

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

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



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

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

MASTER

Thème

Effet hépatoprotecteur de l'extrait brut des bourgeons de *Populus nigra* chez des souris intoxiquées par le paracétamol (évaluation de l'activité superoxyde dismutase)

Présenté par :

BEKKARI Damia & LOUNES Samira

Soutenu le : 15 Juin 2015

Devant le jury composé de :

Mme. Y. BENNAI
Melle. N. CHERAFT
M. N. BRIBI
Mme. N. DEBBACHE

MAB
MAB
MAA
MCB

Présidente
Encadreur
Examineur
Invitée

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

Louanges à ALLAH le tout puissant, et le Miséricordieux, qui nous a procuré la patience, le courage et la force d'aller au bout de notre objectif. Et pour tout on lui rend grâce.

Nous tenons particulièrement et chaleureusement à remercier notre promotrice Melle CHERAFT N. d'avoir accepté de nous encadrer, ça ne serait pas suffisant de lui exprimer tout notre reconnaissance pour sa confiance, sa disponibilité, ses encouragements et conseils précieux tout au long de la réalisation de ce travail. Pour son soutien, patience, gentillesse et sa grande générosité, qu'elle soit assurée par notre grande gratitude.

Qu'il nous soit permis de remercier les membres du jury d'avoir accepté de juger notre travail : Mme BENNAI .Y pour l'honneur qu'elle nous a fait d'avoir accepté de présider le jury, Mr BRIBI .N. Pour l'honneur qu'il nous a fait d'avoir accepté d'examiner notre mémoire.

Nous tenons également par le présent travail à témoigner notre grande reconnaissance envers notre enseignante et responsable de spécialité Mme DEBBACHE N. pour sa confiance, pour son aide, sa disponibilité, pour ses conseils tout au long de l'élaboration de ce modeste travail et pour sa grande générosité.

On a eu le plaisir d'effectuer notre travail dans le Laboratoire génétique la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université ABDELRAHMANE MIRA-Béjaia sous la direction du Mr ATMANI et Mme ATMANI.D. A qui nous tenons à exprimer toutes nos reconnaissances.

On remercie l'ensemble du personnel du laboratoire pour leur convivialité et leur disponibilité, les doctorantes et ingénieurs, NAIMA , LILA, SALIHA, KENZA, sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude.

Enfin, nos remerciements sont adressés spécialement à nos familles, amis(es) qui ont su nous soutenir, nous encourager, tout au long de la réalisation de ce modeste travail.

Damia & Samira

Dédicaces

Je tiens à remercier dieu de m'avoir donné la capacité de m'exprimer et de réfléchir, la force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

Avec ma profonde gratitude et grand amour, je dédie ce modeste travail :

A mon père l'être le plus sublime et mon refuge dans les moments difficiles, pour ses sacrifices et sa contribution à devenir ce que je suis maintenant. Et à mon adorable mère source inépuisable d'affection, de douceur, d'encouragement et de motivation qui est toujours présente et me tiens la main. Je ne vous remercierais jamais assez d'être là pour moi. Que dieu vous accorde santé et longévité.

A mon frère mouhamed ouali et mes sœurs lynda et salima pour leur soutiens moral et leurs sacrifices le long de ma formation et à toute ma famille.

A mes très chères amies djoudjou, fatma, rym et à tous mes amis.

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin

Samira



N'ABANDONNE JAMAIS



Quand les choses vont vraiment mal comme elles savent si bien le faire quelque fois, quand la route sur laquelle tu chemine semble péniblement s'achevée au sommet d'une colline, quand les fonds sont bas et les dettes culmines tu voudrais sourire et tu dois pousser des soupirs ; quand le souci te pousse dans la déprime repose-toi si tu veux mais n'abandonne jamais.

La vie est si étrange avec ses revers et ses détours comme chacun de nous a pu l'apprendre un jour et beaucoup qui ont été abattu par un échec ils auraient pu réussir s'ils avaient persévérés.

Même tout semble aller lentement, car un autre souffle peut t'apporter la réussite, le succès n'est que l'envers de l'échec et tu ne peux jamais savoir à quelle distance se trouve le but qui peut être très proche alors qu'il te semble lointain.

Aussi continue la lutte au plus fort du combat car c'est quand tout te semble perdu que tu ne dois pas abandonner.

Mouloud Mammeri

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

♥ *A mes chers parents qui m'ont aidé à être ce que je suis, avec tant d'amour et d'affection.*

♥ *A ma famille maternelle et paternelle.*

♥ *A tous mes cousins et cousines.*

♥ *A ma meilleure amie Hanane.*

♥ *A toute la promotion de Génétique appliquée.*

♥ *A mes amis et toutes les personnes qui me sont chères.*

Damya

Liste des figures

Numéro	Titre de la figure	Page
Figure 1	Mécanisme d'action du paracétamol	4
Figure 2	Métabolisme hépatique du paracétamol	5
Figure 3	Définition du stress oxydant	9
Figure 4	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	11
Figure 5	La SOD parmi les autres piègeurs d'électrons	12
Figure 6	La famille de gène de la SOD	13
Figure 7	La SOD initie le processus d'inactivation de l'anion superoxyde	14
Figure 8	Photographie de l'arbre et de bourgeons de <i>Populus nigra</i>	17
Figure 9	Photographie de souris Albinos.	19
Figure 10	Photographie d'élevage des souris au sein de l'animalerie	19
Figure 11	Les étapes du traitement des souris	22
Figure 12	Photographie des étapes de préparation de surnagent	23
Figure 13	Les étapes d'auto-oxydation du pyrogallol	24
Figure 14	Histogramme représentant l'effet de l'extrait éthanolique des bourgeons de <i>Populus nigra</i> sur l'activité superoxyde dimutase hépatique chez des souris	29

Liste des tableaux

Numéro	Titre du tableau	Page
Tableau I	La formule brute et développée de ce médicament	2
Tableau II	Exemples de quelques plantes médicinales hépatoprotectrices	16

Liste des abréviations

ALP	Alkaline Phosphatase
AM404	<i>N</i> -Arachidonoylaminophenol
APAP	Para-Acétyl-Amino-Phénol
CAT	Catalase
CB1	Récepteur aux cannabinoïdes de type 1
CMC	Carboxyméthylcellulose
COX-2	Cyclooxygénase-2
C8H9NO2	Paracétamol
EDTA	Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique
ERO	Espèces réactifs d'oxygène
ERN	Espèces réactifs d'azote
FAAH	Fatty Acid Amide Hydroxylase
GPx	Glutathione Peroxydase
GSH	Gutathion
H ₂ O ₂	Peroxide d'hydrogène
NAPQI	<i>N</i> -Acétyl- <i>P</i> -Quionimine
NO [•]	Réactif azoté Ou Monoxyde d'azote
O ₂ ^{•-}	Anion Superoxyde
OH [•]	Radical Hydroxyle
ONOO ⁻	Peroxynitrite
PG	Prostaglandine
SGOT	Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase ou AST
SGPT	Serum Glutamic-Pyruvic Transaminase ou ALAT
SOD	Superoxyde Dimutase
TRPV1	Transient Receptor Potential Vanilloïd Type 1
HOCL	Hypochlorus Acid

SOMMAIRE

Titre	Page
Liste des figures, listes des tableaux, listes des abréviations	
Introduction	1
Partie I Etude bibliographique	
I.1. Généralités sur le paracétamol	2
I.1.1. Définition	2
I.1.2. Caractéristiques du paracétamol	2
I.1.3. La pharmacologie du paracétamol	3
I.1.3.1. La pharmacodynamie du paracétamol	3
I.1.3.2. La pharmacocinétique du paracétamol	4
I.2. Foie et toxicité	6
I.2.1. Intoxication médicamenteuse	7
I.2.2. Toxicologie du paracétamol	7
I.2.2.1. Mécanisme d'action toxique du paracétamol	7
I.2.2.2. Effets de la toxicité du paracétamol au niveau du foie	7
I.2.2.3. Atteinte et perturbation du potentiel antioxydant hépatique endogène	8
I.3. Le système antioxydant et l'effet hépatoprotecteur des plantes médicinales	10
I.3.1. Le potentiel antioxydant	10
I.3.1.2. La superoxyde dimutase (SOD)	11
I.4. Hépatoprotection des plantes médicinales	15

Partie expérimentale	
II. Matériels et méthodes	
II.1. Matériels biologiques	17
II.1.1. Matériel végétal	17
II.1.2. Matériel animal et conditions d'élevage	19
II.2. Méthodes expérimentales	20
II.2.1. Préparation des extraits	20
II.2.2. Méthode d'étude de l'activité hépatoprotectrice	21
II.2.2.1. Etude de l'effet préventif	21
II.2.2.2. Broyage de foies	22
II.2.2.3. Mesure de l'activité superoxyde dismutase (SOD)	23
II.3. Analyse statistique	25
III. Résultats et discussion	
III.1. Résultats	26
III. 2. Discussion	30
Conclusion	38
Références bibliographiques	39
Annexe	

Introduction

Le foie joue un rôle essentiel dans le métabolisme et la détoxification des toxiques endogènes et exogènes (médicaments) dans le corps. Ces réactions métaboliques peuvent potentiellement conduire à des atteintes hépatiques. Ces dernières présentent un problème de santé mondiale extrêmement grave (**Nagata et al., 2007**).

Parmi les agents toxiques pour le foie il existe le paracétamol (acétaminophène), qui est l'un des médicaments les plus utilisés dans le monde par automédication ou par prescription médicale en raison de ses propriétés antalgiques et antipyrétiques (**Maity et al., 2007 ; Guma, 2012**). Cependant, lorsqu'il est administré à des surdoses, il est la principale cause des lésions hépatiques accompagnées par un stress oxydant. Les antioxydants peuvent réduire ce stress oxydatif par l'inhibition de la formation de ERO/ERN par l'intermédiaire de la régulation des mécanismes de défense cellulaire, tels que la Superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), ou la glutathion peroxydase (GSH-Px) (**Cui et al., 2014**).

De ce fait, les plantes médicinales servent de source vitale de nouveaux composés bioactifs pour le développement de la thérapie efficace pour lutter contre les problèmes du foie (**Al asmari, 2014**). Plusieurs études ont été menées afin de confirmer et d'apporter des preuves scientifiques sur les propriétés hépato-protectrices des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle (**Maity et al., 2007**). Cette dernière présente de nombreux remèdes d'origine végétale qui sont testés pour leur potentiel antioxydant et hépato-protecteur sur un model animal expérimental (**Rajamanikandan et al., 2012**).

C'est dans ce contexte que notre travail s'inscrit, il a pour but d'évaluer *in vivo* l'effet préventif de l'extrait éthanolique des bourgeons de *Populus nigra* sur un model intoxiqué par le paracétamol en évaluant l'activité de l'enzyme de la superoxyde dismutase hépatique.

Partie bibliographique

I.1. GENERALITES SUR LE PARACETAMOL

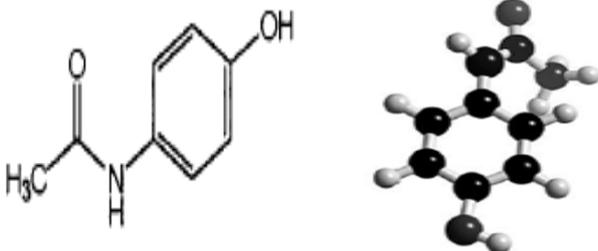
I.1.1. DEFINITION

Le paracétamol, est la substance active de nombreuses spécialités médicamenteuses de la classe des antalgiques antipyrétiques non salicylés (**Monassier, 2005**). Il ne possède pas de propriétés anti-inflammatoires et n'agit pas sur l'agrégation plaquettaire (**Tremblay, 2011**).

I.1.2. CARACTERISTIQUES DU PARACETAMOL

Le paracétamol est un dérivé phénolique. Sa structure comporte un cycle benzénique substitué par un groupement hydroxyle et un groupement acétamide en position *para*. Il ne comporte pas de carbone asymétrique et n'a pas de stéréo-isomères (**Clayden et al ., 2002**). Chimiquement, le paracétamol est désigné sous le terme de **1-hydroxy 4- acétamidobenzène**.

Tableau I : La formule brute et développée de ce médicament.

Nom chimique (Zimmerman, 1998)	N-acétyl-p-aminophénol
Formule brute (Le Marec, 2005)	C ₈ H ₉ NO ₂
Formule développée (Hogestatt et al ., 2005)	

I.1.3. LA PHARMACOLOGIE DU PARACETAMOL

I.1.3.1. LA PHARMACODYNAMIE DU PARACETAMOL

- **MODE D’ACTION EVOLUTIF**

Le mécanisme d'action complet d'APAP n'est pas encore totalement élucidé. Mais il reposerait sur l'insensibilisation des chémorécepteurs aux médiateurs de la douleur comme la bradykinine et surtout sur l'effet inhibiteur de la synthèse des prostaglandines centrales (effet antalgique) et de l'effet des pyrogènes endogènes au niveau des centres thermorégulateurs hypothalamiques (effet antipyrétique) (**Ramlawi et al., 2013**).

Le paracétamol est transformé dans le foie en para-aminophénol (*p*-aminophénol) qui diffuse, *via* la circulation sanguine, au niveau cérébral où il est métabolisé par une enzyme, l'hydrolase des amides d'acides gras (FAAH) en un composé appelé AM404 (conjugaison du *p*-aminophénol et de l'acide arachidonique). Cette nouvelle voie métabolique a été bien impliquée dans l'effet antalgique du paracétamol (**Kerckhove et al., 2014**).

Ce composé se fixe ainsi sur des récepteurs protéiques, tels que le TRPV1 (récepteur du principe actif du piment) et le CB1 (récepteur du principe actif du cannabis), permettant l'activation de voies neuronales appelées sérotoninergiques descendantes provoquant, enfin, la diminution de la sensation douloureuse exprimant ainsi l'effet antalgique du paracétamol (**Kerckhove, 2012**).

