



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج  
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.  
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers  
قسم العلوم البيولوجية.  
Département des Sciences Biologiques

# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

Intitulé :

**Evaluation du potentiel anti-inflammatoire de l'extrait  
brut de polysaccharides issu de l'algue verte  
*Ulva lactuca.***

Présenté par :

M<sup>lle</sup> : FEZZAA Ghada Rayane

M<sup>lle</sup> : OULD ALI Dihya

Soutenu le : .....

Devant le jury :

President	Mme. Moumeni Ouissem	MCB (U.BBA)
Encadrant	M. MEZDOUR Hichem	MCB (U.BBA)
Examineur	M. DIAFAT Abdelouahab	MCA (U.BBA)

Année universitaire : 2020/2021

## *Dédicace*

Après avoir rendu grâce à dieu le tout puissant et le miséricordieux

Je dédie ce travail A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

A ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles.

A mes parents pour leur amour et leur support continu

A mon petit frère et sœur la source de ma joie.

A ma meilleure amie qui m'a toujours encouragé et poussé vers le meilleur

A mon binôme pour sa patience et compréhension le long de ce travail

Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour moi.

- Ghada Rayane

## *Dédicace*

Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la force et le courage afin d'achever ce travail.

A mes Parents

A mes sœurs Thininen et Thanina

A mon frère Amayes

A tous ceux qui m'aiment surtout mes amies : Nesrine Asma Amira Nibel et Ghada.

- Dihya

## *Remerciements*

Nous remercions le Dieu, notre créateur de nos avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce modeste travail.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement du Dr. MEZDOUR Hichem, on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous tenons à remercier tous les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance.

Nos remerciements s'adressent également au laboratoire de recherche biologie et environnement LBE de l'Université des frères Mentouri de Constantine et en particulier à sa directrice Pr Amedah Souad et le chef d'équipe Pr Menad Ahmed, de nous avoir procuré le matériel et réactifs nécessaires pour nos manipulations.

Nos profonds remerciements vont également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

## Liste des abréviations

---

AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien

BSA : Bovine Serum Albumin

CAT : catalase

CL50 : Concentration Létale 50

CRP : Protéine C réactive

DTNB : réactif d'ellman

EDTA : acide éthylène diamine tétra-acétique

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

GSH : Glutathion réduit

GR : globule rouge

GST : glutathion S-transférase

GPx : glutathion peroxydase

GSSG: Glutathion oxydé

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Peroxyde d'hydrogène

KCl : Chlorure de potassium

MPO : Myéloperoxydase

MDA : Malondialdéhyde

NaCl : Chlorure de sodium

PLS : polysaccharide

PBS : Tampon phosphate salin

SOD : Superoxyde dismutase

TBA : Acide Thiobarbiturique

TEP : 1,1,3,3-Tetraoxypropane

TCA : Acide trichloracétique

TNB : Acide thionitrobenzoïque

U. lactuca : *Ulva Lactuca*

## Liste des figures

---

Figure 1 : algue verte (Ulva lactuca) .....	2
Figure 2 :centrifugeuse Sigma.....	5
Figure 3 : spectrophotometre.....	5
Figure 4 : bain marie .....	5
Figure 5 : formule chimique du glutathion réduit .....	11
Figure 6 : Réaction d'Ellman.....	11
Figure 7 :Taux de protection contre la dénaturation thermique du BSA en présence de l'aspirine et l'extrait de polysaccharides algaux .....	13
Figure 8: pourcentage de protection des GR en fonction des concentrations de l'extrait de polysaccharides algaux contre un stress osmotique.....	15
Figure 9 :effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur le taux de MDA plantaire .....	18
Figure 10: influence de l'administration de l'extrait de polysaccharides algaux sur la concentration du tissu plantaire en GSH .....	19
Figure 11 : effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur l'activité de CAT plantaire .....	20

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau 1 :</b> Position systématique d'ulva lactuca(Botany2001).....	3
<b>Tableau 2 :</b> Pourcentage d'hémolyse avec différentes concentrations de l'extrait algal.....	14
<b>Tableau 3 :</b> effet de l'extrait de polysaccharides algaux et du diclofénac par rapport au témoin carragénine.....	16
<b>Tableau 4 :</b> L'effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur le niveau de MPO.....	17

## Table des matières

Liste des abréviations .....	
Liste des figures .....	
Liste des tableaux .....	
Résumé .....	
Introduction .....	1
Partie I. Matériels .....	2
I.1. Matériel végétal.....	2
I.1.1. Préparation du matériel végétal .....	2
I.1.2. Extraction des polysaccharides.....	4
I.2. Réactifs .....	4
I.3. Appareillages .....	5
I.4. Matériel animal .....	5
I.4.1. Test de l'œdème plantaire chez le rat .....	5
I.4.2. sacrifice des animaux, récupération du tissu de voute plantaire et préparation de sa fraction cytosolique .....	6
Partie II. Méthodes.....	7
II.1. Evaluation de l'activité protectrice de l'extrait de polysaccharides .....	7
II.2. Préparation de la suspension érythrocytaire.....	7
II.3. Evaluation de l'activité anti-hémolytique de l'extrait de polysaccharides algaux .....	8
II.3. 1. Evaluation de la non-toxicité de l'extrait de polysaccharides pour les globules rouges .....	8
II.3. 2. Evaluation de l'activité stabilisatrice des membranes des GR par l'extrait de polysaccharides contre un stress osmotique.....	9
II.4. Méthodes de dosage des paramètres de l'inflammation et du stress oxydant.....	9
II.4.1. Dosage de la myéloperoxydase (MPO) .....	9
II.4.2. Dosage du malondialdéhyde (MDA) dans une fraction cytosolique .....	10
II.4.3. Dosage du glutathion réduit .....	10
II.4.4. Dosage de l'activité de la catalase cytosolique .....	12
Partie III. Etude statistique .....	13
III.1.1. Evaluation de l'activité protectrice de l'extrait de polysaccharides .....	13
III.1.2. Evaluation de l'innocuité de l'extrait de polysaccharides pour les globules rouges .....	14
III.1.4. Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur l'œdème plantaire chez les rats .....	16
III.1.5. Effet sur la concentration de la myéloperoxydase .....	17
III.1.6. Evaluation de l'effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur les paramètres du stress oxydant .....	17
III.1.6.1. Effet sur la concentration du malondialdéhyde (MDA).....	17
III.1.6.2. Variation du taux plantaire en glutathion réduit (GSH).....	18
III.1.6.3. Activité de la catalase (CAT) plantaire .....	19
Partie IV. Discussion .....	21
Conclusion et perspectives.....	28
Références bibliographiques .....	1



## **Résumé**

Depuis toujours les algues sont connues comme une source potentiellement riche en protéines, lipides ainsi qu'en polysaccharides. La présente étude vise à évaluer l'effet anti-inflammatoire du polysaccharide d'algue verte *Ulva Lactuca* de la côte algérienne, sur des rats Wistar où l'inflammation est provoquée par la carragénine (test de l'œdème plantaire). On a évalué l'effet recherché en testant d'un côté l'activité antioxydante *in vivo* par dosage des biomarqueurs de stress oxydant : la myéloperoxydase MPO la malonyldialdéhyde MDA la catalase CAT et le glutathion réduit GSH où on a observé une baisse des deux premiers paramètres et une hausse des deux autres expliquant ainsi le potentiel antioxydant. De l'autre côté le pouvoir protecteur et l'activité anti-hémolytique vis à vis des globules rouges. Les résultats obtenus montrent que l'extrait du polysaccharide algal possède une activité anti-inflammatoire remarquable, même si elle reste moins importante par rapport à l'anti-inflammatoire de référence le diclofénac. Cette étude soutient l'utilisation traditionnelle de ces algues pour traiter certains désordres liés à l'inflammation et au stress oxydant.

**Mots clés :** *U. lactuca* , Algue verte , Polysaccharides , Anti-inflammatoire , Antioxydant .

## **Abstract**

Algae have always been known as a potentially rich source of proteins, lipids and polysaccharides. The present study aims to evaluate the anti-inflammatory effect of the green algae *Ulva Lactuca* polysaccharide from the Algerian coast, on Wistar rats where the inflammation is caused by carrageenan (plantar edema test). We evaluated the desired effect by testing on the one hand the antioxidant activity *in vivo* by assaying oxidative stress biomarkers: myeloperoxidase MPO malonyldialdehyde MDA catalase CAT and reduced glutathione GSH or a decrease in the first two was observed. parameters and an increase in the other two thus explaining the antioxidant potential. On the other hand, the protective power and anti-hemolytic activity against red blood cells. The results obtained show that the extract of the algal polysaccharide has significant anti-inflammation activity compared to the anti-inflammatory drug diclofenac. This study supports the traditional use of these algae to treat certain disorders related to inflammation and oxidative stress.

**Key words:** *U. lactuca* , green algae , polysaccharide , Anti-inflammatory , Antioxidant.

## ملخص

منذ الأزل تعتبر الطحالب مصدرا غنيا للبروتينات والدهون وكذلك السكريات. تهدف الدراسة الحالية إلى تقدير الفعالية المضادة للالتهاب لسكريات الطحلب الأخضر: *Ulva lactuca* من الساحل الجزائري على فئران من سلالة wistar حيث يكون الالتهاب ناجماً عن حقن ال Carragenine (اختبار الونمة الأخصوية). تم تقييم التأثير المقصود من خلال اختبار نشاط مضاد الأكسدة باستعمال التجارب على الحيوان وذلك بقياس مؤشرات الأكسدة من جهة: الميلويبيروكسيديز MDA , الكاتالاز CAT و الجلوتاثيون المرجع GSH حيث تم ملاحظة انخفاض في أول اثنين وزيادة في الاخرين . ومن جهة أخرى تم قياس القدرة الواقية و النشاط anti-hémolytique بالنسبة للكريات الدم الحمراء. تبين النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلص سكريات الطحلب له نشاط ملحوظ ضد الالتهاب، حتى وإن ظل أقل أهمية مقارنة بالمضاد للالتهاب المرجعي diclofénac. وتدعم هذه الدراسة الاستخدام التقليدي لهذه النباتات لعلاج بعض الاضطرابات المتصلة بالالتهاب والإجهاد التأكسدي.

**الكلمات المفتاحية:** اولفا لاكتوكا , طحلب اخضر , متعدد سكريات , مضاد الالتهاب , مضاد اكسدة.

## Introduction

---

La grande diversité de la flore marine et la richesse spécifique font des côtes, et des lagunes algériennes, façade maritime de 1200 km (Setti 2008), est un véritable réservoir d'espèces végétales et animales dont le potentiel et l'intérêt économique sont considérables.

Parmi ses organismes marins, il y'a les algues, dont la consommation semble prendre de plus en plus de popularité dans les pays occidentaux et nord africains, en raison à la fois à l'afflux de la cuisine asiatique, mais aussi à leurs bienfaits théoriques, L'algue est aussi servie comme médicament à l'état brut pour le traitement de nombreuses maladies telles que la carence en iode, le traitement de divers troubles intestinaux, et comme une source de vitamines. (Trease 1996)

Des travaux antérieurs montrent que les algues ont un potentielle antioxydants antibactériens, antifongiques, (Al-Enazi et al., 2017) anti cancéreux (çelenk et al., 2016), et anti hypertensive (Ben Abdallah et al., 2017). La potentialité de ces activités se diffère entre classes ainsi qu'entre espèces de la même classe (Ismail, 2016), les conditions climatiques et saisonnières (Mannino et al., 2014).

