

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

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

Département de Biochimie et Biologie moléculaire et cellulaire
قسم بيوكيمياء وبيولوجيا الجزيئية والخلوية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Evaluation de l'effet hépato-protecteur d'écorces de *Punica granatum* L. chez
des rats *Wistar*

Présenté par : GRINI Kamilia

HERRATI Djehina

Le 29/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : ZEGHAD Nadia (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : MAAMERI Zineb (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : MADI Aicha (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2021 - 2022

Remerciements

Je tiens à remercier avant tout Dieu le tout puissant de m'avoir guidé durant toutes ces années et m'a permis de réaliser ce mémoire en me donnant la force, la patience et la volonté.

J'adresse tout d'abord mes remerciements les plus sincères, mes respects et ma profonde gratitude à mon encadreur Madame ZEGHAD NADIA, Maître de Conférences A à l'université des Frères Mentouri-Constantine 1, qui a mis toutes ses connaissances et son expérience à notre disposition, en nous faisant part de ses suggestions les plus judicieuses et de ses critiques les plus constructives. Nous avons vraiment apprécié sa façon de travailler, son efficacité et son enthousiasme. Bref, une directrice de recherche digne de ce nom.

On tient à remercier Madame MAAMERI ZINEB, Maître de Conférences A à l'université des Frères Mentouri-Constantine 1, et Madame MADJ AICHA, Maître de Conférence B à l'université des frères Mentouri-Constantine1 de nous avoir fait l'honneur de d'être examinatrices de ce jury de soutenance.

Nos remerciements vont aussi à tout le corps académique de l'université des Frères Mentouri-Constantine1 en général et en particulier ceux de l'institut des Sciences Vétérinaire. On remercie tous les enseignants de la faculté des sciences de la Nature et de la vie à l'université des Frères Mentouri-Constantine1, qui nous ont enseignées durant les cinq ans d'études, On ne peut pas nous empêcher d'avoir une pensée pour ceux et celles qui nous ont répondu présents et nous ont offert leur soutien moral dans les moments difficiles et qu'ils ont été à nos côtés.

Dédicace

*Grace à ALLAH et toujours grâce a lui le tout puissant que je me suis
arrivée à finaliser ce mémoire.*

Mon travaille est dédié a :

*Ma mère : tes prières illuminent mon chemin, ta flamme me guide
dans l'obscurité.*

*Mon père : ta sincérité, tes efforts, ton dure travail m'assurent une
vie en roses, tu est le pilier de la famille.*

Mes sœurs :

*Meriem : tout mon souhait pour un bonheur éternel et une prospérité
dans l'avenir.*

*Ratiba : je compte sur toi, et souhaite que tu reste toujours la
meilleure.*

*Mes grands parents : votre présence est inestimable et indispensable,
que dieu vous protège.*

Mes oncles : chacun est pour moi une source de mes origines.

*Mes cousins: Ilyes , Karima, Randa, les souvenirs d'enfance sont
gravés dans ma mémoire et toute notre jeunesse.*

Spécial dédicace : mon cousin Mahdi pour ses efforts et son aide

*Mes amies : Marwa , Rofaïda , Nawel chacune de vous me donne un
sentiment d'amitié .*

Dédicace

A mon cher père Azouz qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.

A la lumière de mes yeux. Le Bonheur de ma vie ma mère Baghi Malika qui m'a apporté son appui durant toutes mes Années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné Confiance, courage et sécurité.

Aux meilleurs frères du monde : Soufiane et Hemza

À ma chère sœur Amina

A mon ami Amine Belamri

A tous mes amies et mes collègues surtout Nawale lewaaer et

Khengui Khiredidine

À mon binôme Kamilia

DJEHINA

Table des matières

Introduction

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique sur Punica granatum L. الرمان

1/ Description botanique.....	03
2/ Systématique botanique.....	04
3/ Origine et distribution géographique.....	05
4/ Usages traditionnels et empiriques de <i>Punic granatum</i>	05
5/ Composition chimique de la grenade.....	08
5.1/ Jus de grenade.....	08
5.2/ Graines de grenade.....	08
5.3/ Ecorce de grenade.....	09
6/ Activités biologiques des écorces de grenade.....	10
6.1/ Activité antioxydante.....	10
6.2/ Activité anti inflammatoire.....	11
6.3/ Activité antimicrobienne.....	11
6.4/ Activité anti fongique.....	12
6.5/Activité antidiabétique.....	12
6.6/ Activité anticancéreuse.....	12

Chapitre II: Synthèse bibliographique sur le foie

Introduction	14
1/ Formation de foie.....	14
2/ Morphologie descriptive.....	15
2.1/ Morphologie externe.....	16
2.1.1/ Face supérieure ou diaphragmatique.....	16
2.1.2 / Face inférieure ou viscérale.....	16
2.1.3/ Face postérieure.....	17
2.2/ Vaisseaux et Nerfs du foie.....	17
2.2.1/ Vascularisation.....	17
2.2.2/ Nerfs.....	18
3/ Fonctions du foie	19

3.1/ Métabolisme.....	19
3.2/ Sécrétion biliaire.....	19
3.3/ Hémyolyse et défense de l'organisme.....	19
3.4/ Détoxification sanguine.....	19
4/ Lésions hépatiques.....	20
4.1/ Nécrose.....	20
4.2/ Cirrhose.....	20
4.3/ Stérose.....	20
4.4/ Fibrose.....	20
4.5/ Cholestase.....	21
5/ Marqueurs hépatiques.....	21
5.1/ Aminotransférases.....	21
5.2/ Alanine aminotransférase.....	22
5.3/ Aspartate aminotransférase.....	22
5.4/ Phosphatase alcaline.....	22
5.5/ Gamma–glutamyl transférase.....	22
5.6/ Biliburine totale.....	23
6/ Héptotoxicité.....	23
6.1/ Définition.....	23
6.2/ Classification.....	23
6.3/ Tétrachlorure de carbone (CCl ₄).....	24

Partie II : Matériel et Méthode

1/ Matériel végétal.....	26
2/ Méthode d'extraction.....	26
3/ Evaluation des activités biologiques <i>in vivo</i>	27
3.1/ Matériel animal.....	27
3.2/ Evaluation de l'activité hépto protectrice.....	27
3.3/ Examen microscopique.....	28

Chapitre III : Résultat et discussion

1/ Variation du poids corporel.....	29
2/ Evaluation de l'effet hépto protecteur d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i>	31
3/ Examen microscopiques des coupes histologiques.....	34

Conclusion

Références bibliographiques

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des figures

Figure 1 : Présentation de <i>Punica granatum</i>	03
Figure 2 : Appareil digestif humain.....	15
Figure 3 : Anatomie hépatique.....	15
Figure 4 : Vue antérieure du foie.....	16
Figure 5 : Face inférieure du foie.....	17
Figure 6 : Système de vaisseaux et conduits intra - hépatiques.....	18
Figure 7 : Ecorce du <i>Punica granatum</i> L.	26
Figure 8 : Evolution du poids corporel des rats témoins et traités durant les 14 jours d'expérimentation.....	30
Figure 9 : Effet d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i> sur le profil hépatique chez les rats traités..	32

Liste des tableaux

Tableau I : Classification botanique de <i>Punica granatum</i> L.....	04
Tableau II : Utilisation des différents organes du grenadier en médecine traditionnelle.....	06
Tableau III : Composés phénoliques présents dans l'écorce de grenade.....	10
Tableau IV : Variation du poids corporel des rats témoins et traités durant les 14 jours d'expérimentation.....	29
Tableau V : Influences d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i> L. sur le profil hépatique des rats traités.....	31

Liste des abréviations

CCl₄	Tétrachlorure de carbone
ASAT :	Aspartate Amino Transférase
ALAT :	Alanine Amino Transférase
GGT :	Gamma Glutanyl Transférase
PAL :	Phosphatase Alcaline
ROS :	Espèces Réactives d'Oxygène

Introduction

Les substances naturelles d'origine végétale sont douées de plusieurs activités biologiques (Kada, 2018), ce qui explique que plus de 80% de la population mondiale utilisent les plantes médicinales pour traiter plusieurs maladies. En effet, Le recours aux pratiques traditionnelles à base de plantes médicinales est expliquée par plusieurs raisons tels que le cout élevé des produits pharmaceutiques, les habitudes socioculturelles des populations, la nécessité de disposer d'options thérapeutiques pour les agents pathogènes résistants et l'existence des maladies pour lesquelles il n'y a pas de traitement efficace (Ghenimi, 2015).

Dans ce contexte on parle sur l'un de ces plantes médicinales : *Punicca granatum L.* (grenadine) qui se trouve dans plusieurs régions Algériennes. Toutes ses parties ; fruits, racines, écorce, pépins sont très utilisées en combinaison dans la médecine traditionnelle grâce de leur effet : antioxydant, antimicrobienne, anti-cancéreux et antidiabétique pour traiter des maladies comme, l'infections, les blessures et l'inflammations (Ahmed *et al.*, 2005). L'intérêt porté aux antioxydants naturels , en relation avec leurs propriétés thérapeutiques , a augmenté considérablement . Des recherches scientifiques dans divers spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles (Huang *et al.*, 2005). Dans notre travaille on s'intéresse à l'activité hépatoprotéctrice d'écorce de grenade. Le foie est le site principal pour le métabolisme intense et l'excrétion. Il joue donc un rôle surprenant dans la maintenance, la performance et la régulation de l'homéostasie du corps. Il est impliqué dans presque toutes les voies biochimiques de la croissance, de la lutte contre les maladies, de l'apport de nutriments, de la fourniture d'énergie et de la reproduction (Rajib, 2009).

Les hépato-protecteurs de synthèse sont largement utilisés pour corriger les troubles hépatiques. En raison de la non-sélectivité de ces molécules et la présence des effets indésirables sur l'organisme, la recherche d'une thérapie substitutionnelle d'origine naturelle dotée de l'effet hépatoprotecteur a fait l'objet de nombreux chercheurs. Plusieurs extraits de plantes médicinales testés contre l'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone, se sont avérés d'être des agents hépato-protecteurs prometteurs dans les applications pharmaceutiques (Attard *et al.*, 2005). Le CCl₄ est connu pour son pouvoir hépatotoxique, il est capable de provoquer plusieurs pathologies hépatiques méditées principalement par le stress oxydatif et des lésions inflammatoires (Khither , 2019).

A la base de ces donnés, nos travail vise à connaitre l'effet hépato-protecteur de l'extrait d'écorce de *Punica granatum L.* . L'étude sera divisée en deux parties :

- Une partie bibliographique divisée en 2 chapitres sachant que le chapitre 1 traite les données liées à des aspects botanique, taxonomiques, chimiques, géographiques sur l'espèce étudiée, aussi on mentionne dans cette partie l'usage traditionnel et empiriques de l'espèce à rechercher. Le chapitre 2 aborde la physiologie du foie et l'hépatotoxicité.
- Une partie expérimentale expliquant le matériel utilisé et la méthodologie adoptée ainsi que la présentation des résultats et leur discussion.

*Synthèse
bibliographique*

Chapitre I : Synthèse bibliographique sur *Punica granatum* L. الرمان**1/ Description botanique**

La grenade (*Punica granatum* L.), est un petit arbre monoïque, appartient à la famille des Punicaceae à port arbustif qui peut atteindre de 1.5 à 5m de hauteur, avec des branches plus ou moins irrégulières, épineuses et des feuilles brillantes et caduc, qui se développent dans les régions tempérées et à feuilles persistantes dans les régions froides (Lairini et al, 2014) (Bakhtaoui et al, 2019)

La grenade peut vivre jusqu'à 200 ans mais est le plus productif en fruits dans ses 20 premières années de fructification. Ses fleurs rouge vif mesurent 3 cm de diamètre. Elles apparaissent en trois vagues de mai à août. Les fruits de la première floraison sont ceux ayant un meilleur taux de nouaison (90 %) et qui donnent les plus gros fruits. Seul 1/3 des fleurs donne un fruit car les 2/3 des fleurs sont mâles. Ses fruits, sont des baies jaunes à rouge orangé contenant en moyenne 600 semences pulpeuses. La couleur des fruits n'indique pas le degré de maturité des semences. En effet, certaines variétés donnent des épidermes bien rouges bien avant la maturité. Selon les variétés, la maturité des fruits est atteinte entre 5 et 8 mois après la première floraison (fawole et operat, 2013)(Bdoudjenah et la , 2016)



Figure 1 : Présentation de *Punica granatum* L.(wékipidia,2022)

La grenade peut s'adapter à différents types de sols. Cependant, cette plante est sensible aux sols qui ont un faible drainage et sa croissance dans ces conditions est faible donc la qualité du produit est diminuée. Les meilleures conditions de sol pour cultiver la grenade sont les sols argileux profonds et c'est dans les régions aux étés chauds et longs que la croissance de grenade se caractérise par une meilleure qualité. Certaines espèces de cette plante sont bien cultivées à basse altitude et d'autres à haute altitude (Miloud, 2019)

2/ Systématique botanique

La classification de *Punica granatum* L. a été décrite au 19^{ème} siècle le père de taxonomie Carl Von Linnee. Une nouvelle classification a été créée en 1998 par un groupe de chercheurs botanistes en se basant sur les critères moléculaires notamment à l'ADN (classification phylogénétique), cette classification a été révisée en 2003 dont il convient de retenir que pour certaines espèces végétales, les résultats moléculaires sont en accord avec les anciennes classifications alors que pour d'autres espèces végétales il est nécessaire de modifier leur position. Cependant, pour le cas de *Punica granatum* L. la famille des Punicacées n'existe plus. Le grenadier appartient alors à la famille des Lythracées (Tableau I) comportant 30 genres et 600 espèces (Spichiger *et al.*, 2004 ; Zeghad, 2018).

