



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 بوعرييرج
Université Mohammed 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 des activités biologiques d'un extrait brut de polysaccharides algaux

Présenté par:

DRIAI Asma

&

BOUGUERRA Habiba

Soutenu le : 04/07/2022, Devant le jury :

Nom et prénom	Grade	Affiliation/Institution
Président	MOUMENI Ouissem	MCB Université.BBA
Encadrant	MEZDOUR Hichem	MCB Université.BBA
Examineur	BENRADIA Hamida	MCB Université.BBA

Année universitaire:2021/2022

Dédicace

Avant tout, louage à ALLAH le tout puissant, le très miséricordieux qui m'a donné la santé, la force, le courage et la volonté de mener ce travail

Je dédie ce mémoire

A mes très chers parents

Faroudja et Salem

Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de vos sacrifices , de l'amour et de l'affection dont vous n'avez jamais cessé de m'entourer toutes au long de ces années d'études.

J'espère que vous trouvez dans ce travail un vrai témoignage de mon profond amour et éternelle reconnaissance.

A mes très chers frères et ma petite adorable sœur

A toute ma famille, mes amis (es), mes collègues et mon binôme

A tous mes enseignants tout au long de mes études sans exception

A tous ceux qui m'aiment et tous ceux qui j'aime

Asma

Dédicace

A l'aide d'ALLAH tout Puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie.

*A mon cher père : **Chaaban***

« Une épaule forte, un œil attentif et compréhensif et une personne qui mérite mon appréciation et mon respect. Aucune dévotion n'exprime mes sentiments. Que Dieu vous préserve et vous donne la santé et une longue vie. Merci. » Je t'aime papa.

*A ma chère maman : **Merbouha***

« Merci, vous m'avez donné la vie, la tendresse et le courage de réussir. Tout ce que je peux vous donner ne pourra pas exprimer l'amour et la Reconnaissance que j'ai pour vous ». Je t'aime, ma mère.

Dans mon témoignage, je te présente cet acte humble pour te remercier de tes sacrifices et de l'affection dont tu t'as toujours entourée, que Dieu te protège, et t'accorde santé et longue vie.

*Mes merveilleux frères et sœurs : **Hamza, Sofiane, Laila, Zahra, Salma, Taous, Kenza, Yasmin, Khadidja**, et leurs maris et enfants. Merci de m'avoir montré tant de patience pendant les moments difficiles.*

*A mon fiancé **Mounir** qui m'a beaucoup encouragée tout le long de ce travail. Merci de m'avoir montré beaucoup de patience durant les moments les plus stressants.*

*A mes chers amis : **Bouthaina, Lydia, Saloua, Hicham Harbi**, et surtout **Abde Raouf ben Khelifa**.*

A toute ma famille, proche et lointaine.

*A ma compagne, « **Driai Asma** », qui a partagé avec moi les moments difficiles de cette entreprise, et sa famille.*

*Sans oublier mes braves amis du cours de **Toxicologie**.*

Habiba

REMERCIEMENTS

On remercie ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de **Dr. Mezdour Hichem**, on le remercie pour son aide, ses conseils, sa patience, et sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nos remerciements vont aussi à **Dr. Benradia Hamida** d'avoir bien accepté d'examiner le contenu du ce travail et **Dr. Moumeni Ouissem** de nos avoir honoré de présider le jury de la soutenance.

Nos remerciement s'adresse également à tous nos professeurs de la faculté de science de la nature et de la vie et science de la terre et de l'univers

Remerciements particuliers aux membres de laboratoire de biochimie

Sabrina et Fadila

Un gros merci également à nos familles pour leurs soutiens aussi bien moral que financier et pour leurs sacrifices

Finalement, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Dédicace	
Remerciements	
Sommaire	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste abréviation	

Chapitre I : Introduction

1. Introduction.....	01
----------------------	----

Chapitre II : Etude bibliographique

1. L'inflammation.....	02
1.1. Définition.....	02
1.2. Les facteurs déclenchant l'inflammation.....	02
1.3. Les signes stéréotypes de la réaction inflammatoire.....	02
1.4. Les formes de l'inflammation	03
1.4.1 La réaction inflammatoire aiguë.....	03
1.4.2 La réaction inflammatoire chronique	04
2 Les anti-inflammatoires.....	04
2.1 Généralité.....	04
2.2 Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) :.....	05
2.2.1 Définition	05
2.2.2 Mécanisme d'action.....	05
2.2.3 Toxicité et effets indésirables des (AIS)	06
2.3 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	06
2.3.1 Définition.....	06
2.3.2 Mécanisme d'action	07
2.3.3 Toxicité et effets indésirables des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	08

Chapitre III : Matériel et Méthodes

1. Matériel	09
1.1 Matériel végétal	09
1.1.1 Description botanique d' <i>Ulva lactuca</i>	09
1.1.2 Récolte d' <i>Ulva lactuca</i>	10
1.1.3 Extraction des polysaccharides.....	10
1.2 Matériel animal.....	11
1.2.1 Test de l'œdème plantaire chez le rat.....	11
1.2.2 Sacrifice des animaux, récupération du tissu de la voute plantaire et préparation de sa fraction cytosolique.....	11

1.3 Réactifs.....	12
1.4 Appareillage.....	13
2. Méthodes.....	13
2.1 Méthodes de dosage des paramètres de l'inflammation et du stress oxydantif.....	13
2.1.1 Dosage de la myéloperoxydase (MPO).....	13
2.1.2 Dosage du malondialdéhyde (MDA) dans une fraction cytosolique.....	13
2.1.3 Dosage du glutathion réduit (GSH).....	15
2.1.4 Dosage de l'activité de la catalase (CAT).....	16
2.2 Evaluation de l'activité anti-hémolytique de l'extrait de polysaccharides algaux.....	18
2.3 Evaluation de l'activité anti-hémolytique de l'extrait de polysaccharides algaux.....	17
2.3.1 Préparation de la suspension érythrocytaire.....	18
2.3.2 Evaluation de la non-toxicité de l'extrait de polysaccharides pour les globules rouges.....	19
2.3.3 Evaluation de l'activité stabilisatrice des membranes des globules rouges par l'extrait de polysaccharides contre un stress osmotique.....	20
2.4 Evaluation statistique.....	20

Chapitre IV : Résultats et Discussion

1. Résultats.....	21
1.1 Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur l'œdème plantaire chez les rats.....	21
1.2 Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur la concentration de la myéloperoxydase.....	22
1.3 Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur les paramètres du stress oxydantif (Malonydialdéhyde, Glutathion réduit et la catalase).....	22
1.4 Evaluation de l'activité protectrice de l'extrait de polysaccharides.....	25
1.5 Evaluation de l'innocuité de l'extrait de polysaccharides pour les globules rouges.....	26
1.6 Evaluation de l'activité stabilisatrice des membranes des GR par l'extrait de polysaccharides contre un stress osmotique.....	26
2. Discussion.....	28
Conclusion & perspectives.....	37
Références bibliographiques.....	39
Résumé.	

