

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département Biologie Physico-Chimique
Filière : Science Biologique
Option : Biochimie Appliquée



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Effet hépato-protecteur des feuilles de
Clematis flammula chez les souris
intoxiquées par le paracétamol
(Évaluation de l'activité superoxyde
dismutase)**

Présenté par :

OUCHIHA Lila & TOUDJI Hanane

Soutenu le : **14 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Mme RAHMANI.M
Melle CHERAFT.N
Mme ZEMOURI.S

MAA
MAB
MAB

Présidente
Encadreur
Examinatrice

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Allah, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience de bien mener ce modeste travail.

Nous tenons à remercier très chaleureusement notre promotrice **M^{elle} CHERAFT. N**, pour nous avoir accepté et de nous encadrer tout au long de ce travail, notamment pour la confiance, les conseils que vous nous avez accordé tout au long de ce travail malgré ses nombreuses charges, merci également pour votre disponibilité et votre gentillesse, nous vous adressons notre profonde reconnaissance pour vos remarque en vu d'améliorer ce travail.

« Sans vous rien n'aurait été pareil »

Nous vifs remerciements, et toutes nos expressions de respect à **M^{me} RAHMANI.M**, pour l'honneur qu'elle nous a fait par sa présence en qualité de présidente de jury.

Nos sincères considérations, et remerciements sont également exprimés à **Mme ZAMOURLS** pour l'honneur d'avoir accepté de faire partie du membre de jury, on vu d'évaluer et d'examiner ce travail et consacré son temps en débit de ses nombreuses autres obligations.

Nous remercions également **Mme DEBBACHE.N** et **Mme AYOUNI.K**. Pour leurs conseils et leur encouragement

Nous remerciement sont également adressés à tout le personnel du laboratoire de génétique, pour tous les enseignants (**M^r ATMANI** et **Mme ATMANI**), nous remerciant également l'ingénieur du laboratoire naima, ainsi que radia et tous les doctorants. À toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation et le bon déroulement de ce travail.

LILA et HANANE

Dédicaces

Avant tout, nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir donné le courage et la foie pour mener à bien ce travail.

A la femme la plus courageuse, sensible, généreuse, la plus belle à mes yeux, à celle qui a su me donner amour et joie de vivre, à celle qui a toujours montré affection et compréhension à mon égard, ma mère que j'aime.

A celui qui a toujours été présent, qui m'a appris les vraies valeurs de la vie, à celui qui m'a soutenu en toutes circonstances, ma fierté papa que j'aime.

« Que dieu garde mes parents et les protège »

A ceux qui m'ont soutenu jour et nuit et durant tout mon parcours à ceux qui m'ont aidé pendant mes études du primaire jusqu'à l'obtention de mon diplôme.

Mes très chers frères pour leurs confiances:

Toufik et ma belle-sœur sabah et leurs enfants sarah, chakira, sonia et anais.

Samir et ma belle-sœur siham et leurs enfants yacine et sid ali.

Mes très chères sœurs pour leur soutien moral :

Samira et Ahmed et mon cher Anis.

Siham et Hillal et ma poupé Nelia.

Lamia et Fares et mon bébé massyl.

Souhila et Samir et mes chouchous Sara, Lyna et Yahia.

Je tiens vivement à remercier une personne très particulière pour son soutien : **Amine**.

A ma deuxième famille tonton hakim et tata rachida, ainsi lydia, titouh, sissa et moumouh.

A tous mes oncles et tantes, particulièrement tata tassadit et sa famille.

A mes chers copies : Mordjane et sa famille, Ania, Foufa, Fatima, Amel, Souhila.

A ma chère binôme et sœur Hanane et sa famille.

OUCHIHA Lila

Dédicaces

Avant tout, merci ALLAH de m'avoir donné la patience et le courage durant ces années d'études.

Je tien vivement à dédier ce modeste travail en signe de respect et de reconnaissance à ma mère qui ma donné la vie, un exemple aux qu'elle je me compare, le symbole de tendresse qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite.

« Que dieu te garde et te protège »

A mon père que dieu l'accueil dans son vaste paradis, je tien a lui dédier ce travail en symbole de réussite et d'honneur.

A mes frères : Riad, Larbi, Rabah zamen, la famille (à toutes mes tantes) ainsi que les amis (Assia, Hana, Narimène) en particulier ma binôme LILA et sa famille, qui ont tous su me soutenir en toutes circonstances tout au long de mes études, merci beaucoup pour votre bonne humeur et la chaleur familiale avec la qu'elle vous m'avez entouré, que dieu vous garde incha Allah.

Sans oublier une personne très chère à mes yeux : **ALI**

Et enfin ceux qui ont contribué à m'aider à la réalisation de ce mémoire et à tous ceux que je connais de près ou de loin.

TOUDJI Hanane

Liste des abréviations**Liste des figures****Liste des tableaux****Introduction.....1****Chapitre I : Synthèse bibliographique****I.1 Foie.....2**

I.1.1 Anatomie du foie.....2

I.1.2 Différents rôles du foie.....2

I.2 Paracétamol.....3

I.2.1 Généralité3

I.2.2 Données pharmacocinétique.....3

I.2.3 Mécanisme d'action du paracétamol au niveau hépatique.....4

I.2.4 Évaluation de l'intoxication du paracétamol.....6

I.2.5 Mécanisme biochimique de l'intoxication du paracétamol.....6

I.2.6 Stress oxydatif et toxicité par le paracétamol.....8

I.3 Les antioxydants.....8

I.3.1 Défense enzymatique.....9

I.3.1.1 Catalase.....10

I.3.1.2 Glutathion peroxydase.....10

I.3.1.3 Superoxyde dismutase.....11

I.3.2 Défense non enzymatique.....14

I.3.2.1 Vitamine E.....14

I.3.2.2 Vitamine C.....14

I.3.2.3 Caroténoïdes.....14

I.3.2.4 Polyphénols.....15

Chapitre II : Matériel et Méthodes**II. Matériel et Méthodes.....17****II.1 Matériel.....17**II.1.1 Matériel végétal *Clematis Flammula*.....17

II.1.1.1 Description botanique de la plante.....	17
II.1.1.2 Noms vernaculaires de la plante.....	17
II.1.1.3 Taxonomie.....	18
II.1.1.4 Répartition géographique.....	18
II.1.1.5 Effets thérapeutiques.....	19
II.1.1.6 Toxicité de la plante.....	19
II.1.1.7 Compositions chimiques de la plante <i>Clematis Flammula</i>	19
II.1.2 Matériel animal.....	20
II.1.2.1 Conditions d'élevage.....	20
II.1.2.2 Réactifs chimiques.....	20
II.2 Méthodes.....	21
II.2.1 Préparation de l'extrait de la plante <i>Clematis Flammula</i>	21
II.2.2 Évaluation de l'effet hépato-protecteur de l'extrait brut des feuilles <i>Clematis flammula</i>	23
II.2.2.1 Répartition des souris en groupes.....	23
II.2.2.2 Administration de l'extrait.....	23
II.2.2.3 Administration du paracétamol.....	24
II.2.2.4 Sacrifice et récupération des foies.....	24
II.2.2.5 Broyage des foies	24
II.2.3 Dosage des protéines.....	25
II.2.4 Dosage de l'activité enzymatique de la SOD dans les homogénats de foie.....	25
II.2.5 Analyse statistique.....	26
Chapitre III : Résultats et discussions	
III. Résultats et discussions.....	27
III.1 Résultats.....	27
III.1.1 Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase.....	27
III.2 Discussions.....	31
Conclusion et perspectives.....	38
Références bibliographiques.....	40
Annexes	

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AP-1 : Activator protein 1.

ARN : Acide ribonucléique.

ATP : Adénosine Triphosphate.

Bcl-xL : B- cell lymphoma-extra large.

CAT : Catalase.

ChREBP : Carbohydrate responsive element-binding protein.

CMC : Carbomethyl Cellulose.

CoQ10 : Co-enzyme Q10.

CYP2E1 : Cytochrome P450 2E1.

CYP3A4 : Cytochrome P450 3A4.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

GPx : Glutathion peroxydase.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

LXR : Liver X receptor.

NF-κB : Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells.

O₂⁻ : Anion superoxyde.

PNN : Polynucléaires neutrophiles.

ROO[•] : Radical peroxy.

SOD : superoxyde dismutase.

Figure 1 : Structure chimique du paracétamol.....	3
Figure 2 : Les différentes possibilités de métabolisation du paracétamol.....	5
Figure 3 : Schéma représentatif de l'ouverture du PTPM dans la mitochondrie lors de mort cellulaire.....	7
Figure 4 : Métabolisme du paracétamol lors d'une intoxication.....	8
Figure 5 : Principaux systèmes antioxydants.....	9
Figure 6 : Effet protecteur des différents antioxydants.....	10
Figure 7 : Mode d'action des antioxydants endogènes.....	11
Figure 8 : Structure de l'enzyme superoxyde dismutase.....	12
Figure 9 : (A) Feuille de <i>Clematis flammula</i> ; (B) Fleurs de <i>Clematis flammula</i>	17
Figure 10 : Structure de la protoanémone.....	19
Figure 11 : Élevage des souris albinos mâles.....	20
Figure 12 : Shéma récapitulatif des étapes de la procédure d'extraction.....	22
Figure 13 : Administration par voie intra-gastrique.....	23
Figure 14: Administration de paracétamol par voie intra-péritonéal.....	24
Figure 15 : (A) Dissection d'une souris ; (B) Conservation des foies dans des sacs.....	24
Figure 16 : (A) Broyage des foies ; (B) Homogénéisateur.....	25
Figure 17 : Quelques étapes de l'autoxydation du pyrogallol.....	26
Figure 18: Effet hépatoprotecteur des feuilles de <i>Clematis Flammula</i> sur l'activité de la superoxyde dismutase.....	30

Tableau I : Les principaux noms vernaculaires de la plante *Clematis flammula*18

Tableau II : La systématique de la plante *Clematis flammula*.....18

Tableau III : Répartition des souris en groupe et leurs traitements.....23

Tableau IV : Effet de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula*, sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD).....28

Introduction

INTRODUCTION

Les maladies hépatiques sont la première cause de la mortalité dans le monde sans doute en raison d'une augmentation de la prévalence des différents facteurs de risques hépatiques tels que : l'automédication très fréquente de quelques médicaments notamment le paracétamol, utilisé comme analgésique ou antipyrétique (**Singh et al., 2014**).

La toxicité du paracétamol se manifeste par un déséquilibre dans la production de radicaux libres et un dysfonctionnement de la mitochondrie endommageant ainsi la cellule hépatique (**Berson, 2005 ; Baudin, 2006**).

Pour faire face à ces produits oxydants délétères, le corps humain possède tout un système de défense très efficace que l'on qualifie d'antioxydants enzymatiques (superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase) et non enzymatiques (polyphénols, vitamine C...etc.) (**Halliwell et Gutteridge, 1999**).

De nombreux travaux ont montré l'importance des plantes médicinales dans le traitement des affections hépatiques, la plus part de leurs effets bénéfiques est attribué à leurs richesse en métabolites secondaires en vue d'améliorer le système de défense antioxydant (**Thurre, 2007 ; Chaudhary et al., 2010 ; Singh et al., 2014**).

Parmi Ces plantes, la *Clematis flammula*, appartenant à la famille des Ranunculacea, dont le nom vernaculaire kabyle est « Azanzou ». Cette plante est connue pour sa spécificité très réponde dans la médecine traditionnelle, dans le traitement de nombreuses maladies inflammatoires comme l'arthrite. Malgré cela, elle reste très peu étudiée sur le plan scientifique.

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'effet hépato-protecteur de l'extrait éthanolique des feuilles de *Clematis flammula* chez des souris traitées avec le paracétamol en mesurant l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) hépatique.

chaptire I

Revue bibliographique

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 FOIE

I.1.1 ANATOMIE DU FOIE

Le foie est la plus grande glande dans l'organisme, de couleur rouge brun et ferme, il mesure en moyenne 28 cm en transversal et pèse près de 1,5 kg pour l'être humain (**Moore et Dalley, 1999**).

Le foie est situé près du poumon droit et du cœur. Il est relié aux veines les plus importantes, la veine porte qui draine vers le foie, le sang des organes digestifs et de la rate. Et les veines hépatiques qui drainent le sang sortant du foie vers la veine caveinférieure puis vers le cœur. Il est divisé en deux lobes séparés par le ligament falciforme, le lobe droit représente deux tiers du volume du foie, et le lobe gauche un tiers du volume. Deux autres lobes mineurs en taille : le lobe caudé, ou lobe de spiegel et le lobe carré peuvent être également individualisé (voir l'annexe1) (**Moore et Dalley, 1999**).

I.1.2 DIFFÉRENTS RÔLES DU FOIE

Le foie joue un rôle central dans le métabolisme cellulaire et un rôle non négligeable dans la régulation de la circulation sanguine, ainsi dans la synthèse des protéines plasmiqes (lipoprotéines). Par ailleurs, une fonction principale dans la détoxification des substances chimiques médicamenteuses ou non par plusieurs processus lui a été attribué (**Hikino et Kiso, 1988**).

Le paracétamol qui cause des lésions des cellules hépatiques, induisant le phénomène de l'hépatotoxicité (**Smilkstein et al., 1988**).

I.2 LE PARACÉTAMOL

I.2.1 GÉNÉRALITÉS

Le paracétamol ou encore appelé le N-acétyl-p-aminophénol, acétamidophénol, acétylaminophénol ou 4-hydroxy-acétanilide, a été découvert en 1977 (**Ellenborn et al., 1988**). Ce médicament est connu pour ses propriétés antalgiques et antipyrétiques comparables à celles des salicylés, mais il est dénué d'activité anti-inflammatoire (**Ellenborn et al., 1988**). C'est un dérivé phénolique, sa structure comporte un cycle benzénique substitué par un groupement hydroxyle et un groupement acétamide (Figure 1), ce dernier ne comporte pas de carbone asymétrique et n'a pas de stéréo-isomères (**Clayden, et al., 2002**).

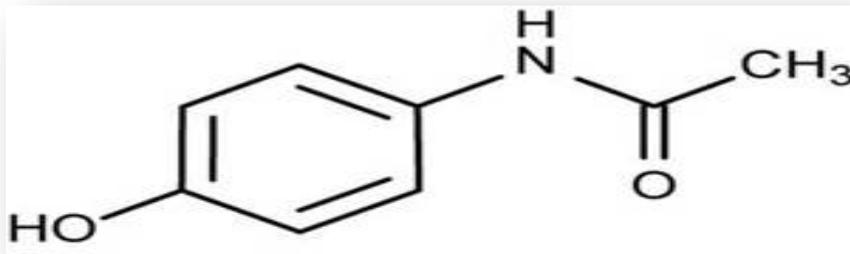


Figure (1): Structure chimique du paracétamol (**Ellenborn et al., 1988**).

I.2.2 DONNÉES PHARMACOCINÉTIQUES

I.2.2.1 ABSORPTION

Le paracétamol subit une biotransformation hépatique dès le premier passage dans le foie, le pic plasmatique se diffère selon les voies d'administration qui est atteint entre 15 minutes (comprimé effervescent) et 30–60 minutes (comprimé et poudre). La voie injectable présente une grande efficacité par son passage direct dans le sang (**Gazzad et al., 1973**).

I.2.2.2 DISTRIBUTION

Le paracétamol se distribue rapidement dans tous les tissus, cette distribution est rapide et uniforme. Il diffuse dans tous les milieux liquidiens (sang, liquide céphalorachidien, salive). Sa liaison aux protéines plasmatiques est faible (15 à 20 %) (**Gazzad et al., 1973**).

I.2.2.3 MÉTABOLISME

Le paracétamol est métabolisé essentiellement au niveau du foie, par glucoroconjugaison et sulfoconjugaison. Une faible proportion est métabolisée par un système oxydatif dépendant du cytochrome P450, qui le transforme en un composé hautement réactif nommé N-acétyl-p-benzoquinone-imine. Ce composé est en situation normale réduit par le glutathion et puis éliminé par voie rénale (**Kociancic et Reed, 2003**).

I.2.2.4 ÉLIMINATION

L'élimination du paracétamol est essentiellement urinaire, 90 % de la dose ingérée est éliminée par le rein en 24 heures, principalement sous forme glycuconjuguée (50 à 80 %) et sulfoconjuguée (20 à 40 %) et moins de 5 % est éliminé sous forme de paracétamol. La demi-vie d'élimination est d'environ 2 heures (**Pons, 1997**).

I.2.3 MÉCANISME D'ACTION DU PARACÉTAMOL AU NIVEAU HÉPATIQUE

Dans le foie, le paracétamol est le substrat d'enzymes à savoir les transférases et oxydases, qui le conjuguent en dérivés très hydrosolubles (figure 2).