Dans ce contexte, l'objectif de notre étude était d'évaluer le potentiel Anti-inflammatoire de l'extrait brut de polysaccharides (PLS) d'une algue verte : *Ulva lactuca*, et ce, par deux approches différentes, la première étant *in vitro*, avec différents tests de stabilisation protéique et membranaire , la deuxième, Comporte une série de tests et de dosages dans le but d'évaluer le potentiel anti-inflammatoire de notre extrait sur des échantillons de la voute plantaire issus des différents groupes de rats ayant fait l'objet du test de l'œdème plantaire *in vivo* (C.A. Winter,et al .1962) , avec notamment le dosage de quelques paramètres de stress (la catalase et le Glutathion réduit) et le niveau de peroxydation lipidique (MDA).

# Partie I. Matériels

---

Avant de commencer, nous tenons à préciser que les échantillons qui ont servi à la réalisation de ce travail, à savoir l'extrait de polysaccharides, les fragments de la voute plantaire des rats, ainsi que certaines données liées à l'expérimentation comme le dosage de la myéloperoxydase, nous ont été grassement fournis par le laboratoire LBE de l'université des frères Mentouri.

## I.1. Matériel végétal

### I.1.1. Préparation du matériel végétal

#### a- Description

L'algues verte *Ulva lactuca* est considérée comme substance bioactive largement utilisé dans les industries alimentaires et pharmaceutiques, les polysaccharides de *U. lactuca* sont des composés largement étudiés pour leur structures et fonctions. Des études récentes ont démontré qu'ils ont une activité d'inhibition de la génération de thrombine et des activités anti-nociceptives, anti-inflammatoires, anti-oxydantes et anti-apoptotiques. (Zhao2018)

*Ulva lactuca*, appelée aussi laitue de mer, se distingue par un thalle très mince en forme de feuille présentant un crampon par lequel l'algue se fixe à son support (figure 1). De couleur vert émeraude et translucide qui peut virer à la transparence en cas de stress. (Botany 2001)

Leur taille est variable, en moyenne de 30 à 40 cm et peut même atteindre 1 mètre si elles se trouvent dans des zones eutrophisées. (Botany 2001)

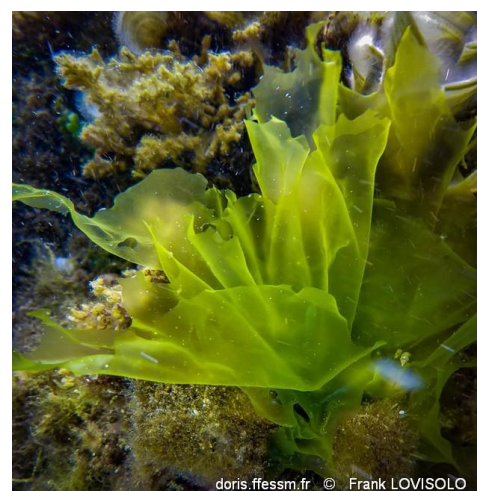


Figure 1 : algue verte (*Ulva lactuca*)

## **b- Classification**

Tableau 1 : Position systématique d'*Ulva lactuca* (Botany 2001).

Règne	Plantae
Embranchement	Chlorophyta
Classe	Ulvophyceae
Ordre	Ulvales
Famille	Ulvaceae
Genre	<i>Ulva</i>
Espèce	<i>Lactuca</i>

## **c- Habitat et Distribution**

*Ulva lactuca* est généralement fixée sur des roches dans des zones intertidale et sublittoral. Elle est retrouvée également en abondance dans les zones abritées et peu profondes, des endroits bien illuminés tels que les lagunes saumâtres et les ports. Elle se développe aussi dans les zones enrichies en eau douce et de ruissellement riches en éléments nutritifs même polluées. En effet, c'est une algue très résistante à l'eutrophisation (Botany 2001 ; Lami R. 2008). Sa distribution est commune et elle est largement présente dans le monde. Au niveau de la mer Méditerranée *U. lactuca* est la plus répandue des espèces du genre *Ulva*. (Mediterraneo AM. 2015)

## **d- Utilisation**

Les domaines d'utilisation des macroalgues sont divers et variés : Dans le cas de l'agrofourriture, les ulvales sont considérées comme produits phytosanitaires, engrais ou aliments pour bétails. Six algues alimentaires sont largement consommées la laitue de mer (*Ulva* sp.) en fait partie (CEVA, 2014). En plus de son rôle en pisciculture (Diler I. 2007), épuration des eaux et dépollution de l'air (Robic, 2008). L'utilisation la plus ancienne est sans doute l'utilisation alimentaire (Nahas et al., 2007).

## **e- Récolte de *Ulva lactuca***

Les échantillons d'*Ulva lactuca* ont été récoltés à la fin du mois d'Avril 2019. Ils sont ensuite lavés puis séchés à l'air libre et à l'ombre. Les algues collectées devenues sèches, ont

été conservées dans de la glace et lavées doucement quelques fois avec de l'eau distillée pour éliminer les débris indésirables et ensuite séchées une nouvelle fois à l'air. Elles ont ensuite été broyées en poudre et conservées dans des bocaux en verre recouverts de papier d'aluminium.

### **I.1.2. Extraction des polysaccharides**

**La technique utilisée pour l'extraction des polysaccharides est la « Hot extraction » (L.Rong,2010), décrite ci-dessous**

Ont a pris (40 µg) de la poudre de *Ulva lactuca* et ensuite celle-ci a été ajoutée à 1,6 L d'eau. Le mélange a été agité vigoureusement dans un bain d'eau (80°C) pendant 8 h, suivi d'une centrifugation (4300 rpm, 20 min).

Le surnageant a été concentré à 1/5 du volume d'origine. Ensuite, cinq fois le volume d'éthanol à 95 % a été ajouté à la solution concentrée. Le mélange d'éthanol a été placé dans un congélateur pendant une nuit, suivi d'une centrifugation (4300 rpm) pendant 10 min. Le précipité est lavé à l'acétone, essoré puis séché, la poudre de polysaccharides est alors enfin récupérée.

### **I.2. Réactifs**

- L'Acide Thiobarbiturique (TBA), le 1,1,3,3-Tetraetoxypropane (TEP), l'Acide Thionitrobenzoïque (DTNB), le Glutathion réduit (GSH) sont de chez *SIGMA ALDERICH CO., ST Louis, Mo.*
- Le Tris, le KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, le K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> et l'EDTA sont de chez *BIOCHEM., CHEMOPHARMA, Gorgia; USA.*
- *Carragenine, BIOCHEM., CHEMOPHARMA, Gorgia; USA.*
- Le Trichloroacide Acétique (TCA) est de chez *FLUKA CHEMIKa ; Switzerland.*
- Le peroxyde d'hydrogène, et le KCl sont de chez *PANREAC QUIMICA, SA ;España*
- Le *n*-butanol et acheté de *PROLAB, MERK EUROLAB.*
- la BSA de *BIOCHEM., CHEMOPHARMA, Gorgia; USA*

### I.3. Appareillages

- Centrifugeuse Sigma.
- pH-mètre Hanna.
- Spectrophotomètre.
- Bain marie.

		
Figure 2: centrifugeuse Sigma	Figure 3 : Spectrophotomètre	Figure 4: bain marie

### I.4. Matériel animal

Les rats utilisés dans cette expérimentation sont des rats mâles adultes de souche *Wistar*, pesant entre 150 et 175 g, issus de l'élevage au niveau de l'animalerie de l'Université des frères Mentouri de Constantine. Les rats sont logés dans des cages où chaque cage regroupe 5 rats. Ils ont libre accès à l'eau et à la nourriture. Les rats sont maintenus à une température ambiante. Ils ont été traités conformément au principe et directive énoncés dans le manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation.

#### I.4.1. Test de l'œdème plantaire chez le rat

Un œdème de la patte a été induit selon la technique de *Winter et al, 1962* en injectant 0,1 ml de carragénine à 1 % p/v en suspension dans du PBS dans les tissus sous-plantaires de la patte arrière gauche de chaque rat. Les rats ont été divisés en 3 groupes ; chaque groupe composé de 5 animaux.

**Groupe I** : Contrôle carragénine.

**Groupe II** : Extrait de polysaccharides algaux (100 mg/kg).

**Groupe III** : Diclofénac sodique (10 mg/kg) comme référence standard.

Les groupes II (polysaccharides) et III (diclofénac) ont reçu leurs traitements respectifs quotidiennement pendant 3 jours, le groupe carragénine ayant reçu de l'eau distillé durant cette période. Le troisième jour, 30 min après le dernier traitement, 0.1ml de solution de carragénine fraîchement préparée a été injectée.

L'épaisseur de la patte a été mesurée avant l'injection de la carragénine et après 1, 2, 3, 4, 5 heures, à l'aide d'un pied à coulisse. dans les tissus sous-plantaire de la patte arrière gauche de chaque rats, L'activité anti-inflammatoire a été calculée en pourcentage d'inhibition de l'œdème chez les animaux traités avec l'extrait testé par rapport au groupe témoin carragénine.

Le pourcentage (%) d'inhibition de l'œdème est calculé à l'aide de la formule :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(T_0 - T_t) / T_0] \times 100$$

Où  $T_t$  est l'épaisseur de la patte des rats ayant reçu l'extrait de test au moment correspondant et  $T_0$  est l'épaisseur de la patte des rats du groupe témoin (carragénine) au même moment.

#### **I.4.2. sacrifice des animaux, récupération du tissu de voute plantaire et préparation de sa fraction cytosolique**

Après la prise de la dernière mesure de l'épaisseur de la patte, les rats ont été par la suite sacrifiés par translocation cervicale et le tissu plantaire de la patte a été récupéré. Ensuite, il a été rincé par l'eau physiologique 0.9 %, divisé en deux parties puis conservé à 4°.

Le jour du travail (dosage), 0.2 g de tissu est additionné à 3ml de solution tampon Tris-EDTA phosphate 0.1 M pH ; 7.4 contenant du KCl 1,15M, le mélange est homogénéisé à 1200 tours/minute par un homogénéiseur.

L'homogénat est ensuite centrifugé à 1000 tours/minute pendant 15 minutes à 4C. Le surnageant est récupéré puis centrifugé à 9600 tours /minute pendant 45 minutes à 4C°. La fraction cytosolique est récupérée et utilisée pour les dosages du taux de malondialdéhyde (MDA), la concentration de glutathion réduit (GSH) et l'activité de la catalase (CAT).

L'autre partie du tissu entier a été utilisée pour le dosage de la myéloperoxydase (MPO).



## Partie II. Méthodes

---

### II.1. Evaluation de l'activité protectrice de l'extrait de polysaccharides

Nous avons choisi de réaliser le test d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA) par la chaleur (72°C) décrit par Kandikattu *et al.* (2013). Afin d'étudier la capacité de l'extrait de polysaccharides algaux à prévenir les dénaturations des protéines, qui pourrait représenter un indice d'un possible effet anti-inflammatoire selon Osman *et al.*, 2016.

Nous avons réalisé une gamme de concentrations de l'extrait de polysaccharides algaux, allant de 50 à 400 µg/ml.

1ml de chaque dilution est ajouté à 1 ml de la solution BSA à 0.2 % préparée dans du PBS (à pH 6.4, NaCl 0.9%). Enfin, le mélange est incubé pendant 5min à 72°C.