Liste des figures & des tableaux

Liste des figures :

N°	Titre	Pages
01	Mécanisme d'action des glucocorticoïdes	6
02	Mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens	7
03	<i>Ulva lactuca</i>	10
04	Un échantillon de tissu d'œdème de la patte avant et après le broyage avec une solution de PBS	12
05	Préparation des échantillons pour la centrifugation	12
06	La fraction cytosolique	12
07	Centrifugeuse Sigma	13
08	Bain marie	13
09	Spectrophotomètre	13
10	La fraction cytosolique avec le <i>n</i> -butanol et l'acide thiobarbiturique (TBA)	14
11	Chauffage des échantillons dans un bain marie	14
12	Formule chimique du Glutathion réduit	15
13	Réaction d'Ellman	15
14	Préparation des matériels pour le dosage de GSH	16
15	Agitation de réactif d'Ellman	16
16	Extrait d' <i>Ulva lactuca</i>	19
17	Des échantillons de sang	19
18	Le culot érythrocytaire	19
19	Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur le taux de MDA plantaire	23
20	Influence de l'administration de l'extrait de polysaccharides algaux sur la concentration du tissu plantaire en GSH	24
21	Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur l'activité de CAT plantaire	25
22	Taux de protection contre la dénaturation thermique du BSA en présence de l'aspirine et de l'extrait de polysaccharides algaux	25
23	Pourcentage de protection des GR en fonction des concentrations de l'extrait de polysaccharides algaux contre le stress osmotique.	27

Liste des tableaux :

N°	Titre	Pages
01	Effet de l'extrait de polysaccharides algaux et de médicament standard (diclofénac) par rapport au groupe témoin carraghénane	21
02	L'effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur le niveau de MPO	22
03	Pourcentage d'hémolyse avec différentes concentrations de l'extrait algal.	26

Liste des abréviations

Liste des abréviations :

- ✓ AA: Acide arachidonique
- ✓ AINS: Anti-inflammatoire non stéroïdien
- ✓ AIS : Anti-inflammatoire stéroïdien
- ✓ BSA : Bovine Serum Albumin
- ✓ CAT : Catalase
- ✓ CL50 : Concentration Létale50
- ✓ CRP: Protéine C réactive
- ✓ DTNB: Réactif d'Ellman
- ✓ EDTA: Acide éthylène diamine tétra-acétique
- ✓ ERO : Espèces réactives de l'oxygène
- ✓ GPx: Glutathion peroxydase
- ✓ GR : Globule rouge
- ✓ GSH : Glutathion réduit
- ✓ GSSG: Glutathion oxydé
- ✓ GST : Glutathion S-transférase
- ✓ H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène
- ✓ IL-1 β : Interleukine-1 β
- ✓ KCl: Chlorure de potassium
- ✓ MDA: Malondialdéhyde
- ✓ MPO : Myéloperoxydase
- ✓ NaCl: Chlorure de sodium
- ✓ PBS: Tampon phosphate salin
- ✓ PLS: Polysaccharide
- ✓ PS : Polysaccharide
- ✓ PS-CC: Polysaccharide issus de *Cualerpa curessoides*
- ✓ PSS: Polysaccharide sulfaté
- ✓ SOD: Superoxyde dismutase
- ✓ TBA : Acide Thiobarbiturique
- ✓ TCA : Acide trichloracétique
- ✓ TEP: 1,1,3,3-Tetraetoxypropane
- ✓ TNB: Acide thionitrobenzoïque
- ✓ U. lactuca: *Ulva lactuca*

Chapitre I

Introduction

Chapitre I : Introduction

Introduction

Le milieu marin est un milieu riche en ressources naturelles les plus précieuses et fournissent la majorité de la nourriture sous forme de poisson, coquillage et algue. L'eau de mer contient d'énormes quantités et de large variété de composés bioactifs avec un grand potentiel thérapeutique (**conseil national de recherches 1999**). Dans ces dernières années de nombreux composés bioactifs ont été extraits de divers organismes marins, environ 25% des produits pharmaceutiques sont obtenus à partir des végétaux et 12% supplémentaire sont des biomolécules actifs disponibles dans le milieu marin (**Jha et Zirong, 2004**).

Les algues marines sont l'une des plus grands producteurs de biomasse en milieu marin. Ils sont généralement classés en algues vertes (Chlorophyta), algues brunes (Phaeophyta) et algues rouges (Rhodophyta), elles contiennent plus des 600 métabolites secondaires (**Faulkner, 1984**). Le potentiel nutritionnel de l'algue est largement reconnu, Elles sont consommées depuis de nombreuses années à cause de leurs multiples propriétés bioactives. Ces organismes contiennent des molécules de grande valeur comme les protéines, les acides gras polyinsaturés oméga-3, minéraux, polyphénols, alcaloïdes, terpènes, pigments (chlorophylles, caroténoïdes et phycobilines) et polysaccharides (SP) (**Pereira et al., 2021**). Cette diversité des composés est impliquée dans plusieurs activités biologiques comme anti-oxydantes, antimicrobiennes, anticancéreuses, anti-allergiques, antivirales et anticoagulantes (**Kosanic et al., 2015 et Barkia et al., 2019**).

L'objectif de ce travail consiste à évaluer l'activité pharmacologique anti inflammatoire d'un extrait brut de polysaccharides obtenus de l'algue verte *Ulva lactuca*, en utilisant deux approches expérimentales :

- ✓ La première étant l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de polysaccharides d'*Ulva lactuca* au niveau des tissus de la voute plantaire de rats issus du modèle *in vivo* de l'œdème induit par la carraghénane au niveau de la patte postérieure.
- ✓ La deuxième regroupe un ensemble de tests réalisés *in vitro* dans le but de déceler une possible activité anti-inflammatoire.

Nous avons décidé de commencer cette étude par un petit rappel bibliographique, où nous mettons en lumière certaines notions essentielles à la réalisation de cette étude.

Chapitre II

Etude bibliographique

Chapitre II : Etude bibliographique

1. Inflammation

1.1. Définition

L'inflammation est la première barrière de la réponse immunitaire innée qui active par la suite la réponse immunitaire adaptative (**Jean-Luc et Lefranc, 2009**). Elle résume un ensemble des réactions biologiques en chaîne par un tissu vivant vascularisés contre une agression quelconque.

Ce processus est habituellement bénéfique son objectif est de reconnaître, détruire et éliminer l'agent pathogène, et de réparer les lésions tissulaire, parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité et la persistance de l'agent pathogène, du siège de l'inflammation, par anomalies de régulation du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation (**Chiolero et al., 2000**). Si la réaction inflammatoire touche un organe sa fonction peut être affectée et diminuée, en terminologie médicale l'ajout de préfixe «ite» à un nom d'un organe signifie l'inflammation de ce dernier, par exemple : gastrite pour l'inflammation de la muqueuse gastrique, hépatite pour l'inflammation de foie.

1.2. Les facteurs déclenchant l'inflammation

Les causes de la réaction inflammatoire sont diverses et représentent l'agent d'agression qui déterminent la lésion cellulaire et tissulaire et qui peut stimuler le processus inflammatoire (**Stevens et al., 2004**) :

A. Agents exogènes

- Agents chimiques : toxiques, acide, bases...
- Agents physiques : blessure, brûlure, rayonnements ionisants, froid, chaleur...
- Agents biologique: contamination bactérienne, fongique, parasitaire et virale.

B. Agents endogènes

- Défaut de vascularisation, réaction allergique anomalie de systèmes immunitaire...

1.3. Les signes stéréotypes de la réaction inflammatoire

La réaction immunitaire inflammatoire se manifeste par quatre symptômes :

- ✓ Rougeur : augmentation de l'afflux sanguin dans la microcirculation de tissus enflammé.

- ✓ Chaleur: due à la libération des agents pyrogènes par les cellules inflammatoire.
- ✓ Gonflement: formation des œdèmes par infiltration de liquide plasmatique dans les tissus.
- ✓ Douleur : suite à une stimulation des fibres nociceptives.