Le composé AM404, peut augmenter les taux d'endocannabinoïdes centraux par l'inhibition de leur recapture et de leur dégradation, et activant ainsi les récepteurs cannabinoïdiques de type I (CB₁). Ces derniers sont effectivement impliqués dans l'effet antinociceptif du paracétamol (Figure 1) (**Kerckhove et al., 2014**)

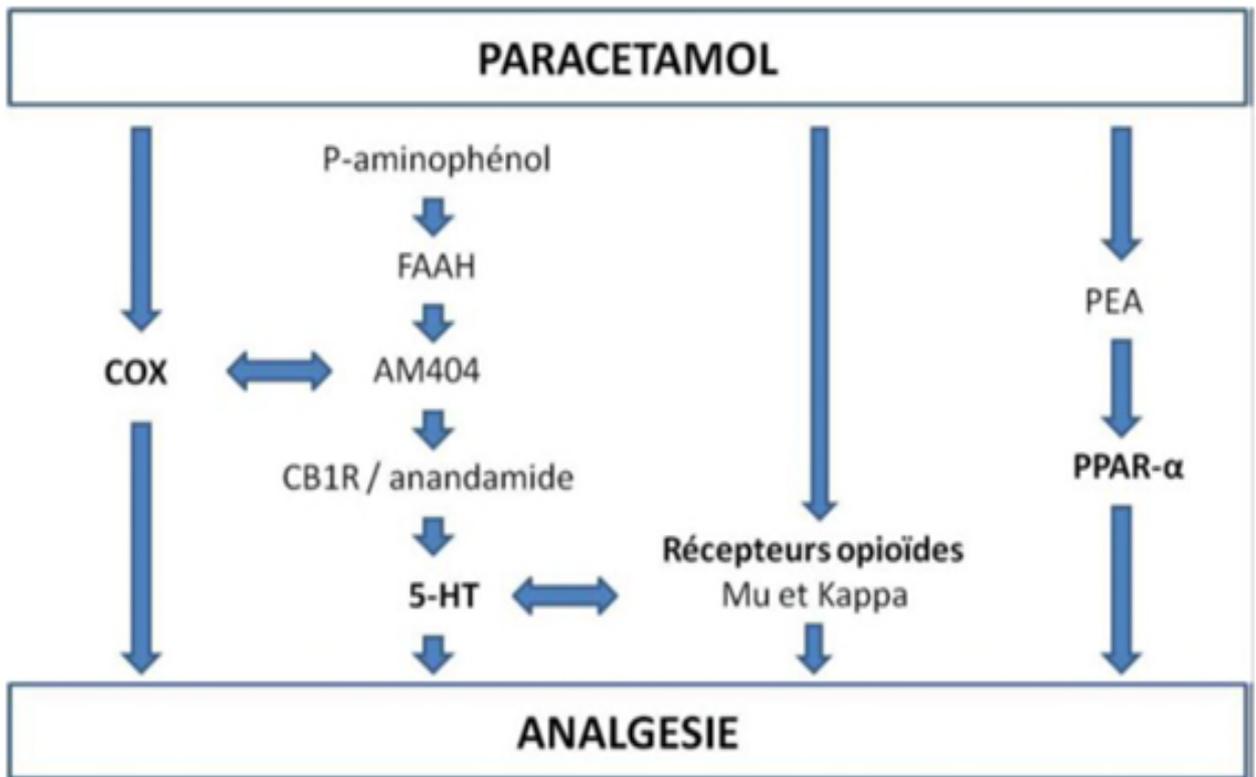


Figure 1 : Mécanisme d'action du paracétamol (Ramirez, 2012)

I.1.3.2. LA PHARMACOCINETIQUE DU PARACETAMOL

- **ABSORPTION**

La résorption digestive du paracétamol est rapide et complète. Il subit une biotransformation hépatique dès le premier passage hépatique, quant à sa biodisponibilité absolue, elle avoisine les 80% (Muzard, 2007 ; Ramlawi et al., 2013).

- **DISTRIBUTION**

Le paracétamol diffuse rapidement et très largement dans les compartiments liquidiens de l'organisme. Il est très faiblement lié aux protéines plasmatiques notamment l'albumine, mais cette liaison augmente en cas de surdosage (Dangoumau, 2006; Krähenbühl, 2006 ; Muzard, 2007).

• METABOLISME

Le paracétamol est métabolisé essentiellement au niveau du foie selon 2 voies hépatiques majeures : la glycuconjugaison et la sulfoconjugaison. Cette dernière voie est rapidement saturable aux posologies supérieures aux doses thérapeutiques (Choukri *et al.*, 2014).

Une faible proportion (moins de 4 %) est transformée par le cytochrome P-450 en un intermédiaire réactif le N-acétyl-p-quinonimine (NAPQI) qui, dans les conditions normales d'utilisation, est rapidement détoxifié par le glutathion réduit et éliminé dans les urines après conjugaison à la cystéine et à l'acide mercaptopurique (Figure 2) (Choukri *et al.*, 2014).

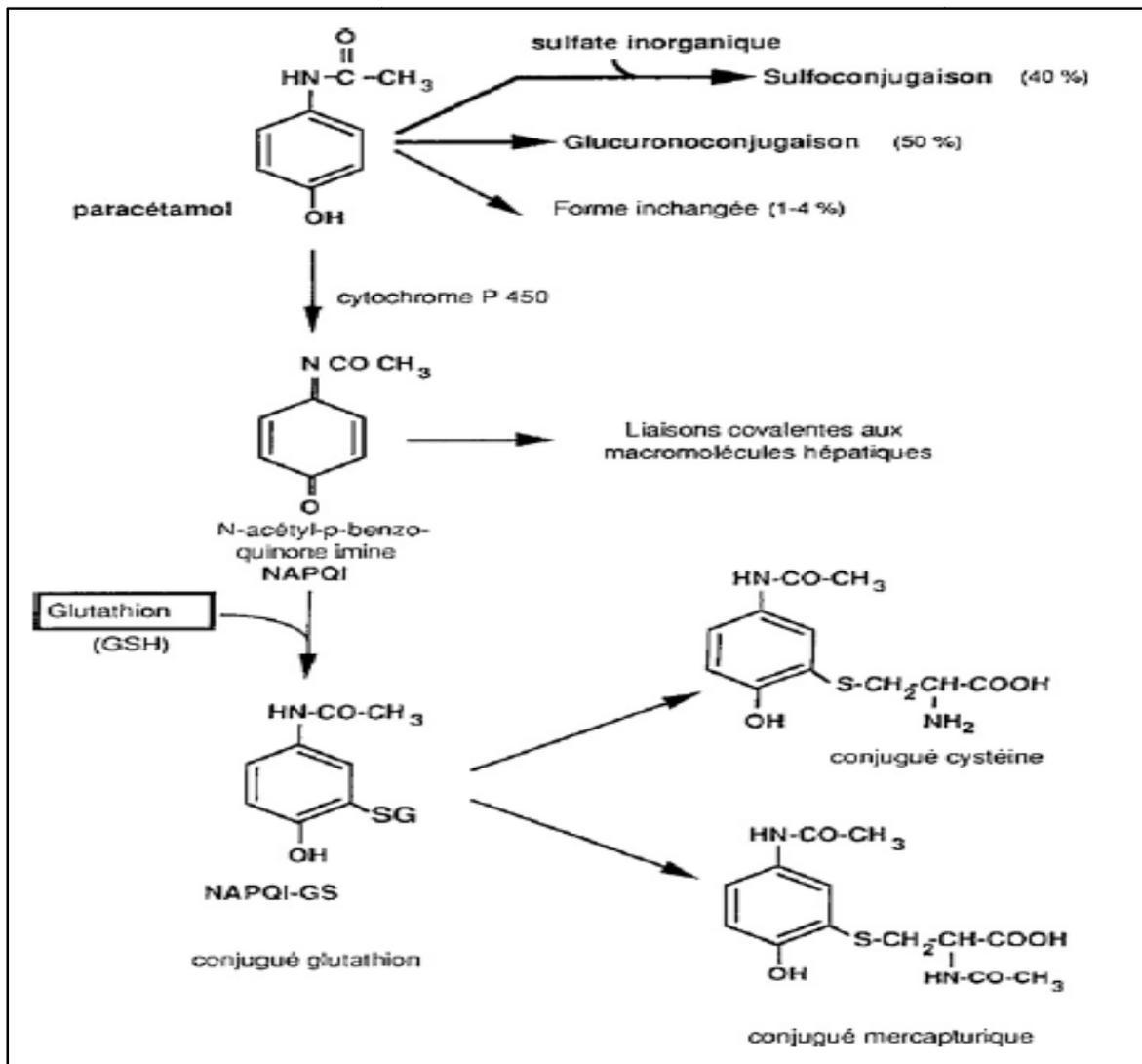


Figure 2 : Métabolisme hépatique du paracétamol (Mégarbane *et al.*, 2007 ; Louvet, 2010).

□ ELIMINATION DU PARACETAMOL

Le paracétamol est complètement éliminé dans les 24 heures qui suivent son ingestion. Il est éliminé exclusivement dans les urines sous forme « inchangée » et sous forme de métabolites (dérivés conjugués) en lesquels il est transformé (**Dangoumau, 2006; Muzard, 2007**)

Son excrétion est sous forme de dérivés conjugués (dérivé glucuronate, dérivé sulfate et NAPQI conjugué au glutathion), c'est la forme la plus importante et représente 97% du paracétamol ingéré (**Dangoumau, 2006; Muzard, 2007**)

I.2. FOIE ET TOXICITE

Le foie est un organe important du corps humain, il possède diverses fonctions exocrines et endocrines tel que le métabolisme, synthèse et stockage, ainsi que l'élimination des substances nuisibles auxquelles l'organisme humain est exposé quotidiennement (**Madhu Kiran et al., 2012**). Cet organe a la capacité de régénération des tissus lésés (**Sathya et Siddhuraju, 2013**).

L'hépatotoxicité est la capacité d'une substance à provoquer des dommages au niveau du foie (**Therrien, 2009**). Ces atteintes hépatiques sont souvent rencontrées lors du métabolisme chimique en passant par le mécanisme de détoxification, la consommation d'alcool, l'infection virale et trouble métabolique (**Sathya et Siddhuraju, 2013**).

La toxicité du foie se manifeste sous forme d'inflammation (hépatite) ou encore de nécrose (mort des cellules du foie) (**Therrien, 2009**). Dans la grande majorité des cas, ces destructions sont liées à la prise d'un médicament, d'où la nomination d'hépatotoxicité médicamenteuse (**Hordé, 2014**).

I.2.1. INTOXICATION MEDICAMENTEUSE

Les atteintes hépatiques causées par un médicament constituent un problème majeur (**Larrey, 1995**). Parmi ces médicaments on trouve le paracétamol qui est considéré comme la principale cause d'hépto-toxicité (**Sathya et Siddhuraju, 2013**).

I.2.2 TOXICOLOGIE DU PARACETAMOL

I.2.2.1. MECANISME D'ACTION TOXIQUE DU PARACETAMOL

Après une overdose du paracétamol, les voies de détoxication sont saturées et donc l'APAP est plus libre pour être oxydé par les composantes du système oxydase (le CYP2E1, CYP1A2, CYP3A4 et CYP2A6) d'où l'importante quantité de NAPQI (**Kupferschmidt, 2004**) dépassant ainsi le taux de glutathion hépatique qui est rapidement déplété (**Mégarbane et al., 2007 ; Ramlawi et al., 2013**).

Lorsque ce taux est < 30% de son niveau basal, le NAPQI est hautement réactif et se fixe au niveau des protéines de surface hépatocytaires et mitochondriales. Il induit un stress oxydatif et une altération de l'homéostasie calcique intracellulaire, responsable d'une nécrose centrolobulaire (**Mégarbane et al., 2007 ; Ramlawi et al., 2013**).

I.2.2.2. EFFETS DE LA TOXICITE DU PARACETAMOL AU NIVEAU DU FOIE

Les manifestations de l'intoxication par le médicament sont très variables, allant de l'élévation asymptomatique des enzymes hépatiques à une insuffisance hépatique fulminante (**Parmar et al., 2010**).

La liaison covalente entre le métabolite toxique (NAPQI) et les groupes sulfhydryle de protéine entraîne une nécrose cellulaire et la peroxydation des lipides qui provoque une hépato-toxicité conduisant à des niveaux accrus d'enzymes marqueurs sériques comme SGOT, SGPT, ALP et de la bilirubine totale (**Madhu Kiran et al., 2012**), en association avec un dysfonctionnement mitochondrial et une diminution de la teneur en ATP (**Tomečková et al., 2011**).

De ce fait, une perte mitochondrial ou un déséquilibre ionique nucléaire peuvent être suggéré comme un autre mécanisme toxique impliqué dans la mort cellulaire par médiation d'acétaminophène dont l'une de ces pertes peut conduire à l'augmentation des concentrations en Ca^{2+} , l'activation de protéases et endonucléases, et rupture d'ADN (**James et al., 2003**).

I.2.2.6. ATTEINTE ET PERTURBATION DU POTENTIEL ANTIOXYDANT HEPATIQUE ENDOGENE

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre pro-oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles (Figure 3) (**Pincemail et al., 1999**).

Lors de détoxification du paracétamol, le cytochrome P450 2E1 régule le métabolisme d'activation de ce médicament. L'augmentation de l'activité de CYP2E1 intensifie la formation de NAPQI et les espèces réactives de l'oxygène (ERO) induisant ainsi au stress oxydatif (**Bertonili et al., 2006 ; Garcia et al., 2014**).

Cet état de stress, induit la diminution de l'activité des enzymes antioxydantes (Glutathione peroxydase GPx, Superoxyde dimutase SOD, Catalase CAT,) dans le foie et augmenter les enzymes sériques (de phosphate alcaline, transaminases SGOT et SGPT), la bilirubine et de diminuer la teneur en protéines totales (**Ahmed et al., 2011**).

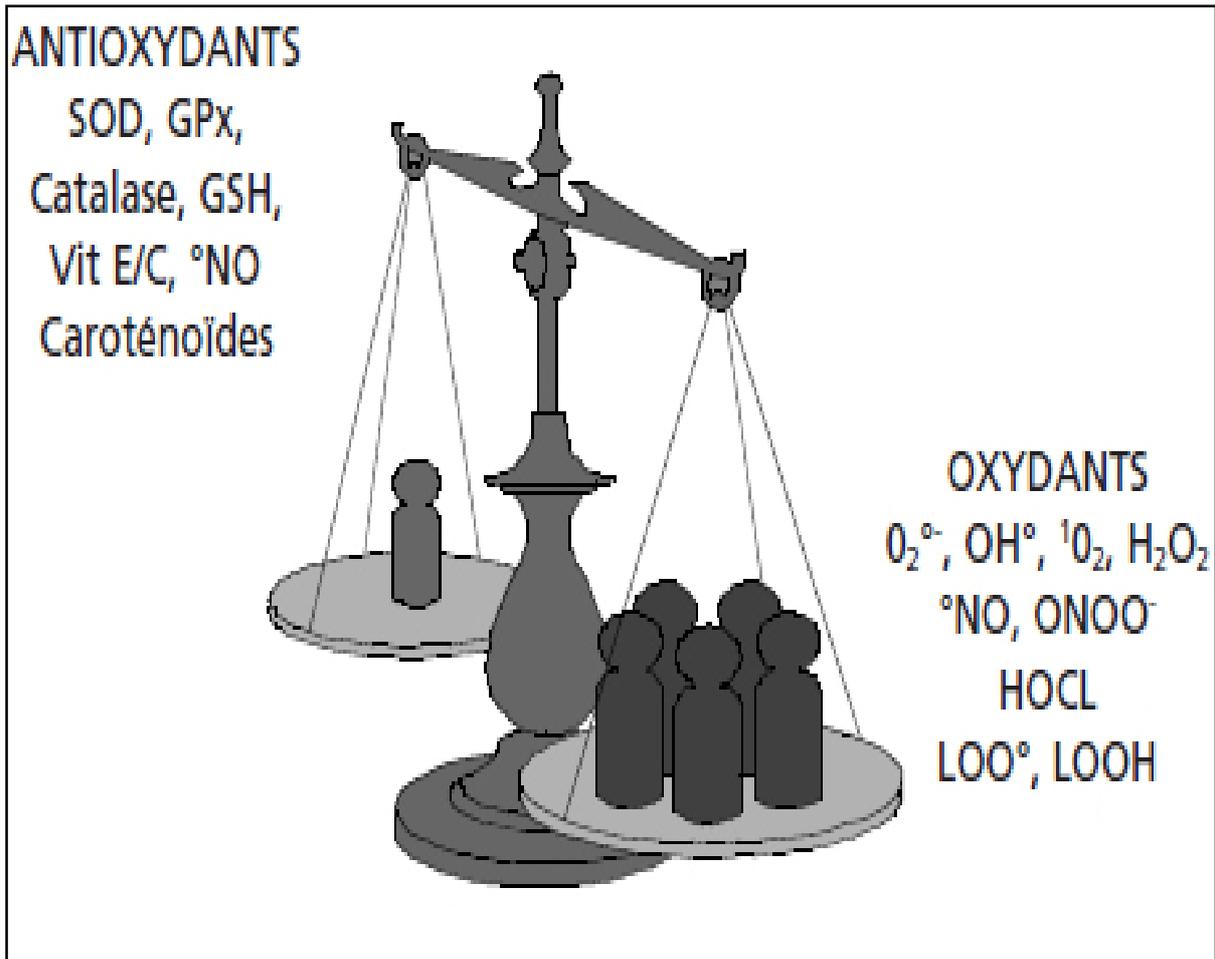


Figure 3 : Définition du stress oxydant (Morena et al, 2002)

D'autre part, une surdose du paracétamol fait épuiser le glutathion cellulaire (GSH) dans les cellules centrolobulaire, amplifiant ainsi le stress oxydant en même temps qu'un dysfonctionnement mitochondrial (Parmar et al., 2010 ; Garcia et al., 2014), la principale enzyme de désintoxication, GSH peroxydase, qui est très inefficace lors de la réduction du taux de GSH, s'étend à être inhiber, et conduit à une nécrose hépatocytaire, une insuffisance hépatique ou la mort cellulaire (James et al., 2003).