Tableau I : Classification botanique de *Punica granatum* L. (Spichiger *et al.*, 2004)

Embranchement	Angiospermes
Sous-embranchement	Dicotylédones vraies
Classe	Rosidées
Ordre	Myrtales
Famille	Punicaceae
Genre	<i>Punica</i>
Espèce	<i>Punica granatum</i> L.

3/ Origine et distribution géographique

Le grenadier (*Punica granatum* L.) est originaire du moyen orient, il s'est propagé à travers la mer méditerranéenne, vers l'extrême orient en Chine et en Inde et dans le nouveau monde en Californie et Mexique (Lansky et Newman, 2007). Ainsi, on le trouve fréquemment en Afghanistan, Turquie, Transcaucasie et en Inde. Il est aussi beaucoup cultivé dans le bassin méditerranéen : Espagne, Italie, Grèce, Algérie, Tunisie et Maroc. On le rencontre déjà plus rarement dans le midi de la France, au Portugal, en Bulgarie et en Crimée. De même en Amérique, la culture du grenadier reste très sporadique (Wald, 2009).

En Algérie, il existe de nombreuses variétés de grenades, de qualités très différentes. Quatorze variétés sont actuellement autorisées à la production et à la commercialisation par l'Etat. Plusieurs sortes de grenadier sont signalées surtout dans le nord d'Algérie qui est caractérisée par le climat subhumide ; dans les petits jardins en Kabylie, le plaine de Mitidja (Chelif, Tipaza, Blida, Ain Defla) et on le trouve aussi au sud du pays (Ouargla, Adrar...etc.) (Kaci Meziane *et al.*, 2015). Le pays occupe donc une place prépondérante parmi les pays producteurs de grenade malgré les difficultés techniques et économiques. Comme les exportations rencontrées dans ce secteur. (Kaci Méziane *et al.*, 2015).

4/ Usages traditionnels et empiriques de *Punica granatum*

La grenade est utilisée depuis des centaines d'années dans la médecine traditionnelle. L'utilisation des différentes parties du grenadier varie d'une région à l'autre selon la portion utilisée, fraîche ou sèche. Son intérêt thérapeutique a été reconnu par la communauté médicale dans de nombreux pays à travers le monde (Tableau II).

Tableau II: Utilisation des différents organes du grenadier en médecine traditionnelle (Wald, 2009)

Organes utilisés	Fins thérapeutiques	Région / Pays
Fleurs	<ul style="list-style-type: none"> - Anthelminthique et astringent. - Soulager les épistaxis, otites et hémorragies. - Toniques et astringentes. - Traiter la diarrhée et la dysenterie, les hémorragies passives, les écoulements muqueux avec atonie, la leucorrhée et la blennorrhée, le gonflement atonique des amygdales et le relâchement de la luette et des gencives. 	Chine et Egypte
Racines	<ul style="list-style-type: none"> - En décoction pour traiter le ténia, les diarrhées chroniques, les dysenteries chroniques et les pertes blanches ou hémorragiques 	Chine
Feuilles et écorce des rameaux	<ul style="list-style-type: none"> -Tonique agréable. - La débilité de l'estomac, le manque d'appétit, les nausées, la faiblesse générale, la chlorose, l'anémie, la migraine 	Chine
Écorce de grenade	<ul style="list-style-type: none"> - Effets vermifuges. - Anthelminthique. -Toniques et astringentes 	

	- Traiter la diarrhée et la dysenterie, les hémorragies passives, les écoulements muqueux avec atonie, la leucorrhée et la blennorrhée, le gonflement atonique des amygdales et le relâchement de la luette et des gencives	
Jus de grenade	- Réputation d'accroître la fécondité et d'être un antidote à la stérilité.	Afrique du Nord et Inde
Peau de grenade	- Effets astringents pour l'intestin, pour "arrêter le sang" et pour "chasser les parasites", diarrhée et dysenterie chroniques, présence de sang dans les selles, prolapsus rectal, spermatorrhée, hyperménorrhée, pertes blanches, accumulation de parasites, douleurs abdominales.	Chine
Graines de grenade	-Soulager les ulcères atoniques.	Chine
Suc de grenade	-Rafraîchissant, diurétique, adoucissant	Chine

5/ Composition chimique de la grenade

La composition chimique de grenade varie selon les espèces et au sein d'une même espèce. Elle dépend des conditions de culture, de la qualité du sol, du climat, des irrigations, et de la période de récolte (Ozkan, 2002). La grenade contient dans ses différentes parties de nombreux composés chimiques d'une valeur biologique élevée : écorce, membranes blanches, arbres, et graine.

5.1/ Jus de grenade

Le jus de grenade, comme de nombreux autres jus de fruits, se compose de sucres tels que le glucose, le fructose et le saccharose. D'acides organiques tels que l'acide citrique, l'acide malique, l'acide oxalique et l'acide tartrique. De nombreuses études ont montré également que le jus de grenade contient un pourcentage élevé de vitamines soluble dans l'eau, dont es plus importantes sont la vitamine C et la vitamine A avec des concentrations variant entre 4 et 6 mg/100g (2 ou 3 Références). La grenade a aussi une concentration assez importante en minéraux (Hmid *et al.*, 2013) Entre les différents composés qui pourraient servir de marqueurs sans équivoque dans un produit de jus de fruits, les acides organiques et les composés phénoliques qui sont potentiellement les plus utiles en raison de leur ubiquité, leur spécificité et leur multiplicité (Hmid *et al.*, 2013)

Le grenadier contient aussi des flavanols et des indole-amines comme la tryptamine, la sérotonine, neuroméiateur qui intervient dans la régulation du sommeil, de l'appétit et de l'humeur ainsi que la mélatonine, connue sous le nom « d'hormone du sommeil » qui intervenant dans la régulation des rythmes chronobiologiques (Lansky *et al.*, 2007). Enfin, sa teneur en composés phénoliques et surtout en anthocyanines, puissantes molécules antioxydantes fournissant au jus de grenade sa couleur brillante, augmente jusqu'à maturité du fruit et diminue après la pression du fruit (Hernandez *et al.*, 1999)

5.2/ Graines de grenade

L'huile, obtenue à partir des graines de grenade, se compose à 80% d'acides gras insaturés, acides gras présentant au moins une double liaison, essentiellement représentée par l'acide

punicique, acide cis-9, trans-11, cis- 15, octadécatriénoïque, mais également par les acides oléiques et linoléiques (Hornung *et al.*, 2002). Cette huile se compose aussi d'acides gras saturés, qui ne présentent aucune double liaison, comme les acides palmitiques et stéariques (Lansky *et al.*, 2007).

5.3/ Ecorce de grenade

Les écorces de grenade représentent environ 40% du fruit, elles sont riches en dérivés d'acide ellagique tels que les ellagitanins, la punicalagine et la punicaline. De plus, certains dérivés de l'acide ellagique (hexoside d'acide ellagique, pentoside d'acide ellagique) (Çam *et al.*, 2010). Une étude a montré que la peau de grenade contient 79 composés phénoliques, dont 16 acides phénoliques, 12 flavonoïdes, 35 tanins hydrolysables, 8 proanthocyanidines et 8 anthocyanes (Ambigaipalan *et al.*, 2016). Les acides phénoliques étaient les principaux composés phénoliques de la peau de grenade, suivis des tanins hydrolysables, des proanthocyanidines et des flavonoïdes, principalement présents sous forme insoluble (Ambigaipalan *et al.*, 2016 ; Derakhshan *et al.*, 2018)

L'écorce du fruit contient également, deux importants acides hydroxybenzoïques ; l'acide gallique et l'acide ellagique. Elle renferme également des acides hydroxycinnamiques, des dérivés de flavones, des molécules de coloration jaune et des anthocyanidines, responsables de la couleur rouge des grenades. De nombreux ellagitanins sont aussi présents, tels que la punicaline, la punicalagine, la granatine A et la granatine B (Lansky *et al.*, 2007). La pelletierine pourrait aussi se trouver dans l'écorce de la grenade (Lansky *et al.*, 2007).

Tableau III : Composés phénoliques présents dans l'écorce de grenade (Singh *et al.*, 2018 ; Smaouia *et al.*, 2019).

Famille des composés phénoliques	Principaux composés identifiés
Acides phénoliques	Acides chlorogéniques, caféique, synergique, sinapique, <i>p</i> -coumarique, férulique, vanillique, éllagique, gallique et cinnamique
Flavonoïdes	Catéchine, épicatechine, quercétine, anthocyanes, procyanidines, flavonols et flavones
Tanins	Granatine A, granatine B, punicaline, punicalagine, corilagine, gallagydilactone, pédonculagine et tellimagrandine

6/ Activités biologiques des écorces de grenade

6.1/ Activité antioxydante

La grenade est l'un des végétaux les plus riches en antioxydants (polyphénols solubles, tanins, anthocyanes) qui détruisent les espèces réactives et aident à protéger l'ADN contre diverses dégradations à l'origine de nombreuses pathologies sévères comme les maladies cardiovasculaires et le cancer.

Les antioxydants sont fortement présents dans l'extrait aqueux de l'écorce de grenade. Les principaux polyphénols antioxydants présents dans le jus de grenade sont les ellagitannins et les anthocyanines. Les ellagitannins comptent pour 92% de l'activité antioxydante du jus de grenade et sont concentrés dans l'écorce (Seeram *et al.*, 2006). Cette activité antioxydante des polyphénols est conférée par leurs structures dont ces derniers sont des donneurs d'atomes d'hydrogène ; Ils peuvent interagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote. A la fin de la réaction, le nouveau cycle de génération de radicaux est interrompu, la forme radicalaire de l'antioxydant est produite, avec une plus grande stabilité chimique du radical initiale (Spiller, 2007).

Une étude distincte chez des rats atteintes de lésions hépatiques a montré que le prétraitement avec extrait de l'écorce de grenade a amélioré l'activité de piégeage des radicaux libres des enzymes hépatiques : la catalase, la superoxyde dismutase, et la peroxydase, et a abouti à 54% de réduction des valeurs de la peroxydation lipidique par rapport aux témoins (Chidambara *et al.*, 2002). D'autres études ont montré que l'extrait d'écorce de grenade réduit la peroxydation lipidique dans les tissus du foie, du cœur et des reins (Parmar et Carr, 2008).

6.2/ Activité anti inflammatoire

Les troubles inflammatoires sont causées par la production excessive de médiateurs inflammatoire qui sont due à l'activité des cellules inflammatoires telles que les neutrophiles, les monocytes et les macrophages, et à la production excessive d'espèces d'oxygène réactives (ROS). Une étude a montré que l'extrait aqueux de l'écorce de grenade est largement utilisé pour traiter les troubles de l'inflammation, les ulcères et les infections (Bachoual *et al.*, 2011). Une étude d'un groupes de chercheurs a montré que l'administration de l'extrait de *Punica granatum* (6 mg/ jour/souris) durant 4 semaines réduit la cholestérolémie (cholestérol total et LDL), et réduit l'expression de gènes inflammatoires (COX-2 et les interleukines 1b et 6) dans le colon et le tissu adipeux viscéral. Ces résultats assurent l'importance de la consommation d'extrait de grenade riche en polyphénols dans le contrôle des troubles métaboliques et inflammatoires associés à l'obésité (Neyrink *et al.*, 2012).

6.3/ Activité antimicrobienne

L'écorce du fruit de *Punica granatum* possède une activité antibactérienne considérable. La combinaison unique des tanins et des alcaloïdes issus de cette écorce, ainsi que leur action synergique, explique probablement cette activité antibactérienne non retrouvée dans d'autres fruits également riches en tanins et alcaloïdes. Les polyphénols de grenade ont des effets antiviraux et antimicrobiens intéressant (Neurat *et al.*, 2004). Prashanth et ses collaborateurs (2001) ont étudié, en laboratoire, l'action d'extrait des écorces de grenade sur six types de bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*. Les résultats de cette étude ont montré qu'il y a une activité antibactérienne, quelle que soit l'espèce bactérienne cultivée. Cependant, l'extrait de méthanol semble avoir une plus grande activité antibactérienne par rapport aux autres solvants surtout vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*.