Ensuite, nous attendons que les tubes refroidissent avant de les passer au vortex, enfin l'absorbance des mélanges est lue à 660nm.

Nous avons aussi choisi l'aspirine comme anti-inflammatoire de référence, son activité anti-inflammatoire a été évalué dans les mêmes conditions appliquées à notre extrait de PS.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique a ensuite été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$(\%) \text{ Protection} = 100 - (\text{Do échantillon} / \text{Do du contrôle}) \times 100$$

Un contrôle positif (un mélange sans extrait de polysaccharides) a été utilisé pour les calculs.

### II.2. Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang prélevé pour la réalisation de nos tests est récupéré dans des tubes héparines à partir de personnes volontaires saines qui n'ont pas de pathologies particulières afin d'éviter toute interférence avec nos résultats.

Le sang est centrifugé à 3000rpm /5min, le culot récupéré et lavé 3 fois avec la solution PBS iso-saline formée de tampon phosphate de potassium 10mM, pH=7,4 et 154mM de Na Cl. Chaque lavage consiste en une suspension des cellules dans du PBS Iso salin et une centrifugation à 3000rpm/5min. Après la dernière centrifugation, le culot est suspendu à nouveau dans une solution du PBS iso-saline, la suspension érythrocytaire est prête (*Rani et al, 2014*).

## **II.3. Evaluation de l'activité anti-hémolytique de l'extrait de polysaccharides algaux**

L'évaluation de l'activité anti-hémolytique d'un extrait est un très bon indicateur quant à sa capacité à présenter un effet thérapeutique pour plusieurs maladies hémolytiques, inflammatoires ou encore dégénératives comme l'hépatite.

Nous allons donc, inspecter à travers ce test la possible activité anti-hémolytique de notre extrait de polysaccharides algaux, c'est-à-dire sa capacité à prévenir la destruction des globules rouges soumises à un stress osmotique.

### **II.3. 1. Evaluation de la non-toxicité de l'extrait de polysaccharides pour les globules rouges**

Avant de passer à l'évaluation de l'activité anti-hémolytique de notre extrait, nous devons au préalable nous assurer de son innocuité vis à vis des GR, selon les étapes suivantes :

Une série de concentrations de l'extrait de polysaccharides a été préparée dans un tampon phosphate (pH 7.4 ; 0.9% NaCl) à un hémocrite de 2%.

Le mélange a été incubé pendant 10 min à température ambiante, ensuite centrifugé à 2000 rpm à 4°. Puis lire l'absorbance du surnageant à 540 nm.

Le pourcentage de protection a été calculé en utilisant la saponine à 1200 ug/ml, c'est notre hémolytique de référence, provoquant 100% d'hémolyse.

Un tube sans traitement qui représente le témoin négatif a aussi été préparé, afin d'observer une hémolyse naturelle.

Les pourcentages d'hémolyses de chacune des concentrations utilisées sont calculés suivant l'équation suivante :

$$\text{Hémolyse (\%)} = [\text{DoE} - \text{Doc-} / \text{Doc+}] \times 100$$

**DoE** : Densité optique de l'échantillon

**Doc-** : Densité du contrôle négatif

**Doc+** : Densité du contrôle positif.

## **II.3. 2. Evaluation de l'activité stabilisatrice des membranes des GR par l'extrait de polysaccharides contre un stress osmotique**

Certains paramètres physicochimiques tel que le milieu hypotonique, peuvent provoquer la rupture de la membrane cytoplasmique des GR et libèrent par la même occasion leur contenu en hémoglobine.

L'hémoglobine libérée sera dosée à l'aide du spectrophotomètre à une longueur d'onde de 540nm.

1- Nous avons donc commencé par préparer une série des concentrations en NaCl de 0.3%, 0.5%, 0.7 % et 0.9 %.

2- Ensuite, nous avons mélangé 1 ml de la suspension érythrocytaire à 2 % à 1 ml de l'une des concentrations variables en NaCl citées précédemment (préparées dans PBS).

3- Chacune est combinée par la suite à des concentrations variables de l'extrait (50, 100, 200, 300,400µg/ml), cela veut dire que chaque concentration de l'extrait sera testée avec les quatre concentrations de NaCl.

## **II.4. Méthodes de dosage des paramètres de l'inflammation et du stress oxydant**

### **II.4.1. Dosage de la myéloperoxydase (MPO)**

La myéloperoxydase (MPO) est une peroxydase hème exprimée principalement dans les neutrophiles, elle fait partie des médiateurs locaux des lésions tissulaires et de l'inflammation qui en résulte dans diverses maladies inflammatoires (*Aratani, 2018*).

L'activité MPO a été mesurée comme indiqué dans la méthode de *Bradley et al (1982)*. Les échantillons ont été homogénéisés, congelés et décongelés, puis centrifugés à 1500 rpm pendant 10 min à 4°C. L'activité MPO a été mesurée à 450 nm en ajoutant 100 µl du surnageant à 1,9 ml de tampons phosphate 10 mmol/l (pH 6,0) et 1 ml de chlorhydrate d'odanisidine 1,5 mol/l contenant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,0005% p/v).

#### **II.4.2. Dosage du malondialdéhyde (MDA) dans une fraction cytosolique**

##### **- Principe**

Le MDA est un dialdéhyde à trois carbones hautement réactifs, produit comme sous-produit de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et du métabolisme de l'acide arachidonique (*Hartman, 1983*).

En tant que l'un des produits secondaires les plus connus de la peroxydation lipidique, le MDA peut être utilisé comme marqueur de lésion de la membrane cellulaire. Des niveaux accrus de produits de peroxydation lipidique ont été associés aux zones inflammées ainsi qu'à une variété de maladies chroniques chez les humains et les modèles animaux (*Lovric et al, 2008*).

Dans notre étude, le taux du MDA du tissu plantaire a été évalué selon la méthode d'*Ohkawahawa et al., (1979)*.

Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100°C), entre le MDA et deux thiobarbituriques (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 530 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol

##### **- Méthode de dosage**

A 0.5ml de la fraction cytosolique 10% (KCl 1,15M) du tissu plantaire nous avons additionné 0.5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 20% et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0.67%. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 15 minutes, refroidi puis additionné de 4 ml de n-butanol. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/min, la densité optique est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 520 nm. La quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nm/gramme de tissu.

Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du 1, 1, 3,3-tetraetoxypropane dans les mêmes conditions.

#### **II.4.3. Dosage du glutathion réduit**

Le glutathion, également appelé GSH, est un composant endogène du métabolisme cellulaire, c'est un tripeptide composé de glycine, de cystéine et d'acide glutamique. Il est normalement présent dans le foie à une concentration de 10 mmol<sup>l</sup><sup>-1</sup>. Elle fait partie intégrante de la biotransformation des substances xénobiotiques et sert à protéger l'organisme des agents

réducteurs (Gad, 2014). Le glutathion se trouve dans la cellule sous deux formes : une forme oxydée « GSSG » et une forme réduite « GSH » représentant plus de 99% de la quantité total (Lahouel, 2005).

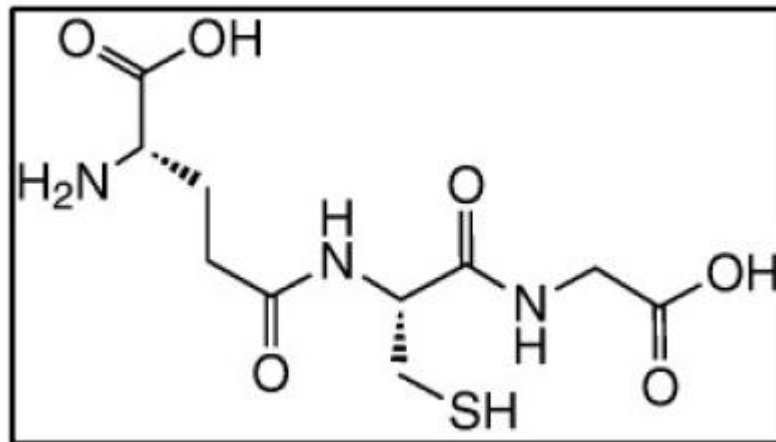


Figure 5 : Formule chimique du Glutathion réduit.

### - Principe

Pour le dosage du glutathion, la méthode colorimétrique par le réactif d'Ellman (DTNB) est la méthode la plus employée (Ellman, 1959). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5' dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) lequel à pH (8-9) alcalin présente une absorbance à 412 nm selon la réaction suivante :

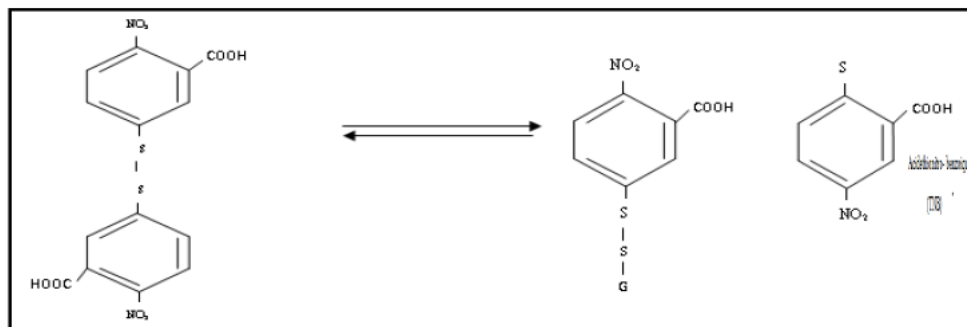


Figure 6 : Réaction d'Ellman

### - Méthode de dosage

A 0.5ml de la fraction cytosolique 10% (KCl 1,15M) du tissu plantaire nous avons additionné 0.5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 10% puis centrifugé à 2000 tours/min pendant 5 minutes. Ensuite, à 1.7 ml du tampon phosphate 0.1 M, pH : 8 nous avons additionné 0.2 ml de surnageant et 0.1 ml du réactif d'Ellman 0.1M. La lecture de la densité optique est effectuée après 5 minutes à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA 10%. Les concentrations du GSH dans l'échantillon sont exprimées

en  $\mu\text{M}$ /gramme de tissu. Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du GSH dans les mêmes conditions.

#### II.4.4. Dosage de l'activité de la catalase cytosolique

La catalase est une enzyme dismutase, elle contient une fraction hème au site actif et convertit deux molécules de peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau, elle est impliquée dans la prévention des dommages cellulaires causés par le stress oxydatif (*Kehrer et al, 2010*).

L'activité de la catalase cytosolique est déterminée selon la méthode d'*Aebi*, (1984), qui est basée sur la propriété de la catalase à dégrader le peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$ . On effectue une lecture continue du changement d'absorbance à 240nm chaque minute dans un intervalle de temps de 2 minutes.

##### - Principe

Le principe repose sur la disparition de l' $\text{H}_2\text{O}_2$  à 25 C° par la présence de la source enzymatique dans la fraction cytosolique.

##### - Méthode de dosage

La méthode utilisée est basée sur la propriété de la catalase à dégrader le peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$  (*Aebi, 1984*). On effectue une lecture continue du changement d'absorbance à 240nm chaque minute dans un intervalle de temps de 2 minutes.

##### - Calcule

$$K = \frac{2.303}{T} \times \log \frac{A_1}{A_2}$$

- **K** : Constant de vitesse de la réaction.