- Les transférases se divisent en deux sous classes, la première est l'uridine di-phosphate glucuronyl transférase (UDP-glucuronyl transférase) dont l'acide uridine-5'-diphospho-D-glucuronique (UDPGA) est le coenzyme. Ce dernier transforme le paracétamol en un dérivé glucuroconjugué par transfert de groupement glucuronate porté par le coenzyme. Alors que, la sulfotransférase dont le coenzyme est le 3-phosphoadénosine-5'-phosphosulfate (PAPS), transforme le paracétamol en un dérivé sulfoconjugué par transfert de groupement sulfate inorganique porté par le coenzyme (**Sterner, 1999**).

- Les oxydases sont des mono-oxygénases à cytochrome P450, notamment, les cytochromes CYP2E1 et CYP3A4, qui transforment le paracétamol en N-acétyl-p-benzoquinone-imine (NAPQI). Ce dernier est ensuite conjugué avec le glutathion (GSH) en un composé conjugué (NAPQI-GS) (Figure 2) (Hachulla et Flipo, 1999 ; Laura et al., 2003).

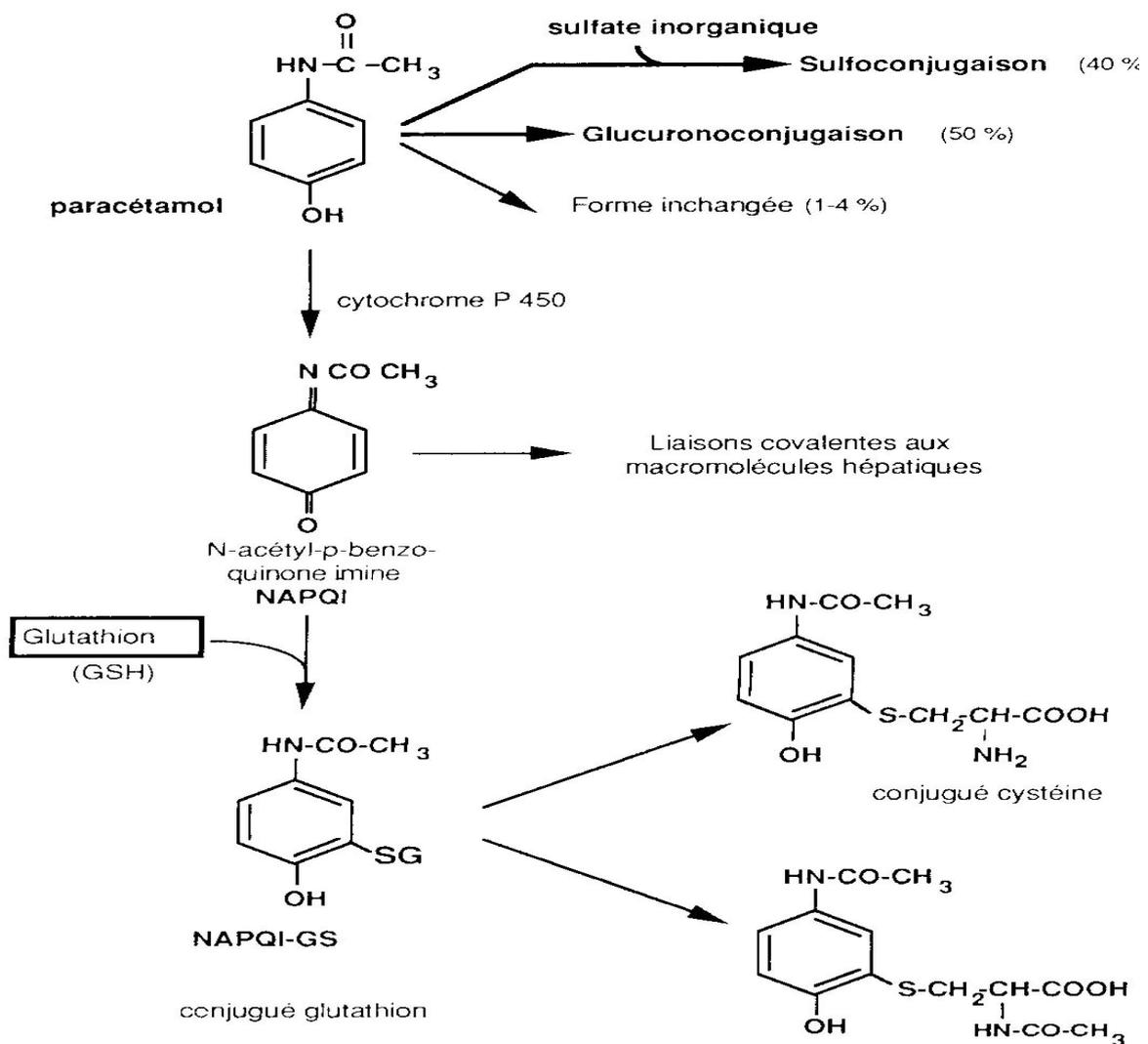


Figure (2) : Les différentes possibilités de métabolisation du paracétamol (Laura et al., 2003).

I.2.4 ÉVALUATION DE L'INTOXICATION DU PARACÉTAMOL

Le risque d'hépatotoxicité du paracétamol dépend principalement de la dose ingérée. Cependant, une augmentation de l'activité du cytochrome P450, une diminution des capacités de glucoro-conjugaison ou un déficit en glutathion, peuvent augmenter le risque de cette toxicité (Seirafi et Hadengue, 2007).

I.2.5 MÉCANISME BIOCHIMIQUE DE L'INTOXICATION DU PARACÉTAMOL

L'effet hépatotoxique du paracétamol se traduit par plusieurs mécanismes qui touchent la cellule à différents niveaux (voir annexe 2) (Seirafi et al., 2007).

➤ Paracétamol cible les pores mitochondriaux

Les pores mitochondriaux communément appelés « pores de transition de perméabilité mitochondriale » (PTPM) sont constitués notamment des protéines *voltage-dependent anion channel* (VDAC), *adenine nucleotide translocase* (ANT) et cyclophyline D (Figure 3) (Fromenty, 2010).

Lors de l'intoxication par le paracétamol ou par un métabolite réactif généré par l'intermédiaire des cytochromes P450, ou bien par des dérivés endogènes en excès (calcium, acides gras, acides biliaires) (Fromenty et al., 1995 ; Yasuhiro et al., 2005), un dysfonctionnement mitochondrial est à l'origine de l'ouverture de ces pores. Ce qui est susceptible d'induire la mort cellulaire hépatique par nécrose ou apoptose en fonction du nombre de mitochondries impliquées (Yasuhiro et al., 2005).

Par ailleurs, l'augmentation de la perméabilité des membranes mitochondriales va être associée à une profonde perturbation de la phosphorylation oxydative ayant pour conséquence une chute de la synthèse d'ATP, ce qui entraîne la mort cellulaire par la nécrose (Berson, 2005).

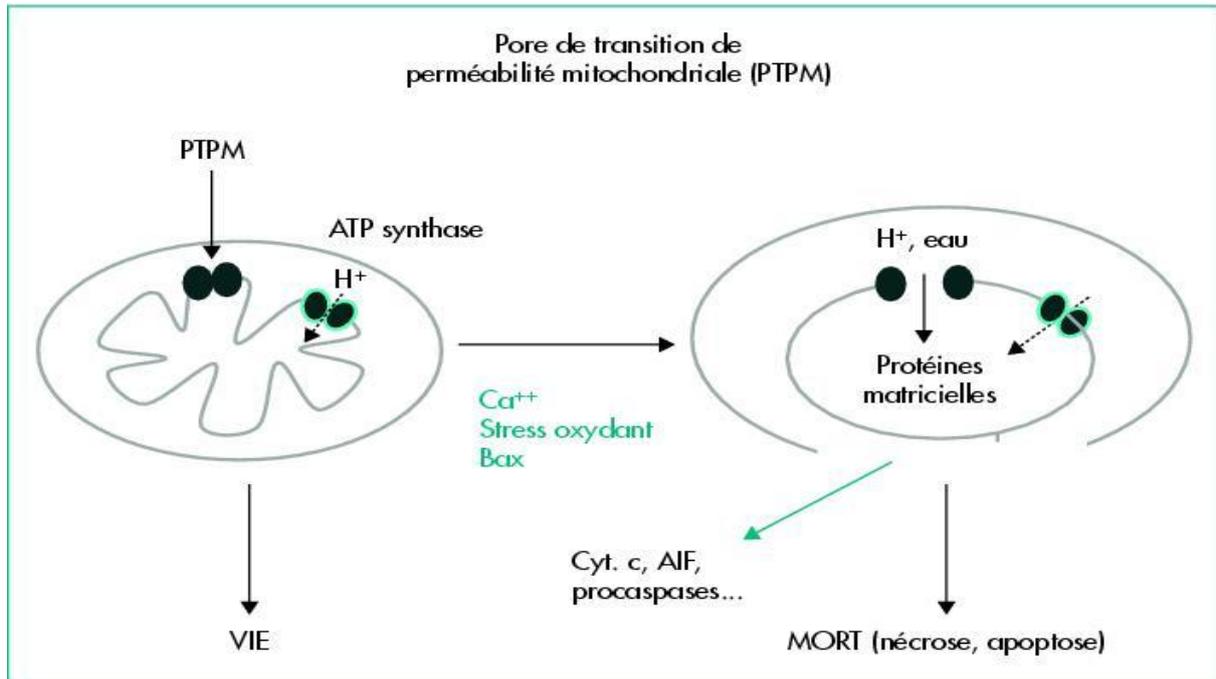


Figure (3) : Schéma représentatif de l'ouverture du PTPM dans la mitochondrie lors de mort cellulaire (Berson, 2005).

➤ Paracétamol cible les protéines hépatiques

Le N-acétyl-p-benzoquinone-imine (NAPQI), un métabolite potentiellement toxique qui est un produit de la transformation du paracétamol par les mono-oxygénases de cytochrome P450 au niveau du foie. Il doit sa toxicité à sa capacité de se lier d'une façon covalente aux protéines hépatiques intramoléculaires LXR (Liver X receptor), ChREBP (Carbohydrate responsive element-binding protein) d'où résulte une lyse hépatocytaire (figure 4) (Seirafi *et al.*, 2007).

De même, à des doses toxiques, les quantités de glutathion disponibles ne sont pas suffisantes aux quantités de NAPQI issues du paracétamol dans le foie en présence des mono-oxygénases à CYP-2E1 (figure 4), Il s'en suit donc une accumulation de ce métabolite au niveau du foie provoquant des effets néfastes pour cet organe (Seirafiet *al.*, 2007; Fromenty, 2010).

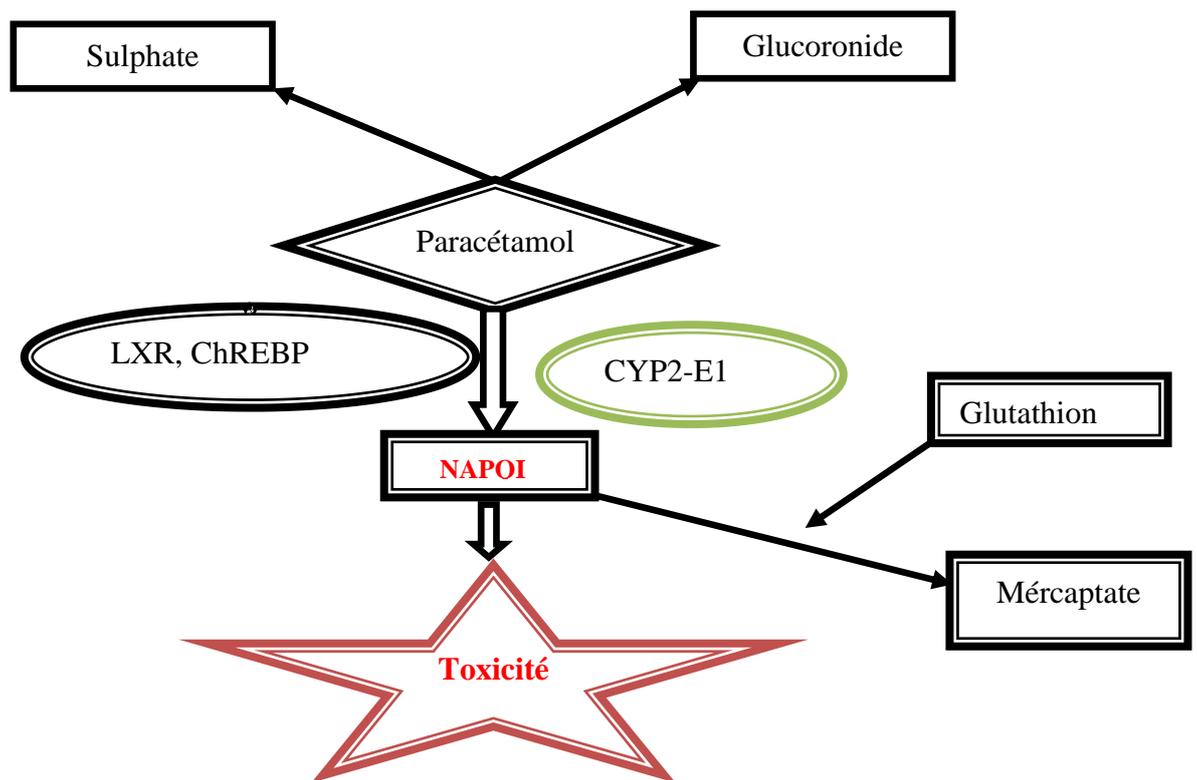


Figure (4) : Métabolisme du paracétamol lors d'une intoxication (Seirafi *et al.*, 2007).

I.2.6 STRESS OXYDATIF ET TOXICITÉ PAR LE PARACÉTAMOL

L'intoxication par le paracétamol, représente la cause principale des dysfonctionnements hépatiques et l'atteinte des protéines mitochondriales tels que le glutathion qui est responsable du maintien de la régulation d'un métabolite très réactif (NAPQI). Cela en perturbant la production des espèces réactifs de l'oxygène (ERO) provoquant ainsi le stress oxydant (Berson, 2005 ; Fromenty, 2010 ; Tomečková *et al.*, 2011).

I.3 ANTIOXYDANTS

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques d'ERO. L'organisme réagit donc de

façon constante à cette production permanente de radicaux libres par de différents systèmes enzymatiques et non enzymatiques (Figure 5) (Favier, 2003).

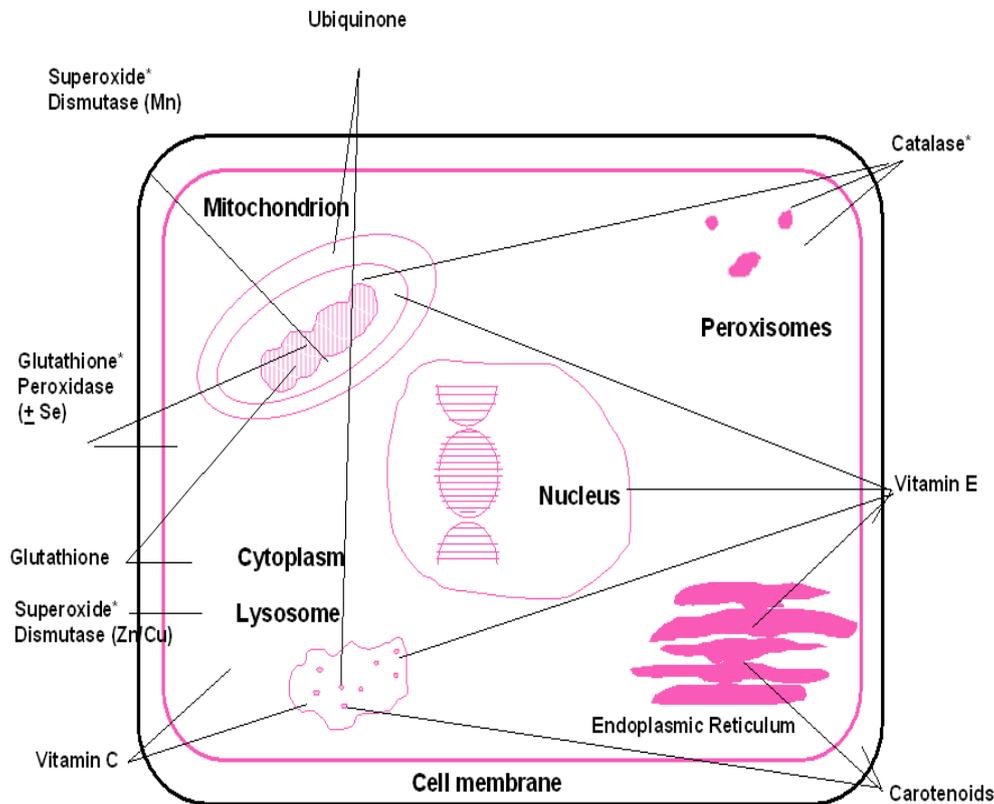


Figure (5) : Principaux systèmes antioxydants

(https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/bitstream/handle/1866/6734/these_body.html) (consulté le 17 avril 2015)

I.3.1 DÉFENSE ENZYMATIQUE

La défense enzymatique repose principalement sur trois enzymes, la catalase (CAT), glutathion peroxydase (GPx), et la superoxyde dismutase (SOD). L'ensemble de ces enzymes présente une première ligne de défense contre les radicaux libres (figure 6). Elles ont une énorme importance en limitant des dommages des macromolécules biologiques (membranes cellulaire, protéines...etc) (John et Hilton, 1989). La superoxyde dismutase apparait comme l'enzyme clé de la défense naturelle contre les radicaux libres (Joanny et Bourg, 2005).