6.4/ Activité anti fongique

Les études montrent que l'écorce de grenade a des principaux composés bioactifs ayant une activité antifongique parmi lesquelles on note principalement les ellagitanines et les punicalagines (Gil *et al.*, 2000). Certains travaux ont aussi montré que l'extrait éthanolique a un effet inhibiteur contre les deux souches *Ascochyta rabiei* Pass Labr et *Fusarium oxysporum* en fonction de la relation dose- effet (Kanoun *et al.*, 2014). Les chercheurs ont trouvé que les extraits aqueux de l'écorce de grenade a des effets sur les taux de croissance de six champignons filamenteux pourris ; *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum*, *Stemphylium botryosum*, *Botrytis cinerea* et *Fusarium spp* (Glazer *et al.*, 2012). Une autre étude a montré l'efficacité de l'extrait éthanolique de l'écorce de grenade dans le traitement des plaies infectées par des champignons chez les lapins (Al-Saeed *et al.*, 2015).

6.5/ Activité anti diabétique

La consommation de jus de grenade réduit considérablement le stress oxydatif chez les patients diabétiques sans affecter les indicateurs du diabète. Esmailzadeh et ses collaborateurs (2006) ont montré que les fleurs de grenade ont un bon effet sur le diabète. Certaines études ont été menées ces dernières années sur ces fleurs, afin de déterminer scientifiquement s'ils ont de véritables pouvoirs hypoglycémians. En fait, Jafri et son équipe (2000) ont déterminé que l'extrait éthanolique des fleurs de grenade a une réelle capacité à faire baisser la glycémie en travaillant sur la glycémie après avoir mangé avec un mécanisme similaire à l'acarbose (inhibiteur de l'alpha-glucosidase) et sur la base de la composition chimique des fleurs de grenade, ils pensent que les ingrédients actifs de ces extraits sont l'acide gallique et/ou l'acide asiatique.

6.6/ Activité anti cancéreuse

Les extraits de grenade ont aussi une action inhibitrice de la prolifération des cellules cancéreuses, les extraits de jus fermenté et d'écorce de grenade étant les plus efficaces (Kawaii et Lansky, 2004). L'acide ellagique, l'acide caféique, la luteoline et l'acide punicique sont tous des composés phénoliques avec des actions anticancéreuses connues (Lansky *et al.*, 2005). D'autre part, ils semblent présenter d'intéressantes et multiples propriétés contre le cancer de la prostate (Malik *et al.*, 2005), cancer du sein (Kim *et al.*, 2002), cancer du poumon

(Syed *et al.*, 2007), cancer du côlon (Heber *et al.*, 2006) et le cancer de la peau (Syed *et al.*, 2007).

Chapitre II : Synthèse bibliographique sur le foie**Introduction**

Le foie est la plus grosse glande de notre corps. Il occupe une place spéciale dans notre organisme. Les hépatocytes dominent la masse hépatique et sont disposés en chaînes de cellules entourant les capillaires sinusoidaux individuels (Malarkey *et al.*, 2005). Le foie joue un rôle important dans le métabolisme des glucides et des protéines ainsi qu'au détoxification des produits toxiques, donc le foie peut être soumis à une grande diversité d'agressions physiques (traumatisme, irradiation...etc), chimiques (acidose, toxines...etc) et métaboliques (exposition à xénobiotiques...). La plupart de ces attaques aboutissent à une expression courante appelée le stress oxydatif dû à l'exagération est un phénomène physiologique. Ce phénomène se manifeste par la production de radicaux libres (Zelliche *et al.*, 2018). Pour protéger le foie contre les diverses maladies, plusieurs matières médicinales ; certaines synthétiques d'autres d'origine naturelle ; ont été utilisées pendant des siècles comme traitements (Damoninoti *et al.*, 2005). Le traitement naturel fait partie des extraits de plantes médicinales riches en composés bioactifs naturels ayant des activités antioxydantes protectrice contre certaines maladies causées par divers produits chimiques (CCl₄, D-galactosamine, paracétamol, alcool) (Mingchun *et al.*, 2012).

1/ Formation de foie

Le foie se forme à partir du bourgeon hépatique qui prend naissance de la face antérieure du duodénum, puis se développe dans le mésogastre antérieure. La présence du foie dans le mésogastre antérieure divise celui-ci en trois parties: une partie moyenne formée par le péritoine hépatique qui enveloppe le foie; une partie antéro-supérieure qui fixe le foie au diaphragme, c'est le ligament suspenseur du foie; une partie postéro-inférieure unissant l'estomac au foie, qui constitue le petit épiploon. Il existe au-dessus du foie, un segment du mésogastre antérieure interposé entre le ligament supérieure et le petit épiploon, c'est le ligament coronaire unissant la face postérieure du foie au diaphragme (Mellal, 2010).

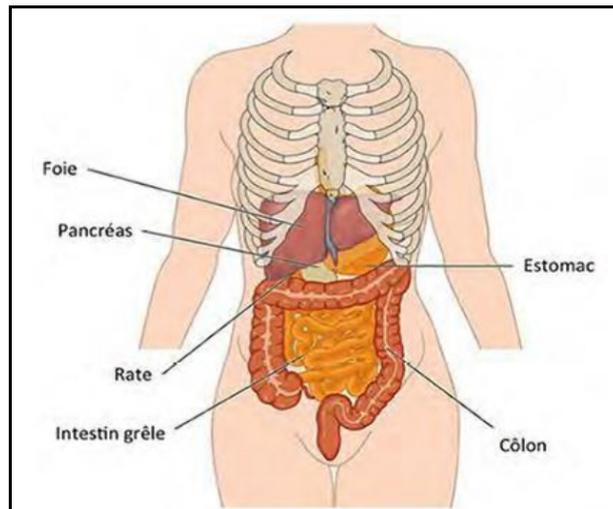


Figure 2: Appareil digestif humain (Oriana *et al.*, 2015)

2/ Morphologie descriptive

Le foie est un organe glandulaire particulier, son poids est d'environ 1500 grammes et sa taille 28 cm de large, 8 cm de haut et 16 cm de profondeur. Situé dans la partie haute de l'abdomen, dans l'hypochondre droit au niveau supra-méso-cholique. Il est principalement irrigué par la veine porte, à partir de laquelle il apporte directement les nutriments des intestins grêles. L'irrigation se fait également par l'artère, le sang sort du foie par trois veines au-dessus du foie principal (droit, centre et gauche). Il a quatre lobes (caudal, droit, gauche, carré).

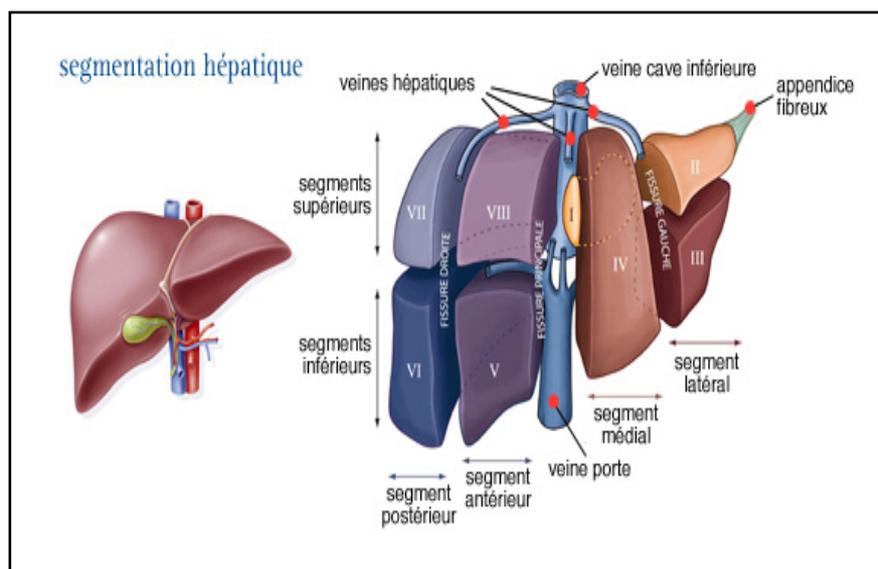


Figure 3 : Anatomie hépatique (Magy et Lejeolle, 2013)

2.1/ Morphologie externe

2.1.1/ Face supérieure ou diaphragmatique

Le foie se forme sur le diaphragme, diminuant progressivement vers la gauche, montrant, à l'union de ses tiers droit et gauche (Fig. 04). La fente le ligament péritonéal suspenseur ou faucille a le pli sagittal péritonéal qui relie lu foie au diaphragme (Longman et Sadler, 1991).

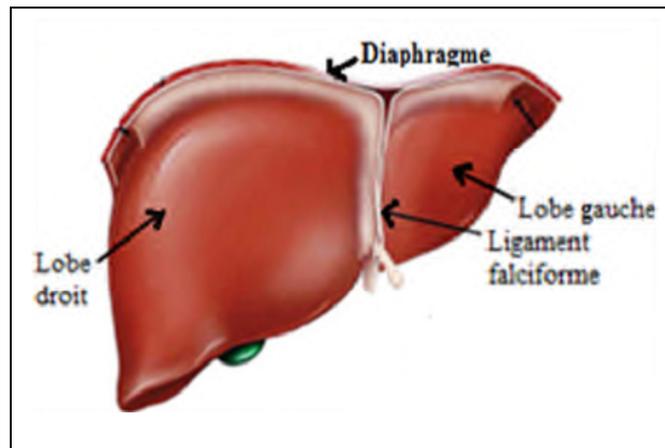


Figure 04 : Vue antérieure du foie (Gosling *et al.*, 2003)

2.1.2 / Face inférieure ou viscérale

Elle est inclinée en bas et en avant, et marquée par la présence de 3 sillons: un sillon transversal et deux sillons antéro-postérieurs droit et gauche. La face inférieure du foie est complètement tapissée par le péritoine viscéral sauf dans le niveau de la fosse kystique, où celle-ci passe en pont autour de la vésicule qui adhère directement au parenchyme hépatique. Replète le péritoine viscéral de la face inférieure au niveau du hile du foie pour former deux couches du petit épiploon (Mellal, 2010).

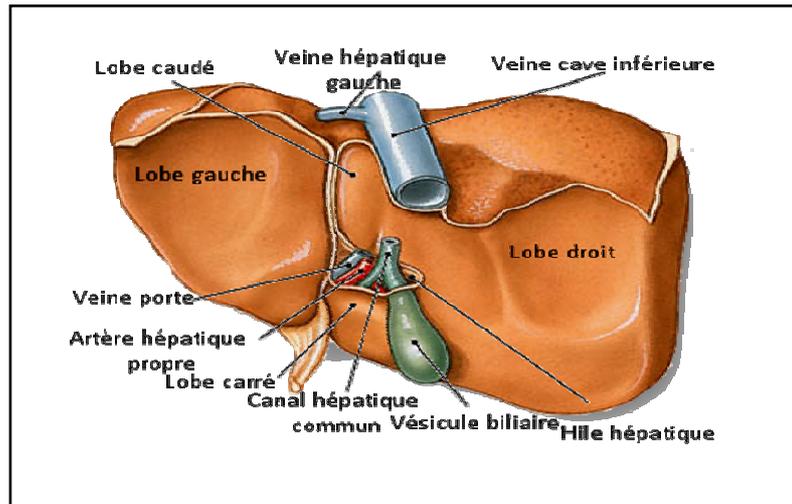


Figure 5 : Face inférieure du foie (Gosling *et al.*, 2003)

2.1.3/ Face postérieure

Cette face est divisée en trois zones par deux sillons longitudinaux, celui de la vésicule biliaire et la fissure du ligament rond; leur extrémités supérieures sont réunies par un sillon transverse, le hile ou porte du foie. Celui-ci livre passage aux divisions de l'artère hépatique commune et de la veine porte ainsi qu'aux voies biliaires. Le ligament rond monte dans la fissure à laquelle il a donné son nom pour rejoindre la branche gauche de la veine porte. Le lobe gauche du foie recouvre le corps de l'estomac et le petit omentum. A droite de la fissure du ligament rond se trouve un petit lobe, quadrilatère, le lobe carré, il est en rapport avec la face antérieure de la région pylorique de l'estomac et de la partie supérieure du duodénum. A droite du lobe carré, il y a, enfouie dans son sillon, la vésicule biliaire et, à droite de celle-ci se voit l'empreinte du rein droit. Le lobe droit rencontre également l'angle colique droite et la partie descendante du duodénum (Gorina *et al.*, 2003).

2.2/ Vaisseaux et Nerfs du foie

2.2.1/ Vascularisation

L'un des organes vasculaires les plus denses du corps humain est le foie. Où il contient plus de 10% du volume sanguin total dans le corps, dépassé de 1,4 litre de sang en moyenne toutes les minutes (pour les adultes). Le foie reçoit le sang de deux vaisseaux principaux : l'artère hépatique et la veine porte. Ces vaisseaux se divisent jusqu'à former un réseau très dense de

Bols ultrafins. Le sang de l'artère hépatique apporte principalement de l'oxygène nécessaire aux cellules hépatiques. Selon les personnes, l'anatomie varie, le foie peut posséder une à trois artères: l'artère hépatique moyenne (tronc cœliaque), droite (l'artère mésentérique supérieure) et gauche (l'artère gastrique). Dans la plupart des cas, une seule artère est présente ; artère hépatique. Cette anatomie est dite conditionnelle car c'est la plus fréquent dans la population (Orellana et Dennis, 2015).