- **T** : Intervalle de temps.

- **A1** : Absorbance dans le temps zéro.

- **A2** : Absorbance après une minute.

L'activité de l'enzyme est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{U/mg} = \frac{K}{n}$$

**n** : mg de protéines en mg présentent dans le volume de l'échantillon utilisé.

**UI/mg de Prot** :  $\mu$  mole d' $\text{H}_2\text{O}_2$  consommé/min/mg de protéine

## Partie III. *Etude statistique*

L'évaluation statistique est effectuée par le logiciel GraphPadPrism 8. Les valeurs du groupe témoin et celles des groupes traités par l'extrait de polysaccharides algaux sont analysées par one-way analysis of variance (ANOVA) suivi par Student. Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types pour 5 rats dans chaque groupe.

### III.1.1. Evaluation de l'activité protectrice de l'extrait de polysaccharides

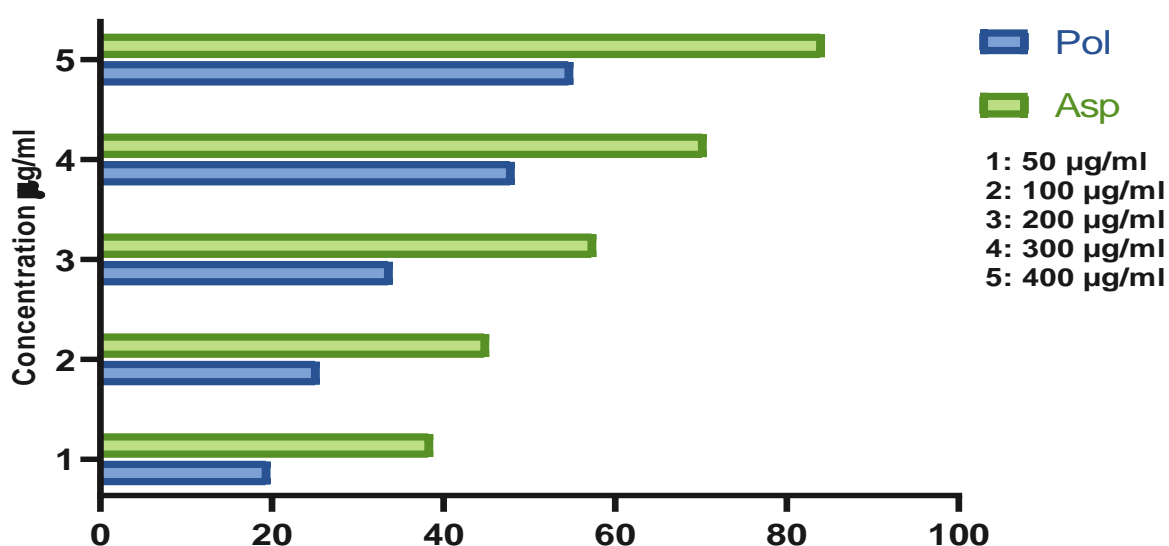


Figure 7 : Taux de protection contre la dénaturation thermique du BSA en présence de l'aspirine et l'extrait de polysaccharides algaux

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type, n = 5 :  
Différence non significative  $P > 0.05$  ; significative \* $P < 0.05$  ; \*\* $P < 0.01$ .

D'après l'histogramme ci-dessus, nous remarquons que le taux de protection de l'extrait de polysaccharides est directement proportionnel à la concentration utilisée, allant de  $19.711 \pm 1.13\%$  pour la première concentration ( $50 \mu\text{g/ml}$ ) jusqu'à plus de  $54.976 \pm 0.911\%$  pour la cinquième ( $400 \mu\text{g/ml}$ ). Cependant, même si ces valeurs restent très intéressantes, elles sont en dessous de celles enregistrées pour l'aspirine (anti-inflammatoire de référence) qui vont de  $38.647 \pm 0.827\%$  pour la première concentration de  $50 \mu\text{g/ml}$  jusqu'à  $84.319 \pm 2.711\%$  pour la cinquième ( $400 \mu\text{g/ml}$ ).

### III.1.2. Evaluation de l'innocuité de l'extrait de polysaccharides pour les globules rouges

Le tableau 2 présente les pourcentages d'hémolyse obtenus après l'incubation des GR avec l'extrait de polysaccharides algaux, les taux ont été calculés en prenant en considération un témoin positif (GR avec saponine) et un témoin négatif (hémolyse naturelle).

Tableau 2 : Pourcentage d'hémolyse avec différentes concentrations de l'extrait algal.

Concentration de l'extrait ( $\mu\text{g/ml}$ )	%Hémolyse
50	<b>1.02±0.291%</b>
100	<b>1.66±0.557%</b>
200	<b>2.84±0.411%</b>
300	<b>4.28±0.246%</b>
400	<b>5.91±0.975%</b>

Ont a observé que l'extrait de polysaccharide présente un taux très faible d'hémolyse allant de 1.02±0.291% à 5.91±0.975% en comparaison avec les témoins (positif et négatif) qui reste très inférieurs et négligeables même une concentration de 400  $\mu\text{g/ml}$  de l'extrait de polysaccharides algaux ces résultats restes très intéressants

### III.1.3. Evaluation de l'activité stabilisatrice des membranes des GR par l'extrait de polysaccharides contre un stress osmotique

Un globule rouge placé dans l'eau pure subit une pression osmotique considérable. En absence de contre-pression appliquée dans le cytoplasme, la solution (hypotonique) diffuse vers l'intérieur de la cellule (hypertonique) à travers la membrane. L'entrée massive d'eau dans l'hématie entraîne le gonflement puis l'éclatement du globule rouge. Ce test nous permet d'évaluer la capacité de notre extrait de polysaccharides algaux à donner une stabilité aux membranes des GR et donc d'éviter leur éclatement par hémolyse. Les résultats obtenus sont exprimés sur le graphique si dessous :



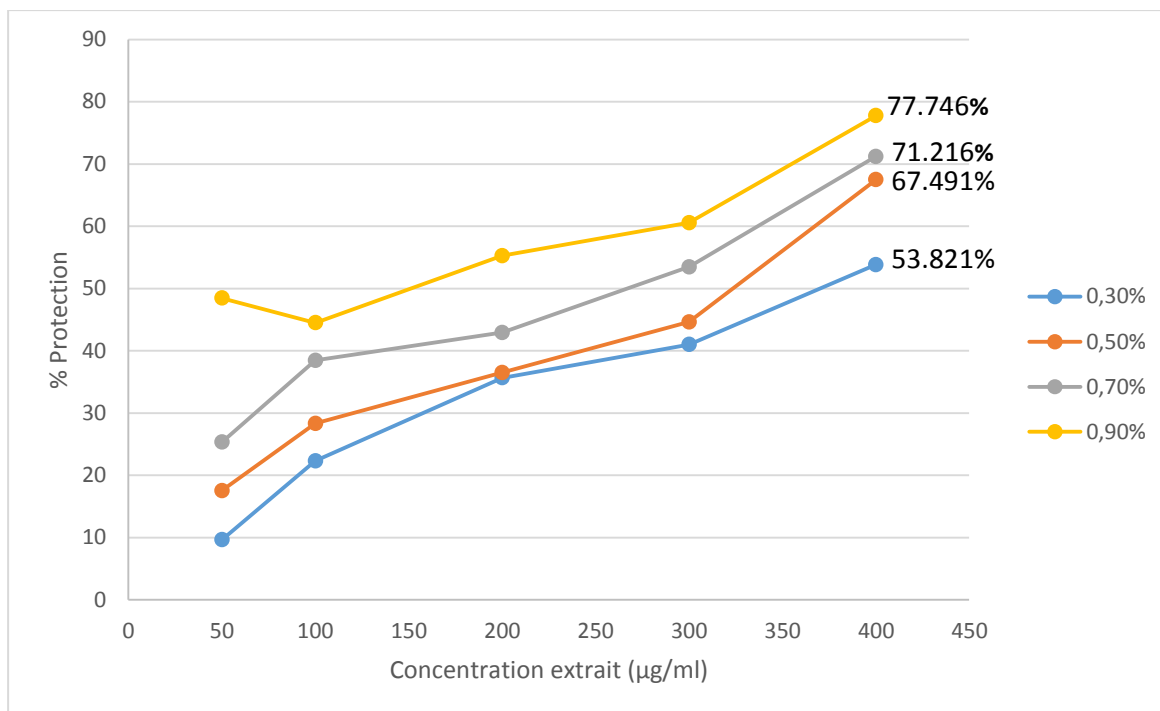


Figure 8 : Pourcentage de protection des GR en fonction des concentrations de l'extrait de polysaccharides algaux contre un stress osmotique.

Nous remarquons que le pourcentage de protection des GR par l'extrait algal augmente proportionnellement avec la concentration de ce dernier ainsi que la concentration de la saline utilisée. L'activité maximale était enregistrée à une concentration de 400 µg/ml pour donner respectivement  $53.821 \pm 1.589\%$ ,  $67.491 \pm 0.964\%$ ,  $71.216 \pm 0.588\%$  et  $77.746 \pm 0.801\%$  avec les concentration de la saline suivantes : 0.3% , 0.5% , 0.7 et 0.9%.

### III.1.4. Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur l'œdème plantaire chez les rats

Tableau 3 : l'effet de l'extrait de polysaccharides algaux et du médicament standard (diclofénac) par rapport au témoin carragénine à différentes heures

Temps (heure)	1	2	3	4	5
<b>Contrôle (carragenine)</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
<b>Diclofénac 10 mg/Kg</b>	<b>17,37 ±1.035%</b>	<b>48,51 ±1.973%</b>	<b>64,46 ±1.901%</b>	<b>77,29 ±2.331%</b>	<b>81,89 ±2.296%</b>
<b>Extrait polysacch 100 mg/kg</b>	<b>10,13 ±2.801%</b>	<b>27,34 ±1.673%</b>	<b>35,07 ±2.497%</b>	<b>48,57 ±0.910%</b>	<b>56,68 ±1.114%</b>

Dans le modèle d'œdème de la patte induit par la carraghénane en utilisant un pied à coulisse. L'extrait de polysaccharides algaux administré à une dose de 100 mg/kg po a remarquablement empêché l'œdème de la patte induit par la carraghénine avec un pourcentage d'inhibition de 10.13 %, 27,34 %, 35,07 % et 48,57 et 56,68% à 1, 2, 3, 4 et 5 heures, respectivement, cependant ces valeurs restent inférieures à celles du diclofénac à la dose de 10 mg/kg p.o. qui a empêché l'œdème de la patte induit par la carragénine avec un pourcentage d'inhibition de 17.37 %, 48.51 %, 64.46 %, 77,29% et 81.89% à 1, 2, 3,4 et 5 heures, respectivement.

### III.1.5. Effet sur la concentration de la myéloperoxydase

Tableau 4 : l'effet de l'extrait de polysaccharides algaux et du médicament standard (diclofénac) par rapport au témoin carragénine sur la myéloperoxydase

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type, n = 5. ns. : Différence non significative  $P > 0.05$  ; \* $P < 0.05$  ; \*\* $P < 0.01$ .

