



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : *Toxicologie*

Intitulé :

**Évaluation des phénols totaux, flavonoïdes et du pouvoir
antiradicalaire et hépatoprotecteur de l'extrait *n*-butanol d'une
plante endémique : tests *in vitro* et *in vivo*.**

Présentée et soutenue par : Merouani Farouk

Le 27/06/2018

Benghelib Nour El Imene

Bekhouche Nour El Houda

Jury d'évaluation :

Président : MOURI Fouzia (Maitre de Conférence B-Université Frères Mentouri Constantine)

Encadreur : ZAMA Djamila (Professeur -Université Frères Mentouri Constantine 1).

Examineurs : BOULDJAJ Redouane (Maitre-Assistant A-Université Frères Mentouri Constantine 1).

IHOUAL Safia (Maitre-Assistant A -Université Frères Mentouri Constantine 1).

Année universitaire
2017 – 2018

Remerciements

« Chaque début a une fin, et que le meilleur travail marque son histoire. »

La patience était notre clé, la solidarité était notre force et le succès était notre but, qui nous ont mené envers la réalisation de ce modeste travail, et qui nous ont donné une très belle récompense, celle d'avoir l'honneur de présenter aujourd'hui ce fruit qu'on l'a acquis grâce à Dieu.

*On ne sait absolument pas comment on pourra remercier notre **chère encadreur** madame **Zama Djamila**, professeur de l'université Mentouri Constantine, une femme juste, patiente et très serviable, qui nous a accordé tout son temps et ses conseils précieux tout au long de cette étude.*

Nos remerciements sont dirigés ainsi à notre jury, qui a accepté d'évaluer ce travail, tout en citant Mme Mouri.F la présidente du jury, et les examinateurs : Mr Bouldjadj.R et Mme Ihoual.S.

Un grand merci à toute personne qui nous a donné la main pour finir notre mémoire, spécialement : la doctorante Zehani.L, l'une des raisons de succès de ce travail, ainsi que toute l'équipe du département de l'anatomie du CHU : le médecin chef de service de l'anatomopathologie, et Dr. Bouldjenib.F, et sans oublier Dr. Aissaoui de l'hôpital d'el Mansoura.

Une haute expression de respect au staff du laboratoire biochimique de l'hôpital cité el bir, et aux responsables de la société « Cesar-lab » : Merouani.N et Bouaanaka.S qui font partie de ce succès.

Nous remercions notre chef de spécialité Mr Laaloui, et aussi bien tous les professeurs de la toxicologie qui veillent toujours pour qu'elle soit la meilleure.

Dédicace

Louanges à Allah pour la sérénité, la patience et la volonté qu'il m'a procurée pour réaliser ce modeste travail, je m'incline devant cette remarquable exactitude dans la création, devant cette grande harmonie entre les êtres vivants.

Je dédie ce travail à mes chers parents qui ont toujours été là pour me voir réussir qui m'ont encouragé et soutenu tout au long de mes études et pour leur présence, leurs énormes efforts, leur amour, leur attention, et surtout pour leurs sacrifices afin de me procurer une atmosphère sereine.

A l'une des raisons de mon succès madame Zama Djamila, que je n'arrive absolument pas à la décrire, face à sa noblesse, sa justesse et surtout sa patience, j'avais un très grand honneur de faire part de votre équipe d'encadrement, je vous remercie infiniment pour toute votre confiance.

Je dédie cet humble ouvrage à mes frères, et à ma sœur qui sont toujours fiers et comblés de joie en me voyant acquérir les rangs les plus honorables.

À mes amis Maya, Rayane, Imène, Randa, Mehdi et surtout Nour el Houda, Nour el Imene et Afnen qui étaient toujours une raison de mes sourires, et ma gratitude.

Je dédie ce travail à toute personne qui a cru à mes capacités, et qui m'avait encouragé, ainsi qu'à toute personne qui avait un doute que j'y arriverai.

Merouani Farouk

Dédicace

Louanges à Allah pour la sérénité, la patience et la volonté qu'il nous a procuré pour réaliser ce modeste travail, nous nous inclinons, devant cette remarquable exactitude dans la création, devant cette grande harmonie entre les êtres vivants.

Nous dédions ce travail à nos chers parents qui ont toujours été là pour nous voir réussir qui nous ont encouragé et soutenu tout au long de nos études et pour leur présence, leurs énormes efforts, leur amour, leur attention, et surtout pour leurs sacrifices afin de nous procurer une atmosphère sereine.

Je dédie cet humble ouvrage à nos chères grands-mères et grands-pères qui sont toujours fiers et comblés de joie en nous voyant acquérir les rangs les plus honorables.

À ma petite sœur Kaouter . À nos frères Alaa el Din, Mounib, Mouhamed Oussama, et notre petit Ayoub. À notre préférable sœur, amie adorable INES, et notre cher ami frère Farouk.

À notre grande famille, nos oncles, nos tantes, et particulièrement à nos chères tantes Liza et Nadjjet qui ont été toujours là pour nous, par leurs conseils, leur aide précieuse en nous considérant comme leurs filles.

A mon cher fiancé Attik Hamza l'une des raisons de mon succès et de mon bonheur (houda)

Merci à nos chers cousins : Ghanou , Moundji et Oussama, Zaynou, Mouhamed, et nos chères cousines : Lina, Kouki, Zeyneb, Soumia, Assia et Amani, Soundous, Chaima et Rayen. À notre chère copine : Afnan, Maroua, Rym. À tous ceux que nous connaissons de près ou de loin.

Benghelib Nour El Imene et Bekhouche Nour El Houda

Sommaire :

Liste des abréviations.	
Listes des figures.	
Listes des tableaux.	Pages
Introduction.....	1

La première partie : étude bibliographique

Chapitre 1 : le foie.

I- Le foie.....	3
I.1-Vascularisation hépatique.....	4
I.2-Les cellules du foie.....	5
I.2.1- Les hépatocytes.....	6
I.2.2- Les cellules biliaires (Les cholangiocytes)	6
I.2.3- Les cellules étoilées du foie (CEF)	6
I.2.4- Les Cellules Küpffer (KC)	6
I.2.5- Les cellules endothéliales hépatiques	7
I.2.6- Les pit cells (natural killer)	7
I.2.7- Cellules souches (oval cells) et Régénération hépatique	7
I.3.Fonctions physiologiques du foie	8
I.3.1- La synthèse et le stockage	8
I.3.2- Fonctions d'épuration et d'élimination	8
I.3.3- Fonctions de détoxification	8
I.3.4- Fonctions immunitaires	9
I.3.5- Fonctions hématopoïétiques	10
I.3.6- Formation et excrétion biliaire	10
I.3.7- Fonctions métaboliques	10
a. Le métabolisme des carbohydrates	10
b. Le métabolisme des lipides	11
c. Métabolisme des protéines	11
d. Métabolisme d'hème	11

Chapitre 2 : Les pathologies du foie.

II- Les pathologies du foie.....	12
II.1- L'hépatite médicamenteuse	12
II.1.1- L'hépatite cholestatique	12
II.1.2- L'hépatite cytolytique	12
II.1.3- L'hépatite mixte	12
II.2- Cancer du foie.....	13

Chapitre 3 : La toxicité de l'éthanol.

III- La toxicité de l'éthanol.....	14
III.1- Le métabolisme de l'éthanol	14
III.2- Les pathologies du foie provoquées par l'éthanol	15
III.2.1- L'hépatite alcoolique.....	15
III.2.2- La fibrose.....	16
III.2.3- De la fibrose à la cirrhose.....	16
III.2.4- La stéatose.....	16

Chapitre 4 : Les marqueurs hépatiques.

IV- Les marqueurs hépatiques.....	17
IV.1- Les marqueurs biochimiques.....	17
IV.1.1- Les transaminases	17
IV.1.1.1- Alanine aminotransférase.....	18
IV.1.1.2- Aspartate aminotransférase.....	19
IV.1.2- Phosphatase Alcaline.....	20
IV.1.3- La bilirubine totale	20
IV.1.4- Gamma-glutamyl transférase.....	21
IV.1.5- Alpha foeto proteine	21

Chapitre 5 : Le stress oxydatif.

V. Le stress oxydatif.....	23
V.1- Le radical libre.....	23
V.2- Sources radicalaires.....	23
V.2.1- Sources Internes.....	24
V.2.2- Sources Externes.....	24
V.3- L'éthanol et le stress oxydatif.....	25

V.3.1- Chaîne respiratoire microsomale.....	25
V.3.2- Chaîne respiratoire mitochondriale	25
V.3.3- NADPH Oxydase.....	26
V.4- Les antioxydants.....	27
V.4.1- Les antioxydants endogènes enzymatiques.....	27
V.4.2- Les antioxydants endogènes non enzymatiques	28
V.4.3- Les antioxydants exogènes	28

Chapitre 6 : Les composés phénoliques

VI- Les polyphénols	30
VI.1. Biodisponibilité et métabolisme des polyphénols.....	30
VI.2- Classification des polyphénols.....	30
VI.2.A- Les flavonoïdes.....	31
VI.3-Le pouvoir antioxydant des polyphénols et flavonoïdes.....	33

La deuxième partie : La partie pratique

I. MATERIELS ET METHODES.....	34
I.1. MATERIEL VEGETAL	34
I.1.1. Préparation de l'extrait <i>n</i> -butanol.....	34
I.2. MATERIEL ANIMAL.....	34
1.2.1. Entretien des animaux.....	34
II. METHODES.....	35
II.1. ETUDE <i>IN VITRO</i>	35
II.1.1. Détermination des polyphénols.....	35
II. 1.2. Détermination des flavonoïdes.....	35
II.1.3. Evaluation du pouvoir anti radicalaire (DPPH.).....	35
II.1.4. Inhibition de la peroxydation lipidique (LPO).....	36
II.1.5. Activité anti hémolytique ou la stabilisation membranaire	36
II.2. ETUDE <i>IN VIVO</i>	38
II.2.1. Induction de l'hépatotoxicité par l'éthanol.....	38
II.2.2. Traitement des animaux.....	38
II.2.3. Dissection des rats, prélèvement du sang et des organes.....	38

II.2.4. Préparation de l'homogénat.....	38
II .2. 5. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques du sang.....	39
II .2.5.1. Dosage des transaminases au niveau du plasma.....	39
II .2.5.2. Les triglycérides.....	39
II .2.5.3. Dosage du cholestérol.....	39
II.2.6. Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydant.....	39
a- Dosage du malondialdéhyde (MDA) dans une fraction cytosolique de foie.....	39
b- Dosage de glutathion (GSH).....	39
c- Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx).....	40
d- Evaluation de l'activité enzymatique du catalase (CAT).....	40
e- Dosage de protéine totale.....	40
II.3. ETUDE HISTOLOGIQUE.....	40
II.4. ETUDE STATISTIQUE.....	42
Résultats et discussions :	
Résultats.....	43
1.Les dosages réalisés <i>in vitro</i>	43
1.1-Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes totaux	43
1.2-Le piégeage du radical DPPH	43
1.3-L'évaluation de la peroxydation lipidique <i>in vitro</i>	44
1.4-Actvité anti hémolytique ou la stabilisation membranaire.....	45
2.Les dosage réalisés <i>in vivo</i>	47
2.1-Dosage des paramètres biochimiques.....	47
2.1.1-L'influence du traitement sur la fonction hépatique	47
2.1.2-L'influence du traitement sur le profil lipidique	47
2-2-Le dosage des paramètres du stress oxydatif.....	48
2.2.1-Le dosage du Malondialdéhyde MDA	48
2.2.2-Le dosage du Glutathion GSH	49
2.2.3-Le dosage du Glutathion peroxydase GPx	50
2.2.4-Le dosage de la Catalase CAT	51
2.3-Les résultats de l'étude histologique.....	52
Discussions.....	54

Conclusion	61
Résumé	62

Liste des abréviations :

- ABCA1** : ATP-binding cassette A1.
- ABCG1** : ATP-binding cassette Gene 1.
- ADH** : Alcool Déshydrogénase.
- ADN** : Acide Désoxyribonucléique.
- ADN-NF-KB** : *nuclear factor-kappa B*.
- ALAT** : Alanine Aminotransférase.
- ALDH** : Aldéhyde déshydrogénase.
- ARE** : Elément de la Réponse Antioxydante.
- ASAT** : Aspartate Aminotransférase.
- ASTc** : Aspartate Aminotransférase Cytosolique.
- ASTm** : Aspartate Aminotransférase mitochondrial.
- ATP** : Adénosine Triphosphate.
- CAT** : Catalase.
- CD** : Cellule Dendritique.
- CD14** : Cluster of Differentiation 14.
- CEF** : Cellules Etoilées du Foie.
- CESH** : Cellule Endothéliales de Sinusoïdes.
- COX** : Cyclooxygénase.
- CS** : Cellule de Stellaire.
- CSH** : Cellules Souches Hématopoïétiques.
- CYP2E1** : Cytochrome P450 2E1.
- CYP3A** : Cytochrome P450 3A.
- DO** : Densité Optique.
- DPPH** : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.
- EAO** : Espèces Activées de l'oxygène.
- EGR1** : Early Growth Response Protein 1.
- ERO** : Espèces Réactives de l'oxygène.
- FasR** : First Apoptosis Signal Receptor.
- GLUT2** : Transporteur de Glucose 2.

GPx : Glutathion Peroxydase.

GSH : Glutathion.

GSSG : Disulfure de Glutathion.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HAA : Hépatite Alcoolique aigue.

HDL : lipoprotéines de haute densité.

HE : Haematoxylin and Eosin stain.

HSPs : Protein de choc thermique.

IC₅₀ : Concentration d'inhibition.

KC : Cellule de Kupffer.

LB : Lymphocyte de Bourse de Fabrice.

LDL : lipoprotéines de basse densité.

LPO : Peroxydation lipidique.

LPS : Lipopolysaccharide.

LT : Lymphocyte du thymus cytotoxique.

MAT : Methionine Adenosyltransférase.

MD-2 : Myeloid Differentiation Protein-2.

MDA : Malondialdéhyde.

MEC : Matrice Extracellulaire.

NAD : Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Hydrogéné.

NK : Natural killer.

NRF2 : Nuclear factor erythroid-2

O₂ : Oxygène.

P21 rac : Cryptic Rac-binding.

P47 Phox : Phagocyte oxydase.

PAL : Phosphatase Alcaline.

ROS : Reactive Oxygen Species.

RPE : Retinal Pigment Epithelium.

R-PPAR : Peroxisome proliferator activated receptor.

SAM : S- Adenosyl Methionine.

SOD : SuperOxyde Dismutase.

T CD4+ : lymphocytes T4.

T CD8+ : lymphocytes T8.

TBARs : Thiobarbituric acid reactive substances.

TGFβ : transforming Growth Factor Beta.

TIMP1/2 : Metalloproteinase Inhibitor 1/2.

TLR4 : Toll Like Receptor 4.

TNFα : Tumor Necrosis Factor Alpha.

VHC : Viral hepatitis C.

γGT : Gamma Glutamyl-Transférase.

°O₂⁻ : Anion superoxyde.

°OH : Hydroxyle Radical.

¹O₂ : Oxygène singulet.

Liste des figures :

Figure 1 : la structure microscopique du foie (vue d'ensemble des composantes microscopiques d'un lobule hépatique).

Figure 2 : la structure microscopique du foie (vue détaillée des composantes microscopique d'un lobule hépatique).

Figure 3 : entrées et sorties du foie : vaisseaux sanguins et canaux. Application clinique

Figure 4: Deux modèles de mécanismes de régénération hépatique en fonction de la nature de la lésion hépatique.

Figure 5 : Organisation d'un lobule hépatique et d'une travée hépatocyttaire avec les principales cellules de la réaction immunitaire dans le foie.

Figure 6 : L'effet de l'élévation du gamma glutamyl transpeptidase GT.

Figure 7 : Principales voies du métabolisme oxydatif de l'éthanol ADH.

Figure 8 : les différentes sources radicalaires et leurs effets.

Figure 9: structure de base et le système de numérotation des flavonoïdes.

Figure 10: Structures chimiques des flavonoïdes les plus courants dans les aliments.

Figure 11 : L'activité antiradicalaire d'extrait et de la vitamine C vis à vis du radical libre DPPH.

Figure 12 : Inhibition de la peroxydation lipidique par l'extrait *n*-butanol et la vitamine C.

Figure 13 : l'inhibition de l'hémolyse érythrocytaire induite par une solution hypotonique vis-à-vis l'effet de l'extrait et l'acide acétylsalicylique.

Figure 14 : l'inhibition de l'hémolyse érythrocytaire induite par la chaleur vis-à-vis l'effet de l'extrait et l'acide acétylsalicylique.

Figure 15 : Effet de l'éthanol et l'extrait *n*-butanol de la plante (100mg/kg) sur la concentration sérique des aminotransférases : Alanine Transaminase (ALT) et Aspartate Transaminase (AST)

Figure 16 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100mg/kg) et l'éthanol sur la concentration sérique du cholestérol et les triglycérides.

Figure 17 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100mg/kg) et l'éthanol sur peroxydation lipidique vis-à-vis le taux de MDA.

Figure 18 : L'effet de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100mg/kg) et l'éthanol sur la variation du taux du glutathion (GSH hépatique).

Figure 19 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100mg/kg) et l'éthanol sur la concentration sérique du glutathion peroxydase (GPx hépatique).

Figure 20 : L'effet de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100mg/kg) et l'éthanol sur la variation du taux de la catalase (CAT).

Figure 21 : Examen histopathologique des tissus hépatiques par la coloration H&E

Liste des tableaux :

Tableau 1: Principales classes de composés polyphénoliques.

Tableau 2 : la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes dans l'extrait *n*-butanol.

Tableau 3 : Les résultats histopathologiques du foie.

INTRODUCTION

Introduction :

Le foie est la glande la plus volumineuse de l'organisme, très richement vascularisé, situé pour sa plus grande partie du côté droit de la cavité abdominale, juste au-dessus du duodénum, il présente un aspect rouge brunâtre, car pas moins d'un litre et demi de sang traverse cet organe chaque minute ce qui lui confère cette couleur foncée. En raison de sa masse cellulaire et de sa richesse en enzymes dont certaines sont spécifiques, il assure plusieurs fonctions physiologiques essentiellement la fonction métabolique, la fonction de détoxification et la fonction de sécrétion et d'excrétion biliaire (Tortora et Derrickson, 2016).

Au cours des dernières décennies, l'hépatotoxicité devient un terme actuel lié à un très grand nombre de causes, car le pouvoir d'une substance endogène ou exogène à provoquer des dommages au niveau cellulaire est considérablement joint à une variété de sources comme les xénobiotiques médicamenteux ou alcooliques, ayant une capacité à générer un dysfonctionnement au niveau de la fonction physiologique du foie (Bouchet et Cuillere, 2010).

L'éthanol est décrit comme étant l'une des sources les plus étudiées au niveau des laboratoires toxicologiques, en raison de son aptitude à exécuter une toxicité aiguë ou chronique, en suivant un chemin métabolique au niveau du foie qui mène vers trois voies essentielles : la voie de l'alcool déshydrogénase dans le cytosol, le système d'oxydation microsomal situé dans le réticulum endoplasmique et la catalase située dans les peroxyosomes, qui conduisent à la formation de l'acétaldéhyde, qui est le métabolite actif de la dégradation de l'alcool. Ce dernier est absolument un portail qui dirige vers une situation du stress oxydatif (Teixeira-Clerc, 2015).

Dans le cadre de la lutte contre l'hépatotoxicité provoquée essentiellement par l'éthanol (Silvain et Chagneau-Derrode, 2006), la phytothérapie devient un projet qui doit être bien investi, car elle constitue l'un des fondements de la médecine traditionnelle pratiquée à travers le monde, par l'utilisation des plantes comme sources de substances naturelles actives. Parmi ces plantes médicinales on trouve des plantes hépato-protectrices qui font et restent l'objet de nombreuses recherches *in vivo* comme *in vitro*, notamment dans la recherche de nouveaux constituants naturels, tel que les composés phénoliques.

La flore algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% sont endémiques reste très peu exploitée sur le plan pharmacologique (Matés *et al*, 1999) et elle semble être mériter à explorer dans le domaine de la recherche de molécules antioxydantes et ou à effet thérapeutique originaires de plantes.

A partir de ces données, nous nous sommes intéressés à étudier une plante endémique appartenant à la famille des Astéracées qui est très utilisée en médecine traditionnelle en Algérie pour traiter plusieurs maladies. Ce travail vise à évaluer l'effet hépato-protecteur et antioxydant de

cette plante chez un modèle de rats hépatotoxique par l'administration de l'éthanol (Martin *et al.*, 2018).

Notre travail sera réparti en deux sections, dont la première est une étude bibliographique, dans son premier chapitre nous présenterons les principales notions du foie, son anatomie, ses fonctions, sa constitution cellulaire. Nous aborderons dans le deuxième chapitre les pathologies du foie comme étant l'hépatite médicamenteuse et le cancer du foie. Dans un troisième chapitre nous allons nous intéresser à la toxicité de l'éthanol : son métabolisme, et les pathologies provoquées par cette substance toxique. Ainsi que l'étude des marqueurs hépatiques sera le sujet du quatrième chapitre à travers lequel nous présenterons les différentes enzymes du foie détectrices de la toxicité hépatique. Alors que le cinquième chapitre sera centré sur le stress oxydatif et sa liaison forte avec la toxicité de l'éthanol. Et enfin de l'étude bibliographique, le sixième chapitre sera la lumière de l'étude antioxydante tout en abordant les différents mécanismes des composés phénoliques et leurs action hépato- protectrice.

La deuxième section est la partie expérimentale, elle se subdivise en deux parties : dans la première (matériel et méthode) nous décrirons les différentes méthodes utilisées dans ce travail, et la seconde partie exposera les résultats obtenus, la discussion et la conclusion.

Le présent travail est consisté à évaluer l'effet préventif de l'extrait *n*-butanol d'une plante endémique vis-à-vis la toxicité induite par l'éthanol. Plusieurs questions sont posées :

- Est-ce que l'administration de l'extrait *n*-butanol de cette plante peut être associée à une réduction ou élimination de la toxicité de l'éthanol ?
- Est-ce que le stress oxydatif pouvait être associé à cette toxicité ?
- Est-ce que l'administration de cet extrait peut avoir un effet protecteur contre la toxicité de l'éthanol via la réduction de stress oxydant ?

Dans ce cadre, deux études ont été réalisées parallèlement : Etude *in vitro* et étude *in vivo*, dans la partie *in vitro* nous avons déterminé la teneur en phénol et en flavonoïdes de l'extrait *n*-butanol de la plante. Aussi bien l'évaluation de ces activités antioxydantes en utilisant le test DPPH et LPO. L'étude expérimentale *in vivo* vise à évaluer l'effet préventif de l'extrait *n*-butanol de cette plante vis-à-vis d'une toxicité aigüe induite par l'éthanol.

Dans cette partie nous avons évalué et suivi le statut oxydant et antioxydant ainsi que certains paramètres biochimiques chez des rats males de la souche *Albinos Wistar*.

LA PREMIERE PARTIE :
ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le foie :

Le foie est un organe important tout en prenant compte ces fonctions métaboliques complexes et régulatrices, et sa vascularité. Il est la plus importante glande annexe du tube digestif (Bouchet et Cuillere ,2010).

- ✓ **En vue macroscopique** : on divise le foie en 4 lobes le lobe droit, lobe gauche, lobe caudé et le lobe carré, d'autres anatomistes regroupent les deux derniers lobes dans le lobe gauche.
- ✓ **En vue microscopique** : le lobule hépatique est l'unité structurale du parenchyme hépatique (figure 1), chaque lobule détermine une structure hexagonale constituée de travées de cellules hépatocytaires qui sont orientées radialement vers l'extérieur et partent d'une veine centrale du foie (veine centrolobulaire). Dans chaque coin de lobule se trouve un espace porte (espace interlobulaire) (Marieb et Hoehn, 2013).