1.4 Les formes de l'inflammation

On distingue deux types :

1.4.1 La réaction inflammatoire aigue

Est une réponse immunitaire immédiate locale de courte durée (quelques jours ou quelques semaines), elle se caractérise par un phénomène vasculo-exsudative intense. Généralement l'inflammation guérissent spontanément, et disparaît dès que le stimulus est supprimé, la lésion se cicatrise et les différentes fonctions et structure se rétablissent (**Espinosa et Chillet, 2006**).

L'inflammation aiguë se divise en trois phases :

A. la phase vasculaire

Ce commence par une modification de la microcirculation, par une vasodilatation artériolaire puis capillaires dans la zone atteinte. Ce qui entraîne une augmentation de l'apport sanguin (hyperémie) et une diminution de sa vitesse. Ce processus se déclenche immédiatement par la production des facteurs vaso-dilateurs (**Stevens et al., 2004**) tel que la prostaglandine, la bradykinine et l'histamine libérée par les mastocytes.

Ce phénomène est couplé par une augmentation de la perméabilité vasculaire et le passage d'un liquide contient de l'eau et des protéines plasmatiques appelé exsudat dans les tissus conjonctifs interstitiels qui vont créer des œdèmes inflammatoires (**Espinosa et Chillet, 2006**).

L'augmentation de la perméabilité vasculaire facilitant ainsi le passage des cellules immunitaires vers le site inflammatoire.

B. la phase cellulaire

Correspond à la mobilisation des leucocytes en dehors de la microcirculation vers le foyer inflammatoire (**Espinosa et Chillet, 2006**), après l'adhérence des cellules à la paroi endothéliale et des vaisseaux sanguins, ce phénomène est la diapédèse. Au niveau d'un tissu enflammé, les cellules immunitaires résidentes sécrètent des molécules qui attirent d'autres cellules au niveau du site inflammatoire.

Le foyer d'une inflammation aigue attire selon l'origine de la réaction soit les neutrophiles, les monocytes ou les macrophages. Ce qui détermine la nature et la durée de l'inflammation (**Lüllmann, 2008**). Les neutrophiles sont les cellules les plus essentielles au cours de la réponse immunitaire innée, recruté rapidement au site inflammatoire où ils participent à la phase aigüe (**Barrientos, 2014**).

Cette mobilisation cellulaire va permettre la neutralisation de l'agent pathogène par la phagocytose. La libération d'enzymes Hydrolytiques des polynucléaires et le pouvoir phagocytaire des macrophages permettent la destruction de l'agent pathogène (**Hajjaj, 2017**).

C. la phase de résolution

C'est la phase de retour à l'homéostasie, dépend du degré de lésion tissulaire. Le pathogène et les produits de la dégradation tissulaire et les neutrophiles morts sont phagocytés par les macrophages, ainsi que le liquide d'œdème drainé dans la circulation lymphatique et résorbé par pinocytose. Après le nettoyage de foyer inflammatoire, les lymphocytes vont sécréter des cytokines et des médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération du tissu lésé.

1.4.2 La réaction inflammatoire chronique

Si l'agent pathogène persiste ou lorsque la réaction inflammatoire récidive de façon répétée dans le même organe et provoque des destructions des tissulaires, l'inflammation donc devient chronique (**pal et al., 2014**). Les symptômes peuvent se manifester pendant deux mois à deux ans et conduire à de grave complication, par exemple la maladie de Crohn et la polyarthrite rhumatoïde (**Pacheco et al, 2006**). Elle n'est plus du tout bénéfique et doit être diagnostiquée et traitée par des médicaments.

2. Les anti-inflammatoires

2.1 Généralité

Les anti-inflammatoires sont des médicaments capable d'atténuer ou de supprimer le processus inflammatoire (**Cohen et al., 2001**), c'est à dire permettent de lutter contre les phénomènes inflammatoires généraux ou secondaires quelle que soit la cause de cette inflammation (sont des réactions systématiques qui se développent à distance « chroniques » et locaux ou primaires (aiguës)) d'origine diverses (infections, brûlures, irritations, troubles métaboliques, etc.) par inhibition de la Cyclo-oxygénase (COX). (**Grunfeld, 2002 ; Gobec et al., 2005**).

Les prostanoides sont synthétisés à partir de l'acide arachidonique (AA) (phospholipide membranaire), l'activation de la phospholipase A2 qui transforme certains phospholipides membranaires en AA. La cyclo-oxygénase impliquées dans de nombreux mécanismes pour former les prostanoides qui serviront de base à la synthèse des prostaglandines et du thromboxane A2. L'acide arachidonique peut aussi (en fonction du type cellulaire considéré) être métabolisé par les lipoxygénases et les époxygénases. Il existe deux isoformes de cyclo-oxygénases (COX): la cyclo-oxygénase 1 (qui est constitutive dans les tissus) et la cyclo-oxygénase 2 (qui est induite par les phénomènes inflammatoires).

On distingue généralement deux catégories des anti-inflammatoires : les unes sont hormonaux (les anti-inflammatoires stéroïdiens AIS) et les autres ne sont pas (les anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS) (**Samson et al., 2008**).

2.2. Les anti-inflammatoires stéroïdien(AIS)

2.2.1. Définition

Les anti-inflammatoires stéroïdien ou corticoïde sont des hormones naturelles synthétisées par la glande surrénale, la plus connu et la plus efficace les corticostéroïdes ont une activité glucocorticoïde, comme le cortisol (**Samson et al, 2008**), et autre minéralocorticoïde comme l'aldostérone (**Berrady et al., 2010**). Des études ont déterminé la synthèse des glucocorticoïdes qui se fait sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien adrénérrique. D'abord ce sont des hormones stéroïdiennes, agonistes des récepteurs appelés GR (récepteur des glucocorticoïdes),(**Chaplin et al, 1996 ; Samson et al, 2008**)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ont constitué une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol (**Chaplin et al., 1996**), leur durée d'action est plus longue, leur activité anti-inflammatoire plus importante et leur activité minéralocorticoïde plus faible que celles de la molécule mère (cortisol)(**Berrady et al., 2010**).

2.2.2. Mécanisme d'action

Les AIS ont l'originalité d'exercer leurs actions par des effets essentiellement génomiques en agissant sur la transcription de l'ADN en ARN et sur la régulation post-transcriptionnelle des ARN messagers, les corticoïdes peuvent également avoir des effets non génomiques, surtout quand ils sont utilisés à forte dose (**Adcock, 2000 ; Devillier, 2001**).

Les AIS interagissent avec la membrane cellulaire (**Hench et al., 1949**) ou pénètrent dans le cytoplasme (**Adcock, 2000**), dans le cytoplasme ils se fixent sur leurs récepteurs intracellulaires (GR α) (récepteurs cytosoliques spécifiques), Le couple GR α -corticoïdes

pénètre dans le noyau il s'ensuit une translocation intranucléaire de ce récepteur ainsi activé ce qui aboutit à la modulation positive ou négative des gènes cibles qui codent pour protéines responsable de l'action des glucocorticoïdes. Les glucocorticoïdes agissent sur tous les types cellulaire et tissulaire de l'organisme dans le cadre de la réaction inflammatoire, ils inhibent la migration leucocytaire vers le site inflammatoire. (Blétry *et al.*, 2006).

