition de l hemostase .

Présenté par : <i>SIFFOUR Nadjet</i> <i>BENBRIKA Farida</i> <i>ZELLICHE Hacina</i>	Titre : Evaluation de l'influence des extrait d'algues marines sur l'hémostase	Date de soutenance: <i>Septembre 2002</i>
--	---	---

Résumé

Notre étude a été basée sur l'effet des extraits d'algues marines sur l'hémostase nous avons préparé des extraits a partir des trois espèces d'algues marines (verte. Brune et rouge).

Les extractions ont été faits dans quatre solvants : Ethanol. Méthanol, benzène et chloroforme. L'évaluation de leur effets sur l'hémostase a été réaliser in vivo (comptage des plaquettes, dosage du fibrinogène et mesure du temps de quick) et in vitro (par la détermination de la rétraction et la coagulation du sang).

Les résultats préliminaires montrent que les extraits d'algues marines possèdent un effet anticoagulant et incapable de lyser un caillot sanguin.

Mots clés : *Algues Marines, Hémostase- Rat Albinos- Extraction.*

ملخص

دراستنا تركزت على تأثير مستخلصات الطحالب البحرية على التجلط الدموي، حيث قمنا بتحضير المستخلصات من خلال 3 أنواع للطحالب البحرية (الخضراء، البنية، الحمراء)، والاستخلاص ثم في أربعة محاليل: الإيثانول، الميثانول، البنزين والكلوروفورم. وتقدير مدى تأثير هذه المستخلصات على التجلط الدموي تم داخل الكائن الحي (عدد الصفائح الدموية- تركيز الفيبرينوجان وحساب زمن كويك) وداخل الانابيب (تخثر الدم وحساب زمن التقلص). النتائج الأولية تثبت بأن مستخلصات الطحالب البحرية لها تأثير مانع للتجلط الدموي وغير قادرة على تحليل جلطة دموية سبق تشكيلها.

Summary

Our work has been based on the effect of marines algae excerpts on the hémostase us prepared excerpts from the three marines algae SPECIES (green. Brunette and red). extractions have been made in four solvents: Ethanol. Methanol, benzene and chloroform.

The assessment of their effects on the hemostase has been achieved in vivo (numbering of tablets, dosage of the fibrinogene and measure time the quick) and in vitro (by the determination of the retraction and the coagulation of blood).

The exploratory results show that the marine algae excerpts possess an effect anticoagulant, and incapable of lyser a blood clot.