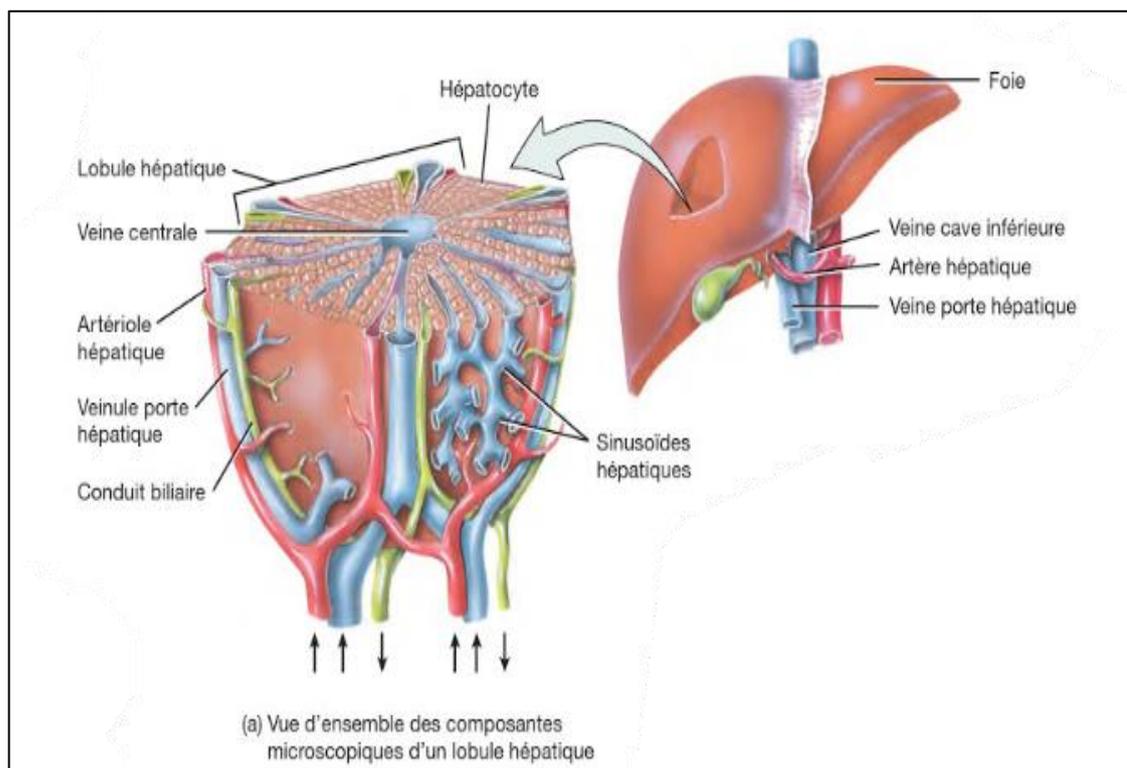


Figure 1 : la structure microscopique du foie (vue d'ensemble des composantes microscopiques d'un lobule hépatique) (Tortora et Derrickson, 2016).

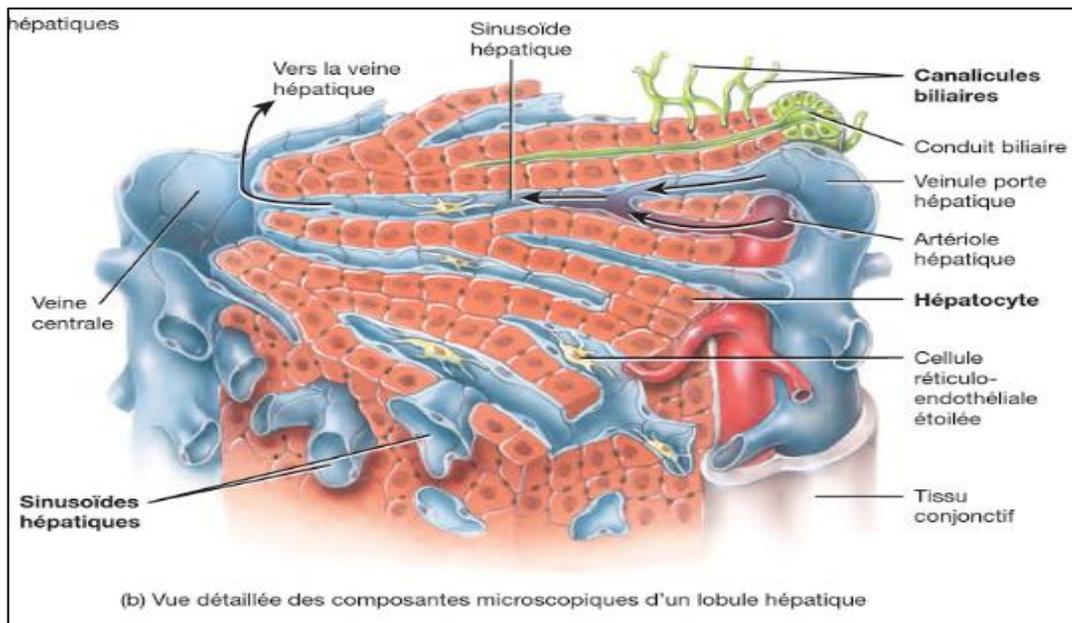


Figure 2 : la structure microscopique du foie (vue détaillée des composantes microscopiques d'un lobule hépatique (Tortora et Derrickson, 2016).

L'unité fonctionnelle du foie n'est plus le lobule mais plutôt l'acinus, cette structure parenchymateuse à la forme d'un losange dont le court diagonale (espace porte) contient une branche de la veine porte, une branche de l'artère hépatique, et un canal biliaire dans chaque bord, le long diagonale contient une veine centrolobulaire dans chaque bord (en fait, à cheval sur deux lobules) (Castaing et Veilhan, 2008).

I.1. Vascularisation hépatique :

Le foie en particulier des autres organes, son système complexe de vascularisation (figure 3) est caractérisé par les vaisseaux afférents :

La veine porte qui assure la vascularisation hépatocytaire (amène au foie le sang vénéneux riche en nutriments absorbés par le système digestif) et l'artère hépatique qui assure une vascularisation surtout biliaire (amenée au foie et le sang artériel riche en oxygène).

Ces vaisseaux afférents forment plusieurs réseaux capillaires dont le plus important est le plexus péri-biliaire dans les espaces portes où il vascularise l'arbre biliaire intrahépatique alors que l'arbre biliaire extra-hépatique reçoit la bile provenant des canalicules biliaires qui se drainent dans un système de réseaux collecteurs au niveau de l'espace porte (Scoazec, 2002 ; Wheater *et al.*, 2015).

D'autre part, le sang mixte provenant des deux vaisseaux afférents : portal et artériel, est transporté par les sinusoides du foie qui sont des capillaires dilatés discontinus limités par un

endothélium très mince et poreux (capillaire fenestré), dépourvu de membrane basale ce qui permet la régulation entre l'échange hépatocytaire et le sang circulant.

Les sinusôides portant le sang mixte qui circule entre les travées hépatocytaires se drainent dans la veine centrolobulaire et se déverse dans la veine cave inférieure passant par les veines sous-hépatiques (c'est la vascularisation efférente) (Scoazec, 2002 ; Wheater *et al.*, 2015).

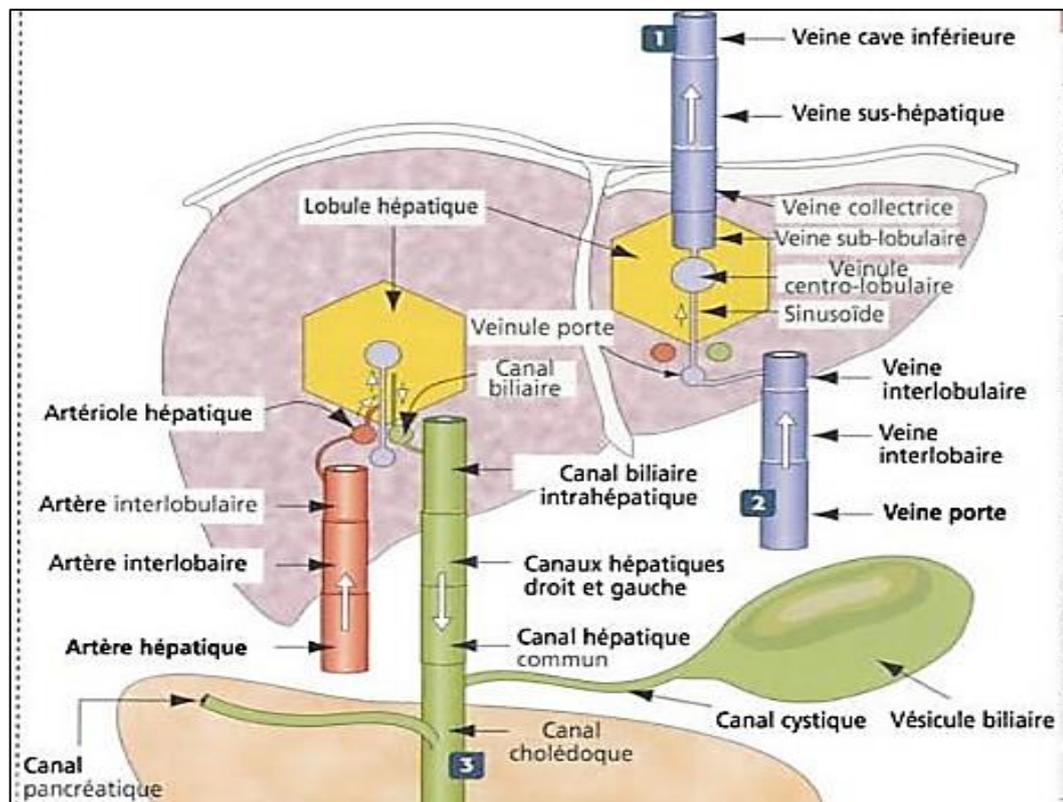


Figure 3 : Entrées et sorties du foie : vaisseaux sanguins et canaux. Application clinique (Kierszenbaum, 2016).

I.2. Les cellules du foie :

Le foie est un organe multicellulaire : parenchymateuses (hépatocytes) et non parenchymateuses (Les cholangiocytes, Les cellules étoilées, Les Cellules Küpffer, Les cellules endothéliales hépatiques), dont elles sont en contact directe ou indirecte pour assurer les différentes fonctions hépatiques (Rosenbaum *et al.*, 1991).

Le foie présent deux différents types de cellules épithéliales : les hépatocytes et les cellules biliaires, dont elles se diffèrent entre eux par leur morphologie et leur physiologie (Scoazec, 1998).

I.2.1- Les hépatocytes :

Les hépatocytes sont le centre de métabolisme et de détoxification des xénobiotiques, ils possèdent à la fois une activité exocrine en synthétisant et sécrétant la bile, et une activité endocrine en synthétisant les protéines plasmatiques.

Le contact direct des travées hépatocytaires, avec les sinusoides hépatiques qu'ils séparent, et l'absence de la lame basale, facilite l'échange des macromolécules (Scoazec, 1998).

I.2.2- Les cellules biliaires (Les cholangiocytes) :

Les cholangiocytes sont les cellules épithéliales responsables principalement de la synthèse et la sécrétion de la bile lors d'une stimulation endogène et exogène, quelques cellules forment avec les hépatocytes le canal d'Hering pour transporter la bile.

Ils interviennent aussi dans la réparation hépatique, et la sécrétion des médiateurs pro-inflammatoires et facteurs de croissances avec d'autres cellules hépatiques (Ballot *et al.*, 2012 ; Yoo *et al.*, 2016 ; Rosenbaum *et al.*, 1991).

I.2.3- Les cellules étoilées du foie (CEF) :

Les cellules étoilées représentent 5 à 10 % des cellules hépatiques, elles sont responsables essentiellement de la fibrogènes et de l'angiogenèse pathologique (la formation de nouveaux vaisseaux à partir de vaisseaux préexistants) (Lemmoine *et al.*, 2013).

On les trouve entre les hépatocytes et les cellules endothéliales des sinusoides (l'espace de Disse) (Sawadogo *et al.*, 2007).

Les CEF sont le siège de stockage de la vitamine A, elles sont capables de synthétiser des composants de la matrice extracellulaire, facteurs de croissances, et des cytokines, elles participent aussi dans la régulation du flux sanguin sinusoidal (Grenard *et al.*, 2005 ; Lemmoine *et al.*, 2013).

I.2.4- Les Cellules Küpffer (KC) :

Ce sont des macrophagocytes stellaires qui se stabilisent dans la lumière sinusoidale (Marieb et hoehn, 2013). Elles sont la première barrière de défense immunitaire dans le foie (Cassard-Doulcier et Perlemuter, 2011), elles le protègent en premier temps de tout agent pathogène arrivant du tube digestif (Degas, 1987).

L'activation des KC par l'Ag stimule la synthèse et la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires, et des prostaglandines pour poursuivre la réaction immunitaire (Naveau, 2001).

I.2.5- Les cellules endothéliales hépatiques :

Les cellules endothéliales hépatiques bordent les différents compartiments vasculaires du foie (veines, artères, sinusoides), elles se différencient entre elles morphologiquement et physiologiquement, elles facilitent l'échange entre le sang et les hépatocytes sous-jacents à cause de leur cytoplasme fenêtré, et l'absence de la membrane basale.

Chaque compartiment responsable de l'une des fonctions suivantes : la coagulation sanguine, la fibrinolyse, la régulation de la pression sanguine, l'angiogenèse, elles interviennent aussi dans la réponse immunitaire (Scoazec, 1999 ; Rosenbaum et al., 1991).

I.2.6- Les pit cells (natural killer) :

Ce sont des cellules immunitaires résidentes dans la lumière capillaire qui peuvent se prolonger jusqu'à la barrière endothéliale, elles interviennent au cours d'une réaction immunitaire où elles détruisent les cellules tumorales (Rosenbaum *et al.*, 1991).

I.2.7- Cellules souches (oval cells) et Régénération hépatique :

Après une agression hépatique, le foie s'occupe de sa propre réparation et la régénération qui est assurée par la prolifération des hépatocytes et des cholangiocytes qui ne nécessite pas forcément la présence de cellules souches (Gilgenkrantz *et al.*, 2011).

Les cellules ovales (cellules ductulaires chez l'homme) sont des cellules progénitrices hépatiques qui se situent dans les canaux d'Hering entre les hépatocytes et les cholangiocytes (figure 4), une fois la prolifération des hépatocytes est inhibée ; les cellules ovales prennent en charge la tâche : elles se prolifèrent, migrent et se différencient en hépatocytes et cholangiocytes. Cette prolifération est régulée par des médiateurs chimiques spécifiques sécrétés au cours d'une réaction inflammatoire (Strick-Marchand *et al.*, 2008).

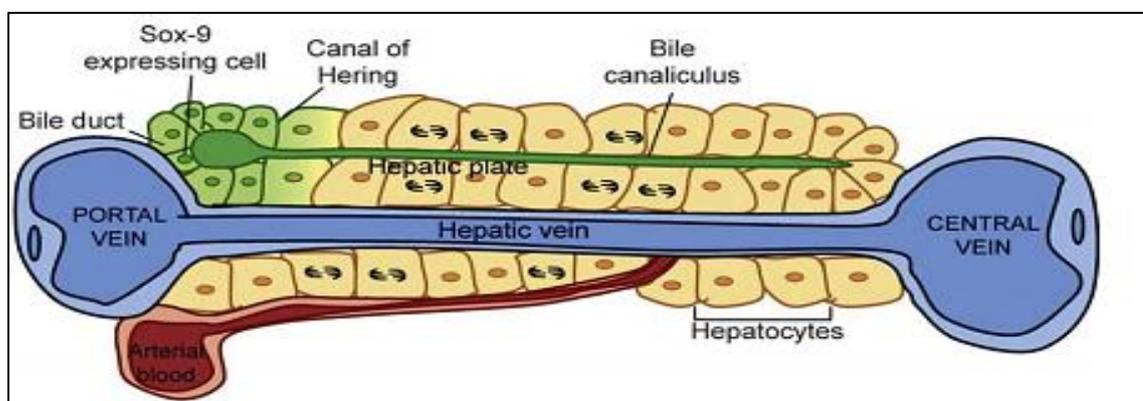


Figure 4: Deux modèles de mécanismes de régénération hépatique en fonction de la nature de la lésion hépatique (Gilgenkrantz *et al.*, 2011).

I.3.Fonctions physiologiques du foie :

L'importance du foie est relativement liée à ces multiples fonctions vitales dans l'organisme : la synthèse, le stockage, l'élimination et la transformation de multiples molécules biologiques (Baudin, 2017).

I.3.1- La synthèse et le stockage :

Les nutriments provenant de la vienne porte vont subir des transformations au niveau des hépatocytes. Une catégorie de molécules issues de la digestion et du métabolisme : comme les acides aminés et le cholestérol entrent dans la synthèse des nouvelles molécules telles que : les lipoprotéines transporteuses (albumines et globulines plasmatiques), des hormones stéroïdiennes, des facteurs de coagulations.

Autres molécules seront stockées, comme : les vitamines A et B12, le glucose en excès (sous forme de glycogène), et le fer (sous forme de ferritine) (Baudin, 2017).

I.3.2- Fonctions d'épuration et d'élimination :

Le foie contient un stock énorme de différentes enzymes qui stimulent plusieurs réactions chimiques telles que les réactions catalytiques et oxydatives pour assurer l'épuration hépatique.

Les substances lipidiques et lipophiles purifiées (comme le cholestérol) seront rejetées dans les canalicules biliaires et éliminées par la bile, d'autre part les substances hydrosolubles comme les ions ammonium, passent dans la circulation sanguine par des transporteurs spécifiques pour atteindre les tubules rénaux et évacuées dans les urines (Baudin, 2017 ; Bévalot *et al.*, 2016).

I.3.3- Fonctions de détoxification :

La capacité hépatique de détoxification est due principalement à la capacité enzymatique de faire perdre les propriétés toxiques et biologiques des différentes xénobiotiques et médicaments, si les xénobiotiques sont hydrosolubles il faut d'abord qu'ils se fixent avec des protéines plasmatiques (l'albumine et l'1-glycoprotéine pour les médicaments) pour initier le métabolisme (Buyse *et al.*, 2007).

La première phase d'élimination se déroule au niveau des microsomes, dont les mono-oxygénases catalysent les réactions d'oxydation et d'hydroxylation qui nécessitent le cytochrome P-450 comme transporteur d'électrons.

Dans la deuxième phase de détoxification les métabolites de la phase « 1 » ou la substance mère se conjugue avec une substance hydrophile afin d'augmenter leur solubilité ce qui facilite leur élimination (Maitre et Blicklé, 2008).

I.3.4- Fonctions immunitaires :

Le foie est considéré comme un organe immunitaire original, cette fonction est assurée par l'abondance des cellules immunitaires hépatique d'une part, et la double vascularisation qui apporte au foie les différents agents pathogènes (cellules métastatiques, toxines, produits bactériens...) d'autre part.

Le système immunitaire hépatique est basé sur deux mécanismes de défense, dont le premier est immédiat, naturel et non spécifique dit : l'immunité innée, très développée

Le deuxième mécanisme est spécifique, lent et plus efficace : l'immunité adaptative, dont les cellules dendritiques présentent les peptides pathogéniques pour recruter les lymphocytes T naïfs (d'autre cellules immunitaires hépatiques capables de recruter des lymphocytes T « LT » avec différente efficacité) pour initier la réaction adaptative (Ballot *et al.*, 2012).

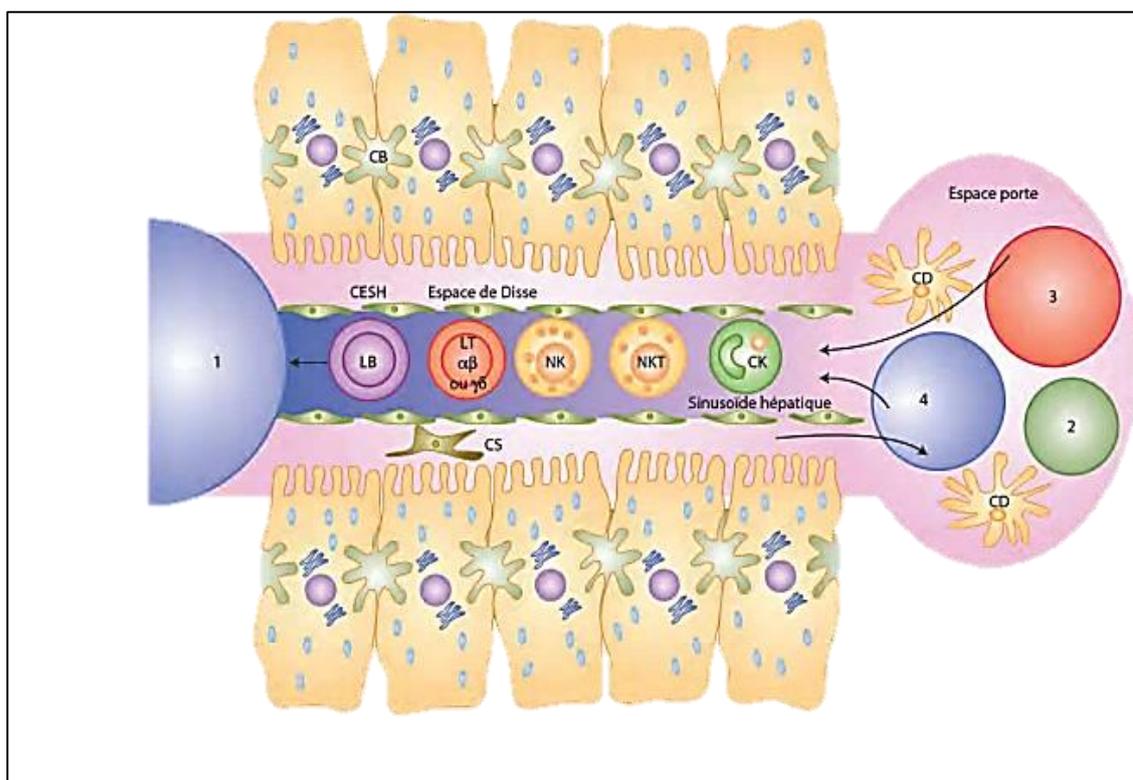


Figure 5 : Organisation d'un lobule hépatique et d'une travée hépatocyttaire avec les principales cellules de la réaction immunitaire dans le foie (Ballot *et al.*, 2012).

1 : veine centrolobulaire. 2 : canalicule . 3 : artère hépatique . 4 : veine porte . CB : canalicule biliaire . CD : cellule dendritique. CESH : cellule endothéliale de sinusoiides hépatiques. LB : lymphocyte B . LT : lymphocyte T . NK : lymphocytes naturel kiler. NKT : lymphocytes naturel kiler T. CK : cellule de kupffur . CS : cellule stallaire.

I.3-5- Fonctions hématopoïétiques :

Pendant l'ontogenèse, les CSH (cellules souches hématopoïétiques) migrent de la région périaortique vers le foie, où elles vont se multiplier et se différencier en cellules sanguines (Catherine et Josselyne, 2006).

Chez l'homme le foie ne joue plus le rôle hématopoïétique sauf dans quelques cas pathologiques (leucémie, néoplasme myéloprolifératifs) (Inra *et al.*, 2015).

Le foie assure l'équilibre entre les facteurs pro- et antihémostatique lors d'une lésion vasculaire, il synthétise la majorité des enzymes, protéines du système fibrinolytique, des facteurs et inhibiteurs impliqués dans l'hémostase (Dieterlen-lièvre *et al.*, 2006).

I.3.6- Formation et excrétion biliaire :

La bile est un liquide alcalin regroupe la bile hépatocyttaire (caniculaire) et la bile vésiculaire, elle facilite l'absorption des substances lipidiques et lipophiles

La bile hépatocyttaire résulte un flux hépatocyttaire dû à la sécrétion des acides biliaires, la bilirubine, xénobiotiques, eau et électrolytes...etc.

Les cholangiocytes, par ces processus d'absorption/sécrétion avec la réabsorption d'eau et d'électrolytes provoquent des modifications au niveau de la bile hépatique qui se transforme en bile vésiculaire (5 à 20 fois plus concentrées que la bile hépatique). La sécrétion de la bile dans l'intestin est assurée par la stimulation des contractions musculaires des vésicules biliaires par l'intermédiaire des cholécystokinines (Bévalot *et al.*, 2017).

I.3.7- Fonctions métaboliques :

Le foie s'occupe de l'homéostasie nutritionnelle, après recevoir le sang veineux riche en nutriments et en xénobiotiques, il intervient dans la dégradation, métabolisation et le stockage des nutriments (leverage, 1999).

a. Le métabolisme des carbohydrates :

Les glucides et surtout le glucose sont des substances énergétiques dépendantes pour l'activité de l'organisme, un excès de glucose stimule leur stockage dans le foie par le transporteur GLUT-2, puis la glycogène synthétase le transforme en glycogène (glycogénogenèse).