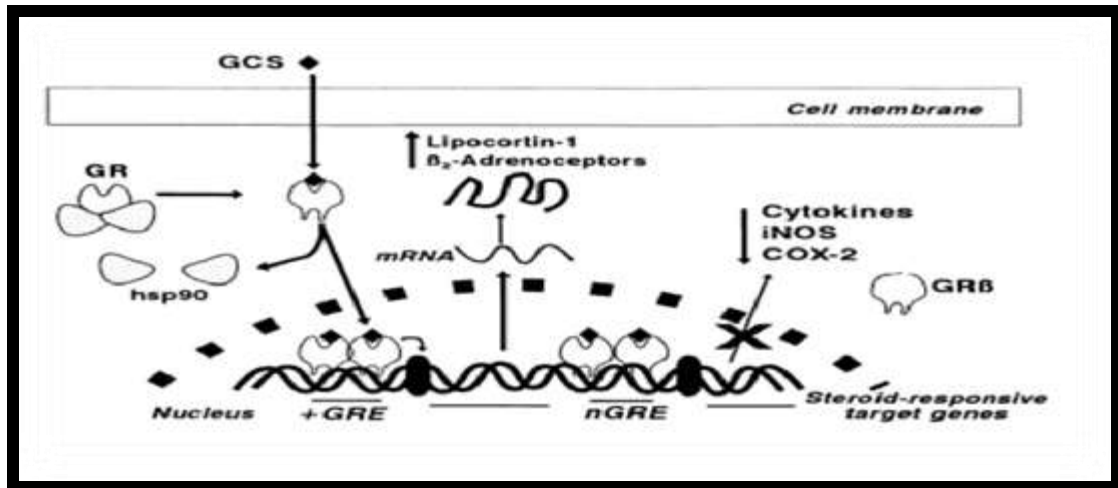


Figure 01 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Barnes, 1998)

2.2.3 Toxicité et effets indésirables des (AIS)

- Hypercorticisme iatrogène : Obésité facio-tronculaire, Diabète, hypokaliémie, Hypertension artérielle, Ostéoporose, Retard de croissance, Inhibition de l'axe hypothalamo-hypophysaire.
- Accidents de « sevrage » : hypocortisolisme endogène à l'arrêt brutal : Insuffisance surrénale aiguë, Reprise évolutive de l'affection initiale.
- Accidents digestifs : Ulcères (gastro-duodéal, ou du colon, œsophage, intestin grêle, du rectum), Pancréatites aiguës/ chroniques (Chaplain *et al.*, 1996).

2.3 Les anti-inflammatoires non stéroïdien(AINS)

2.3.1 Définition

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) regroupent l'ensemble des médicaments symptomatiques qui permettent de réduire ou de supprimer les conséquences de la réaction inflammatoire (Samson *et al.*, 2008 ; Orliaguet *et al.*, 2013 ; Tréchet *et al.*, 2014). Ils agissent en inhibant COX (Lelong *et al.*, 2013), ces molécules sont malheureusement à l'origine des effets indésirables graves et de nombreux AINS ont été retirés du marché ou à cause de leur toxicité (Tréchet *et al.*, 2014).

2.3.2 Mécanisme d'action

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont largement utilisés dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde, l'arthrose et la douleur (douleur dentaire, douleur post-opératoire, etc.). Le mécanisme d'action des AINS est l'inhibition de la cyclooxygénase (COX), enzyme clé de la biosynthèse de la prostaglandine. Cette enzyme a été conclue à l'existence de deux isoformes, la COX-1 et COX-2. (Hla et Nelson, 1992 ; Seibert *et al.*, 1994).

- La COX-1 : est constitutivement exprimées dans les cellules normales (les plaquettes, le tractus gastro-intestinal, reins, etc.).
- Alors que la COX-2 : est spécifiquement exprimée dans les cellules inflammatoires et implique des réponses inflammatoires aiguës et chroniques.

Les AINS inhibent à la fois la cyclo-oxygénase conduit à une diminution de la production des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2) (Nicolas *et al.*, 2001).

A l'échelle cellulaire, des stimuli variés (mécaniques, chimiques...) activent les phospholipases A2 contenues dans les membranes cellulaires entraînant la transformation des phospholipides membranaires en acide arachidonique. Ce dernier est métabolisé en prostaglandines et thromboxane A2 (TXA2) grâce à une enzyme, la cyclo-oxygénase ou COX.

L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS semblait donc, jusqu'à récemment, devoir obligatoirement s'accompagner d'effets favorables et délétères (Blain *et al.*, 2000).

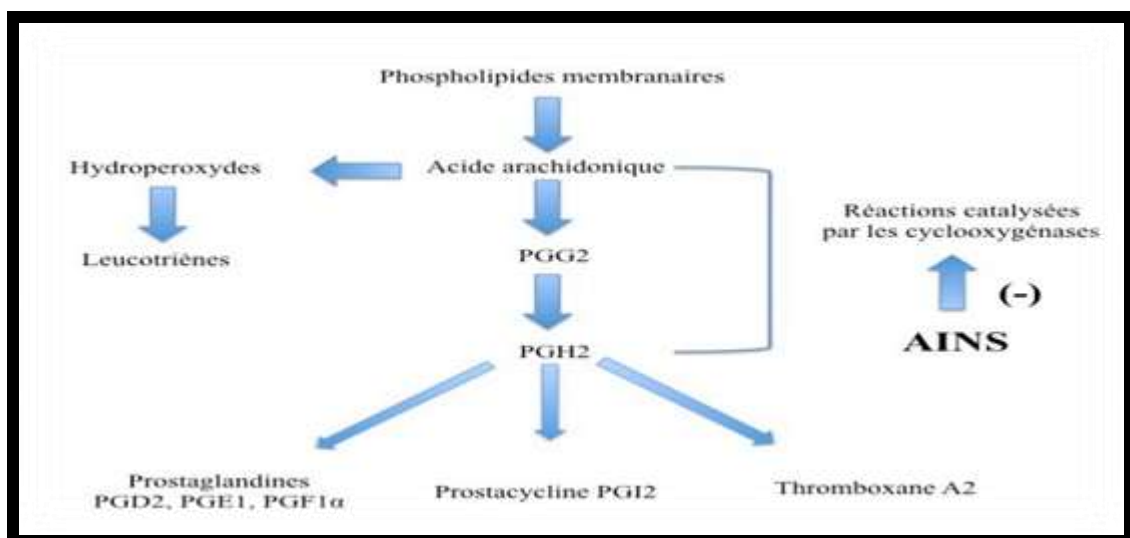


Figure 02 : Mécanisme d'action de l'anti inflammatoire non stéroïdien (Nicolas *et al.*, 2001)

2.3.3 Toxicité et effets indésirables des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

- Les effets gastro-intestinaux sont les plus fréquents : Troubles digestifs (dyspepsie, nausées, diarrhée, gastralgies), ulcère gastrique, hémorragie digestive.
- Réaction d'hypersensibilité :
 - cutanées : Rash, urticaire, aggravation d'urticaire chronique, prurit.
 - générales : Anaphylaxie (notamment chez les sujets présentant une allergie à l'aspirine), œdème de Quincke, vascularité.
- Troubles du SNC : Céphalées, insomnie, vertiges, malaise.
- Troubles cutanés : Rares cas de photosensibilisation, érythème polymorphe, dermatoses bulleuses, syndrome de Stevens Johnson, syndrome de Lyell. **(Baumlöh, 2000)**
- Complications hématologiques : Neutropénie, thrombopénie et plus rarement agranulocytose aigue, poncytopéne.
- Troubles rénaux : Insuffisance rénale fonctionnelle, néphrites interstitielles aigue. **(Talbert, 1998)**
- Réaction hépatiques : Une simple élévation transaminases peut être constatée. **(Devilier, 2001).**

Chapitre III

Matériel *et* Méthodes

Chapitre III : Matériel et Méthodes

Avant de commencer, nous tenons à préciser que les échantillons qui ont servi à la réalisation de cette étude, ainsi que certaines données relatives à l'expérimentation, nous ont été grassement fournis par le laboratoire LBE de Constantine.

