



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
STÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie animale

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Immunologie Moléculaire et Cellulaire

Intitulé :

**Evaluation de l'effet protecteur d'un extrait de lichen
contre l'hépatotoxicité induite par le diclofenac de
sodium chez le rat.**

Présenté et soutenu par : **BERREHAL Marouane**

Le : **04/07/2018**

Jury d'évaluation :

Président du jury : RAHMOUNE Houria (MAA – UFM Constantine)

Rapporteur : EL OUAR Ibtissem (MCA – UFM Constantine)

Examineurs : Mechatti Chahinez (MAA – UFM Constantine)

*Année universitaire
2017 - 2018*

DÉDICACE

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant

Qui m'a donné la force et la volonté

Pour que je puisse accomplir ce travail

Je tiens ici à dédier ce travail à

Ma mère, la lumière de mes yeux

Qui m'a énormément soutenu tout le long de ce parcours

À mon père

Qui m'a dirigé et conseillé tout le long de la formation

À mon cher frère Saïd

Mes chères sœurs : KARIMA-FADILA-SABAH-
NAIMA-KHADIDJA

Et tous mes amis et camarades

Qui m'ont beaucoup aidé et encouragé

Dans la préparation de ce mémoire

À tous les lecteurs de ce projet

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier Allah pour m'avoir donné force et courage et orienté vers le chemin de la connaissance.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à mon encadrante Melle EL OUAR Ibtissem pour son encadrement et pour sa pédagogie de diriger mon mémoire.

J'ai apprécié par ses compétences, sa méthode de travail, son enthousiasme et sa qualité de correction des documents scientifiques.

J'éprouve également du plaisir à souligner sa modestie sa patience, son esprit très ouvert sur les autres ses encouragements et son soutien permanent et qui a été toujours à l'écoute et prête à donner des conseils tout au long de ce travail.

Mes remerciements les plus sincères aux membres du jury.

Je remercie en particulier madame RAHMOUNE Houria d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance de projet de fin d'étude

Mes sincères remerciement s'adresse également à Melle MACHATE Chahinez qui m'a accordé le plaisir et l'honneur d'être l'Examinatrice de mon mémoire.

Je remercie également tous les membres du personnel de mon département de Biologie animale en particulier tous ceux qui m'ont enseigné durant toutes ses années d'études universitaires.

Je remercie les personnes qui m'ont particulièrement aidé au sein de notre département.

J'arrive au point où les mots ne suffisent plus pour exprimer ma gratitude à ma famille, mes parents qui enchantent ma vie, pour leurs éducation et le sacrifice qu'ils font toujours pour nous, leurs patience, amour, tendresse et générosité, leurs confiance et prières quotidiennes pour nous.

Enfin, je ne voudrais pas oublier mes amis, mes proches, tous ceux qui m'ont soutenu moralement et tous ceux qui m'ont encouragé pour réaliser ce modeste travail

Je vous remercie chaleureusement.

MERCI.....MERCI.....MERCI.....MERCI...

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	
LISTE DES FIGURES :	
1.Introduction :.....	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1. INFLAMMATION :	3
1.1. Définition :	3
1.2. Les types d'inflammation :	3
1.2.1. L'inflammation aiguë :	3
1.2.2. L'inflammation chronique :	3
1.3. Mécanisme :	4
1.3.1. La phase vasculaire :	5
1.3.2. La phase cellulaire :	5
2. Diclofénac :	7
2.1. Définition et structure :	7
2.2. Mécanisme d'action de diclofénac et effets pharmacologiques :	8
2.3. Les effets indésirables :	9
PARTIE PRATIQUE	11
1. MATERIELS ET METHODES	11
1.1. Matériels biologiques	11
1.1.1. Elevage des rats :	11
1.1.2. Le lichen :	11
1.2. Le diclofenac :	11
1.3. Préparation de l'extrait :	12
1.4. Traitement des rats :	12
1.5. Effet de l'extrait de lichen sur les marqueurs de lésions hépatiques :	12
1.5.1. Dosage de l'activité glutamyl-transférase (γ -GT) :	12
1.5.2. Dosage de l'activité de l'alanine-amino-transférase (ALT/ TGP) :	13
1.5.3. Dosage de l'activité de l'aspartate-aminotransférase (AST/ TGO) :	14
2. RESULTATS :	16
2.1. Changements morphologiques et comportementaux	16
2.2. Effet de traitement sur le poids des animaux :	16
2.3. Effet d'extrait de lichens sur les marqueurs de lésions hépatiques :	17
2.3.1. Effet du traitement sur l'activité de l'enzyme γ GT :	17

2.3.2. Effet du traitement sur l'activité de l'enzyme TGP :.....	18
2.3.3.Effet du traitement sur l'activité de l'enzyme TGO :.....	19
3. Discussion :	20
3.1. Effet de traitement sur la morphologie du foie et l'évolution du poids pondérale des rats :	20
3.1.1 Effet de l'extrait de lichen sur le foie :	20
3.2. Effet de différents traitement sur les marqueurs de lésions hépatiques :	20
3.2.1 Effet du diclofenac sur l'activité de l'enzyme γ GT :	20
3.2.2 Effet du diclofenac sur l'activité des transaminases :	21
3.2.3. Effet de l'extrait de lichen sur les marqueurs de lésions hépatiques (TGO, TGP, γ GT) :.....	21
4. Conclusion :	23
Références :	24

LISTE DES ABREVIATIONS

AINS	Anti-inflammatoire non stéroïdien.
ALAT/TGP	Alanine aminotrasférase.
APC	Celluls presentatrices d'antigenes
ASAT/TGO	Aspartate aminotransférase.
C3a	Complement component 3a.
C5a	Complement component 5a.
COX	Cyclo-oxygénase.
DAMPs	Damge Associated Molecular Patterns.
DC	Cellule dendritique.
DS	Diclofenac Sodique.
IL	Intrleukine 1,2.....
OMS	Organisation Mondiale de la Santé.
PAMPs	Pathogene Associated Molecular Patterns.
PGHS	Prostaglandine G/H Synthase 1,2.
PRR	Pattern Recognition Receptor.
Th	T helper.
γ GT	Gamma glutamul- transférase.

LISTE DES FIGURES :

Figure 1 : Les composants cellulaires et moléculaires réagissant lors de l'inflammation et la résolution.....	06
Figure 2 : la structure chimique de déclofinac sodique.....	08
Figure 3 : Les vois biochimiques dans le processus de l'inflammation et les points cibles des AINS.....	10
Figure 4 : Effet des différents traitements sur l'évolution du poids des rattes.....	16
Figure 5 : Effet de l'extrait de lichen sur l'activité de l'enzyme γ GT.....	17
Figure 6 : Effet de l'extrait de lichen sur l'activité de l'enzyme TGP.....	18
Figure 7 : Effet de l'extrait de lichen sur l'activité de l'enzyme TGO.....	19

INTRODUCTION

INTRODUCTION

1. Introduction :

Les plantes sont utilisées depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle. Selon l'OMS plus de 80% de la population mondiale à recours aux plants médicinales pour ces soins de santé primaire, en raison de l'insuffisances des soins de santé, le manque des médicaments essentiels et le cout élevé des médicaments (**Afton et Reena et 2018 ; Ma et al., 1997 ; Sandog, 2006**).

Les plantes médicinales contiennent de nombreuses molécules bioactives et des métabolites secondaires jouant un rôle important dans la recherche pharmacologique et la synthèse des médicaments. Les recherches ont montré que plus 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir des plantes de et 70% de nos médicament sont produits à base de ces molécules (**Ameenah, 2006 ; Chaabi, 2008**). Les lichens, appelés aussi champignons lichénisés ou champignon lichénisants, sont des organismes formés d'une symbiose entre au moins un champignon hétérotrophe appelé mycobionte, représentant 90 % de l'ensemble, et des cellules microscopiques possédant de la chlorophylle (algue verte ou cyanobactérie autotrophe pour le carbone) nommées photobiontes. Ces organismes sont capables de vivre dans des conditions environnementales très difficiles (**Toby et al., 2016**). Les lichens sont utilisés depuis des siècles en médecine traditionnelle, soit dans leur entièreté, soit sous forme d'extrait pour traiter les maladies respiratoires et digestives (**Gloaguen et al., 2015**).

Par ailleurs, la thérapie anti-inflammatoire est destinée à contrôler l'excès de réaction spécifique des tissus et à éviter la transformation de la phase aiguë de l'inflammation à phase chronique. Les anti-inflammatoires sont utilisés dans tous les domaines de la pathologie. Ils appartiennent à différentes des classes chimiques et sont souvent doués d'une activité antipyrétique et antalgique périphérique. Le mode d'action des anti-inflammatoires est purement symptomatique (**Simon, 2005**).

D'autre part, les réactions indésirables aux médicaments constituent une menace constante dans l'utilisation clinique. Une réaction indésirable se définit comme toute réponse nocive ou inattendue à un médicament se produisant lors de son administration à des doses appropriées ou non pour la prophylaxie, le diagnostic ou le traitement. (**Monfort , 2016**)

INTRODUCTION

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) représentent une classe thérapeutique très largement utilisée en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétique et antalgiques, il existe plus de 50 différents AINS sur le marché mondial, mais ces médicaments représentent également une source non négligeable d'effet secondaire par fois grave (**Nicolase et al., 2001**).