I.3. LE SYSTEME ANTIOXYDANT

I.3.1. LE POTENTIEL ANTIOXYDANT

L'organisme dispose d'un système de défense contre le stress oxydatif impliquant, divers mécanismes de prévention et de réparation, assurés par des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (**Valko et al., 2006**).

Un antioxydant est une substance qui, à faible concentration, prévient ou réduit l'oxydation d'un substrat (**Halliwell et Gutteridge, 1990**). Dans des conditions normales, il existe un équilibre entre le taux des antioxydants et les niveaux intracellulaires des prooxydants. Cet équilibre est essentiel pour la survie cellulaire (**Valko et al., 2006**).

Les antioxydants enzymatiques incluent un ensemble d'enzymes à savoir la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx), la catalase (CAT) (**Wheeler, et al., 1990**). Ou non enzymatiques qui sont représentés par les caroténoïdes, vitamines C et E, glutathion, acide urique, bilirubine, acide lipoïque, ubiquinone, ...). Mais aussi par certains oligo-éléments comme le cuivre, le zinc, le sélénium. Ces derniers sont indispensables pour l'activité des enzymes antioxydantes (Cu,Zn-SOD, MnSOD, SeGPx) (Figure 4) (**Pincemail et al., 2002**).

Le rôle de protection de ces enzymes peut être perturbé suite à divers processus pathologiques et provoque ainsi des dommages cellulaires (**Oyedemi et al., 2010**).

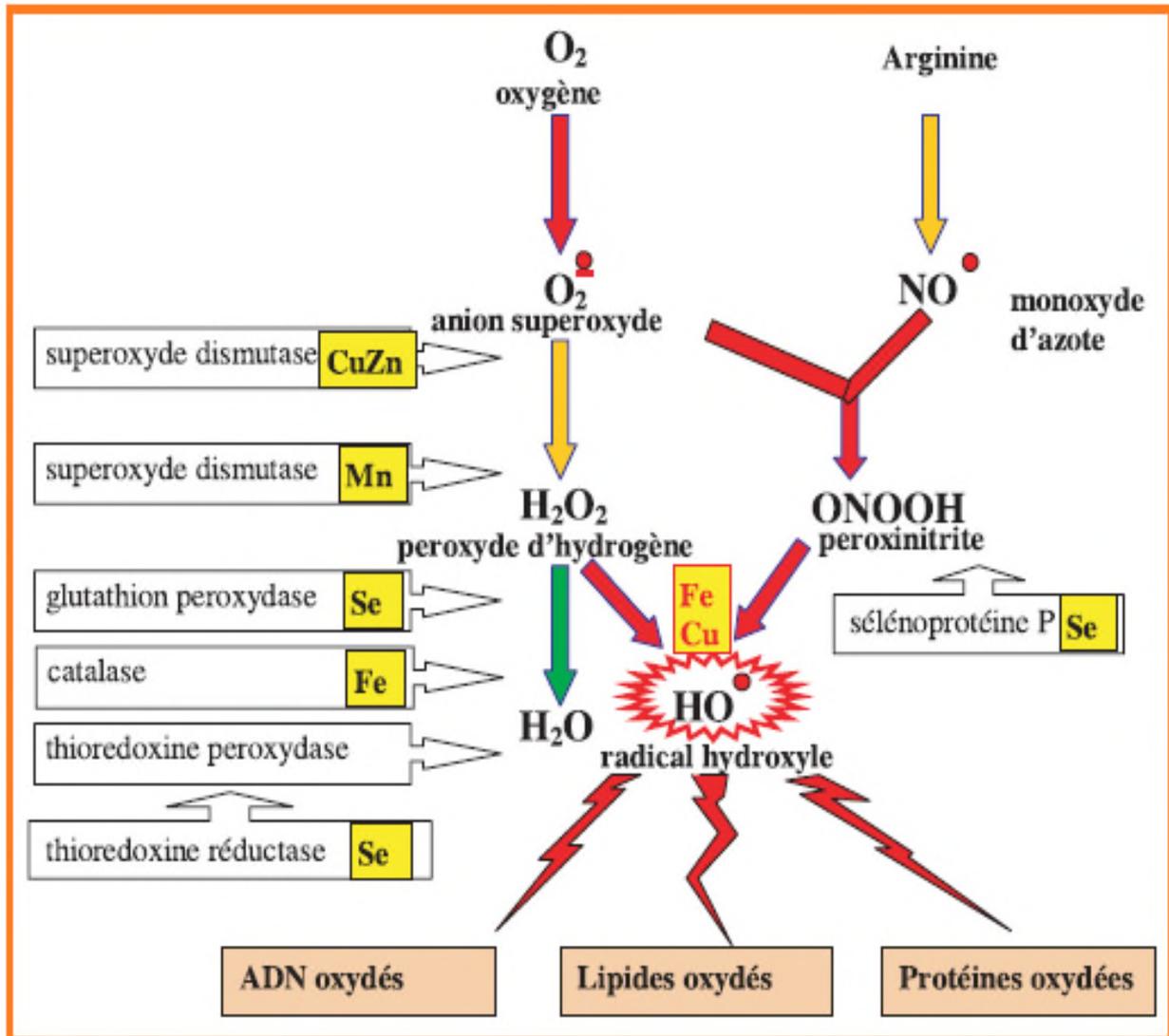


Figure 4 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003)

I.3.1.2. LA SUPEROXYDE DIMUTASE (SOD)

- DEFINITION

La superoxyde dismutase (SOD; EC 1.15.1.1) est une métalloenzyme qui existe dans la plupart des organismes. Elle représente la première ligne de défense enzymatique contre des ERO (Figure 5) (Sathya *et al.*, 2013 ; Romao, 2015). Son activité enzymatique a été décrite par McCord et Fridovich (Giannopolitis et Ries, 1977).

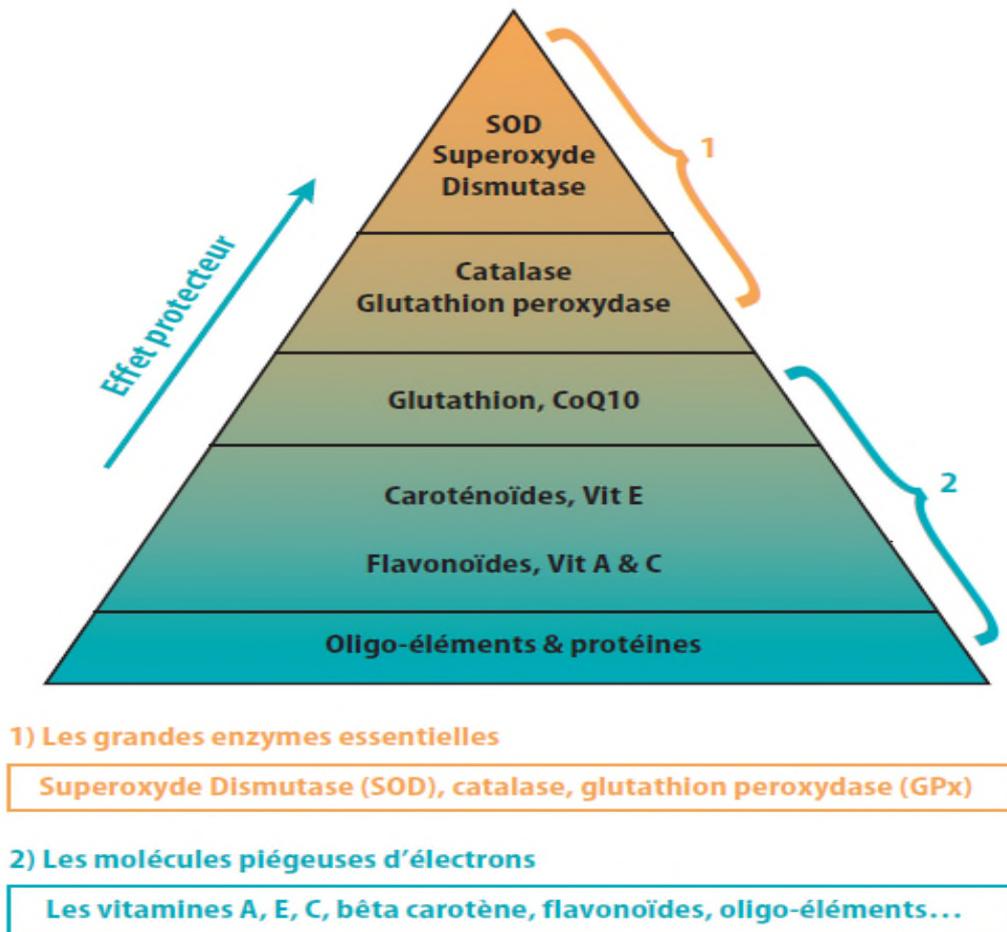


Figure 5 : La SOD parmi les autres piégeurs d'électrons (Joanny Menvielle-Bourg, 2005)

Il existe trois distincte isoformes de SOD chez les mammifères :

1. **SOD 1** : est une protéine homodimère de 32 kDa, a dans son centre catalytique du Cu et Zn (CuZn-SOD ou SOD1). Cette enzyme se trouve dans le cytoplasme, les compartiments nucléaires, et les lysosomes les cellules de mammifères (Matés *et al.*, 1999).

Le gène de la SOD1 a été localisé sur le chromosome 21 (région 21q22) chez l'homme (Figure 6), le chromosome 1 (1q12 →14) dans l'espèce bovine, et le chromosome 16 (région 16B4→ter) chez la souris (Matés, 2000 ; Zelko *et al.*, 2002).

2. **SOD 2** : SOD a le manganèse (Mn) en tant que cofacteur et a été localisée dans les mitochondries des cellules de l'organisme (Mn-SOD ou SOD2) (Matés, 2000 ; Qin *et al.*, 2008).

Elle existe sous la forme homotétramère avec une sous-unité moléculaire individuelle d'environ 23 KDa. Chez l'homme et la souris, le gène SOD2 a été localisé sur le chromosome 6, et a été sublocalisé sur 6q25 (Figure 6) (Zelko et al., 2002).

3. SOD 3 : Cet isoforme est découvert récemment. Elle a dans son centre catalytique du Cu et Zn (EC-SOD ou SOD3) (Choi et al., 2011). Elle existe sous forme d'un homotétramère moléculaire de 135 KDa avec une forte affinité pour l'héparine. Cette enzyme a été détectée pour la première dans le plasma humain, la lymphe, l'ascite, liquide céphalo-rachidien. Le profil d'expression de SOD3 est fortement restreint au type cellulaire spécifique et les tissus où ses activités peuvent dépasser celles de la SOD1 et SOD2 (Zelko et al., 2002).

Le gène de la SOD3 a été localisé sur le chromosome 4 (région 4p-q21) de l'humain (Figure 6). Il existe 40-60% de similarité entre le gène de la SOD3 et le gène SOD1 au niveau de l'exon, mais ne présente aucune similitude avec SOD2 (Figure 6) (Zelko et al., 2002).

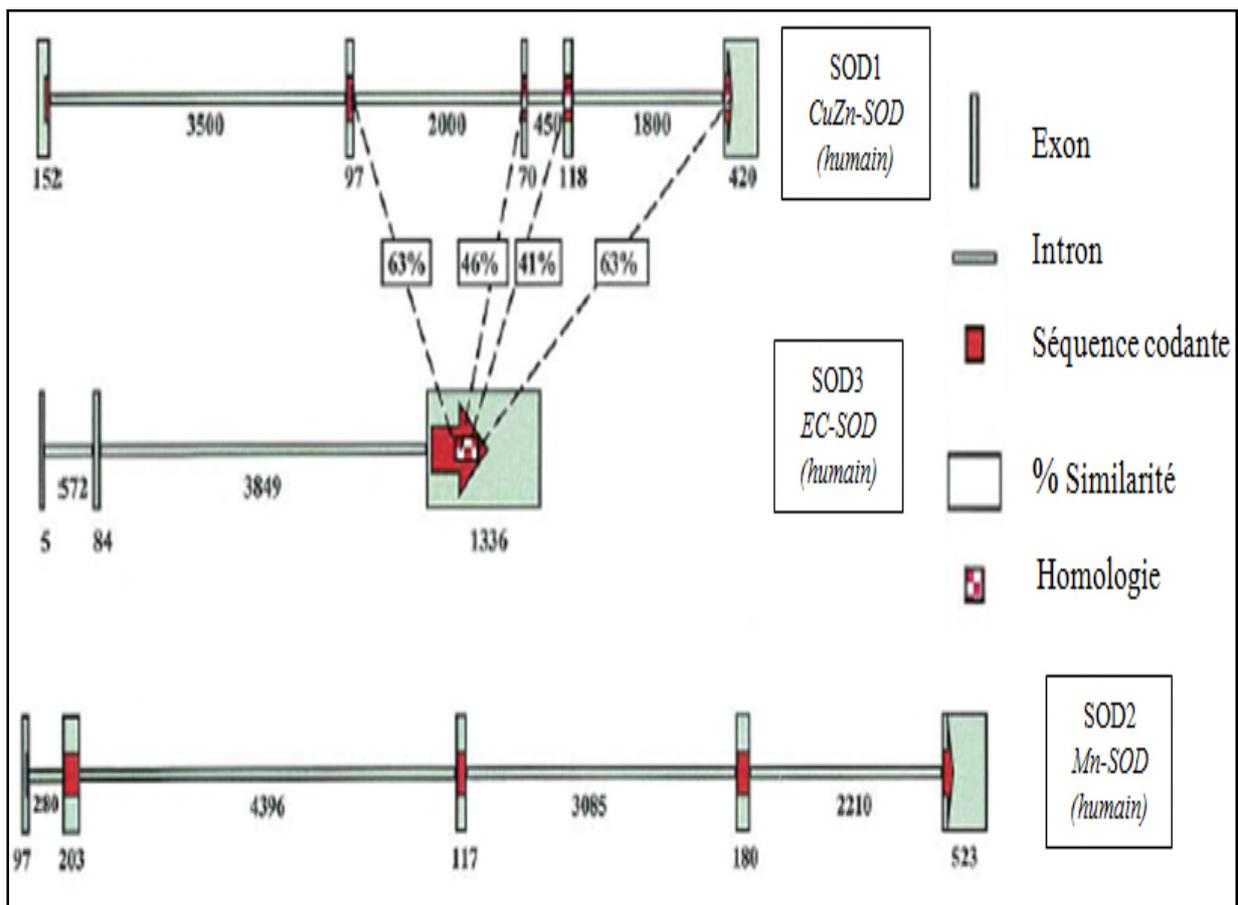


Figure 6: La famille de gène de la SOD (Zelko et al., 2002).

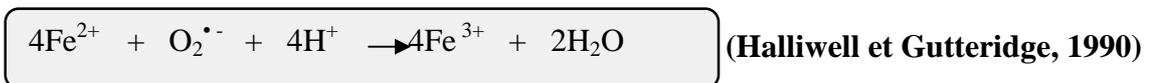
• **ROLE ET MECANISME D'ACTION DE LA SUPEROXYDE DISMUTASE**

Le rôle déterminant du superoxyde dismutase dans les systèmes de défenses antioxydants de l'organisme est connu depuis 1968. L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) est le point de départ de la chaîne de production des radicaux libres (**Giannopolitis et Ries, 1977 ; Sathya et al., 2013**).