1. Matériel

1.1 Matériel végétal

1.1.1 Description du matériel végétal

Ulva lactuca est une espèce foliacée d'un vert brillant ou jaune claire, pousse généralement en eau peu profonde jusqu'à 10 mètres, bien éclairée, au niveau de l'étage médiolittoral et infralittoral supérieur. *U. lactuca* est une macro-algue verte comestible, à distribution cosmopolite (très vaste) en Méditerranée, en Atlantique, mer Noire et en océan Indien et Pacifique (**Guiry, 2014**). *Ulva lactuca* est récolté en grande quantité chaque année dans le monde (**Tian et al, 2015**).

✓ Caractéristiques phénotypiques et botanique

Le nom commun d'*Ulva lactuca* est « laitue de mer » ou « laitue verte ». Elle a des variations de couleur de vert à vert foncé selon sa présence (sous l'eau ou à la plage) Morphologiquement, Elle ressemble à la laitue et forme une lame très mince (bicouche cellulaire), orbiculaire et translucide. Le thalle de la laitue peut atteindre 18 cm de longueur, mais généralement beaucoup moins, et jusqu'à 30 cm de diamètre avec une bordure un peu ébouriffée (**Fischer et al, 1987**).

Le thalle : appareil végétatif sans feuille, ni tige ni racine.

✓ Reproduction et cycle de vie

Leur durée de vies est de quelques mois, mais on en trouve toute l'année. Sa reproduction est dite « haplodiplobiontique » ce cycle est caractérisé par l'alternance régulière de générations haploïde (gamétophyte) et diploïde (sporophyte), qui sont morphologiquement identiques (**Ficher et al, 1986**).

Taxonomie : Linnaeus (1753)

Embranchement : Chlorophyta

Classe : Ulvophyceae

Ordre : Ulvales

Famille : Ulvaceae

Genre : *Ulva*

Espèce : *lactuca*



Figure 03: *Ulva lactuca*

1.1.2 Récolte d'*Ulva lactuca*

Les échantillons d'*Ulva lactuca* ont été récoltés à la fin du mois d'Avril 2019 dans la région de Jijle. 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.

1.1.3 Extraction des polysaccharides

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

De la poudre d'*Ulva lactuca* (40 µg) a été ajoutée à 1,6 µkg 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.

1.2 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.

1.2.1 Test de l'œdème plantaire chez le rat

Un œdème de la patte a été induit (**Winter et al, 1962**) en injectant 100 µl de carraghénane à 1 % p/v en suspension dans du PBS à 1 % dans les tissus sous-plantaires de la patte arrière gauche de chaque rat. Les rats ont été divisés en 4 groupes ; chaque groupe composé de 5 animaux.

- ✓ Groupe I: Contrôle (sain)
- ✓ Groupe II: Contrôle (carragénine)
- ✓ Groupe III : Extrait de polysaccharides algaux (100 mg/kg).
- ✓ Groupe IV : Diclofénac sodique (10 mg/kg) comme référence standard.

L'épaisseur de la patte a été mesurée avant l'injection de la carraghénine et après 1, 2, 3, 4, 5 heures. À l'aide d'un pied à coulisse. 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.

1.2.2 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 saline 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).



Figure 04 :

Un échantillon de tissu d'œdème de la patte avant et après le broyage avec une solution de PBS



Figure 05 :

Préparation des échantillon pour la centrifugation



Figure 06 :

La fraction cytosolique

1.3 Réactifs

- ✓ L'Acide Thiobarbiturique (TBA), le 1, 1, 3,3-Tetraoxypropane (TEP), l'Acide Thionitrobenzoïque (DTNB), le Glutathion réduit (GSH) sont de chez *SIGMA ALDRICHCO., ST Louis, Mo.*
- ✓ Le Tris, le KH₂PO₄, le K₂HPO₄ 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.*
- ✓ BSA de *BIOCHEM., CHEMOPHARMA, Gorgia; USA.*

1.4. Appareillage

- ✓ Centrifugeuse Sigma.
- ✓ Spectrophotomètre.
- ✓ Bain marie.



Figure07:Centrifugeuse
Sigma



Figure 08 : Bain marie



Figure09 :
Spectrophotomètre

2. Méthodes

2.1 Méthodes de dosage des paramètres de l'inflammation et du stress oxydant

2.1.1 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 dusurnageant à 1900 µl de tampons phosphate 10 mmol/l (pH 6,0) et 1 ml de chlorhydrate d'odianisidine 1,5 mol/l contenant H₂O₂ (0,0005% p/v).

2.1.2. 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 à la zone enflammée 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' (Ohkawa *et al.*, 1979).

Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100c°), entre le MDA et deux thiobarbituriques (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 530 nm, extractible par les solvants organiques comme le n-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 100c° 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-tetraoxypropane dans les mêmes conditions.



Figure 10: La fraction cytosolique avec le n-butanol et l'acide thiobarbiturique



Figure 11: Chauffage des échantillons dans un bain marie

2.1.3. Dosage du glutathion réduit (GSH)

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 l^{-1} . 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).

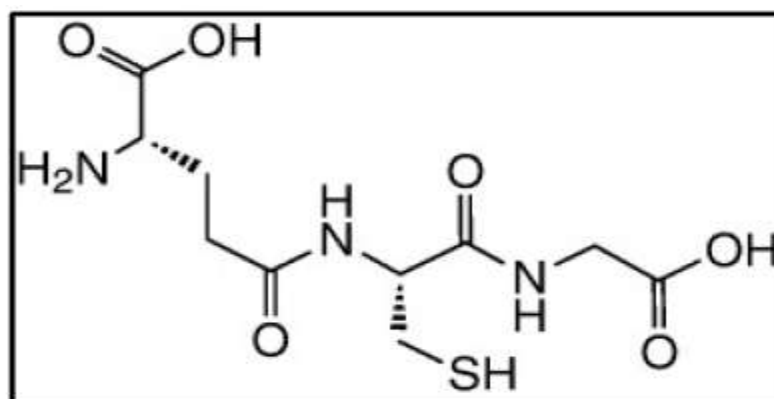


Figure 12: Formule chimique du Glutathion réduit.

➤ 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 :

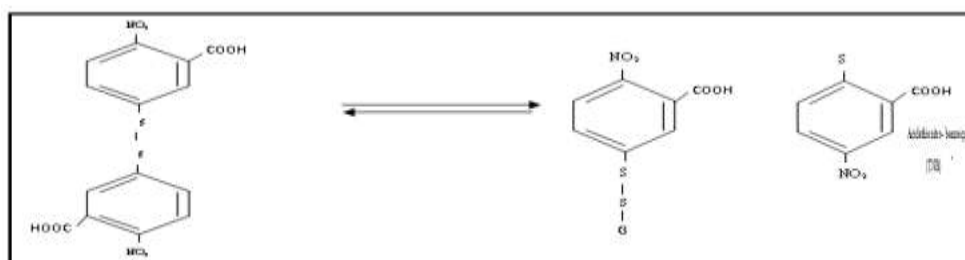


Figure 13: Réaction d'Ellman

➤ 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 μ m/gramme de tissu. Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du GSH dans les mêmes conditions.