Groupes	MPO (nmol/g tissu)
Contrôle (Carragénine)	82,17 $\pm$ 6.241
Diclofénac	39.51 $\pm$ 4.418*
Carragenine+ Extrait algal	56,762 $\pm$ 6,742*

Les niveaux de MPO ont été testés après 5 heures de la provocation de l'œdème plantaire par la carragénine. L'effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur le niveaux de MPO est résumé dans le tableau 4. L'injection de carragénane dans la patte arrière du rat a induit une augmentation marquée (82,17 $\pm$ 6.241 nmol/mg de tissu), le traitement avec l'extrait de polysaccharides algaux à la dose de 100 mg/kg a significativement diminué ( $p < 0,05$ ) le taux de la MPO à 56,762 $\pm$ 6,742 nmol/mg de tissu. Le diclofénac-sodium à la dose de 10 mg/kg était le meilleur des traitements médicamenteux en termes de diminution du taux de MPO de façon significative (39.51 $\pm$ 13.418) ( $p < 0,05$ ).

### III.1.6. Evaluation de l'effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur les paramètres du stress oxydant

#### III.1.6.1. Effet sur la concentration du malondialdéhyde (MDA)

Pour cette étude, la concentration en MDA a été déterminée sur la fraction cytosolique du tissu de la patte. Nous avons constaté que chez les rats qui ont reçu uniquement l'injection plantaire de la carragénine, une augmentation significative ( $P < 0.05$ ) du taux du MDA au niveau du tissu plantaire (131.2 $\pm$ 5.537 nmol/g tissu) par rapport au groupe diclofénac qui à signification diminué la peroxydation lipidique (56.20 $\pm$ 3.355 nmol/g tissu). Par contre le traitement par l'extrait de polysaccharides algaux a significativement baissé le taux du MDA à

85.76±4.052 nmol/g tissu, mais reste cependant moins importante que chez le groupe diclofénac..

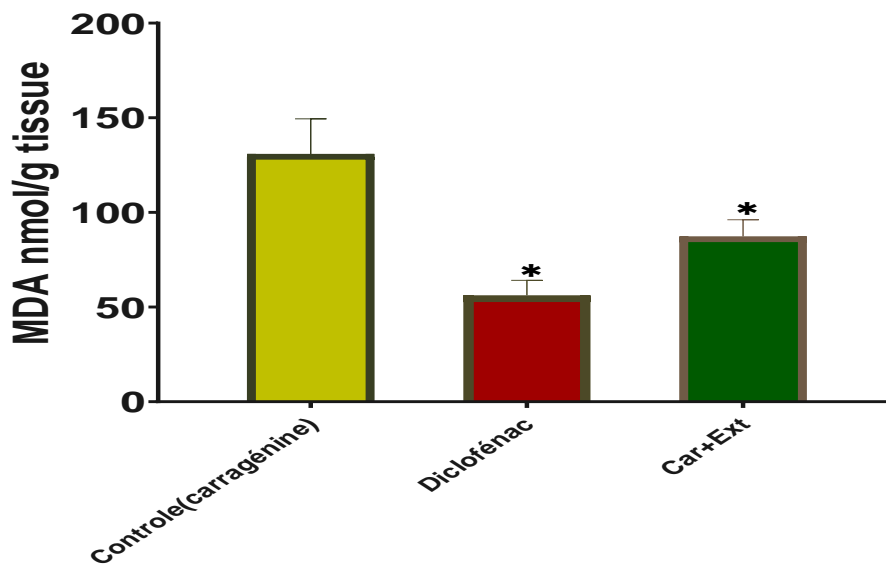


Figure 9 : effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur le taux de MDA plantaire Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type, n = 5. ns. : Différence non significative  $P > 0.05$  ; \* $P < 0.05$  ; \*\* $P < 0.01$ .

### III.1.6.2. Variation du taux plantaire en glutathion réduit (GSH)

Les résultats de l'étude de l'influence d'un traitement par l'extrait de polysaccharides algaux sur le taux en GSH du tissu plantaire sont rassemblés dans la figure 10. Chez les rats traités par le diclofénac, nous avons constaté une augmentation significative du taux du GSH plantaire ( $37.10 \pm 1.800$  nmol/mg prot) ( $P < 0.05$ ) par rapport à celui enregistré chez les témoins sans traitement (uniquement la carragénine à la patte) qui ont montré une déplétion importante en GSH ( $16.43 \pm 2.751$  nmol/mg prot). Par contre, la déplétion du glutathion réduit (GSH) causée par l'injection plantaire de la carragénine a été en partie limitée à ( $21.81 \pm 1.478$  nmol/mg prot) chez le groupe ayant reçu l'extrait de polysaccharides algaux à la dose de 100 mg/kg, par rapport au groupe témoin (carragénine)

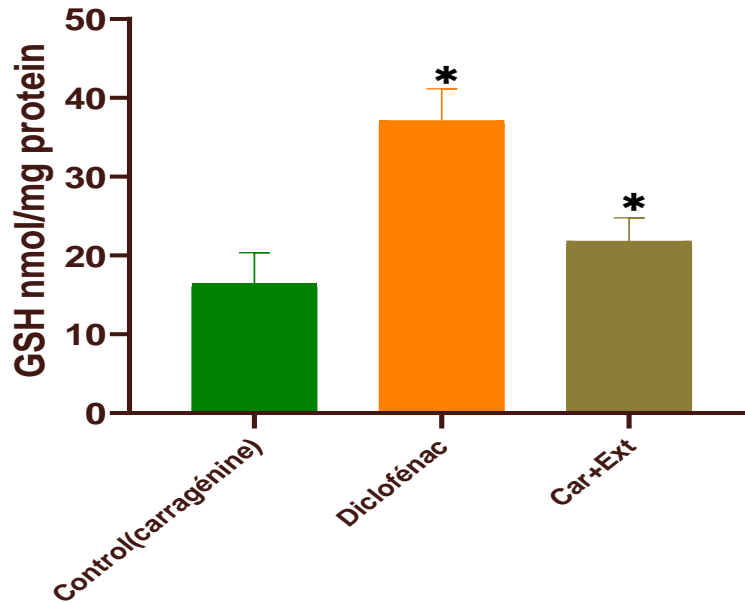


Figure 10 : Influence de l'administration de l'extrait de polysaccharides algaux sur la concentration du tissu plantaire en GSH

(P < 0.0 ns. : Différence non significative P > 0.05 ; \*P < 0.05 ; \*\*P < 0.01.

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type, n = 5.

### III.1.6.3. Activité de la catalase (CAT) plantaire

L'activité de la catalase a été déterminée sur une fraction cytosolique du tissu plantaire. La figure 11 présente les résultats de l'influence d'un traitement par l'extrait de polysaccharides algaux sur l'activité de la catalase plantaire. Dans notre étude nous avons constaté une augmentation significative (P < 0.05) de l'activité de la catalase ( $59.82 \pm 1.253$  nmol/min/mg) au niveau du tissu plantaire chez les rats traité par l'extrait de polysaccharides algaux à une dose de 100mg/kg par rapport à celles des rats témoins (carragénine) ( $41.83 \pm 2.621$  nmol/min/mg), Cependant, ces résultats obtenus par l'extrait restent inférieurs à ceux obtenus par l'administration du diclofénac qui a enregistré une augmentation significative de l'activité de la CAT (P < 0.05), par rapport au groupe de rats témoins (carragénine).

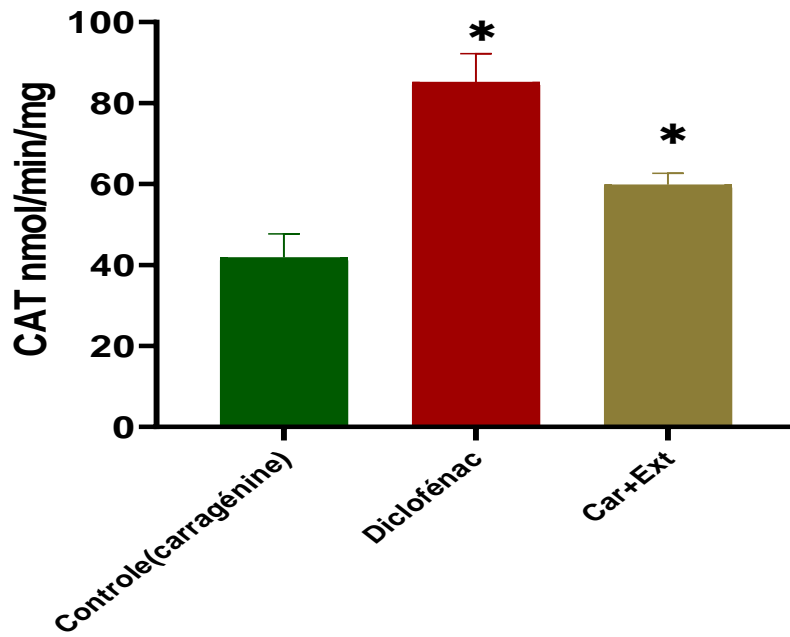


Figure 11 : l'effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur l'activité de CAT plantaire Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type, n = 5. ns.: Différence non significative  $P > 0.05$  ; \* $P < 0.05$  ; \*\* $P < 0.01$

## Partie IV. *Discussion*

---

Le domaine marin est un champ immense d'investigation pour les chercheurs et constitue principalement une piste Omniprésente de recherche dans le domaine des molécules bioactives (*Farid et al., 2012*). Un grand intérêt est porté aux produits naturels obtenus à partir d'organismes marins, et en particulier les algues. La plupart de ces dernières vivent en eau douce ou en milieu marins, mais certaines espèces peuvent également se développer sur terre. Les genres les plus répons dans la nature sont représentés par *Ulva* (*Mohamed et al., 2013*).

Fait intéressant : Les algues d'origine marine sont considérées comme une source d'application potentielle dans de nombreux secteurs industriels : cosmétologie, agriculture, élevage en plus de la pharmacologie et de la médecine. Les molécules bioactives d'algues peuvent agir comme agoniste aux molécules médicamenteuses, accordant un grand avantage par rapport aux médicaments classiques avec une biodisponibilité élevée et souvent une meilleure spécificité (*Samarakoon K. 2012*). Les propriétés et activités biologiques présentées par ces molécules sont immenses telles que les activités antibactérienne, anti-inflammatoire, antiproliférative, antivirale, antifongique, antinéoplasique, anti-cancéreuse, anti-obésité, antidiabétique, antihypertenseur, hypolipémiant et antioxydant. (*Cabrita M.T. 2010; Xu N 2004*).

Chez le genre *Ulva*, ces activités diffèrent d'une espèce à une autre. (*Silva M. 2013*) Récemment, plusieurs composés d'algues, y compris les polyphénols, les polysaccharides et les protéines, ont été présentés comme retardateur de progression de nombreuses maladies chroniques y compris les pathologies inflammatoires, de ce fait, ils possèdent un pouvoir anti-inflammatoire (*Yildiz G. 2012*).

L'inflammation est une réaction normale du corps suite à un traumatisme, une infection ou une attaque par un corps étranger, elle intervient dans une multitude de circonstances et de maladies dont les symptômes et la gravité sont très diversifiées. En outre, le stress oxydant qui est généré par le déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et les antioxydants (*Collard, 2003*), au profit des premiers est aussi impliqué dans de nombreuses pathologies inflammatoires. La supplémentation par les antioxydants devient une nécessité,

mais l'utilisation des antioxydants de synthèse présente des effets indésirables sur la santé humaine idem pour les anti-inflammatoires commercialisés.