Or, dès ce stade précoce, la superoxyde dismutase inactive l'anion superoxyde en le transformant en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) selon la formule suivante (**Halliwell et Gutteridge, 1990**) :



En présence de fer, l' $O_2^{\bullet -}$ et H_2O_2 peuvent interagir pour former le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) via la réaction de Fenton Haber Weiss (**Morena et al., 2002**) :



Par conséquent, le H_2O_2 est rapidement catabolisé par la catalase et les peroxydases en dioxygène (O_2) et en molécules d'eau (H_2O) (Figure 7) (**Romao, 2015**).

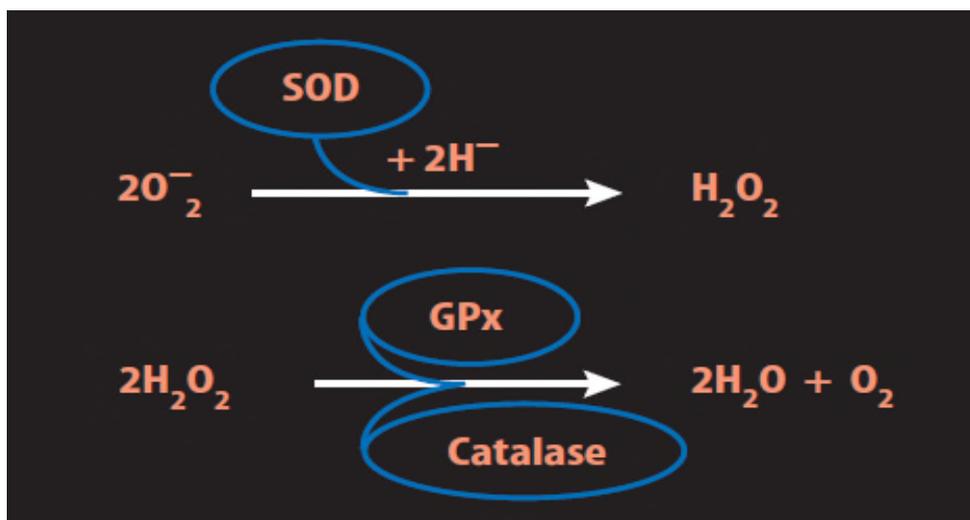


Figure 7 : La SOD initie le processus d'inactivation de l'anion superoxyde (**Joanny Menvielle-Bourg, 2005**)

L'anion superoxyde peut également réagir directement avec la forme réactive azotée NO[•] (monoxyde d'azote), pour donner le peroxynitrite (ONOO⁻), un puissant agent pro-oxydant, selon la réaction suivante (Morena et al., 2002) :



I.4. HEPATOPROTECTION DES PLANTES MEDICINALES

Pour valider l'utilisation traditionnelle des plantes, plusieurs études se sont intéressées à la détermination des activités biologiques des composés bioactifs contenant dans les extraits de plantes (Ouattara et al., 2003 ; Sharmila Banu et al., 2009).

Les pathologies hépatiques constituant un problème de santé publique à l'échelle mondiale, des travaux ont été entrepris afin d'apporter une base scientifique à l'utilisation des remèdes traditionnelles par les populations contre l'hépatotoxicité (Ouattara et al., 2003).

D'autre part, beaucoup de plantes médicinales Africaines sont traditionnellement utilisées pour la protection du foie contre l'intoxication. Certains de ces plantes ont prouvé leur efficacité thérapeutique et ont donné une validation de leur utilisation traditionnelle, à savoir, *Ocimum lamiifolium* Hochst ex. Benth (Lamiaceae) et *Crassocephalum vitellinum* (Benth) S. Moore (Asteraceae); *Telfairia occidentalis* Hook F. (Curcurbitaceae); *Aloe vera* (Aloaceae) (Manfo et al., 2014).

Notre objectif est l'étude de l'effet hépatoprotecteur de l'extrait éthanolique des bourgeons de *Populus nigra* en utilisant un modèle animal intoxiqué par le paracétamol et d'évaluer ainsi le potentiel antioxydant endogène hépatique par la mesure de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD).

Tableau II : Exemples de quelques plantes médicinales hépato-protectrices.

Plante	Famille	Partie utilisée	Extrait	Agent toxique	Références
<i>Crepis rueppellii</i>	Asteraceae	La plante entière	Ethanolique	CCL4	Fleurentin et <i>al.</i> , 1986
<i>Cassia occidentalis</i> L	Césalpiniaceae	Feuilles	Aqueux-éthanolique	Paracétamol et l'alcool éthylique	Jafri et <i>al.</i> , 1999
<i>Bauhinia racemosa</i> Lam.	Caesalpiniaceae	Ecorce de la tige	Méthanolique	Paracétamol et CCL4	Gupta et <i>al.</i> , 2004
<i>Ichnocarpus frutescens</i> R.Br.	Apocynaceae	La plante entière	Méthanolique	Paracétamol	Maity et <i>al.</i> , 2007
<i>Cansjera rheedii</i>	Opiliaceae	Plante entière	Ethanolique	Paracétamol	Mounnissamy et <i>al.</i> , 2008
<i>Carissa carandas</i> Linn	Acanthaceae	Racines	Ethanolique	Paracétamol et CCL4	Hegde et Joshi, 2009
<i>Andrographis paniculata</i>	Acanthaceae	Feuilles	Aqueux	Ethanol	Sivaraj et <i>al.</i> , 2011
<i>Dalbergia sisso</i>	Fabaceae	Ecorce de plante	Aqueux	Paracétamol CCL4	Narware et <i>al.</i> , 2012
<i>Pouteria campechiana</i>	Sapotaceae	Fruits	Aqueux	paracétamol	Aseervatham et <i>al.</i> , 2014
<i>Amorphophalls commutatus</i> var. wayanadens	Araceae	Les bulbes des tubercules	Méthanolique	CCL4	Raj et Gothandam, 2014
<i>Citrullus colocynthis</i>	Cucurbitaceae	Fruits	Méthanolique	Paracétamol	Vakiloddin et <i>al.</i> , 2015

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

II.1. MATERIEL BIOLOGIQUE

II.1.1. MATERIEL VEGETAL

La présente étude a été réalisée sur les bourgeons de *Populus nigra*, une plante médicinale locale largement utilisée dans la médecine traditionnelle (Figure 8).



Figure 8 : Photographie de l'arbre et de bourgeons de *Populus nigra* (site web).

• CLASSIFICATION

Règne	: Végétale
Embranchement	: Spermatophytes
Sous embranchement	: Angiospermes
Classe	: Dicotylédones
Ordre	: Salicales
Famille	: Salicaceae
Genre	: Populus
Espèce	: <i>Populus nigra</i>

Nom targui ou berbère : Asefçaf, Arig, Ouisd (**Beloued, 2001**).

Nom commun : Peuplier noir, le peuplier franc.

- **DESCRIPTION BOTANIQUE**

Le peuplier noir est un grand arbre qui peut atteindre 30 à 35 m de hauteur, au tronc flexueux de 2m de diamètre, avec de fortes branches et une écorce épaisse, fissurée, gris foncé puis noirâtre. Il se reconnaît à ses feuilles glabres et luisantes sur les deux faces, longuement pétiolées, triangulaires à extrémités effilées à limbe finement denté sur les bords, à ses bourgeons visqueux et glabres (**Häne et Dobbertin, 2006**).

- **HABITAT**

Le Peuplier noir occupe une répartition naturelle très vaste. Elle s'étend du Sud de l'Irlande au Nord de l'Afrique jusqu'au Nord-Ouest de la Chine (**Villar et al., 2012**). En Algérie, il se retrouve au niveau des forêts le long des cours d'eau douce, surtout en montagnes. Commun à El Kala, la Kabylie et Tlemcen (**Beloued, 2001**).

- **PROPRIETES ET USAGES THERAPEUTIQUES**

En Algérie, les utilisations traditionnelles de *Populus nigra* sont larges dans le traitement de nombreuses affections liées à un dysfonctionnement endothélial, les inflammations, l'arthrite, la bronchite et les maladies des voies respiratoires (**Debbache et al., 2013**). Elle présente aussi d'autres propriétés thérapeutiques comme les propriétés diurétiques, antiseptiques et diaphorétiques (**Schauenberg, 1977**). Les bourgeons de peuplier noir sont utilisés contre diverses affections douloureuses (**Häne et Dobbertin, 2006**).

- **COMPOSITION PHYTOCHIMIQUE**

D'après des études portées sur les différentes espèces du Peuplier, les bourgeons contiennent une grande variété de composés phénoliques, tel que les acides phénoliques (acides caféique, acide isoferulique,...) (**Dudonné et al, 2010**), et les flavonoïdes (flavones, les flavanones et les chalcones) qui représentent la majeure partie (**Jerkovic et Mastelic, 2002**).

II.1.2. MATERIEL ANIMAL ET CONDITIONS D'ELEVAGE

Afin d'étudier l'effet hépato-protecteur de l'extrait brut de *Populus nigra* sur des souris traitées par le paracétamol, un effectif de 69 souris albinos de sexe hétérogène de poids variant entre (22- 30g) a été utilisé (Figure 9). Ces animaux proviennent du centre d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger.

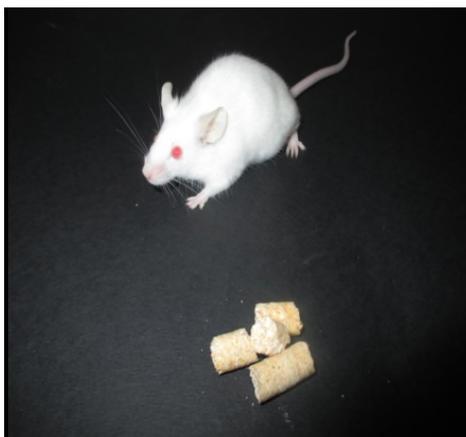


Figure 9 : Photographie de souris Albinos (originale).

L'expérimentation a été réalisée au niveau de l'animalerie de l'Université Abderahmane Mira de Bejaia. Elles ont été mises sous des conditions : de température ambiante entre 24-26° et d'humidité entre 60-70%, avec un accès libre à la nourriture (Granulés à base de maïs) et à l'eau du robinet, et un cycle d'éclairage et d'obscurité 12h /12 h (Figure 10).



Figure 10 : Photographie d'élevage des souris au sein de l'animalerie (originale).

II.2. METHODES EXPERIMENTALES

II.2.1. PREPARATION DES EXTRAITS

- La récolte des bourgeons fraîches de *Populus nigra* a été effectuée en printemps à l'aube dans la forêt d'Azrou n'Bechar d'Amizour située à l'est de la Wilaya de Bejaïa.
- Les bourgeons ont été séchés à l'ombre à température ambiante, puis ils ont été mis à l'étuve à 37°C pour enlever toute trace d'humidité. A l'aide d'un broyeur électrique, le matériel végétal a été broyé puis tamisé afin d'obtenir une poudre très fine (< 63µm) à partir de laquelle l'extraction a été réalisée.
- L'extraction des polyphénols à partir de poudre fine des bourgeons de *Populus nigra* a été réalisée en utilisant l'éthanol comme solvant avec un rapport de 1:4 (masse /volume). Le tout a été macéré pendant 24h sous agitation à l'abri de la lumière puis transféré dans des éprouvettes et laissé décanter durant 24h à l'ombre. Le surnageant a été récupéré dans des cristalloirs et laissé sécher sous la hotte jusqu'à obtention d'un résidu sec de poids stable. L'extrait a été conservé dans des flacons en verre hermétique à - 4°C afin de préserver tous les principes actifs de cet extrait.

Le poids de l'extrait est calculé comme suit :

$$P_{EXT} = P_F - P_o$$

P_o : Poids du cristalloir vide

P_F : Poids du cristalloir et l'extrait

P_{EXT} : Poids de l'extrait

II.2.2. METHODE D'ETUDE DE L'ACTIVITE HEPATO-PROTECTRICE

II.2.2.1. ETUDE DE L'EFFET PREVENTIF

L'hépatotoxicité des souris a été induite par un médicament, le paracétamol suivant le protocole de **Forouzandeh et al (2012)** avec quelques modifications.

Les souris ont été réparties en 7 groupes, l'extrait a été administré par voie intragastrique, pendant cinq jours, à la même heure et le paracétamol a été injecté par voie intrapéritonéale une heure après la dernière dose de l'extrait. Les différents traitements des différents groupes seront entrepris soit par voie intra-gastrique (figure 11(a)) soit par voie intra-péritonéale (IP) (figure 11(b)).

- Le groupe **contrôle négatif** a reçu du CMC et de l'eau physiologique.
- Le groupe **contrôle positif** a reçu du CMC et du paracétamol (400mg/kg).
- Le groupe **standard** a reçu de la silymarine (100mg/kg) et du paracétamol (400mg/kg).
- Les deux **groupes Tests** ont reçu du paracétamol (400mg/kg) après qu'ils ont été traités avec de l'extrait de *Populus nigra* à une dose de 100mg/kg pour l'un et 300mg/kg pour l'autre.
- Les deux **groupes contrôles** ont été traité avec l'extrait de *P.nigra* à une dose de 100 mg/kg, 300 mg /kg respectivement.

Les souris ont été privées de nourriture pendant 12 heures. Puis ont été sacrifiées sous anesthésie. Après une dissection (figure 11(c)), les foies ont été rapidement récupérés, rincés dans l'eau physiologique glacée, pesés et conservés au congélateur (-80°C) jusqu'au moment d'utilisation.

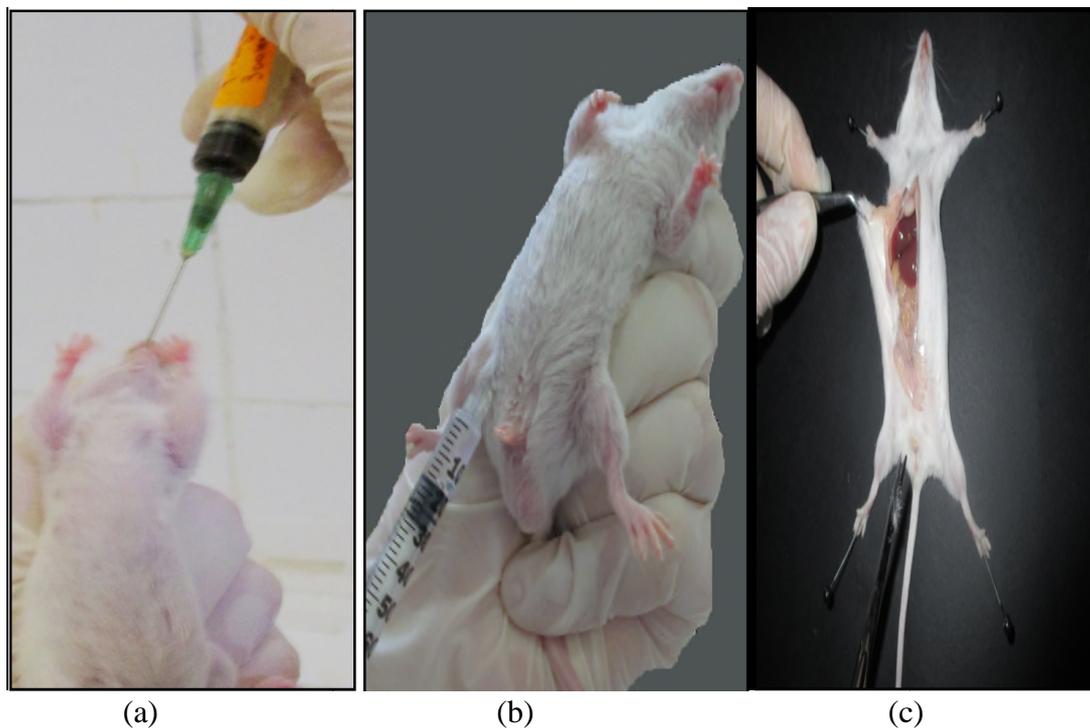


Figure 11 : Les étapes du traitement des souris (photographies originales).