L'hépatotoxicité des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) demeure un problème majeur. L'incidence des atteintes hépatiques liées aux AINS est estimée entre 3,1 et 23,4 pour 100.000 patients traités par an : le diclofénac, le nimésulide et le sulindac présentent les causes majeures de l'hépatite toxique (**Aithal et Day, 2007**). La nature de l'hépatotoxicité des AINS est très polymorphe. En effet les AINS peuvent causer tous les types d'hépatopathies aiguës et/ou chroniques. Les hépatites aiguës (cytolytiques, cholestatiques ou mixtes) restent néanmoins les formes les plus prédominantes. Les deux principaux mécanismes de l'hépatotoxicité des AINS sont l'hypersensibilité immunologique et l'aberration métabolique qui est généralement associée à un polymorphisme génétique. (**Garcia et al., 1994**)

Cependant, l'objectif de notre travail est de tester l'existence d'un effet protecteur d'un extrait de lichen contre l'hépatotoxicité induite par le diclofénac, un des médicaments les plus utilisés pour traiter les douleurs chronique ou aigüe dans la population algérienne. L'effet protecteur est évalué sur un modèle d'hépatotoxicité induites chez le rat et à travers la mesure de l'activité des enzymes marqueurs de lésions hépatiques γ glutamyl-transpeptidase ou γ glutamyl-tranférase (γ GT), de l'alanine aminotransférase (ALAT) et de l'aspartate aminotransférase (ASAT).

Partie Bibliographique

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. INFLAMMATION :

1.1. Définition :

Le mot inflammation dérive du latin « inflammare » ou « inflamao » qui veut dire enflammer ou mettre en feu (**prag et al 2015**)

L'inflammation est un processus physiopathologique complexe qui se produit au niveau des tissus vascularisés, en réponse à une agression d'origine exogène (infectieuse, biochimique ou physique) ou endogène (trophique, tumorale ou autre). Cette réponse implique de nombreux médiateurs et différents types de cellules (**Véronique Marck, 2010 ; Delves et al., 2008**).

1.2. Les types d'inflammation :

Selon la durée de la réponse, l'inflammation peut être aiguë ou chronique

1.2.1. L'inflammation aiguë :

Se développe en quelques minutes et peut durer plusieurs heures (**Stevens et al., 2004**), ce type d'inflammation est caractérisée par les quatre signes cardinaux de Celsus : **tumor** (gonflement), **dolor** (douleur), **calor** (chaleur), **color** (rougeur) (**Actor, 2014 ; Bernard Weill et Frédéric Batteux ;2003**).

Le processus inflammatoire aiguë implique un afflux de leucocytes, du complément, d'anticorps et d'autres protéines plasmatiques dans un foyer infectieux ou une lésion tissulaire. (**delves et al., 2008**)

1.2.2. L'inflammation chronique :

L'inflammation chronique est une réponse se manifestant pendant plusieurs semaines ou plusieurs mois. Les principales caractéristiques de l'inflammation chronique sont la persistance de la lésion tissulaire, l'infiltrat de cellules inflammatoires et la présence de fibrose chronique.

On distingue plusieurs types d'inflammation chronique :

- L'inflammation chronique non spécifique : elle fait suite à une inflammation aiguë non guérie.
- L'inflammation chronique spécifique (primaire) : elle survient d'emblée en réponse à certains type d'agression, l'inflammation est dite spécifique quand

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

ses caractéristiques morphologique sont suffisamment évocatrices pour permettre de suspecter ou d'affirmer quelle est la cause à l'origine de cette inflammation. Une inflammation chronique spécifique repose essentiellement sur l'activation des macrophages et peut être granulomateuse ou non granulomateuse.

- L'inflammation granulomateuse : est un sous type d'inflammation chronique spécifique caractérisé par la formation de granulomes (**stevens et al., 2004**)

1.3. Mécanisme :

Quelle que soit le siège et la nature de l'agent déclencheur, le déroulement d'une réaction inflammatoire présente des caractères morphologiques généraux et des mécanismes communs

L'un des premiers signaux au cours d'une agression est l'inflammation, qui alerte et recrute les cellules immunitaires résidentes des tissus telles que les macrophages, les cellules dendritiques (DC), les cellules endothéliales et les mastocytes. Ces cellules détectent la présence d'un agent agresseur à l'aide des récepteurs PRR (pattern Recognition Réception) et grâce aux signaux de danger émis par :

- **Les PAMPs (patogene Associated Molecular Patterns)** sont des molécules ou des motifs conservés par les micro-organismes pathogènes, comme les (bactéries, virus ou les champignons)

- **Les DAMPs (Damage Associated Molecular Patterns)** ce sont des signaux de danger endogènes libérés par les cellules et les tissus endommagés en cas de stress, de traumatisme ou après une mort cellulaire par nécrose.

Après l'activation par les DAMPs ou les PAMPs les cellules inflammatoires résidentes secrètent de nombreux médiateurs pro-inflammatoires tels que IL-1, IL-6, IL-8 (CXCL8), IL 12, l'histamine, l'héparine, les leucotriènes et les prostaglandines. Ces médiateurs vont activer les polynucléaires neutrophiles, les lymphocytes, les plasmocytes et les monocytes (**Yusuke et al 2014 ; Fledman et al., 2015**)

La réponse inflammatoire se déroule en deux phases : phase vasculaire et phase cellulaire

1.3.1. La phase vasculaire :

Les cellules endothéliales jouent un rôle très important dans tous les processus inflammatoire. La plupart des médiateurs pro-inflammatoires agissent sur les cellules endothéliales. L'activation de ces cellules entraîne l'expression des molécules d'adhésion et provoquent des changements vasculaires tels que :

- la vasodilatation
- l'augmentation du flux sanguin local
- l'augmentation de la perméabilité vasculaire et la pénétration du lipide plasmatique dans les tissus (œdème inflammatoire) (**Jean-luc Aymeric et al.,2009 ; Patrick et al.,2007; Postiaux, 2016**)

1.3.2. La phase cellulaire :

Les médiateurs pro-inflammatoires assurent l'activation et le recrutement des neutrophiles suivis par les monocytes puis les lymphocytes

Les neutrophiles arrivants les premiers et leur population est maximale dans les 6 heures suivant le début de l'inflammation. les monocytes interviennent 12 à 48 h après les neutrophiles en raison de l'expression tardive de molécules d'adhésion et chimiokines plus spécifiques (**Gazengel et Orecchioni , 2013 ; Aymeric et Gérarrd ; 2009**)

Cette étape est suivie par la migration trans-endothéliale qui amène les leucocytes vers les tissus, ou ils dirigent vers le lieu de l'infection en suivant le gradient de facteur chimiotactique (CXCL8, c5a, c3a). Le passage trans- endothéliale est un processus organisé et se résume en 4 étapes :

- 1ère étape : capture
- 2ème étape : roulement
- 3ème étape : marginalisation
- 4ème étape : diapédèse ou extravasion (**Chaumot et Milletclerc, 2011**)

Durant cette phase les neutrophiles phagocytent et dégradant les particules (bactéries, et les débris cellulaires). La clairance totale de ces particules nécessite également les composants de la réponse immunitaire adaptative. Les particules phagocytés seront apprêtés et présenter par les cellules présentatrices d'antigènes (APC) au lymphocytes spécifiques T et B (**Bernard et Gouilly, 2006**).

Après la reconnaissance de l'antigène, les lymphocytes B se transforment en plasmocytes et les lymphocytes T se différencient en TH 1 (T helper). (**Bézin, 2010**)

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Une fois l'agresseur « maîtrisé », un processus d'auto-régulation nommé résolution de l'inflammation sera activé, ce processus implique la sécrétion des molécules anti-inflammatoires et des médiateurs lipidiques pro-résolutifs dont les rôles sont :

- Protéger les organes de l'hôte contre les possibles dommages
- Activer la réparation des tissus
- Promouvoir la clairance des débris cellulaires et microbiens issus de la réaction inflammatoire (Derwaillye et al., 2003)

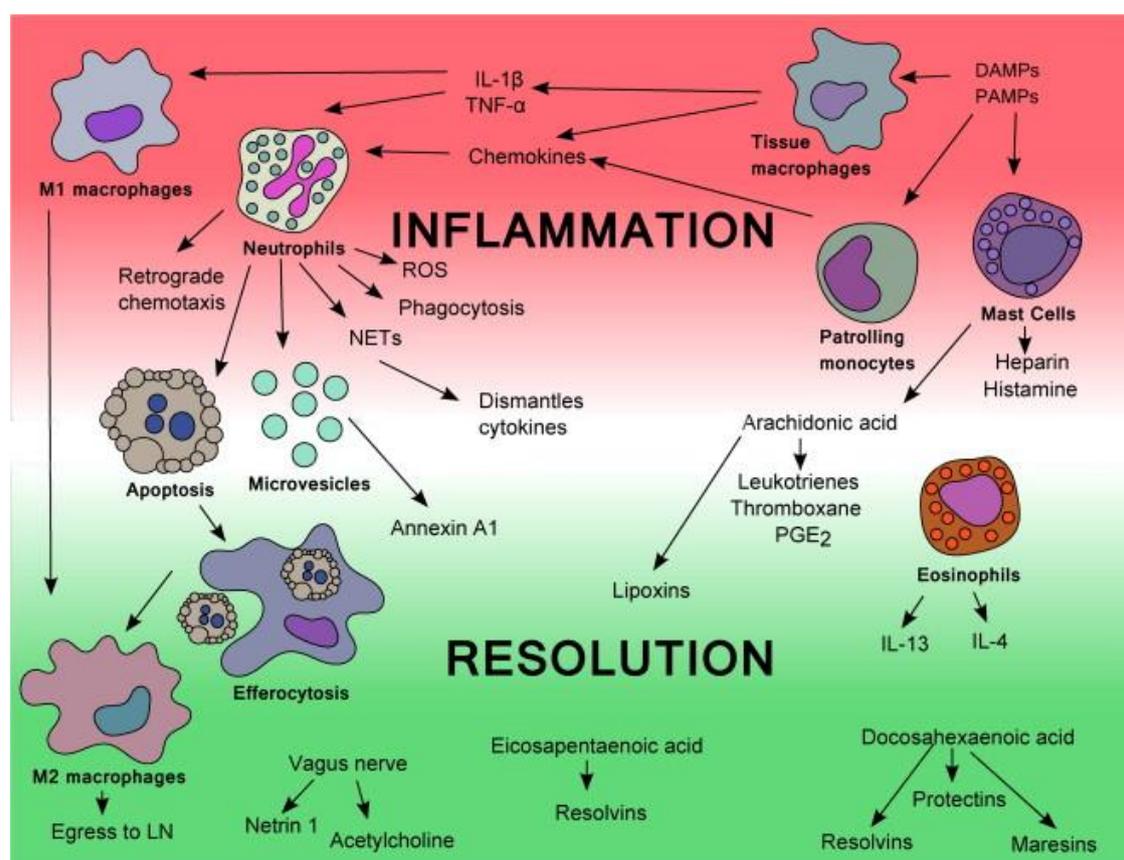


Figure 1 : Les composants cellulaires et moléculaires réagissant lors de l'inflammation (Headland et Norling, 2015).