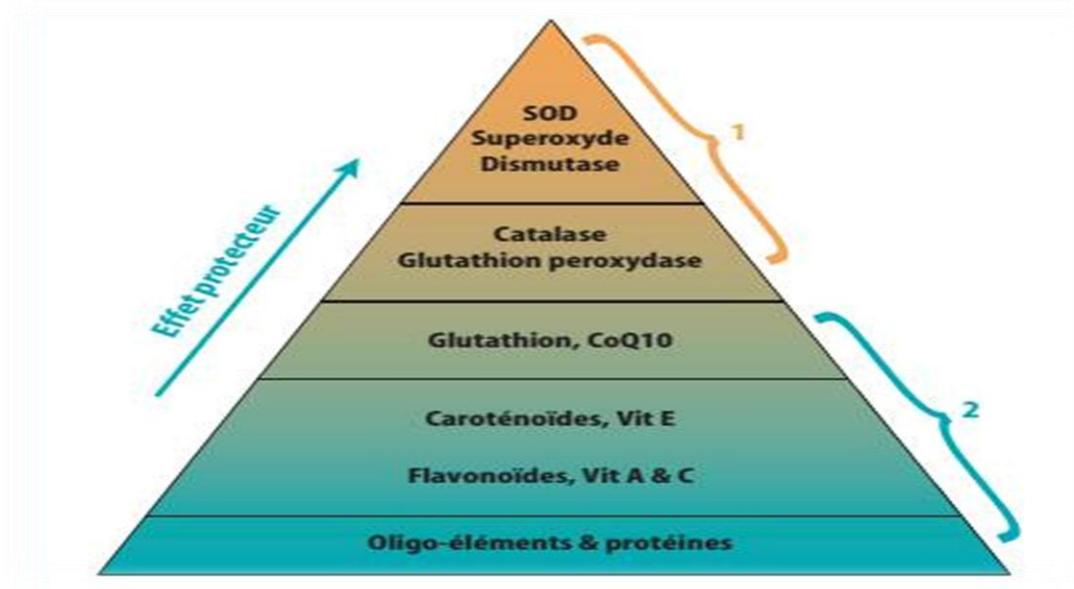


Figure (6) : Effet protecteur des antioxydants (Joanny et Bourg, 2005).

- (1) Les grands enzymes essentiels : SOD, CAT, GPx.
- (2) Molécules piègeuses : vitamine A, E, C, caroténoïdes, flavonoïdes, oligo-éléments.

I.3.1.1 CATALASE

La catalase est une enzyme qui catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (figure 7), elle est localisée essentiellement dans les peroxysomes et hématies (Arockiaraj et al., 1997).

I.3.1.2 GLUTATHION PYROXYDASE

La glutathion peroxydase est une enzyme à cofacteur sélénium, elle se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale, elle a pour activité la dégradation des peroxydes d'hydrogène (H_2O_2) (figure 7) (Valko et al., 2006).

I.3.1.3 SUPEROXYDE DISMUTASE

La superoxyde dismutase (SOD) a été découverte en 1968 par Joe McCord et Irwin Fridovich (**McCord et Fridovich, 1969**), elle est la plus synthétisée dans les cellules et se présente dans tous les compartiments cellulaires (**Johnson et Giulivi, 2005**).

Elle est capable d'éliminer l'anion superoxyde (O_2^-) par une réaction de dismutation, à partir de deux anions superoxyde pour former une molécule d'oxygène et une molécule peroxyde d'hydrogène (Figure 7) (**Johnson et Giulivi, 2005**). Ces derniers sont ensuite rapidement catabolisés par la catalase et glutathion peroxydase en dioxygène (O_2) et en molécule d'eau (H_2O) (Figure 7) (**Joanny et Bourg, 2005**).

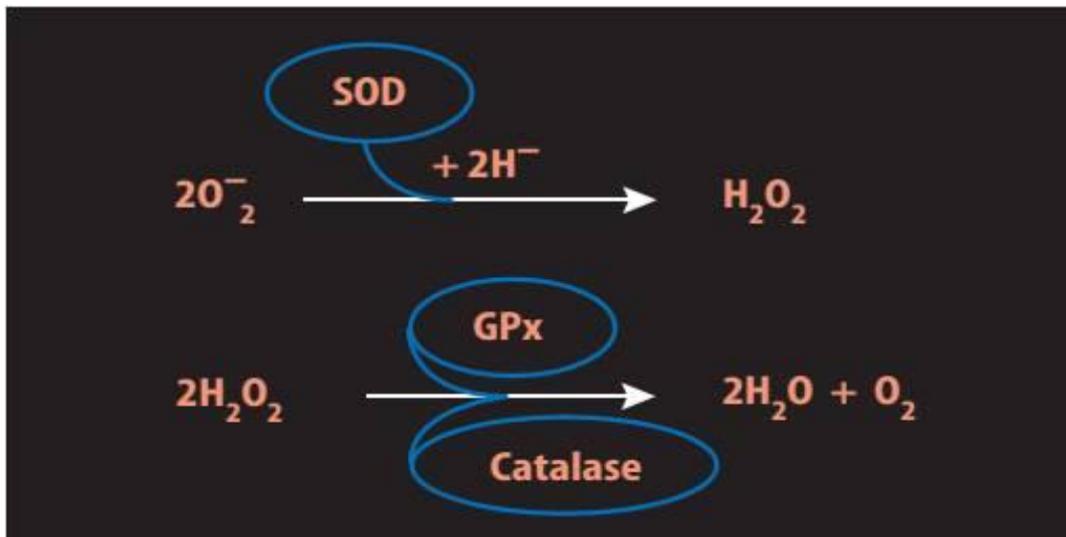


Figure (7) : Mode d'action des antioxydants endogènes (**Joanny et Bourg, 2005**).

- **Structure**

La famille des superoxydes dismutases est une métallo-enzyme de nature protéique et sa fonction dépend de sa localisation (figure 8) (**Jochen et al., 2004**).

De structure quaternaire, elle forme un puit hydrophobe au centre de la protéine dans lequel glisse l'anion superoxyde. Le mécanisme de la réaction est catalysé par un métal situé au cœur de l'enzyme (cuivre, zinc, fer et manganèse) (**Valéry et al., 2007**).

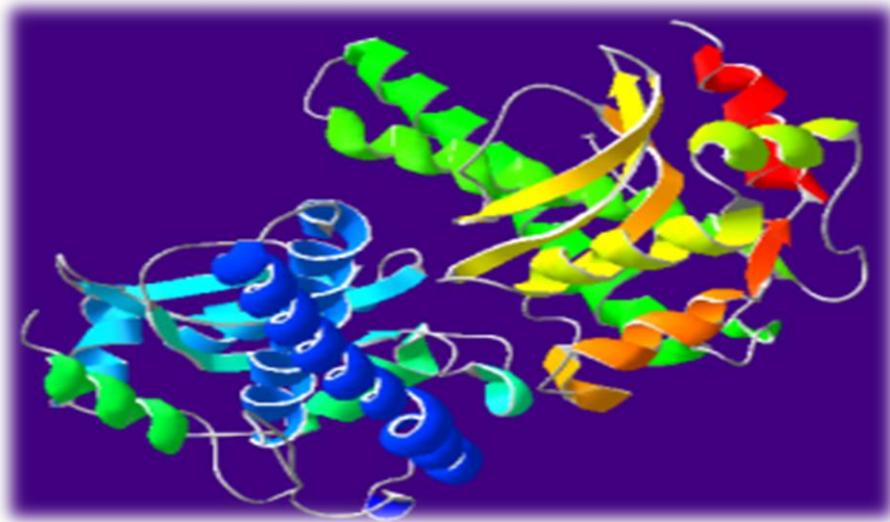


Figure (8) : Structure de l'enzyme superoxyde dismutase (Jochen et al., 2004).

Différents types de SODs

➤ Structure et fonction de la SOD1 (Cu/ZnSOD1)

La SOD1 est présente dans le cytoplasme, le compartiment nucléaire et dans l'espace inter-membranaire mitochondrial. Son gène est localisé au niveau du chromosome 21. L'étude du promoteur de la SOD1 humaine a permis de mettre en évidence plusieurs sites de fixation pour des facteurs de transcription modulés par le statut redox cellulaire, tels qu'AP-1 et NF- κ B. Des mutations du gène SOD1 sont à l'origine de désordres neurodégénératifs comme la sclérose latérale amyotrophique (Orr et al., 2003).

Les transcrits de la SOD1 peuvent être augmentés par différents stimuli comme les chocs thermiques, les métaux lourds ou le stress oxydatif, démontrant que cette enzyme est impliquée dans la réponse cellulaire face aux différents stress (Okado-Matsumoto et al., 2002).

Chez les souris, sa surexpression est associée à une protection des tissus cérébraux dans des conditions pathologiques comme l'ischémie ou la maladie de Parkinson (Fujimura et al., 2000). L'inactivation du gène SOD1 chez la souris n'est pas létale, cependant, *in vitro*, la prolifération cellulaire est fortement réduite (Huang et al., 1997), et sa résistance vis-à-vis de l'O₂⁻ est diminuée (Reaume et al., 1996).

La SOD1 joue un rôle important dans la survie et la croissance cellulaire, cependant sa forme mutée est associée à une augmentation d'apoptose (**Okado-Matsumoto et al., 2002**).

➤ **Structure et fonction de la SOD2 (MnSOD2)**

La SOD2 est mitochondriale, son gène est localisé au niveau de chromosome 6. Sa déficience entraîne une augmentation de la production d'anion superoxyde mitochondrial, qui inhibe en retour la chaîne respiratoire sur les complexes I et II. De nombreux polymorphismes ont été associés à une réduction de l'activité enzymatique, augmentant le risque de cardiomyopathie. La surexpression de la SOD2 chez des animaux transgéniques réduit la taille de l'infarctus, protégeant les tissus de l'apoptose (**Wheeler et al., 2001**).

➤ **Structure et fonction de la SOD3 (Cu/ZnSOD3)**

La SOD3 est essentiellement présente dans les compartiments extracellulaires, plasma, lymphe, fluide cérébrospinal, et liquide synovial. Son gène est localisé au niveau de chromosome 4. La SOD3 possède une forte affinité pour l'héparine et autres protéoglycanes de la matrice extracellulaire et de la membrane plasmique (**Fattman et al., 2003**).

La SOD3 protège les cellules et la matrice des effets délétères de l'O₂⁻ généré par les polynucléaires neutrophiles (PNN) actifs. Des protéases de la famille des convertases (furine) rejetés par les cellules inflammatoires clivent la partie fixant la SOD3 à la matrice, exposant cette dernière à des attaques radicalaires, aboutissant à une augmentation du taux plasmatique de la SOD3 (**Enghild et al., 1999**).

La seule mutation connue actuellement concerne son site de fixation à l'héparine, est responsable de l'augmentation de risque cardiovasculaire (**Juul et al., 2004**).

• **Chez les plantes**

Chez la plante, les enzymes superoxydes dismutases MnSOD, FeSOD, Cu/ZnSOD,) agissent comme les antioxydants en protégeant les composants cellulaires de l'oxydation par ERO. Ces dernières sont synthétisées en raison de sécheresse , des blessures et herbicides...etc.

Cette enzyme agit en réduisant l' $O_2^{\cdot-}$ en O_2 quand il capte un électron célibataire libéré dans la chaîne de transport d'électrons assurant ainsi une protection pour les plantes (Alscher et al., 2002).

I.3.2 DÉFENSE NON ENZYMATIQUE

L'organisme possède une seconde ligne de défense qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation sous forme de fruits et de légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, polyphénols ...etc. Ces antioxydants agissent en piégeant les radicaux libres, chélation des métaux ou par inhibition des enzymes productrices des ERO, limitant de ce fait toute atteinte de l'intégrité cellulaire (John et Hilton, 1989 ; Kœchlin-Ramonatxo, 2006).

I.3.2.1 VITAMINE E (TOCOPHÉROL)

Elle est considérée comme le principal antioxydant attaché à la membrane utilisée par la cellule pour inhiber la peroxydation lipidique. Durant la réaction antioxydante, la vitamine E est convertie en radical α - tocophérol beaucoup plus stable en perdant un hydrogène arraché par une espèce radicalaire (Pryor, 2000).

I.3.2.2 VITAMINE C (AICIDE ASCORPIQUE)

Sa propriété antioxydante est attribuée à sa capacité d'être réduite en radical ascorbyle après la perte d'un électron ou d'un proton. Ce radical peut facilement s'oxyder en captant l'anion superoxyde et certains espèces radicalaires (Van antwerpen, 2006).

I.3.2.3 CAROTÉNOÏDES

L'activité antioxydante de ces molécules repose principalement sur la présence de nombreuses doubles liaisons conjuguées au sein de leurs structures (Mortensen et al., 2001). En général elles interagissent avec les radicaux libres (ROO^{\cdot} , R^{\cdot}) par 3 mécanismes, soit par l'abstraction d'hydrogène, transfert d'électron ou par addition du radical (El-Agamey et al., 2004).

I.3.2.4 POLYPHÉNOLS

Les polyphénols ou « composés phénoliques » sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans toutes les parties de la plante (**Lugasi et al., 2003**).

Ils regroupent un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques (flavonoïdes, quinones, coumarines...etc.) (**Lugasi et al., 2003**), qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Tapiero et al., 2002**).

Malgré leur diversité, ces polyphénols agissent comme des captures directes des espèces réactives de l'oxygène par chélation de métaux ou par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des ERO (**Rice-Evans et al., 1995**).

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes, s'attribue des propriétés variées: à savoir, veinotonique et anti-inflammatoire ainsi hépato-protectrice (**Fleuriet et al., 2005**).

Ces composés actifs qui sont derrière cet effet hépato-protecteur, sont largement répartis dans les différentes parties de plantes médicinales. En effet, plusieurs auteurs ont regroupé un ensemble de plantes médicinales de différentes familles à effet hépato-protecteur sous forme de listes (**Chaudhary et al., 2010 ; Al-Asmari et al., 2014 ; Singh et al., 2014**).

Al-Asmari et al., (2014) ont démontré l'effet hépato-protecteur de trente-cinq plantes médicinales connues dans les régions d'Arabie Saoudite, sur un modèle animal intoxiqué par des différents agents (Paracétamol, CCl₄...etc) (**Al-Asmari et al., 2014**).

D'autres études ont été réalisées, deux groupes de chercheurs à savoir **Chaudhary et al., (2010)** et **Singh et al., (2014)**, sur les différentes parties d'une quarantaine de plantes médicinales indiennes dans le but d'évaluer leurs activités hépato-protectrices *in vivo* (**Chaudhary et al., 2010 ; Singh et al., 2014**).

Dans ce contexte, l'objectif de notre étude s'inscrit sur la détermination de l'activité hépato-protectrice de l'extrait éthanolique de feuilles de *Clematis flammula* à des doses 100 et 200 mg/kg chez des souris intoxiquées par le paracétamol à une dose 400mg/kg, en mesurant leur potentiel antioxydant enzymatique par le dosage de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD).

Chapitre II
Matériel et méthodes

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1 MATÉRIEL

II.1.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL «*Clematis flammula*»

La présente étude a été réalisée sur les feuilles de *Clematis flammula*, une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle locale.

II.1.1.1 DESCRIPTION BOTANIQUE DE LA PLANTE «*Clematis flammula*»

Clematis flammula, encore appelée clématite brûlante, est une plante grimpante semi-ligneuse à feuilles caduques composées de 3 à 7 folioles oblongues à arrondies, entières, parfois trilobées et dont le pétiole s'enroule autour du support (figure 9 A). Les fleurs sont blanches odorantes et comportent uniquement 4 pétales pétaloïdes ; velus sur la face externe (figure 9 B) (Blamey et Grey-Wilson, 2000 ; Boullard, 2001).