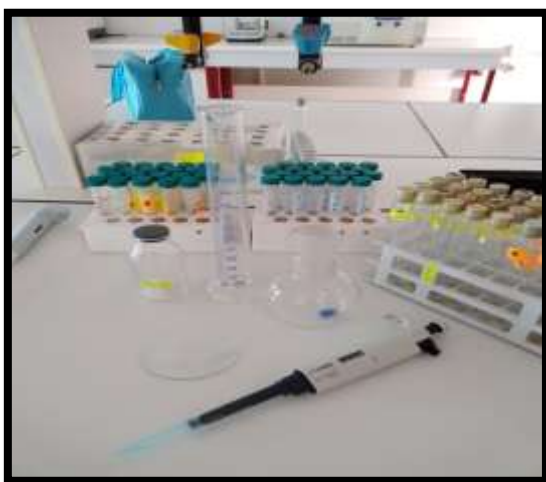


Figure 14: préparation des matériels pour le dosage de GSH



Figure 15: Agitation de réactif d'Ellman

2.1.4. Dosage de l'activité de la catalase (CAT) 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**). La méthode utilisée est basée sur la propriété de la catalase à dégrader le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (**Aebi, 1984**). 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'H₂O₂ 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 H₂O₂ (Aebi, 1984). On effectue une lecture continue du changement d'absorbance à 240nm chaque minute dans un intervalle de temps de 2 minutes.

➤ Calcule

$$K = \frac{2.303}{T} \times \log \frac{A1}{A2}$$

- **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 :

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

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

U/mg de Prot : μmol d'H₂O₂ consommé/min/mg de protéine.

2.2. Evaluation de l'activité protectrice de l'extrait de polysaccharides

Afin d'étudier la capacité de l'extrait de polysaccharides algaux à prévenir les inflammations causées par l'injection de la carragénine, nous avons choisi de réaliser le test d'inhibition *in vitro* de la dénaturation des protéines (BSA) par la chaleur (72°C) décrit par Kandikattu et al. (2013).

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 nos échantillons.

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

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

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

2.3. 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.

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.

1.3.1 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 résultat.

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 154mMde 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**).



Figure 16: L'extrait d'*Ulva lactuca*



Figure 17: Echantillons de sang



Figure 18: Le culot érythrocytaire

1.3.2 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° C.
- ✓ 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 :

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

DoE : Densité optique de l'échantillon

Doc- : Densité du contrôle négatif

Doc+ : Densité du contrôle positif.

2.3.4 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.

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

2.4 EVALUATION STATISTIQUE

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, n = 5 (nombre des rats dans chaque groupe): Différence non significative P > 0.05 ; significative *P <0.05 ; **P < 0.01.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-wayanalysis of variance (ANOVA) suivi par Student.

Chapitre IV

Résultats et Discussion

Chapitre IV : Résultats et Discussion

1. RESULTATS

1.1. Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur l'œdème plantaire chez les rats

Le tableau 01 montre l'effet de l'extrait de polysaccharides algaux et du médicament standard (diclofénac) par rapport au témoin carraghénane à différentes heures dans le modèle d'œdème de la patte induit par le 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 carraghénane avec un pourcentage d'inhibition de 8,27%, 25,46%, 37,96%, 46,12% et 59,63% 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 le carraghénane avec un pourcentage d'inhibition de 19,49%, 45,29%, 67,55%, 73,87% et 82,96% à 1, 2, 3,4 et 5 heures, respectivement.

Tableau 01 : Effet de l'extrait de polysaccharides algaux et du médicament standard (diclofénac) par rapport au témoin carraghénane.

Temps (heure)	1	2	3	4	5
Contrôle (Sain)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Contrôle (carragenine)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Diclofénac 10 mg/Kg	19,49%	45,29%	67,55%	73,87%	82,96%
Extrait polysaccharide 100 mg/kg	8,27%	25,46%	37,96%	46,12%	59,63%

1.2.Effet sur la concentration sur la myéloperoxydase

Les niveaux de MPO ont été testé après 5 heures de la provocation de l'œdème plantaire par au groupe carraghénane. L'effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur les niveaux de MPO est résumé dans le tableau 2. L'injection du carraghénane dans la patte arrière du rat a induit une augmentation marquée ($78,67 \pm 3.51$ nmol/mg de tissu) par rapport au témoin sain ($27,67 \pm 4,37$ 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 $59,76 \pm 2,98$ 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 ($39,42 \pm 4,28$) ($p < 0,05$).

Tableau 02 : L'effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur le niveau de MPO.

Groupes	MPO (nmol/g tissu)
Contrôle (Sain)	$27,67 \pm 4,37$
Contrôle (Carraghénane)	$78,67 \pm 3.51$
Diclofénac	$39,42 \pm 4,28^*$
Carragenine+ Extrait algal	$59,76 \pm 2,98^*$

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

1.3. Evaluation de l'effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur les paramètres du stress oxydant

1.3.1. Effet sur la concentration du malonydialdéhyde (MDA)

La figure 9 représente la variation du taux de MDA chez les rats de l'expérimentation. 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 du carragt-hénane , une augmentation significative ($P < 0.05$) du taux du MDA au niveau du tissu plantaire (153.9 ± 4.017 nmol/g tissu) par rapport au groupe sain (34.54 ± 2.94). Le diclofénac a quant à lui, signification diminué la peroxydation lipidique (58.87 ± 4.55 nmol/g tissu). Par contre le traitement par l'extrait de polysaccharides algaux a

significativement baissé le taux du MDA à 86.96 ± 4.46 nmol/g tissu, mais reste cependant moins importante que chez le groupe diclofénac.

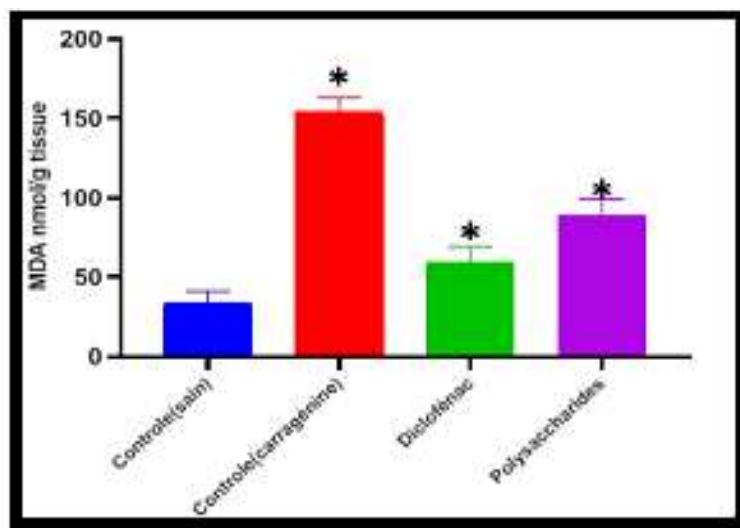


Figure 19: Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur le taux de MDA plantaire

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

1.3.2. Effet sur la variation du taux plantaire en glutathion réduit (GSH)

Les résultats d'étude de l'influence d'un traitement par l'extrait de polysaccharides algaux sur le taux de 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 (40.88 ± 2.65 nmol/mg prot) ($P < 0.05$) par rapport à celui enregistré chez les témoins sans traitement (uniquement le carraghénane à la patte) qui eux, ont montré une déplétion importante en GSH (14.18 ± 1.43 nmol/mg prot) par rapport au groupe sain (57.68 ± 3.85 nmol/mg prot). Par contre, la déplétion du glutathion réduit (GSH) causée par l'injection plantaire du carraghénane a été en partie limitée à (24.50 ± 1.92 nmol/mg prot) chez le groupe ayant reçu l'extrait de polysaccharide algaux à la dose de 100 mg/kg, par rapport au groupe témoin (carraghénane) ($P < 0.05$).