2. Le Diclofénac :

2.1. Définition et structure :

Le diclofénac est le médicament anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) le plus couramment prescrit au monde (**CUNHA et al., 2017**).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens constituent un groupe de produits hétérogènes sur le plan chimique, ayant tous un effet anti-inflammatoire prouvé par les tests pharmacologiques et l'expérimentation clinique, leurs effets anti-inflammatoires reposent essentiellement sur l'inhibition de la cyclo-oxygénase (COX) qui réduit la synthèse des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique. Ces médicaments possèdent également une action antipyrétique et analgésique (**Michel Leporrier, 2011**).

Le diclofénac sodique (DS) est un acide phénylacétique présentant une solubilité partielle dans les milieux hydrophobes en raison de sa caractéristique d'acide faible, la structure de la molécule est conçue comme un groupe d'acide phénylacétique et un cycle phényle contenant deux atomes de chlore (**Mahmut Ulu bay et al., 2018**).

Il se trouve principalement sous la forme de sel de sodium et leur utilisation a pour but de traiter les douleurs, la fièvre et les gonflements associés à des maladies différentes, et les doses quotidiennes les plus courantes sont : 75mg et 150mg. Ce médicament est destiné au traitement : des inflammations touchant les articulations et les tissus en dehors des articulations, des symptômes douloureux au niveau de la colonne vertébrale, des inflammations ou des gonflements (oédèmes) après une blessure, une intervention chirurgicale ou dentaire, des douleurs gynécologiques et/ou des inflammations telles que des règles douloureuses, des douleurs postopératoires pendant l'hospitalisation ou leur prévention (solution injectable, perfusion intraveineuse lente), En plus ce médicament a un rôle efficace dans le traitement de d'autres maladies, y compris : la polyarthrite rhumatoïde, l'arthrose, spondylarthrite ankylosante, dysménorrhée (**Raymonde et al., 2011 ; Michel Leporrier, 2011**).

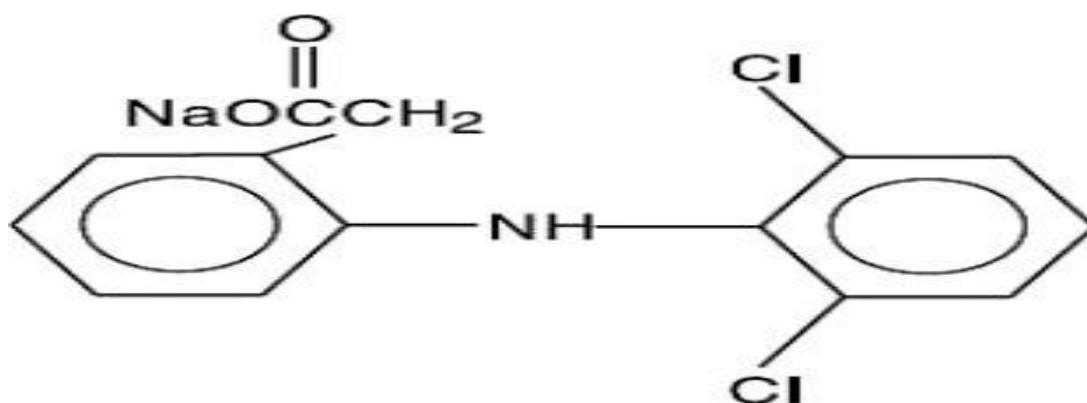


Figure 2 : la structure chimique de diclofenac sodique (Ehab et al, 2013)

2.2. Mécanisme d'action de diclofénac et effets pharmacologiques :

Le mécanisme d'action commun de tous les (AINS) est la diminution de la prostaglandine par l'inhibition de la cyclo-oxygénase (COX). la cox est une protéine qui intervient dans une cascade de réaction aboutissant a la formation de substances impliquées dans :

- l'inflammation
- la fièvre
- l'agrégation des plaquettes sanguines
- la protection de la muqueuse de l'estomac (**Talbrt, 1998**)

Les prostaglandines sensibilisent les récepteurs de la douleur et l'inhibition de leur synthèse est responsables des effets analgésiques du diclofénac et les effets antipyrétiques peuvent être dus à une action sur l'hypothalamus, entraînent :

- Une dilatation périphérique
- Une augmentation du flux sanguine cutané
- Une dissipation thermique altérieure (**Claude et al., 2011**)

Le diclofénac inhibe la synthèse des prostaglandines dans les tissus du corps en inhibant la cyclo-oxygénase il existe deux isoenzymes (COX 1 et COX 2) qui sont appelées également (Prostaglandine G/H Synthase 1 et Prostaglandine G/H Synthase 2), l'inhibition de ces derniers entraîne une diminution de la production des prostaglandines pro-inflammatoires, de prostacyclines et de thromboxane qui se sont

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

des médiateurs importants de l'inflammation et de la douleur. Les cyclooxygénases ont également

- Une action anti-inflammatoire
- Une action antipyrétique : diminution de la fièvre
- Une action antiagrégante plaquettaire : diminution de l'agrégation des plaquettes
- Une action ulcérogène : protection de l'estomac (Derys et al., 2018 ; Kymet Kubra Yurt et al., 2018 ;).

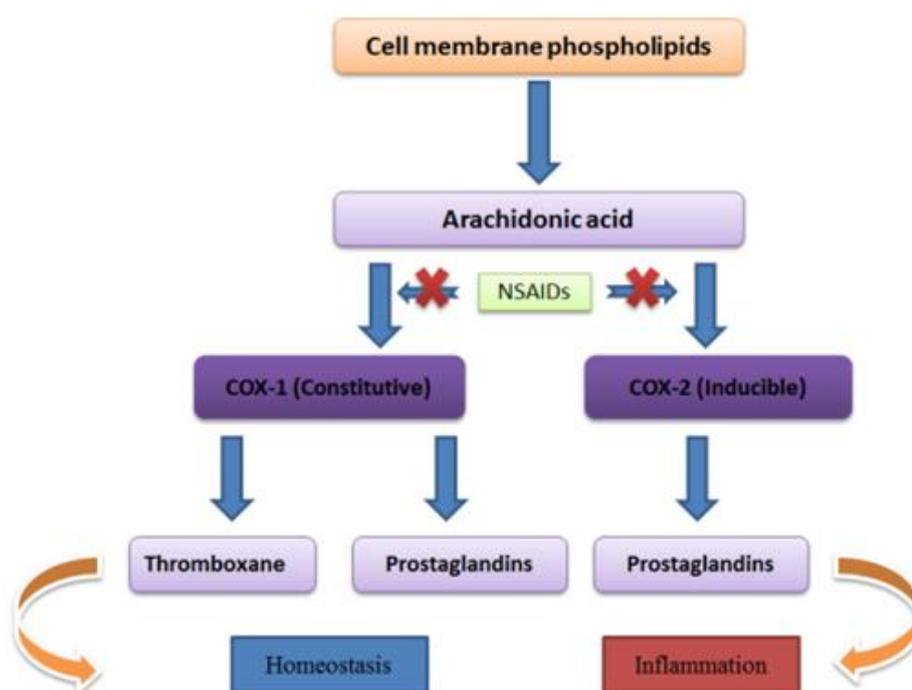


Figure 3 : Les voies biochimiques dans le processus de l'inflammation et les points cibles des AINS (Waisudin et al., 2016)

2.3. Les effets indésirables :

Le diclofénac est généralement bien toléré, mais ses effets secondaires peuvent inclure :

- Gastrodudénaux : communs à tous les anti-inflammatoires, douleurs épigastriques, risque d'hémorragie digestive
- Hématologiques : toxicité médullaire, exemple apparition leucopénie ou aplasie médullaire.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

-Rénaux : risque d'aggravation d'une insuffisance rénale chez les patients en déplétion hydrosodée et en insuffisance rénale.

- Neurologique et neurosensoriels : céphalées, vertige

-Cutanéomuqueux : éruption allergiques diverses

-Hépatiques : augmentation modérée des transaminases ou des phosphatases alcalines.

Il existe d'autres effets secondaires de diclofénac tels que : les maux de tête, la somnolence, les nausées, les diarrhées, les dyspepsies, les douleurs abdominales, les brûlures d'estomac, les saignements gastro-intestinaux, les œdèmes périphériques et les réactions d'hypersensibilité (**Baumloh,2000 ; Katrazyna et al., 2018**).

PARTIE PRATIQUE

MATERIELS ET METHODES

PARTIE PRATIQUE

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Matériels biologiques

1.1.1. Elevage des rats :

L'étude est effectuée sur un groupe de rats femelles *Wistar albinos* provenant de l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université des Frères Mentouri- Constantine. L'élevage a été réalisé dans des cages en plastiques à une température ambiante et un régime alimentaire standard.