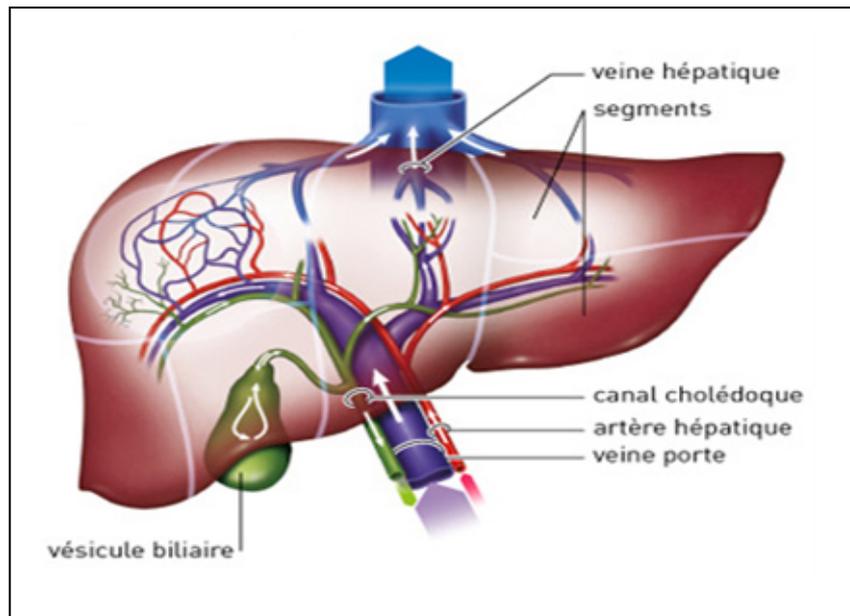


Figure 06 : Système de vaisseaux et conduits intra –hépatiques (Gosling *et al.*, 2003)

2.2.2/ Nerfs

Du nerf vague gauche et du plexus solaire viennent les nerfs du foie, là Trois nerfs :

- Plexus hépatique antérieur : qui vient du plexus solaire et se prolonge le long de l'artère hépatique puis il se termine par un hile.
- Plexus hépatique postérieur : qui provient également du plexus solaire postérieur de la veine porte suit ensuite le canal cholédoque jusqu'au hile du foie.
- Nerf gastro-hépatique : C'est une branche du nerf vague gauche qui atteint le hile du

3/ Fonctions du foie

Le foie remplit de nombreuses fonctions vitales et complexes dans le corps. Regroupées en fonctions endocrine et exocrine. Le foie exerce quatre fonctions majeures :

3.1/ Métabolisme

Le foie est responsable de nombreuses fonctions métaboliques, donnant au corps de l'énergie qui en a besoin. Réglemente la production, le stockage et la libération des sucres, acides gras et cholestérol (Highleyman et Franciscus, 2004). Grâce aux hépatocytes, un rôle dans le métabolisme des lipides (bêta-oxydation des acides gras, synthèse cholestérol, phospholipides, lipogenèse) ainsi que dans la synthèse de l'urée et de l'albumine, il interfère avec le métabolisme des glucides (stockage du glycogène et gluconéogenèse) et donc sucre dans le sang, et protéique (conversion acide Acides aminés, formant des protéines plasmatiques; exclusion des immunoglobulines, catabolisme ammoniac en urée). Le stockage est autorisé notamment pour les vitamines A, D et B12 mais également le Fer en raison de la présence d'apoféritine dans les cellules du foie (Gandillet, 2004).

3.2/ Sécrétion biliaire

Dans la digestion et la transformation des aliments, le foie joue un rôle important. Les hépatocytes produisent la bile, qui est transportée dans l'intestin grêle par voies biliaires, et lorsqu'il n'y a pas d'aliments à digérer, l'excès de bile est stocké dans la vésicule biliaire. Les sous-produits de la décomposition de médicaments ou de substances toxiques sont convertis par le foie via la bile et éliminés du corps (Vella, 2003).

3.3/ Hémyolyse et défense de l'organisme

Les cellules de Kupffer, véritables cellules macrophages, permettent au foie de participer à la lutte de l'organisme contre les micro-organismes. elles participent également aux fonctions hémolytiques, qu'elles partagent avec les cellules endothéliales de la rate et de la moelle osseuse (Quattara, 1999).

3.4/ Détoxification sanguine

Le foie joue un rôle déterminant dans les processus de détoxification en éliminant du sang les substances nuisibles pour le corps y compris l'alcool, les drogues, les solvants, les pesticides

et les métaux lourds (Highleyman et Franciscus, 2004). Le réticulum endoplasmique lisse des hépatocytes et dans une moindre mesure des cellules Kupffer, contient un grand nombre d'enzymes hydroxyles telles que le cytochrome P450 (Véronique, 2010).

4/ Lésions hépatique

4.1/ Nécrose

La nécrose ou ce que l'on appelle la mort cellulaire, où les cellules perdent leur viabilité après la détérioration du contenu cellulaire. Dans des circonstances Physiologique, ce processus conduit au remplacement des cellules mortes. Cependant, dans des conditions pathologiques, la nécrose est souvent le résultat final de diverses formes de dommage tissulaire. Il existe de nombreuses causes de nécrose hépatique, notamment : hépatite virale aiguë, rejet de greffe, auto-immunité, un large éventail de toxines et médicaments (Krishna, 2017).

4.2/ Cirrhose

Lorsque le foie est endommagé, des cicatrices apparaissent sur l'organe tel qu'il est tente de réparer les dégâts. Les premiers stades de la cicatrisation sont appelés fibrose. Une personne est dite atteinte de cirrhose lorsque le foie est endommagé ou cicatrisé grave et multiple (Hodoul, 2012). En plus de la fibrose, Les complications de la cirrhose comprennent l'hypertension portale, l'ascite et le syndrome foie rénal. Des lésions hépatiques à la cirrhose peuvent survenir par la suite des semaines aux années (Suva, 2014).

4.3/ Stérose

La stéatose (augmentation de la graisse dans le foie) est caractérisée en microscopie optique par la présence de gros sacs contenant de la graisse qui envahissent une grande partie de foie. Les hépatocytes poussent ainsi le noyau vers la périphérie (Larrey, 2003). Cependant, le foie devient plus sensible à d'autres dommages. Ses principales causes sont l'obésité, le diabète, les médicaments (corticoïdes, méthotrexate asparaginase, l'hypoprotéinémie, l'hyperlipidémie, Prédispositions génétiques) (Haïne, 2005).

4.4/ Fibrose

La fibrose hépatique est définie par l'accumulation excessive de matrice extracellulaire dans le parenchyme hépatique. C'est la complication majeure de toutes les maladies

chroniques du foie, qu'elles soient d'origine alcoolique, virale, parasitaire, biliaire ou autre. Son expression ultime est la cirrhose, processus irréversible, cause de morbidité et de mortalité importante (Rosenbaum *et al.*, 1994).

4.5/ Cholestase

L'altération de la capacité à sécréter la bile se caractérise par une cholestase. Elle peut affecter la fonction à l'intérieur ou à l'extérieur du foie, des voies biliaires ou des deux (Woreta et Alqahtani, 2014). Ce syndrome comprend de nombreux signes cliniques biologiques différents, y compris augmentation des acides biliaires, augmentation de l'activité de la phosphatase alcaline, gamma-glutamyl transpeptidase, 5 nucléotidase et transaminases, l'ALAT et l'ASAT (Valla, 2013).

5/ Marqueurs hépatiques

L'utilisation des tests biochimiques sériques joue un rôle important dans le diagnostic des maladies hépatiques. Le foie contient un multiple d'enzymes à forte concentration, dont certaines de ces enzymes présentes dans le sérum à de très faibles concentrations. La lésion de la membrane hépatocytaire mène à la fuite de ces enzymes dans le sérum, ce qui entraîne une augmentation de leurs concentrations. Les tests des enzymes sériques peuvent être classés en deux catégories: en premier lieu des enzymes dont l'élévation provoque des dommages généralisés aux hépatocytes (aminotransférases) et en deuxième lieu les enzymes dont l'élévation reflète principalement la cholestase (PA, γ -glutamyltransférase [GGT], 5' nucléotidases [5'-NT]) (Woreta et Alqahtani, 2014).

5.1/ Aminotransférases

Les aminotransférases sont les indicateurs les plus largement utilisés pour le diagnostic d'une nécrose hépatocellulaire. Ces enzymes (ASAT,) et (ALAT), catalysent le transfert du groupement amine des acides aminés aspartate et alanine respectivement sur l'acide α -cétoglutarique (Thapa et Walia, 2007).

ASAT : aspartate+ α -cétoglutarate= oxaloacétate + glutamate.

ALAT : alanine+ α -cétoglutarate= oxaloacétate + glutamate.

5.2/ Alanine aminotransférase

L'ALAT joue un rôle majeur dans le métabolisme des acides aminés et la néoglucogénèse, elle est considérée comme biomarqueur sensible de l'hépatotoxicité ; l'augmentation de son activité dans le sérum provoque des dommages hépatocytaires. Aussi son augmentation est liée à la toxicité d'autres organes tel que le cœur et le muscle (Ozer *et al.*, 2008).

5.3/ Aspartate aminotransférase

L'ASAT existe dans plusieurs organes on cite principalement le cœur, le foie, les muscles squelettiques et les reins. Il ya deux formes différentes d'isoenzymes d'ASAT qui sont génétiquement distingués, premièrement on a **la forme mitochondriale** et en deuxième on a **la forme cytoplasmique**. Une activité élevée de l'ASAT mitochondriale est remarquée au cas d'une nécrose tissulaire au cours d'une atteinte hépatique comme la dégénérescence des tissus hépatiques et aussi la nécrose également due à infarctus du myocarde (Gowda *et al.*, 2009).

5.4/ Phosphatase alcaline

Se trouve principalement dans le foie et les os. PAL est un marqueur de cholestase. Elle est physiologiquement élevée dans le troisième trimestre chez la femme enceinte et chez les adolescents en période de croissance. Le dosage concomitant de la γ -GT permet de déterminer l'origine de l'élévation de la PAL : si celle-ci est normale, l'origine est osseuse, sinon elle de l'origine hépatique. On distingue entre une cholestase intra- et extra-hépatique. En général, une cholestase extra hépatique s'accompagne de voies biliaires dilatées à l'ultrason hépatique (Nicole *et al.*, 2009).

5.5/ Gamma-glutamyl transférase

C'est une enzyme glycoprotéique hétérodimérique de localisation rénale, hépatique et pancréatique (Ozer, 2008). C'est une enzyme extracellulaire qui catalyse le clivage de la liaison c-glutamyl amide du glutathion modifié via un ester de c-glutamyl-enzyme pour transférer le groupe c-glutamyle en eau (hydrolyse) ou acides aminés et peptides (Keillor *et al.*, 2005 ; Hiratake *et al.*, 2013).

5.6/ Biliburine totale

C'est un pigment biliaire jaune rougeâtre issu de la dégradation de l'hémoglobine du sang (Hunter, 2006). La bilirubine peu hydrosoluble, est liée à l'albumine du sang et véhiculée jusqu'au foie. Elle est considérée comme un produit final naturel du métabolisme de ce dernier. Une étude antérieure a démontrée que la bilirubine est une molécule anti-inflammatoire et antioxydante endogène dans le corps (Kapitulnik, 2000; Peng *et al.*, 2017).

6/ Hépatotoxicité

6.1/ Définition

L'hépatotoxicité est le fait que certaines substances dites hépatotoxiques ou hépatotoxines, sont capables d'induire la destruction des hépatocytes ou des hépatopathies (Navarro et Senior, 2006). Parmi les principaux hépatotoxines, on peut citer : l'éthanol, certains médicaments comme le paracétamol, les trithérapies contenant un inhibiteur de protéase, des produits chimiques, entre autres, le tétrachlorure de carbone (CCl₄). L'hépatotoxicité peut résulter dans la stéatose, l'hépatite aiguë ou chronique, la nécrose hépatique (Pessayre *et al.*, 1999).

6.2/ Classification

La toxicité hépatique peut être divisée en deux aspects selon le caractère prévisible ou non des manifestations (Jacqueson et Piriou, 1999). Une toxicité prévisible, quand le mécanisme est en rapport avec une toxicité intrinsèque de la substance étrangère, elle résulte de l'action directe du xénobiotique (ou de l'un de ses métabolites) sur des constituants cellulaires vitaux, sans implication du système immunitaire. La toxicité prévisible dispose des caractéristiques suivantes : elle est dose-dépendante, la ré-administration entraîne une récurrence dans un délai comparable à celui de l'atteinte initiale, les lésions sont reproductibles chez l'animal et sont présentes chez presque tous les membres d'une espèce sensible, le risque est généralement augmenté par une induction enzymatique, les signes d'hypersensibilité sont absents. Des facteurs génétiques ou acquis peuvent néanmoins moduler cette toxicité (Kaplowitz, 2002). En deuxième lieu on a la toxicité imprévisible (idiosyncrasique), se caractérise par une absence de relation dose-effet, une récurrence très rapide après ré-administration, une absence de reproductibilité chez l'animal, un risque non modifié par une induction enzymatique, une observation possible de signes d'hypersensibilité ; cette toxicité est de type immunoallergique

liée à une prédisposition génétique. Ces deux types de toxicité peuvent être la conséquence d'un mécanisme unique par production de métabolites intermédiaires réactifs, certains toxiques peuvent fournir les deux types de toxicité, comme l'halothane ou l'isoniazide par exemple (Jones et Dargan, 2007).