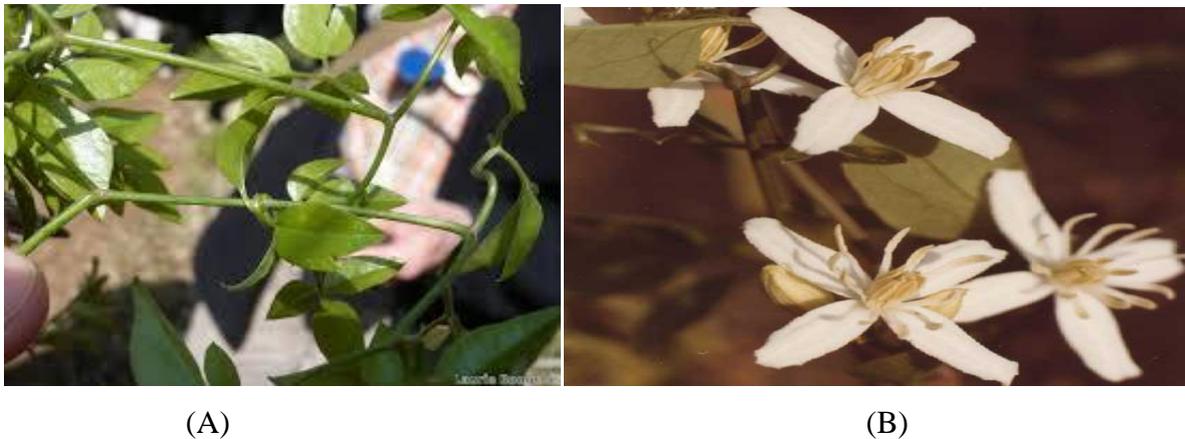


Figure (9) : (A) Feuilles de *Clematis flammula* ; (B) Fleurs de *Clematis flammula* (Boullard, 2001).

II.1.1.2 NOMS VERNACULAIRES DE LA PLANTE

Le tableau suivant illustre les principaux noms vernaculaires de la plante *Clematis flammula*.

Tableau I : Les principaux noms vernaculaires de la plante *Clematis flammula*.

Nom scientifique	Nom vernaculaire arabe	Nom vernaculaire Berbère	Nom vernaculaire Anglais, Français
<i>Clematis flammula</i>	Nard barda	Azenzou	Clematite
	Yasmine bari	Zenzou	Clematite brûlante

II.1.1.3 TAXONOMIE

La systématique de cette plante décrite par (Gaussen et al., 1982) est présentée dans le tableau II comme suite :

Tableau II : La systématique de la plante *Clematis flammula* (Gaussen et al., 1982).

Règne	Végétal
Embranchement	Angiosperme
Classe	Eudicots
Ordre	Ranunculales
Famille	Ranunculacées
Genre	Clematis
Espèce	<i>Clematis flammula</i>

II.1.1.4 RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE DE LA PLANTE « *Clematis flammula* »

La région de la Méditerranée représente une zone principale d'existence de cette plante, elle occupe de vastes superficies d'Europe centrale et en Algérie (Atmani et al., 2011), en Turquie (Yesilada et Kupeli, 2007) mais aussi ,elle est très répandue en Chine (Zeng et al., 2007).

Cette espèce croit notamment dans les forêts peuplées de chêne, c'est une plante résistante remarquablement à la sécheresse (Baba- Aisa, 1999).

II.1.1.5 EFFETS THÉRAPEUTIQUES

L'espèce *Clematis* représente une série de propriétés biologiques, les parties aériennes sont particulièrement utilisées dans le traitement des névralgies et des douleurs rhumatismales (Bezanger-Beauquesne et al., 1990). Comme elles sont utilisées comme un remède pour réduire la douleur et la fièvre, comme diurétique, contre les infections oculaires et le traitement de la goutte (Yesilada et Kupeli, 2007 ; Chawla et al., 2012). Par ailleurs, les feuilles de *C.flammula* sont appliquées en cas de brûlures superficielles (Atmani et al., 2009), cette plante intervient dans le traitement d'une maladie dite bûzelûm (boullard, 2001).

II.1.1.6 TOXICITÉ DE LA PLANTE

L'utilisation de la plante fraîche est toxique par voie interne, et elle peut causer des inflammations par voie externe. Elle possède des propriétés irritantes dues à la libération de protoanémone (5-méthylidénfuran-2-one), (figure 10) qui caractérise les espèces appartenant à la famille des Renonculacées. La toxicité de la plante est proportionnelle à sa teneur en cette substance (Yesilada et Kupeli, 2007).

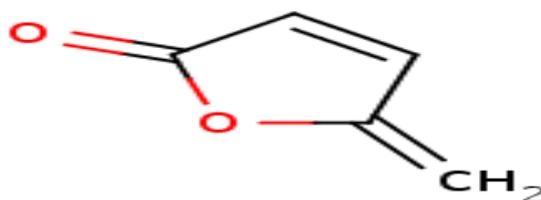


Figure (10) : Structure de la protoanémone (Chawla et al., 2012).

II.1.1.7 COMPOSITIONS CHIMIQUES DE « *Clematis flammula* »

Selon Chawla et al., (2012) les espèces de *Clematis* ont un large éventail de constituants chimiques tels que les triterpènes, flavonoïdes, les lignanes, coumarines, alcaloïdes, huiles volatiles, stéroïdes, acides organiques et les polyphénols (Chawla et al., 2012).

II.1.2 MATÉRIEL ANIMAL

Dans le but d'évaluer l'effet hépato-protecteur de l'extrait brut des feuilles de *Clematis flammula* chez des souris traitées avec le paracétamol, en mesurant l'activité de superoxyde dismutase, des souris albinos, mâles ont été utilisées.

Ces animaux du poids qui varie entre 20 à 30g, et une moyenne d'âge (6 ± 2) semaines proviennent des centres d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger, et le travail expérimental a été réalisé au niveau de laboratoire de génétique et laboratoire d'expérimentation animal de l'université de Bejaïa.

II.1.2.1 CONDITIONS D'ÉLEVAGE

Les souris ont été placées aléatoirement, dans des cages spéciales en polystyrène (figure 12). Ces animaux ont accès libre à la nourriture et l'eau et dans des conditions favorables, à savoir l'éclairage artificiel 12h/12h, température ambiante ($23-25^{\circ}\text{C}$) et une humidité 60 à 70%.



Figure (11) : Élevage des souris albinos mâles (**Photo originale**).

II.1.2.2 RÉACTIFS CHIMIQUES

Le médicament utilisé pour induire une hépatotoxicité est le paracétamol (Efferalgan 500mg en comprimé) fabriqué dans un laboratoire en France (Bristol-MYERS SQUIBB).

Les réactifs utilisés pour le broyage des foies et le dosage de l'activité enzymatique SOD sont :

- **Tris HCl** (Tris(hydrométhyl)amino-méthane hydrochloride).
- **EDTA** (acide éthylène diamine tétraacétique).
- **KCl** (chlorure de potassium).
- **Pyrogallol** (1, 2,3, trihydroxybenzène).

II.2 MÉTHODES

II.2.1 PRÉPARATION DE L'EXTRAIT DE LA PLANTE « *Clematis flammula* »

- **La récolte**

La plante a été récoltée dans les forêts de Tizi Naftah, Amizour wilaya de Bejaïa dans la période mai-juin de l'année 2012.

- **Le séchage**

Les feuilles de *Clematis flammula* ont été séchées dans un endroit aéré et ombragé afin d'éliminer toutes les traces d'humidités tout en préservant la composition phénolique.

- **Le broyage et tamisage**

Les feuilles ont été broyées par un broyeur électrique (KIKA labortechnik M20), et ont été tamisées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine de $63\ \mu\text{m}$ de diamètre.

- **L'extraction**

L'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles de *Clematis flammula* a été effectué selon le protocole d'extraction de **Atmani et al., (2011)** (figure 12)

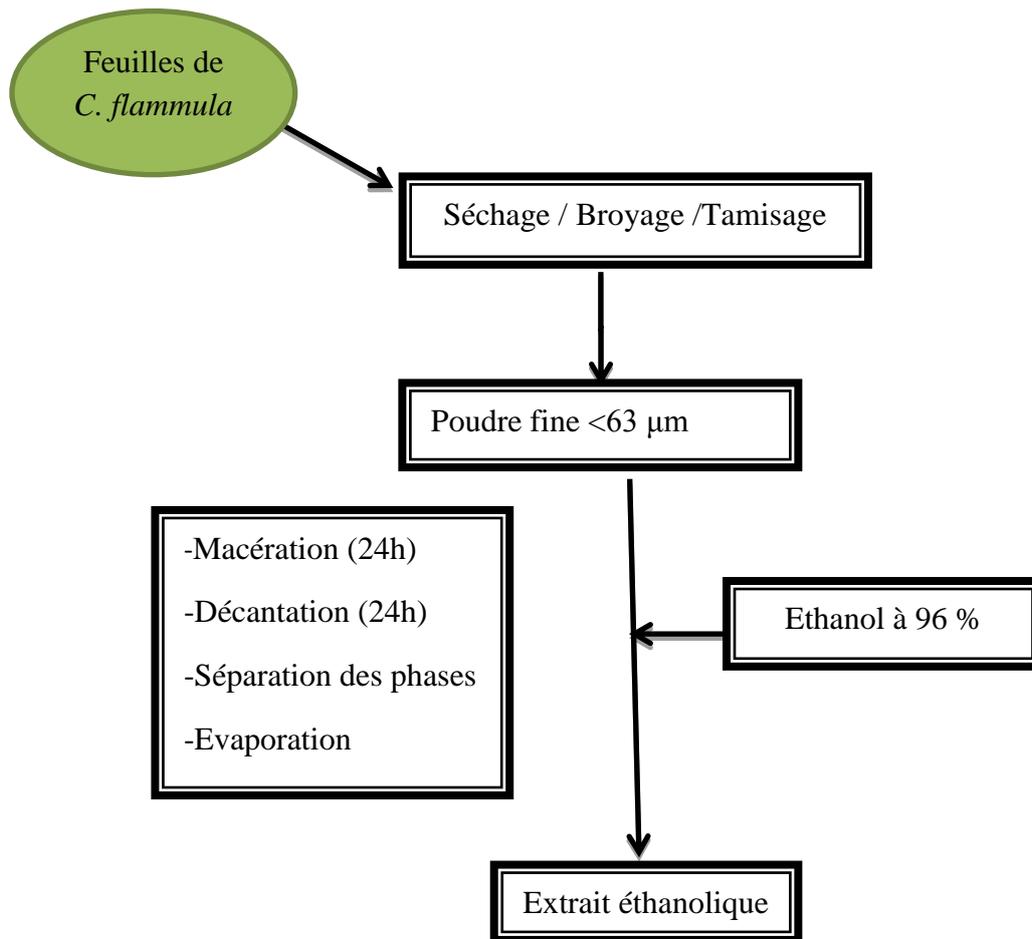


Figure (12) : Shéma recapitulatif des étapes de la procédure d'extraction (Atmani et al., 2011).

Le pourcentage d'extraction est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = [(P1-P0) / E] * 100$$

P1 : Poids d'extraction après évaporation (g).

P0 : Poids vide du cristalliseur ou boîte de Pétri.

E : Poids de la poudre (g).

II.2.2 L'ÉVALUATION DE L'EFFET HÉPATO-PROTECTEUR DE L'EXTRAIT BRUT DES FEUILLES « *Clematis flammula* »

Le protocole de **Forouzandeh et al., 2013**, avec quelques modifications a été appliqué pour tester l'effet hépto-protecteur, *in vivo*, de l'extrait brut des feuilles de *Clematis flammula* à différents doses du paracétamol.

II.2.2.1 RÉPARTITION DES SOURIS EN GROUPES

Les souris ont été réparties sur 7 lots, chaque lot contient 8 souris. L'expérimentation a été faite pendant une durée de cinq jours.

Tableau III : Répartition des souris en groupe et leurs traitement.

Les groupes	Le traitement
Groupe 1	Contrôle négatif (recevra que les véhicules CMC et l'eau physiologique).
Groupe 2	Contrôle positif (recevra le véhicule CMC et le paracétamol à 400mg/kg).
Groupe 3	Test standard (recevra la sylimarine à 100mg/kg et le paracétamol à 400mg/kg).
Groupe 4	Contrôle 100 (recevra l'extrait de <i>Clematis</i> à 100mg/kg et l'eau physiologique).
Groupe 5	Contrôle 200mg/kg (recevra l'extrait de <i>Clematis</i> à 200mg/kg et l'eau physiologique).
Groupe 6	Test 100mg/kg (recevra l'extrait de <i>Clematis</i> à 100mg/kg et le paracétamol à 400mg/kg).
Groupe 7	Test 200mg/kg (recevra l'extrait de <i>Clematis</i> à 200mg/kg et le paracétamol à 400mg/kg).

II.2.2.2 ADMINISTRATION DE L'EXTRAIT

Selon le protocole sélectionné pour cette étude, les souris des groupes **4,5,6 et 7** ont été traitées pendant 05 jours en leur administrant l'extrait brut des feuilles de *Clematis flammula* par voie intra-gastrique (figure 13), selon leurs poids corporel.



Figure (13) :Administration par voie intra-gastrique (**Photo originale**).

II.2.2.3 ADMINISTRATION DU PARACÉTAMOL

Dans le but d'induire une hépatotoxicité, le paracétamol a été administré le cinquième jour par voie intra-péritonéale (figure 14) après une heure de la dernière dose de traitement avec l'extrait, pour les groupes **2, 3,6** et **7**.



Figure (14) : Administration de paracétamol par voie intra-péritonéale (**Photo originale**).

II.2.2.4 SACRIFICE ET RÉCUPÉRATION DES FOIES

Après 24h de l'injection de paracétamol, toutes les souris ont été anesthésiées puis sacrifiées. Après la dissection (figure 15 A), les foies ont été isolés dans des sacs (figure 15 B) et conservés à -80°C pour des études ultérieures.



Figure (15) : (A) Dissection d'une souris

(B) Conservation des foies dans des sacs (**Photo originale**).

II.2.2.5 BROYAGE DES FOIES

Les foies ont été broyés dans un tampon (**KCl (0,15 mM) et EDTA (1 mM)**) à **pH 7,4** (figure 16 A) et homogénéisés à l'aide d'un homogénéisateur (figure 16 B).

Après centrifugation à 10.000g/20 min à 4°C, le surnageant a été conservé dans des éppendorfs et conservé à -80°C.



(A)

(B)

Figure (16) : (A) Broyage des foies.

(B) Homogénéisateur (**Photo originale**).

II.2.3 DOSAGE DES PROTÉINES

Le dosage de la teneur en protéines (1976) dans les homogénats des foies a été réalisé par une méthode colorimétrique de Bradford, et l'absorbance a été mesuré à une longueur d'onde de 595 nm, en utilisant une protéine standard BSA (Bovine Sérum Albumine). Il s'agit d'une réaction colorimétrique entre les résidus d'acides aminés basiques dans les protéines et un colorant : le bleu de coomassie (G250). La teneur en protéines a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage (voir annexe 3) établie avec l'albumine sérique bovine (BSA) est exprimée en $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu hépatique (**Bradford, 1976**).

II.2.4 DOSAGE DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE DE LA SUPEROXYDE DISMUTASE DANS LES HOMOGÉNATS DES FOIES

Le dosage de la superoxyde dismutase a été effectué selon la méthode rapportée par **Marklund et Marklund, (1974)**, avec quelques modifications.

Le principe de ce dosage est basé sur la compétition entre la réaction d'autoxydation du pyrogallol et la dismutation de O_2^- par la superoxyde dismutase. L'autoxydation de pyrogallol (1, 2,3, trihydroxybenzène) se fait dans des milieux alcalins qui est caractérisée par la transformation du pyrogallol avec l'oxygène en semiquinone et l'anion superoxyde.

La figure 17 illustre quelques étapes de l'autoxydation du pyrogallol (Kim et al., 1994 ; Arain et al., 2004).

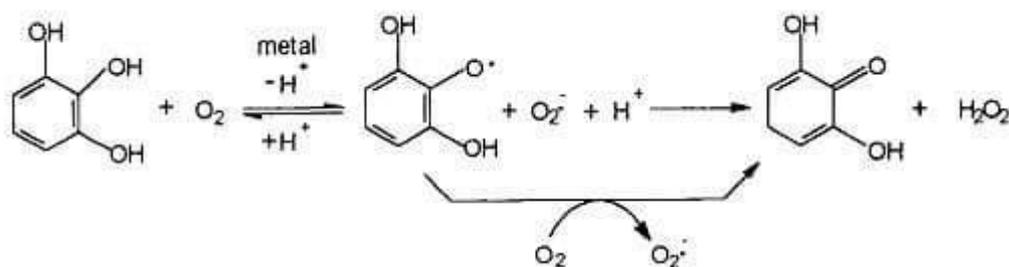


Figure (17) : Quelques étapes de l'autoxydation du pyrogallol (Kim et al., 1994).