1.1.2. Le lichen :

Le lichen *Xanthoria Parietina* a été prélevé des troncs d'arbres des espaces verts de l'université des Frères Mentouri- Constantine, pendant le mois de février. Les échantillons ont été séchés à l'air libre puis broyer jusqu'à obtention de poudre fine.

Position systématique :

- Règne : Fungi
- Division : Ascomycota
- Sous-embr : Pezyomycotina
- Classe : Lecanoromycetes
- Ordre : Teloschistales
- Famille : Teloschistaceae
- Genre : *Xanthoria*
- Espèce : *Parietina*

1.2. Le diclofenac :

Le diclofenac de sodium, acide 2-[2-(2,6-dichlorophenyl) aminophényl] éthanoïque, est un anti inflammatoire non stéroïdien dérivé de l'acide phénylacétique du groupe des acides arylcarboxylique. Sa formule chimique est $C_{14} H_{11} C_{12} NO_2$.

Nous avons utilisé dans nos expérimentations la forme commercialisée Clofenal 75mg/3ml fabrique par le groupe industriel SAIDAL EPE/SPA.

PARTIE PRATIQUE

1.3. Préparation de l'extrait :

Une quantité de 10g de poudre de lichen a été mélangé dans 500 ml d'une solution éthanol 5%. La solution est ensuite chauffée à ébullition pendant 20 min. Après refroidissement la solution est filtrée sur papier wattman le filtrat est utilisé pour le traitement des rats.

1.4. Traitement des rats :

Les rats sont divisés en 4 lots et traités comme suit :

- 1^{er} lot: un lot contrôle qui reçoit quotidiennement 1 ml d'eau par voie orale.
- 2^{ème} lot: reçoit une dose de 0,83 mg, un jour sur deux, de diclofenac sodique par voie intra- péritonéale.
- 3^{ème} lot: traité par 1 ml de l'extrait de la lichen par voie orale.
- 4^{ème} lot: reçoit 0,83 mg de diclofenac par voie intra-péritonéale (un jour sur deux selon le protocole du lot 2). Une semaine après l'injection du diclofenac les rats sont traité par 1 ml l'extrait de lichen (par voie orale).

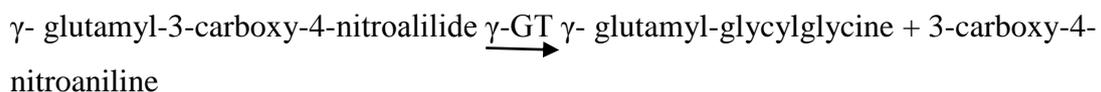
Les animaux sont sacrifiés après 21 jours et le sang est prélevé sur des tubes héparinés et conservé à -20°C pour le dosage des enzymes.

1.5. Effet de l'extrait de lichen sur les marqueurs de lésions hépatiques :

1.5.1. Dosage de l'activité glutamyl-transferase (γ -GT) :

– Principe :

Gamma-glutamyltransferase γ -GT catalyse le transfert du groupement γ -glutamyl du γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide en glycylglycine en libérant 3-carboxy-4-nitroalanine. La concentration catalytique est déterminée par le taux de 3-carboxy-4-nitroaniline formé.



– Méthode :

L'activité enzymatique de γ -GT a été mesurée en utilisant le kit BioSystems GAMMA-GLUTAMYLTRANSFERASE.

Le dosage s'effectue dans une cuve du spectrophotomètre, en mélangeant 1 ml du mélange réactionnel avec 100 μ l du plasma.

PARTIE PRATIQUE

La lecture des absorbances est effectuée chaque minute pendant 3 min à une longueur d'onde 410 nm.

L'activité de l'enzyme est calculée selon la formule:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s} = U/L$$

ϵ : le coefficient d'extinction moléculaire du NaDH à 410 nm est égale 6300.

l : le trajet optique égal à 1 cm.

V_t : le volume réactionnel total est 1,1 à 37°C.

V_s : le volume d'échantillon de 100 μl à 37°C.

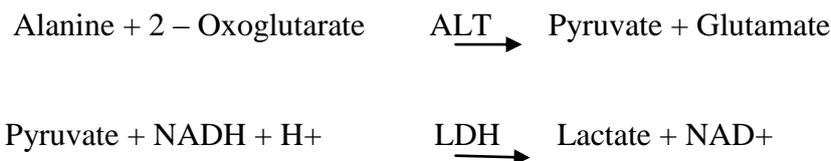
$\Delta A/\text{min}$: L'accroissement moyen est calculé suite a cette formule:

$$\Delta A/\text{min} = \Delta D_o \times 3333 \text{ (U/L)}$$

1.5.2 .Dosage de l'activité de l'alanine-amino-transférase (ALT/ TGP) :

– Principe :

L'alanine-aminotransférase (ALT ou TGP) est une enzyme qui catalyse le transfert du groupement amine de l'alanine au 2-oxoglutarate, en formant le pyruvate et le glutamate. La concentration catalytique est déterminée en utilisant la réaction couplée de la lactate-déshydrogénase (LDH), à partir de la vitesse de disparition du NADH, mesuré à 340 nm.



– Méthode :

L'activité enzymatique de TGP a été mesurée en utilisant le kit BioSystems ALANINE AMINOTRANSFERASE. Le mélange réactionnel est formé de deux réactifs le premier est une solution de Tris (150 mmol/L), L-alanine (750 mmol/L) et lactate-déshydrogénase.

(> 1350 U/L). Le deuxième est formé de NADH (1,9 mmol/L), 2-oxoglutarate (75 mmol/L), Hydroxyde de sodium (148 mmol/L) et sodium azide (9,5 g/L).

La méthode de dosage consiste à mélanger dans la cuve du spectrophotomètre 1 ml du mélange réactionnel avec 100 μl de plasma.

PARTIE PRATIQUE

La lecture des absorbances est effectuée chaque minute pendant 3 min à une longueur d'onde 340 nm.

L'activité enzymatique du TGP de l'échantillon est calculée selon la formule suivante:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s} = U/L$$

ϵ : le coefficient d'extinction moléculaire du NaDH à 340 nm est égale 6300.

l : le trajet optique égal à 1 cm.

V_t : le volume réactionnel total est 1,100 à 37°C.

V_s : le volume d'échantillon de 100 μ l à 37°C.

$\Delta A/\text{min}$: L'accroissement moyen est calculé suite a cette formule:

$$\Delta A/\text{min} = \Delta D_o * 3333 (U/L)$$

1.5.3. Dosage de l'activité de l'aspartate-aminotransférase (AST/ TGO) :

– Principe :

L'alanine-aminotransférase (AST ou TGO) est une enzyme qui catalyse le transfert du groupement amino de l'aspartate au 2-oxoglutarate, en formant l'oxaloacétate et le glutamate. La concentration catalytique est déterminée, en utilisant la réaction couplée de la malate-déshydrogénase (MDH), à partir de la vitesse de disparition du NADH, mesuré à 340 nm.



– Méthode :

L'activité enzymatique de TGO a été mesurée en utilisant le kit BioSystems ASPARTATE AMINOTRANSFERASE. Le mélange réactionnel est formé de deux réactifs, une solution de Tris (121 mmol/L), L-aspartate (362 mmol/L), malate-déshydrogénase (> 460 U/L) et lactate-déshydrogénase (> 660 U/L) et une solution formée de NADH (1,9 mmol/L), 2-oxoglutarate (75 mmol/L), Hydroxyde de sodium (148 mmol/L) et sodium azide (9,5 g/L).

PARTIE PRATIQUE

Le dosage s'effectue dans une cuve du spectrophotomètre, en mélangeant 1 ml du mélange réactionnel avec 100 µl du plasma.

La lecture des absorbances est effectuée chaque minute pendant 3 min à une longueur d'onde 340 nm.

L'activité de l'enzyme est calculée selon la formule:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{V_t \times 10^5}{\epsilon \times l \times V_s} = U/L$$

ϵ : le coefficient d'extinction moléculaire du NaDH à 340 nm est égale 6300.

l : le trajet optique égal à 1 cm.

V_t : le volume réactionnel total est 1,1 à 37°C.

V_s : le volume d'échantillon de 100 µl à 37°C.

$\Delta A/\text{min}$: L'accroissement moyen est calculé suite a cette formule:

$$\Delta A/\text{min} = \Delta D_o * 3333 (U/L)$$

RESULTATS

RESULTATS

2. RESULTATS :

2.1. Changements morphologiques et comportementaux

Les rattes montrent des changements morphologiques et comportementaux, après une semaine de traitement par le diclofenac, elles présentent une fatigue avec une chute de poiles. Après dissection, on a observé dans ces lots que le foie est de grande taille et de couleur foncé comparativement au contrôle. Ces changements indiquent que le diclofenac a des effets sur le foie. Aucune changement a été détecté dans les lots traité par l'extrait de lichen.

2.2. Effet de traitement sur le poids des animaux :

Les résultats (**fig. 04**) montrent une augmentation progressive du poids corporel, des rattes de la 1^{ère} semaine jusqu'à la 3^{ème} semaine, dans le lot contrôle. Mais aussi dans les lots traités par l'extrait de lichen seul ou le diclofenac suivi de l'extrait.

Dans le lot traité par le diclofenac on note qu'il n'existe aucune évolution dans le poids des rattes durant les 3 semaines de l'expérimentation.