- a) Injection intra-gastrique de l'extrait ; b) Injection IP de paracétamol ; c) Dissection ventro-médiane.

II.2.2.2. BROYAGE DE FOIES

Une partie du foie de chaque souris a été broyée dans le tampon KCl (0,15 mM) et EDTA (1 mM) à pH = 7,4 avec un rapport de 10% (p/v), afin d'obtenir un homogénat. Ce dernier a été mis dans des tubes et centrifugé pour 20 minutes à $T^{\circ}=4^{\circ}\text{C}$ et à 10000 rpm (figure 12). Le surnageant obtenu a été conservé à -80°C jusqu'au moment d'utilisation pour le dosage de l'activité SOD.

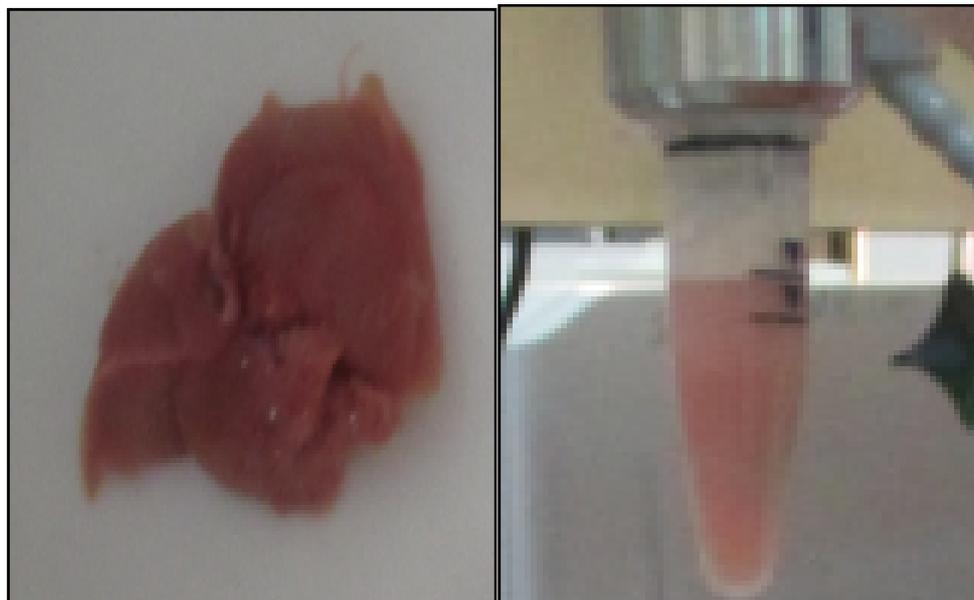


Figure 12 : Photographie des étapes de préparation de surnagent (originale).

II.2.2.3. MESURE DE L'ACTIVITE SUPEROXYDE DISMUTASE (SOD)

- **LE PRINCIPE**

L'activité du superoxyde dismutase (SOD) a été évaluée en suivant l'inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol en présence de la SOD hépatique selon la procédure décrite par **Marklund et Marklund (1974)** avec quelques modifications.

L'auto-oxydation du pyrogallol en présence d'EDTA est inhibée par la SOD. De pH 7.87 à 9.1, la réaction est inhibée jusqu'à 90% par la SOD, ce qui indique une totale dépendance de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) dans cette auto-oxydation (Figure 13) (**Gao et al., 1998**).

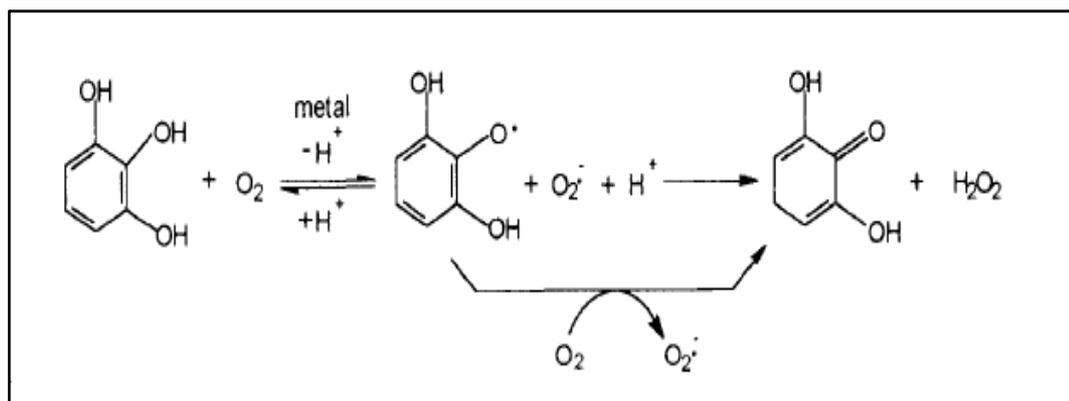


Figure 13 : Les étapes d'auto-oxydation du pyrogallol (Kim *et al.*, 1995).

Le principe du dosage de la SOD est basé sur la compétition entre la réaction d'oxydation du pyrogallol (15mM) par l'O₂^{•-} et la dismutation de l'O₂^{•-} par la SOD (Kim *et al.*, 1995).

• LA PROCEDURE

Le mélange réactionnel est constitué du tampon Tris-EDTA (pH = 8,2), 10μl d'homogénat et 100μl de solution pyrogallol (15mM). L'absorbance de chaque mélange a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 440nm pendant 3 minutes.

L'activité enzymatique est exprimée en unité/mg de protéine. Une unité enzymatique est définie comme la quantité de la SOD capable d'inhiber 50% de l'auto-oxydation de pyrogallol (Patel et Katyare, 2006).

• DOSAGE DES PROTEINES

La concentration de protéine dans le surnageant a été déterminée en utilisant la méthode Bradford (Bradford, 1976). Cette méthode est basée sur le changement de coloration du bleu de Coomassie en présence de concentrations variables de protéines (Bradford, 1976).

Un volume de 5 μ l d'échantillon est complété à 95 μ l d'eau distillée avec 5ml de solution Bradford. Ce test a été effectué sur l'ensemble des homogénats, et la lecture des absorbances a été faite à 595 nm contre un blanc.

Les concentrations en protéines ont été déterminées en utilisant une courbe d'étalonnage (voir annexes) établie en utilisant des concentrations croissantes en sérum d'albumine bovin (BSA).

II.3. 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 qui portent des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$), chaque valeur représente la moyenne \pm écart type ($n=6$).

Résultats et discussion

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. RESULTATS

- **Etude de l'activité hépatoprotectrice de l'extrait éthanolique des bourgeons de *Populus nigra***

L'activité hépato-protectrice de l'extrait éthanolique des bourgeons de *Populus nigra* a été évaluée *in vivo* sur des souris intoxiquées par le paracétamol par le dosage de l'enzyme hépatique endogène la superoxyde dismutase (SOD) selon le protocole décrit par **Marklund et Marklund (1974)** avec quelques modifications. Le taux de la superoxyde dismutase de chaque souris a été déterminé par U/mg de protéine

Les résultats obtenus montrent une variation significative de l'activité enzymatique SOD en présence ou en absence du paracétamol ainsi que par le traitement par l'extrait éthanolique des bourgeons de *Populus nigra* ou par le standard silymarine (Figure 14).

Le groupe témoin (C-) qui a reçu CMC et l'eau physiologique a révélé une activité enzymatique significative de $6,22 \pm 2,07$ U/mg de protéine dans le foie. Ce taux a été pris comme une valeur de référence dans notre étude.

les souris traitées avec une dose unique de paracétamol (400mg/kg) par injection intra-péritonéale, le dernier jour de l'expérience (le 5ème jour), ont montré un taux d'activité enzymatique de la SOD significative ($p < 0,05$) réduit par rapport au groupe témoin (Figure 14), ce qui correspond à une valeur de $3,55 \pm 0,91$ U/mg de protéine, presque la moitié du taux trouvé chez le groupe contrôle négatif de $6,22 \pm 2,07$ U /mg de protéine, donc le paracétamol a probablement provoqué une toxicité au niveau du foie.

Le traitement des souris avec la silymarine (100mg/kg) a amélioré le niveau de l'activité de l'enzyme anti-oxydante hépatique ($5,14 \pm 0,86$ U/mg de protéine). Ce taux est supérieur à celui enregistré chez le groupe de souris intoxiqué par l'APAP ($3,55 \pm 0,91$ U /mg de protéine) (Figure 14).

L'administration intra-gastrique de l'extrait brut des bourgeons *P.nigra* à une concentration de 100 mg/kg aux souris saines a présenté une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de l'activité enzymatique SOD. La valeur noté chez les souris contrôle à 100 est de $7,98 \pm 0,81$ U/mg de protéine, élevée par rapport au groupe C- ($6,22 \pm 2,07$ U /mg de protéine). Cependant, un taux de l'activité enzymatique SOD ($4,54 \pm 1,46$ U /mg de protéine),

considéré faible ($p < 0,05$) comparativement à la valeur norme de cette étude, a été noté chez les souris saines traitées avec l'extrait brut de *Populus nigra* à 300mg/kg.

Selon les résultats, le prétraitement des souris, pendant 5 jours, par l'extrait éthanoliques des bourgeons de *P.nigra* à différentes concentration (100mg/kg, 300mg/kg) par voie intra-gastrique, une heure avant l'administration de l'APAP, une amélioration significatif ($p < 0,05$) du potentiel antioxydant enzymatique a été enregistré, comparativement au groupe intoxiqué par l'APAP ($3,55 \pm 0,91$ U /mg de protéine) (Figure 14), ceci avec des valeurs de l'activité de la superoxyde dismutase de $8,69 \pm 0,66$ U /mg de protéine et de $5,98 \pm 0,95$ U /mg de protéine respectivement. Ces résultats montrent également un bon effet préventif marqué par l'extrait par rapport à celui exhibé par la molécule de référence la silymarine ($5,14 \pm 0,86$ U /mg de protéine).

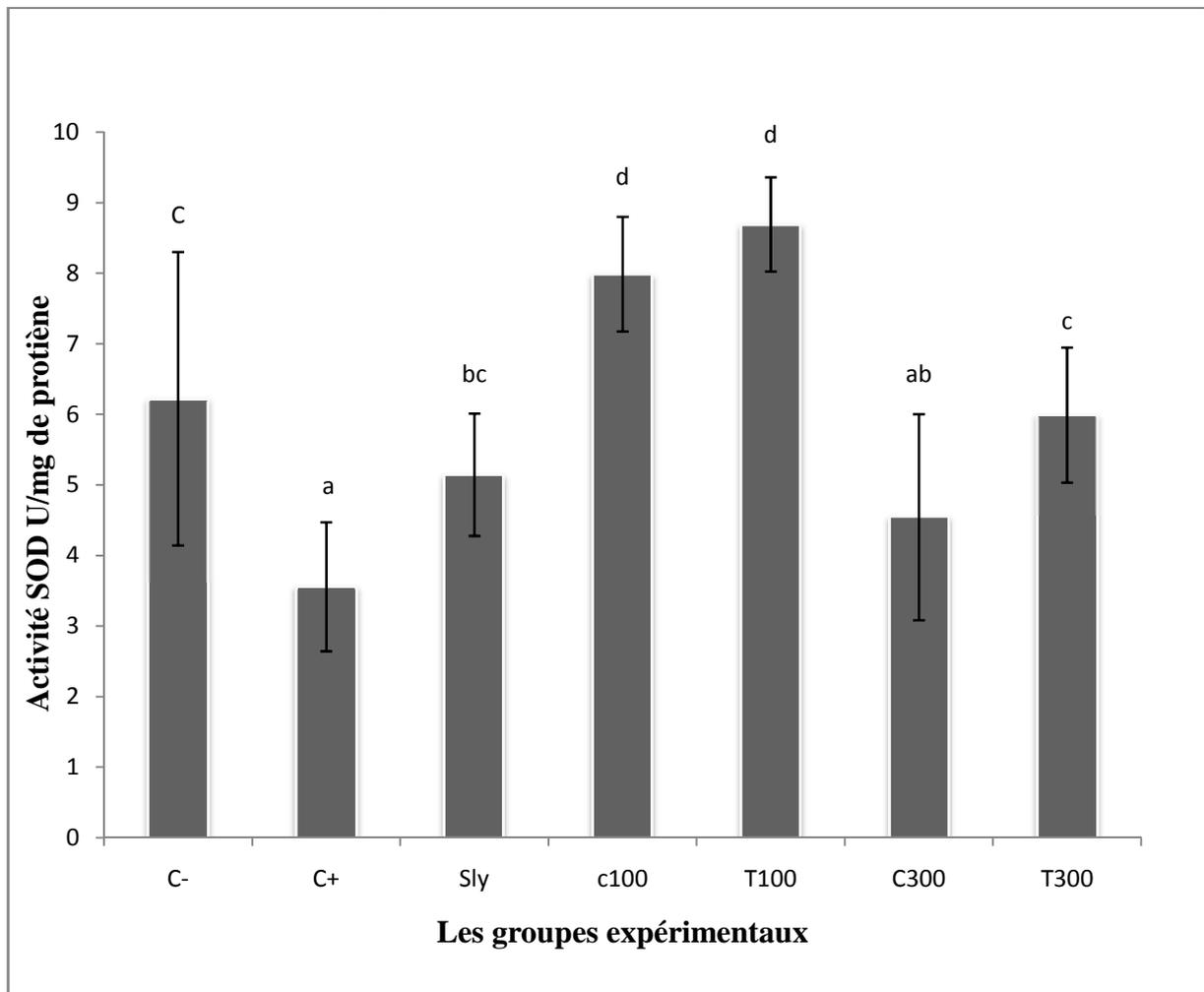


Figure 14 : Histogramme représentant l'effet de l'extrait éthanolique des bourgeons de *Populus nigra* sur l'activité superoxyde dimutase hépatique chez des souris (C- : contrôle négatif ; C+ : contrôle positif ; Sly = Silymarine (standard) ; C100 = contrôle 100mg/kg ; T100 = test 100mg/kg ; C300 = contrôle 300mg/kg ; T300 = Test 300mg/kg).

III. 2. DISCUSSION

Dans la présente étude les résultats démontrent l'hépatotoxicité chez les souris induite par l'APAP et l'effet hépatoprotecteur de la silymarine et de l'extrait éthanolique des bourgeons de *P.nigra* (Figure 14).

Le groupe véhicule qui a reçu de l'eau physiologique et du CMC a révélé un taux d'activité SOD de $6,22 \pm 2,07$ U /mg de protéine. Ceci concorde avec les résultats trouvés par Fakurazi et al (2012) où les rats du groupe témoin présentent un taux d'activité enzymatique proche du taux trouvé dans notre étude (**Fakurazi et al., 2012**).

D'après l'étude réalisée par Kanbur et al (2009) le taux observé chez les souris du groupe négatif est de $2,057 \pm 0,43$ U /mg de protéine (**Kanbur et al., 2009**). Ceci suggère que les souris témoins utilisées dans notre étude ont un potentiel antioxydant assez important en SOD hépatique.

Le foie joue un rôle essentiel dans le métabolisme et la détoxification des toxiques endogène et exogènes dans le corps. C'est au cours du métabolisme du médicament reconnu comme xénobiotique que le système enzymatique cytochrome P450 intervient. Ce dernier permet d'atténuer le processus d'élimination des composés indésirables (**Lahouel et al., 2004**).