Ce travail s'inscrit dans ce cadre et consiste à inspecter l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par le biais du test de la stabilisation de la BSA et des globules rouges, mais aussi *in vivo* (test de l'œdème plantaire), médiée par le potentiel antioxydant des polysaccharides extraits à partir de la macro-algue verte *Ulva lactuca*.

Plusieurs études ont été menées pour caractériser la nature des molécules biologiques impliquées dans la résistance cellulaire contre l'inflammation. Les polyphénols et les polysaccharides ont été proposés (Yildiz G. 2012 ; Celikler S. 2009 ; Peasuraa N. 2015). Ainsi, Serap et ses collaborateurs ont rapporté que les effets bénéfiques de certaines espèces d'*Ulva* peuvent être en partie attribués à l'effet antioxydant / anti-radicalaire de leur composés phénoliques et polysaccharides. Une autre étude effectuée par Celikler S. (2009) a démontré que ces PLS varient entre la classe des polymères et les espèces d'algues, et ont une haute densité de radicaux ester sulfate sur leur structure de squelette les désignant poly-anioniques capables de se lier avec des protéines apparentées et composants cellulaires, modulant de nombreux systèmes biologiques, avec une toxicité relativement faible.

Les polysaccharides ont un large spectre de capacités intrinsèques qui les rendent des biomatériaux industriellement importants pour de nombreuses applications alimentaires et pharmaceutiques dans le monde. Cependant, il existe peu d'études sur les polysaccharides d'algues concernant leurs fonctionnalités comme agents anti-inflammatoires *in vivo*, *Ulva lactuca* est l'une des Macro-algues Ulvales couramment trouvée sur la côte dans presque tous les pays du monde. Cette espèce de *Chlorophyta* pousse abondamment dans zones enrichies en nutriments (Araújo et al. 2016).

Les deux tests, Bovine Serum Albumin (BSA) et la stabilisation des membranes des hématies, que nous avons choisi ici comme tests préliminaires dans notre étude d'une possible activité anti-inflammatoire de l'extrait de polysaccharides algaux, sont très utilisés dans la recherche pharmacologique, pour leur simplicité et surtout leur efficacité. Selon Grant et al (1970), l'une des caractéristiques de divers AINS, comme l'indométacine, l'ibuprofène, l'acide flufénamique et l'acide salicylique, est leur capacité à stabiliser (empêcher la dénaturation) la BSA traitée thermiquement. Les chercheurs examinent depuis des années la capacité de plusieurs produits naturels à stabiliser la BSA. Sur la base des résultats, l'effet est proposé ici comme un test pour la détection d'extraits, non seulement pour l'activité anti-inflammatoire,



mais pour un large éventail d'action biologique pour isoler les composés actifs et les expérimenter directement sur les animaux (*Williams et al. 2006*).

Le stress et autres conditions notamment la chaleur perturbent les faibles interactions des structures protéiques et affectent la stabilité de conformation des protéines (*Daniel et al. 1996*). Provoquant ainsi l'agrégation, la dénaturation des protéines, et des altérations des flux métaboliques (*Fu et al. 2008*).

L'étude menée par *Osman et al. (2016)*, a montré que la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation d'une protéine signifie un potentiel évident d'activité anti inflammatoire, ce qui nous conduit à la relation du test d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA) par la chaleur (72°C) au potentiel anti-inflammatoire. Dans notre étude, nous avons remarqué que le taux de protection de l'extrait de polysaccharides algaux d'*Ulva Lactuca* est de 19.711% jusqu'à 54.976% à des concentrations variables allant jusqu'à 400ug/ml. L'hypothèse de *williams et al (2008)*, a démontré que les composés inhibant la dénaturation des protéines avec un pourcentage supérieur à 20% ont des propriétés anti-inflammatoires.

D'autre part, les pourcentages d'hémolyse obtenus après l'incubation des GR avec l'extrait de polysaccharides algaux ont démontré que l'extrait présente une très faible cytotoxicité à des concentrations variables et qui ne dépasse pas les 6% (pourcentage calculé en considérant les témoins positifs et négatifs) avec la concentration la plus importante utilisée (400µg/ml), ce qui a été démontré par *Kidgell et al., (2020)* qui ont trouvé que toutes les fractions d'ulvane extraite d'*Ulva Ohnoi* n'ont montré aucun effet cytotoxique sur les cellules RAW264.7 après 48 h d'exposition avec 100 µg mL<sup>-1</sup>.

Il est aussi à noter que l'hémolyse est considérée comme un test de dépistage particulièrement primordiale, car elle permet de quantifier de faibles niveaux d'hémoglobine plasmatique qui peuvent ne pas être mesurables dans des conditions in vivo. Comme indiqué dans la littérature (ISO 10993-4,1999), il n'est pas possible de définir un niveau universel de quantités acceptables ou inacceptables d'hémolyse. Bien que, par définition, un matériau compatible avec le sang doit être non hémolytique, en pratique plusieurs dispositifs médicaux le sont. Cela signifie que lorsqu'un tel effet hémolytique se produit, il est important de s'assurer que les bénéfices cliniques l'emportent sur les risques et que les valeurs d'hémolyse se situent dans des limites acceptables.

Les extraits d'algues vertes pourraient donc être utilisés comme agents thérapeutiques car elles contiennent des composés qui peuvent donc être utilisées comme traitement des troubles de la coagulation sanguine. Comme l'a démontré *Elmegeed et al. 2014* dans son étude où ils ont estimé quantitativement et comparativement la toxicité de l'extrait aux globules rouges puis ont indiqué que toutes les concentrations testées d'extrait brut d'*Ulva Lactuca* n'ont montré aucun effet hémolytique sur les globules rouges alors que seulement une concentration de 0,25 mg/ml de solution de Polysaccharides a montré effet hémolytique avec les autres concentrations montrant un effet semi-hémolytique sur les globules rouges.

Selon *Oyedapo., (2010) et Yogannadam et al. (2010)* le test de la protection de la membranaire des érythrocytes contre la lyse est utilisé pour l'étude préliminaire de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*, étant donné que la membrane des globules rouge et la membrane des lysosomes sont de structure semblable. L'exposition des érythrocytes aux conditions nocives telles que le milieu hypotonique conduit à la lyse de la membrane, accompagnée par l'oxydation et la dégradation de l'hémoglobine (*Mohamed Saleem et al. 2011*). Il est rapporté par *Agarwal et ses collaborateurs (2003)* que la déstabilisation de la membrane cellulaire est attribuée à la production de radicaux libres, qui finissent par provoquer la peroxydation de ses lipides. Cependant dans notre étude le pourcentage de protection des GR par l'extrait algal augmente proportionnellement avec la concentration de ce dernier, l'activité maximale était enregistrée à une concentration de 400 µg/ml pour donner respectivement 53.821% , 67.491%, 71.216% et 77.746% avec les concentration de la saline suivantes : 0.3% , 0.5% , 0.7 et 0.9%. Les résultats obtenus sont assez intéressants dans la mesure où elle démontre la présence d'une activité protectrice vis-à-vis des GR contre le stress osmotique et donc de prévenir l'hémolyse.

Dans un autre volet de notre étude, le criblage de l'activité anti-inflammatoire a été aussi réalisé *in vivo* par le test de l'œdème plantaire induit par la carragénine chez le rat (*C.A. Winter, et al .1962*). Cet agent phlogogène induit au niveau de la patte du rat un œdème considéré comme un signe caractéristique de l'inflammation et un paramètre capital dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire. Cette technique a été sélectionnée en raison de sa simplicité, rapidité d'induction des symptômes caractéristiques de l'inflammation et également en raison de sa reproductibilité. (*R. chatter et coll .2011*) .

Dans la présente étude, on a observé d'après les données qui nous ont été communiqués, que l'administration de 100 mg/kg d'extrait de polysaccharides comme

traitement préventif de l'inflammation a provoqué une diminution de l'œdème plantaire (épaisseur de la patte) par rapport aux témoins non traités, avec des pourcentages remarquables à différentes heures, ce qui prouve que l'extrait pourrait effectivement avoir un potentiel anti-inflammatoire. Il a été rapporté dans d'autres expérimentations que les polysaccharides Ulvanes présentent des activités biologiques importantes telles que les activités anticoagulante, anti-oxydante, antiproliférative, anti-tumorale, ainsi que les activités anti-inflammatoire, antivirale et antiadhésive (*Peasuraa N. 2015; Sangwan V. 2002; Shao P. 2013*).

Des études antérieures ont montré que plusieurs extraits de différentes espèces de l'algue verte *Ulva* ont déjà été décrits comme possédant une forte activité Anti-inflammatoire : *Ulva rigida* (*Bourguiba et al. 2017*), *Ulva conglobata* (*D.-Q. Jin et al. 2006*), *Ulva reticulata* (*Hong et al. 2011*) *Ulva ohnoi* (*kang et al 2021*) *Ulva lactuca* (*O.M. Ahmed et al. 2017*) et *Ulva prolifera* (*Zongling Wang et al 2018*).

Dans la continuité de ce travail, nous avons choisi de doser la MPO, dont le taux est un marqueur sensible et spécifique pour l'inflammation aiguë reflétant l'infiltration de cellules polymorphonucléaires du parenchyme (*Loria et al. 2008 ; chaves et al. 2013*).

Nous avons observé lors de L'injection de la carragénine dans la patte arrière du rat traité par l'extrait de PLS une diminution significative du taux de MPO ( $P < 0.05$ ) par rapport au groupe control (carragénine). Cette observation est en accord avec celle de *Rizk et al, (2016)* qui ont conclu que le traitement des vieux rats HC avec les extraits de polysaccharides de l'algue *Ulva fasciata* a montré une diminution significative du taux des marqueurs de l'inflammation athérogène CRP, MPO et TNF- $\alpha$  et une augmentation marquée de l'IL-10, qui pourrait être attribuée à l'inhibition directe de l'expression de la CRP, de la MPO et TNF- $\alpha$ , tout en exerçant une activation de cytokine anti-inflammatoire. Ceci peut être attribué à la réduction de la fonction des marqueurs pro-inflammatoires de l'endothélium.

Une autre étude réalisée par *Araújo et al. (2016)* sur *Ulva lactuca* a démontré que l'activité de la MPO , a diminué significativement dans le surnageant d'homogénats de sections de pattes injectées par la carragénine. Les données exprimées confirment les résultats qu'on a obtenus ce qui indique que les polysaccharides algaux d'*Ulva lactuca* ont inhibé ou induit la migration des neutrophiles.

D'autre part, les ERO peuvent jouer un rôle important dans l'induction et la propagation de la réponse inflammatoire aiguë qui s'ensuit. Selon l'origine de la réaction

inflammatoire, son évolution diffère pour arriver au même résultat final, c'est-à-dire à une accumulation de polynucléaires neutrophiles au site inflammatoire et à des lésions cellulaires et tissulaires dues aux stress oxydants et aux enzymes protéolytiques libérées par les neutrophiles activés. Si la production de ces formes réactives de l'oxygène est trop importante et que les systèmes naturels d'épuration sont insuffisants, les cellules sont soumises à un stress oxydatif qui va entretenir l'état inflammatoire (*Tiidus. 1998*).

Le stress oxydant peut être mis en évidence soit par le dosage de l'un des marqueurs de stress tels que le MDA (l'un des dérivés finaux de la peroxydation lipidique), soit par le taux des protéines carbonylées, ou bien par la mesure de l'activité des enzymes antioxydants telles que la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase, la catalase ou finalement le dosage des antioxydants secondaires tels que les vitamines A, C et E ou encore le glutathion (*Gardes-Albert. 2006*).