Une fois la concentration du glucose est diminuée, une glycogène phosphorylase dégrade le glycogène en glucose (glycogénolyse).

b. Le métabolisme des lipides :

Lorsque le foie atteint son maximum de stockage en glucose (70-120 g), l'excès du glucose se transforme en acides gras (lipogenèse), puis en triglycérides.

Ces acides gras, et selon la nécessité physiologique vont subir une β -oxydation dans la mitochondrie pour donner à la fin de chaque tour un Acétyl-CoA qui entre dans le cycle de Krebs qui se termine par la production des corps cétoniques.

Ces derniers représentent une réserve énergétique non glucidique (Néoglucogenèse) (Larger et Ferré, 2016 ; Maitre et Blicklé, 2008).

c. Métabolisme des protéines :

Les acides aminés issus du catabolisme des protéines alimentaires et protéines viscérales participent dans la synthèse de plusieurs protéines plasmatiques, l'azote provenant de ce catabolisme se transforme en urée qui doit être éliminé par une filtration rénale (De Luca *et al.*, 2013).

d. Métabolisme d'hème :

L'hème est synthétisé principalement au niveau des cellules érythropoïétiques et dans les hépatocytes, dont il intervient dans la synthèse des cytochromes et des hémoprotéines.

Au cours d'une phagocytose érythrocytaires, le fer est recyclé de l'hème dégradé par les macrophages hépatiques (Peoc'h *et al.*, 2016).

II. Les pathologies du foie :

Le foie est connu comme étant l'organe le plus sensible de l'organisme, face à des agressions internes ou externes qui pourront altérer son fonctionnement physiologique normal, pour cela il existe plusieurs pathologies dont on doit les mettre sous une surveillance médicale et biologique :

II.1- L'hépatite médicamenteuse :

Le foie est le lieu de la métabolisation de plusieurs médicaments, une consommation chronique de certains médicaments notamment l'anti-histamine, morphine, codéine, aspirine, paracétamol...etc. Peut entraîner une inflammation du foie dite : l'hépatite médicamenteuse. Le gamma glutamyl transpeptidase est une molécule responsable du transport des médicaments au foie, et elle joue un rôle important en aidant le foie à métaboliser des médicaments et d'autres toxines. L'élévation de la gamma GT provoque trois types d'hépatite médicamenteuse :

II.1.1- L'hépatite cholestatique :

Dans ce cas, et plus à l'inflammation du foie, un arrêt de la circulation de la bile sera marqué. Cette pathologie est due à l'élévation de phosphatase alcaline provoquée par l'élévation du γ GT.

II.1.2- L'hépatite cytolitique :

Une inflammation du foie associée à une cytolysse des hépatocytes et une élévation des transaminases.

II.1.3- L'hépatite mixte :

Située Entre l'hépatite cholestatique et cytolitique (Meunier *et al.*, 2018 ; Gerad *et al.*,2017).

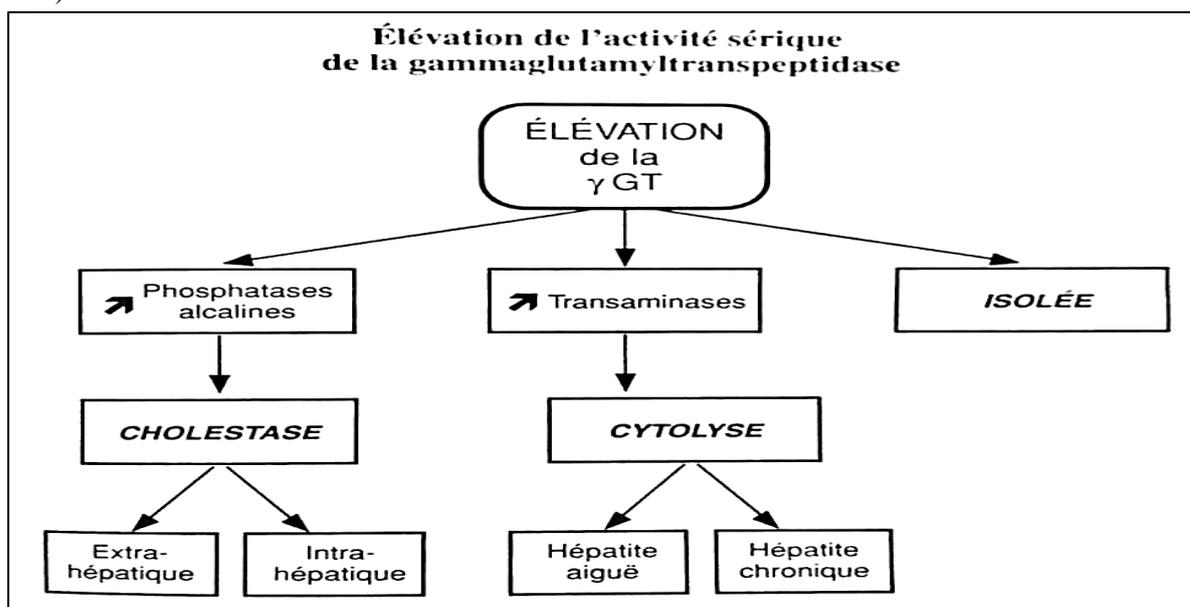


Figure 6 : L'effet de l'élévation du gamma glutamyl transpeptidase GT (Buffet, 1999).

II.2- Cancer du foie :

Il y'en a deux types de cancer du foie : le cancer secondaire qui commence dans un organe autre que le foie, puis il se propage envers ce dernier, et cancer primaire qui touche principalement les hépatocytes, avec des infections chroniques comme l'hépatite A et B et la cirrhose.

L'exposition continuelle du foie à des pathologies chroniques entraîne son irritation et une inflammation prolongée conduit à une mutation des hépatocytes et au développement du cancer (Bosch *et al.*, 2004 ; Monge, 2008).

III. La toxicité de l'éthanol :

L'éthanol a la capacité d'atteindre tous les tissus de l'organisme, ainsi d'affecter leurs fonctions vitales, cette capacité est due à la propriété hydrosoluble et liposoluble de ses molécules (Silvain et Chagneau-Derrode, 2006).

III.1 Le métabolisme de l'éthanol :

Lorsque l'alcool entre dans le corps humain, il est absorbé au niveau de la flore intestinale et atteint la circulation sanguine, dont une partie est implantée au niveau des reins et la plus grande quantité va au foie (les hépatocytes), dont elle sera métabolisée par trois voies métabolique : la voie de l'alcool déshydrogénase dans le cytosol, le système d'oxydation microsomal situé dans le réticulum endoplasmique et la catalase située dans les peroxyosomes, qui conduisent à la formation d'acétaldéhyde transformé en acétate sous l'influence de l'alcool déshydrogénase (ALD) et de l'aldéhyde déshydrogénase (ADH) (figure 7), l'acétate est le métabolite actif de l'éthanol qui est responsable de la régénération d'un excès d'équivalents réducteurs, principalement sous forme de nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NAD) (Silvain et Chagneau-Derrode, 2006).

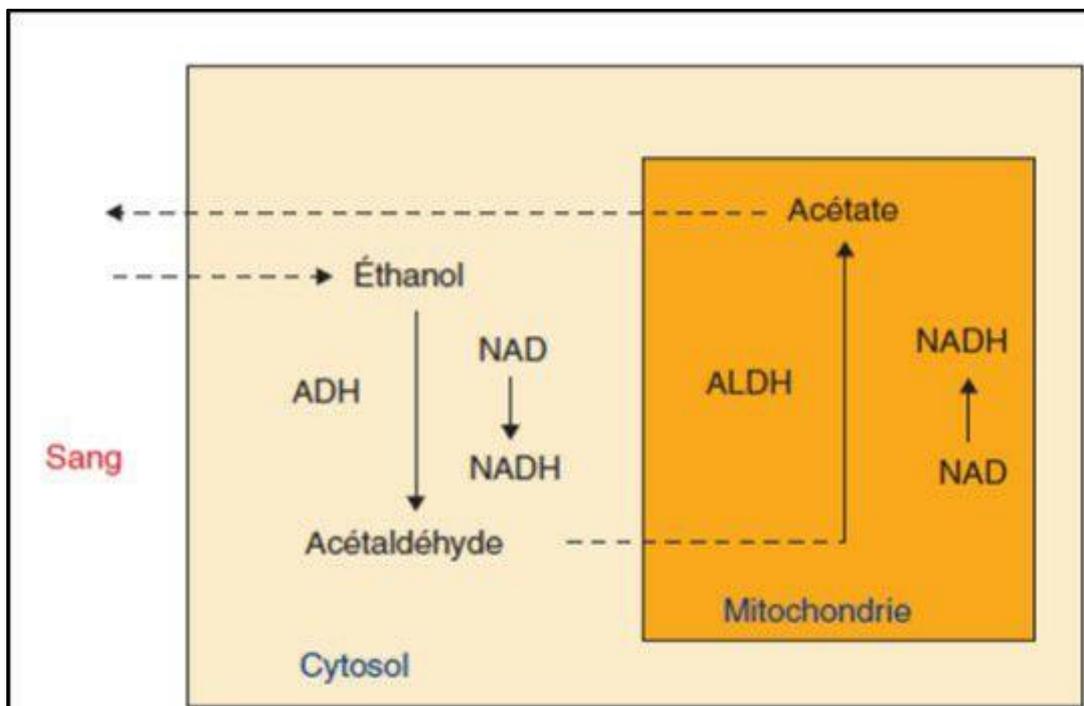


Figure 7 : Principales voies du métabolisme oxydatif de l'éthanol ADH : Alcool déshydrogénase / ALDH : Aldéhyde déshydrogénase / NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide / NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide hydrogéné (Silvain et Chagneau-Derrode, 2006).

Ce métabolisme conduit à plusieurs effets, parmi lesquels deux sont essentiels :

✓ Effet toxique de l'éthanol :

L'acétaldéhyde est le métabolite actif de l'éthanol responsable de sa toxicité.

Il est la cause principale du stress oxydatif spécifiquement au niveau hépatique, cette toxicité due à la liaison d'acétaldéhyde avec l'ADN en formant des adduits instables qui vont altérer la fonction vitale.

La liaison d'acétaldéhyde avec les protéines donne comme produit des néo-antigène qui seront responsables de la réaction immunitaire.

✓ L'augmentation des apports des acides gras :

L'éthanol augmente le glycérol -3 phosphate qui est responsable de la synthèse des triglycérols, en raison d'augmentation du taux des NADH+/NAD dans le foie. Comme résultat il y'aura une augmentation de la synthèse des acide gras d'une part et d'autre part l'augmentation de la lipolyse par la stimulation de l'axe adrenergopituitaire (Silvain et Chagneau-Derrode, 2006).

III.2- Les pathologies du foie provoquées par éthanol :

III.2.1- L'hépatite alcoolique :

Comme il est convenu ; que la synthèse de l'alcool utilise de nombreuses bactéries, y compris : la Gram négative ; ce type de bactéries contient l'endotoxine LPS dans ses membranes externes.

Ce dernier et lors de son passage dans la circulation sanguine et son accès aux cellules hépatiques, il se lie à leurs protéines porteuses LPS en formant un complexe LPS-LPS, ce dernier se dirige vers les cellules Kupffer dont il se liera au CD14 de leurs membranes.

Cette liaison (LPS-LPS avec CD14) induit une activation de protéine MD2 en se liant au récepteur toll-like 4 TLR4 pour se joindre à la protéine attachante du complexe LPS-LPS, cette liaison conduit à l'activation de la réponse de croissance précoce 1 (EGR1) EGR1ce qui conduit à des changements dans le domaine interféron-1-tyrène qui a un rôle principal dans le TNF- stimulé par les lipopolysaccharides.

La mitochondrie est la cible préférée du TNF alpha (régénération des ROS et la déplétion du glutathion), donc comme conséquence il y aura une libération de cytochrome C et l'expression du ligand Fas, conduisant à l'apoptose hépatique par activation de caspase 3 (Buffet, 1999).

III.2.2- La fibrose :

Les cellules de stellaires présentes principalement dans le parenchyme hépatique, ont un rôle dans le stockage de la vitamine A et fabrication du collagène après activation par les cytokines secrétées par les cellules de Kupffer notamment le TNF alpha et TGF beta ; la fibrose est la conséquence principale de l'hépatite alcoolique car dans le cas de l'hépatite alcoolique il y aura une production excessive de la TNF alpha produite par les cellules de Kupffer.

Comme résultat il y aura une amplification du signal qui signifie qu'une production de grande quantité de collagène et des constituant de la matrice extracellulaire est établie, et ce qui conduit à une nécrose cellulaire (Blanc *et al.*, 1997).

III.2.3- De la fibrose à la cirrhose :

Les cellules de stellaires activées ont deux rôles principaux : le premier est la synthèse du collagène et des constituants de la MEC par la production de myofibroblastes, le deuxième est la sécrétion du TIMP 1 et 2 qui ont pour but d'inhiber les métalloprotéinases matricielles, ce qui les empêche de décomposer le matériel fibrique dans la matrice extracellulaire.

La combinaison entre ces deux rôles conduit à la formation des tissus cicatriciels qui remplacent le parenchyme normal, ces derniers bloquent la circulation du sang portale à travers l'organe, en empêchant le fonctionnement physiologique normal (Schuppan et Afdha, 2009).

III.2.4- La stéatose :

Le métabolite actif de la dégradation de l'éthanol modifie le potentiel NADH/NAD⁺, cette modification produit un excès des radicaux libres, ce résultat provoque une inhibition de l'oxydation des acide gras et le cycle de Krebs d'une part, et d'autre part inhibe le récepteur PPAR alpha, et la protéine kinase AMP et stimule la protéine liant l'élément régulateur de stérol 1. En conclusion remodelage métabolique du foie → stockage de graisse → stéatose (Pariante, 1998 ; Benhamou et Erlinge, 2008).

IV- Les marqueurs hépatiques :

Les marqueurs hépatiques sont des molécules biochimiques, connues comme étant des protéines ou des glycoprotéines, et plus rarement comme des enzymes ; trouvées dans plusieurs organes, permettant la détection de certaines pathologies hépatiques liées à une concentration anormale de ses molécules.

Les marqueurs d'atteintes hépatiques sont connus par leur première classe majoritaire qui est : les marqueurs de la cytolysse hépatiques ; qui traduisent la mort cellulaire subdivisée en :

- ✓ Mort cellulaire directe : toxique
- ✓ Mort cellulaire indirecte : fuite des enzymes hépatocytaires et des transaminases dans le plasma

Cette fuite des marqueurs biochimiques pourra être une cause majeure de l'atteinte hépatique décrite par certaines pathologies comme :

- ✓ Cholestase intra-hépatique : tumeurs-cirrhose biliaire primitive-cholangite sclérosante-cholestase gravidique.
- ✓ Cholestase extra-hépatique : lithiasie- tumeurs du pancréas- pancréatite chronique-tumeurs des voies biliaires.

IV.1-Les marqueurs biochimiques :

IV.1.1- Les transaminases :

Les transaminases ou aminotransférases sont des enzymes tissulaires catalysant le transport de radicaux alpha-aminés de l'alanine et l'acide aspartique à l'acide alpha-cétoglutarique.

Elles sont présentes dans le foie, les muscle ; les reins, le pancréas, et d'autres tissus ; et leur élévation n'est donc pas un signe exact de l'atteinte hépatique.

En cas de la myopathie, de rhabdomyolyse ou d'infarctus du myocarde ces deux enzymes sont augmentées et plus spécifiquement les ASAT en cas d'hémolyse.

Leur concentration sérique est prescrite inférieure de 25 à 60 UI, qui n'a jamais été le bon reflet de l'importance des lésions hépatiques : parfois de fortes concentrations ne donnent que de simple hépatite virale, or qu'a des concentrations trop minimales il pourra y résulter des cirrhoses dites sévères (Zenhausern, 2011).

On distingue deux principales classes des transaminases :

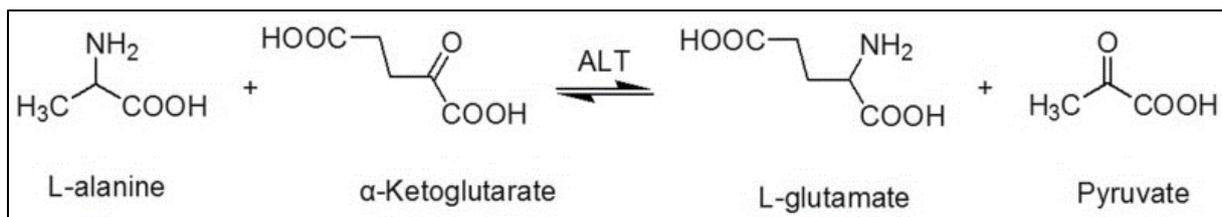
- ✓ ALAT, Alanine aminotransférase. Autrefois appelée Transaminase Glutamo pyruvate (TGP ou SGP), prédominante dans foie.
- ✓ Transaminase Glutamo Oxaloacétique (GTO ou SGOT), prédominante dans le cœur.

L'ALT est un marqueur sensible et spécifique d'une atteinte hépatocellulaire, par contre, L'AST est moins sensible et moins spécifique que l'ALT pour le foie. On le trouve également dans des autres organes (Werner et Giostra, 2013).

IV.1.1.1--Alanine aminotransférase :

ALAT est une enzyme retrouvée au niveau du cytosol des cellules hépatiques, formée de 496 acides aminés, et codée par le gène ALT au niveau du chromosome 8, avec une demi-vie estimée à 47 ± 10 heures (Werner et Giostra, 2013).

- ✓ Cette enzyme catalyse la réaction suivante :



Cette enzyme est de la classe des transférase. Appartenant aux transaminases dont son activité est mesurée en biologie clinique lors du bilan hépatique ; Cette activité dans les cellules hépatiques est approximativement estimée à 3000 fois plus élevée que celle de l'ALT sérique (Buffet, 2008).

Lorsqu'une lésion hépatique survient, l'ALT est libérée par les cellules hépatiques lésées et provoque une élévation significative de l'activité de l'ALT sérique (Pegal, 2005).

Le dosage de l'ALAT est nécessairement utilisé dans le diagnostic et la détection de certaines pathologies directes ou indirectes d'origine : infectieuses (hépatite virale), toxiques (alcool, médicaments), traumatiques, auto-immunes, ou cancéreuses.

Ce dosage est un moyen pour comprendre le bon mécanisme de l'atteinte hépatique, et aussi le développement du caractère défensif de l'organisme (Buffet, 2008).

Un taux augmenté de cette enzyme ALAT a été observé en cas de pathologies comme : les parasitoses, pancréatites, infarctus myocardiques, et plus précisément au niveau de la cytolysse hépatique. Ainsi qu'il a été prescrit à 40% d'élévation en cas du cancer hépatique provoquant sa libération excessive au niveau du sérum sanguin (Pegal, 2005).

On ne doit absolument pas négliger que l'effort physique extrême est ainsi un facteur d'induction d'une élévation réversible et à court terme de l'ALT, ceci a été prouvé suivant une étude réalisée sur l'évaluation du taux sérique de cette enzyme chez des sujets différents :

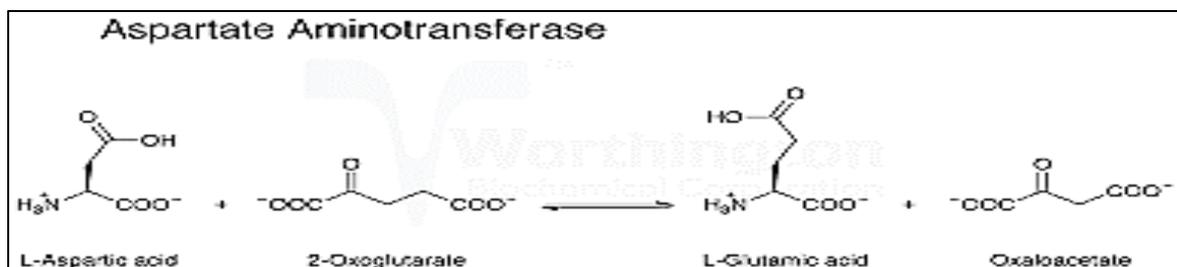
- ✓ Des boxeurs thaïlandais, ont montré un taux d'ALT 2 fois plus élevé que la valeur de référence après un combat réalisé chez 20 boxeurs thaïlandais adolescents 25 ans.
- ✓ En outre, une augmentation a été observée lors du 4ème jour de course d'un ultra-marathon de 1600 km 26, chez 9 coureurs par rapport aux concentrations de base (Pegal, 2005).

De nombreux auteurs attribuent l'élévation de l'ALT après un effort physique à une lésion musculaire. En revanche, une activité physique modérée est utile pour normaliser les taux d'ALT (Bedossa, 2009).

IV.1.1.2- Aspartate aminotransférase :

L'Aspartate aminotransférase (ASAT) est une enzyme de la classe des transférases, retrouvée dans les tissus musculaires, principalement du cœur, des poumons, des reins, du foie et du cerveau, et également dans le squelette.

- ✓ Cette enzyme catalyse la réaction suivante :



Elle catalyse la réaction de transfert du groupement amine (NH₂) de l'Aspartate sur l'acide acétoglutarique avec formation d'acide glutamique et d'acide oxaloacétique (Bedossa, 2009).

L'aspartate aminotransférase existe sous la forme de deux isoenzymes, l'une mitochondriale (mAspAT) et l'autre cytosolique (cAspAT). Bien que leurs propriétés chimiques et physiques, catalysent la même réaction avec des étapes catalytiques subtilement différentes (Bedossa, 2009).

Cette enzyme est codée sur le chromosome 14, sa fonction dépend de la vitamine B6 phosphorylée qui est son coenzyme, et sa demi-vie est estimée à 17 heures (Steanel, 1998).

Le taux d'ASAT augmente dans les affections cardiaques (l'infarctus du myocarde, arrêt cardiaque, chirurgie cardiaque) et musculaires (myopathie, poly myosite, traumatisme)

Le rapport ASAT/ALAT peut aider à déterminer une probabilité qu'une atteinte hépatique soit due à l'alcool ou aux autres xénobiotiques. Cette enzyme est moins sensible et moins spécifique que les ALAT pour le foie (Bedossa, 2009).

Le rapport ASAT/ALAT ≥ 1 détecte une maladie hépatique au stade de cirrhose estimée à 26% (17) (Buffet, 2008). Or qu'un rapport ASAT/ALAT ≥ 2 , est trouvé chez 70% de maladies alcooliques du foie, et 4% des hépatites virales aiguës (Bedossa, 2009).

IV.1.2- La phosphatase alcaline :

La phosphatase alcaline est connue comme étant une enzyme qui permet le déroulement de certaines réactions chimiques dans le sang, dont sa concentration est mesurée pour diagnostiquer l'état pathologique de certaines maladies, plus particulièrement dans le foie et dans les os.

Les phosphatases alcalines dites aussi PAL connues comme étant des monoestérases, sont localisées généralement dans les voies biliaires, les os, le foie, et aussi dans les intestins, elles hydrolysent l'acide phosphorique et spécifiquement les fonctions esters phosphoriques en position 5-et 3- de plusieurs types de molécules telles que les nucléines et les alcaloïdes et libèrent des phosphates minéraux insolubles (déphosphorylation) (Chevrot, 2007).

Les PALs considérées comme des enzymes classiques de la cholestase : jouent un rôle trop important dans la minéralisation du squelette, ainsi dans le transport des radicaux phosphates (Chevrot, 2007).

Ses valeurs de références pour un adulte sont comprises, selon les normes du laboratoire, entre environ 30 UI/l et 125 UI/l. Chez l'enfant et l'adolescent, le taux sanguin se situe entre 70 UI/l et 450 UI/l

Un dysfonctionnement du foie dit : insuffisance hépato-cellulaire (tel que la cirrhose, l'hépatite, l'inflammation du foie) pourra causer une baisse des phosphatases alcalines, ainsi une maladie héréditaire appelée hypophosphatasie est caractérisée par une diminution importante du taux de phosphatases alcalines (Chevrot, 2007).

IV.1.3-Bilirubine Totale :

C'est un pigment jaune à l'origine de la coloration des urines, provient de la dégradation de l'hémoglobine des globules rouges sénescents au niveau de la rate. Elle circule dans le sang liée à une protéine (l'albumine), puis captée au niveau du foie et excrétée dans la bile.