En effet, il est clairement démontré aujourd'hui que les radicaux libres sont responsables des processus toxiques. C'est ainsi que le paracétamol est métabolisé par le cytochrome P450 pour donner un métabolite réactif (N-acétyl-p-benzoquinone imine) conduisant à la nécrose hépatique par peroxydation des lipides membranaires (**Lahouel et al., 2004**).

Au cours de la formation de ce NAPQI, l'anion superoxyde est formé, puis transformé en peroxyde d'hydrogène. Ce mécanisme peut conduire à une augmentation de superoxyde et de la toxicité. Aussi la peroxydation de l'acétaminophène pour la radicale libre semiquinone conduirait à un cycle redox entre le paracétamol et la semiquinone (**James et al., 2003**).

Des rapports suggèrent que la lésion hépatique aiguë est non seulement le résultat de la conversion d'APAP en NAPQI actif et sa liaison avec les protéines cellulaires et l'ADN, mais de dommages au foie causés par l'APAP sont également associés à l'activation de JNK MAPKinase (**Rashid et al., 2013**).

L'épuisement de GSH en raison de sa liaison avec NAPQI provoque l'élévation de la génération des ERO qui active à son tour JNK. Cette activité JNK provoque la phosphorylation des protéines anti-apoptotiques Bcl-2 et Bcl-xL et les rend inactifs. Par conséquent, l'équilibre entre les pro-apoptotiques et des protéines anti-apoptotiques est perturbé en faveur du premier (**Rashid et al., 2013**).

Ce processus augmente la perméabilité membranaire de la mitochondrie et déclenche la libération de cytochrome C des mitochondries au cytosol et réduit le niveau d'ATP cellulaire. Conduisant ainsi à la nécrose des cellules du foie (**Rashid et al., 2013**).

Nos résultats montrent que les souris auxquels on a injecté par voie intrapéritonéale une dose unique de paracétamol (400mg/kg) ont développé une atteinte hépatique significative ($p < 0,05$) et un stress oxydant qui se reflète par la réduction de l'activité de la SOD hépatique endogène en comparaison au groupe témoin, ce qui correspond à une valeur de $3,55 \pm 0,91$ U/mg de protéine presque la moitié du taux trouvé chez le groupe contrôle négatif ($6,22 \pm 2,07$ U/mg de protéine).

Les travaux de Rajeshkumar et al (2014) démontrent que la diminution de l'activité de la SOD ($1,94 \pm 0,21$ U/mg de protéine) chez le contrôle positif après administration de paracétamol (2000mg/kg) pourrait être dûe à la perte du cuivre et du zinc, qui sont essentiels pour l'activité enzymatique de la SOD. Il a été démontré que le paracétamol induit la perte de ces cofacteurs dans le foie. Ainsi la diminution de l'activité SOD est insuffisante pour piéger l'anion superoxyde produit au cours du processus métabolique normal (**Rajeshkumar et al., 2014**).

les résultats obtenus sont en accord avec l'étude réalisée par Ravinder Singh et al (2011) porté sur l'intoxication intrapéritonéal des rats par l'APAP (800 mg/kg) qui ont constaté un taux de SOD de $3,92 \pm 0,19$ U/mg de protéine (**Ravinder Singh et al., 2011**).

Ali et *al* (2012) ont observé une nette diminution de l'activité enzymatique SOD ($2,61 \pm 0,09$ u/mg de protéine) chez les rats intoxiqués par l'APAP (4000mg/kg) (**Ali et al., 2012**).

De même Abirahimi et *al* (2015) ont constaté que les souris intoxiqués par une dose de 2000mg/kg d'APAP induit une diminution de l'activité enzymatique SOD (**Abirahimi et al., 2015**).

Dans leur étude, Singh et Gupta (2011) ont administré 500mg/kg d'APAP aux rats, Ils ont constaté également une réduction importante du taux de la SOD ($4,50 \pm 0,52$ U /mg de protéine) (**Singh et Gupta, 2011**).

Ceci suggère que l'appauvrissement marqué du niveau de l'activité SOD est une manifestation claire de l'inactivation de l'enzyme antioxydante pour piéger les radicaux libres résultant du stress oxydatif et du déséquilibre du cycle redox qui à son tour propage les lésions hépatiques et altère le mécanisme de défense naturel de la SOD (**Vargas-Mendoza et al., 2014**).

Il a été rapporté que l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale (TNF) - alpha sont impliqués dans l'hépatotoxicité induite par l'acétaminophène. La stimulation partielle du stress oxydatif pour la libération accrue de ces cytokines inflammatoires, pourrait causer un déséquilibre de cytokine, un dysfonctionnement cellulaire immunitaire et l'apoptose même du foie (**Faber 2010 ; Garcia et al., 2014**).

La MCP-1 est produite au niveau du site d'infection ou d'une blessure, et agit en tant que chimiokine pour le recrutement des monocytes et lymphocytes. L'augmentation de l'expression de l'ARNm hépatique de cette chimiokine a été observée chez les souris traitées avec l'APAP, ce qui facilite la réponse inflammatoire du foie système immunitaire inné. Ainsi, toute Agent avec des effets suppressifs sur les cytokines inflammatoires et /ou chimiokines peuvent être en mesure d'améliorer les lésions hépatiques induites par le paracétamol (**Faber 2010 ; Garcia et al., 2014**).

Il a été signalé que le surdosage par l'APAP peut provoquer une hépatotoxicité par des mécanismes de déclenchement de la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle (HO^{\cdot}), espèces réactives de l'azote (RNS), tels que l'oxyde nitrique et le peroxyde d'azote ($ONOO^{\cdot}$). Par conséquent, le stress oxydatif constitue un important mécanisme qui accompagne la pathogénèse de l'atteinte hépatique induite par le paracétamol (**Borman, 2009**).

Les souris qu'on a traité avec la silymarine à une dose de 100mg/kg ont montré une amélioration nette du niveau de l'activité de l'enzyme anti-oxydante hépatique ($5,14 \pm 0,86$ U /mg de protéine), on constate que ce taux est supérieur à celui noté chez le groupe intoxiqué par l'APAP ($3,55 \pm 0,91$ U /mg de protéine). Ceci suggère que la silymarine contient des composés bioactifs qui ont pu protéger le foie de ces animaux contre l'intoxication du paracétamol.

En effet, la silymarine est un antidote naturel bien toléré et efficace contre l'hépatotoxicité (**Fraschini et al., 2008**). C'est un flavonolignan de «chardon» (*Silybum marianum*) constitué de quatre isomères, à savoir flavonolignan silybine, isosilybine, la silydianine et la silychristine (**Ghedira, 2005 ; Pradhan et Girish, 2006**).

La silymarine est un médicament de référence, stabilisant la membrane et des activités antioxydantes. Elle favorise la régénération hépatocytaire, réduit les réactions inflammatoires, et inhibe la fibrogenèse, elle agit en tant qu'immunomodulateurs et les mécanismes de régénération du foie (**Pradhan et Girish., 2006 ; Madrigal-Santillán et al., 2014**).

Rajeshkumar et al (2014) ont démontré que le traitement des rats intoxiqués par 2000mg/kg de paracétamol avec de la silymarine 20mg/kg a induit un effet hépatoprotecteur en enregistrant un taux de $4,63 \pm 0,39$ U/mg de protéine (**Rajeshkumar et al., 2014**).

Il a été rapporté par plusieurs études (Lee et al., 2011 ; Sarumathy et al., 2011; Dong et al., 2014) que la silymarine présente un effet hépatoprotecteur significatif contre l'hépatotoxicité du paracétamol (**Lee et al., 2011 ; Sarumathy et al., 2011; Dong et al., 2014**).

Testée sur un modèle expérimental animal, la silymarine a montré qu'elle exerce un effet positif sur les hépatocytes intacts et sur les cellules hépatiques endommagées, en agissant sur la membrane cellulaire, prévenant ainsi l'entrée des substances toxiques, et elle stimule la capacité de régénération des cellules hépatiques après hépatectomie partielle (Ghedira, 2005). La silymarine affecte également la synthèse de l'ARN et de l'ADN et elle réduit le niveau du facteur de nécrose tumorale TNF- α , ce qui diminue l'inflammation (Fraschini et al., 2002 ; Vargas-Mendoza et al., 2014)

L'activité hépatoprotectrice de la silymarine peut être expliquée par ses propriétés antioxydantes qui découlent de sa nature phénolique (Madrigal-Santillán et al., 2014). En effet, des rapports ont montré que la silymarine, un 3-oxyflavone aux propriétés antioxydantes protège les dommages du foie induite par l'acétaminophène, même à de faibles niveaux réduite de GSH, éventuellement en piégeant l'anion superoxyde et des radicaux alcoxydes (Ajith et al., 2007).

Selon une étude portée sur des hépatocytes de rat, le traitement avec la silymarine a normalisé les paramètres biochimiques élevés de sérum et le foie, provoqués par l'acétaminophène, par son action stabilisante sur la membrane plasmique (Pradhan et Girish, 2006).

L'administration intra-gastrique de l'extrait brut des bourgeons *P.nigra* à une concentration de 100 mg/kg aux souris saines a présenté une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de l'activité enzymatique SOD ($7,98 \pm 0,81$ U/mg de protéine) par rapport au témoin, au contrôle 300mg/kg ($4,54 \pm 1,46$ U/mg de protéine). L'accroissement de l'activité SOD hépatique chez les souris saines peut être dû à la richesse de l'extrait brut en métabolites secondaires doués d'une activité antioxydant.

Debbache et al (2013) ont rapporté une activité antioxydante de l'extrait brut de *P.nigra* et une composition importante en composés phénoliques notamment en : phénols totaux ($51,78 \pm 4,56$ mg équiv catéchine/g d'extrait), des flavonoïdes ($13,67 \pm 0,34$ mg équiv quercétine /g) et des tannins ($228,72 \pm 6,90$ mg équiv acide tannique /g). Et d'après Jerkovic et Mastelic (2002) les flavonoïdes (les flavones, les flavanones et les chalcones) représentent la majeure partie des composants des bourgeons de *Populus nigra* (Jerkovic et Mastelic, 2002).

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo- γ -pyrone, comprenant des noyaux phénoliques et pyrane et au cours du métabolisme des groupes hydroxyles sont ajoutés, méthylés ou sulfatés (**Rahman, 2007 ; Vargas-Mendoza et al., 2014**). Les propriétés biologiques de ces composés sont déterminées par la nature et la position des substituants et le nombre des groupes hydroxyles (OH) (**Rahman, 2007**).

Ainsi, ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes (hexokinase, aldose réductase, la phospholipase C, la protéine kinase C, la cyclooxygénase, lipoxycgénase, myéloperoxydase, NADPH oxydase et la xanthine oxydase) (**Fraschini et al., 2002**). Ou bien d'induire l'expression des enzymes antioxydants endogènes tels que la catalase, glutathion peroxydases et la superoxyde dismutase (**Akhlaghi et Bandy, 2009**).

Le traitement préventif des souris, pendant 5 jours, avec l'extrait éthanoliques des bourgeons de *P.nigra* à différentes concentration (100mg/kg, 300mg/kg) par voie intra-gastrique, contre l'effet hépatotoxique de l'APAP a montré un accroissement significatif ($p < 0,05$) de l'activité de la superoxyde dismutase, par rapport au groupe contrôle positif ($3,55 \pm 0,91$ U/mg de protéine) et groupe de la silymarine ($5,14 \pm 0,86$ U/mg de protéine). Ceci avec un potentiel d'activité de la SOD élevé chez le groupe traité avec 100mg/kg d'extrait. Démontrant de ce fait que l'extrait brut exerce un effet hépatoprotecteur contre le paracétamol, où le stress oxydatif induit par ce médicament dans le foie a été sensiblement atténué par le traitement avec l'extrait à 100mg/kg d'extrait en améliorant l'activité de la SOD.

En effet, le taux de l'activité de la SOD notée chez le groupe de souris Test 100 est supérieur à celui du groupe Test 300. Ce qui suggère que l'extrait brut des bourgeons de *Populus nigra* a protégé d'une manière inversement proportionnelle les souris hépatotoxiques, c'est-à-dire l'effet hépatoprotecteur est maximal à faible dose (100mg/kg).

Ce cas de figure a été rapporté par les études expérimentales de Yen et al (2007) ; Ravinder Singh et al (2011), en testant l'effet hépatoprotecteur des l'extraits éthanoliques de *Cuscuta chinensis* (à 125 et 250 mg /kg) et celui des racines de *Premna serratifolia* (à 250mg/kg et 500mg/kg) respectivement, sur un model animal intoxiqué par le paracétamol (**Yen et al., 2007 ; Ravinder Singh et al., 2011**).

Vakiloddin et al (2015) ont démontré l'effet hépatoprotecteur de l'extrait méthanolique des fruits de *Citrullus colocynthis* à une dose 300mg/kg chez des souris intoxiquées par 200mg/kg d'APAP en enregistrant un potentiel d'activité enzymatique SOD de $5,58 \pm 0,16$ U/mg de protéine (Vakiloddin et al., 2015). Similaire à celui enregistré suite au traitement des souris avec l'extrait de *Populus nigra* à 300mg/kg.

L'extrait aqueux éthanolique de *Zingiber officinale* à des doses de 200 and 400 mg/kg a empêché l'hépatotoxicité aiguë induite par l'APAP en améliorant l'activité antioxydant hépatique, avec une protection à faible dose (200 mg/kg) (Ajith et al, 2007).

D'après Goetz (2011) les bourgeons de *Populus nigra* contiennent des acides phénoliques tels que l'acide caféique, acide p-coumarique, la quercétine et lutéolin Goetz (2011).

Il a été rapporté que la quercétine, issue d'*Artemisia scoparia*, est considérée comme un puissant protecteur contre les lésions hépatiques induites par le paracétamol chez les rats et les souris (Ghedira, 2005). D'après Han et al (2007) la quercétine est capable d'induire une augmentation de l'activité enzymatique de la SOD hépatiques chez les souris (Han et al., 2007).

Une récente étude menée par El-Nekeety et al (2014) sur l'effet hépatoprotecteur de la quercétine contre la cytotoxicité, les lésions de l'ADN et le stress oxydatif chez les rats traités avec un agent toxique qui est des aflatoxines (AF). A montré que la quercétine a induit un effet hépatoprotecteur et une réparation des dommages oxydatifs de stress dans les tissus du foie d'une manière dose dépendante (El-Nekeety et al., 2014).

Les mécanismes de cette protection sont expliqués, par la stabilisation de l'état redox et le maintien de la capacité antioxydante offerte, mais aussi par la passibilité d'un blocage des canaux calciques exercé par la quercétine (El-Nekeety et al., 2014).

Lahouel et *al* (2004) ont noté que les flavonoïdes notamment la diosmine et la quercétine contenants dans la propolis (**Lahouel et *al.*, 2004**) exercent un effet hépatoprotecteur par l'amélioration du profil lipidique, MDA et l'activité de la SOD chez la souris intoxiquées par le fenvalérate, Ou par réduction des taux des ERO (**Al-Amoudi, 2015**).

La résine sécrétée par les bourgeons de *P.nigra* est couramment utilisée par les abeilles pour produire de la propolis (**Fabris et *al.*, 2013**). De ce fait, on peut suggérer que l'extrait brut des bourgeons de *P.nigra* présente un effet hépatoprotecteur contre divers agents hépatotoxiques autre que le paracétamol grâce à ces deux composés bioactifs.

Conclusion

Populus nigra est une plante de la famille des Salicacées, très utilisée dans le monde pour ces propriétés thérapeutiques. En effet les bourgeons de *P.nigra* ont révélé des propriétés diurétiques, anti-inflammatoires et antiseptiques liées à sa richesse notamment en tannins, en acides phénoliques et en flavonoïdes (Dudonné et al., 2011 ; Debbache et al., 2013). Toutefois son activité hépatoprotectrice n'a jamais été évaluée.