6.3/ Tétrachlorure de carbone (CCl₄)

Le tétrachlorure de carbone est un liquide transparent, incolore et volatil avec une odeur douce caractéristique. Il est miscible avec la plupart des solvants aliphatiques et possède des propriétés de solvant. Il solubilise dans l'eau d'une façon faible. CCl₄ est ininflammable et reste stable en présence d'air et de lumière. Lorsque se décompose peut être produire du phosgène, du dioxyde de carbone et de l'acide chlorhydrique. La source de tétrachlorure de carbone dans l'environnement est probablement presque majoritairement d'origine anthropique. La plus grande partie du tétrachlorure de carbone produit sert d'être utiliser dans la fabrication de chlorofluorocarbones et d'autres hydrocarbures chlorés (Fouw, 2004). Le CCl₄ est utilisé pour l'induction de l'intoxication hépatique, c'est un alcane utilisé comme solvant et/ou réactif dans les laboratoires et les industries chimiques. Le CCl₄ manifeste sa toxicité sur l'organisme animal car il provoque d'importantes lésions sur plusieurs organes. **Sur le foie**, le CCl₄ provoque des nécroses qui à long terme peuvent évoluer en cirrhoses hépatiques. Cette cytotoxicité du CCl₄ est obligatoire et prévisible chez tous les individus d'une même espèce animale. Elle est de type indirect, car c'est une toxicité qui se manifeste après la conversion hépatique du CCl₄ à des métabolites réactifs toxiques (Djahra, 2014).

Le foie est le premier organe qui rencontre tous les matériaux qui sont absorbés par le tractus gastro-intestinal. Il a été démontré qu'il réagissait aux insultes toxicologiques de plusieurs façons, y compris la dégénérescence cellulaire, la nécrose et la fibrose, tous ces pathologies est le résultat de développement du stress oxydatif des métabolites ou des produits de dégradation de ces derniers, commençant tous d'abord par une toxicité et se termine par des pathologies plus graves (Onu *et al.*, 2013). Le CCl₄ a d'effets cytotoxiques sur le foie, mais ses produits métaboliques sont responsables de sa toxicité (Mitra *et al.*, 1998). Il est métabolisé par le cytochrome P450 2E1 au niveau des hépatocytes en radical libre; le trichlorométhyl (CCl₃) qui est peu réactif. Le CCl₃ est rapidement transformé en trichlorométhyl peroxyde; radicale hautement réactif (CCl₃OO). Ce dernier est capable de former des adduits avec les protéines ou les lipides (Lee et Jeong, 2002) ou encore réagir avec

un atome d'hydrogène des lipides polyinsaturés conduisant ainsi à la peroxydation lipidique. Cette dernière est considérée comme le mécanisme le plus important dans la pathogenèse du foie induite par le CCl₄, cela peut conduire à une perturbation des biomembranes et à un dysfonctionnement des cellules (Dana et Benichou, 1993). De plus, la bioactivation de CCl₄ au niveau du foie augmente l'activité de la phospholipase C de trois à quatre fois. En résulte que la phospholipase C perturbe l'intégrité fonctionnelle et structurelle des biomembranes en dégradant les phospholipides membranaires (Coleman *et al.*, 2001).

*Matériel et
méthodes*

1/ Matériel végétal

La plante utilisée dans ce travail est la grenade ; *Punica granatum* L., les écorces du fruit de grenade ont été achetées d'un marché local de Hamma Bouziane. L'échantillon a été finement broyé par un broyeur électrique (Retsch SM 100, Allemagne) pour obtenir une poudre fine. La poudre de *Punica granatum* L. est stockée à une basse température dans des bocaux en verre ambrés et fermés hermétiquement jusqu'à extraction.



Figure 7 : Ecorce de *Punica granatum* L.

2/ Méthode d'extraction

Le procédé d'extraction a été réalisé par macération. Les poudres des déchets de fruits broyés (400 g) ont été extraites par macération par le système solvant méthanol / eau (70/30) (3x1000 ml) sous agitation magnétique. L'extraction est assistée par ultrasons (Fisher scientific fb 15046, Leicestershire, Angleterre) pendant 60 minutes à une température ambiante, avec renouvellement du solvant chaque 24h. Les extraits combinés et filtrés sur papier filtre ont été concentrés dans un évaporateur rotatif sous vide à une température <40°C (Buchi R-200, Medellin, Colombia). Les extraits obtenus, sont stockés à basse température (-25°C) jusqu'à analyse (Zeghad, 2018).

3/ Evaluation des activités biologiques *in vivo*

3.1/ Matériel animal

Notre étude a été réalisée sur 30 rattes femelles de type *Wistar*, d'un poids entre 157 et 200 g au début d'expérience. Les animaux sont élevés à l'animalerie au niveau de la faculté de sciences de la nature et de la vie à l'université des frères Mentouri-Constantine 1 et ils sont acclimatés à l'animalerie de l'institut des sciences vétérinaires à l'université des frères Mentouri-Constantine 1. Les rattes ont été séparées dans des cages selon leur poids et elles divisées en 5 lots (six rattes par cage). Les animaux sont soumis à une alternance naturelle du jour et de nuit et maintenues à une température de laboratoire. Les animaux sont acclimatés pendant 72 heures, et privés de nourritures 24 heures avant l'expérience.

3.2/ Evaluation de l'activité hépato protectrice

Le principe de cette méthode sert à évaluer l'effet hépato protecteur d'extrait d'écorce du *Punica granatum* sur des rats intoxiqués par le CCl₄ (Djerrou *et al.*, 2010) (Maameri *et al.*, 2012). Des lots de rats (cinq par lot) ont été traités pendant quinze jours comme suit :

Lot I: rats sans traitement, n'ayant reçu que de l'eau distillée à raison de 1 ml (groupe contrôle négatif).

Lot II: rats traitées uniquement par le CCl₄ (1 ml/kg), chaque 3 jours (groupe contrôle positif).

Lots III, IV et V: Rats recevant quotidiennement, *per os*, à l'aide une sonde d'extrait d'écorce de *Punica granatum* à raison de 0.75, 1.5, 3,0 g/kg, respectivement. L'administration d'agent toxique s'effectue *per os*, 1 heure après le gavage d'extrait.

Les rats traités sont gardés sous observations pendant 14 jours, plusieurs fois par jour. Selon les directives de l'OCDE et du CCPA (CCPA, 1993 ; OCDE, 2000 ; OCDE, 2001), l'observation des animaux est basée sur les paramètres suivants : variation du poids de l'animal, variations de l'ingestion de nourriture et d'eau, apparence physique externe, signes cliniques mesurables (ex. : changements des rythmes cardiaque et respiratoire et de leur

nature), changement du comportement; réponses comportementales aux stimuli externes (ex. : bruit, variation de l'intensité lumineuse).

On note ainsi la mortalité mais aussi toutes les modifications comportementales telles que les troubles de l'équilibre, la posture, le grattage, l'aspect des poils, la chute de poils, la présence de diarrhées, la variation du poids corporel, l'agressivité, les saignements, l'hypersalivation, la variation de l'ingestion de nourriture et d'eau.

Après quinze jours de traitement, un prélèvement sanguin a été réalisé à partir de la veine faciale dans des tubes stériles héparines. Le plasma obtenu après centrifugation (3000 rpm/15 min) a été utilisé pour un dosage des paramètres sanguins (ASAT, ALAT, Bilirubine, GGT et PAL) au niveau du laboratoire de *Novo Lab* à El-Khroub-Constantine, Les moyennes du dosage des paramètres biochimiques sont données en valeurs moyennes \pm écart types ($n=6$). La comparaison entre les groupes a été traitée par le test de *Tukey HSD*. La valeur $p < 0,05$ est considérée comme statistiquement significative. Les organes (le foie et les reins) sont soigneusement prélevés, et conservés dans le formol (10%) jusqu'à leur utilisation pour un examen microscopique.

3.3/ Examen microscopique des coupes histologiques

Après la dissection des rats, les foies et les reins ont été prélevés, puis lavés par l'eau physiologique. Les organes ainsi récupérés obtenues ont été immédiatement plongés dans le formol (10%). L'étape de déshydratation a été réalisée dans des bains d'alcool (Ethanol) à des concentrations allant en ordre croissant : 60 %, 75%, et 100%. Enfin l'alcool a été remplacé par le xylène. Les échantillons ont été placés dans des cassettes et recouverts de paraffine fondue. Après refroidissement, les blocs ont été prêts à la coupe (l'étape de microtome, collage sur lame et coloration a été faite au niveau du Centre de Recherche en Biotechnologie-Constantine (CRBT-C)).

Résultats et discussion

1/ Variation du poids corporel

Au cours de la période d'expérimentation (14 jours), le poids des rats est noté chaque trois jours le matin à la même heure. Les variations du poids corporel sont déterminées en gramme chez les rats témoins et chez les rats expérimentaux. Les changements de poids du J3, J6, J9 et J12 par rapport à J0 (début d'expérimentation) sont reportés dans le tableau et la figure ci après.

Tableau IV : Variation du poids corporel des rats témoins et traités durant les 14 jours d'expérimentation

		Gain ou perte de poids corporel (g) ^x			
Groupe	Affectation	J3	J6	J9	J12
Contrôle +	CCl₄	7,00 ±2.00 ^{NS}	-8,40±5.41 ^{NS}	-39,40±4.88*	-41,40±5.46*
Contrôle -	H₂O	-5,80±5.50 ^{NS}	11,00±5.24 ^{NS}	48,00±13.17 ^{NS}	22,80±5.59 ^{NS}
Groupe I	Extrait (0.75 g/kg)	1,80±4.44 ^{NS}	3,20±4.76 ^{NS}	9,20±2.28 ^{NS}	10,40±7.73 ^{NS}
Groupe II	Extrait (1.5 g/kg)	1,60±2.51 ^{NS}	9,00±1.41*	8,80±1.92*	9,60±4.83*
Groupe III	Extrait (3.0 g/kg)	4,20±2.39 ^{NS}	6,40±2.51 ^{NS}	13,60±3.13***	22,40±6.39***

^x Valeurs moyennes ± écart types (n=6) ; NS : Non significative, *p<0.05, ***p<0.0001 vs poids à J0

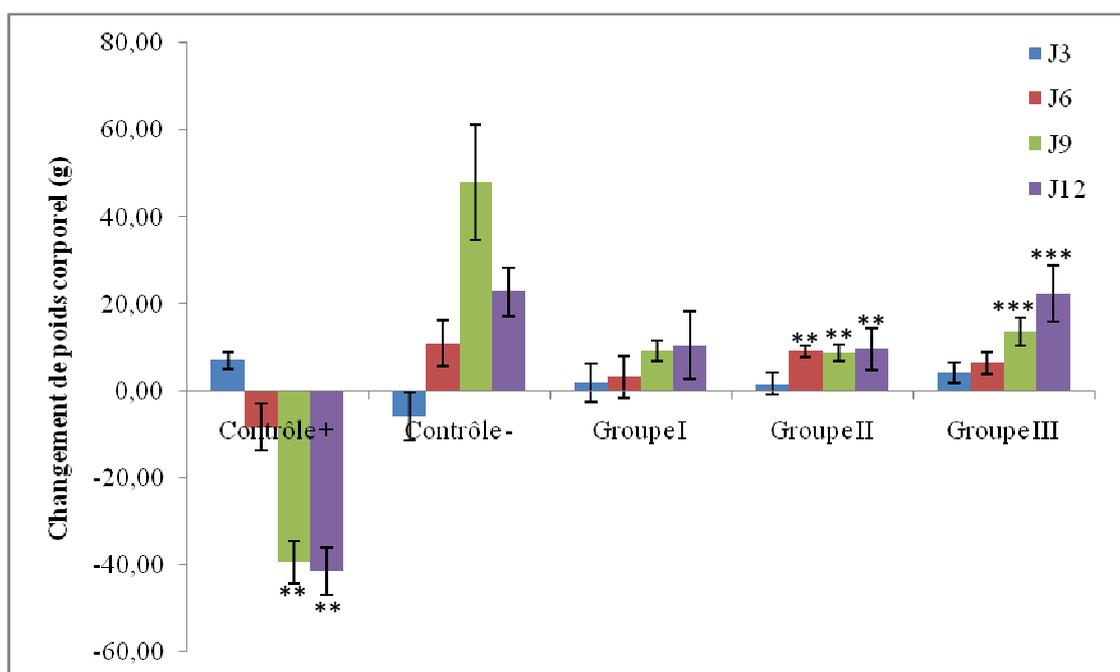


Figure 8 : Evolution du poids corporel des rats témoins et traités durant les 14 jours d'expérimentation

Au début de l'expérimentation (J_0), les différents groupes de rats avaient des poids homogènes, variant de 157 à 200 g. La prise de CCl_4 par gavage chez le groupe contrôle positif, provoque des pertes significatives du poids corporel ($p < 0.05$) aux neuvièmes et douzièmes jours. Cette perte de poids peut être expliquée par une perte d'appétit causée par les nécroses d'hépatocytes (Malina, 2007). Le CCl_4 provoque des lésions hépatiques qui contribuent à la formation des radicaux libres au cours de son métabolisme ce qui entraîne ainsi ce genre de nécrose (Lin *et al.*, 2008)

En revanche, le gavage d'extrait d'écorce de *Punica granatum* est associé à un gain du poids corporel des rats traités avec les doses de 1.5 g/kg et 3.0 g/kg, comparé à leurs poids initial (J_0), ce gain est très hautement significatif ($p < 0.0001$) à la dose 3.0 g/kg à partir de J_9 . La dose de 0.75 g/kg n'a entraîné aucune variation significative de prise de poids par comparaison au poids initial des rats traités à J_0 . Le gain de poids corporel chez les lots traités avec l'extrait de *Punica granatum* peut être expliqué par la richesse de ses écorces en composés phénoliques qui permettent de prévenir la production de radicaux libres et les neutraliser (Abdel Moneim et El Khadragy, 2013)

2/Evaluation de l'effet hépatoprotecteur d'extrait d'écorce de *Punica granatum*

L'extrait d'écorce de *Punica granatum* L. a fait l'objet d'une étude *in vivo* chez des rats intoxiqués par CCl₄ pour évaluer ses effets hépatoprotecteurs. Les résultats de dosage de certains paramètres biochimiques (Bilirubine, ASAT, ALAT, GGT, PAL) sont exprimés dans le tableau et la figure.