L'ictère, ou jaunisse, donne à la peau une couleur jaunâtre, causé par une accumulation de bilirubine dans le sang. Un taux trop élevé ou une augmentation brutale de bilirubine dans le sang peut laisser supposer une destruction anormale des globules rouges, une hépatite ou une cirrhose du foie.

La bilirubine existe principalement sous 2 formes : la bilirubine dite libre (indirecte ou non conjuguée) qui est toxique et transformée par le foie en bilirubine directe dite conjuguée qui sera

ensuite éliminée dans les matières fécales et urinaires : excrétée dans la bile, elle colore les selles en brun (Horn *et al.*, 2005 ; Ganong, 2012).

Un dosage sanguin de bilirubine peut être prescrit en cas d'un jaunissement de la peau ou un dysfonctionnement du foie ou de la vésicule biliaire.

La valeur normale du taux de bilirubine total est à la naissance, compris entre 8 - 25 mg /, à la 1ère semaine, entre 25 - 120 mg /L, à la 2ème semaine, entre 10 - 110 mg /L, à 3ème semaine, entre 6 - 30 mg /L et à 4ème semaine, entre 3 - 15 mg /L. A partir de 1er mois et à l'âge adulte, il est compris entre 3 -10 mg /L (Teeterr, 2001).

Au-dessus de 30mg/l, la peau et les yeux jaunissent du fait d'une trop forte concentration de bilirubine. Une hyperbilirubinémie est observée chez les adultes à cause d'une hémolyse (augmentation de la destruction des globules rouges), le syndrome de Gilbert, maladie génétique ,et une hépatite ou une constriction biliaire (Teeterr, 2001).

IV.1.4-Gamma Glutamyl Transférase :

La « γ GT » est une enzyme de la classe des transférases découvertes en 1950, principalement trouvée dans les membranes des cellules ayant une activité importante de sécrétion et d'absorption, aussi dans les tissus et les organes, et particulièrement abondante dans le tube proximal rénal, le corps ciliaire, les vésicules séminales, le foie, le pancréas, la glande mammaire et les villosités intestinales. Elle catalyse le transfert d'un groupement « γ -Glutamyl » vers un accepteur d'acide aminé, beaucoup plus active au niveau rénal et au pancréas, et moins active au niveau du foie.

Lors de la pathologie hépatobiliaire, comme : Cholestase, hépatites, métastase hépatique, tumeurs primitives du foie et cirrhose alcoolique le taux de cette enzyme augmente significativement (Véléa, 2005).

Chez les sujets alcooliques, les affections rénales, pancréatiques, cardiaques, pulmonaires, les tumeurs cérébrales et les affections malignes comme le cancer du sein et les mélanomes malins : le taux de la « γ GT » sérique augmente significativement et sera pris comme un test de surveillance du sevrage de ses pathologies (Enoiu, 2001).

IV.1.5-Alpha-foeto-protéine :

Est une glycoprotéine sérique, constitue un marqueur tumoral essentiel observé dans les tumeurs des testicules, l'hépatite virale aigue, cancer des voies biliaires, malformations fœtales, et aussi dans l'hépatite alcoolique (Beaudeau et Durand, 2013 ; Ma, 2013 ; Kubab *et al.*, 2015). Elle est présente pendant la période fœtale, et quasiment disparu chez l'adulte, dont sa valeur est inférieure à 20 μ g/L.

Une élévation de l'alpha-foeto-protéine ne signifie pas systématiquement un cancer du foie car son expression est liée à la régénération des hépatocytes (et à l'augmentation des mitoses, elle augmente dans 80% des cas de cancers du foie, atteignant des concentrations supérieures à 500 µg/L (Kubab *et al.*, 2015).

V. Le stress oxydatif :

Plusieurs recherches scientifiques ont montré que le stress oxydatif est la cause principale de certaines pathologies comme : les tumeurs, les insuffisances rénales, les maladies hépatiques, les atteintes osseuses...etc. et qui reste toujours un sujet ouvert à être étudié.

Le stress oxydatif est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydantes.

La production excessive des radicaux libres comme l'anion superoxyde pourra entraîner plusieurs pathologies comme : des anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse, dépôts de protéines ou de lipofuscine dans les tissus, et aussi bien des cancers et des tumeurs de plus en plus irréversibles.

Il semble donc important de tester l'effet thérapeutique des molécules antioxydantes naturelles ou de synthèse qui peuvent agir dans la prévention des maladies dégénératives à la condition d'être apportées très tôt avant l'apparition de mécanismes induits irréversibles, et à doses modérées car la production basale de radicaux libres est indispensable à de nombreuses fonctions et ne doit pas être supprimée (Favier, 2006).

V.1- Le radical libre :

Atome, ou molécule chimique instable comportant au moins un électron célibataire dans une couche externe, produite en faibles quantités, et entre dans une réaction avec l'oxygène en donnant une instabilité et des dégâts parfois irréversibles.

La surproduction de ses radicaux libres a un effet visible sur le vieillissement de la peau, et seraient impliqués dans de nombreuses pathologies comme des cancers, des maladies cardiaques, des maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer, des intoxications à des médicaments, etc... (Leverve, 2009).

V.2- Les sources radicalaires :

Les radicaux libres ont plusieurs sources qui proviennent aussi bien de l'intérieur qu'a de l'extérieur, avec de différentes origines qui pourront altérer le fonctionnement physiologique normal et sain de l'organisme (Muller, 2007).

✓ Parmi ces sources on pourra distinguer ce qui suit :

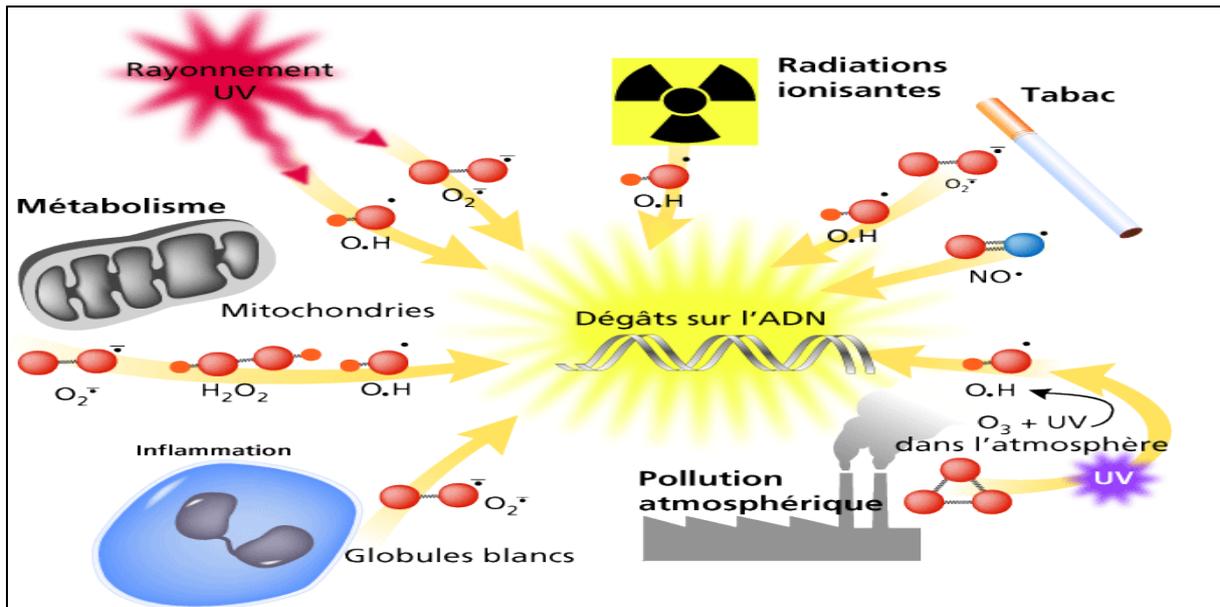


Figure 8 : Les différentes sources radicalaires et leurs effets (Muller, 2007).

V.2.1- Sources internes :

La réponse immunitaire, spécifiquement la réaction des macrophages est considérée comme une source radicalaire importante et aussi une raison pour laquelle notre système antioxydant commence à rétablir son point de défense.

D'une autre part, lors du processus de la synthèse de l'énergie, la chaîne respiratoire est estimée comme une principale source radicalaire, car 2 à 3% de l'oxygène utilisé est mal contrôlé, donnant des dérivés réactifs connus par les ROS : Radical Oxygen Species.

Les radicaux libres internes concernent la réaction des cellules à des processus inflammatoires. Comme dans le cas de la réponse immunitaire, la production de radicaux libres correspond à un mécanisme de défense contre une agression. Ce processus est paradoxal, puisqu'il provoque lui-même une agression, qui lorsqu'elle n'est pas contrôlée, se développe en cascade et de façon relativement rapide (cascade oxydative : l'oxydation d'une espèce entraînant l'oxydation d'une autre espèce de façon cumulative) (Rochat, 2014).

V.2.2- Sources externes :

- Il existe plusieurs sources externes de radicaux libres et de façon générale, la pollution urbaine qui est une source importante de radicaux libres.

- L'oxydation par l'oxygène de plusieurs matières, notamment le bois et le pétrole donne des quantités massives de radicaux libres, exemple : la fumée de la cigarette, les moteurs de voitures, et aussi les produits utilisés dans les lavages des véhicules...etc.

- D'une part plus importante les radiations ionisantes, cosmiques, radioactives, électromagnétiques ou ultraviolettes sont également à l'origine de la production de radicaux libres par les cellules qui y sont exposées.
- Plusieurs contaminants, comme par exemple, les métaux lourds, sont connus aussi pour leur action oxydante, ainsi leur présence dans le sol ou dans nos aliments est à l'origine d'une production de radicaux libres élevée par les cellules exposées à ces conditions.
- Le surdosage, et la consommation non contrôlée des médicaments peut induire un déséquilibre entre les pro-oxydants et les radicaux libres produits par l'organisme, suite à une atteinte médicamenteuse abusée.
- La pratique non contrôlée du sport et le stress psychosocial, a un effet direct sur le système hormonal, qui pourra donner une perception importante du stress augmentant la synthèse des radicaux libres dans le corps humain (Defraigne et Pincemail, 2008).

V.3- L'éthanol et le stress oxydatif :

Actuellement, l'induction d'un stress oxydatif est liée à une grande partie de la consommation de l'éthanol qui résulte un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants, formant des espèces réactives de l'oxygène dites : « EAO »

C'est vrai que le métabolisme de l'éthanol conduit à la formation des radicaux libres, mais aussi il crée un environnement propice à la formation d'une hypoxie, l'endotoxémie et la libération de cytokines. L'intoxication alcoolique est largement décrite par une peroxydation des lipides membranaires, capable d'oxyder les protéines et l'ADN (Griffon *et al.*, 2001).

L'administration d'éthanol provoque une augmentation de la production hépatique des dérivés réduits de l'oxygène $\bullet\text{O}_2^-$, H_2O_2 et $\bullet\text{OH}$ au niveau de nombreux sites cellulaires, par différents systèmes enzymatiques (Griffon *et al.*, 2001). Leurs principaux sites de production au cours de l'alcoolisation sont représentés par les microsomes, les mitochondries et les cellules de Kupffer. Les systèmes impliqués comportent les chaînes respiratoires microsomales et mitochondriales, et la NADPH oxydase.

V.3.1- Chaîne respiratoire microsomale :

La consommation chronique de l'éthanol provoque une augmentation de l'induction d'une isoenzyme du cytochrome P450 localisée dans le réticulum endoplasmique, le P450E1 (CYP2E1) (Lieber et De Carli, 1970).

Récemment, des études ont montré que les cytochromes tels que les CYP3A sont également inductibles par l'éthanol et impliqués dans le métabolisme de l'éthanol et dans la production des ROS (Niemelä *et al.*, 2000 ; Puntarulo et Cederbaum, 1998).

Les dérivés réduits de l'oxygène ne sont pas les seuls radicaux produits lors de l'oxydation de l'éthanol par le CYP2E1 : des dérivés radicalaires carbonecentrés ont été détectés, possédant leur propre réactivité (Albano *et al.*, 1991).

L'administration simultanée d'éthanol et d'un capteur de spin, transformant le radical 1-hydroxyéthyle (\bullet CH₂-CH₂OH) caractérisé *in vitro* dans des préparations microsomales, a été identifié dans la bile de rats, en un radical plus stable, détectable grâce à la résonance paramagnétique électronique (RPE).

V.3.2- Chaîne respiratoire mitochondriale :

La chaîne respiratoire mitochondriale utilise l'O₂ pour la production de l'ATP, qui résulte des fuites électroniques lors du transfert des électrons par les complexes de la chaîne respiratoire.

Pendant un traitement aigu et chronique par l'éthanol, une augmentation de la production d'anions superoxydes est observée dans la mitochondrie du foie des rats (Sinaceur *et al.*, 1985 ; Kukielka *et al.*, 1994).

Cette production est justifiée par l'augmentation du flux de NADH due au métabolisme de l'éthanol par l'alcool déshydrogénase (ADH) et l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH), et la diminution de l'activité des complexes de la chaîne respiratoire et à la diminution du système de défense représenté par le glutathion (GSH).

L'augmentation du tumor necrosis factor Alcool (TNFa) a souvent été décrite dans certaines conditions d'alcoolisation avec une élévation de la synthèse intracellulaire d'O₂ \bullet – (Hennet *et al.*, 1993).

V.3.3- NADPH oxydase :

L'administration de l'éthanol est une source importante de radicaux libres, représentée par l'activation des cellules de Kupffer liée à l'activation de la NADPH oxydase.

Cette enzyme est un système complexe, formé du cytochrome b558 présent dans la membrane plasmique et de trois protéines cytosoliques (p47phox, p67phox et p21rac) migrant vers la membrane après activation des cellules de Kupffer

La NADPH oxydase, catalyse la formation de l'anion superoxyde libéré à l'intérieur de la cellule, et qui se dismute rapidement en H₂O₂.

Par ailleurs, l'administration aiguë d'éthanol active la NADPH oxydase des cellules de Kupffer (Bautista et Spitzer, 1999). De plus, l'inactivation de la sous-unité p47phox de la NADPH

oxydase (Kono *et al.*, 2000) prévient la formation des radicaux libres mesurés dans la bile par RPE chez les souris alcoolisées.

L'ensemble de ces résultats montre que la NADPH oxydase des cellules de Kupffer représente une source majeure de radicaux libres lors de l'alcoolisation.

V.4- Les antioxydants :

Les antioxydants sont des molécules naturellement présentes dans de nombreux aliments et qui ont une fonction de capteurs des radicaux libres, responsables entre autres du vieillissement des cellules.

Parmi les légumes composés qui se détachent très fortement au niveau de leur propriété antioxydante, les polyphénols sont les plus représentés dans le règne végétal. C'est une famille très large, mais les extraits de pépins de raisin ou de thé sont maintenant bien identifiés, et les résultats présents dans la lutte contre l'oxydation sont tout à fait surprenants (Rolland, 2004).

V.4.1- Les antioxydants endogènes enzymatiques :

✓ La catalase :

La catalase est une enzyme hémique composée de quatre chaînes polypeptidiques. Son site catalytique permet l'élimination du peroxyde d'hydrogène, (Démarchez, 2012) présent à haute concentration, selon la réaction globale suivante :



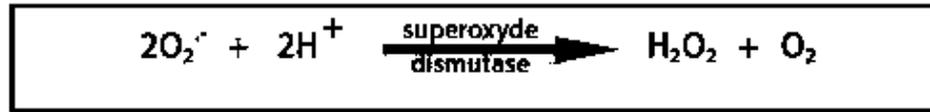
✓ Le glutathion peroxydase (GPx) :

La glutathion peroxydase est une enzyme dépendante du sélénium qui a une forte affinité pour le peroxyde d'hydrogène ; (Démarchez, 2012) elle permet donc l'élimination du peroxyde d'hydrogène, même présent à faible concentration, selon la réaction suivante :



✓ **Les superoxydes dismutases (SOD) :**

Les superoxydes dismutases (SOD) sont des métalloprotéines responsables de la dismutation (Démarchez, 2012) spontanée du radical superoxyde en peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



V.4.2- Les antioxydants endogènes non enzymatiques :

✓ **Le glutathion (GSH) :**

Le glutathion (GSH) est un tripeptide composé de trois acides aminés : l'acide L-Glutamique, la L-Cystéine et la L-Glycine.

Le GSH est le thiol intracellulaire majoritaire. Dans les conditions physiologiques normales, il est présent essentiellement sous sa forme réduite. La mesure du taux GSH/GSSG est une bonne méthode pour évaluer le stress oxydant dans l'organisme (Démarchez, 2012).

✓ **L'acide urique :**

L'acide urique est formé suite à l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine par la xanthine oxydase. Dans les conditions physiologiques, l'acide urique est majoritairement ionisé sous sa forme d'urate (UrH_2^-) (Démarchez, 2012).

C'est un puissant piègeur de radicaux $\cdot\text{OH}$, $\text{ROO}\cdot$ et $\text{NOO}\cdot$ en produisant le radical $\text{UrH}^{\cdot-}$, qui est relativement stable en raison de la délocalisation des électrons dans le noyau purine.

V.4.3- Les antioxydants exogènes :

✓ **Vitamine C :**

La vitamine C ou acide L-ascorbique (AscH) est un antioxydant hydrosoluble réagit directement sur les ROS et en particulier avec les ions superoxydes $\text{O}_2^{\cdot-}$. En limitant la peroxydation lipidique par le piégeage des radicaux peroxyde, elle assure la régénération de la vitamine E par réduction spontanée du radical tocophéryl (Démarchez, 2012).

✓ **Vitamine E :**

Est un antioxydant liposoluble regroupe 8 molécules organiques : 4 tocophérols et 4 tocotriénols, et la forme la plus active étant l'alpha-tocophérol et celle la plus abondante dans l'alimentation étant le gamma-tocophérol.

Elle protège les cellules contre la peroxydation lipidique en neutralisant les radicaux peroxy, alkyle et alcoyle (ROO•) Elle réagit directement sur les peroxydes ce qui conduit à son oxydation en radical tocophéryle (Démarchez, 2012).

✓ **Les caroténoïdes :**

Sont des pigments tétraterpéniques synthétisés dans les chloroplastes des plantes et par certains organismes photosynthétiques comme les algues, quelques bactéries et des champignons. Plus de 600 caroténoïdes sont répertoriés, organisés en 2 grandes classes, les xanthophylles, oxygénés et les carotènes, hydrocarbures analogues au squalène (Démarchez, 2012).

✓ **Les polyphénols :**

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence d'au moins deux groupes phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes (Démarchez, 2012).

VI. Les polyphénols :

Sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal, qu'on peut les trouver dans ces différents organes, Ces composés moléculaires interviennent dans la physiologie de la plante (croissance, germination du pollen, etc. ...) et dans les processus de défense contre d'éventuelles attaques de son environnement (rayons ultra-violet, agents pathogènes, etc...) (Macheix, 1996).

Deux voies principales interviennent dans la synthèse de ces métabolites : la voie d'acétate et la voie de l'acide shikimique qui est basée sur la formation de l'acides hydroxycinnamiques issu de la désamination de chacun de phénylalanine et de la tyrosine (Santhakumar *et al.*, 2018 ; Macheix, 1996).

Les polyphénols possèdent une structure de base commune qui se présente par un cycle aromatique porte au moins un groupement hydroxyle qui s'associe à plusieurs composés tels que les sucres (dont le plus commun est le glucose, dans ce cas on les appelle : les glycosides ce qui augmente leur solubilité), ou bien d'autres composants tels que les acides organiques, lipides, amines.... (Santhakumar *et al.*, 2018 ; Bravo, 2009).

VI.1- Biodisponibilité et métabolisme des polyphénols :

Les polyphénols possèdent les mêmes voies de métabolisme tels que les xénobiotiques, la biotransformation commence dès le premier contact des polyphénols avec la salive grâce à l'hydrolyse, les deux phases de détoxification (phase I et II) auront lieu dans l'intestin puis le foie pour donner à la fin des métabolites hydrosolubles capables de franchir la barrière entérique (largement liées par des albumines). Avec cette forme hautement hydrosoluble, elles sont facilement éliminées par les urines ou la bile (Claudine Manach *et al.*, 2004 ; Santhakumar, 2018).

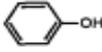
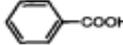
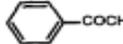
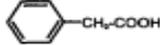
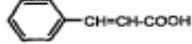
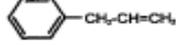
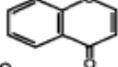
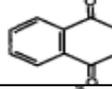
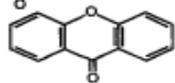
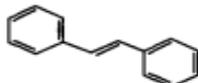
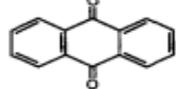
VI.2- Classification des polyphénols :

La classification des polyphénols est basée sur plusieurs critères tels que la source d'origine, la fonction physiologique et surtout la structure chimique (Tsao, 2010).

Elles se divisent en deux classes : flavonoïdes et non-flavonoïdes (Santhakumar *et al.*, 2018) Selon le squelette carboné et le nombre d'atomes on peut diviser les polyphénols au moins en 10 classes (tableau1) (Bravo, 2009).

Dont la forme la plus simple se présente par les acides phénoliques, elles se polymérisent jusqu' aux tanins qui présentent la forme la plus complexe (Claudine Manach *et al.*, 2004).

Tableau1: Principales classes de composés polyphénoliques (Bravo ,2009).

Table 1. Main Classes of Polyphenolic Compounds		
Class	Basic Skeleton	Basic Structure
Simple phenols	C ₆	
Benzoquinones	C ₆ [■]	
Phenolic acids	C ₆ -C ₁	
Acetophenones	C ₆ -C ₂	
Phenylacetic acids	C ₆ -C ₂	
Hydroxycinnamic acids	C ₆ -C ₃	
Phenylpropenes	C ₆ -C ₃	
Coumarins, isocoumarins	C ₆ -C ₃	
Chromones	C ₆ -C ₃	
Naftoquinones	C ₆ -C ₄	
Xanthones	C ₆ -C ₁ -C ₆	
Stilbenes	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Anthraquinones	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Flavonoids	C ₆ -C ₃ -C ₆	
Lignans, neolignans	(C ₆ -C ₃) ₂	
Lignins	(C ₆ -C ₃) _n	

VI.2.A- Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes représentent la classe phénolique oxydée la plus abondante, ils sont synthétisés au cours d'une infection microbienne (Kumar et Pandey, 2013).

Ils se caractérisent par une structure commune (diphénylpropanes) : une chaîne carbonée de 15 C (C₆-C₃-C₆) constituée de deux anneaux aromatiques (A et B) reliés par un anneau pyrane hétérocyclique (C) (figure 9) (Kumar et Pandey, 2013 ; Bravo, 2009).

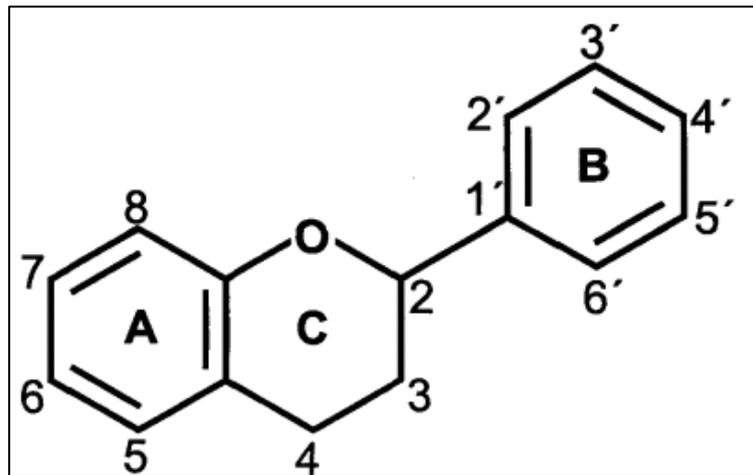


Figure 9 : structure de base et le système de numérotation des flavonoïdes (Bravo, 2009).

Selon le niveau d'oxydation et le motif de substitution de l'anneau C, les caractéristiques fonctionnelles des flavonoïdes se différencient entre les différentes structures subdivisant cette classe en six sous-classes comprenant : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, isoflavones et les anthocyanins (figure 10).