Cette autoxydation en présence d'EDTA est inhibée par la SOD jusqu'à 90% avec un pH entre (7.9 à 9.1), ce qui indique la dépendance de l'anion superoxyde dans cette autoxydation (Kim et al., 1994).

La technique de dosage est réalisée dans un tampon (Tris Hcl 50mM et EDTA 10 mM) à pH 8.2, avec une fraction d'homogénat de foie et du pyrogallol (15 mM) et le changement d'absorbance est suivi pendant trois minutes à une longueur d'onde de 440 nm (Marklund et Marklund, 1974).

Les résultats sont exprimés en U de SOD / mg de protéines, une unité de l'activité de la SOD est définie comme l'enzyme qui causerait l'inhibition de 50% de l'autoxydation du pyrogallol.

II.2.5 ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse statistique des résultats est effectuée avec l'application « ANOVA » (STATISTICA) et la comparaison des données est significative à la probabilité (P<0.05).

Les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différentes (P<0.05), chaque valeur représente la moyenne ± écart type (n=6).

Chapitre III
Résultats et discussions

III. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

III.1 RÉSULTATS

L'espèce *Clematis flammula* est une plante largement utilisée par la population locale pour traiter diverses pathologies. Elle est considérée comme l'une des plantes qui semble avoir des propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes, anticancéreuses (**Chawla et al., 2012**), sa composition en antioxydants lui confère peut être d'autres propriétés à savoir l'activité hépato-protectrice.

Pour cela, une expérience a été réalisée sur un modèle animal de souris mâles albinos où l'hépatotoxicité a été induite par l'injection intra-péritonéale d'une dose de 400mg/kg du paracétamol et d'évaluer ainsi l'activité de l'enzyme de la superoxyde dismutase (SOD).

Dans cette étude, un protocole de dosage de la superoxyde dismutase a été appliqué selon (**Markland et Markland, 1974**) avec quelques modifications. Cette méthode est basée sur la réaction d'autoxydation du pyrogallol en radical quinone dans des conditions alcalines associé à l'oxygène de l'air qui reçoit un électron pour former l'anion superoxyde (**Gao et al., 1998**).

III.1.1 DOSAGE DE L'ACTIVITÉ DE LA SUPEROXYDE DISMUTASE

Le dosage de l'activité de la superoxyde dismutase permet d'évaluer l'effet hépato-protecteur de la plante *Clematis flammula*, ainsi le tableau (IV) suivant représente les résultats obtenus, exprimés par U/ mg de protéines.

D'après le tableau IV, le groupe de souris négatif qui a été traité par CMC et l'eau physiologique représente la norme sur lequel tous les groupes ont été comparés, d'où l'activité de la superoxyde dismutase est représentée par une valeur de 6.076 ± 0.99 U/mg de protéines.

Tableau IV : Effet de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula*, sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD).

Les groupes	Le traitement	Activité de la SOD (U/mg de protéines)
Contrôle négatif	CMC et l'eau physiologique	6.076±0.99^c
Contrôle positif	CMC et paracétamol à 400mg/kg	3.557±0.91^a
Sylimarine	Sylimarine à 100mg/kg et 400mg/kg de paracétamol	4.716±0.95^b
Contrôle 100	L'extrait de <i>Clematis flammula</i> à 100mg/kg et l'eau physiologique	7.245±0.60^d
Contrôle 200	L'extrait de <i>Clematis flammula</i> à 200mg/kg et l'eau physiologique	5.516±1.20^{bc}
Test 100	L'extrait de <i>Clematis flammula</i> à 100mg/kg et 400mg/kg de paracétamol	6.068±0.85^c
Test 200	L'extrait de <i>Clematis flammula</i> à 100mg/kg et 400mg/kg de paracétamol	7.982±0.99^d

Les valeurs représentent la moyenne \pm l'écart type, n=6 dans chaque groupe. Les lettres indiquent $P < 0.05$.

Selon l'analyse statistique, une diminution significative ($P < 0.05$), de l'activité de la superoxyde dismutase de 3.557 ± 0.91 U/mg de protéines, a été enregistrée chez les souris du groupe positif, traité avec une dose du paracétamol à 400mg/kg et la CMC. Cette réduction en activité de la superoxyde dismutase présente presque la moitié de l'activité notée pour groupe de souris normal.

Le pré-traitement des souris avec la molécule de référence connue pour son effet hépato-protecteur, la sylimarine, à une dose de 100mg/kg pendant cinq jours, a induit une protection hépatique significative ($P < 0.05$) contre l'effet de la dose (400mg/kg) de paracétamol injectée le dernier jour de l'expérimentation. Une activité enzymatique de la superoxyde dismutase a été notée de 4.716 ± 2.87 U/mg de protéines, une valeur supérieure à

celle notée pour le groupe de souris positif (3.557 ± 0.91 U/mg de protéines), mais qui reste inférieure à celle de la norme de notre étude (souris de groupe contrôle négatif).

D'après les résultats rapportés dans le tableau (IV), on remarque également une augmentation significative ($P < 0.05$) de l'activité de la superoxyde dismutase hépatique des souris traitées avec 100mg/kg de l'extrait éthanolique de feuilles de *Clematis flammula* et l'eau physiologique, comparativement au groupe de souris saines, exhibant ainsi une valeur de 7.245 ± 0.60 U/mg de protéines.

Cependant, le traitement avec l'extrait brut de *Clematis flammula* à une dose de 200 mg/kg, par voie intra-gastrique pendant cinq jours et l'eau physiologique a signalé une activité de la superoxyde dismutase inférieure ($P < 0.05$) (5.516 ± 1.20 U/mg de protéines) à celle notée par le groupe contrôle négatif.

D'autre part, le groupe de souris test 100, qui a été traité avec l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* avec une dose 100 mg/kg pendant cinq jours et une dose de paracétamol à 400 mg/kg a engendré une amélioration ($P < 0.05$) de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase avec 6.068 ± 0.85 U/mg de protéines comparativement au groupe de souris intoxiqué par le paracétamol (3.557 ± 0.91 U/mg de protéines). Un potentiel antioxydant enzymatique qui s'est avéré à la fois, meilleur que celui enregistré suite au traitement avec la molécule de référence à la même dose de 100 mg/kg (4.716 ± 2.87 U/mg de protéines), mais aussi non significatif en comparaison avec celui enregistré par les souris saines (6.076 ± 0.99 U/mg de protéines).

Il a été constaté aussi, une nette augmentation significative ($P < 0.05$) de l'activité de la superoxyde dismutase chez le groupe test 200, induite par le gavage intra-gastrique de l'extrait de *Clematis flammula* à une dose de 200mg/kg pendant cinq jours et une dose de paracétamol à 400mg/kg avec 7.982 ± 0.90 U /mg de protéines. Représentant ainsi la meilleure activité de la superoxyde dismutase par rapport à celles enregistrées par les autres groupes de souris notamment (3,4, 5,6).

- **Présentation graphique**

Cette figure 18 représente l'effet hépato-protecteur des l'extrait de feuilles de *Clematis flammula* sur l'activité de la superoxyde dismutase .

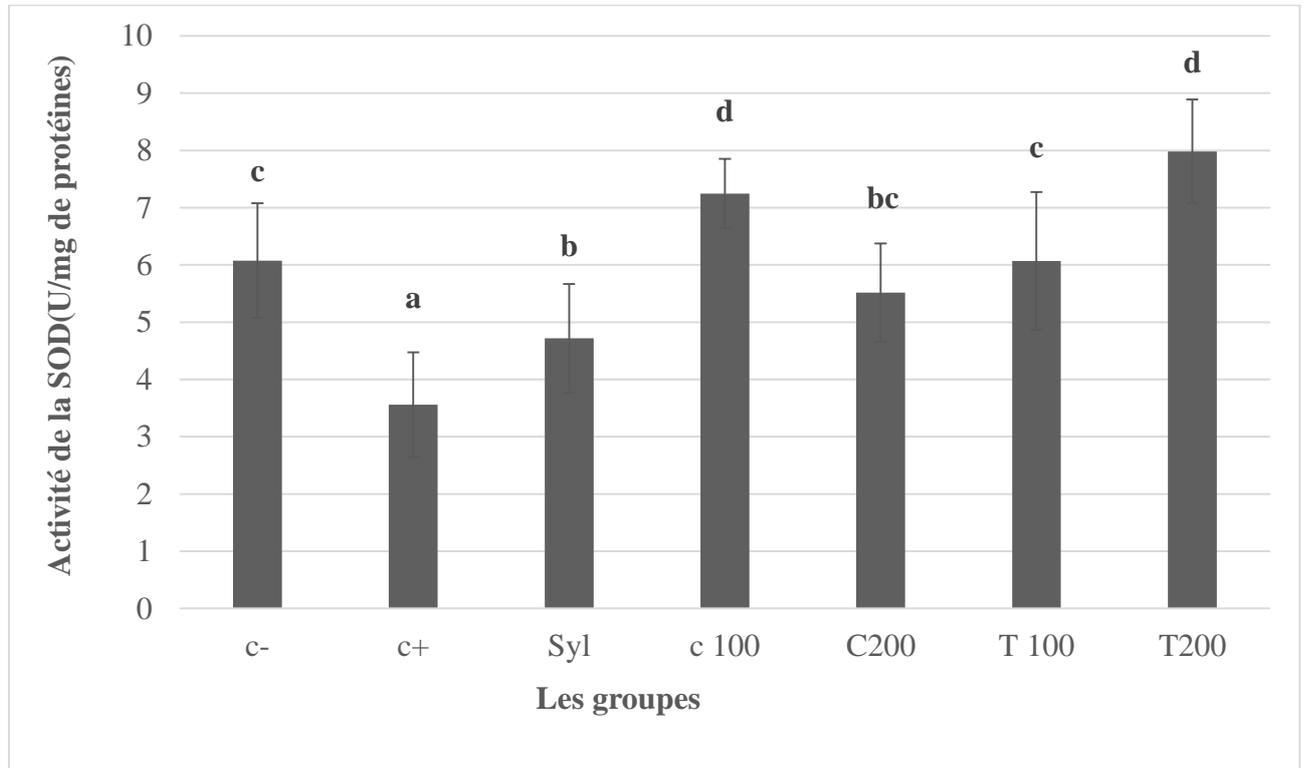


Figure (18) : Effet hépato-protecteur des feuilles de *Clematis flammula* sur l'activité de la superoxyde dismutase.

C- : **contrôle négatif** (CMC et l'eau physiologique) ; **C+** : **contrôle positif** (CMC et paracétamol 400mg/kg) ; **Sly** : (Sylimarine à 100mg/kg et paracétamol à 400mg/kg) ; **contrôle 100** : (l'extrait à 100mg/kg et l'eau physiologique) ; **contrôle 200** : (L'extrait à 200mg/kg et l'eau physiologique) ; **Test 100** : (L'extrait 100 mg/kg et paracétamol à 400mg/kg) ; **Test 200** : (L'extrait à 200mg/kg et paracétamol à 400mg/kg).

Nous constatons d'après la figure précédente, un effet hépato-protecteur dose dépendant au niveau des groupes tests 100 et 200, ayant reçu des doses de l'extrait à 100 et 200 mg/kg et une dose du paracétamol à 400 mg/kg.

III.2 DISCUSSIONS

L'oxygène est un élément indispensable à la survie et au développement cellulaire, mais lorsque son métabolisme est dérèglé, il génère des espèces radicalaires qui sont définies comme étant des molécules néfastes. La cellule dispose de nombreuses stratégies antioxydantes enzymatique et non enzymatique pour maintenir son homéostasie (**Favier, 2003**).

La superoxyde dismutase apparait comme une enzyme clé dans la défense contre les ERO, qui est une métalloenzyme dont le rôle est la détoxification de la cellule hépatique, par une action de dismutation du radical superoxyde en le transformant au peroxyde d'hydrogène et molécule d'eau (**Zelko et al., 2002**).

L'évaluation de l'activité de la superoxyde dismutase dans notre étude a été réalisée par un test non enzymatique en utilisant le pyrogallol comme une source d'anion superoxyde (**Markland et Markland, 1974 ; Park et al., 2011**).

Tous les groupes de souris 2,3,4,5,6 et 7 ont été comparés avec le groupe négatif qui a signalé une activité de 6.076 ± 0.99 U/mg de protéines. Ce dernier est considéré comme meilleur par rapport à celui obtenu par **Kanbur et ses collaborateurs (2009)**, d'où l'activité de la superoxyde dismutase est obtenue à une valeur de (2.05 ± 0.43) U/mg de protéines) chez les souris saines (**Kanbur et al., 2009**).

- **Effet du paracétamol sur l'activité de la superoxyde dismutase**

Des lésions hépatiques ou des dysfonctionnements au niveau du foie est un problème de santé majeur qui interpelle non seulement les professionnels de la santé, mais aussi l'industrie pharmaceutique. Ces lésions hépatiques causées par divers produits chimiques nocifs tels que le tétrachlorure de carbone (CCl_4), les antibiotiques, des agents chimiothérapeutiques, la consommation excessive d'alcool ou certains médicaments comme le paracétamol qui est largement utilisé pour induire une hépatotoxicité (**Lahouel et al., 2004 ; Singh et al., 2014**).

Le paracétamol est utilisé comme un agent hépatotoxique pour l'établissement des recherches pré-cliniques et considéré comme un antipyrétique et analgésique bien connu, qui est inoffensif à des doses thérapeutiques, mais à des surdoses il peut produire des lésions hépatiques mortelle chez les animaux expérimentaux ainsi que chez les humains (**Jack et al., 2004**). Cela induit une surproduction d'un métabolite très réactif qui est le N acétyl benzoquinone imine (NAPQI), de manière que sa liaison aux protéines hépatiques réduit ou élimine le système antioxydant (**Ajith et al., 2007**).

Un dosage de l'activité des différents isoformes de la SOD, chez des souris injectées par intra-péritonéale une dose du paracétamol à 250 mg / kg a été réalisé après 6, 12, 24 et 48h du traitement. Une diminution de l'activité de la superoxyde dismutase a été enregistrée après 24 h de l'administration de ce médicament (**Olaleye et Rocha, 2008**). Expliquant ainsi que l'effet du paracétamol sur les cellules hépatiques est observé après 24h (**Olaleye et Rocha, 2008**). Cela justifie la période du sacrifice choisie dans notre présente étude.

Dans notre étude, l'hépatotoxicité a été induite par l'injection intra-péritonéale de 400 mg/kg du paracétamol qui a signalé une activité de la superoxyde dismutase de 3.557 ± 0.91 U/mg de protéines. Ce résultat obtenu est considéré meilleure par rapport à celui enregistré par **kanbur et ses collaborateurs (2009)** (1.22 ± 0.18 U/mg de protéines) chez les souris traitées avec une dose de paracétamol de 400mg/kg par voie intra-gastrique pendant sept jours (**kanbur et al., 2009**).

Un résultat de l'activité de la superoxyde dismutase de $3.41 \pm \text{SEM}$ U/mg de protéines, a été rapporté par **Murugesh et ses collaborateurs (2005)** chez des rats traités avec une dose de 750mg/kg de paracétamol, pendant sept jours par voie oral qui s'avère se rapprocher des résultats obtenus dans notre étude chez les souris traitées avec une dose 400mg/kg (**Murugesh et al., 2005**).

La diminution de l'activité de la superoxyde dismutase peut être interprétée comme une réponse adaptative des hépatocytes à l'excès de la production d'espèces réactives de l'oxygène induite par le paracétamol, ou à la diminution de la capacité antioxydante qui peut s'expliquer par l'inactivation des enzymes antioxydantes (**Sabir et Rocha, 2008**).

- **Effet de la sylimarine sur l'activité de la superoxyde dismutase**

La sylimarine (*Silybum marianum*) est l'un des extraits de plantes le plus utilisé comme molécule de référence pour son potentiel hépato-protecteur. Cette action d'hépatoprotectrice est due à sa richesse en métabolites secondaires qui sont principalement les flavonoïdes (Luper, 1998 ; Kazemifar et al., 2012).

Il a été montré que la sylimarine est un puissant agent protecteur contre les lésions hépatiques, pour cela plusieurs auteurs ont utilisé cette substance comme une molécule de référence pour établir leurs études sur l'effet hépato-protecteur des plantes médicinales (Dash et al., 2007 ; Raj et Gothandam, 2014 ; Abirami et al., 2015).

Les résultats ont montré que l'administration de la sylimarine à 100mg/kg et une dose 400mg/kg a entraîné une élévation significative ($P < 0.05$) de l'activité de la superoxyde dismutase avec 4.716 ± 2.87 U/mg de protéines comparativement au groupe positif (3.557 ± 0.91 U/mg de protéines).