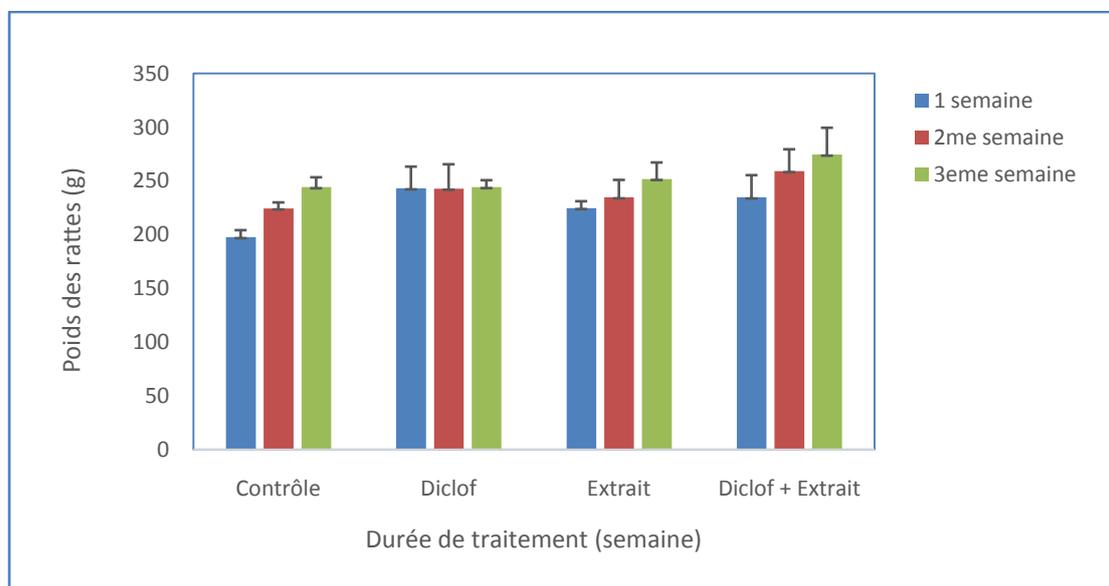


Figure 04 : effet du traitement sur les poids des rattes .

RESULTATS

2.3. Effet d'extrait de lichens sur les marqueurs de lésions hépatiques :

2.3.1. Effet du traitement sur l'activité de l'enzyme γ GT :

Les résultats (**fig. 05**) indiquent que le traitement des ratte avec le diclofenac entraîne une augmentation significative de l'activité de l'enzyme γ GT ($p=0,059$), comparativement au contrôle.

Le traitement des ratte avec l'extrait du lichen entraîne une augmentation très hautement significative de l'activité enzymatique ($p=0,000$), comparativement au contrôle. Cependant, l'administration de l'extrait une semaine après le diclofenac réduit l'activité de cette enzyme de manière significative ($p=0,016$) (comparativement au lot traité par le diclofenac)

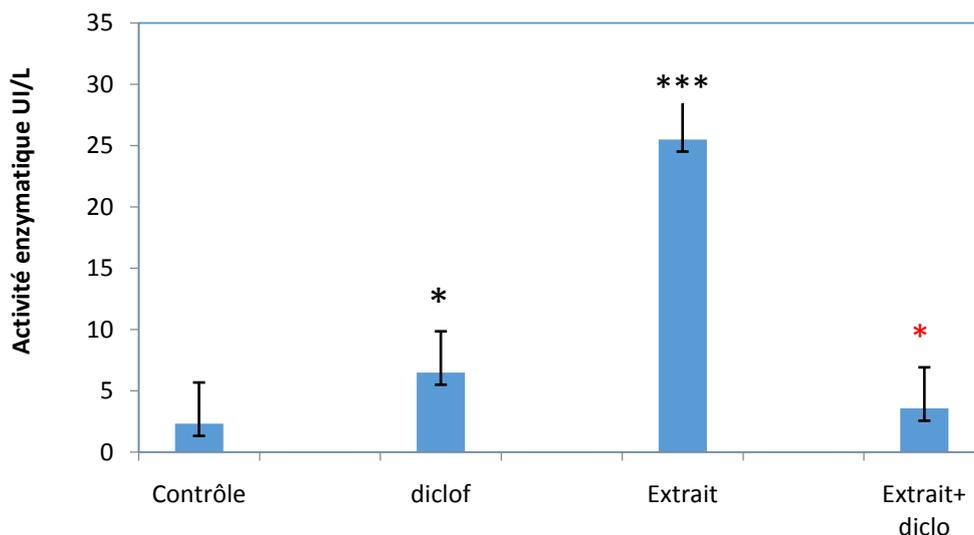


Figure 05 : Effet de l'extrait de lichen sur l'activité de l'enzyme γ GT (*exprimé en UI/L*,

** significatif, *** hautement significatif comparativement au contrôle, * significatif comparativement au diclofenac*)

RESULTATS

2.3.2. Effet du traitement sur l'activité de l'enzyme TGP :

La **figure 06** montre l'effet des différents traitements sur l'activité de l'enzyme TGP.

On note chez les rattes traitées avec le diclofenac une augmentation hautement significative ($p=0,000$) de l'activité de l'enzyme TGP comparativement au contrôle. De même, l'extrait de lichen administré seul ou après le diclofenac augmente, également, l'activité de l'enzyme de manière hautement significative ($p=0,000$) comparativement au contrôle.

Il est important de signaler que l'administration de l'extrait après le diclofenac réduit significativement l'activité de l'enzyme TGP ($p=0,02$).

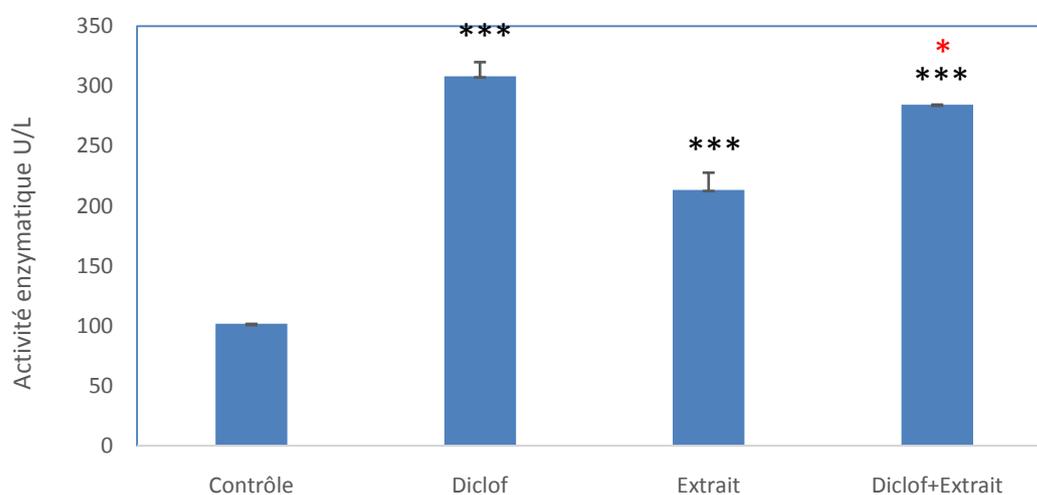


Figure 06 : Effet de l'extrait de lichen sur l'activité de l'enzyme TGP (*exprime en UI/L, *** hautement significatif comparativement au contrôle, * significatif comparativement au diclofenac*).

RESULTATS

2.3.3. Effet du traitement sur l'activité de l'enzyme TGO :

La **figure 07** montre l'effet des différents traitements sur l'activité de l'enzyme TGO. Les résultats signalent que le traitement par le diclofenac diminue de manière non significative de l'activité enzymatique comparativement au contrôle ($p=0,05$).

Chez les rattes traitées par l'extrait de lichen, on observe une diminution significative ($p=0,01$) de l'activité enzymatique TGO, comparativement au contrôle. L'extrait de lichens administré une semaine après le diclofenac diminue également l'activité enzymatique ($p=0.000$ comparativement au contrôle, $p=0,208$ comparativement au diclofenac)

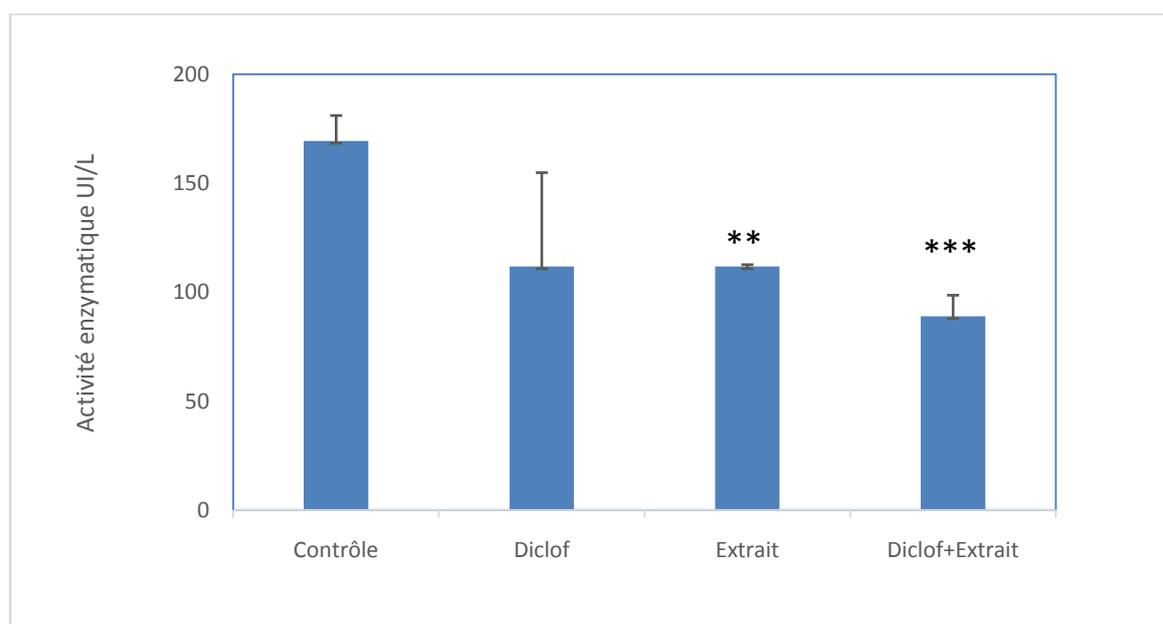


Figure 07 : Effet de l'extrait de lichen sur l'activité de l'enzyme TGO (*exprime en UI/L, * significatif, *** hautement significatif comparativement au contrôle*).