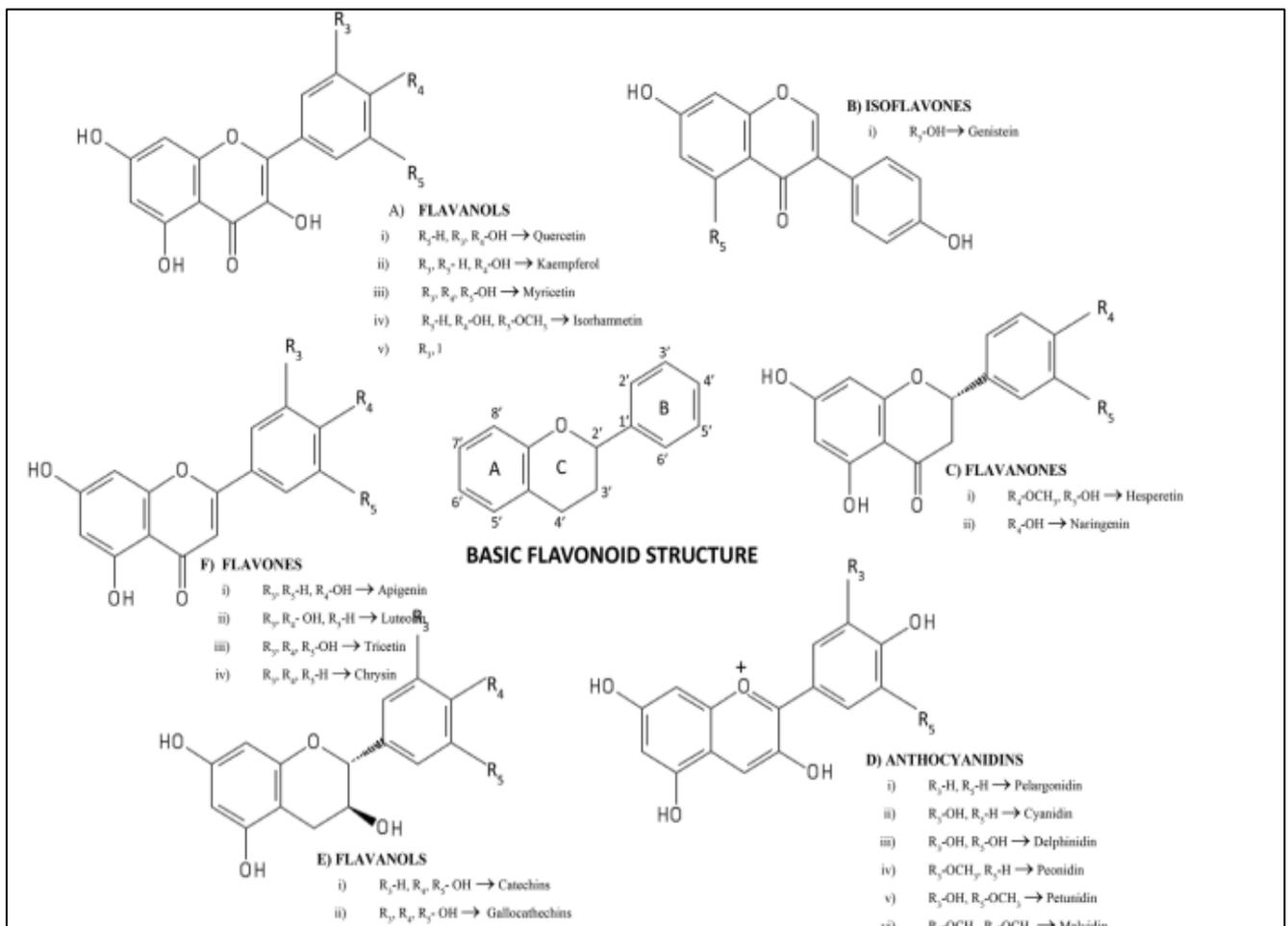


Figure 10 : Structures chimiques des flavonoïdes les plus courants dans les aliments (Santhakumar *et al.*, 2018).

Les bienfaits des flavonoïdes sur la santé sont liés principalement par le pouvoir antioxydant, antibactérien, antidiabétique, anticancéreux, antivirale, antiallergique, anti-inflammatoire... (Ghandi *et al.*, 2018).

VI.3-Le pouvoir antioxydant des polyphénols et des flavonoïdes :

Le mécanisme physiologique des anti-radicalaires se diffère d'une classe phénolique à une autre, dont le principe est l'élimination et l'inhibition des ROS.

Les structures phénoliques se caractérisent par leur capacité à piéger les radicaux libres, dont les groupements hydroxyles (présence d'un hydrogène labile) assurent la chélation des métaux pro-oxydants pour les éliminer, ils interviennent aussi dans la régénération des vitamines C et E après leur réduction provoquée par les radicaux libres (Hennebelle *et al.*, 2004 ; Tsao, 2010).

Une catégorie des composants phénoliques (comme la curcumine et la quercétine) bloque la formation du complexe ADN-NF- κ B (le facteur nucléaire kappa B), cela empêche la transcription des cytokines, chimiokines et les enzymes pro-inflammatoires oxydo-réductrices comme les lipoxgénases (LOX) et les cyclooxygénases (COX) (Karunaweera *et al.*, 2015).

Autres catégories qui sont testées *in vitro* montrent une activité inhibitrice sur les mitochondries qui est la principale source interne des ROS au cours de la respiration, les polyphénols inhibent le fonctionnement des cytochromes mitochondriaux (CYP1A2, CYP3A4, CYP2B6, CYP2D6 et CYP2C9) (Tissut *et al.*, 1980 ; Han *et al.*, 2015).

Les polyphénols augmentent la transcription des différentes enzymes anti oxydantes, dont elle active le facteur de transcription nucléaire Nrf2 (*nuclear factor erythroid-2-related factor 2*), ce dernier est ensuite transloqué vers le noyau pour assurer l'activation de la séquence régulatrice appelée élément de réponse antioxydant (ARE). L'interaction de facteur Nrf2 avec la séquence ARE contrôle l'expression des gènes antioxydants et cytoprotecteurs telles que : la NADPH, NQO-1, EPHX-1, HO-1, GST, GPX, SOD, CAT... (Boutten *et al.*, 2011 ; Han *et al.*, 2015).

LA DEUXIEME PARTIE :
ETUDE
EXPERIMENTALE

I. MATÉRIELS ET MÉTHODES :

I.1. Matériel végétal :

La plante a été cueillie au moment de la floraison en 2013, au barrage de Béchar, et identifiée par Benabdelhakem Mohamed, directeur de l'agence nationale pour la conservation de la nature à Bechar. Un spécimen (PU/105/VAR/05-13) a été déposé à l'herbier de l'unité de recherche de VARENBIOMOL, université Frères Mentouri, Constantine, Algérie. Après le séchage dans un endroit sec à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été broyées et pesées (1500g).

I.1.1. Préparation de l'extrait *n*-butanolique :

Les parties aériennes (feuilles, tiges et fleurs) de la plante (1500 g) ont été coupées en petits morceaux et mises à macérer dans un mélange méthanol-eau (7 : 3) pendant sept (07) jours, cette opération est répétée trois fois avec renouvellement de solvant.

Les différentes étapes de la préparation de l'extrait *n* butanol sont réalisées au niveau de l'Unité de Recherche Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives, Analyses Physicochimiques et Biologiques (VARENBIOMOL), Université Frères Mentouri Constantine1, Route Ain El Bey, 25000 Constantine par le Dr F. Hamza.

I.2. Matériel animal :

1.2.1. Entretien des animaux :

Les rats utilisés dans cette expérimentation sont des rats mâles adultes de souche *Wistar Albinos*, pesant entre 180 et 200 g (au début de l'expérimentation), issus par élevage au niveau de l'animalerie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des frères Mentouri - Constantine1. Les rats sont placés dans des cages où chaque cage regroupe 7 rats. Les rats sont maintenus à une température ambiante, Ils ont libre accès à l'eau et à la nourriture.

II. METHODE :

II.1. Etude *in vitro* :

II.1.1. Détermination des Polyphénols :

La teneur totale en phénols dans l'extrait de la plante a été déterminée en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu selon la méthode de Singleton *et al.*, (1999). L'extrait est solubilisé dans le méthanol (MeOH) à une concentration de 1mg/mL. Les tubes à essai ont été secoués pendant 2 h à une température ambiante et l'absorbance est mesurée à 765 nm en utilisant un spectrophotomètre. La concentration des composés phénoliques totaux a été déterminée en μg d'équivalent d'acide gallique (GAE) par mg d'extrait en utilisant l'équation suivante du courbe étalon d'acide gallique. Absorbance = 0.001 x [acide gallique].

II. 1.2. Détermination des flavonoïdes :

La teneur totale en flavonoïdes dans l'extrait *n*-butanol de la plante a été déterminée selon la méthode de Ordonez *et al.*, (2006). On ajoute à l'extrait préparé dans le méthanol à une concentration de 1mg/ml, AlCl_3 à 2%. Après 1 h d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 420 nm. La concentration des flavonoïdes a été déterminée en μg d'équivalent de quercétine (QE) par mg d'extrait en utilisant l'équation suivante du courbe étalon de la quercétine. Absorbance = 0.034 x [quercétine (μg)] + 0.015.

II.1.3. Evaluation du pouvoir anti radicalaire (DPPH) :

La capacité de l'extrait *n*-butanol de la plante à piéger le radical DPPH. (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyle) a été évaluée par la méthode de Braca *et al.*, (2001). Après la préparation de la solution méthanolique du DPPH, une quantité de la solution du DPPH (0.004%) a été ajouté à des concentrations croissantes d'extrait ou de la vitamine C, préparés dans le méthanol. Les tubes à essai des échantillons ont été incubés à l'obscurité et à une température ambiante pendant 30 min. L'absorbance a été ensuite mesurée à 517 nm. La vitamine C a été utilisée comme contrôle positif et le pourcentage d'activité de piégeage de DPPH (I %) a été calculé en utilisant l'équation :

$$I \% = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100.$$

A0 : Absorbance de la solution de DPPH seule

A1 : Absorbance de la solution de DPPH + l'extrait ou de la vitamine C.

Les concentrations inhibitrices médianes (IC50) de l'extrait et de la vitamine C ont été calculées à partir des équations des courbes de tendances linéaires obtenues des graphiques de la variation du pourcentage d'inhibition du radical DPPH, (I %) en fonction des concentrations croissantes des extraits et de la vitamine C.

II.1.4. Inhibition de la peroxydation lipidique (LPO) :

La capacité de l'extrait *n*-butanol à inhiber la peroxydation lipidique a été évaluée par le dosage de la concentration de l'MDA, qui résulte de la peroxydation lipidique suivant la méthode de *Banerjee et al.*, (2005) qui est basée sur la réaction de jaune d'œuf et l'acide thiobarbiturique. L'homogénat de vitellus d'œuf à 10%, et FeSO₄ (0.07 M) ont été ajoutés. Le mélange a été incubé ensuite avec des concentrations croissantes de l'extrait ou de la vitamine C à 37 ° C pendant une heure. Après incubation, on ajoute successivement le TCA 20% (acide trichloracétique) et le TBA 1% (acide thiobarbiturique). Les échantillons ont été mélangés puis incubés une deuxième fois pendant 15 minutes à 95°C.

Après centrifugation les substances réactives thiobarbituriques résultantes (TBARS) ont été mesurées dans le surnageant à 532 nm. La vitamine C a été utilisée comme contrôle positif et le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique (I %) a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$I \% = [(A0-A1) / A0] \times 100.$$

A0 est l'absorbance de témoin (sans extrait ou vitamine C)

A1 est l'absorbance de l'échantillon + de l'extrait ou de la vitamine C.

Les concentrations inhibitrices médianes (IC₅₀) de l'extrait de la plante et de la vitamine C ont été calculées.

II.1.5 Activité anti hémolytique ou la stabilisation membranaire :

L'activité stabilisante de la membrane plasmique menée par l'extrait a été évaluée en utilisant une solution hypotonique, et une hémolyse érythrocytaire induite par la chaleur (Shinde, 1999) en suivant ces étapes :

✓ Suspension érythrocytaire :

Pour préparer la suspension érythrocytaire, le sang des rats a été recueilli dans des tubes héparinés pour empêcher la coagulation, de suite il a été centrifugé et les cellules sanguines ont été séparées et lavées trois fois avec du NaCl à 0,9%. Le volume de la solution saline a été mesuré et reconstitué sous la forme d'une suspension à 40% (v / v) avec une solution tampon isotonique

✓ L'hémolyse induite par la chaleur :

L'échantillon de test est constitué de la suspension érythrocytaire qui est mélangée avec la solution isotonique contenant l'extrait *n*-butanol ou de l'acide acétylsalicylique. Les tubes sont ensuite préparés en doubles paires. Une paire des tubes a été incubée à 54 ° C pendant 20 minutes dans un bain-marie. L'autre paire a été maintenue dans un bain de glace à 0-4 °C. De suite le mélange a été centrifugé pendant et l'absorbance du surnageant a été mesurée à 540 nm.

✓ **L'hémolyse induite par une solution hypotonique :**

L'échantillon de test contenant la suspension érythrocytaire mélangée à la solution hypotonique, contient l'extrait *n*-butanol ou l'acide acétylsalicylique. L'échantillon témoin constitué de la suspension érythrocytaire a été mélangé avec une solution saline tamponnée hypotonique. Ensuite le mélange a été incubé pendant 10 minutes à une température ambiante, et centrifugé et l'absorbance du surnageant a été ensuite mesurée à 540 nm.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse ou de la stabilisation membranaire a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\% \text{ inhibition de l'hémolyse} = 100 \times (1 - (\text{OD}_2 - \text{OD}_1) / (\text{OD}_3 - \text{OD}_1))$$

où OD_1 = densité optique de l'échantillon non chauffé ou en solution isotonique

et OD_2 = Densité optique de l'échantillon testé chauffé ou en solution hypotonique.

OD_3 = densité optique de l'échantillon témoin chauffé ou en solution hypotonique

II.2. Etude *in vivo*:

II.2.1. Induction de l'hépatotoxicité par l'éthanol:

Pour produire le modèle hépatotoxique, nous avons utilisé 3 doses de l'éthanol à (5 g/kg) administrées chaque 12 h par gavage.

II.2.2. Traitement des animaux :

Les rats sont divisés en 7 groupes de 6 rats comme suit :

- ✓ **Groupe Sain témoin ou contrôle** : reçoit chaque 12h une dose de 8 ml/kg d'eau distillée par gavage.
- ✓ **Groupe Ethanol témoin** : reçoit chaque 12h une dose de 5 g/kg d'éthanol par gavage.
- ✓ **Groupe Extrait** : reçoit chaque 12h une dose de 100 mg/kg d'extrait de la plante par gavage.
- ✓ **Groupe Ethanol + Extrait** : traité chaque 12h avec l'extrait de la plante par gavage à la dose (100mg/kg) puis après 1h d'une dose de (5g/kg) d'éthanol par voie orale.
- ✓ **Groupe Prévention + Ethanol +Extrait** : traité chaque jour avec l'extrait de la plante par gavage à la dose de (100mg/kg) pendant trois jours puis dans le 4ème jour traité chaque 12 h avec l'extrait de la plante par gavage à la dose de (100mg/kg) puis après 1h d'une dose de (5g/kg) d'éthanol par gavage.
- ✓ **Groupe vit E** : traité chaque 12h par la vit E par gavage à la dose de (100mg/kg).
- ✓ **Groupe vit E-Ethanol** : traité chaque 12h avec la vit E par gavage à la dose de (100mg/kg) puis après 1h d'une dose d'éthanol par voie oral à la dose de (5g/kg).

II.2.3. Dissection des rats, prélèvement du sang et des organes :

Après quatre heures de l'administration de la dernière dose, les rats sont anesthésiés en utilisant le chloroforme et la collecte du sang s'effectue à partir de la veine porte dans des tubes héparines, puis centrifugé pour récupérer le sérum afin d'effectuer le dosage des paramètres biochimiques.

II.2.4. Préparation d'homogénat :

Après le sacrifice des rats, une perfusion aura lieu avec une solution de NaCl (0.9%) afin de drainer tout le sang restant dans les organes. Ensuite les organes sont pesés, homogénéisés pour obtenir le surnageant qui sera utilisé pour mesurer les paramètres de stress : MDA, GSH, GPx et CAT.

II .2. 5. METHODES DE DOSAGE DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES DU SANG :

Les activités enzymatiques d'AST, d'ALT, de cholestérol et de triglycérides sont mesurées par des méthodes colorimétriques en utilisant des Kits commerciale (*Spinreact*).

II .2. 5.1. Dosage des transaminases au niveau du plasma :

Les transaminases (ou amino transférases) sont des enzymes hépatocytaires dont la fonction est de catalyser des réactions de transfert d'un groupe aminé d'un acide alpha-aminé à un acide α -cétonique. Il existe 2 transaminases dont le coenzyme est la vitamine B6 (phosphate de pyridoxal) AST et ALAT.

Le dosage des indicateurs de la fonction hépatique AST et ALT est réalisé selon la méthode de (*Murray et al.*, 1984).

II .2. 5.2. Les triglycérides :

Le dosage des triglycérides est réalisé selon la méthode enzymatique et colorimétrique de *Buccolo* et principe (1973).

II .2.5.3. Dosage du cholestérol :

Le dosage du cholestérol est réalisé selon la méthode de *Naito* (1984).

II.2.6. Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydant :

a. . Dosage du malondialdéhyde (MDA) dans une fraction d'homogénat du foie :

La peroxydation lipidique est estimée par le dosage de malondialdéhyde (MDA) selon la méthode d'*Uchiyama et Mihara* (1978). MDA est l'un des produits terminaux de l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) par les radicaux libres libérés au cours de stress. En milieu acide et à chaud (100°C) une molécule d'MDA est condensée avec deux molécules de l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose. La densité optique du complexe formé entre le MDA de l'échantillon et le TBA est mesurée à 532 nm et la concentration du MDA est exprimée en nmol/g tissu.

b. Dosage de glutathion (GSH) :

Le dosage du GSH est réalisé selon la méthode colorimétrique d'*Ellman* (1959). Son principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoïque) (DTNB), libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB). Les concentrations sont exprimées en nmol/gramme d'organe.

c. Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) :

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohe et Gunzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH).

La densité optique a été mesurée à 412 nm et l'activité de l'enzyme GPx a été exprimée en µmol GSH / mg protéine).

d. Evaluation de l'activité enzymatique du catalase (CAT)

L'activité de la catalase a été estimée selon la méthode de *Claiborne*, (1985). Le principe est basé sur la disparition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) du fait de l'activité de la catalase présente dans l'échantillon

Un volume du cytosol a été mélangé avec 1 ml de tampon phosphate et 975 µl du peroxyde d'hydrogène. La densité optique a été mesurée chaque 60 secondes pendant 3min à 560 nm. L'activité de la catalase a été exprimée en unité internationale par minute et par gramme de protéine (UI / min/g de protéine), selon l'équation suivante :

$$UI/g = (2.3033/T) \times (\log A1/A2) /g \text{ de protéine}$$

A1 : Absorbance à la première minute.

A2 : Absorbance à la deuxième minute.

T : Intervalle de temps en minute.

La concentration cytosolique des protéines est évaluée par la méthode de *Lowry* (1951).

Dosage de protéine totale

Le dosage des protéines totales est réalisé par la méthode de *Koller* (1984) en utilisant un kit commercial (*Spinreact*). Les protéines de l'échantillon donnent une couleur violette/bleue avec le réactif de Biuret. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon.

II.3. ETUDE HISTOLOGIQUE

Après le sacrifice des animaux et leurs dissections, une perfusion aura lieu avec une solution de NaCl (0.9%) afin de drainer tout le sang restant dans les organes. Un morceau du foie de chaque rat est immédiatement prélevé, coupé en petits morceaux, et conservé dans le fixateur formol (10%).

L'étude histologique s'effectue dans les laboratoires d'anatomie pathologique de CHU / Centre Hospitalo Universitaire Ben Badis de Constantine, en suivant les étapes suivantes :

✓ **La fixation**

Afin de donner à notre organe un milieu similaire à celui de l'état physiologique, la fixation a pour but : la conservation et le durcissement de l'organe dans une solution de formaldéhyde (formol à 10%). Le foie est ensuite tranché très fin et déposé dans des cassettes en plastiques identifiées, toujours en conservant les échantillons dans un liquide conservateur : le formol à 10% additionné à l'éosine.

✓ **L'inclusion des tissus dans des blocs de paraffine et coupe histologique**

La déshydratation est l'étape préparatoire de l'inclusion à la paraffine qui est non miscible à l'eau. Le principe de cette étape est de remplacer l'eau contenue dans les cellules hépatiques par l'alcool 100° (passant par des bains successifs d'alcools de concentrations croissantes).

L'éthanol est remplacé ensuite par un solvant miscible à la paraffine (le xylène ou le toluène) pour son élimination. Pour donner une consistance solide au tissu, les échantillons sont placés dans un moule rempli de paraffine fondue dont sa chaleur tombe envers une température de (56/58°C) qui aide à vaporiser le solvant. Une fois que la paraffine est solidifiée on démoule le contenu qui est le fragment tissulaire du foie.

Des coupes fines (5 µM) sous forme d'un ruban sont réalisées à partir du bloc de paraffine à l'aide d'un microtome (microtome rotatif Leica).

Le ruban obtenu de la microtomie est étalé sur des lames en verre, ces lames passent sur une plaque chauffante pour assurer la fixation de la paraffine contenant la coupe histologique sur la lame.

La paraffine est éliminée avant la coloration, en passant par un bac de xylène pour la faire dissoudre de la coupe.

✓ **La coloration des lames**

Pour faciliter la pénétration des colorants à l'intérieur de la coupe, on commence d'abord par une réhydratation. On passe les lames dans des bains d'alcool de degrés décroissants (de 100°, 90°, 70°C) puis dans de l'eau distillée.

La coloration est effectuée pour reconnaître les différents composants tissulaires qui sont généralement transparents. La coloration hématoxyline éosine (HE) est la coloration bichromatique standard utilisée en premier temps, elle nous donne une vue globale sur les morphologies tissulaires et les lésions pathologiques.

La coloration HE est composée de deux colorants :

- Un colorant nucléaire basique : l'hématoxyline qui contient l'hématéine qui colore le noyau en bleu/violet en se fixant sur les acides nucléaires.
- Un colorant cytoplasmique : acide l'éosine, son affinité aux éléments tissulaire basique comme le cytoplasme et les fibres résulte une coloration rose plus au moins vive selon l'acidophile de cet élément. La coloration HE était suffisante pour le diagnostic des différentes lésions pathologiques, aucune structure ou substance suspectée pour réaliser une coloration spéciale.

✓ **Montage des lames et lecture microscopique**

Pour une meilleure visualisation microscopique et une conservation à longue durée contre la décoloration, une résine synthétique est placée entre une lame portant la coupe histologique et une lamelle. Les lames sont prêtes pour la lecture microscopique qui est effectuée par un microscope photonique Leica.

II.4. ETUDE STATISTIQUE

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyennes et écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en utilisant le test t de Student. La valeur trouvée par le calcul du t peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :

ns ; $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative.

* ; $0,05 > p > 0,01$ = la différence est significative.

** ; $0,05 > p > 0,001$ = la différence est hautement significative.

*** ; $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative.

Résultats

1- Les dosages réalisés *in Vitro* :

1.1- Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes totaux :

Tableau 2 : La teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes dans l'extrait *n*-butanol.

	Teneur en polyphénol totaux	Teneur en flavonoïdes
Extrait <i>n</i>-butanol	343 ± 11.91 µg d'équivalent acide gallique /mg d'extrait	51.67 ± 5.46 µg d'équivalent de quercétine/mg d'extrait

Les résultats de dosage des polyphénols révèlent que l'extrait *n*-butanol de la plante présente une richesse en composés phénoliques égale à 343 µg d'équivalent d'acide gallique/mg de l'extrait

L'évaluation quantitative des flavonoïdes montre que l'extrait *n*-butanol de la plante contient une quantité importante en flavonoïde égale à 51.67 µg d'équivalent de quercétine/mg d'extrait.

1.2- Le piégeage du radical DPPH :

Dans le test du piégeage des radicaux libres DPPH « 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl », les antioxydants réagissent avec une couleur violette foncé du DPPH ayant un électron libre non apparié ; et la convertissent en couleur jaune, présentait une capacité de don d'hydrogène dépendante de la concentration (*Djebbari et al, 2015*).

Avec des techniques spectrophotométriques, et sous une absorbance (DO) lue à 515nm, et à partir des valeurs obtenues par les formules données, on a pu calculer le pourcentage du piégeage du radical DPPH, ainsi le traçage des courbes montrant la variation de cette inhibition en fonction de différentes concentrations présentées sur la (figure 11).