Tableau V : Influences d'extrait d'écorce de *Punica granatum* L. sur le profil hépatique des rats traités

	Bilirubine	ASAT	ALAT	GGT	PAL
Contrôle -	1,37±0.18	338.40±0.10	30.20±0.17***	4.90±0.10***	101.00±1.00**
Groupe I	2.20±0.20	284.17±5.34	37.20±0.30***	5.00±0.50***	181.00±78.89
Groupe II	2.64±0.27	306.64±40.41	61.71±5.43***	5.50±2.50***	247.33±31.13
Groupe III	2.72±0.91	285.62±49.19	80.28±22.89***	8.00±2.00***	138.95±17.70*
Contrôle +	2.34±0.45	371.67±87.96	155.48±0.53	19.30±0.30	381.15±151.66

Valeurs exprimées en moyennes ± écart types (n=6) ; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.0001 vs Contrôle +

L'analyse des résultats fait ressortir que :

-L'administration du CCl₄ par les rats (contrôle +) augmente considérablement les taux sériques de bilirubine, ALAT, ASAT, GGT et PAL ;

-L'extrait d'écorce de *Punica granatum* (0.75, 1.5 et 3.0 g/kg) diminue significativement (p<0.0001) les taux d'ALAT, GGT par comparaison au groupe contrôle + ;

- Un potentiel faible de diminution des taux sériques de Bilirubine et d'ASAT est observé pour les lots traités avec l'extrait de *Punica granatum* pour toutes les doses étudiées (0.75, 1.5 et 3.0 g/kg) ;

- L'administration d'extrait de *Punica granatum* à la dose de 3.0 g/kg, diminue significativement (p<0.05) le taux de Phosphatase alcaline par comparaison contrôle +.

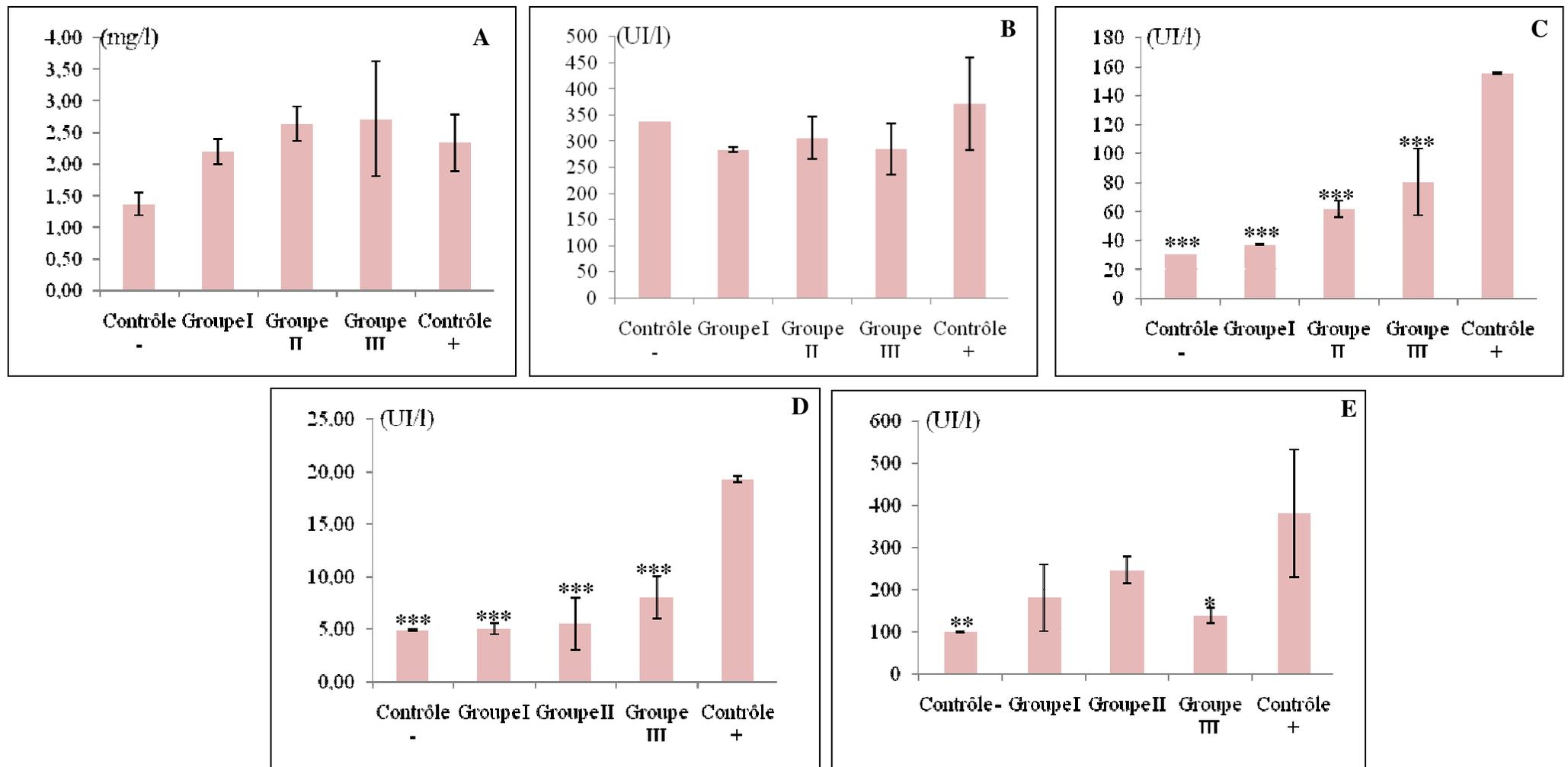


Figure 9 : Effet d'extrait d'écorce de *Punica granatum* sur le profil hépatique chez les rats traités.

(A) : Béluribine, (B) : ASAT, (C) : ALAT, (D) : GGT, (E) : PAL.

Dans la présente étude, le plan proposé visant à évaluer et examiner la possibilité d'extrait hydroalcoolique de grenade à protéger et réduire l'hépatotoxicité induite par CCl₄. Ce dernier, a été largement utilisé pour induire des lésions hépatiques expérimentales dues à la formation de radicaux libres au cours de son métabolisme par voie hépatique micrososome, qui à son tour provoque la peroxydation lipidique de la membrane cellulaire conduisant à la nécrose des hépatocytes (Conso, 2000). La capacité des substances hépato-protectrices à réduire les effets dommageables ou à préserver les mécanismes du fonctionnement du foie contre les perturbations d'une hépatotoxine, est un indice de leur effet protecteur (Krishna *et al.*, 2010; Sakr *et al.*, 2011).

On déduit des résultats de la présente étude que l'extrait de *Punica granatum* exprime un caractère antioxydant appréciable, vis-à-vis de la peroxydation lipidique (oxydation des acides gras polyinsaturés des phospho membranes lipidiques des hépatocytes) pour l'ensemble des concentrations étudiées ($p < 0.0001$) vis-à-vis des paramètres sériques ALAT et GGT, cela confirme que l'extrait d'écorce de *Punica granatum* a la capacité de stabiliser les membranes des cellules hépatiques, empêcher la fuite des enzymes et de prévenir la production de radicaux libres et les neutraliser. La diminution significative ($p < 0.0001$) des taux sériques des enzymes ALAT et GGT par les doses étudiées (0.75, 3.0, 1.5 g/kg) de *Punica granatum* est un bon indicateur des effets hépatotropes de grenade. Nos résultats sont conformes avec les travaux de Wei et son équipe (2015) qui ont confirmé que l'extrait d'écorce de grenade a des propriétés protectrices contre la fibrose hépatique induite par CCl₄, dont ses mécanismes pourraient être associés à leur activité antioxydante. Une étude récente réalisée par Boulacel et Dadouche (2020) a confirmé que l'extrait hydroalcoolique d'écorce de *Punica granatum* pourrait constituer une source potentielle d'antioxydants par sa richesse en composés phénoliques. De nombreux travaux entrepris par la littérature ont soutenu la supposition que la capacité de modification de la peroxydation lipidique est strictement liée aux caractéristiques structurales des antioxydants dont la lipophilie et la structure des composés phénoliques sont parmi les importants facteurs dont découlent les propriétés des antioxydants (Neve et pencemail, 2008 ; Zeghad, 2018).

Les travaux de Boulacel et Dadouche (2020) sur les mêmes échantillons de *Punica granatum* ont confirmé la richesse d'extrait d'écorce de *Punica granatum* en composés phénoliques bioactifs douées d'un potentiel antioxydant important ce qui explique le bon effet gastro-protecteur. A cet effet antioxydant d'extrait de *Punica granatum* s'ajoute ses propriétés anti-inflammatoires suite à une inhibition de la production de modulateurs inflammatoires de l'organisme tels que les cytokinines, TNF alpha, IN arrête d'autres dommages au foie (Bachoual *et al.*, 2011).

3/ Examen microscopique des coupes histologiques

En se référant aux résultats d'examen microscopique des foies et des reins réalisés au niveau du Centre de Recherche de Biotechnologie à Constantine pour les lots traités par l'extrait de *Punica granatum* aux différentes doses (0.75, 1.5 et 3.0 g/kg) et le lot contrôle +, on a remarqué que les coupes histologiques sont mal préparées d'où l'impossibilité de les interpréter.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. La grenade (*Punica granatum* L.) est considérée comme l'un des arbres les plus anciens et les plus célèbres. Elle porte des feuilles, des fleurs, des fruits qui sont recouvert d'une écorce jaune ou rouge qui est très utilisée en médecines.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre d'une étude phyto-chimique et biologique permettant de d'évaluer l'effet hépato-protecteur de l'extrait hydroalcoolique d'écorces de *Punica granatum* L. contre une intoxication hépatique induite par le CCl₄ qui se traduit par une anomalie des tests biochimiques ; élévation de l'activité sérique des transaminases, phosphatase alcaline, glutamyl transférase, bilirubine, des lésions de nécrose hépatocytaire et un stress oxydant estimé par une élévation de peroxydation lipidique.

Il s'est avéré que le prétraitement des rats par L'extrait d'écorce de *Punica granatum* (0.75, 1.5 et 3.0 g/kg) diminue significativement ($p < 0.0001$) les taux d'ALAT, GGT par comparaison au groupe contrôle + , l'administration du même extrait à la dose de 3.0 g/kg, diminue significativement ($p < 0.05$) le taux de Phosphatase alcaline par comparaison contrôle +. L'effet hépato-protecteur de *Punica granatum* est probablement lié aux métabolites secondaires contenus dans ses écorces. Ces derniers doués d'activités antioxydantes, sont en partie responsables de l'activité testée.

Comme perspective très rapprochée, il serait intéressant d'approfondir les investigations phytochimiques, toxicologiques et biologiques d'écorce de *Punica granatum* L. afin de s'assurer de leur innocuité, et de tester l'effet curatif de l'extrait hydroalcoolique d'écorce de *Punica granatum* L. Par ailleurs, les résultats de ce mémoire peuvent être une initiation à un projet de recherche qui aura comme but de fractionner l'extrait étudié. Une purification et une identification des principes actifs responsables de l'effet hépato-protecteur s'avère importante pour la détermination du mécanisme d'action dans le but d'une application pharmacologique.