DISCUSSION

3. Discussion :

3.1. Effet de traitement sur la morphologie du foie et l'évolution du poids pondérale des rats :

Le but de notre travail est de développer une inflammation hépatique chez les rats, afin de tester l'existence d'un effet protecteur du lichen. Dans ce cadre, on a utilisé le diclofenac sodique, un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien ayant la capacité de provoquer une hépatotoxicité dans le cas d'utilisation de forte dose et pour de longues périodes (**Jerine et Sabina, 2018**).

Nos résultats montrent que le traitement par le diclofenac entraîne un arrêt de la croissance des rats comparativement au contrôle. L'inhibition de la croissance témoigne l'existence d'une réponse inflammatoire induite par le diclofenac. La diminution des poids des rats au cours de l'inflammation a été également reportée par **Lennie, 1998**. En outre, **Mercier et al, 2002** ont reporté que l'inflammation perturbe le métabolisme des acides aminés et des protéines. Elle stimule la synthèse des protéines inflammatoires au niveau du foie ce qui augmente le poids de l'organe. Comme elle provoque le catabolisme de protéines musculaires entraînant ainsi une perte de poids. Cependant, l'extrait de lichen administré seul n'a pas d'effet sur la croissance des rattes en plus qu'il supprime l'effet du diclofénac sur la croissance.

3.1.1 Effet du l'extrait de lichen sur le foie :

Les travaux de **Basile et al., 2015** ont résumé que le lichen a plusieurs effets biologiques y compris anti-inflammatoires, analgésiques, antipyrétiques, etc....., ces résultats sont prouvés aussi par les travaux de **Gulsh et al, 2013** qui ont fait une analyse des coupes histologiques au niveau du foie des rats traités par l'extrait de lichen et ont montré que l'administration de l'extrait de lichen à courte durée ne pas se provoque aucune altération de l'architecture de foie.

3.2. Effet de différents traitements sur les marqueurs de lésions hépatiques :

3.2.1 Effet du diclofenac sur l'activité de l'enzyme γ GT :

Le gamma-GT est une enzyme retrouvée dans de nombreux organes, comme le rein et les intestins mais plus particulièrement dans le foie. L'élévation de l'activité de cet enzyme est liée avec toutes les maladies du foie (**Beaudeau et Durand, 2011 ; Lejoyeux, 2013**). Nos résultats indiquent que le traitement des rats par le diclofenac,

DISCUSSION

entraîne une augmentation de l'activité enzymatique de gamma-GT, ces résultats est en corrélation avec d'autres travaux **Alpha et al., 1995 ; Jercin et Sabina 2018 ; Shyamal et Roy, 2012 ; Quadri et al., 2017** qui ont montré que le traitement par ce médicament à forte dose et à long terme provoque des dommages hépatiques.

3.2.2 Effet du diclofenac sur l'activité des transaminases :

Les transaminases TGP et TGO sont des enzymes présentes dans un grand nombre de tissus humains, principalement le cœur, le foie, le rein et les muscles, ces enzymes sont libérés dans le sang en cas de lésion hépatique, ce sont donc des indicateurs d'hépatotoxicité. Le dosage des transaminases est prescrit essentiellement dans les atteintes cardiaques et hépatiques (**Kubab et al., 2014**). Une augmentation de l'activité de ces deux enzymes résulte de leur libération à partir des cellules hépatiques endommagées, théoriquement les (ASAT/TGP) sont un indice plus sensible de lésions hépatocytaires que les (ALAT/TGO), alors que les ALAT sont plus spécifiques (**Fernando et al., 2010**).

Nos résultats signalent une augmentation de l'activité de l'enzyme TGP et une diminution de l'enzyme TGO chez des rattes traitées par le diclofenac, ces résultats sont contradictoires avec ceux de **Bouzenaet al., 2016** qui ont démontré que les AINS tels que diclofenac et sulindac modifient la fonction du foie, en augmentant l'activité des enzymes TGO et TGP. Il est connu que l'augmentation de ces enzymes est corrélée avec les degrés de lésions hépatiques. (**Arantes et al., 2011 ; Soussi et al., 2018 ; Bravalia et al., 2012**).

3.2.3. Effet de l'extrait de lichen sur les marqueurs de lésions hépatiques (TGO, TGP, γ GT) :

Nos résultats indiquent que le traitement des rattes par le diclofenac entraîne une augmentation des marqueurs de lésions hépatiques, par contre l'administration de l'extrait de lichen provoque une diminution de taux de ces enzymes. Cette diminution peut être expliquée par l'existence d'un effet hépatoprotecteur, du lichen et ses métabolites (**Shukla et al, 2017 ; Thi huyen vu, 2014**). En effet, les lichens produisent de nombreux métabolites primaires comme les acides aminés, les vitamines, les polysaccharides. Mais aussi des métabolites secondaires tels que : la parétien, l'atranorine, l'acide lobarique, l'acide physodique, le depsidone et l'acide usnique (**Molnar, Farkas, 2010 ; Stocker, 2008**). Plusieurs études ont montré que les

DISCUSSION

métabolites secondaires lichéniques ont une grande variété d'activités antioxydante, antivirale, antimicrobienne, anticancéreuse, anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique, etc... (**Nguyen et al., 2013 ; Zambre et al., 2012 ;**). Ces métabolites ont la capacité d'inhiber la biosynthèse de certains médiateurs inflammatoires comme les leucotriènes, les cyclooxygénase et les prostaglandines (**Bucar et al., 2004 ; Sunil et Klaus, 1998 ; Tngolfsdottir et al., 1994**). Les études de **Okuyama et al., 1995** ont prouvé que l'inhibition de ces médiateurs est majoritairement due à l'action de l'acide usnique et le depisone.

A coté de ces effets bénéfiques du lichen et ses métabolites, il existe aussi des effets indésirables, parmi eux l'hépatotoxicité de l'acide usnique, des études réalisées par **Dailey et al., 2008** ont dit que l'utilisation de lichen et précisément l'acide usnique à forte dose entraîne une augmentation de l'activité enzymatique des marqueurs de lésions hépatiques (**Pierre, 2016**) ce qui explique l'augmentation de l'activité de l'enzyme gamma GT chez les rattes traitées par l'extrait seul.

CONCLUSION

CONCLUSION

4. Conclusion :

Les plantes médicinales présentent une source indéfinie des molécules bioactives, ces molécules possédants plusieurs effets biologiques. Dans ce cadre l'objectif de notre travail est de d'évaluer l'effet protecteur d'un l'extrait hydro-alcoolique de lichen sur l'hépatotoxicité induites par le diclofenac de sodium. L'effet des traitements a été étudié sur la croissance des rattes à travers la mesure de leur poids ainsi que sur l'activité des marqueurs de lésions hépatiques γ GT, TGP et TGO.

Les résultats indiquent que le traitement avec le diclofenac inhibe la croissance des rattes tandis que l'extrait de lichens n'a pas d'effet sur ce paramètre. L'évolution du poids est similaire à celle des contrôles. Les résultats des dosages enzymatiques ont montré que le diclofenac entraîne une augmentation des enzymes γ GT, TGP et une inhibition de l'enzyme TGO cette augmentation témoigne de la toxicité du médicament.

D'autre part, l'extrait de lichen administré seul chez les rattes semble avoir un effet nocif sur le foie, vu qu'il augmente l'activité des trois marqueurs γ GT, TGP et TGO. Au contraire, l'administration de l'extrait chez les rattes traitées par le diclofénac réduit l'activité des trois enzymes de manière significative (comparativement au groupe traité par le diclofénac) prouvant l'existence d'un effet protecteur contre les lésions induites par le médicament.

En conclusion, l'extrait de lichen possède un effet protecteur contre les lésions hépatiques induites par le diclofenac de sodium.

En perspective il serait intéressant dans l'avenir d' :

- Effectuer une étude phytochimique sur le lichen pour bien définir les molécules responsable à l'effet anti-inflammatoire et l'effet héptoprotecteur.
- Réaliser une étude histologique pour voir le type de lésions hépatiques par le diclofenac mais aussi par l'extrait de lichen.
- Tester l'effet de lichen sur des paramètres de la réponse inflammatoire et sur d'autre modèle d'inflammation et d'hépatotoxicité.

REFERENCES

Références :

Abdelhamid Elaissan. (2016). Encapsulation of NSIA for Inflammation.

Adrina Basile, Daniela Rigano, Stefano Loppi, Annalisa Disanti, Angela Nebbioso, Sergio Sorbo, Barbara Cont, Luca Paoli, Francesca De Ruberto, Anna Maria Molinari, Lucia Altucci and Paolu Bontempo. (2015). Antiproliferative, antibacterial and antifungal activity of the lichen *Xanthoria Parietina* its secondary metabolite parietin, *Molecular Sciences*, pp: 7861-7875, ISSN: 1422-0067.

Aithal. GD, Day. CP. (2007). Nosteroidal Anti-inflammatory drug induced hepatotoxicity, *Chimies in liver disease*, pp: 459-684.

Alan stevens, James S. lowe, Barbara Young.(2004). Anatomie pathologique, 4 ed,pp: 10-25.

Alpha. T. Banks, Hynan. J. Zimmerman, Kamal. F. Ishak, Johan. G. Harter. (1995). Diclofenac associated Hepatotoxicity : Analyse of 180 cases reported to the food and drug administration asadvese reaction, *Hepatology*, pp: 820-827

Ameenah. G.F. (2006). Medicinal plants: Traditions of gesterday and druges of tomorrow molecular, *Aspects of Medicine*, (27), pp: 01-93.