Nous avons ainsi déterminé graphiquement la concentration correspondante à 50% d'inhibition (IC₅₀).

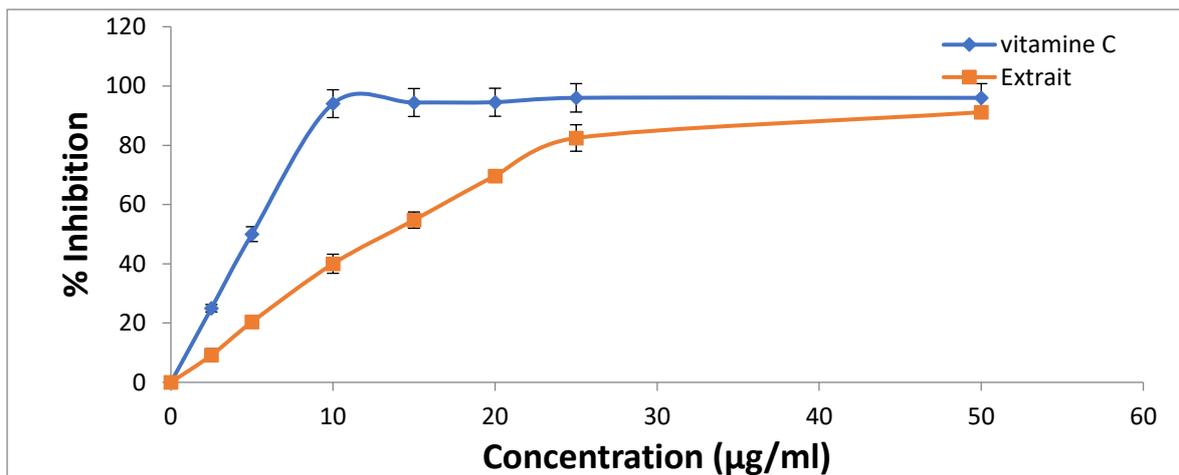


Figure 11 : L'activité antiradicalaire d'extrait et de la vitamine C vis à vis du radical libre DPPH.

Les valeurs sont des moyennes \pm écart type (n = 3).

En comparant l'IC50 de l'extrait (**13.8 µg/ml**), avec celle de la Vitamine C (**5 µg/ml**), on remarque que l'extrait possède une activité anti radicalaire puissante. Donc il a une capacité assez importante de piéger le radical DPPH.

1.3- L'évaluation de la peroxydation lipidique (LPO) *in vitro* :

L'évaluation des capacités de l'extrait à inhiber la peroxydation lipidique (non enzymatique réalisée dans le jaune d'œuf, et excitée par le FeSO₄) est illustrée dans (la figure 12).

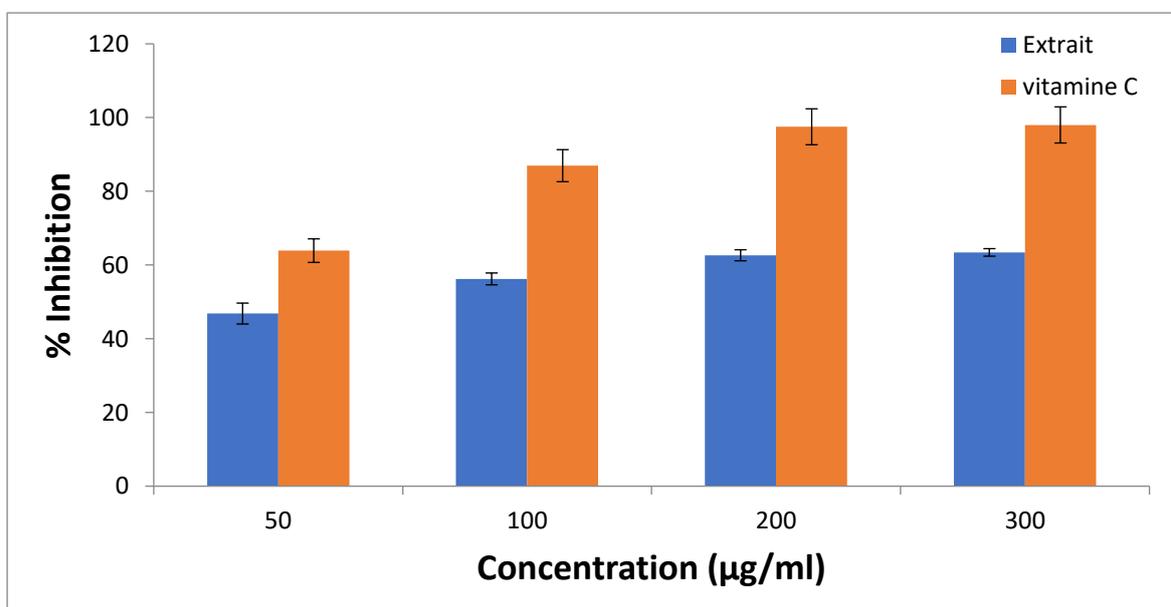


Figure 12 : Inhibition de la peroxydation lipidique par l'extrait n-butanol et la vitamine C.

Les valeurs sont des moyennes \pm écart type (n = 3).

Les résultats illustrés dans la figure 13 montrent Une diminution dose-dépendante de la peroxydation lipidique. Cette diminution a été observé avec l'extrait *n*-butanol de la plante présentant une IC50= **62.81**± 23.20 µg/ml, alors que celle de la vitamine C est égale à **20**± 0,17 µg/ml.

- ✓ Ce résultat montre que cet extrait a une capacité modérée à inhiber la peroxydation lipidique.

1.4- Activité anti hémolytique ou la stabilisation membranaire :

Les érythrocytes sont souvent utilisés comme modèle biologique pour étudier les dommages oxydatifs dans les biomembranes en raison de leur grande vulnérabilité à la peroxydation, car leurs membranes sont riches en acides gras polyinsaturés et ont des concentrations élevées d'oxygène et d'hémoglobine qui favorisent le processus oxydatif (Guemmaz *et al.*, 2018).

L'effet des plantes médicinales vis-à-vis l'hémolyse érythrocytaire induite par la chaleur et la solution hypotonique a été largement étudié (Aichour *et al.*, 2018 ; Zerargui *et al.*, 2015).

L'extrait *n*-butanol de la plante protège efficacement contre les lyses de la membrane érythrocytaire induites par la chaleur et la solution hypotonique (Figure 13) , par rapport à l'acide acétylsalicylique qui est utilisé comme un standard.

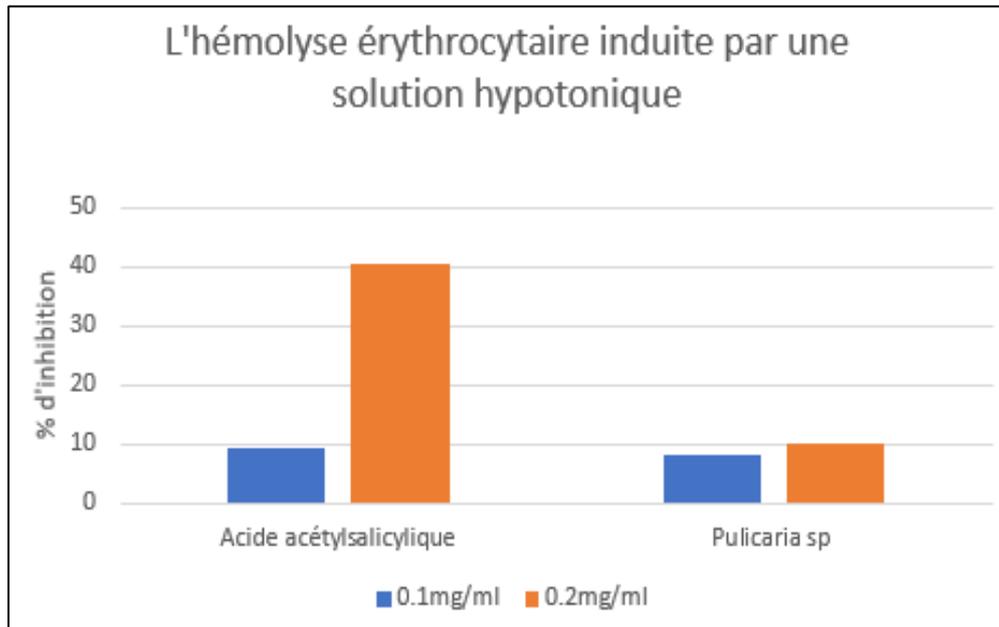


Figure 13 : l'inhibition de l'hémolyse érythrocytaire induite par une solution Hypotonique vis-à-vis l'effet de l'extrait *n*-butanol et l'acide acétylsalicylique.

Dans la (figure 13) et à la concentration de 0,1mg/ml, on remarque que l'extrait produit 86.78% d'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes contre 32.2% par l'acide acétylsalicylique. Par contre à la concentration de 0,2mg/mL, on constate un effet protecteur de l'extrait *n*-butanol via l'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes. Cette dernière égale 92.31% d'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes contre 54.86% par l'acide acétylsalicylique à la même dose.

L'extrait *n*-butanol a également révélé une inhibition significative de l'hémolyse érythrocytaire induite par une solution hypotonique. Aux concentrations de 0,1 et 0,2mg/ml, l'extrait produit 8.03% et 10.25% d'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes contre 9.14% et 40.22% par l'acide acétylsalicylique respectivement.

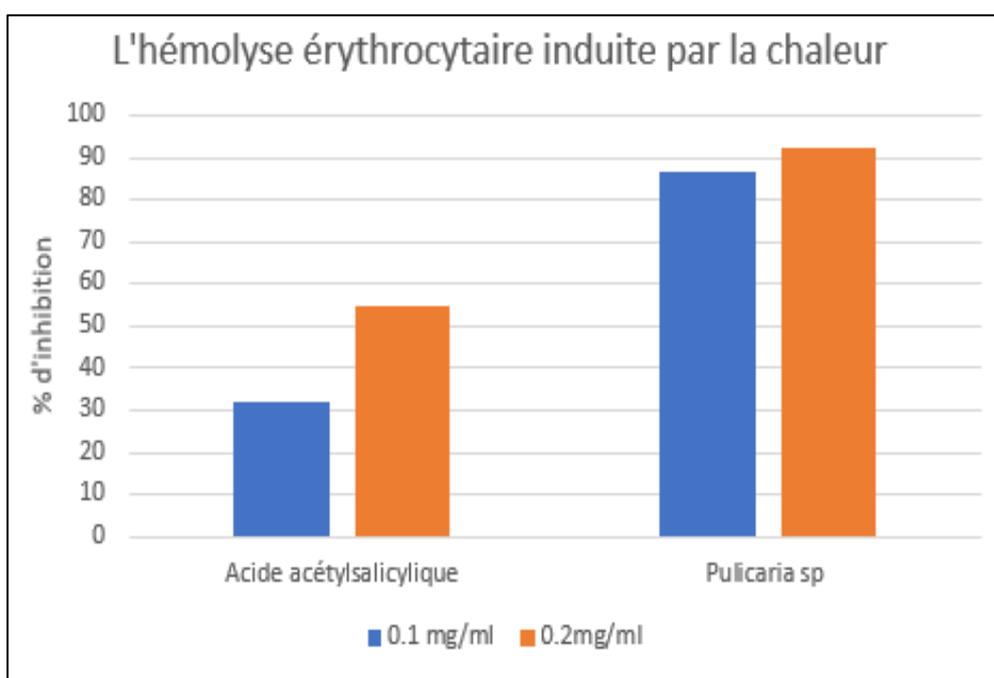


Figure 14 : l'inhibition de l'hémolyse érythrocytaire induite par la chaleur vis-à-vis l'effet de l'extrait *n*-butanol et l'acide acétylsalicylique.

2- Les dosages réalisés *in Vivo* :

2-1-Dosage des paramètres biochimiques :

2-1-1-L'influence du traitement sur la fonction hépatique :

L'administration de l'éthanol (5g/kg) a provoqué une augmentation hautement significative de l'activité enzymatique de l'ALT et l'AST ($p < 0.01$) par rapport aux rats témoins. (Figure 15). Cependant l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante a provoqué une baisse hautement significative ($p < 0.01$) de ces enzymes contre le groupe traité par l'éthanol seulement. Chez le groupe traité par l'extrait et l'éthanol, une diminution significative de l'ALT et l'AST est constatée. Or chez le groupe traité par la vitamine E et l'éthanol, les mêmes remarques sont observées.

- ✓ En conséquent, nos résultats biochimiques prouvent que l'extrait et la vitamine E ont pu réguler et empêcher l'hépatotoxicité provoquée par l'éthanol.

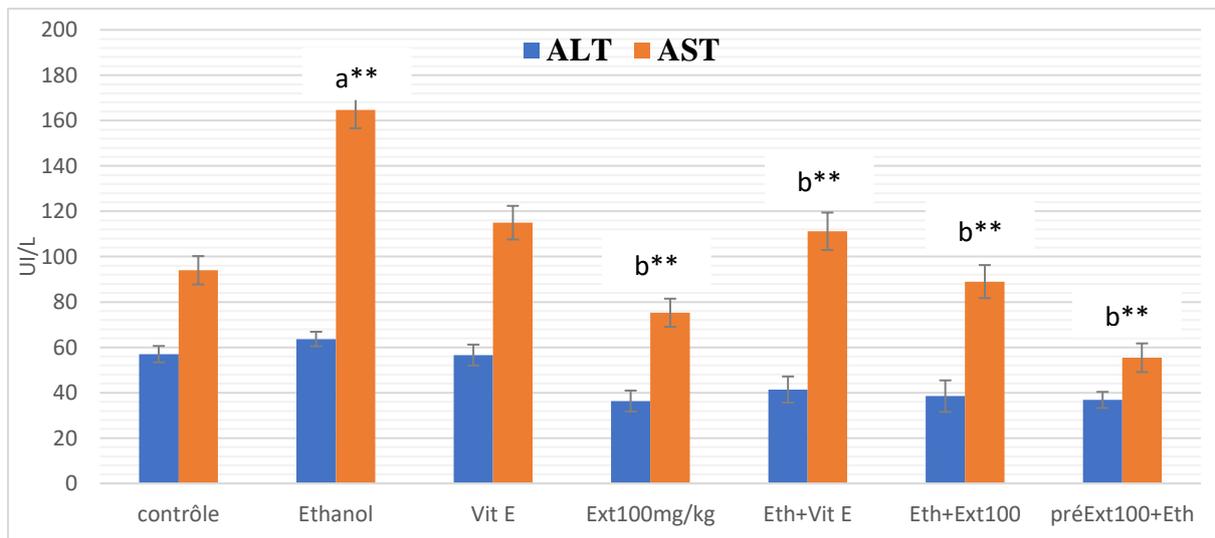


Figure 15 : Effet de l'éthanol et l'extrait *n*-butanol de la plante (100mg/kg) sur la concentration des aminotransférases : Alanine Transaminase (ALT) et Aspartate Transaminase (AST). Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type. * : $P < 0.05$ ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$ a : comparativement au groupe témoin. b : comparativement au groupe traité par l'éthanol.

2-1-2- L'influence du traitement sur le profil lipidique

Les rats traités par l'éthanol à (5g/kg) montrent une augmentation significative ($P < 0,05$) des triglycérides, et du cholestérol en les comparant aux rats témoins.

Pour ceux traités par l'extrait ou la vitamine E, ont montré une diminution significative ($p < 0,05$) de ces deux paramètres. (Figure 16)

- ✓ La présente étude révèle la capacité de l'extrait à moduler le profil lipidique.

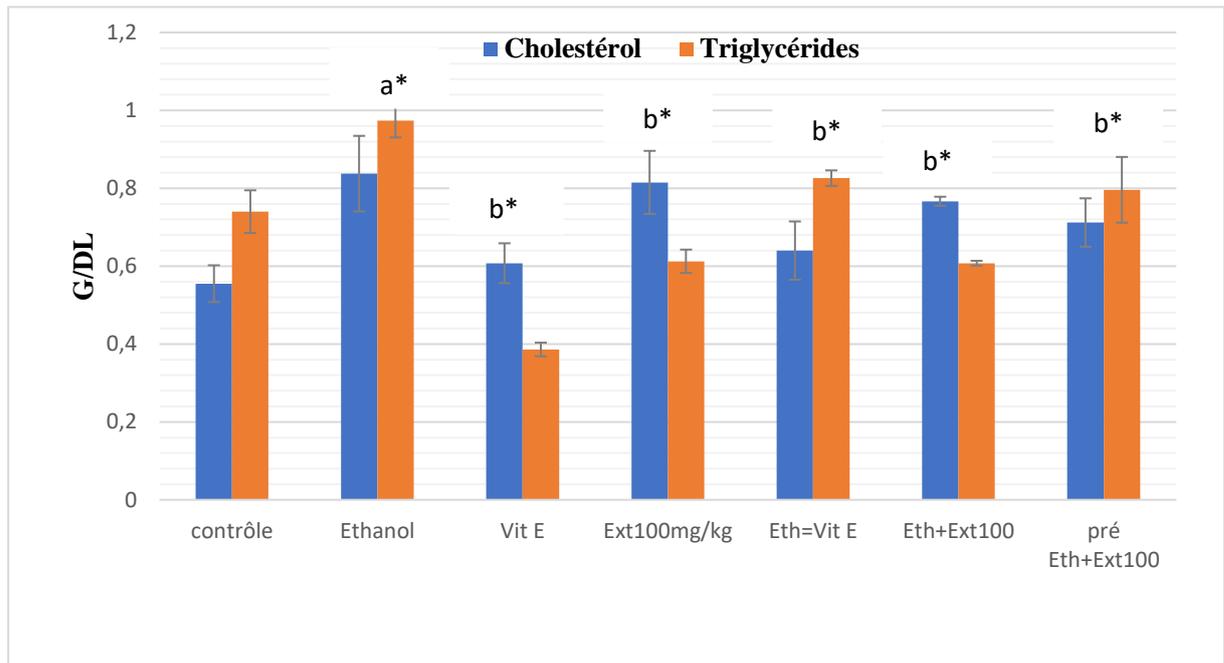


Figure 16 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100mg/kg) et l'éthanol sur la concentration sérique du cholestérol et les triglycérides. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type. * : $P < 0.05$ ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$ a : comparativement au groupe témoin. b : comparativement au groupe traité par l'éthanol.

2-2-Le dosage des paramètres du stress oxydatif :

2.2.1- Le dosage du malondialdéhyde (MDA) :

La surproduction des radicaux libres dans les cellules entraîne une augmentation du malondialdéhyde (MDA) qui est l'un des produits finaux de la peroxydation des acides gras polyinsaturés.

Dans la présente étude les rats traités par l'éthanol (5g/kg) ont montré une hépatotoxicité associée à la peroxydation lipidique, qui est exprimée par une augmentation hautement significative de MDA ($P < 0,01$). (Figure 17)

Contrairement aux rats traités par l'extrait et de suite par l'éthanol, une diminution très hautement significative de l'MDA ($P < 0,001$) a été constatée pendant le traitement.

Chez le groupe traité par la vitamine E et l'éthanol, les mêmes remarques sont observées.

- ✓ Ce présent résultat prouve l'efficacité de l'extrait à inhiber la peroxydation lipidique provoquée par la surproduction des radicaux libres.

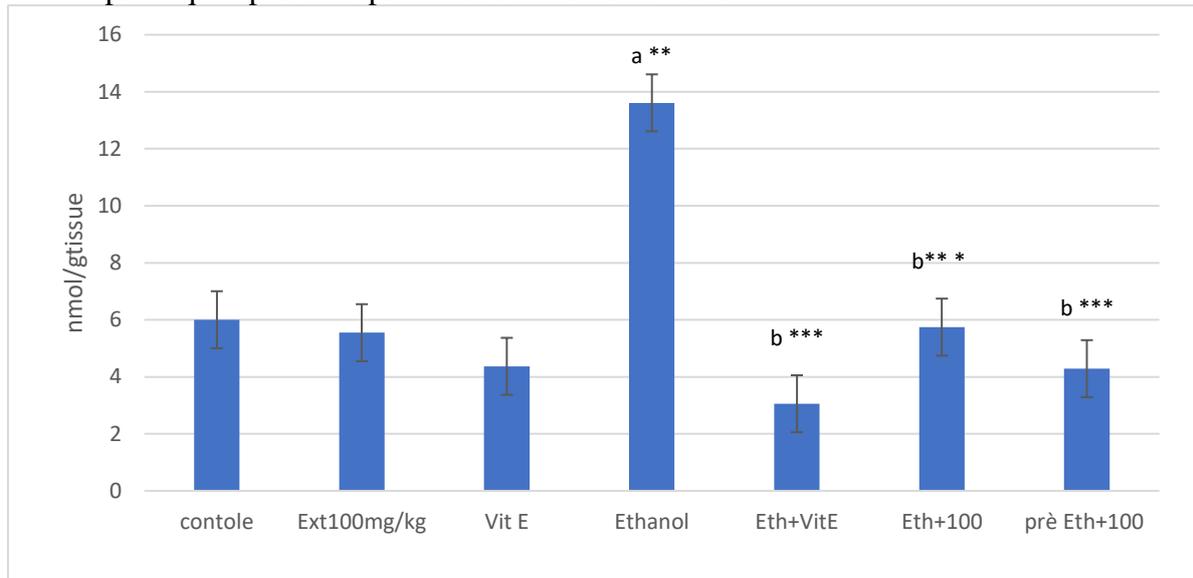


Figure 17 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100mg/kg) et l'éthanol (5g/kg) sur la peroxydation lipidique (taux de l'MDA). Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.

* : $P < 0.05$ ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$ a : comparativement au groupe témoin. b : comparativement au groupe traité par l'éthanol.

2.2.2- Le dosage du glutathion (GSH) :

L'administration de l'éthanol à une dose de 5g/kg chez des rats du groupe toxique, a pu provoquer une diminution très hautement significative du Glutathion (GSH hépatique) par rapport à celui enregistré chez les rats témoins sains. ($P < 0.001$). (Figure 18)

La déplétion du glutathion réduit (GSH hépatique), causée par l'éthanol a été régulé par l'administration de l'extrait \rightarrow Augmentation hautement significative ($P < 0,01$). (Figure 16)

Or chez le groupe traité par la vitamine E et l'éthanol, les mêmes remarques sont observées.

- ✓ Donc l'extrait joue un rôle trop important pour la régulation du taux du GSH hépatique, tout en supprimant la déplétion causée par l'éthanol.

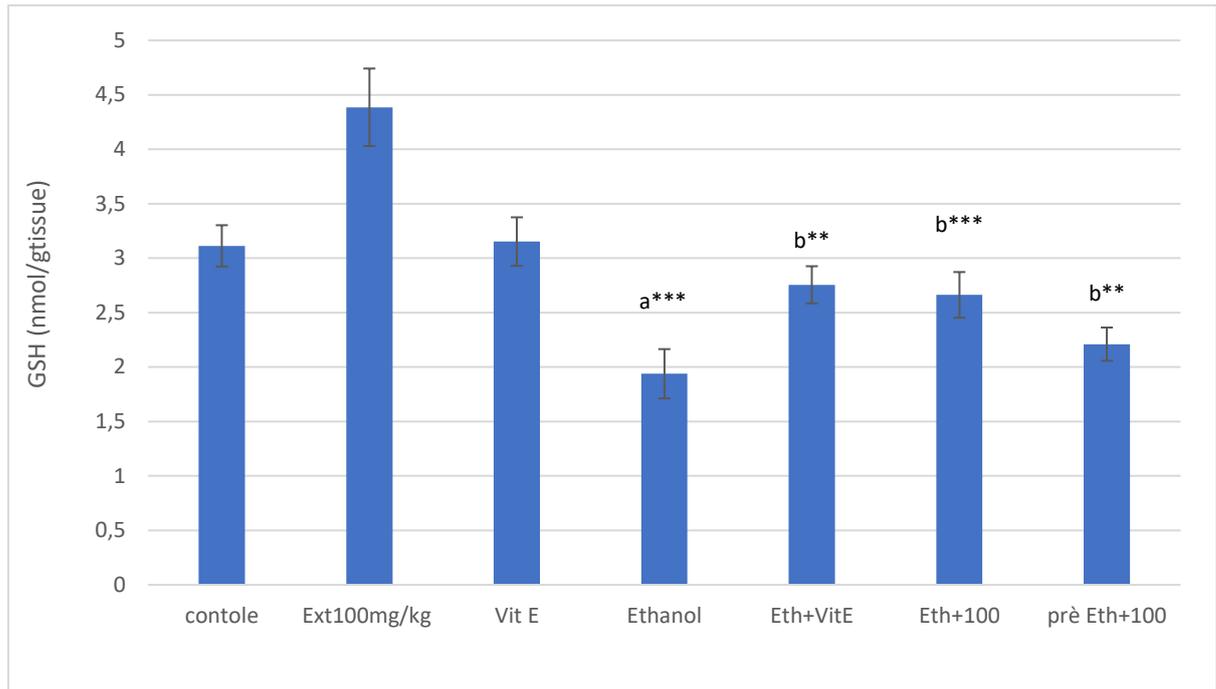


Figure 18 : L'effet de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100mg/kg) et l'éthanol sur la variation du taux du glutathion (GSH hépatique). Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.