Dans notre étude, le traitement des rats par l'extrait de PLS algaux d'*ulva lactuca* a significativement baissé le taux de MDA et a augmenté le taux de GSH et CAT, ce qui nous laisse suggérer que notre extrait possède une activité anti-oxydante et donc très probablement anti-inflammatoire, ces résultats sont en concordance avec ceux de *Cindana et al. (2020)* qui ont démontré que les composants des oligosaccharides peuvent augmenter le taux de la glutathion peroxydase (GPx), la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la télomérase, et les antioxydants totaux et diminuent en contrepartie le niveau de malondialdéhyde (MDA). Selon le même auteur, la CI50 des ulvanes pour l'activité radicalaire est de 623,58 µg/ml et la CI50 pour le piégeage des anions superoxyde est de 785,48 µg/ml.

L'administration d'ulvanes, spécifiquement d'*Ulva lactuca* à des souris exposées à un stress extrême a empêché un métabolisme lipidique anormal, des systèmes de défense antioxydants du foie renforcés, et une peroxydation lipidique réduite (*Cindana et al. 2020*). Les ulvanes se trouvent avoir une très bonne activité anti-oxydante, qui aide à piéger les radicaux libres tels que les radicaux superoxyde et hydroxyle, et possède une bonne activité de chélation des métaux (*Costa et al., 2010 ; El Baky et al. 2009 ; Kuda et Ikemori, 2009*).

Selon *Qi et Sheng., (2015)* les dérivés à haute teneur en polysaccharide d'*Ulva pertusa* pourrait augmenter de manière significative les niveaux de SOD. Même constat chez *Abd-Elatef et al., (2017)* dont le traitement de rats avec des polysaccharides d'ulvane de l'espèce *lactuca* a considérablement amélioré les niveaux réduits de GST mammaire, GPx, GR et

Activités CAT et le contenu en GSH. L'effet antioxydant observé dans les travaux réalisés en 2011 par Li et Kim chez les polysaccharides sulfatés issus des algues vertes, semble aussi élevé que celui des antioxydants synthétiques. Selon les auteurs, l'effet antioxydant des molécules serait dû à leur important degré de sulfatation, leur faible poids moléculaire, et à leur composition en acides glucuronique et iduronique.

Tenant compte des données bibliographiques citées et l'étude que nous avons menée, l'origine de ces activités biologiques intéressantes pourrait être attribuée aux ulvanes polysaccharides structuraux hautement sulfatés présents dans la paroi cellulaire des algues vertes, constitués de différents résidus de sucres. Cependant, il est nécessaire de réaliser des analyses complémentaires, notamment sur la constitution et la composition osidique résiduelle exacte de ces polysaccharides, qui peuvent, pour des raisons écologiques (adaptation) être partiellement différentes de celle des autres *ulva lactuca* récoltés dans d'autres régions. Ces analyses complémentaires, permettront donc de donner des explications plus pointues sur les origines de ces activités biologiques intéressantes et leur mécanismes d'action..

## ***Conclusion et perspectives***

Les différentes recherches dans le domaine pharmacologique, sont aujourd'hui focalisées et reconverties vers la source naturelle pour tirer des remèdes qui sont considérés comme « une force destinée à seconder la nature, car la nature préside aux deux états. Celui de la santé et celui de la maladie » (Ibn Khaldoun). L'expérimentation moderne a beaucoup insisté pour que, l'utilisation des médicaments ne se fera que lorsque la situation est critique. Cependant, vu tous les effets secondaires engendrés par ces substances, la médecine d'aujourd'hui tend de les remplacer chaque fois que cela est possible par des principes actifs d'origines végétales qui sont biologiquement et physiologiquement adaptés à notre organisme.

Dans le présent travail, on s'est intéressé à l'algue verte : *Ulva Lactuca* et sa capacité anti-inflammatoire médiée par son potentiel à faire face au stress oxydatif, démontrée lors du test d'inhibition du développement de l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat. Différentes analyses ont été réalisées et ont toutes permis de conclure que notre extrait de polysaccharides algaux possède un potentiel anti-inflammatoire intéressant qui pourrait être utilisé de manière raisonnée dans le traitement de l'inflammation avec sûrement moins d'effets secondaires qu'avec les anti-inflammatoires de synthèse.

En fin, l'ensemble de ces résultats restent une première étape dans la recherche des substances de sources naturelles biologiquement actives. Il serait intéressant de poursuivre cette étude, de procéder à des tests plus approfondis, notamment sur la composition de ces polysaccharides et leur degré de sulfatation, ce qui permettra de mieux connaître leurs mécanismes d'action, d'établir leur pharmacocinétique et leur pharmacodynamie. Mais aussi la confirmation de la capacité antioxydante par plus de tests *in vivo* et *in vitro* ainsi que l'évaluation d'autres activités qui pourraient être tout aussi intéressantes.

## ***Références bibliographiques***

### **A**

**Abd-Ellatef G.-E.F., Ahmed O.M., Abdel-Reheim E.S., Abdel-Hamid A.-H.Z.(2017).** Ulva lactuca polysaccharides prevent Wistar rat breast carcinogenesis through the augmentation of apoptosis, enhancement of antioxidant defense system, and suppression of inflammation. *Breast Cancer Targets Ther.* 2017;9:67

**Agarwal C, Singh R.P, Dhanalakshmi S, Tyagi A.K, Tecklenburg M, Sclafani R.A, Agarwal R. (2003).** Silibinin upregulates the expression of cyclin-dependent kinase inhibitors and causes cell cycle arrest and apoptosis in human colon carcinoma HT-29 cells. *Oncogene*, 22, 8271–8282.

**Ahmed, O., Abd-elrahman Gamal Eldein, Abdel-Reheim, E., & Abdel-Hamid, A.-H. (2017).** *Ulva lactuca* polysaccharides prevent Wistar rat breast carcinogenesis through the augmentation of apoptosis, enhancement of antioxidant defense system, and suppression of inflammation. *Breast Cancer: Targets and Therapy, Volume 9*, 67–83.

**Al-Enazi, N.M., Awaad, A.S., Zain, M.E., Alqasoumi, S.I., (2017).** Antimicrobial, Antioxidant and anticancer activities of *Laurencia catarinensis*, *Laurencia majuscula* and *Padina pavonica* extracts. *Saudia Pharmaceutical Journal*, pp 1-9.

**Aratani Y, (2018).** Myeloperoxidase: its role for host defense, inflammation, and neutrophil function, *Arch. Biochem. Biophys.* 640 47–52.

**Araújo I.W.F. de, J.A.G. Rodrigues, A.L.G. Quinderé, J.D.F.T. Silva, G.D.F. Maciel, N.A. Ribeiro, E. de Sousa Oliveira Vanderlei, K.A. Ribeiro, H.V. Chaves, K.M.A. Pereira, M.M. Bezerra, N.M.B. Benevides . (2016),** Analgesic and anti-inflammatory actions on bradykinin route of a polysulfated fraction from alga *Ulva lactuca* *Int. J. Biol. Macromol.*, 92 pp. 820-830

### **B**

**Ben Abdallah, K.R., Ben Salah, H., Hamza, A., El feki, A., allouche, N., El feki, L., Belguith, K.,(2017).** Characterization and evaluating of antioxidant and antihypertensive properties of green alga (*Codium fragile*) from the coast of Sfax. *Pharmacognosy and Phytochemistry*,6(2), pp186- 191.

**Botany. (2001).** Algae: Native *Ulva lactuca* C Agardh 1823 : University of Hawaii at Manoa.

**Bourguiba, I., Zahlila, A., Bouaïcha, N., Amri, M., & Mezghani, S. (2017).** Antioxidant effect of the marine green alga *Ulva rigida* ethanolic precipitate in yeast cells and zebrafish embryos. *South African Journal of Botany*, 113, 253–260.

**Bradley PP, Priebe DA, Christensen RD, Rothstein G (1982)** Measurement of cutaneous inflammation: Estimation of neutrophil content with an enzyme marker. / *invest Dermatol*78:206-209.

## C

- Cabrita, M.T., Vale, C. and Rauter, A.P., (2010).** Halogenated compounds from marine algae. *Marine drugs*, 8(8), 2301-2317
- Celenk, F.G., Ozkaya, A.B., Sukatar, A., (2016).** Macroalgae of Izmir Gulf: Dictyotaceae exhibit high in vitro anti-cancer activity independent from their antioxidant capabilities. *Cytotechnology* .68:2667–2676
- Celikler S, O. Vatan, G. Yildiz, R. Bilaloglu.(2009).**Evaluation of anti-oxidative, genotoxic and antigenotoxic potency of *Codium tomentosum* Stackhouse ethanolic extract in human lymphocytes in vitro, *Food Chem. Toxicol.* 47(4), 796–801
- Centre d'Etude et de Valorisation des Algues (CEVA), (2011).** Propriétés nutritionnelles des algues alimentaires / Intérêts Nutritionnels / Algues Alimentaires / SCIENCES & TECHNIQUES / S'INFORMER / Home – Algae Technical Research Centre ».
- Chatter Riahi, S. Tarhouni, and R. Kharrat.(2011).** Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranée, *Archs. Inst. Pasteur Tunis*, vol. 88, no.1-4, pp. 19-28.
- Chaves L de S, Nicolau LA, Silva RO, et al. (2013).** Anti-inflammatory and antinociceptive effects in mice of a sulfated polysaccharide fraction extracted from the marine red algae *Gracilaria caudata*. *Immunopharm Immunot.* 35:93-100.
- Chiu Y.H., Y.L. Chan, T.L. Li, C.J.Wu, (2012).** Inhibition of Japanese encephalitis virus infection by the sulfated polysaccharide extracts from *Ulva lactuca*, *Mar. Biotechnol.* 14 (4) 468–478.)
- Cindana Mo'o, F.R.C, Wilar, G., Devkota, H.P. and Wathoni, N.(2020)** Ulvan, a polysaccharide from Macroalga *Ulva* sp.: A review of chemistry, biological activities and potential for food and biomedical applications. *Appl. Sci.*, 10(16): 5488
- Collard, C. D &Pintar, T., (2003).**The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology Clinics of North America*, 21(3), 453–464.
- Costa S, Crespo D, Henriques BMG, Pereira E, Duarte AC, Pardal AC (2011).** Kinetics of mercury accumulation and its effects on *Ulva lactuca* growth rate at two salinities and exposure conditions. *Water Air Soil Pollut* 217:689–699

## D

- Diler I. TA, Guroy D.,Guroy K. B., Soyuturk M. (2007).** Effects of *Ulva rigida* on the Growth, Feed Intake and Body Composition of Common Carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Biological Sciences* 7:305-308.
- DANIEL, R. M., DINES, M., & PETACH, H. H. (1996).** The denaturation and degradation of stable enzymes at high temperatures. *Biochemical Journal*, 317(1), 1–11.

## E

- Ellman, G.L., (1959).** Tissue sulphydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 82, 70–77.
- Elmegeed DFA, Ghareeb D, El-saadani M (2014).** Phytochemical constituents and bioscreening activities of green algae (*Ulva lactuca*). *Int J Agric Policy Res* 2:373–378
- El-Baky Abd Hanaa H., Farouk K. El-Baz, Gamal S. El-Baroty (2009).** Natural preservative ingredient from marine alga *Ulva lactuca* L. Institute of Food Science and Technology 2009.01926.x



## F

**Farid, Y., Chennaoui, M., Assobhei, O., Etahiri, S., (2012).** Screening des algues marines d'Oualidia a la recherche d'activités antimicrobienne et anti-inflammatoire. *Revue de microbiologie industrielle, sanitaire, et environnementale* 6, 192–209.