*Références
bibliographiques*

- Abdel Moneim E.A. & El-Khadragy F.M. (2013).** The potential effects of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice on carbon tetrachloride induced nephrotoxicity in rats. *J. Physiol Blochem.* 69: 359-370.
- Ahmed S., Wang N., Hafeez B. B., Cheruvu V. K., & Haqqi T. M. (2005).** *Punica granatum* L. extract inhibits IL-1 β -Induced expression of matrix metalloproteinases by inhibiting the activation of MAP kinases and NF- κ B in human chondrocytes *in vitro*. *J.Nutr.* 135(9): 2096–2102.
- AL-Saeed M.H. & Hadi N.S. (2015).** Etude de l'effet des iso flavonoïdes extraits de l'écorce de *Punica granatum* sur la fertilité et les caractéristiques du sperme chez les males des lapins. Mémoire de Master. Université de Basrah. Iraq.
- Ambigaipalan P., Costa de camargo A., & Shahidi F. (2017)** Identification of phenolic antioxidants and bioactives of pomegranate seeds following juice extraction using HPLC-DAD-ESI-MS n . *Food chem.* 221:1883-1894.
- Attard E., Brincat M.P. & Cuschieri A. (2005).** Immunomodulatory activity of Cucurbitacin E isolated from *Ecballium elaterium*. *Fitoterapia.* 76: 439–441.
- Bachoual R., Talmoudi W., Boussetta T., Braut F. & El-Benna J. (2011).** An aqueous pomegranate peel extract inhibits neutrophil myeloperoxidase *in vitro* and attenuates lung inflammation in mice. *Food & Chem Toxicol.* 49(6) : 1224-1228.
- Bakhtaoui H. (2019).** Effet des extraits phénoliques des écorces de grenade (*Punica granatum. L*) sur l'évolution des paramètres physicochimiques et microbiologiques d'un lait fermenté de type yaourt. Mémoire de Mastère. Université de Mostaganem.
- Barka D. & Ben Moussa, R. (2018).** Evaluation *in vivo* de l'activité hépato protectrice de l'extrait aqueux de *Daphne gnidium* L. face à une hépatotoxicité induite par le CCl₄. Mémoire de Master. Université Hamma Lakhdar. El Oued.
- Boudjenah M. & Merzouge L. (2016).** Etude quantitative des polyphénols et le pouvoir antibactérien des extraits de l'écorce de fruit de grenadier (*Punica granatum* L.). Mémoire de Mastère. Université de Mostaganem.

- Bendjaffer K. & Zehani L. (2015).** Etude de l'effet protecteur d'une plante médicinale endémique appartenant au genre *Genista* vis-à-vis la toxicité hépatique provoquée par la gentamicine. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine 1.
- Boulacel F. & Dadouche A. (2020).** Valorisation phytochimique et biologique des déchets des fruits de *Punica granatum* L. et *Opuntia ficus indica* L. Université des frères Mentouri. Constantine 1.
- Chidambara Murthy K.N., Jayaprakasha G.K. & Singh R.P. (2002).** Studies on Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L) Peel Extract Using *in vivo* Models. *J Agric and food chem.* 50(1) : 81-86.
- Coleman J.B., Condie L.W. & Lamb R.G. (2001).** L'influence de la biotransformation de CCl₄ sur l'activation de la phospholipase C du foie de rat *in vitro*. *J Bio Sci.* 56 (7-8).
- Dana G. & Benichou C., (1993).** Causality assessment of adverse reactions to drugs_I.A novel method based on the conclusions of international consensus meetings: application to drug induced liver injuries. *J Clin Epidemio.* 46(13) : 23-30.
- Djahra A.B. (2014).** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèses de doctorat. Université Badji Mokhtar. Annaba.
- Djerrou Z., Maamari Z., Hamdi-Pacha Y., Serakta M., Riachi F., Djaalab H. & Boukeloua A. (2010).** Effect of virgin fatty oil of *Pistacia lentiscus* on experimental burn wound's healing in rabbits. *Afr J Tradit Complem.* 7(3): 258-263.
- Esmailzadeh A., Tahbaz F., Gaieni I., Alavi-Majd H. & Azadbakht L. (2006).** Cholesterol-lowering effect of concentrated pomegranate juice consumption in type II diabetic patients with hyperlipidemia. *Inter J Vitamin & Nutr Res.* 76(3): 147-151.
- Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karry-Bouraoui N., Trabelesi N., Boulaaba M. & Abdelly C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organ and their biological activities. *C.R.Biologies.* 331:372-379.
- Fawole O. A. & Opara U. L. (2013).** Developmental changes in maturity indices of pomegranate fruit: A descriptive review. *Scientia horticulturae.* 159: 152-161.

- Fouw J. D. (2004).** Carbon tetrachloride; First draft. National Institute of Public Health and the Environment. World Health Organization Geneva.
- Ghenimi W. (2015).** Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*, Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action sur l'activité cetylcholinestérase. Thèse de doctorat université de lorraine et université de Carthage. France et Tunisie.
- Gil M. I., Tomás-Barberán F. A., Hess-Pierce B., Holcroft D. M. & Kader A. A. (2000).** Antioxidant activity of pomegranate juice and its relation ship with phenolic composition and processing. *J Agric & Food chem.* 48(10): 4581-4589.
- Glazer I., Masaphy S., Marciano P., Bar-Ilan I., Holland D., Kerem Z. & Amir R. (2012).** Partial identification of antifungal compounds from *Punica granatum* peel extracts. *J Agric & food chem.* 60(19): 4841-4848.
- Gosling E., Harris J. & Whitman P. F. (2003).** Anatomie humaine. Atlas en couleurs. Edition De Bock. France
- Gorina Y., Saprykina E., Gereng E., Perevozchikova T., Krasnov E., IvanovaGosling J. A. & Harris P. F. (2003).** Anatomie humaine: Atlas en couleurs. Edition De Boeck Supérieur. France.
- Gowda S., Desai P.B., Hull V.V., Math A.A.K., Vernekar S. N. & Kulkarni S S. (2009).** A review on laboratory liver function tests. *Pan Afric med J.* 3: 17-22.
- Grandillet A. (2004).** Evaluation de la cinétique de régénération hépatique et de l'efficacité de transplantation; hépatocytes dans différents modèles murins d'insuffisance hépatique. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg.
- Heber D., Schulman R. N. & Seeram N. P. (2006).** Pomegranates : Ancient roots to modern medicine. *CRC press.*
- Hernandez F., Melgarejo P., Tomas-Barberan F. A. & Artes F. (1999).** Evolution of juice anthocyanins during ripening of new selected pomegranate (*Punica granatum*) clones. *Eur Food Res & Techn.* 210 (1): 39-42 .

Highleyman L. & Franciscus R (2004). Introduction au foie. HCSP publications versionP: 145-148.

Hiratake J., Suzuki H., Fukuyama K., Wada K. & Kumagai H. (2013). In Handbook of Proteolytic Enzymes; Rawlings. Salvesen N. D. 3rd Ed. Academic Press: Oxford 3. 3712–3719.

Hmid I. (2013). Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punica granatum L.*): Caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais. Thèse de doctorat. Université d'Angers.

Hodoul M. (2012). Apport de la ponction biopsie échoguidée au diagnostic des lésions focales hépatiques. Thèse de Doctorat en médecine. Faculté mixte de médecine et de pharmacie de Roue. Normandie.

Hornung E., Pernstich C. & Feussner I. (2002). Formation of conjugated double bonds by linoleic acid (1, 4) acyl lipid desaturase in pomegranate seeds. *Eur J Biochem.* 269(19) : 4852-4859.

https://fr.wikipedia.org/wiki/Grenadier_commun.

Huang D., Boxin O. & Prior R .L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacities assays. *J Agric & food Chem.* 53 :1841-1856.

Hunter A. (2006). La santé animale : Principales maladies. Edition Quae. Paris.

Jacqueson A. & Piriou A. (1999). Mécanismes et manifestations de l'action toxique au niveau hépatique. Toxicologie. Collection le Moniteur Internat. 2e éd. Rueil-Malmaison. Éditions Groupe Liaisons SA. France.

Jafri M. A., Aslam M., Javed K. & Singh S. (2000). Effect of *Punica granatum* Linn. (flowers) on blood glucose level in normal and alloxan-induced diabetic rats. *J Ethno pharm.* 70(3): 309-314.

Jones A.L. & Dargan P.I. (2007). Hepatic toxicology. In: **Shannon M.W., Boron S.W. & Burns M.J.** Haddad and Winchester's clinical management of poisoning and drug overdose. Philadelphia. Saunders: Elsevier.

Kaci M. Z., Elothmani D. & Boutekrabi L.B. (2015). Morphological and physico-chemical characteristics of three pomegranate cultivars (*Punica granatum L.*) grown in northern Algeria. *Fruits*. 71(1) : 17-26.

Kada S. (2018). Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif.

Kanoun K., Abbouni B., Bénine M.L., Benmahdi F.Z. & Marouf B. (2014) Etude de l'efficacité de l'extrait éthanolique d'écorce de *Punica granatum* Linn. sur deux souches phytopathogènes *Ascochyta Rabiei* (Pass.) Labr. et *Fusarium oxysporum*. *Eur Sci J*. 10 (12): 301-315.

Kaplowitz N. (2002). Biochemical and cellular mechanisms of toxic liver injury. *Semin Liver Dis*. 22:137—44.

Kaur G., Jabbar Z., Athar M. & Alam M. S. (2006). *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food and Chem Toxicol*. 44(7): 984–993.

Kawaii S. & Lansky E. P. (2004). Differentiation-promoting activity of pomegranate (*Punica granatum*) fruit extracts in HL-60 human promyelocytic leukemia cells. *J Med food*. 7(1): 13–18.

Keillor J.W., Castonguay R. & Lherbet C. (2005). Gamma glutamyl transpeptidase substrate specificity and catalytic mechanism. *Methods in enzymology*. 401: 449-467.

Khither H. (2019). Etude des effets de la thymoquinone sur le stress oxydant: application à l'hépatotoxicité et l'arthrite rhumatoïde induites chez le rat. Thèse de doctorat. Université Farhat Abbas. Sétif.

Kim N. D., Mehta R., Yu W., Neeman I., Livney T., Amichay A., Poirier D., Nicholls P., Kirby A. & Jiang W. (2002). Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (*Punica granatum*) for human breast cancer. *Breast Cancer Res & treatment*. 71(3): 203–217.

Krishna M. (2017). Patterns of necrosis in liver disease. *Clinical liver disease*. 10(2): 53-62.

- Kumar M., Dandapat S. & Sinha M.P. (2018).** Hepatoprotective activity of *Punica granatum* leaf extract against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *Balneo Res J.* 9 (1) : 24-27.
- Lairini R., Bouslamti F., Zerrouq. & Farah.A. (2014).** Valorisation de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punica granatum* par l'étude de ses activités antimicrobienne et antioxydante. *J. Master. Environ. Sci.* 5(S1): 2314-2318.
- Lansky E. P. & Newman R. A. (2007).** *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J Ethno Pharm.* 109(2): 177-206.
- Lansky E.P., Harrison G., Froom P. & Jiang W. G. (2005).** Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel TM. *Investigational new drugs.* 23(2) : 121–122.
- Larrey D. (2003).** Stéato-hépatite non alcoolique: histoire naturelle et diagnostic. *Gastroentérologie clinique et biologique.* 27(8-9) : 793-798.
- Lee K.J. & Jeong H.G. (2002).** Protective effect of Platycodi Radix on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Food Chem & Toxicol.* 40: 517-525.
- Lin H.M., Tseng H.G., Wang C.J., Lin D.D., Lo C.W. & Chou F.P. (2008).** Hepatoprotective effects of *Solanum nigrum* Linn. extract against CCL₄-induced oxidative damage in rats. *Chem Biol Interact.* 171: 283-293.
- Maameri Z., Beroual K., Djerrou Z., Habibatni S., Benlaksira B., Serakta M., Mansour-Djaalab H., Kahlouche-Riachi F., Bachtarzi K. & Hamdi Pacha Y.(2012).** Preliminary study to assess cicatrizing activity honey and *Pistacia lentiscus* fatty oil mixture on experimental burns in rabbits. *Int. J. Med. Arom. Plants.* 2(3) : 476-480.
- Magy N. & Lejealle C. (2013).** Cours de sémiologie - appareil digestif [Internet]. Université médicale virtuelle francophone. Disponible sur:
<http://campus.cerimes.fr/semiologie/enseignement/esemio2/site/html/9.html>.
- Malarkey D. E., Johnson K., Ryan L., Boorman G. & Maronpot, R. R. (2005).** New insights into functional aspects of liver morphology. *Toxicol Path.* 33(1): 27-34.