* : $P < 0.05$ ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$

a : comparativement au groupe témoin. b : comparativement au groupe traité par l'éthanol

2.2.3- Le dosage du Glutathion Peroxydase (GPx) :

L'évaluation de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx hépatique) chez des rats traités par l'éthanol (5g/kg), a montré une diminution significative de cette enzyme, par rapport à celui enregistré chez les rats témoins non traités ($P < 0.05$). Contrairement aux rats traités par l'extrait le taux du GPx hépatique a été prescrit par une augmentation significative de cette enzyme ; en le comparant à celui enregistré chez les animaux traités par l'éthanol ($P < 0.05$). (Figure 19). Or chez le groupe traité par la vitamine E et l'éthanol, les mêmes remarques sont observées. Or chez le groupe traité par la vitamine E et l'éthanol, les mêmes remarques sont observées

✓ Ce résultat prouve l'efficacité de cet extrait à ajuster le taux du glutathion peroxydase.

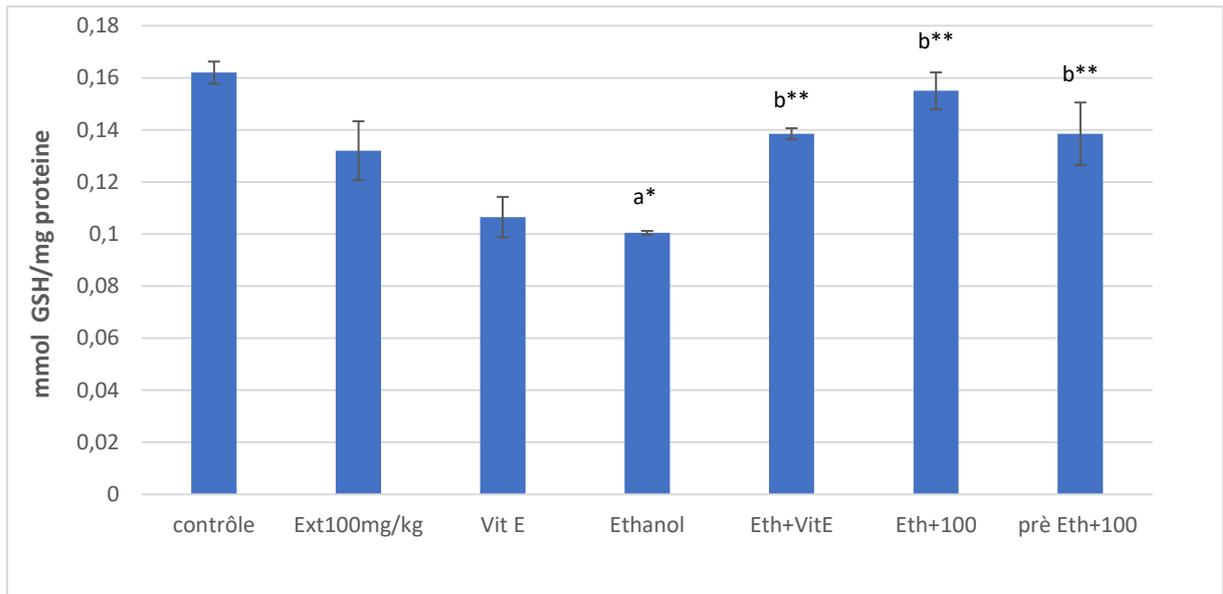


Figure 19 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100mg/kg) et l'éthanol sur la concentration sérique du glutathion peroxydase (GPx hépatique). Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type. * : $P < 0.05$ ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$ a : comparativement au groupe témoin. b : comparativement au groupe traité par l'éthanol

2.2.4- Le dosage de la catalase :

Une réduction significative de la concentration de la catalase a été observée lors du traitement des rats par l'éthanol à une dose de 5g/kg, par rapport à celle enregistrée chez des rats sains témoins ($P < 0.05$) (Figure 20). L'administration de l'extrait (100 mg/Kg) a permis une augmentation significative de l'activité de la catalase réduite par l'administration de l'éthanol. (Figure 20). Les mêmes remarques sont enregistrées pour les groupes traités par la Vit E et l'éthanol.

- ✓ Ce résultat confirme la réactivation de la catalase par des principes actifs présents dans l'extrait.

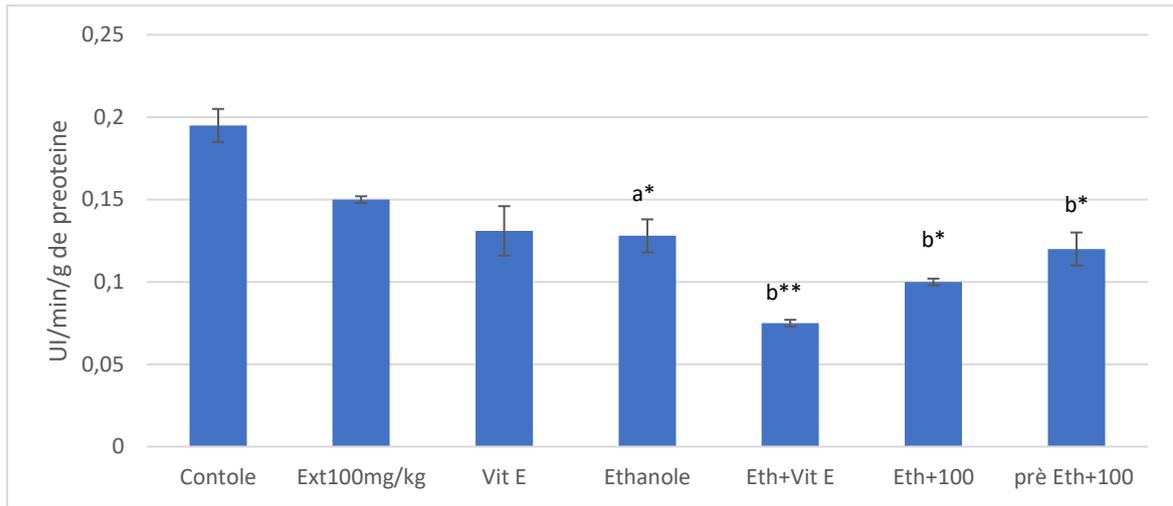


Figure 20 : L'effet de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100mg/kg) et l'éthanol sur la variation du taux de la catalase (CAT). Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type. * : $P < 0.05$ ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$ a : comparativement au groupe témoin. b : comparativement au groupe traité par l'éthanol.

2.3- Les résultats de l'étude histologique :

Tableau 3 : résultats histopathologiques du foie.

	Témoin G(H)	Vitamine E G(V)	Extrait G(T)	Ethanol G(X)	Extrait + Ethanol G(P)	Vitamine E+ Ethanol G(E)	Extrait prévention + éthanol G(A)
Aspect normal	2	2	3	5	5	3	4
Nécrose hépatocytaire + corps de mallony	0	0	0	1	0	0	0
Discrète Clarification des hépatocytes	0	0	1	0	0	2	0
Clarification des hépatocytes + Infiltrat lymphocytaire	1	0	0	1	0	0	0
Infiltrat lymphocytaire	1	3	0	0	0	1	0
Légère Stéatose micro-vésiculaire modéré et focale	0	0	0	1	2	0	2

Les chiffres présentent le nombre des rats atteints de différentes lésions hépatiques, le groupe G(H) n=4, G(V) n=5, G(V) n=5, G(T) n=4, G(X) n=8, G(P) n=7, G(E) n=6, G(A) n=6.

L'observation microscopique des tissus hépatiques du groupe témoin G(H) a montré des cellules à la limite de la normale à l'exception de quelques rats.

D'autres échantillons de tissus hépatiques du groupe G(V) sont à la limite de la normale avec quelques zones contenant des infiltrats lymphocytaires centraux péri- vésiculaires focaux.

Dans le groupe G(T) presque tous les rats de ce groupe sont à la limite de la normale. Tandis que des coupes hépatiques du groupe G(X) ont montré des lésions de souffrance hépatiques préexistantes dans les 3 rats qui sont traités par 3 doses de l'éthanol, par contre les autres rats traités qu'avec une seule dose de l'éthanol et à cause de leur faible résistance à la dose entière (des cas pathologiques préexistants mal connus) n'ont montrés aucun signe de lésion hépatique.

-La majorité des coupes histologiques du groupe G(P) et G(A) sont à la limite de la normale.

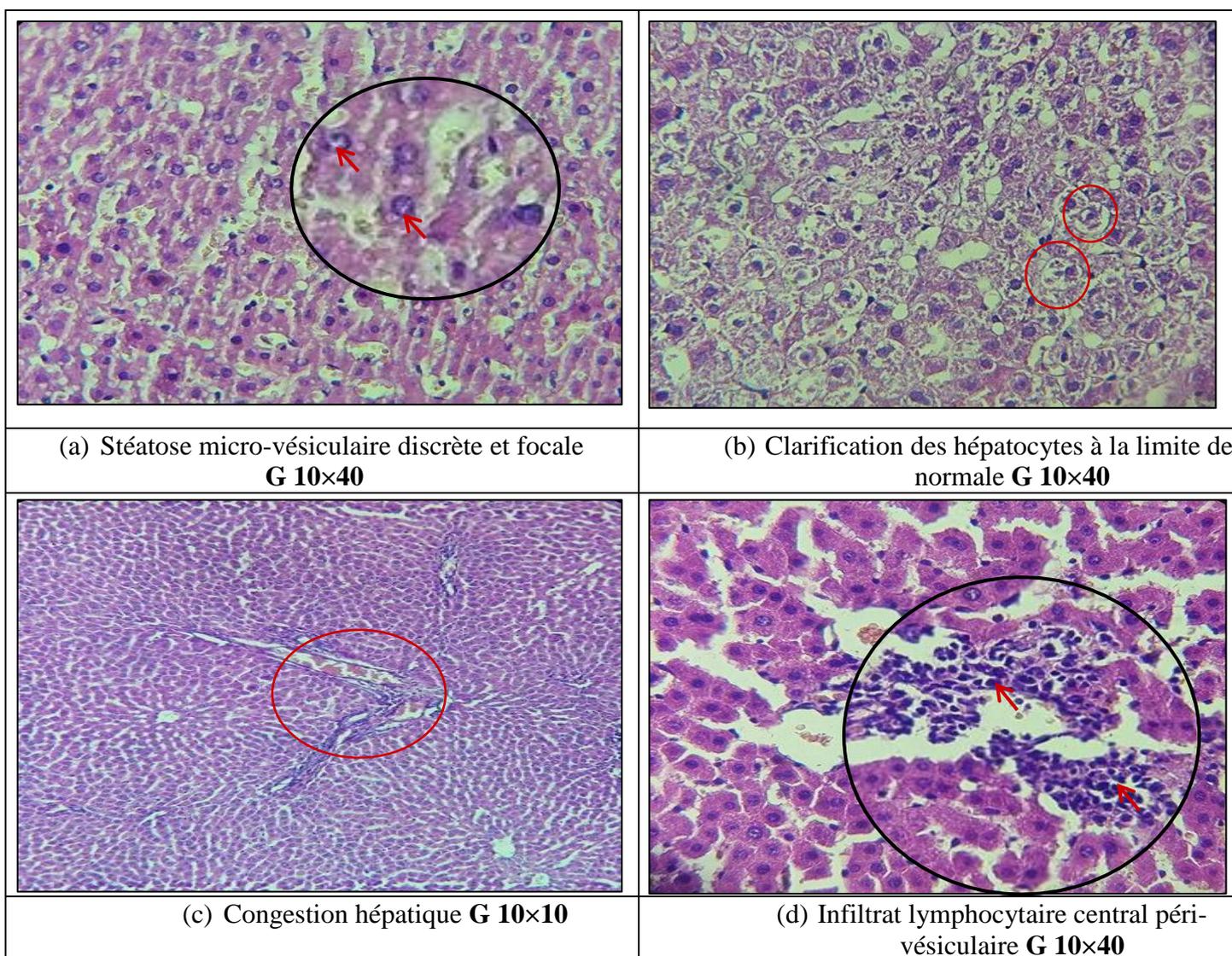


Figure 21 : examen histopathologique des tissus hépatiques par la coloration H&E

Discussion

Dans la présente étude réalisée *in vitro*, et menée sur le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux, l'extrait *n*-butanol de la plante montre une grande richesse envers ces composés, tout en la comparant avec celle de la plante *Echinops spinosus* appartenant à la même famille des Astéracées (Gheffour *et al.*, 2015) et qui a montré des valeurs trop importantes de ces constituants.

Le contenu en polyphénols et en flavonoïdes varie d'une plante à une autre selon :

- ✓ La zone géographique
- ✓ Les facteurs climatiques : température, sécheresse, humidité... etc.
- ✓ La période de la récolte de la plante.
- ✓ La méthode d'extraction, et le genre du solvant utilisé.
- ✓ Le patrimoine génétique

Tous ces facteurs pourront bien influencer sur le rendement de composés polyphénoliques et les flavonoïdes (Zouhair et Misbahi, 2014).

L'étude de l'activité antioxydante de l'extrait de la plante vis-à-vis l'action radicalaire de l'éthanol, prouve sa capacité à piéger le radical libre DPPH, qui a été largement utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques.

L'extrait *n*-butanol de la plante présentait une capacité de don d'hydrogène dépendante de la concentration, ainsi que le calcul de la CI_{50} de l'extrait et l'acide ascorbique a montré une excellente activité de piégeage. Nos résultats concordent avec ceux de (Tripathi *et al.*, 2015). L'effet épurateur de l'extrait *n*-butanol et de la vitamine C sur le radical DPPH a diminué à la concentration de 25 $\mu\text{g/ml}$ de l'extrait, ceci est une preuve que ce dernier a une capacité d'augmenter l'inhibition de la peroxydation lipidique en augmentant les concentrations (Sreelakshmi *et al.*, 2018).

Cette activité est liée obligatoirement à la présence des composés phénoliques comme un facteur piégeur des radicaux libres. Donc l'extrait *n*-butanol de cette plante possède une forte activité de piégeage des radicaux libres.

Dans l'évaluation de l'inhibition de la peroxydation lipidique induite par le système FeSO_4 par l'extrait *n*-butanol ou la vitamine C. L'augmentation de la concentration de l'extrait permet l'élévation de l'inhibition de la peroxydation lipidique, ce qui prouve la capacité antioxydante des composés phénoliques trouvés dans cet extrait à réaliser cette inhibition.

Plusieurs travaux comme ceux de (Aboelmaati *et al.*, 2016) ont montré que l'augmentation de la concentration de l'extrait végétal donne une très bonne influence sur l'environnement où se

déroule la peroxydation lipidique, ce qui permettra de la diminuer, et de piéger les radicaux libres produits par le FeSO₄ dans le système de réaction.

Une explication possible de l'activité stabilisante de la membrane plasmique érythrocytaire par l'extrait *n*-butanol de la plante est manifestée par une augmentation du rapport (surface/volume des cellules) qui pourrait être due à l'expansion de la membrane ou le rétrécissement de la cellule, ou même à l'interaction avec les protéines membranaires. De plus, il a été démontré que la déformabilité cellulaire des érythrocytes est étroitement liée à la teneur intracellulaire en calcium. Par conséquent, on peut supposer que l'effet cytoprotecteur des membranes érythrocytaires peut être dû à la capacité de l'extrait testé à modifier l'afflux du calcium dans les érythrocytes (shinde, 1999).

L'extrait *n*-butanol a également révélé une inhibition significative de l'hémolyse érythrocytaire induite par la chaleur ou par une solution hypotonique, ceci est dû à la pénétration des flavonoïdes dans le noyau hydrophobe de la membrane où ils exercent un effet stabilisateur membranaire en modifiant l'ordre d'empaquetage des lipides. Ils peuvent ainsi pénétrer à la bicouche lipidique, en diminuant la concentration des radicaux libres ou en influençant sur la capacité antioxydante dans les biomembranes (Amrani *et al.*, 2013).

L'extrait *n*-butanol de la plante était efficace contre l'hémolyse des hématies induite par la chaleur et par la solution hypotonique. Cette activité de stabilisation peut être due à teneur en composés phénoliques.

Dans l'étude réalisée *in vivo*, sur des rats de la souche *Albinos Wistar*, l'administration de l'éthanol a provoqué une hépatotoxicité, caractérisée par une augmentation hautement significative ($P < 0,01$) des transaminases l'ALAT et l'AST dans le sang, due à des dommages tissulaires et cellulaire au niveau de l'organe cible « le foie ». Ces dommages sont bien le résultat de certaines lésions provoquées sur la membrane des cellules hépatiques, ce qui va augmenter sa perméabilité, d'où une sortie brusque de l'ALAT et l'AST sera marquée dans la circulation après l'atteinte cellulaire.

Les lésions hépatiques provoquées par l'éthanol sont généralement liées à une surproduction des radicaux libres, produits depuis la peroxydation lipidique, qui cause le phénomène du stress oxydatif, donnant un déséquilibre au niveau cellulaire, et une surpression sur les tissus jusqu'à l'échappement de l'ALAT et l'ASAT. Cette libération aboute l'augmentation de ses deux paramètres donnant signe d'une toxicité hépatique (Abdel-Daim *et al.*, 2017).

D'après les résultats décrits sur la (Figure 15), l'administration concomitante et simultanée de l'extrait *n*-butanol et l'éthanol a permis la diminution du taux des transaminases (ALAT) et (ASAT) dans le sang du groupe traité. Ce qui justifie la capacité antioxydante de l'extrait

comportant les composés phénoliques à réduire les dommages hépatiques comme le pouvoir de la Vitamine E.

Ainsi que le prétraitement des rats avec l'extrait est très efficace dans la prévention contre la toxicité hépatique provoquée par l'éthanol. Ces résultats sont en accord avec ceux de (Kalaz *et al.*, 2012).

L'exposition des rats à l'éthanol provoque une augmentation significative des triglycérides et du cholestérol ($P < 0,05$) en les comparant avec les rats témoins. Ces résultats concordent avec ceux de Juan Gayosso *et al.*, 2015 qui ont démontré ainsi que l'administration d'un extrait végétal permet de réduire l'excès du cholestérol et du triglycéride au niveau du sang. Ce résultat a été confirmé par (Antonisamy *et al.*, 2015).

Le cholestérol est une molécule lipidique produite naturellement par l'organisme, décrite comme étant un constituant essentiel dans la membrane cellulaire. Il circule dans le corps en se fixant à différents types de lipoprotéines. Les deux principales sont les lipoprotéines de haute densité (cholestérol HDL) et les lipoprotéines de faible densité (cholestérol LDL). Le cholestérol LDL est souvent appelé « mauvais cholestérol » car il contient une quantité relativement élevée de cholestérol qui peut s'accumuler sur les parois artérielles en cas d'excès. Le cholestérol HDL, lui, élimine le cholestérol de nos artères en l'entraînant vers le foie où il est éliminé. C'est pourquoi il est souvent appelé le « bon cholestérol ».

Quant aux triglycérides, ils proviennent le plus souvent de l'alcool et des sucres ingérés de façon excessive (surtout les sucres « rapide », comme les jus de fruits et autres boissons sucrées, les gâteaux, les confiseries et les confitures du commerce), transformés en triglycérides par le foie. Ainsi, même si les triglycérides sont un type de lipide (donc de graisses) sanguin, leur présence en excès ne provient pas habituellement des graisses alimentaires, mais plutôt de l'excès de sucres.

L'athérosclérose est parmi les conséquences du dépôt de LDL qui transporte le cholestérol du foie vers les cellules sous forme oxydée sur les parois des artères formant des plaquettes dites athéromes qui vont être lésées : sclérose.

En revanche les lipoprotéines de haute densité (HDL) protègent contre l'athérosclérose en supprimant l'excès de cholestérol des macrophages à travers le transporteur de cassette de liaison à l'ATP A1 (ABCA1) et les transporteurs G1 (ABCG1) de transporteur de liaison à l'ATP impliqués dans le transport inverse du cholestérol. L'éthanol est un facteur qui peut altérer la disponibilité des apolipoprotéines fonctionnelles ou les activités d'ABCA1 et ABCG1, par conséquent, la formation de l'athérogène. C'est d'après les recherches réalisées par (Obert *et al.*, 2016) et qui sont en accord avec nos résultats. Les conséquences de l'athérosclérose peuvent aller jusqu'à la formation d'un thrombus (caillot de sang) sur la plaquette bloquant la circulation.

Par contre l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante a permis une modulation du profil lipidique chez les rats recevant l'éthanol, et qui représente un bon signal envers la diminution de l'hyperlipidémie. Ces résultats sont en accord avec les travaux de (Donepudi *et al.*, 2018).

L'éthanol peut induire un stress oxydant, caractérisé par la production excessive des radicaux libres qui épuisent les défenses antioxydantes. Ce qui a été conformément démontré dans nos résultats montrant que chez les rats traités par l'éthanol une augmentation hautement significative du malondialdéhyde (MDA) a été constatée. Ainsi une diminution du glutathion réduit (GSH), de l'activité du glutathion peroxydase (GPx), et une inhibition de l'activité de la catalase (CAT).

L'alcool est également capable de réagir directement avec des biomolécules en provoquant des réactions dangereuses comme : La peroxydation lipidique qui est un marqueur clé du stress oxydant déterminée par la mesure de l'MDA. C'est est un processus conduisant à la dégradation oxydative des lipides polyinsaturés qui constitue la membrane plasmique.

Dans notre étude, on a enregistré une augmentation hautement significative du taux hépatique en MDA chez les rats traités par l'éthanol ($P < 0,001$). Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par (Gayosso *et al.*, 2015).

L'augmentation de la concentration de l'MDA indique des lésions graves dans les membranes cellulaires à travers l'organisme, formant une maladie hépatique liée à l'alcool. Il a été démontré que l'ingestion de suppléments antioxydants diminue significativement les taux de l'MDA dans le sérum et rétablit les mécanismes antioxydants à leur niveau normal dans le foie, c'est d'après les travaux de (Bautista *et al.*, 2013).

Nos résultats suggèrent que l'extrait *n*-butanol de cette plante augmente les défenses antioxydantes, en diminuant considérablement le taux de l'MDA, améliorant ainsi la fonction hépatique (albumine, bilirubine et triacylglycérides).

Nous avons trouvé que cet extrait possède un effet antioxydant exprimant une diminution hautement significative de MDA pendant le traitement, en empêchant la liaison des métabolites de l'éthanol avec les lipides membranaires. Ceci est conforme aux études menées sur d'autres espèces vis-à-vis la toxicité de l'éthanol comme celle réalisée par (Ito, 2011).

Le glutathion est un pseudo-tripeptide formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine : γ -L-Glutamyl-L-cystéinyglycine. Le glutathion, qui existe sous forme oxydée et réduite, intervient dans le maintien du potentiel redox du cytoplasme de la cellule.

Dans la présente étude, l'administration de l'éthanol à des rats mâles de la souche *Wistar Albinos* a provoqué une diminution hautement significative du GSH hépatique ($P < 0,01$). Ce qui conduit à un état de déséquilibre dans le profil prooxydant antioxydant.

Il est bien connu que l'administration de l'éthanol provoque un état de stress oxydatif qui pourra atteindre la fonction de certaines enzymes hépatiques impliquées dans la transsulfuration, notamment la méthionine adénosyltransférase (MAT). Cette enzyme catalyse la formation de S-adénosylméthionine (SAM) qui est une source métabolique pour la production de GSH à partir de la méthionine et de l'ATP.