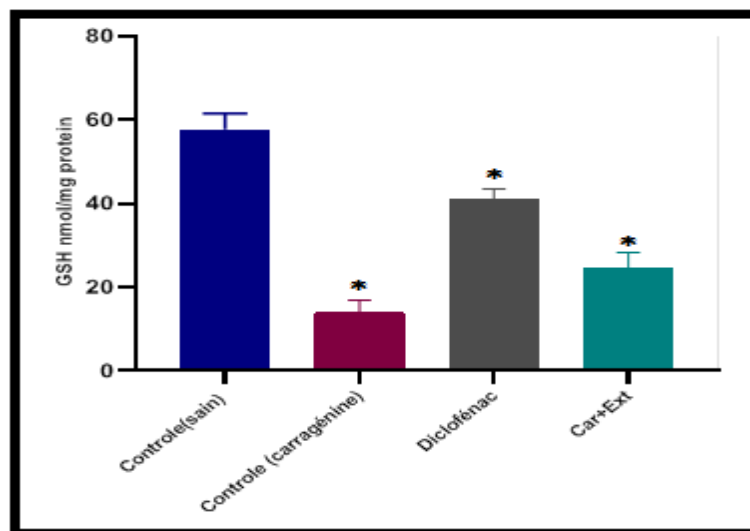


Figure 20 : Influence de l'administration de l'extrait polysaccharides algues sur la concentration du tissu plantaire en GSH

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

1.3.3. Effet sur l'activité du catalase (CAT) plantaire

L'activité du catalase a été déterminée sur une fraction cytosolique du tissu plantaire. La figure 11 représente les résultats de l'influence d'un traitement par l'extrait de polysaccharides algues 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 ($52.22 \pm 4.38 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$) au niveau du tissu plantaire chez les rats traité par l'extrait de polysaccharide algues à une dose de 100mg/kg par rapport à celles de groupe témoins (carraghénane) ($33.69 \pm 3.80 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$), Cependant, les 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 témoin (carraghénane).

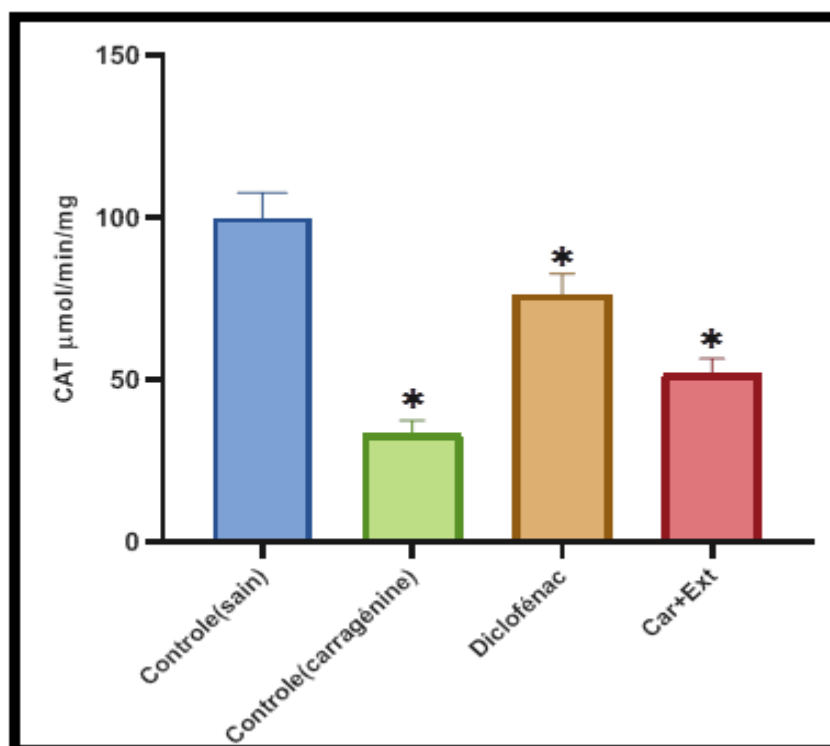


Figure 21 : Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur l'activité de CAT plantaire

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

1.4. Evaluation de l'activité protectrice de l'extrait de polysaccharides

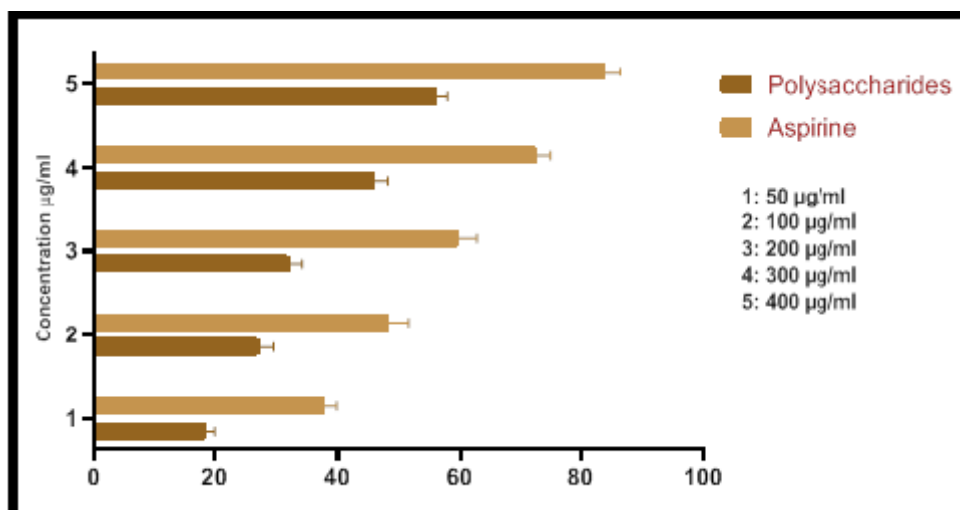


Figure 22 : Taux de protection contre la dénaturation thermique du BSA en présence de l'aspirine et de l'extrait de polysaccharides algaux

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

18.629 ±1.324% pour la première concentration (50µg/ml) jusqu'à plus de 56.189±1.674% pour la cinquième (400µg/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 37.699±2.114% pour la première concentration de 50 µg/ml, et jusqu'à 83.682±2.674% pour la cinquième (400µg/ml).

1.5. Evaluation de l'innocuité de l'extrait de polysaccharides pour les globules rouges

Le tableau 03 représente les pourcentages d'hémolyse obtenus après l'incubation des GR avec l'extrait de polysaccharide algaux, les taux ont été calculés en prenant en considération un témoin positif (GR avec saponine) et un témoin négatif (hémolyse naturelle).

Tableau 03 : Pourcentage d'hémolyse avec différentes concentration de l'extrait algaux.

Concentration de l'extrait (µg/ml)	%Hémolyse
50	1.48±0.11%
100	1.17±0.37%
200	2.55±0.63%
300	3.59±0.51%
400	4.67±0.214%

On a observé que l'extrait de polysaccharide présent un taux très faible d'hémolyse allant de 1.48±0.11% à 4.67±0.214% en comparaison avec les témoins (positif et négatif) qui reste très inférieurs et négligeables même avec concentration de 400µg/ml de l'extrait de polysaccharide algaux, ces résultats restent très intéressants.