Cet effet hépato-protecteur exhibé dans cette présente étude concorde et se rapproche de celui rapporté par Sundari et al., 2013. Où ils ont enregistré une activité de la superoxyde dismutase de 3.06 ± 0.12 U/mg de protéine, chez des rats traités avec 50mg/kg de sylimarine et une dose 1000 mg/kg de paracétamol (Sundari et al., 2013).

D'autre part, un pré-traitement avec une concentration de 25mg/kg de sylimarine, des rats intoxiqués par une dose de 750mg/kg de paracétamol a donné une valeur de l'activité enzymatique de $7.13 \pm \text{SEM}$ U/mg de protéines (Muruges et al., 2005).

Balamurugan et al., (2008) ont noté une activité de la superoxyde dismutase chez les rats traités avec 150mg/kg de sylimarine et une dose de 2000mg/kg de paracétamol avec une valeur de 8.66 ± 0.09 U/mg de protéines (Balamurugan et al., 2008).

Aussi, Lee et al., (2012), ont rapporté dans une étude sur des souris, un potentiel antioxydant enzymatique de la SOD supérieur ($29.11 \pm \text{SEM}$ U/mg de protéines) à celui noté dans notre étude, en utilisant la même dose de la sylimarine et du paracétamol (200mg/kg). Cette différence en activité peut être expliquée par la grande ampleur des lésions hépatiques causées par la dose de 400 mg/kg appliquée dans la présente étude, et que la quantité en métabolites secondaires qui existe dans la dose de sylimarine à 100 mg/kg n'est pas aussi suffisante pour induire un grand effet hépatoprotecteur.

Plusieurs chercheurs se sont intéressés au développement du mécanisme de l'effet hépato-protecteur de la sylimarine (**Pradhan et Girish, 2006 ; Govind et Sahni, 2011 ; Madrigal-Santillán et al., 2014**).

Il est bien connu que la sylimarine agit par un mécanisme de suppression de la pénétration de la toxine dans des cellules hépatiques, comme elle peut aussi offrir une protection contre les radicaux libres générés par les enzymes P450 (**Komolafe, 2014**).

Un autre mécanisme a été supposé pour l'effet de la sylimarine, qui peut agir par inhibition de la formation des leucotriènes à partir d'acides gras polyinsaturés dans le foie ou par un effet inhibiteur sur le cytochrome P450 (**Luper, 1998**).

L'étude réalisée par **Siddhuraju et ses collaborateurs (2015)**, indique que l'effet hépatoprotecteur de cette molécule de référence est dû à la synthèse des protéines hépatiques, notamment le glutathion qui favorise la diminution du métabolite réactif qui est le N- acétyl benzoquinone imine (NAPQI) (**Siddhuraju et al., 2015**). En effet, une étude à l'échelle moléculaire sur le mécanisme de l'induction de la synthèse de glutathion, sous l'effet de la sylimarine est faite par **Govind et Sahni, (2011)**, où ils ont rapporté que la sylimarine peut entrer à l'intérieur du noyau et agir sur l'ARN polymérase qui à son tour accélère la transcription d'ADN, aboutissant à la formation des protéines tels que le glutathion, cette action a des implications thérapeutiques importantes dans la réparation des hépatocytes endommagés et la restauration des fonctions normales du foie (**Govind et Sahni, 2011**).

Une autre action a été attribuée pour la sylimarine sur la régulation de la perméabilité des membranes mitochondriales en association avec l'augmentation de la stabilité de la membrane contre les lésions hépatiques, qui est responsable du maintien de la fluidité membranaire normale (**Faulstich et al., 1980 ; Pradhan et Girish, 2006**).

- **Effet de l'extrait éthanolique des feuilles de *Clematis flammula* (contrôle 100 et 200mg/kg)**

Plusieurs études récentes ont prouvé l'effet bénéfique des extraits de nombreuses plantes dans le traitement de différentes maladies. Ces activités biologiques sont dues aux métabolites secondaires qui sont synthétisés dans différentes parties de la plante (racine, feuilles, tige...). (**Ghedira, 2005 ; Chaudhary et al., 2010 ; Desai et al., 2012**).

Les résultats ont montré que l'administration de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* à 100mg/kg a entraîné une augmentation importante ($P < 0.05$) de l'activité de la superoxyde dismutase 7.245 ± 0.60 pour le contrôle 100 et une faible diminution de 5.516 ± 1.20 U/mg de protéines pour le contrôle 200, comparativement au groupe négatif (6.076 ± 0.99 U/mg de protéines). Nos résultats sont meilleurs que celui rapporté par **Sabir et Rocha, (2008)** en étudiant l'effet hépato-protecteur de l'extrait aqueux de feuilles de *Solanum fastigiatum* de la famille (*Solanaceae*), riche en flavonoïdes et glycosides. A 100 et 200 mg/kg une activité de la superoxyde dismutase de $2.60 \pm SD$; $1.50 \pm SD$ U/mg de tissu hépatique a été enregistrée, respectivement (**Sabir et Rocha, 2008**).

La diminution du statut antioxydant enzymatique observé chez les souris traitées avec l'extrait de *Clematis flammula* à 200mg/kg peut être interprétée par une malabsorption de l'extrait *Clematis flammula* à cette dose.

L'élévation de l'activité de la superoxyde dismutase de la présente étude indique que l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* à 100 mg/kg a été toléré chez les souris ce qui peut être expliqué par le renforcement du système antioxydant par les composés bioactifs de cet extrait. Selon la synthèse bibliographique rapportée précédemment, la plante *Clematis flammula*, est très riche en polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes...etc. (**Atmani et al., 2011** ; **Chawala et al., 2012**).

Des études récentes ont démontré l'implication probable des composés phénoliques (catéchine, quercétine, acide cafféique.....) dans un processus hépato-protecteur via une activité antioxydante par l'induction de la synthèse des enzymes antioxydantes (**Masella et al., 2006** ; **Han et al., 2007**; **Lee et al., 2008** ; **Akhlaghi et Bandy, 2009** ; **Saafi et al., 2011** ; **Cui et al., 2014** ; **Krishnappa et al., 2014**), telles que la superoxyde dismutase (SOD) (**Xiuzhen et al., 2007**).

En effet, le Curcumin a été rapporté comme un inducteur de l'expression des enzymes antioxydantes endogènes, la catalase et la superoxyde dismutase (**Shen et al., 2007**), alors que, le daïdzéine (isoflavone), il a été considéré comme un régulateur de l'expression des enzymes antioxydants (**Wong et al., 2007**), notamment la superoxyde dismutase (SOD) (**Han et al., 2007**).

- **Effet préventif d'extrait éthanolique de la plante *Clematis flammula* à (test 100 et 200mg/kg)**

La diminution de l'activité de la superoxyde dismutase observée dans le groupe positif est due à des dommages des hépatocytes causés par le paracétamol. Cependant, une augmentation dans l'activité de la superoxyde dismutase, après l'administration de l'extrait de la plante *Clematis flammula* à 100 et 200 mg/kg a été signalée d'une manière dose dépendante, suggérant un effet hépato-protecteur efficace pour cette plante, dû à l'implication des composés bioactifs de cet extrait dans l'induction de la synthèse de la superoxyde dismutase en réduisant ainsi le stress oxydatif (Cui et al., 2014).

Des études expérimentales, sur l'effet hépato-protecteur des extraits de plantes à différentes concentrations en utilisant le paracétamol comme agent hépatotoxique, ont révélé des effets préventifs de ces extraits d'une manière dose dépendante (Murugesh et al., 2005 ; Balamurugan et al., 2008 ; Sundari et al., 2013).

Murugesh et ses collaborateurs (2005) indiquent que l'extrait méthanolique de *Berberis tinctoria* (*Berberidaceae*) à 150 et 300 mg/kg administré pendant sept jours, a enregistré des valeurs qui sont 5.20; 6.10 U/mg de protéines respectivement, chez les rats traités avec une dose de 750mg/kg de paracétamol (Murugesh et al., 2005).

D'autre part, Balamurugan et ses collaborateurs (2008) ont rapporté un effet hépato-protecteur de l'extrait de *Lampito mauritii* à des doses 100 et 200 mg/kg avec une dose de paracétamol 2000mg/kg qui est presque similaire à celui obtenu avec l'extrait de *Clematis flammula* (Balamurugan et al., 2008).

Par ailleurs, les résultats obtenus par Sundari et ses collaborateurs (2013) sur l'activité de la superoxyde dismutase hépatique à des doses de 200 et 300mg/kg de l'extrait éthanolique de la plante *Sphaeranthus indicus* (*Asteraceae*) et une dose de 1000mg/kg de paracétamol, sont inférieurs à ceux obtenus dans notre étude (Sundari et al., 2013).

Les espèces de clématite ont un large éventail des constituants phytochimiques, les saponines, triterpénoïdes, les flavonoïdes (anthocyanidines, flavonols, acide caféique, quercétine... etc.), les lignanes et tannins (Chawla et al., 2012). d'après Atmani et al.,

(2009) l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* présence une grande teneur en tannins 86.33 ± 10.82 mg d'acide tannique /g d'extrait par rapport aux teneurs en flavonoïdes 5.15 ± 0.10 mg de quercetine /g d'extrait et en phénols totaux 19.65 ± 3.61 mg de catechine /g d'extrait. Ces composés sont des produits naturels capables de moduler l'activité de la superoxyde dismutase (Abdalla et Mohamed, 2010), donc, on suppose que l'activité hépatoprotectrice de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* est probablement dû à cette richesse en métabolites secondaires.

Une étude faite par Chawla et al., 2012, ont rapporté que l'espèce *Clematis* est dotée de l'activité hépatoprotectrice. L'extrait méthanolique des parties aériennes de *Clematis chinensis* à une dose de 100mg/kg a diminué les lésions hépatiques induites par tétrachlorure de carbone (CCl₄) chez les rats.

Chen et ses collaborateurs (2009) ont montré que les polyphénols du thé sont capables de renfoncer le statut antioxydant en inhibant l'activité des cytochromes P450 2E 1 et 1A2, responsables de la formation de NAPQI à partir du paracétamol (Chen et al., 2009).

Sabir et Rocha, (2008) ont suggéré que les acides phénoliques présent dans l'extrait de la plante « *Phyllanthus niruri* » ont un effet synergique avec les glycosides et les aglycones flavonoïdes ce qui augmente l'activité de la superoxyde dismutase. On suppose que l'amélioration du potentiel antioxydant (activité SOD) induite par l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* est probablement dûe à cette synergie qui existe entre les composants de cet extrait.

Il a été démontré dans une étude *in-vivo* que les proanthocyanidines IH636 agissent au niveau moléculaire, en augmentant l'expression de Bcl-xL et d'autre part une autre action hépatoprotectrice lui a été attribuée, en atténuant les lésions hépatiques induite par le paracétamol (Ray et al., 1999).

Conclusion et perspectives

CONCLUSION

Les plantes médicinales ont été utilisées pendant longtemps par les populations pour le traitement des divers maladies, jusqu'à ce jour, moins de 10% des espèces végétales qui occupent la planète ont été explorées pour leurs propriétés chimiques et biologiques (**Singh et al., 2014**). La validation scientifique pour cette utilisation a concerné une plante nommée *Clematis flammula* qui est très utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses diverses vertus thérapeutiques.

Dans ce travail, l'étude menée avait pour but de démontrer le pouvoir hépato-protecteur de l'extrait éthanolique de feuilles de *Clematis flammula* par le dosage du potentiel antioxydant enzymatique (SOD) chez différents groupes de souris (intoxiqués par le paracétamol, traité avec l'extrait de plante et avec une molécule de référence), pendant cinq jours.

Les résultats obtenus chez les groupes de souris près-traités avec des doses 100 et 200 mg/kg d'extrait de *Clematis flammula* montrent un effet hépato-protecteur important (6.068 ± 0.85 ; 7.982 ± 0.99 U/mg de protéines) respectivement, par rapport à celui exhibé par la molécule de référence (sylimarine), cela d'une manière dose dépendante.

Suggérant ainsi que les composés bioactifs de cet extrait ont développé un mécanisme hépato-protecteur tout en protégeant et en diminuant les lésions hépatiques causées par le paracétamol (400 mg/kg).

L'ensemble des résultats obtenus au fil de cette étude n'est qu'une étape préliminaire, et peut servir de référence de base pour d'autres recherches et il est souhaitable d'accomplir et d'enrichir ce travail par :

- Tester l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* sur un modèle animal intoxiqué avec d'autres agents toxiques, autres que le paracétamol avec un temps de traitement plus long afin de préciser le mécanisme d'induction de l'effet hépato-protecteur.
- Déterminer le mécanisme d'action des composés actifs de cet extrait responsables de cette l'activité.

- Tester l'effet curatif de cet extrait.

Références bibliographiques

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(A)

Abdalla, M., Mohamed, S. (2010). *In-vivo* hepato-protective properties of purslane extract on Paracetamol- Induced Liver damage. *Malaysian Journal of Nutrition*, 16 (1) : 161-170.

Abirami, A., Nagarani, G., Siddhuraju, P. (2015). Hepatoprotective effect of leaf extracts from *Citrus hystrix* and *C. maxima* against paracetamol induced liver injury in rats. *Food Science and Human Wellness*, 4 : 35–41.

Ajith ,A.T., Hema, U., Aswathy.M.S. (2007). Aswathy *Zingiber officinale* roscoe prevents acetaminophen-induced acute hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status .*Food and Chemical Toxicology*, 45 : 2267–2272.

Akhlaghi, M., Bandy, B. (2009). Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia–reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 46 : 309–317.

Al-Asmari, A.K., Al-Elaiwi, A.M., Athar, Md.T., Tariq, M., Al Eid, A., Al-Asmary, M.S. (2014). A review of hepatoprotective plants used in Saudi traditional medicine. *Hindawi Publishing Corporation*, 42 : 22.

Alscher, R.G., Erturk, N., Heath, L.S. (2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 53(372) : 41 -1331.

Arain, S., Miyazaki, S., Iwamoto, T., Takasaki, M., Tomoda, A. (2004). Metabolism of pyrogallol to purpurogallin by human erythrocytic hemoglobin. *Tohoku. Journal of Experimental Medicine*, 203 : 319-330.

Arockiaraj, J., Easwaran, S., Vanaraja, P., Singh, A., Goudable, J., Favier A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme* : 115-20.

Atmani, D., Begoña Ruiz-Larrea, M., Ruiz-San J.I., J. Lizcano, L., Bakkali, F. (2011). Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of *Clematis flammula* leaf extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (4) : 589-598.

Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaooud, H., Debbache, N. and Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chemistry*, 112 (2) : 303-309.

(B)

- Baba-Aisa, F. (1999).** Encyclopedie des plantes utiles d'Algerie et du maghreb ,in *substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident* .Ed EDAS. 338.
- Balamurugan, M., Parthsarathi, K., Ranganathan, L., Cooper, E. (2008).** Hypothetical mode of action of earthworm extract with hepatoprotective and antioxidant proprieties. *Journal of Zhejiang University science b*, 9 (2) : 141-147.
- Baudin, B. (2006).** Stress oxydant et pathologies cardiovasculaire. *Mt cardio*, 2, N°1 : 43-52.
- Berson, A. (2005).** Hépatotoxicité médicamenteuse par atteinte mitochondriale. *Mini- revue hépato-gastro*, 12, N° 3 : 191-198.
- Bezanger-Beauquesne, L., Pinkas, M., Torck M., Trotin F. (1990).** *Plantes médicinales des régions tempérées*. Ed.MALOINE, Paris. 92-296.
- Blamey, M., Grey-Wilson, C. (2000).** *Toutes les fleurs de méditerranée. Les fleurs, les graminées, Les Arbres et Arbustes*. Paris : Ed. Delachaux et Niestlé. 51.
- Boullard, B. (2001).** *Plantes médicinales du monde: réalités & croyances*. Paris : Ed. ESTEM. 141-430.
- Bradford, M.M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72 : 248-254.

(C)

- Chaudlhary, G.D., Kamboj, P., Singh, I., and Kalia, A.N. (2010).** Herbs as liver savers-A review. *Indian Journal of Natural of Products and Resources*, 1(4) : 397-408.
- Chawla, R., Kumar, S., Sharma, A. (2012).** The genus Clematis (Ranunculaceae). : Chemical and pharmacological perspectives. *International of Ethnopharmacology*, 143 : 215-232.
- Chen, X., Sun, C.K., Han, G.Z., Peng, J.Y., Li, Y., Liu, Y.X., L, Y.Y., Liu, K.X., Zhaou, Q., Sun, H.J. (2009).** Protective effect of tea polyphenols against paracetamol-induced hepatotoxicity in mice is significantly correlated with cytochrome P450 suppression. *World Journal of Gastroenterol*, 15, N°15 : 1829-1835.
- Clayden, J., Warren, S., Greeves, N., Wothers, P. (2002).** *Chimie organique*. Paris : 2ème Ed. De Boeck.