L'alcool résulte à une hyperméthioninémie dans la cirrhose alcoolique qui est expliquée par une diminution de l'activité de (MAT). Ce qui donne une modification d'un résidu critique de cystéine (acide aminé du GSH) entraînant l'inactivation du (MAT) hépatique. Et par la suite, à la réduction de la synthèse de (SAM), une source métabolique importante pour la production du GSH. Cette réduction a comme résultat : une diminution du GSH hépatique qui peut déclencher un cercle vicieux conduisant à une altération cellulaire parfois irréversible. Ces résultats sont confirmés par (Kima *et al.*, 2008).

En outre, chez le groupe des rats traités par l'extrait *n*-butanol et l'éthanol, ainsi la vit E+ l'éthanol, une augmentation hautement significative du GSH ($P < 0,01$) est constatée. Ce qui prouve l'efficacité de cet extrait à réguler le taux des enzymes hépatiques (SAM) et (MAT) responsable de la bonne production du glutathion hépatique. Ces données sont conformes avec celles publiées par (Deponte, 2017).

De même le dosage du glutathion peroxydase chez des rats traités par l'éthanol a démontré une diminution significative ($P < 0,05$). Ceci est justifié par une surproduction des radicaux libres inhibant le fonctionnement de cette enzyme.

Les SOD et GPx exercent un effet protecteur mutuel, les GSH-Px sont en effet inactivés par les ions superoxydes, alors que la Cu-Zn-SOD est inactivée par H_2O_2 . Une telle inactivation pourrait favoriser le déséquilibre de la balance oxydants-anti-oxydants lors de l'activation des phagocytes et faciliter les lésions tissulaires dans les sites inflammatoires.

Les GPx comme les SOD, après agression radicalaire provoqué par l'éthanol, deviennent très sensibles à l'action des protéases. Présentant une baisse des glutathion peroxydases et une augmentation du MDA plasmatique, et une induction du cytochrome P_{450} qui produit une quantité importante de H_2O_2 . Cette quantité fait une cause trop importante pour l'inhibition du glutathion peroxydase et d'autres systèmes enzymatiques.

Ainsi que les cellules soumises à un stress oxydatif provoqué par l'éthanol sont capables de s'adapter en modifiant leur synthèse protéique et en orientant celle-ci vers la synthèse de nouvelles protéines (les protéines de stress) dont certaines appartiennent à la famille des protéines du stress thermique (HSPs).

Ses pertinents sont en accord avec les études réalisés par (Richard, 1997; Simoni-Nieves *et al.*, 2018). Or que l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante a permis une baisse significative du glutathion peroxydase ($P < 0,05$). Ce qui prouve son pouvoir anti-oxydant permettant la régénération de cette enzyme.

De même la catalase (CAT) qui est une hémoprotéine catalysant la réduction des peroxydes d'hydrogène en H_2O_2 et en oxygène a été retrouvée avec une diminution significative ($P < 0,05$) chez les rats traités par l'éthanol. De nombreuses études rapportent que l'éthanol provoque une diminution de l'activité de la CAT dans des différents tissus, et parfois même à son inhibition par l'anion superoxyde.

Ces résultats concordent avec ceux de (García et Muñoz, 2017) qui ont démontré que la catalase ait un rôle beaucoup plus faible dans l'oxydation de l'alcool que l'ADH ou le CYP2E1. Elle convertit deux molécules de H_2O_2 en deux molécules d'eau. La première molécule d' H_2O_2 entre dans le site actif où elle oxyde le fer hème pour produire un groupe oxyferryle avec une radicale porphyrine π -cationique et une molécule d'eau. Une seconde molécule de peroxyde d'hydrogène pénètre ensuite dans le site actif et oxydée en oxygène moléculaire et en eau. Cependant les radicaux hydroxyles sortiront du canal vers le site actif et oxyderont les molécules d'éthanol en molécules d'acétaldéhyde à l'extérieur du site actif.

Alors que l'extrait *n*-butanol a ajusté le taux de la catalase chez les rats du groupe traité. Ce qui prouve son efficacité à améliorer le statut anti-oxydant à travers les composés phénoliques qui jouent un rôle important dans la régulation de cette déplétion.

En conclusion, nous rappelons à travers cette étude qu'on a pu confirmer que l'administration de l'éthanol à une dose de (5 g/kg), peut provoquer une hépatotoxicité. Ainsi que, l'administration orale de l'extrait *n*-butanol de la plante à la dose de (100 mg/kg) a permis de protéger les rats vis-à-vis des lésions hépatiques provoquées par l'administration de l'éthanol.

Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires pour donner avec précision le/les mécanisme(s) moléculaire(s) responsable(s) de ces effets, ainsi que pour évoluer l'effet hépatoprotecteur de cet extrait.

L'analyse histopathologique a montré que l'administration de l'éthanol induisait des lésions de souffrance hépatocytaires caractérisant l'HAA (L'hépatite alcoolique aiguë) : Des infiltrats lymphocytaires centraux péri-vésiculaire focaux (figure 21 (d)), des clarifications hépatiques (figure 21(d)), discrète nécrose hépatocyttaire (cellule nécrosées +lymphomes), corps de Mallory et autres atteintes hépatiques : Stéatose micro-vésiculaire discrète et focale (figure 21 (a)) et congestion hépatique (figure 21 (c)).

L'oxydation de l'éthanol par le CYP2E1 génère les ROS (diminution du GSH, augmentation MDA provoquant des altérations au niveau de l'ADN. Qui sont déterminées par une cytotoxicité favorisant la destruction des cellules hépatiques soit par apoptose soit par nécrose. Qui est due à l'interaction de plusieurs mécanismes dont l'induction du FasR (The first apoptosis signal receptor) provoquée par l'éthanol et l'un de ces mécanismes.

D'une part, l'éthanol déclenche une réaction inflammatoire, dont l'activation des cellules de Kupffer et les macrophages résidents provoque une surproduction des médiateurs pro-inflammatoires qui augmentent l'apport sanguin aux hépatocytes provoquant une congestion hépatique (Teixeira-Clerc, 2015).

D'autre part, le stress oxydatif induit par l'éthanol réduit l'activité des protéasomes (le complexe cytosolique responsable de la protéolyse), par conséquent la formation des agrégats de filaments de cytokératine formant des corps de Mallory dans le cytoplasme clarifié (Coux et Piechaczyk, 2000 ; Teixeira-Clerc, 2015). Cette clarification cytoplasmique est considérée comme un début de perte de couleur normale des hépatocytes due à la clairance cytoplasmique. Toujours le résultat d'une souffrance hépatique alcoolique, et d'un autre côté les lipides des hépatocytes deviennent plus clairs (Rautou *et al.*, 2007).

Dans quelques cas développés la clarification se transforme en stéatose figure 20 (a) : Légère Stéatose micro-vésiculaire modérée et focale. L'éthanol provoque une diminution de l'oxydation des acides gras, une augmentation de la lipogenèse et une augmentation de l'influx d'acides gras depuis la lumière intestinale. Les acides gras s'accumulent sous forme de vacuoles lipidiques intra-hépatocytaires (Silvain et Chagneau-Derrode, 2006).

L'infiltrat lymphocytaire est une caractéristique de l'hépatite alcoolique. Cette lésion est très proche de celle provoquée par l'hépatite C (VHC) (Lahmek et Nahon, 2002). Les dommages de la destruction des hépatocytes causés par l'activité nécrotico-inflammatoire sont entourés et infiltrés par des lymphocytes (T CD4⁺, T CD8⁺) et peuvent former des nodules lymphoïdes (Kobayashi *et al.*, 1993 ; Chapel *et al.*, 1999 ; Handra-Luca *et al.*, 2007).

La présence de quelques lésions dans les autres groupes non toxiques montre que les rats souffrent déjà d'une hépatite qui peut être la conséquence d'une infection virale ou d'autres types d'infections mâles connues (mauvaises conditions de l'environnement).

L'analyse histopathologique des groupes G(A) et G(P) traités avec l'extrait *n*-butanol de la plante montre une réduction des lésions hépatiques. Ce qui prouve l'efficacité de cet extrait dans la réduction et la prévention des dommages causés par l'éthanol. L'extrait était plus puissant que la vitamine E.

Conclusion :

Dans notre étude, réalisée *in vitro*, l'estimation de la concentration des polyphénols et des flavonoïdes a montré que l'extrait *n*-butanol de la plante est riche en ces composés, ainsi que le test du DPPH a validé sa capacité à piéger ce radical libre. Or que l'inhibition de la peroxydation lipidique et le maintien de la stabilité membranaire ont été absolument bien constaté vis-à-vis l'influence de cet extrait.

L'impact toxique sous l'influence de l'éthanol est confirmé *in vivo*, car ce xénobiotique est susceptible de causer des dommages hépatotoxiques qui pourront résulter des lésions dangereuses parfois irréversibles.

L'ensemble de nos travaux a permis de souligner que l'administration de l'éthanol à une dose de (5 g/kg) chez des rats du genre *Albinos Wistar*, provoque une hépatotoxicité qui s'est traduite par une augmentation des taux sériques des transaminases « l'ALT et l'AST » ainsi du profil lipidique « cholestérol, triglycérides » qui pourra mener à une cardiotoxicité.

Ainsi qu'un effondrement du statut antioxydant hépatique été observé, et caractérisé par une augmentation du malondialdéhyde « MDA » issu depuis la peroxydation lipidique, une déplétion des agents antioxydants comme le glutathion « GSH » et le glutathion peroxydase « GPx », et une inhibition fonctionnelle de la catalase « CAT ».

D'autre part, nos résultats montrent que l'administration concomitante de l'extrait *n*-butanol de la plante à une dose de 100 mg/kg avec l'éthanol, a permis une amélioration du profil enzymatique et lipidique, ainsi une très bonne régulation du statut antioxydant.

Il ressort de ces pertinents, que cette plante a un effet hépato-protecteur qui peut être attribué au potentiel antioxydant, Cette étude a également validé son utilisation en médecine traditionnelle dans les troubles du foie. Ceci concorde avec les données de Wanjari *et al.*, 2016 qui a montré que la plante *Bombax ceiba* a un effet hépato-protecteur vis-à-vis une toxicité induite par le tetrachloride de carbone.

Les perspectives de notre travail sont encore nombreuses, en vue de l'importance de ce sujet, il nous semble donc intéressant d'améliorer notre champ de recherche envers l'identification des molécules impliquées dans cet effet hépato-protecteur, aussi bien l'étude des mécanismes moléculaires intervenant dans les effets pharmacologiques observés. Ainsi que penser à l'application biologique et alimentaire de cet extrait sera un bon départ pour un projet pharmacologique.

Résumé :

L'éthanol est un solvant organique largement consommé ayant une forte toxicité sur de différents organes tel que le foie qui montre de divers troubles hépatiques comme l'infiltration adipeuse, l'hépatite alcoolique et la fibrose. D'autre part il provoque des effets toxiques par la production d'espèces réactives de l'oxygène et l'induction de la peroxydation lipidique. Cette étude a été conçue pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* et examiner l'effet de l'éthanol sur le tissu hépatique des rats avec un modèle expérimental imitant la beuverie humaine.

Des expériences ont été réalisées sur sept groupes dont chacun comprenait huit animaux : un groupe témoin (solution saline, gavage), un groupe d'éthanol (5 g/ kg / jour, gavage), un groupe d'extrait végétal (100 mg / kg, gavage), un groupe d'extrait végétal et l'éthanol, et un autre de la Vit E. Alors que deux autres groupes sont mis en prévention : l'un par la Vit E et l'autre par l'extrait et administrés de suite par l'éthanol. Les rats ont reçu de l'éthanol dilué avec une solution saline normale (40%, v : v) par gavage à la dose de (5g / kg) toutes les 12 heures pour 3 doses en tant que total. La peroxydation lipidique endogène a été évaluée en mesurant les taux de malondialdéhyde (MDA) dans les homogénats hépatiques. Les activités de glutathion tissulaire (GSH) et de glutathion peroxydase (GSH-Px) et de catalase (CAT) ont également été déterminées.

Toutes les activités enzymatiques sériques ont été trouvées nettement élevées dans le groupe éthanol. Les résultats ont montré que l'extrait *n*-butanol de la plante contenait une grande quantité de composés flavonoïdes et polyphénols totaux. L'extrait a montré un effet hépatoprotecteur, limitant les effets hépatotoxiques induits par EtOH. Cet effet peut être lié à la modulation des processus d'oxydo-réduction. En outre, cette étude a démontré que les polyphénols peuvent protéger le foie contre les agressions oxydatives en modulant le taux du GSH, la production de ROS et de MDA et l'activité des enzymes antioxydantes.

En conclusion, la consommation excessive d'éthanol, qui a été appliquée sur des rats pour étudier une lésion tissulaire aiguë, a semblé confirmer la génération de stress oxydatif dans les foies de rats. L'extrait a présenté un effet hépatoprotecteur qui peut être attribué au potentiel antioxydant. Cette étude a également validé leur utilisation médicinale traditionnelle dans les troubles hépatiques.

Mots-clés : Extrait *n*-butanol, Activité antioxydante, Toxicité de l'éthanol, Fonction hépatique, Peroxydation lipidique.

Abstract:

Ethanol is a widely consumed organic solvent with high toxicity on different organs such as the liver that shows various liver disorders such as fat infiltration, alcoholic hepatitis and fibrosis. On the other hand it causes toxic effects by the production of reactive species of oxygen and the induction of lipid peroxidation. This study was designed to evaluate antioxidant activity in vitro and examine the effect of ethanol on liver tissue in rats with an experimental model mimicking human drinking.

Experiments were conducted on seven groups, each one contain eight animals: a control group (saline, gavage), a group of ethanol (5 g / kg / day, gavage), a group of plant extracts (100 mg / kg, gavage), a group of plant extract and ethanol, and another of Vit E. While two other groups are put in prevention: one by the Vit E and the other by the extract and administered immediately by ethanol. The rats were given ethanol diluted with normal saline (40%, v: v) by gavage at the dose of (5g / kg) every 12 hours for 3 doses as a total. Endogenous lipid peroxidation was assessed by measuring malondialdehyde (MDA) levels in liver homogenates. Tissue glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) activities were also determined.

All serum enzymatic activities were found to be significantly elevated in the ethanol group. The results showed that the *n*-butanol extract contained a large amount of flavonoid compounds and total polyphenols. The extract showed a hepatoprotective effect, limiting the hepatotoxic effects induced by EtOH. This effect can be related to the modulation of the oxidation-reduction processes. In addition, this study demonstrated that polyphenols can protect the liver against oxidative stress by modulating GSH levels, ROS and MDA production, and the activity of antioxidant enzymes.

In conclusion, excessive consumption of ethanol, which was applied to rats to study acute tissue injury, appeared to confirm the generation of oxidative stress in rat livers. The extract exhibited a hepatoprotective effect that can be attributed to the antioxidant potential. This study also validated their traditional medicinal use in liver disorders.

Keywords: *n*-butanol extract, Antioxidant activity, Ethanol toxicity, Liver function, Lipid peroxidation.

ملخص:

الإيثانول هو مذيّب عضوي يستهلك على نطاق واسع ذو سمية عالية على مختلف أعضاء الجسم، تحديداً على الكبد الذي يمكن أن تظهر عليه اضطرابات مختلفة مثل ارتشاح الدهون والتهاب الكبد الكحولي والتليف إثر تعرض مستمر لهذه المادة السامة. من ناحية أخرى، فإنه يتسبب في تأثيرات سامة عن طريق إنتاج الأنواع التفاعلية للأوكسجين وتحريض أكسدة الدهون. حيث تم تصميم هذه الدراسة لتقييم نشاط مضادات الأكسدة في المختبر ودراسة تأثير الإيثانول على أنسجة كبد الجرذان مع نموذج تجريبي يحاكي شرب الإنسان.

أجريت التجارب على سبع مجموعات، كل منها تتكون من ثمانية جرذان: مجموعة الشاهد (تمت معالجتها عن طريق الفم بالمحلول الملحي)، ومجموعة الإيثانول (5 غ/كغ / يوم)، ومجموعة المستخلص النباتي (عوملت عن طريق الفم بجرعة تعادل 100 ملغ/كغ)، ومجموعة أخرى عولجت بالمستخلص النباتي والإيثانول، وأخرى بالفيتامين E. بينما يتم وضع مجموعتين أخريتين تحت الوقاية: واحدة بالفيتامين E والأخرى بالمستخلص، تمت معاملة كليهما على الفور بالإيثانول.

في حين أعطي للفئران 3 جرعات من الإيثانول المخفف بالمحلول الملحي العادي (40٪، v: v) بجرعة (5g / kg) كل 12 ساعة، وتم تقييم أكسدة الدهون الذاتية عن طريق قياس مستويات malondialdehyde (MDA) في المجنس الكبدي. كما تم تحديد تركيز الجلوتاثيون (GSH) وجلوتاثيون بيروكسيداز (GSH-Px) وأنشطة الكاتالاز (CAT).

وجد أن النشاط الإنزيمي في المجموعة السامة مرتفع بشكل ملحوظ، وأوضحت النتائج أن هذا المستخلص يحتوي على كمية كبيرة من مركبات الفلافونويد ومركبات البوليفينول الكلية التي تحد من التأثيرات الكبدية التي يسببها EtOH. حيث يمكن أن يرتبط هذا التأثير بتعديل عمليات تقليل الأكسدة. بالإضافة إلى ذلك، أوضحت هذه الدراسة أن مادة البوليفينول يمكنها حماية الكبد ضد الإجهاد التأكسدي من خلال تعديل مستويات GSH، وMDA، ونشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة.

الكلمات الرئيسية: المستخلص البيتانولي، النشاط المضاد للأكسدة، سمية الإيثانول، وظائف الكبد، أكسدة الدهون.

ANNEXES :
**PARTICIPATION AU CONGRÈS
SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL
DE LA TOXICOLOGIE.**

Communication orale N°31 :

***In vitro* antioxidant and modulations of *n*-butanol extract on Ethanol-induced liver injury and impaired the liver function in rats.**

Merouani Farouk¹, Hamza Fadel², Zehani Lamia¹, Benghelib Nour el imen¹, Bekhouche Nour el houda¹, Lassed Somia^{1,2}, Benayache Fadila², Benayache Samir², Djamila Zama^{1,2*}.

¹Département de Biologie Animale ; Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie - Université Frères Mentouri Constantine1, Route Ain El Bey, 25000 Constantine, Algérie.

²Unité de Recherche Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives, Analyses Physicochimiques et Biologiques (VARENBIOMOL)- Université Frères Mentouri Constantine1, Route Ain El Bey, 25000 Constantine, Algérie.

Correspondance : atrouzl@umc.edu.dz

Abstract :

Ethanol is a widely consumed organic solvent with toxic properties both systemically and to the central nervous system (CNS). Liver disorders such as adipose infiltration, alcoholic hepatitis, and fibrosis are associated with ethanol consumption. It was shown that ethanol causes toxic effects by production of reactive oxygen species (ROS) and lipid peroxidation induction in different tissues and cells. This study was designed to evaluate the *in vitro* antioxidant activity and to examine the effect of ethanol on rat liver tissue with an experimental model mimicking human binge drinking.

Experiments were performed on seven groups. Each group consisted of eight animals, including control group (saline, gavage), ethanol- receiving group (5 g/kg/day, gavage), plant extract (100 mg/Kg, gavage) and plant extract and ethanol groups. Rats were given ethanol diluted with normal saline (40%, v: v) by gavage at the dose of 5.0 g/kg every 12 h for 3 doses as total. Endogenous lipid peroxidation was assessed by measuring the levels of malondialdehyde (MDA) in liver homogenates. Tissue glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GPx) and catalase (CAT) activities were also determined. All serum enzymatic activities were found markedly elevated in ethanol group. The results showed that *n*-butanol extract containing a higher amount of total phenolic total flavonoids compounds. The administered extract showed a hepatoprotective effect, limiting the EtOH-induced hepatotoxic effects. This effect can be related to modulating oxido-reduction processes. Also, his study demonstrates that polyphenols may help to protect liver cells against oxidative insult by modulating GSH concentration, ROS and MDA generation and antioxidant enzymes activity.

As a conclusion, binge ethanol consumption which was applied to rats to investigate acute tissue injury, appeared to confirm the generation of oxidative stress in rat livers. The extract exhibited hepatoprotective effect which may be attributed to antioxidant potential. This study also validated their traditional medicinal use in liver disorders.

Key words: *n*-butanol extract, Ethanol toxicity, Liver Function, Lipid Peroxidation.



7èmes Journées Internationales Scientifiques de l'ATT «Exposition aux faibles doses et aux mélanges. Interaction et modulation des effets » Monastir, 28-29 Avril 2018

Attestation de Participation

Le comité d'organisation des 7èmes Journées Internationales Scientifiques de l'ATT, tenues à Monastir du 28 au 29 Avril 2018, atteste que
...**FARAK MERRAJANI**..... a participé aux journées et a présenté une
communication orale n°34.....

Le Secrétaire Général de l'ATT
Associé Tunisien de Toxicologie
A. T. T
الجمعية التونسية لعلم السموم

Dr. Chayma BOUAZIZ

Association Tunisienne de Toxicologie (ATT), Faculté de Médecine Dentaire, Rue Avicenne, 5019 Monastir.
Site web: www.attox.org Tél: + 21673425550, Fax: + 216 73461150

Merouani Farouk

Date de soutenance :

Benghelib Nour El Imene

27/06/2018

Bekhouche Nour El Houda

Titre : Évaluation des phénols totaux, flavonoïdes, et du pouvoir antiradicalaire et hépatoprotecteur de l'extrait *n*-butanol d'une plante endémique : tests *in vitro* et *in vivo*.

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master 2

Résumé :

L'éthanol est un solvant organique largement consommé ayant une forte toxicité sur de différents organes tel que le foie qui montre de divers troubles hépatiques comme l'infiltration adipeuse, l'hépatite alcoolique et la fibrose. D'autre part il provoque des effets toxiques par la production d'espèces réactives de l'oxygène et l'induction de la peroxydation lipidique. Cette étude a été conçue pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* et examiner l'effet de l'éthanol sur le tissu hépatique des rats avec un modèle expérimental imitant la beuverie humaine.

Des expériences ont été réalisées sur sept groupes dont chacun comprenait huit animaux : un groupe témoin (solution saline, gavage), un groupe d'éthanol (5 g / kg / jour, gavage), un groupe d'extrait végétal (100 mg / kg, gavage), un groupe d'extrait végétal et l'éthanol, et un autre de la Vit E. Alors que deux autres groupes sont mis en prévention : l'un par la Vit E et l'autre par l'extrait et administrés de suite par l'éthanol. Les rats ont reçu de l'éthanol dilué avec une solution saline normale (40%, v : v) par gavage à la dose de (5g / kg) toutes les 12 heures pour 3 doses en tant que total. La peroxydation lipidique endogène a été évaluée en mesurant les taux de malondialdéhyde (MDA) dans les homogénats hépatiques. Les activités de glutathion tissulaire (GSH) et de glutathion peroxydase (GPx) et de catalase (CAT) ont également été déterminées.

Toutes les activités enzymatiques sériques ont été trouvées nettement élevées dans le groupe éthanol. Les résultats ont montré que l'extrait *n*-butanol contenait une grande quantité de composés flavonoïdes et polyphénols totaux. L'extrait a montré un effet hépatoprotecteur limitant les effets hépatotoxiques induits par EtOH. Cet effet peut être lié à la modulation des processus d'oxydo-réduction. En outre, cette étude a démontré que les polyphénols peuvent protéger le foie contre les agressions oxydatives en modulant le taux du GSH, la production de ROS et de MDA et l'activité des enzymes antioxydantes.

En conclusion, la consommation excessive d'éthanol, qui a été appliquée sur des rats pour étudier une lésion tissulaire aiguë, a semblé confirmer la génération de stress oxydatif dans les foies de rats. L'extrait a présenté un effet hépatoprotecteur qui peut être attribué au potentiel antioxydant. Cette étude a également validé leur utilisation médicinale traditionnelle dans les troubles hépatiques.

Mots-clés : Extrait *n*-butanol, Activité antioxydante, Toxicité de l'éthanol, Fonction hépatique, Peroxydation lipidique.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de biologie faculté de science naturelle et de la vie, université Mentouri Constantine 01.

Président : Mouri Fouzia (MCB-UFM Constantine).

Encadreur : Zama Djamilia (Pr-UFM Constantine).

Examineurs : Bouldjadj Redouane (MAA - UFM Constantine).

Ihoual Safia (MMA-UFM Constantine).