**Fu, J., Momčilović, I., Clemente, T. E., Nersesian, N., Trick, H. N., & Ristic, Z. (2008).** Heterologous expression of a plastid EF-Tu reduces protein thermal aggregation and enhances CO<sub>2</sub> fixation in wheat (*Triticum aestivum*) following heat stress. *Plant Molecular Biology*, 68(3), 277–288.

## J

**Jin, D.-Q., Lim, C. S., Sung, J.-Y., Choi, H. G., Ha, I., & Han, J.-S. (2006).** *Ulva conglobata*, a marine algae, has neuroprotective and anti-inflammatory effects in murine hippocampal and microglial cells. *Neuroscience Letters*, 402(1-2), 154–158.

## G

**Gad, N.A., Mizdrak, J., Pattison, D.I., Davies, M.J., Truscott, R.J., Jamie, J.F., (2014).** Detection, quantification, and total synthesis of novel 3-hydroxykynurenine glucoside-derived metabolites present in human lenses. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 55, 849–855

**Gardès-Albert M.(2006).** Physico-chemical aspects of reactive oxygen species. *Ann Pharm Fr.* 2006; 64(6):365-72

**Grant NH, Alburn HE, Kryzanasuka C.(1970).** Stabilization of serum albumin by anti-inflammatory drugs. *Biochem Pharmacol* 1970; 19: 715–22.

## H

**Hartman, P.E. (1983).** Assay of Malondialdehyde in the serum. *Science*, 5(4):603-7

**Hong Dang Diem, Hoang Minh Hien and Hoang Thi Lan Anh (2011).** Studies on the analgesic and anti-inflammatory activities of *Sargassum swartzii* (Turner) C. Agardh (Phaeophyta) and *Ulva reticulata* Forsskal (Chlorophyta) in experiment animal models *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(12), pp. 2308-2314, 21 March, 2011

## I

**Ismail, G.A., (2016).** Biochemical composition of some Egyptian seaweeds with potent nutritive and antioxidant properties. *Food Science and Technology.* 37(2): 294-302

## K

**Kandikattu, K., Bharath Rathna Kumar, P., Venu Priya, R., Sunil Kumar, K., Ranjith Singh, B., Rathore, (2013).** Evaluation of anti-inflammatory activity of *canthium parviflorum* by in-vitro method. *Indian J. Res. Pharm. Biotechnol.* 1 (5), 729–730

**Kang JeongEun, JiSun Park , Jung-Kil Seo , WonHyung Choi , SooCheol Choi , Ju-Hyoung Kim4 & In-Ah Lee (2021)** Intestinal anti-inflammatory activity of *Ulva ohnoi* oil in DSS-induced experimental mouse model

**Kehrer JP, Robertson JD and Smith CV. (2010).** Mechanisms: Free radicals and reactive oxygen species. In General Principles, Toxicokinetics, and Mechanisms of Toxicity, 2nd Edition, (J.A. Bond,ed.) *Elsevier, Vol. 1 of Comprehensive Toxicology*

**Kidgell, J.T.; Magnusson, M.; de Nys, R.; Glasson, C.R.K.(2020).** Ulvan: A systematic review of extraction, composition and function. *Algal Res.* 2020, 39, 101422

**Kuda, T., & Ikemori, T. (2009).** Minerals, polysaccharides and antioxidant properties of aqueous solutions obtained from macroalgal beach-casts in the Noto Peninsula, Ishikawa, Japan. *Food Chemistry*, 112, 575–581

## L

**Li, X. Y., & Kim, S. K. (2011).** Utilization of seaweed derived ingredients as potential antioxidants and functional ingredients in the food industry: an overview. *Food Science and Biotechnology*, 20, 1461–1466.

**Lin G.P., X.Y. Liu, X. Yan, D. Liu, C.F. Yang, B. Liu, Y.F. Huang, C. Zhao.(2012),** Role of green macroalgae *Enteromorpha prolifera* polyphenols in the modulation of gene expression and intestinal microflora profiles in type 2 diabetic mice, *Int. J. Mol. Sci.* 20

**Loria V, Dato I, Graziani F, Biasucci LM. (2008).** Myeloperoxidase: A new biomarker of inflammation in ischemic heart disease and acute coronary syndromes. *Mediat Inflamm.* ID135625:1-4.

**lovric jasna,milan mesic,marija macan marijan koprivanac ,marta kelava ,vlada bradamante (2008)** .Measurement of malondialdehyde (MDA) level in rat plasma after simvastatin treatment using two different analytical methods. *Period biol, Vol 110, No 1*

## M

**Mannino, AM., Vaglica, V., Oddo E., (2014).** Seasonal variation in total phenolic content of *Dictyopteris polypodioides* (Dictyotaceae) and *Cystoseira amentacea* (Sargassaceae). *Fl. Medit.* 24: 39-50 DOI: 10.7320/FlMedit 24.039

**Mediterraneo AM. (2015).** *Ulva lactuca*

**Mohamed Saleem T.K, Azeem A.K, delip C, Sankar C, Prasanth N.V, Duraisami R. (2011).** Anti-inflammatory activity of the leaf extracts of *Gendarussa vulgaris* Nees. *Asian Pac J Tropic Biomed*, 147-149.

**M'hammed Setti, Fatima-Zohra Mohamed-Cherif and César Ducruet(2008).** *Algerian ports and globalization: the end of a paradox?* p. 85-93 2008

## N

**Nahas R., Abatis D., Anagnostopoulou M.A., Kefalas P., Vagias C. et Roussis V. (2007).** Radical-scavenging activity of Aegean Sea marine algae. *Food Chemistry*. 102 : 577-581.

## O

**Ohkhawa., H., Ohishi N., Vagi K., (1979).** Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituricreaction. *Analytical biochemistry*.Vol: 95,p351-358.

**Osman, N.A.R. & Mohammed, S.E. (2016).** A compiled checklist of seaweeds of Sudanese Red Sea coast. *Journal of Coastal Life Medicine* 4(2): 114-120, 1 table.

**Oyedapo O. (2010).** Red blood cell membrane stabilizing potentials of extracts of *Lantana camara* and its fractions. *Int J Plant Physiol Biochem*, 2, 46–51.

## P

**Peasuraa N, Laohakunjit N, Kerdchoechuen O, Wanlapa S.(2015).** Characteristics and antioxidant of *Ulva intestinalis* sulphated polysaccharides extracted with different solvents. *Int J Biol Macromol* 2015;81:912e9.

## Q

**Qi H, Sheng J.(2015).** The Antihyperlipidemic Mechanism of High Sulfate Content Ulvan in Rats. *Marine Drugs*. 2015; 13(6):3407-3421.

## R

**Rizk Maha Z, Hanan F Aly, Azza A Matlouvb, Ghada I Fouad (2016).** The Anti-hypercholesterolemic effect of ulvan polysaccharide extracted from the green alga *Ulva fasciata* on aged hypercholesterolemic rats. *Asian J Pharm Clin Res*, Vol 9, Issue 3, 2016, 165-176

**Rani, A.; Kumar, A.; Lal, A.; Pant, M.(2011).** Cellular Mechanisms of Cadmium-Induced Toxicity: A Review. *Int. J. Environ. Health Res*. 2014, 24, 378–399.

**R. Ramalingam, B. Bindu Madhavi1 , A. Ravinder Nath , N. Duganath, E. Udaya Sri2, David Banji (2010)** In-vitro anti-denaturation and antibacterial activities of *Zizyphus oenoplia* Der *Pharmacia Lettre* 2010: 2 (1) 87-93

**Robic A. (2008).** Etude de la variabilité chimique, physico-chimique et rhéologique des ulvanes, polysaccharides des parois cellulaires d'algues marines vertes de la famille des Ulves (Ulvales, Chlorophytes). *Doctorat Biotechnologies végétales, Université de Nantes*. 175 p.

## S

**Sangwan V, Orvar BL, Beyerly J, Hirt H, Dhindsa RS (2002)** Opposite changes in membrane fluidity mimic cold and heat stress activation of distinct plant MAP kinase pathways. *Plant J* 31:629–638

**Shao, P., Chen, M., Pei, Y., & Sun, P. (2013).** In vitro antioxidant activities of different sulfated polysaccharides from chlorophytan seaweeds *Ulva fasciata*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 59, 295–300.

**SILVA DA S. L., CALGAROTTO A. K., CHAAR J. S. et MARANGONI S. (2008).** Isolation and characterization of ellagic acid derivatives isolated from *Casaria sylvestris* SW aqueous extract with anti-PLA2 activity. *Toxicon*, 52(6), 655–666.

**Samarakoon, K. and Y.J. Jeon. (2012).** Bio-functionalities of proteins derived from marine algae: A review. *Food Res. Int.* 48:948–960.

## T

**Trease, G.E., Evaness, W.C., (1996).** *Pharmacognosy*. 14th ed., W.B Saunders Company Ltd., London, Philadelphia, Toronto, Sydney, Tokyo, pp. 18–27.

**Tiidus Peter M.** Radical species in inflammation and overtraining. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 76(5): 533-538

## W

**Winter CA, Risley EA, Nuss GW (1962).** Carrageenan-induced oedema in the hind paw of rat as an assay for anti-inflammatory activity. *Proc Soc. Exp. Biol. Ther.* 111: 544-547.

**Williams LAD, Hibbert SL, Porter RBR, Bailey-Shaw YA, Green CE.(2006).** Jamaican plants with in vitro anti-oxidant activity. Research Signpost. In *Biologically active natural products for the 21st Century*. LAD Williams (ed.), pp. 1–12.

**Williams L.A, O'Connar A, Latore L, Denis O, Ringer S, Whittaker J.A, Conrad J, Vogler B, Rosner H, Kraus W. (2008).** The in vitro antidenaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *West Indian Med J*, 57, 327–31.

X

**Xu Z. and, Rajeev KJ (2004).** Biomedical compounds from marine organisms. *Marine Drug* 2: 123- 146

Y

**Yildiz G, S. Celikler, O. Vatan, S. Dere.(2012).**Determination of the anti-oxidative capacity and bioactive compounds in green seaweed *Ulva rigida* C. Agardh, *Int. J. Food Prop.* 15(6), 1182–1189

**Yogannadam G.P, Ilango K, Suchitra D. (2010).** Evaluation of anti-inflammatory and membrane stabilizing properties of various extracts of *Punica granatum* L. (Lythraceae), *Int J PharmTech Res*, 2(2), 1260-1263.

Z

**Zhao C., C. Yang, B. Liu, L. Lin, S.D. Sarker, L. Nahar, H. Yu, H. Cao, J. Xiao, (2018).** Bioactive compounds from marine macroalgae and their hypoglycemic benefits, *Trends Food Sci. Tech.* 72 1–12.

**Zongling Wang., Song, W., Zhang, X., & Li, Y. (2018).** Ethanol Extract from *Ulva prolifera* Prevents High-Fat Diet-Induced Insulin Resistance, Oxidative Stress, and Inflammation Response in Mice. *BioMed Research International*, 2018, 1–9.