Cui, Y., Han, Y., Yang, X., Sun, Y., Zhao, Y. (2014). Protective effects of quercetin and quercetin-5',8-disulfonate against carbon tetrachloride-caused oxidative liver injury in mice. *Molecules*, vol : 291-305.

(D)

Desai, S.N., Patel, D.K., Devkar, R.V., Patel, P.V., Ramachandran, A.V. (2012). Hepatoprotective potential of polyphenol rich extract of *Murraya koenigii* L.: an *in vivo* study. *Food Chem Toxicol*, 50 (2): 310-4.

Du, Y., Guo, H., Lou, H. (2007). Grape seed polyphenols protect cardiac cells from apoptosis via induction of endogenous antioxidant enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 :1695-1701.

(E)

El-Agamey, A., Lowe, G.M., McGarvey, D.J., Mortensen, V., Phillip, D.M., Truscott, T.G. (2004). Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-antioxidant properties. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 430 :37-48.

Ellenborn, M.J., Barceloux, D.G. (1988). Paracetamol, Medical toxicology. *Elsevier* (New York, Amsterdam, Londres) :156-166.

Enghild, J.J., Thogersen, I.B., Oury, T.D., Valnickova, Z., Hojrup, P., Crapo, J.D. (1999). The heparin-binding domain of extracellular superoxide dismutase is proteolytically processed intracellularly during biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry*, 274 :14818–22.

(F)

Fattman, C.L., Schaefer, L.M., Oury, T.D. (2003). Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radical Biology & Medicine*, 35 : 236–56.

Faulstich, H., Jahn, W., Wieland, T. (1980). Sylibin inhibition of amatoxin uptake in the perfused rat liver. *Arzneimittelforschung*, 30 : 452-4.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique* : 108-109.

Fleuriet A., Jay-Allemand, C., Macheix, J.J. (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* : 121-216.

Fomenty, B. (2010). Toxicité mitochondriale et métabolique des médicaments : mécanismes et conséquences au niveau du foie. *Réanimation*, 19 : 552-567.

Forouzandeh, H., Ebrahim, M., Rashidi I., Gouadazi, M., Kalantari, H. (2013). Study of the protective effect of *teucrium polium* L. Extract on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12 (1) :123-129.

Fromenty, B., Pessayre, D. (1995). Inhibition of mitochondrial betaoxidation as a mechanism of hepatotoxicity. *Pharmacology & Therapeutics*, 67 : 54-101.

Fujimura, M., Morita-Fujimura, Y., Noshita, N., Sugawara, T., Kawase, M., Chan, P.H. (2000). The cytosolic antioxidant copper/zinc-superoxide dismutase prevents the early release of mitochondrial cytochrome c in ischemic brain after transient focal cerebral ischemia in mice. *Journal of Neuroscience*, vol : 2817-24.

(G)

Gao, R., Yuan, Z., Zhao, Z., Gao, X. (1998). Mechanism of pyrogallol autoxidation and determination of superoxide dismutase enzyme activity. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 45 : 41-45.

Gaussen, H. Leroy, J.F., Ozend, A. (1982). *Précis de botanique 2. Végétaux supérieurs.* 2^{ème} Ed. MASSON. 146-406.

Gazzard, B.G., Ford, H.A.W., Smith, M.W R. (1973). The binding of paracetamol to plasma proteins of man and pig. *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 25: 964-7.

Gouthamchandra, K., Mahmood, R., Manjunatha, H. (2010). Free radical scavenging, antioxidant enzymes and wound healing activities of leaves extracts from *Clerodendrum infortunatum* L. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30 : 11–18.

Govind, P., Sahni, Y.P. (2011). A review of hepatoprotective activity of silymarin. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 2 (1) : 75-79.

Gupta, M., Mazumder, U.K., Kumar, S.R., Kumar, T.S. (2004). Antitumor activity and antioxidant role of *Bauhinia racemosa* against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice. *Acta Pharmacologica Sinica*, 25 (08) : 1070-1076.

(H)

Hachulla, E., et Flipo, R.M. (1999). *Corticothérapie en pratique de ville : Médecine interne et rhumatologie*. Paris : Estem. 1^{ère} Ed.

Halliwell, B., Guettridge, J.M.C. (1999). *Free radicals in Biology and Medecine*. Oxford University Press.3rd ED.

Han, X., Shen, T., Lou, H. (2007). Dietary polyphenols and their biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8 : 950-988.

Hikino, H., Kiso, y. (1998). Naturel products for liver diseases. *Econ Med Plant Res*, 2 : 39-72.

Huang, T.T., Yasunami, M., Carlson, E.J, Gillespie, A.M., Reaume, A.G., Hoffman, E.K., et al. (1997). Superoxide-mediated cytotoxicity in superoxide dismutase-deficient fetal fibroblasts. *Archives of Biochemistry Biophysics*, 344 : 424-32.

(J)

Jack, A., Hinson, D.W., Robert, L., Laura, P. (2004). Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. *Adverse Drug Reactions*, 16 : 319-405.

Joanny, F., Bourg, M. (2005). La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. *Phytothérapie*, N°3 :118-121.

Jochen, W., Jin-Won, L., Yang-In, Y., Hyung-Soon Yim Sa-Ouk, K., Kristina Djinovic, C. (2004). Crystal structure of nickel-containing superoxide dismutase reveals another type of active site. *Biochemistry*, 101, N° 23 : 8569–8574.

John, W., Hilton, Ph.D. (1989). Les anti-oxydants rôles, types et nécessités dans les aliments pour animaux de compagnies. *Nutrition et Alimentation*, 30 : 834-837.

Johnson, F., Giulivi, C. (2005). Superoxide dismutases and their impact upon human health. *Molecular Aspects Medicine*, 26 : 52-340.

Juul, K., Tybjaerg-Hansen, A., Marklund, S., Heegaard, N.H., Steffensen, R., Sillesen, H., et al. (2004). Genetically reduced antioxidative protection and increased ischemic heart disease risk. *Copenhagen City Heart Study*, 109 : 59–65.

(K)

Kanbur, M., Eraslan, G., Beyaz, L., Silici, S., Liman, B., Altinordulu, Ş., Atasever, A. (2009). The effects of *royal jelly* on liver damage induced by paracetamol in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61 : 123-132.

Kazemifar, A.M., Hajaghamohammadi, A.A., Samimi, R., Alavi, Z., Abbasi, E., Asl, M.N. (2012). Hepatoprotective property of oral silymarin is comparable to n-acetyl cysteine in acetaminophen poisoning. *Gastroenterology Research*, 5 (5): 190-194.

Kim, J.S., Han, D., Moon, D.K., and Rhee, J.S. (1994). Measurement of superoxide dismutase-like Activity of natural antioxidants. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 59, N° 5 : 882-826.

Kociancic, T., Reed, M.D. (2003). Acetaminophen intoxication and length of treatment : how long is long enough ?. *Pharmacotherapy*, 23 : 1052-9.

Koehlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20 : 165-177.

Komolafe, K., Mary, T., Ayodeji, E.A., Afolabi, C.A. (2014). Protective effects of *Parinari curatellifolia* flavonoids against acetaminophen-induced hepatic necrosis in rats. *Saudi Journal of Biological Science*, 21 : 486-492.

(L)

Lahouel, M., Boulkour, S., Segueni, N., Fillastre, J.P. (2004). Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine, du cyclophosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *Pathologie Biologie*, 52 : 314-322.

Laura, p., James, P.R.M., Histon, j.k.A. (2003). Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metabolism And Disposition*, 31, N° 12 : 1499-1506.

Lee, N., Seob Seo, Ch., Jung, Da.Y., Lee, J.K., Lee, A.L., Song, K.Y., Shin, H.K., Lee, M.Y., Seo, B.S., Kim, H., and Hyekyung. H. (2012). Hepatoprotective and antioxidative activities of *Cornus officinalis* against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Hindaw Publishing Corporation*, 2012 : 8.

Lee, T.H., Huang, N.K., Lai, T.C., Yang, A.T.Y., Wang, G.J. (2008). Anemonin from *Clematis crassifolia*, potent and selective inducible nitric oxide synthase inhibitors. *Journal of Ethnopharmacology*, 116 : 518-527.

Lugasi, A., Hóvári, J., Sági, K.V. and Bíró, L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47 : 119-125.

Luper, S.N.D. (1998). A review of plants used in the treatment of liver disease : Part 1. *Alternative Medicine Review*, 3, N°6 : 411-421.

(M)

Marklund, S., Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal Biochemistry*, 47 : 469-474.

Masella, R., Benedetto, R.D., Vari, R., Filesi, C., Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16 : 577–586.

McCord, J.M., Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*, 244 : 55-6049.

Misra, H., Fridovich, I. (1972). The role of superoxyde anion in the autoxidation of epinephrine and simple assay for superoxyde dismutase. *The Journal of Biological Chemistry*, 247, N° 10 : 3170-3175.

Moore, K.I., Dalley, A.F. (1999). *Anatomie médicales*. USA : DE BOECK. 1999.1123.

Mortensen, A., Skibsted, L.H. and Truscott T.G. (2001). The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Archives Biochemistry Biophysics*, 385: 13-9.

Murugesh, K.S., Veerendra, C.Y., Bhim, Ch.M., and Tapan K.M. (2005). Hepato protective and antioxidant role of *Berberis tinctoria* lesch leaves on paracetamol induced hepatic damage in rats. *Iranian Journal of pharmacology ant therapeutics*, vol : 64-69.

(O)

Okado-Matsumoto, A., Fridovich, I. (2002). Amyotrophic lateral sclerosis: a proposed mechanism. *Proceedings of the National Academy Sciences USA*, 99 : 9010-4.

Olaley, M.T., Rocha, B.T.V. (2008). Acetaminophen-induced liver damage in mice: effects of some medicinal plants on the oxidative defense system. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 59 : 319–327.

Orr, W.C., Mockett, R.J., Benes, J.J., Sohal, R.S. (2003). Effects of overexpression of copper-zinc and manganese superoxide dismutases, catalase, and thioredoxin reductase genes on longevity in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Biology Chemistry*, 278 : 26418-22.

(P)

Park, C.M., Park, J.Y., Noh, K.H., Shin, J.H., Song, Y.S. (2011). *Taraxacum officinale* weber extracts inhibit LPS-induced oxidative stress and nitric oxide production via the NF- κ B modulation in RAW 264.7 cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 133 : 834–842.

Pons, G. (1997). Traitement de la fièvre par le paracétamol, *Journal de Pédiatrie et de puériculture*, 10: 144-149.

Pradhan, S.C., Girish, C. (2006). Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine, *Indian Journal of Medical Research*, 124 : 491-504.

Pryor, W.A. (2000). Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Radical Biology & Medicine*, 28 : 141–164.

(R)

Raj, S., Gothandam, K.M. (2014). Hepatoprotective effect of polyphenols rich methanolic extract of *Amorphophallus commutatus* var. wayanadensis against CCl₄ induced hepatic injury in swiss albino mice. *Food and Chemical Toxicology*, 67 : 105-12.

Ray, S. D., Kumar, M.A. , Bagchi, D. (1999). A novel proanthocyanidin IH636 grape seed extract increases *in vivo* Bcl-XL expression and prevents acetaminophen-induced programmed and unprogrammed cell death in mouse liver. *Archives Biochemistry and Biophysics*, 369 : 42-58.

Reaume, A.G., Elliott, J.L., Hoffman, E.K., Kowall, N.W., Ferrante, R.J., Siwek, D.F., et al. (1996). Motor neurons in Cu/Zn superoxide dismutase-deficient mice develop normally but exhibit enhanced cell death after axonal injury. *Nature Genetics*, 13 : 43-7.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., Pridham, J.B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 2 : 375-83.

(S)

Sabir, S.M., Rocha, J.B.T. (2008). Antioxidant and hepatoprotective activity of aqueous extract of *Solanum fastigiatum* (false “Jurubeba”) against paracetamol-induced liver damage in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 120 : 226–232.

Sabir, S.M., Rocha, J.B.T. (2008). Water-extractable phytochemicals from *Phyllanthus niruri* exhibit distinct *in vitro* antioxidant and *in vivo* hepatoprotective activity against paracetamol-induced liver damage in mice. *Food Chemistry*, 111 : 845-851.

Santillán, E.M., Bujaidar E, M., González I, Á., Martínez MT, S., Salinas, G.J., Bautista M., Morales-González, Á., García-Luna y González-Rubio, M., Aguilar-Faisal, J.L., Morales-González, J.A. (2014). Review of natural products with hepatoprotective effects. *World Journal of Gastroenterol*, 20 (40): 14787-804.

Savides, M.C, Oehme, F.W. (1983). Acetaminophen and its toxicity. *Journal of Applied Toxicology*, 3 : 5-111.

Seirafi, M., Iten, A., Hadengue, A. (2007). Acetaminophen : hepatotoxicity at therapeutic doses and risk factors. *Revue Médicinale Suisse*, 3 : 2345-9.

Shen, S.Q., Zhang, Y., Xiang, J.J., Xiong, C.L. (2007). Protective effect of curcumin against liver warm ischemia/reperfusion injury in rat model is associated with regulation of heat shock protein and antioxidant enzymes. *World Journal of Gastroenterol*, 13 : 1953-1961.

Siddhuraju, P., Abirami, A., Nagarani, G. (2015). Hepatoprotective effect of leaf extracts from *Citrus hystrix* and *C. maxima* against paracetamol induced liver injury in rats. *Food Science and Human wellness*, 4 : 35-41.

Singh, S., Thomas, M., Singh, S.P., Bhowmik, D. (2014). Plants used in hepatoprotective remedies in traditional indian medicine. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1 : 58-63.

Smilkstein, M.J., Knapp, G.L., Kuling, K.W., Rumack, B.H. (1988). Efficacy of oral N-acetylcysteine in the treatment of acetaminophen overdose. *Analysis of the National Multicenter Study Med*, 62 : 319-1557.

Sterner, O. (1999). *Chemistry, health and environnement*. Allemagne : Wiley VCH. 1^{ère} Ed.

Sundari, K., Karthik, D., Ilavenil, S., Kaleeswaran, B., Srigopalram, S., Ravikumar, S. (2013). Hepatoprotective and proteomic mechanism of *Sphaeranthus indicus* in paracetamol induced hepatotoxicity in wistar rats . *Food Bioscience*, 1 : 57 – 65.

(T)

Tahara, E.B., Navarete, F.D., Kowaltowski, A.J. (2009). Substrate and site-specific characteristics of mitochondrial reactive oxygen species generation. *Free Radical Biology and Medicine*, 46 : 97- 1283.

Tapiero, H., Tew , K.D., Nguyen, Ba. G. and Mathé , G. (2002). Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies ?. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56 :200-207.

Thurre, N., Andlaur, W. (2007). Influence de la variété de fraise et de la période de récolte sur les contenue en antioxydants et en anthocyanes ainsi que sur la répartition de l'acide ellagique dans le fruit, les akènes, les feuilles et le rhizome.

Tomečková,V., Gajová, A., Veliká, B., Saxunová, L., and Hertelyová, Z. (2011). Prooxidative an fluorescence properties of paracetamol during interactions with mitochondria. *Spectroscopy*, 25 : 45-51.

(V)

Valéry, Af., Romuald, Ch., Dragoslav, M., Pascal, C., Abderrahim, L. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74 : 636-643.

Valko, M., Leinb Fritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J. (2006). Free radicals and antioxydantsin normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Biology*, 39 :44-84.

Van antwerpen, P. (2006). *Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myeloperoxydase / peroxyde d'hydrogène/chlorure.* Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Académie universitaire Wallonie-Bruxelles, 201.

Vergley, C., Rochette, L. (2003). Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire. *Médecine Thérapeutique Cardiologie*, 1, N°3 : 313-339.

(W)

Wheeler, M.D., Nakagami, M., Bradford, B.U., Uesugi, T., Mason, R.P., Connor, H.D., et al. (2001). Overexpression of manganese superoxide dismutase prevents alcohol-induced liver injury in the rat. *Journal of Biological Chemistry*, 276 : 36664–72.

Wong, M.C., Portmann, B., Sherwood, R., Niemela, O., Koivisto, H., Parkkila, S., Trick, K., L'abbe, M.R., Wilson, J., Dash, P.R., Srirajaskanthan, R., Preedy, V.R., Wiseman, H. (2007). The cytoprotective effect of alpha-tocopherol and daidzein against d-galactosamine-induced oxidative damage in the rat liver. *Metabolisme*, 56 : 865-875.