Nous nous sommes alors intéressées à cette problématique et nous avons procédé à des expériences visant à évaluer l'activité hépato-protectrice de l'extrait des bourgeons de *P. nigra* à différentes concentrations, par le dosage de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD).

Les résultats obtenus montrent que le traitement des souris avec les deux concentrations 100 et 300mg/kg de l'extrait éthanolique des bourgeons de *P.nigra* a un effet hépatoprotecteur contre l'intoxication induite par le paracétamol, qui est supérieur à celui exhibé par la molécule de référence, la sylimarine, où les activités enzymatiques de la SOD étaient de $8,69 \pm 0,66$ U/mg de protéines et $5,98 \pm 0,95$ U /mg de protéines pour le test 100 et 300 respectivement.

Les divers aspects abordés dans cette étude ouvrent de nouvelles perspectives de recherche afin d'établir le mécanisme de l'effet hépatoprotecteur des polyphénols des bourgeons de *P.nigra*. À cet effet, il serait intéressant de :

- Evaluer d'autres activités enzymatiques à savoir, la catalase (CAT), la glutathion (GSH), et la glutathion peroxydase (GPX).
- Tester l'extrait éthanolique des bourgeons de *Populus nigra* à des doses de 50mg/kg et 200mg/kg à fin de confirmer l'effet hépatoprotecteur inversement proportionnel noté.
- Tester l'effet curatif de l'extrait brut des bourgeons de *P.nigra*.
- Utilisation d'autres agents toxiques comme tétrachlorure de carbone (CCL4), les aflatoxines (AFS), qui permettront de mieux élucider le mécanisme d'action hépatoprotecteur de l'extrait de cette plante.
- Identifier et isoler les composés bioactifs responsables de cette hépatoprotection.

Références bibliographiques

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abirami, A., Nagarani, G. and 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.
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P. and Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Revue du Rhumatisme*, 74 :636-643.
- Ahmed, M.F., Rao, A.S., Thayyil, H., Ahemad, S.R. and Ibrahim. M. (2011). Role of *Melia azedarach* leaf extract in paracetamol induced hepatic damage in rats. *Pharmacognosy Journal*, 3 (21): 60-64.
- Ajith, T.A. Hema, U. Aswathy, M.S. (2007). *Zingiber officinale* roscoe prevents acetaminophen-induced acute hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 2267-2272.
- Akhlaghi, M. and Bandy. B. (2009). Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia–reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 46:309-317.
- Al-Amoudi, W. (2015). Ameliorative role and antioxidant effect of propolis against hepatotoxicity of fenvalerate in albino rats. *J Cytol Histol*, 6 (1):2-5.
- Al-Asmari, A.K., Al-Elaiwi, A., Tanwir Athar, M.D., Tariq, M., Al Eid, A. and Al Asmary, S.M. (2014). A review of hepatoprotective plants used in saudi traditional medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-22.

- Ali, Z.A., Atia, H.A. and Ibrahim, N.H. (2012). Possible hepatoprotective potential of *Cynara scolymus*, *Cupressus sempervirens* and *Eugenia jambolana* Against Paracetamol-Induced liver Injury: *In-vitro* and *In-vivo* Evidence. *Nature and Science*, 10 (1): 75-85.

B

- Beloued, A. (2001). *Plantes médicinales d'Algérie*. Office des publications universitaires. 150 p.
- Bertolini, A., Ferrari, A., Ottani, A., Guerzoni, A., R, Tacchi. And Leone, S. (1998). Paracetamol: New vistas of an old drug. *Journal compilation*, 12 (3): 250-275.
- Borman, M.S. (2009). Organ-specific warnings; internal analgesic, antipyretic, and antirheumatic drug products for overthe- counter human use; final monograph. *Federal Register*, 74 (81): 19385-19409.

C

- Choi, I, In-Yang, Y., Don-Song, H., Jeong-Lee, J., Kang, T., Sung, J.J. and Yi, J. (2011). Lipid molecules induce the cytotoxic aggregation of Cu/Zn superoxide dismutase with structurally disordered regions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 18(12) :41- 48.
- Choukri, A. (2014). Intérêt de l'utilisation tardive de la N-acétylcystéine. *Rev Tox Algérie*.
- Cui, Y., Han, Y., 1, Yang, X., Sun, Y. and Zhao, Y. (2014). Protective Effects of quercetin and quercetin-5', 8-Disulfonate against carbon tetrachloride-caused oxidative liver injury in mice. *Molecules*, 19:291-305.

- Clayden, J., Warren, S., Greeves, N. and Wothers, P. (2003). Chimie organique. De boeck. 2^{ème} Ed. Paris.

D

- Danel, V. et Saviuc, P. (2005). Syndrome hépatotoxique. *Elsevier SAS*, 41-50.
- Dangoumau, J. (2006). Pharmacologie générale. Département de pharmacologie. Université Victor Segalen Bordeaux 2.
- Debbache-Benaida, N., Atmani-Kilani, D., Schini-Keirth, V.B., Djebbli, N. et Atmani, D. (2013). Pharmacological potential of *Populus nigra* extract as antioxidant, antiinflammatory, cardiovascular and hepatoprotective agent. *Asian Pac J Trop Biomed*, 3(9): 697-704.
- Dong, D., Xu, L., Han, X., Qi, Y., Xu, Y., Yin, L., Liu, K. and Peng, J. (2014). Effects of the total saponins from *Rosa laevigata* Michx fruit against acetaminophen-induced liver damage in mice via induction of autophagy and suppression of inflammation and apoptosis. *Molecules*, 19 :7189 -7206.
- Dudonné, S., Poupard, P., Coutière, P., Woillez, M., Richard, T., Mérillon, J.M. and Vitrac X. (2011). Phenolic composition and antioxidant properties of poplar bud (*Populus nigra*) extract: Individual antioxidant contribution of phenolics and transcriptional effect on skin aging. *J Agric Food Chem*, 59 (9): 4527- 4536.

E

- El-Nekeety, A.A., Abdel-Azeimb, S.H., Hassan, A.M. , Hassand, N.S., Alya, S.E., Mosaad A. Abdel-Wahhab, M.A. (2014). Quercetin inhibits the cytotoxicity and oxidative stress in liver of rats fed aflatoxin-contaminated diet. *Toxicology Reports*, 1: 319-329.

F

- Faber, K., Rauber-Lüthy, C., Kupferschmidt, H. and Ceschi, A. (2010). Intoxication aiguë au paracétamol : Clinique, diagnostic et traitement. *Forum Med Suisse*, 10(38):647-651.
- Fakurazi, S., Sharifudin, S.A. and Arulselvan, P. (2012). *Moringa oleifera* hydroethanolic extracts effectively alleviate acetaminophen-induced hepatotoxicity in experimental rats through their antioxidant nature. *Molecules*, 17: 8334-8350.
- Favier, L. (2002). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.
- Fleurentin, J., Hoefler, C., Lexa, A., Mortier, F. and Pelt, J.M. (1986). Hepatoprotective properties of *Crepis rueppellii* and *Anisotes trisulcus*: two traditional medicinal plants of Yemen. *J. Ethnopharmacol*, 16(1): 105-111.
- Forouzandeh, H., Azemi, M.E., Rashidi, I., Goudarzi, M. et Kalantarid, 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.
- Fraschini, F., Demartini, G. and Esposti, D. (2002). Pharmacology of silymarin. *Clin Drug Invest*, 22(1):51-65.

G

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Garcia, N.P., Lores, O.F., Fuentes, D.P., Martinez, D.T., Hernandez, J.B., Rivas, L.P., Martin, O.P. and Batista-Duharte, A. (2014). Reduction of hepatotoxicity induced by acetaminophen overdoses in a mouse model of inflammation induced by Freund's adjuvants. *J Allergy Ther*, 5 (4):2-7.
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, (4): 162-169.
- Giannopolitis, C.N. and Ries, K.R. (1977). Superoxide dismutases. *Plant Physiol*, 59: 309-314.
- Goetz, P. (2011). Phytothérapie clinique : Phytothérapie de l'inflammation (partie I). *Phytothérapie*, 9:310-317.
- Guma, M.A. (2012). Synthesis and characterization of acetaminophen (paracetamol) from acetanilide by diazotization reaction and comparing with crude. *J. of university of Anbar for pure science*, 6(3).
- Gupta, M., Mazumder, U.K., Kumar, T.S., Gomathi, P. and Kumar, R.S. (2014). Antioxidant and hepatoprotective effects of *Bauhinia racemosa* against paracetamol and carbon tetra-chloride induced liver damage in rats. *Iranian Journal of pharmacology & therapeutics*, 3:12-20.
- Gupta, A.K., Irchhaiya, R., Chitme, H.R. and Misra, N. (2015). Free radical scavenging activity of *Rauwolfia serpentina* rhizome against CCL4 induced liver injury. *IJP*, 2(3): 123-126.

H

- Haliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1990). The antioxidant of human extracellular fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 280(1):1-8.
- Häne, K et Dobbertin, M.K. (2006). Le peuplier noir : un géant aux pieds d'argile. *Echos de la recherche*, 28-29.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Han, X., Shen, T. and Lou, H. (2007). Dietary polyphenols and their biological significance. *Int. J. Mol. Sci*, 8:950-988.
- Hogestatt, E.D., Jonsson, A.J., Ermund, A., Andersson, D.A., Bjork, H., Alexander, J.P., Cravatt, B.F., Basbaum, A.I. and Zygmunt, P.M. (2005). Conversion of acetaminophen to the bioactive *N*-acylphenolamine AM404 via fatty acid amide hydrolase-dependent arachidonic acid conjugation in the nervous system. *The Journal of biological chemistry*, 280 (36):31405-31412.
- Hedge, K. and Joshi, A.B. (2009). Hepatoprotective effect of *Carissa carandas* Linn root extract against CCL4 and paracetamol induced hepatic oxidative stress. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47: 660-667.
- Horde, K. (2014). Hépatotoxicité. *Santé médecine*.

J

- Jafri, M.A., Jalis, S.M., Javed, K. and Singh, S. (1999). Hepatoprotective activity of leaves of *Cassia occidentalis* against paracetamol and ethyl alcohol intoxication in rats. *J. Ethnopharmacol*, 66(3): 355-361.
- James, L.P., Mayeux, P.R. and Hinson, J.A. (2003). Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 31:1499-1506.
- Jerkovic, I. and Mastelic, J. (2002). Volatile compounds from leaf-buds of *Populus nigra* L. (Salicaceae). *Phytochemistry*, 63: 109-113.
- Joanny Menvielle-Bourg, F. (2005). La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. *Phytothérapie*, 3: 118-121.

K

- Kanbur, M., Eraslan, G., Beyaz, L., Silici, S., Liman, B.C. Altınordulu, S., Atasever, A (2009). The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61: 123-132.
- Kerckhove, N. (2012). Le paracétamol : mécanisme d'action enfin élucidé ?.
- Kerckhove, N., Mallet, C., François, A., Boudes, M., Chemin, J., Voets, T., Bourinet, E., Alloui, A. and Eschalier A. (2014). Cav 3.2 calcium channels: the key protagonist in the supraspinal effect of paracetamol. *J Pain*, 155(4):764-72.
- Kim, S.L., Han, D., Moon, K.D. and Rhee, L.S. (1995). Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. *Biosci. Biotech. Biochem*, 59 (5): 822-826.
- Kupferschmidt, H. (2004). Traitement de l'intoxication au paracétamol. *Centre Suisse d'Information Toxicologique*.
- Krähenbühl, S. (2006). Paracétamol : efficace et sûr aux doses thérapeutiques ?.

L

- Lahouel, M., Boulkour, S., Segueni, V. and Fillastre, J.P. (2004). Pharmacologie expérimentale : 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.
- Larrey, D. (1995). Hépatites médicamenteuses : aspects épidémiologiques, cliniques, diagnostiques et physiopathologiques. *Rev Méd Int*, 16 : 752-758.
- Le Marec, C. 2005.Histoire de l'anesthésie : Histoire du paracétamol. *Le praticien en anesthésie-réanimation*, 9(4).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Lee, N.H., Seo, C.S., Lee, H.Y., Jung, D.Y., Lee, J.K., Lee, J.A. Song, K.Y., Shin, H.K., Lee, M.Y. *et al.* (2012). Hepatoprotective and antioxidative activities of *Cornus officinalis* against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.1-8.
- Louvet, A., Cannesson, A., Colin, M., Mathurin, P. and Dharancy, S. (2010). Paracétamol : risque hépatique (dose thérapeutique et surdosage). *Hepato-gastro et Oncologie digestive*, 17(5) : 437- 443.
- Louvet, A. (2014). Hépatite sévère au paracétamol et greffe de foie: quand, comment et avec quels résultats?. Service des maladies de l'appareil digestif. DESC de Réanimation.

M

- Madhu-Kiran, P., Vijaya-Raju, A. et Ganga Rao, B. (2012). Investigation of hepatoprotective activity of *Cyathea gigantea* (Wall. ex.Hook.) leaves against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 352-356.
- Madrigal-Santillán, E., Madrigal-Bujaidar, E., Álvarez-González, I., Sumaya-Martínez, M.T., Gutiérrez-Salinas, J., Bautista, M., Morales-González, A., González-Rubio, M.J.Y., Aguilar-Faisal, J.L. *et al.* (2014). Review of natural products with hepatoprotective effects. *World J Gastroenterol*, 28; 20(40): 14787-14804.
- Maity, T.K., Dash, D.K., Yeligar, V.C., Nayak, S.S., Ghosh,T., Rajalingam, D., Sengupta, P. and Maiti, B.C. (2007). Evaluation of hepatoprotective and antioxidant activity of *Ichnocarpus frutescens* (Linn.) R.Br. on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Trop J Pharm Res*, 6 (3): 755-765.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Manfo, F.P.T. Nantia, E.K. and Kuete, V. (2014). Hepatotoxicity and hepatoprotective effects of african medicinal plants. *Toxicological Survey of African Medicinal Plants*. 324- 355.
- Marklund, S. et Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur.J. Biochem*, 47: 469-474.
- Matés, J.M., Pérez-Gomez, C. and Nunez De Gastro, I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32(8):595–603.
- Matés, J.M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153: 83-104.
- Mégarbane, M., Deye, N. et Baud, F. (2007). Foie toxique : mécanismes lésionnels et thérapeutiques pharmacologiques spécifiques. *Elsevier-Masson*, 16 : 632-642.
- Monassier, D. (2005). Module de Pharmacologie Générale DCEM1. Les antalgiques non-opiacés. P.6.
- Morena, M., Martin-Mateo.M., Cristol, J.P. et Canaud, B. (2002). Stress oxydant, hémoincompatibilité et complications de la dialyse au long cours. *Néphrologie*, 23, (5), 201-208.
- Mounnissamy, V. M., Kavimani, S., Balu, V. and Quine, S.D., (2008). Effect of ethanol extract of *Cansjera rheedii* J. Gmelin (Opiliaceae) on hepatotoxicity. *J. pharmacol. Toxicol*, 3(2): 158-162.
- Muzard, L. (2007). Intoxication chronique au paracétamol. *Urgences poissy*.

N

- Nagata, K., Suzuki, H., and Sakaguchi, S. (2007). Common pathogenic mechanism in development progression of liver injury caused by non-alcohollic or alcoholic steatohepatitis. *The Journal of Toxicological Sciences*, 32(5): 453-468.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Narware, S.K., Maithili, V. and SenthilKumar, K.L. (2012). Protective effect of *Dalbergia sisso* bark on hepatotoxicity and nephrotoxicity in albino rats. *IOSR Journal of Pharmacy*, 2(3):410-428.