Antoine Brézin. (2010). Les Uvéïtes, science direct.

Arnats-Rodrigue, Henrique. R, Piers. A, Colaço. MJ, Colado. B, Dema. A.M, Colçao. P, Fernabdes. T, De la Cruz. P.L.F, Lopes. C, Fidalgo-Gonçalves. L, Vilela, S, Pedrosa, T, Peiscoto. F. Oliveuia. (2011). High doses of olive leaf extract induce liver.

Baumloh. A. (2000). Encyclopédie du médicament, Vidal Paris, pp :166-167.

Bouzenna. H, Dhibi. S, Samout. N, Rjebi. I, Talarmin. H, Elfeki. A, Hfaedh. N. (2016). The protective effect of citrus limon essential oil on hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by diclofeanac in rats, *Biomed and Pharmacother* (83), pp: 1327-1334.

Bravalia. Y, Vaghasiya. Y, Chanda. S. (2011). Hepatprotective effect of *Woodfordia fruticosa* kurz flowers on diclofenac sodium induced liver toxicity in rats, *Asian Pac. J. Trop. Med*, pp: 342-346.

Bucar. F, Schneider. I, Ogmundsdottir. H, Iggoldsdottir. K. (2004). Anti-proliferative lichen compounds with inhibitory activity on 12(S)-HETE production in human platelets, *Phytomedicine*, pp: 602-606.

Chaabi. M. (2008). Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines: *Euphorbia Stenocla* Baill (Euphorbiaceae). *Anogeissus* *carpus* guill, etpen (Combrétaceae). *Timoniastrum feei* (Girard). *Batt* (Plumbaginacea). Thèse de doctorat en pharmacochimie, université Louis Pasteur.

Claude Ecoffey, Daniel Annequin. (2011). *La Douleur chez L'enfant*, pp: 28.

Cunh. S. C, Pena. A, Fernandes. J.O. (2017). Mussels as Bioindicators of Diclofenac contamination in Coastal Environments, *Environmental Pollution*, pp : 354-360.

Dalley. R. N, Montgomery. D.L, Ingram. J.T, Semion. R, Vasquez. M, and Raisbeck. M.F. (2008). Toxicity of the lichen secondary metabolite (+)- usnic acid in domestic sheep, *Environmental Pathologie*, pp: 19-25.

Derry. S, Wiffer. PJ, Moore. RA. (2018). Single dose oral diclofenac for acute postoperative pain in adults, *Review*.

Dewailly. E, Blanchet. C, Gingras. S, Holub. BJ. (2003) Fish consumption and blood lipids in three ethnic groups of Quebec (Canada), pp: 359-365.

Dominique Bayort, Gilles Faron. (2014). *Pharmacologie pour les sages femmes*, 2ed, pp : 66.

Ehab. M. Elzoyat, Mouhamed. F. Ibrahim, Ali. A. Abdel-Rahman, Fars. K. Alanazi, Walid. A. Habib. (2013). A validated stability-indicating UPLC method for determination of diclofenac sodium in its pure form and matrix formulations, *Arabian Journal of Chemistry*.

Emi Okuyama, Kazuhiro Umegama, Mikito Yamazaki, Yasuhiro Kinoshita and Yoshikazu Yamamoto. (1994). Usnic acid and Diffractaic acid as analgesic and antipyretic components of *Usnea diffracta*, pp: 113-115.

Françoise Monofort. (2016). Les médicaments responsables d'hépatotoxicité chez les animaux de compagnie, pp: 234.

Garcia Rodriguey. LA, William. R, Derby. LE. (1994). Acute liver injury associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the role of risk factors, Arch Intern Med 154, pp: 311-316.

Gulsh Yildiz Deniz, Fatine Geyikoglu Tinkez, Tulay Ozhan Bakir, Suat Colak and Ali Aslan. (2013). The biochemical and histological effects of lichens in normal and diabetic rats, toxicology and Industrial Health, pp: 01-13

Headland. S, and Norling. L. (2015). The Resolution of Inflammation: Pricipales and challenger, Seminars in immunologie, 27(03), pp: 149-160.

Ila Shukla, Lubna Azmi, Shyam Sundar Gupta, Dalip Kumar Upreti. (2017). Melioration of anti-hepatotoxic effect by lichen rangiferinus against alcohol in duced liver damage in rats, Ayurved and Integrative medicine, pp: 01-07.

Ingolfsdottir. K, Breu. W, Huneck. S, Gudijonsdottir. G.A, Muller-Jakic. B, Wagner. H. (1994). In Vitro inhibition of 5-lipoxygenase by protolichesterinic acide from cetraria islandica, phytomedicine, pp: 187-191.

Jean-Louis Beaudeau, Genevive Durand. (2011). Biochimie médicale,Marquers actuels et perspective, 2 ed, Chaoitre 16, ISBN: 978-2-257.

Jean-Luc Aymeric, Gérard Lefranc. (2009). Immunologie Humaine, pp: 61-63.

Jean-Piere Chaumont, Joelle Milletclerc. (2011). Phyto-Aromathérapie Appliquée a la dermatologie, pp : 66.

Jeffrey Actor. (2014). Intoductry Immunolgy, Elsevier Masson,

Bernard Weill, Frédéric Batteux. (2003). Immunopathologie et Reaction inflammatoires, pp: 12.

Jerine Peter Simon, Sabina Evan Prince. (2008). Aqueous leaves extracte of madhuca longifolia attenuate diclofenac- induced hepatotoxicity: Impacton oxidative stress, inflammation and cytokines, Cellular biochemistry.

- Katarzyna. E. Lazarska, Stefan. J. Dekker, Nico. P. E. Vermeulen, Jan. N. M. Commandeur. (2018). Effect of UGT2B72 and CYP2C84 polymorphisms on diclofenac metabolism, *Toxicology Letters*, pp: 70-78.
- Kubab. N, Hakawati. I. Salajati- Kubab. S. (2014). Guide des examens biologique, Initiative Santé, Fiche 18, ISBN : 978-7573.
- Kutalin Molnar, Edit Farkas. (2010). Current result on biological activities of lichenmetabolique, *Review*, pp : 157-173.
- Kymet Kubra Yurt, Suleyman Kaplan, Elfide Gign Kikak. (2018). The neurprotevtive effect of melatonin on The hippcanpus exposed to Diclofenac Sodium during the prenatal period, *Chemical Neuroanatomy*, pp: 38-48.
- Lennie T. Relationship of body energy status to inflammation-induced anorexia and weight loss. (1998). *Physiology & Behavior*, 64(4) pp : 475-481.
- Mahmut Ulubay, Krymet Kubra Yurt, Arifa Ahsen Kaplan, Mustafa Alillu. (2018). the use of diclfenac sodium in urogical practice: Astructural and neurochemical based, *Chemical Neuroanatomy*, *Review*, pp: 32-36.
- Maw. G, Tan. R, Fuzzati. N. LT, Wolfreuder. J.L, Hostettmann. K. (1997). Natural occurring and synthetic polyne glycorides, *Phytochemistry*, 45(2), pp: 411-415.
- Mercier S, Breillé D, Mosoni L, Obled C, Patureau Miraud P. Chronic .(2002). Inflammation Alters Protein Metabolism in Several Organs of Adult Rats. *The Journal of Nutrition*. 2002. 132;(7) pp : 1921-1928
- Michel Lejoyeux. (2013). *Addicologie*, Elseiver Msson, pp : 103, ISBN : 978-2-294-71688.
- Michel Leporier. (2011). *Petite Encyclopédie médicale Hamburger :Guide de Pratique médicale*, 20 ed pp : 57.
- Nguyen. K.A, Chollet-Krugler. M, Gouault. N, Tomasi. S. (2013). UV-protectant metabolites from lichens and their symbiotic partners, *Nat Prod, Rep*: 30, pp: 1490-1508.

Nicolas Jean-François, Florence Cousin, Jean Thivolet. (2001). Immunologie Clinique et Allergologie, Aspirine et AINS : Intolérance et Allergie, Johan Libbey Eurotext, pp : 55-58.

Noa Fledman, Aviva Rotter, Eitan Okun. (2015). DAMPs as mediators of sterile inflammation in aging-related Pathologies, Science Direct, Reviews, pp: 01-10.

Parag Jain, Ravinda Pandey, Shir Shankar Shukla. (2015). Inflammation Natural resources and Its Application, pp : 05.

Pascal Gouilly, Bernard Petitdant. (2006). Comprendre la Kinésithérapie en rhumatologie.

Patrick Lacolley, Dominique Babuty, Chantal Boulanger, Bijan Chaleh, Gervaise Loirand, Florence Dinet, Jane-lise Samuel. (2007). Biologie et Pathologie du Cœur et des Vaisseaux, pp : 368

Jean-Maire Gazengel, Anne-Marie Orecchioni. (2013). pp : 783.

Peter J. Delves, Seamus J. Martin, Dennis R. Burton, Ivan M. Roitt. (2008). fondements de l'immunologie, de boeck, pp: 256.

Pierre Cochat. (2010). Maladie de foie et des voies biliaires chez l'enfant, 2 ed, chapitre 05, ISSN :0298-4482.

Pierre Le Pogam-Alluard. (2016). Analyse de lichens par spectrométrie de masse: déréplication et histolocalisation, Thes de doctorat en science de la matière , université de Renne 1, pp: 340.

Quadri Kunle Alabi, Rufus Ojo Akomolafe, Olaoluwa Sesna Oluviran, Wale Johmon Adeyeni, Aliyat Olajunoke Nafiu, Modinat Adebukola Adefirayo, Joseph Gbenya Omole, Deborah Ifeoluwa Kajewole, Ohuwole Olaniyi Odujoke. (2017). The carcinia Kola biflavonoid Kolaviron attenuates experimental, hepatotoxicity induced by diclofenac, Elsevier Masson.