(Y)

Yasuhiro, M., Chieko S., Toshiharu, H. (2005). Involvement of mitochondrial permeability transition in acetaminophen-induced liver injury in mice. *Journal of Hepatology*, 42 :110–116.

Yesilada, E., Kupeli, E. (2007). *Clematis vitalba* L. aerial part exhibits potent anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 110 : 504-515.

(Z)

Zelko I.N., Mariani, T.J., Folz, R.J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Rad Biol Med*, 33 (3) : 337.

Zeng, Y.X., Zhao, C.X., Liang, Y.Z., Yang, H., Fang, H.Z., Yi, L.Z. et Zeng, Z.D. (2007). Comparative analysis of volatile components from *Clematis* species growing in China. *Analytica Chimica Acta*, 595: 328–339.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sites internet :

https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/bitstream/handle/1866/6734/these_body.html

consulté le 17 avril 2015.

La veine porte : La veine porte est une veine qui conduit le sang provenant des organes digestifs, vers le foie, d'où il ressortira, après traitement, par la veine sus-hépatique. Autrement dit, le foie est situé entre deux veines (en sus de l'artère hépatique), ce qui est assez rare en anatomie des mammifères, on parle de système porte.

La veine caveinférieure : Est une veine large qui transporte le sang désoxygéné de la moitié inférieure du corps vers le cœur.

Le lobe caudé : Le lobe caudé (ou de spiegel) se trouve dans la région centrale et postérieure du foie. Il s'agit d'une languette de tissu hépatique passant d'une part en arrière de la veine porte.

Le lobe carré : Il appartient au lobe hépatique droit . Dans la segmentation hépatique , il s'agit de la partie antérieure du segment IV (sous-segment IVa) qui appartient au secteur paramédian du foie gauche .

Le cytochrome P450 : Ce sont des hémoprotéines, ayant de l'hème comme co-facteur, qui interviennent dans des réactions d'oxydoréduction d'un grand nombre de grandes ou de petites molécules, qu'il s'agisse de métabolites ou de xénobiotiques.

La cyclophyline D : Appartenant aux protéines, dotées d'une activité peptidyl-prolyl cis-trans isomerase, Ces protéines sont collectivement connues comme immunophilines. Cyclophilines se trouvent dans toutes les cellules de tous les organismes étudiés, dans les deux procaryotes et eucaryotes.

Le complexe I : Complexe I (NADH: ubiquinone oxydoréductase) est la première enzyme de la chaîne respiratoire mitochondriale. On extrait de l'énergie à partir de NADH produit par l'oxydation des sucres et des graisses, et emprisonne l'énergie à une différence de potentiel ou tension aux bornes de la membrane interne mitochondriale. La différence de potentiel est utilisée pour alimenter la synthèse d'ATP.

Le complexe IV : Est un dimère protéinique dont chaque moitié à une masse de 162000 daltons et constitué de 8 sous-unités, il catalyse l'oxydation du cytochrome c ferreux mitochondriale, cette réaction d'oxydoréduction est utilisée par l'enzyme pour déplacer des protons depuis la matrice vers l'espace intermembranaire.

Le complexe III : Le complexe III de la chaîne respiratoire mitochondriale ou complexe Ubiquinol-cytochrome C oxydoréductase, est un complexe composé de 11 sous-unités sur la membrane mitochondriale interne. Il est un intermédiaire à la création d'ATP par l'ATP synthase située plus loin sur cette même membrane.

Les protéines hépatiques ChREBP, LXR : Ce sont des protéines de la superfamille des récepteurs nucléaires liant naturellement les oxystérols et régulant le métabolisme hépatique.

Les Peroxysomes : Ce sont des organites cellulaires entourés par une membrane simple et ne contenant pas de matériel génétique. Contrairement à la mitochondrie ou au chloroplaste, toutes les protéines qui le constituent sont codées par des gènes nucléaires et proviennent du cytosol. Les peroxysomes permettent la détoxification de la cellule (par dégradation du peroxyde d'hydrogène très toxique produit par les peroxysomes grâce à l'importation de dioxygène provenant des mitochondries, par dégradation des acides gras à très longue chaîne et par synthèse d'acides gras polyinsaturés).

La silymarine : Elle est extraite à partir des graines du Chardon-Marie, une plante courante dans les terrains du sud de l'Europe. La silymarine est, en fait, constituée de trois flavonoïdes, la silychristine, la silydianine et la silybine, cette dernière étant de loin la plus active. Elle est utilisée dans le traitement d'un grand nombre de désordres hépatiques incluant la cirrhose, des stéatoses alcooliques, des empoisonnements du foie ou des hépatites virales. Elle protège les hépatocytes des lésions causées par des radiations, une surcharge en fer, des toxines, des virus d'hépatites virales ou par ischémie. Elle aurait également des effets bénéfiques sur l'insulino-résistance ainsi qu'une action anti-cancer.

Animaux transgéniques : dont le patrimoine génétique a été modifié par l'Homme. Un animal transgénique est un animal au génome duquel a été introduit par transgénèse un ou plusieurs gènes.

La maladie de Parkinson : Est une maladie neurologique chronique dégénérative (perte progressive des neurones) affectant le système nerveux central responsable de troubles essentiellement moteurs d'évolution progressive.

L'ischémie : Est la diminution de l'apport sanguin artériel à un organe. Cette diminution entraîne essentiellement une baisse de l'oxygénation des tissus de l'organe en dessous de ses besoins et la perturbation, voire l'arrêt, de sa fonction.

La sclérose latérale amyotrophique : Egalement appelée, dans le monde francophone, maladie de Charcot, est une maladie neurodégénérative des motoneurones de l'adulte.

Transférase : Une transférase est une enzyme dont le rôle est de catalyser le transfert d'un groupe fonctionnel (par exemple un groupe éthyle ou phosphate) d'une molécule (appelée donneur) à une autre (appelée accepteur).

Oxydase : Une oxydase est une enzyme catalysant une réaction d'oxydo-réduction.

Bleu de Coomassie : Est un colorant bleu communément employé en électrophorèse sur gel de polyacrylamide avec dodécyl-sulfate de sodium (SDS-PAGE). Le gel est trempé dans le colorant pendant 30 minutes, avant d'en être débarrassé trente minutes ou davantage. Ceci permet la visualisation de bandes, indiquant la teneur en protéines du gel. La visualisation du gel contient habituellement un « marqueur », qui contient des protéines de poids moléculaire connu, ce qui permet d'évaluer le poids moléculaire des protéines de la solution ou du tissu à tester.

Annexe1.

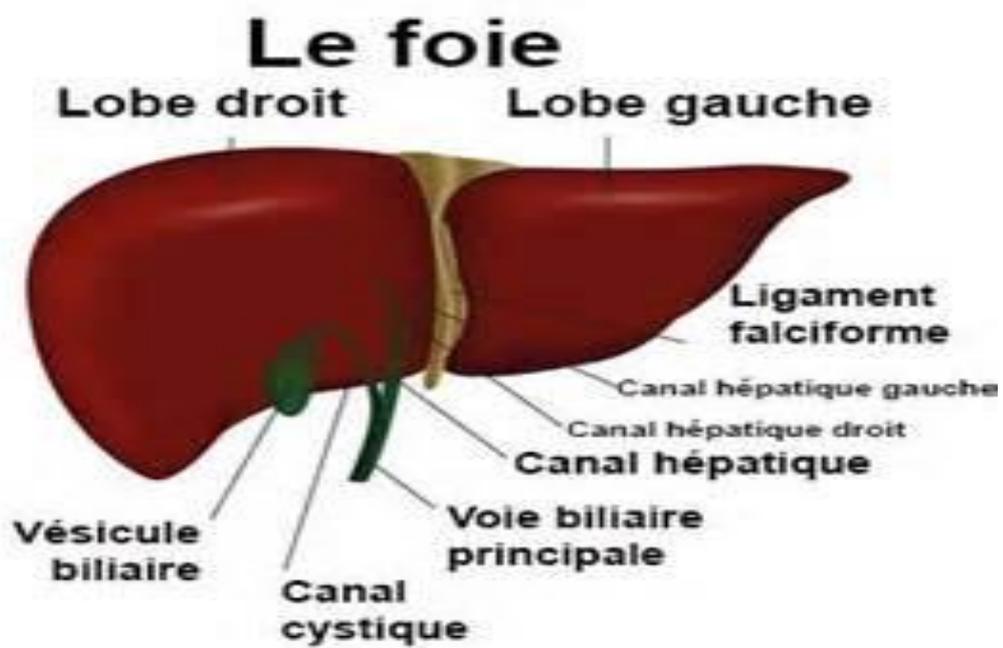


Figure (1) : Anatomie et composition du foie.

Annexe2.

Tableau I: Les différentes cibles de différents médicaments.

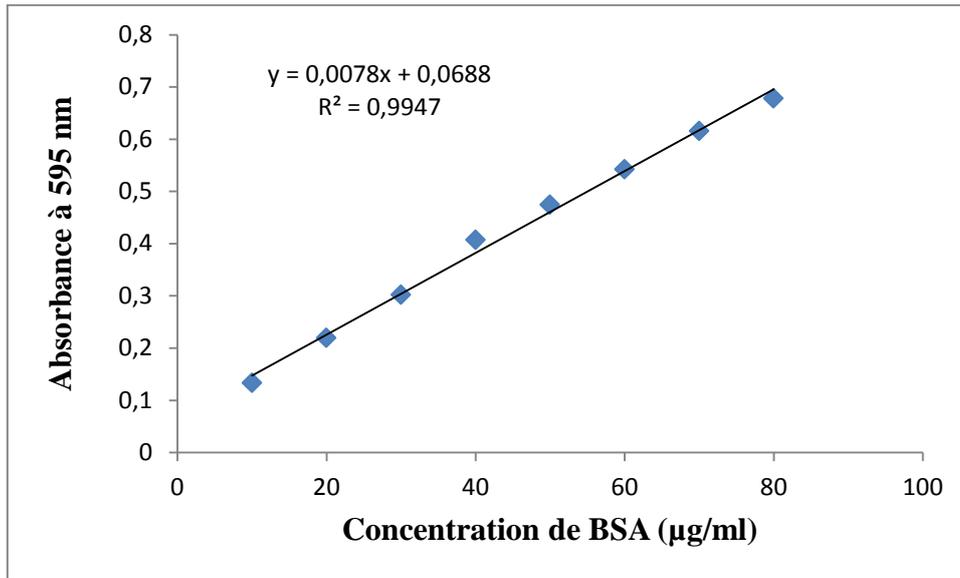
Médicament	Ouverture du pore de transition de perméabilité	Inhibition directe de l'oxydation des acides gras ^a	Découplage de la phosphorylation oxydative	Inhibition directe de la chaîne respiratoire ^b	Altération de l'ADN mitochondrial
Acide salicylique	+	+	+		
Acide valproïque	+	+			
Alpidem	+		+	+	
Amineptine		+			
Amiodarone		+	+	+	
Buprénorphine		+	+	+	
Diclofénac	+	+			
Didanosine (ddI)					+
Fialuridine (FIAU)					+
Ibuprofène		+	+		
Nilutamide				+	
Nimésulide	+		+		
Panadiplon		+			
Paracétamol ^c	+			+	
Perhexiline		+	+	+	
Pirprofène		+			
Stavudine (d4T)					+
Tacrine			+		+
Tamoxifène		+	+	+	+
Tétracycline		+			
Troglitazone	+			+	+
Zidovudine (AZT)					+

^a Inhibition de la β -oxydation mitochondriale des acides gras via l'inhibition d'une des enzymes impliquées dans ce processus métabolique et/ou la déplétion en L-carnitine et en coenzyme A.

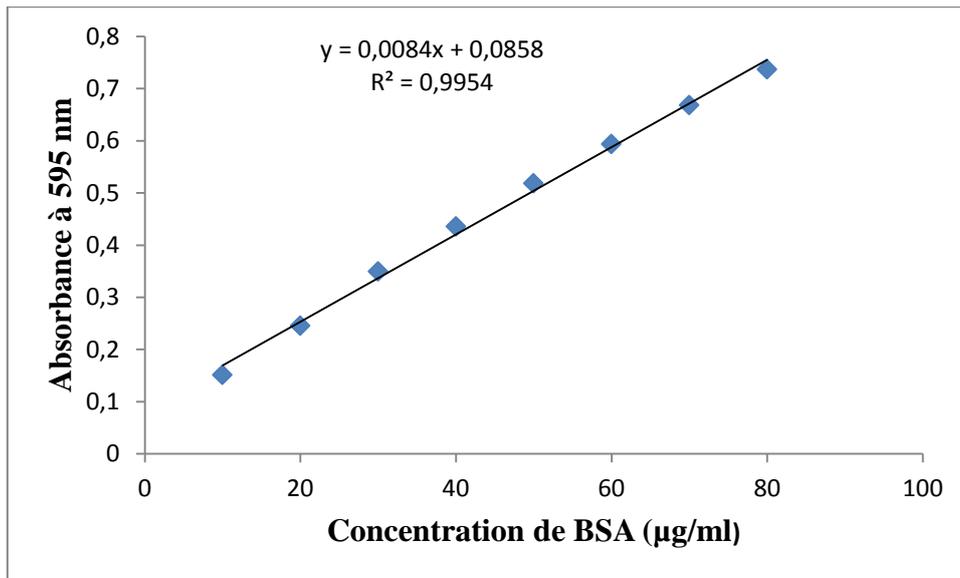
^b Inhibition de la chaîne respiratoire via l'inhibition d'une des enzymes impliquées dans le transport des électrons ou la phosphorylation de l'ADP en ATP.

^c Effets mitochondriaux du paracétamol via le métabolite réactif N-acétyl-p-benzoquinone imine (NAPQI).

Annexe3.



(A)



(B)

Figure (3) : A et B , les courbes d'étalonnages de dosage des protéines.

Résumé

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'effet hépato-protecteur de l'extrait brut des feuilles d'une plante médicinale, très utilisée dans le traitement de diverses maladies inflammatoires. *Clematis flammula*, qui est très connue pour sa richesse en métabolites secondaires. L'étude *in-vivo* a été réalisée sur des souris mâles albinos intoxiquées par le paracétamol à une dose de 400mg/kg. Les résultats obtenus après traitement des souris avec différentes doses d'extrait éthanolique des feuilles de *Clematis flammula* (100 et 200 mg/kg) montrent une augmentation de l'activité de la superoxyde dismutase pour les groupes tests (100 et 200 mg/kg) par rapport au groupe de souris traité avec la molécule de référence silymarine, suggérant ainsi que l'extrait de cette plante a un effet hépato-protecteur via l'élévation de l'activité antioxydante enzymatique (SOD).

Mots clés : *Clematis flammula*, Paracétamol, Superoxyde dismutase, Activité antioxydante, Hépatoprotecteur.

Abstract :

The aim of this work is to evaluate the hepatoprotective effect of the leaves crude extract of a medicinal plant, widely used in the treatment of various inflammatory diseases. *Clematis flammula*, which is known for its wealth of secondary metabolites. The *in-vivo* study was performed on male albino mice intoxicated with paracetamol at a dose of 400mg / kg. The results obtained after treatment of mice with different doses of ethanolic extract of the leaves of *Clematis flammula* (100 and 200 mg / kg) have shown an increase in the activity of superoxide dismutase for the test groups (100 and 200 mg / kg) compared to the group of mice treated with silymarin reference molecule, suggesting that the extract of this plant has a hepatoprotective effect by the elevation of enzymatic antioxidant activity (SOD)

Keywords: *Clematis flammula*, Paracetamol, Superoxide dismutase, Antioxidant activity, Hepatoprotective.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى تقييم تأثير كبد للمستخلص الكحولي لأوراق النباتات الطبية، التي تستخدم على نطاق واسع في علاج العديد من الأمراض الالتهابية. التي هي ياسمين البر، والمعروفة بأنها غنية بالمركبات الثانوية. أجريت هذه الدراسة في الجسم الحي على الفئران البيضاء الذكور مخدرة بجرعة من الباراسيتامول (400 ملغ/كغ). النتائج التي تم الحصول عليها للمستخلص الكحولي لأوراق ياسمين البر (100 و 200 ملغ / كغ). أظهرت زيادة بعد العلاج الفئران بجرعات مختلفة من في نشاط السوبر أكسيد ديسميوتاز للمجموعات الاختبار (100 و 200 ملغ / كغ) بمقارنة مع الفئران التي عولجت بمستخلص سليمارين ، مما يشير إلى أن مستخلص هذا النبات له حماية الكبد عن طريق ارتفاع نشاط مضادات الأكسدة الأنزيمية (السوبر أكسيد ديسميوتاز).

كلمات البحث : ياسمين البر، الباراسيتامول، السوبر أكسيد ديسميوتاز ، النشاط المضادة للأكسدة، حماية الكبد