- Malaya G., Mazumder V., Thamilselvan I., Manikandan S.R. & Kakotti B.K. (2007).** Potential hepatoprotective effect and antioxidant role of methanol extract of *Oldenlandia umbellata* in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in Wistar rats. *Iran J Pharm & Therap.* 6(1): 5-9.
- Malik A., Afaq F., Sarfaraz S., Adhami V. M., Syed D. N. & Mukhtar H. (2005).** Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 102(41): 14813–14818.
- Martinez J., Melgarejo P., Hernández F., Salazar D. & Martinez R. (2006).** Seed characterization of five new pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties. *Scientia Horticulturae.* 110: 241–246.
- Mellal A. (2010).** Application pratique de l'anatomie humaine. Publibook. France.
- Miloud R. (2019).** Contribution à la valorisation d'une plante médicinale de grenadier (*Punica granatum* L) de la région de Biskra. Mémoire de Master. Université de Biskra.
- Mingchun W., Peilei Z., Changxing J., Zahanjun Z. & Xiaoxiong Z. (2012).** Preliminary characterization, antioxidant activity *in vitro* and hepatoprotective effect on acute alcohol-induced liver injury in mice of polysaccharides from the peduncles of *Hovenia dulcis*. *Food & Chem Toxicol.* 50(9): 2964-2970.
- Mirdehghan S.H. & Rahemi M. (2006).** Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Scientia horticulturae.* 111: 120-127.
- Mitra S.K., Venkataranganna M.V., Sundaram R. & Gopumadhavan S. (1998).** Effect of HD-03, a herbal formulation, on the antioxidant defense system in rats. *Phytotherapy Research.* 12: 114-117.
- Mukherjee P.K. (2003).** Plant products with hypocholesterolemic potentials. *Adv. Food Nutr. Res.* 47: 227-338.
- Navarro V.J. & Senior J.R. (2006).** Drug related hepatotoxicity. *New Eng J Med.* 354,731-739.

Neurath A. R., Strick N., Li Y. Y. & Debnath A. K. (2004). *Punica granatum* (Pomegranate) juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. *BMC infectious diseases*. 4(1) : 1-12.

Neve J. & Pincemail J. (2008). Antioxydants alimentaires: vitamines, oligoéléments et non-nutriments : Aliments fonctionnels. Edition Lavoisier. Paris.

Neyrinck A.M., Van Hée V.F., De Backer F., Cani P., Delzenne N. (2012). Effets anti-inflammatoires et hypolipémiants des polyphénols de grenade chez la souris obèse : implication potentielle du microbiote intestinal. *Diabetes & Metabolism*. 38 : P270.

Nicole J.S., Olivier, P. & Jacques, C. (2009). Patient avec des tests hépatiques perturbés : que faire ?, *Revue Médicale Suisse : pratique*, 5, 2410-2414.

Onu A., Saidu Y., Ladan M.J., Bilbis L.S., Aliero A.A. & Sahabi S.M. (2013). Effect of aqueous stem bark extracts of *Khayasen egalensison* some biochemical, haematological and histopathological parameters of rats. *J Toxicol*. 10 : 803-835.

Oriana C. & Denis C. (2015). Le Foie et les Voies Biliaires: Anatomie. Centre Hépatobiliaire Paul Brousse. [En ligne]. [Citation : 1 Septembre -2015.] <http://www.centre-hepatobiliaire.org/maladies-foie/anatomie-foie.html>.

Oubihi H. (2018). Le kyste hydatique du foie chez l'enfant. Thèse de doctorat. Université Mohammed V. Rabat.

Ozer J., Ratner M., Shawc M., Bailey W. & Schomaker S. (2008). The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*. 245: 194-205.

Özkan M. (2002). Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid. *Food Chem*. 78(4): 499-504.

Parmar H. S. & Kar A. (2008). Medicinal values of fruit peels from *Citrus sinensis*, *Punica granatum*, and *Musa paradisiacal* with respect to alterations in tissue lipid peroxidation and serum concentration of glucose, insulin, and thyroid hormones. *J Med Food*. 11(2): 376-381.

Peng Y.F., Wang J.L., Pan G.G. (2017). The correlation of serum bilirubin levels with disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Clinica Chimica Acta*. 469: 187-190.

- Pessayre D., Haouzi D., Fau D., Robin M.A., Mansouri A., Berson A. (1999).** Withdrawal of life support, altruistic suicide, fratricidal killing and euthanasia by lymphocytes : different forms of drug-induced hepatic apoptosis. *J Hepatol.* 31: 760-70.
- Prashanth D., Asha M. K. & Amit A. (2001).** Antibacterial activity of *Punica granatum*. *Fitoterapia.* 72(2) : 171–173.
- Quattara Y. (1999).** Etude de l'activité des extraits à queue de plantes hépatotropes sur le foie souris soumises à une intoxication algue au tétrachlorure de carbone. Thèse de doctorat. Université de Ouagadougou.
- Rajib A., Monirul M.D., Km I., Ashik M. & Ekramul H. (2009).** Hepatoprotective Activity of Methanol Extract of Some Medicinal Plants Against Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Eur J Sci Res.* 37 (2): 302-310.
- Sakr S.A., Mahran H.A. & Lamfon H.A. (2011).** Protective effect of ginger (*Zingiber officinale*) on adriamycin-induced hepatotoxicity in Albino rats. *J Med Plant Res.* 5:133-140.
- Seeram N.P., Schulman R.N. & Heber D. (2006).** Pomegranates: ancient roots to modern medicine. *CRC press.*
- Singh B., Singh J. P., Kaur A. & Singh N. (2018).** Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (*Punica granatum L.*) peel: A review. *Food chem.* 261: 75-86.
- Smaouia S., Ben Hlimab H., Chakchouk Mtibaaa A., Fouratia M., Sellema I., Elhadefa Kh., Ennouria K. & Melloulia L. (2019).** Pomegranate peel as phenolic compounds source: Advanced analytical strategies and practical use in meat products. *Meat Science.* 158: 1-20.
- Spichiger R.E. & Savolainen V. (2004).** Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des Angiosperme des régions tempérées et tropicales. Editions Presses polytechniques et universitaires. Romandes.
- Spiller G. A. & Spiller M. (2007).** Tout savoir sur les fibres. Les Éditions le mieux-être. France.

- Suva M.A. (2014).** A Brief Review on Liver Cirrhosis: Epidemiology, Etiology, Pathophysiology, Symptoms, Diagnosis and Its Management. *Inventi Rapid: Molecular Pharm.* 2: 1-5.
- Syed D.N., Afaq F. & Mukhtar H. (2007).** Pomegranate derived products for cancer chemoprevention. *Seminars in Cancer Biology.* 17(5): 377–385.
- Thapa B.R. & Walia A. (2007).** Liver function tests and their interpretation. *Ind J Ped.* 74: 663-671.
- Turkmen N., Velioglu Y. S., Sari F. & Polat G. (2007).** Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules.* 12:484-496
- Vella D. (2003).** Journée de gastro-enterologie. Centre hospitalier. Genève.
- Véronique L. (2010).** Stratégie de vectorisation d'acides nucléiques et de drogues anticancéreuses dans les cellules hépatiques en culture. Thèse de doctorat. Université Rennes.
- Wald E. (2009).** Le grenadier (*Punica granatum*): plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré.
- Wei X., Fang R., Yang Y., Bi X., Ren G., Luo A., Zhao M. & Zang W. (2015)** Protective effects of extracts from Pomegranate peels and seeds on liver fibrosis induced by carbon. *BMC Complement Altern Med.* 15: 389-396.
- Woreta T.A. & Alqahtani S.A. (2014).** Evaluation of abnormal liver tests. *Med Clin N Am.* 98: 1–16.
- Zeghad N. (2018).** Evaluation des propriétés bio-pharmacologiques, standardisation chimique et valorisation des agro ressources fonctionnelles cas de *Vitis vinifera*, *Punica granatum*, *Citrus aurantium* et *Opuntia ficus-indica*. Thèse de doctorat. Université des frères Mentouri-Constantine 1.
- Zelliche R., Ziada S. & Mezahem T. E. (2018).** Evaluation de l'activité antioxydante et hépatoprotectrice de deux plantes locale: *Ecballium elaterium* et *Tamus communis* de la région d'El Aouna. Thèse de doctorat. Université de Jijel.

Résumé

A l'heure actuelle, le retour à la nature est le choix de tout le monde, vu les effets indésirables des produits chimiques et apparentés. Le grenadier possède une vaste histoire ethno médicale et représente un réservoir phytochimique de valeur médicinale heuristique. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité hépato-protectrice de *Punica granatum* L. L'activité hépato-protectrice a été confirmée *in vivo*, en étudiant l'effet d'extrait contre la toxicité induite par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) chez des rats *Wistar*. L'extrait d'écorce de grenade s'est avéré être hépato-protecteur suite à une diminution significative ($p < 0.0001$) des taux d'ALAT, GGT par comparaison au groupe contrôle +, et une diminution significativement ($p < 0.05$) du taux de Phosphatase alcaline suite à l'administration du même extrait à la dose de 3.0 g/kg par comparaison au contrôle +. Ces résultats suggèrent que l'extrait hydroalcoolique d'écorces de *Punica granatum* possède un effet hépato-protecteur contre l'hépatotoxicité induite par le CCl₄. Par conséquent, l'identification des composés responsables de l'activité testée ainsi que leur mode d'action seraient à envisager dans le but d'une application pharmaceutique.

Mots clés: *Punica granatum* L., Extrait., Activité hépato-protectrice, CCl₄.

Abstract

Actually, going back to nature is everyone's choice, given the adverse effects of chemicals and related products. The pomegranate tree has an extensive ethno-medical history and represents a phytochemical reservoir of heuristic medicinal value. In this context, we were interested in evaluating the hepatoprotective activity of *Punica granatum* L. The hepatoprotective activity was confirmed *in vivo*, by studying the effect of extract against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced toxicity in *Wistar* rats. Pomegranate bark extract was found to be hepatoprotective following a significant ($p < 0.0001$) decrease in ALAT, GGT levels compared to the control + group, and a significant ($p < 0.05$) decrease in Alkaline Phosphatase levels following administration of the same extract at a dose of 3.0 g/kg compared to the control +. These results suggest that the hydroalcoholic extract of *Punica granatum* bark has a hepatoprotective effect against CCl₄-induced hepatotoxicity. Therefore, the identification of the compounds responsible for the tested activity as well as their mode of action should be considered for pharmaceutical application.

Key words: *Punica granatum* L., Extract, Hepatoprotective activity, CCl₄.

في الوقت الحاضر، فإن العودة إلى الطبيعة هي اختيار جيد، بالنظر إلى الآثار الضارة للمواد الكيميائية والمنتجات ذات الصلة. تمتلك شجرة الرمان تاريخاً عريقاً طبياً واسعاً وتمثل مخزون كيميائياً نباتياً للقيمة الطبية الاستكشافية. في هذا السياق تم تأكيد نشاط الحماية الكبدية في الجسم الحي، من خلال *Punica granatum L.*، اهتمامنا بتقييم النشاط الوقائي للكبد لـ في فنران وبستار. أثبتت الدراسة أن (CCl₄) دراسة تأثير المستخلص ضد السمية التي يسببها رابع كلوريد الكربون و ALT في مستويات ($p < 0.0001$) مستخلص قشر الرمان له فعالية في حماية الكبد وذلك بعد حدوث انخفاض معنوي في مستوى الفوسفاتيز القلوي بعد إعطاء المستخلص ($p < 0.05$) مقارنة بمجموعة الشاهد +، وانخفاض معنوي GGT نفسه عند جرعة 3.0 جم / كجم مقارنة بمجموعة الشاهد +. تشير هذه النتائج إلى أن المستخلص المائي الكحولي للحاء الرمان له تأثير وقائي للكبد ضد السمية الكبدية لذلك يجب النظر في تحديد المركبات المسؤولة عن النشاط الذي تم اختياره وكذلك طريقة عملها لغرض التطبيق الصيدلاني

الكلمات المفتاحية: ، *Punica granatum L.* المستخلص، النشاط الوقائي للكبد، CCl₄

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : GRINI Kamilia
HERRATI Djehina

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliquée

Intitulé : Evaluation de l'effet hépato-protecteur d'écorces de *Punica granatum* L. chez des rats
Wistar

Resumé : A l'heure actuelle, le retour à la nature est le choix de tout le monde, vu les effets indésirables des produits chimiques et apparentés. Le grenadier possède une vaste histoire ethno médicale et représente un réservoir phytochimique de valeur médicinale heuristique. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité hépato-protectrice de *Punica granatum* L. L'activité hépato-protectrice a été confirmée *in vivo*, en étudiant l'effet d'extrait contre la toxicité induite par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) chez des rats *Wistar*. L'extrait d'écorce de grenade s'est avéré être hépato-protecteur suite à une diminution significative ($p < 0.0001$) des taux d'ALAT, GGT par comparaison au groupe contrôle +, et une diminution significativement ($p < 0.05$) du taux de Phosphatase alcaline suite à l'administration du même extrait à la dose de 3.0 g/kg par comparaison au contrôle +. Ces résultats suggèrent que l'extrait hydroalcoolique d'écorces de *Punica granatum* possède un effet hépato-protecteur contre l'hépatotoxicité induite par le CCl₄. Par conséquent, l'identification des composés responsables de l'activité testée ainsi que leur mode d'action seraient à envisager dans le but d'une application pharmaceutique.

Mots-clefs : *Punica granatum* L., Extrait., Activité hépato-protectrice, CCl₄

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie. (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : ZEGHAD Nadia (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : MAAMERI Zineb (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : MADI Aicha (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).