O

- Ouattara, Y., Sakandé, B., Simporé, J., Kaboré, I.Z., Guissou, I.P. et Sawadogo, L. (2003). Evaluation de l'activité hépatoprotectrice des extraits aqueux de plantes médicinales face à une hépatotoxicité létale induite chez la souris. *Annales de l'Université de Ouagadougou*, 001 : 16-40.
- Oyedemi, S.O., Bradley, G. and Afolayan, A. J. (2010). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activities of aqueous extract of *Strychnos henningsii* Gilg. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4(2): 070-078.

P

- Parmar, S.R., Vashrambhai, P.H. and Kalia, K. (2010). Hépatoprotective activity of some plants extract against paracétamol induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, 4 (2):101-106.
- Patel, S.P. and Katyare, S. (2006). Differential pH sensitivity of tissue superoxide dismutases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 21 (2):129-133.
- Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, L. et Defraigne, I.O. (1998). Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine.
- Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., Defraigne, J.O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, 4 (5).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme* 16: 233–239.
- Pradhan, S.C. and Girish, C. (2006). Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J Med Res*, 124:491-504.

Q

- Qin, Z., Reszka, K.J., Fukai, T. and weintraub, N.L.(2008). Extracellular superoxide dismutase (ecSOD) in vascular biology: an update on exogenous gene transfer and endogenous regulators of ecSOD. *Translational Research*, 151(2):68-78.

R

- Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2(2) 219–236.
- Rajamanikandan, S., Sindhu, T., Durgapriya, D., Sophia, S., Ragavendran, P. and Gopalakrishnan, V.K. (2012). Protective effect of *Mollugo nudicaulis* Lam. on acute liver injury induced by perchloroethylene in experimental rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 862-867.
- Raj, S. and 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 :105-112.
- Rajeshkumar, S., Bhavani, R. and Kotteeswaran, R. (2014). Hepatoprotective effect of *Brassica oleracea* vegetable and its leaves in paracetamol induced liver damage in albino rats and S. *Int.J. ChemTech Res*, 6 (7): 3705-3712.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ramirez, L., (2012). *Paracetamol et sétrons: Intéractions médicamenteuses dans la prise en charge de la douleur post-amygdalectomie chez l'enfant*. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur, filière médecine, Université de Limoges, p.143.
- Ramlawi, M., Marti, C. et Sarasin, F. (2013). Intoxication aiguë au paracétamol. *Rev Med Suisse*, 9 : 1478-82.
- Rashid, K., Sinha, K., Sil, P.C. (2013). An update on oxidative stress-mediated organ pathophysiology. *Food and Chemical Toxicology*, 62: 584-600.
- Ravinder Singh, C., Nelson, R., Muthu Krishnan P. and Mahesh, K. (2011). Hepatoprotective and anti-oxidant effect of root and root callus extract of *Premna serratifolia* l. in paracetamol induced liver damage in male albino rats. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(2): 244-252.
- Romao, S. (2015). The therapeutic value of oral supplementation with a combination of melon superoxide dismutase and wheat gliadin. *Nutrition*, 31: 430-436.

S

- Sarumathy, K., Vijay, T., Palani, S., Sakthivel, K., Dhana Rajan, M.S. (2011). Antioxidant and hepatoprotective effects of *Caesalpinia sappan* against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *International journal of pharmacology and therapeutics research article*, (1): 19-31.
- Sathya, A. and Siddhuraju, P. (2013). Protective effect of bark and empty pod extracts from *Acacia auriculiformis* against paracetamol intoxicated liver injury and alloxan induced type II diabetes. *Food and Chemical Toxicology*, 56: 162-170.
- Schauenberg, P. (1977). *Guide des plantes médicinales*. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 396 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Sharmila Banu, G., Kumar, G. and Murugesan, A.G. (2009). Ethanolic leaves extract of *Trianthema portulacastrum* L. ameliorates aflatoxin B1 induced hepatic damage in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 24 (3): 250-256.
- Singh, D. and Gupta, R.S. (2011). Hepatoprotective activity of methanol extract of *Tecomella undulate* against alcohol and paracetamol induced hepatotoxicity in rats. *Life Sciences and Medicine Research*.
- Sivaraj, A. Vinothkumar, P., Sathiyaraj, K., Sundaresan, S., Devi, K. and Senthilkumar, B. (2011). Hepatoprotective potential of *Andrographis paniculata* aqueous leaf extract on ethanol induced liver toxicity in albino rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 01 (06): 204-208.
- Smilin Bell Aseervatham, G., Sivasudha, T., Sasikumar, J.M., Hephzibah Christabel, P., Jeyadevi, R. and Arul Ananth, D. (2014). Antioxidant and hepatoprotective potential of *Pouteria campechiana* on acetaminophen-induced hepatic toxicity in rats. *J Physiol Biochem*, 70:1-14.

T

- Therrien, R. (2009). Hépatotoxicité. Unité hospitalière de recherche et d'enseignement VIH/sida.
- Tomečková, V., Gajová, A., Veliká, B., Saxunová, L. and Hertelyová, Z. (2011). Prooxidative and fluorescence properties of paracetamol during interactions with mitochondria. *Spectroscopy*, 25: 45–51.
- Tremblay, P.Y. (2011). Pharmacologue, Institut national de santé publique du Québec

V

- Vakiloddin, S., Fuloria, N., Fuloria, S., Dhanaraj, S.A. Balaji, K. and Karupiah, S. (2015). Evidences of hepatoprotective and antioxidant effect of *Citrullus colocynthis* fruits in paracetamol induced hepatotoxicity. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 28(3): 951-957.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.
- Villar, M., Bastien, C., Brignolas, F., Chamaillard, S., Chantereau, M., Forestier, O., Jorge, V., Rodrigues, S. et Wintenberger, C. (2012). Populations naturelles du Peuplier noir (*Populus nigra* L.) en Loire : inventaire, diversité génétique et adaptation aux variations de l'environnement. *IS RIVERS*.
- Vargas-Mendoza, N., Madrigal-Santillán, E. Morales-González, E Esquivel-Soto, J., Esquivel-Chirino, C., González-Rubio, M.G.L., Gayosso-de-Lucio, J.A. and Morales González, J.A. (2014). Hepatoprotective effect of silymarin. *World J Hepatol*, 6(3): 144-149.

W

- Wheeler, C.R., Salzman, J.A., Elsayed, N.M., Omaye, S.T., and Korte, D.W. (1990). Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity. *Analytical biochemistry*, 184:193-199.

Υ

- Yen, F.L., Wu, T.H., Lin, L.T., Lin, C.C. Hepatoprotective and antioxidant effects of *Cuscuta chinensis* against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. (2007). *Journal of Ethnopharmacology*, 111: 123–128.

Z

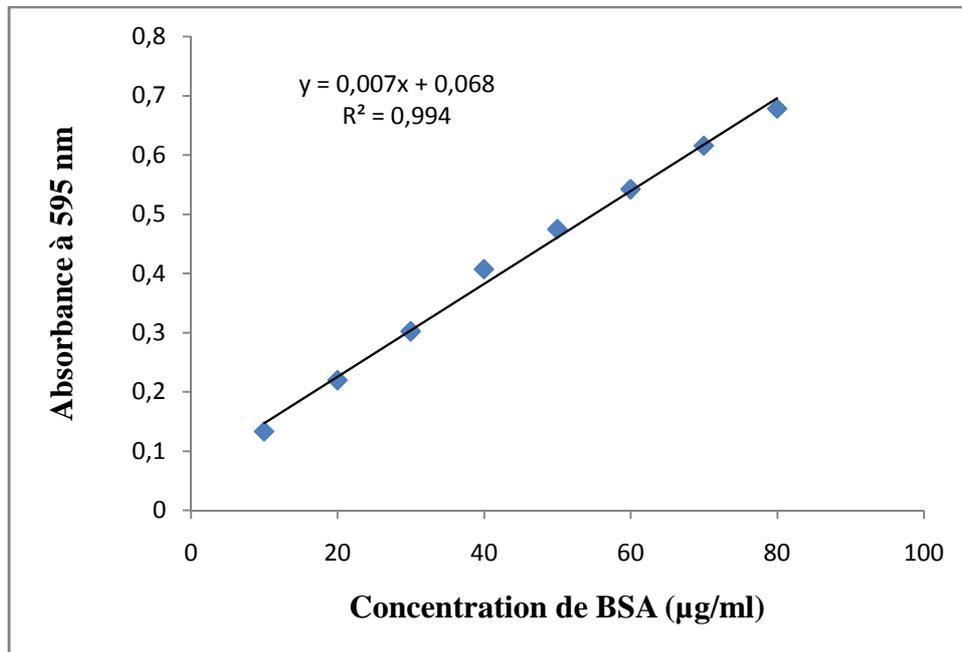
- Zelko, I.N., Mariani, T.J. and Folz, R.J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology & Medicine*, 33(3): 337–349.
- Zimmerman, H.J. (1998). Acetaminophen hepatotoxicity. *Clinics in liver disease*, 2(3): 523-541.

REFERENCES NUMERIQUES:

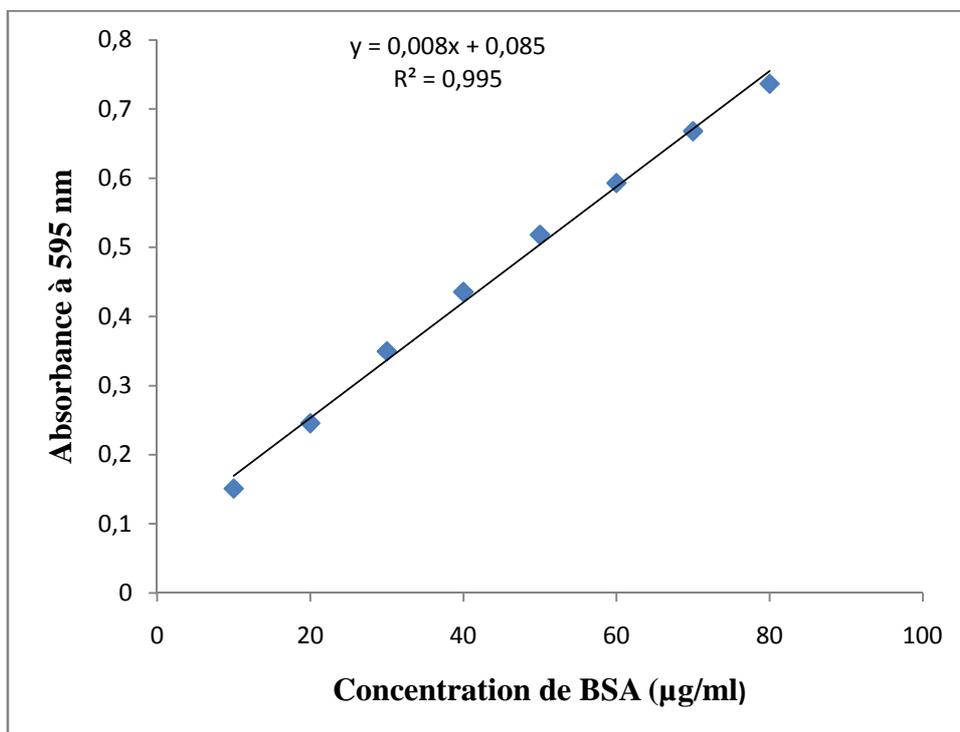
- In: *Flore alpes* [en ligne]. Date de publication le : 09/04/2004, dernière modification de cette page le: 28/03/2015. http://www.florealpes.com/fiche_peupliernoir.php?addcomp2=pepliernor (consulté le 1/04/2015).

Annexes

Annexel.



(A)



(B)

Figure 1 : A et B, les courbes d'étalonnages de dosage des protéines.

Résumé

Populus nigra est une plante très utilisée pour le traitement de diverses pathologies en médecine traditionnelle. Le but de la présente étude est d'évaluer l'effet hépatoprotecteur de l'extrait éthanolique des bourgeons de *P.nigra* sur un modèle animal intoxiqué par le paracétamol. Les résultats obtenus indiquent, une diminution de l'activité SOD hépatique chez les souris du groupe traité avec le paracétamol ($3,55 \pm 0,91$ U/mg de protéine). L'extrait brut aux doses de 100 et 300 mg/kg exerce un effet hépatoprotecteur contre le paracétamol ceci en augmentant le statut antioxydant hépatique de $8,69 \pm 0,66$ U/mg de protéine ; $5,98 \pm 0,95$ U /mg de protéines respectivement, plus que l'effet noté par la molécule standard silymarine ($5,14 \pm 0,86$ U /mg de protéine). Ceci indique que le stress oxydatif qui est induit par le paracétamol dans le foie a été sensiblement atténué par le traitement avec l'extrait en améliorant l'activité de la superoxyde dismutase (SOD). Les résultats de cette étude suggèrent que l'extrait éthanolique de *Populus nigra* possède des propriétés hépatoprotectrices et un potentiel thérapeutique pour le traitement des lésions du foie.

Mots clés :

Populus nigra, Paracétamol, Hépatotoxicité, Pyrogallol, Superoxyde dismutase.

Abstract

Populus nigra is a plant widely used for the treatment of various diseases in traditional medicine. The aim of the present study is to evaluate the hepatoprotective effect of the *P.nigra* ethanolic buds extract on an animal model poisoned by the acetaminophen. The Results obtained indicate a decrease in liver SOD activity in mice group treated with paracetamol (3.55 ± 0.91 U / mg protein). The crude extract at doses of 100 and 300 mg / kg exerts a hepatoprotective effect against paracetamol this by increasing hepatic antioxidant status of 8.69 ± 0.66 U / mg protein and 5.98 ± 0.95 U / mg protein respectively, more than effect of the standard molecule silymarin (5.14 ± 0.86 U / mg protein). This indicates that the oxidative stress which is induced by acetaminophen in the liver was significantly attenuated by the treatment with the extract increasing the activity of superoxide dismutase (SOD). The results of this study suggest that *Populus nigra* ethanol extract has a hepatoprotective property and therapeutic potential for the treatment of liver damage.

Keywords:

Populus nigra, Acetaminophen, Hepatotoxicity, Mice, Pyrogallol, Superoxide dismutase.

المخلص

الحور الاسود هو نبات يستخدم في نطاق واسع لعلاج أمراض مختلفة في الطب التقليدي ، الغرض من هذه الدراسة هو تقييم تأثير حماية الكبد باستعمال المستخلص الكحولي من براعم الحور الاسود في نموذج حيواني مخدر بالباراسيتامول. النتائج التي تم الحصول عليها تشير إلى انخفاض في نشاط السوبر أكسيد ديسميوتاز الكبدية عند الفئران المعالجة بالباراسيتامول ($3,55 \pm 0,91$ و/ ملغ من البروتين) .المستخلص الكحولي بجرعات 100 و300 ملغ / كغ يحمي الكبد ضد الباراسيتامول و ذلك برفع المضاد للأكسدة الكبدية ب $8,69 \pm 0,66$ و/ ملغ من البروتين ، $5,98 \pm 0,95$ و/ ملغ من البروتين على التوالي، و ذلك كان أكثر من تأثير جزئيء السيليمارين ، هذا يدل على أن الاكسدة التي يسببها الأسييتامينوفين في الكبد مخففة بشكل ملحوظ بالعلاج بالمستخلص الكحولي ذلك بتحسين نشاط السوبر أكسيد ديسميوتاز الكبدية . نتائج هذه الدراسة تشير إلى أن مستخلص الحور الاسود الكحولي يحتوي على خصائص لعلاج تلف الكبد.

الكلمات المفاتيح:

الحور الأسود، الباراسيتامول، التسمم الكبدية، الفئران، البيروغالول، السوبر أكسيد ديسميوتاز.