Rawya Soussi, Najla Hfaiedh, Fatna Guesni, Mohsen Sukly , Khémais Ben Rhouma. (2018). Hepatoprotective and antioxidant properties of the aqueous extract of olea europaea leaves against diclofenac- induced liver damages in mice, university of carthage, 7021 Jarzouna, Bbinzerte, Tunisia.

- Raymond. S. Sinatra, Jonathan. S. Jahi, Michael Watkins-Pitchford. J. (2011). The Essence of analgesia and analgesieses, pp: 229.
- Sandog. R. (2006). Le role des plantes médicinales en médecine tradiotionelle, These de toctorat, universite de Bamako (Mali) : 53.
- Shyamal. K. Das, Chandan Roy. (2012). The protective role of Enincasa Hisrida on diclofenac sodium induced hpatotoxicity in albino rats model, Pharmaceutical Research an Development, (IJPRD),pp: 171-179.
- Simon. J.B. (2005). Hépathopathie Médicamenteuse, principes fondamentaux de gastro entérologie états pathologiques et démarches thérapeutiques, 5 ed.
- Stéphane Potteaux, Ziad Mllut, Alain Tedgui. (2016). Kinésithérapie et bruits respiratoire, pp : 49.
- Stocker-Worgotter. E. (2008). Metabolic diversity of lichen-forming ascomycetous fungi: Cultueing polyketide and shikinrte metabolite production and PKS genes, Nat Prod rep:25, pp: 188-200.
- Sunil Kumar. KC, Kalus Muller. (1999). Lichen metabolites.2. antiproliferative and cytotoxic activity of gyrophoric usnic and diffractaic acid of human keratinocyte growth, J Nat Prod: 62, pp: 821-823.
- Talbert. M. (1998). Guide Pharmacolgique, 3 ed, Lammrie. Paris, pp: 49-61.
- Thi Huyen Vu. (2014). Etude des acide gras du genre stereocaulon, Etude phytochimique du lichen S. evolutum graewe, Thèse de doctorat en science de la matière, université de Rennes 1, pp :298.
- Toby Spribille, Veera Tuovinen, Philipp Ral, Dan Vanderpool, Heimo Wolinski, Catherime Aine. M, Kevin Schnieder, Edith Stabentheiner, Merje Toom-Heller, Gorna Thor, Helmut Mayrhofer, Hanna Johannesson, Johan. P. Mecuteheon. (2016). Basidiomycete yeasts in the cortex of axomycete macrolichens, pp: 488-492.
- Véronique Marck. (2010). Manuel de thechnique d'atanomie cytopathologique, chapitre 02, pp: 20.

Yusuke Hiraku, Shosuke Kawanishi, Hiroshi Ohshina. (2014). Cancer and inflammation Mechanisms, Chapitre 01, pp: 02.

Zambare. VP, Christopher. LD. (2012). Biopharmaceutical potential of lichens, Parma Biol: 50, pp: 778-798.

ABSTRACT

Abstract:

The objective of this study is to test the hepatoprotective effect of a lichen extract against diclofenac sodium-induced hepatotoxicity in rats. Diclofenac is a non-steroidal anti-inflammatory drug derived from phenylacetic acid. It has anti-inflammatory, anti-analgesic and anti-pyretic activity. It is one of the most commonly used drugs in the Algerian population and causes hepatotoxicity at high doses. The study was carried out on a group of albino Wistar female rats divided into 4 lots: a control lot, a lot treated with lichen extract, a lot treated with sodium diclofenac and a last batch treated with diclofenac followed by the lichen extract. The effect of the different treatments was tested on the growth of rats by measuring their weight as well as on the activity of gamma glutamyl-transferase (γ GT) liver lesion markers, aspartate aminotransferase (TGO), the alanine aminotransferase (TGP). The results indicate that treatment with diclofenac inhibits rat growth while treatment with lichen extract has no effect on their weight and growth. The results of enzymatic assays showed that diclofenac causes an increase in γ GT, TGP enzymes and an inhibition of the TGO enzyme. The elevation of these enzymes indicates the presence of liver lesions. On the other hand, the lichen extract alone increases the activity of the three markers γ GT, TGP and TGO. While the administration of extract in diclofenac-treated rats significantly reduces the activity of all three enzymes (compared to the diclofenac-treated group), proving the existence of a restorative effect against diclofenac-induced lesions . In conclusion, the lichen extract has a protective effect against sodium diclofenac-induced liver injury.

المخلص

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو اختبار تأثير مستخلص الحزازات ضد السمية الكبدية التي يسببها ديكلوفيناك الصوديوم والتي أحدثت في الجرذان، أن الديكلوفيناك هو دواء مضاد للالتهابات مشتق من حامض phénylacétique والذي لديه نشاط مضاد للالتهابات ومسكن للألام ، يعتبر هذا الدواء واحد من أكثر الأدوية استخداما لدى سكان الجزائر بالإضافة إلى تأثيراته الايجابية إلا انه يسبب تسمم الكبد عند الجرعات العالية ، وقد أجريت هذه الدراسة على مجموعة من الفئران البيضاء (إناث) مقسمة إلى أربع وحدات ، مجموعة الشاهد والمجموعة المعالجة بمستخلص الحزاز ، المجموعة المعالجة بديكلوفيناك الصوديوم والمجموعة الأخيرة معالجة بالديكلوفيناك ومستخلص الحزاز ، تم اختبار تأثير مختلف هذه العلاجات على نمو الفئران عن طريق قياس وزنهم وكذلك من خلال قياس نسبة الإنزيمات الكبدية γ GTTGP وTGO في الدم الناتجة عن تلف الكبد ، تشير النتائج إلى أن المعالجة بالديكلوفيناك تثبط نمو الفئران بينما لا يؤثر العلاج بمستخلص الحزاز على وزن ونمو الفئران، كما تظهر أيضا نتائج الفحوصات الإنزيمية ان الديكلوفيناك يسبب زيادة في إنزيم γ GT وTGP، ويثبط إنزيم TGO. يشير ارتفاع هذه الإنزيمات إلى وجود تسمم كبدي ، ومن ناحية أخرى يرفع مستخلص الحزاز نشاط هذه الإنزيمات في حين أن استهلاك مستخلص الحزاز بعد المعالجة بالديكلوفيناك يخفض من نشاط الإنزيمات الثلاثة بشكل ملحوظ ، (مقارنة مع المجموعة المعالجة بالديكلوفيناك) هذا الانخفاض في نشاط الإنزيمات يثبت تأثير مستخلص الحزاز ضد الأضرار الناتجة عن المعالجة بالديكلوفيناك بشكل ايجابي ، كخلاصة فإن مستخلص الحزاز له تأثير وقائي ضد تسمم الكبد الناجم عن ديكلوفيناك الصوديوم.

Année universitaire : 2017/2018	Présenté par : BERREHAL Marouane
Mémoire présente en vue de l'obtention du diplôme de Master en Immunologie Moléculaire et Cellulaire	
Intitulé : Evaluation de l'effet protecteur d'un extrait de lichen contre l'hépatotoxicité induite par le diclofenac de sodium chez le rat.	
<p>Résumé :</p> <p>L'objectif de cette étude est de tester l'effet hépatoprotecteur d'un extrait de lichen contre l'hépatotoxicité induite par le diclofénac sodique chez le rat. Le diclofénac est un anti inflammatoire non stéroïdien dérivé de l'acide phénylacétique il possède une activité anti inflammatoire, anti analgésique et anti pyrétiq. C'est un des médicaments les plus utilisés dans la population Algérienne, il provoque une hépatotoxicité à des doses élevées. L'étude a été réalisée sur un groupe des rats femelles <i>Wistar albinos</i> réparties en 4 lots : un lot contrôle, un lot traité par l'extrait de lichen, un lot traité par diclofénac de sodium et un dernier lot traité par le diclofénac suivi de l'extrait de lichen. L'effet des différents traitements a été testé sur la croissance des rattes à travers la mesure de leur poids ainsi que sur l'activité des marqueurs de lésions hépatiques gamma glutamyl-tranférase (γGT), l'aspartate aminotransférase (TGO), l'alanine aminotransférase (TGP). Les résultats indiquent que le traitement avec le diclofenac inhibe la croissance des rattes alors que le traitement par l'extrait de lichen n'a pas d'effet sur leur poids et leur croissance. Les résultats des dosages enzymatiques ont montré que le diclofenac entraîne une augmentation des enzymes γGT, TGP et une inhibition de l'enzyme TGO. L'élévation de ces enzymes indique la présence de lésions hépatique. D'autre part, l'extrait de lichen administré seul augmente l'activité des trois marqueurs γGT, TGP et TGO. Tandis que l'administration d'extrait chez les rattes traitées par le diclofénac réduit l'activité des trois enzymes de manière significative (comparativement au groupe traité par le diclofénac) prouvant l'existence d'un effet réparateur contre les lésions induites par le diclofenac. En conclusion que l'extrait de lichen possède un effet protecteur contre les lésions hépatiques induites par le diclofenac de sodium.</p>	
Mots clés :lichen, extrait, diclofenac, gamma GT, TGP, TGO, hépatotoxicité.	
<p>Date de soutenance : 04/07/2018</p> <p style="text-align: right;">Sous la direction : EL OUARE Ibtissem</p> <p>Jury d'évaluation</p> <p style="padding-left: 40px;">Présidente de jury : RAHMOUNE Houria (MAA) (UFMC1) Rapporteur : EL OUARE Ibtissem (MCA) (UFMC1) Examinatrice : MACHATE Chahinez (MAA) (UFMC1)</p>	