1.6. Evaluation de l'activité stabilisatrice des membranes des globules rouges par l'extrait de polysaccharide 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 exprimé sur le graphique si dessous :

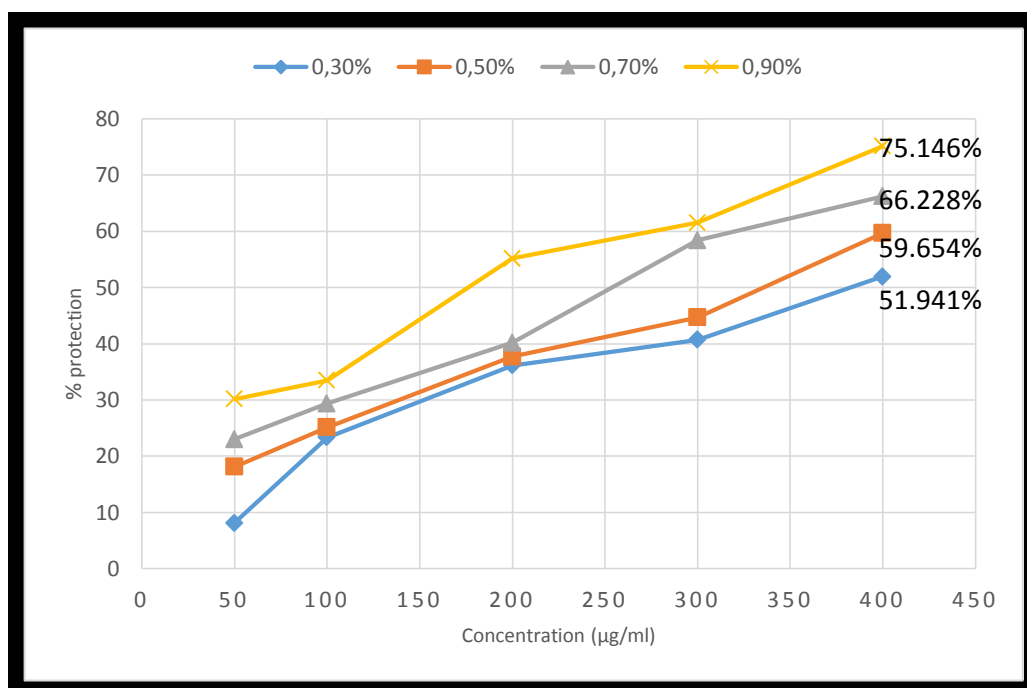


Figure 23: Pourcentage de protection des GR en fonction des concentrations de l'extrait de polysaccharides algaux contre un stress osmotique

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 51,941 % , 59,654 % , 66,228 % et 75,146 % 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.

Discussion

La réaction inflammatoire peut être associée à une très grande variété de situations Pathologiques : l'infection, l'arthrite, l'athérosclérose, le cancer et certaines maladies mortelles (**Lee *et al.*, 2013**). Ainsi, bien qu'elle soit indispensable à la survie de l'organisme agressé, L'inflammation n'est pas moins dangereuse (**Galanaud, 2003**). Cependant, les médicaments commercialisés tel que les anti-inflammatoires stéroïdiens, anti-inflammatoires non stéroïdiens, anesthésiques Locaux, sont insatisfaisants, contraignants et entraînant beaucoup d'effets indésirables : ulcères Gastriques, action immunosuppressives, insuffisance rénal , convulsions, accidents cardiovasculaire (**Stewart *et al.*, 2003**). D'où la Nécessité de la recherche de nouvelles molécules qui pourraient agir directement sur la douleur et les médiateurs de l'inflammation ayant ainsi moins d'effets secondaire possible.

Les algues prennent de l'importance dans divers domaines allant de l'alimentation à la médecine, elles représentent une source riche en composants biologiques actifs qui possèdent divers avantages pour la santé (**Mayer *et al.*, 2003**) qui pourraient être utilisés comme des agents thérapeutiques (**Madhusudan *et al.*, 2011**). Il a été démontré que des extraits ainsi que des composés de divers structures obtenu à partir des algues vertes et des algues brunes capables d'inhiber l'inflammation (**Hoang *et al.*, 2007 ; Kang *et al.*, 2008**). De même, les *Ulva sp.* (algues vertes) ont été connu pour divers composés bioactifs fonctionnels qui ont été étudiés pour leurs activités.

Plus précisément, les polysaccharides sont les principaux composants des algues. Ils se produisent généralement dans la gamme de 5 à 75% de leur poids sec selon l'espèce, l'âge ou la saison de récolte, (**Hentati *et al.*, 2020**). L'importance des polysaccharides réside dans le fait que nombre d'entre elles sont des polysaccharides sulfatées, non présents dans les plantes terrestres et lié à plusieurs avantages pour la santé. Leur occurrence est spécifique pour chaque espèce de macroalgue (**Hentati *et al.*, 2020**). Par exemple, les algues vertes contiennent de l'ulvane, les algues brunes sont riches en alginate, laminarine, fucanes et fucoidans, tandis que les macroalgues rouges sont composé du carraghénane, d'agar, d'amidon de floride, mais aussi d'autres galactanes. Ces les différences dans leur structure chimique entraînent les propriétés de polysaccharide (**Raposo *et al.*, 2005**). Ulvan est un polysaccharide majeur présent dans les *Ulva sp.* Il comprend de 9 % à 36 % de la biomasse de poids sec des cellules d'*Ulva sp.* (**Morelli *et al.*, 2017 ; Kidgel *et al.*, 2019**) . ils sont

largement utilisé comme additifs alimentaires et plusieurs études ont examiné ses avantages thérapeutiques (**Madhusudan et al., 2011** et **Lakshmi et al., 2020**). Généralement, ils possèdent plusieurs activités tel que l'activité ,anti-hyperlipidémiante (**Pengzhan et al., 2003**) , anti-tumoral (**Lee et al., 2004**) antioxydant (**Qi et al., 2006**),anti coagulant,(**Mao et al., 2006**) anti-inflammatoire (**Margret et al.,2009**) , anti -viral (**Chiu et al., 2013**).

Ce travail vise à mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire d'un extrait brut de polysaccharides algaux obtenu de l'algue verte *Ulva lactuca* , on utilise des tests *in vivo* sur un modèle animal de l'inflammation aigue, et des tests *in vitro* pour l'évaluation de la non-toxicité vis-à-vis les globules rouges ainsi que le test d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA) .

L'œdème est l'un des signes importants de l'inflammation aigue, c'est un paramètre très important dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de plusieurs molécules (**Morris, 2003**). Dans notre étude l'œdème inflammatoire à été reproduit expérimentalement par injection du carraghénane dans la patte arrière gauche des rats « wistar » (**Winter et al., 1962**), afin d'étudier l'effet anti-inflammatoire et d'essayer de comprendre le mode d'action de l'extrait de polysaccharides algaux. L'inflammation provoquée par cet agent phlogogène est développée sous forme de gonflement (œdème inflammatoire) et une augmentation du volume de la patte de rat jusqu'à 50 % du volume initial.

D'après **Rahmbhatt et al (2010)** l'inflammation au niveau de la patte postérieure induite par la carraghénane est un modèle expérimentale standard pour l'étude de l'inflammation aiguë, elle provoque une inflammation locale sur le point d'application. Nos résultats ont clairement démontré que l'extrait de polysaccharide algaux a un effet anti-œdématogène chez les rats ,avec un pourcentage d'inhibition de 8,27%, 25,46%, 37,96%, 46,12% et 59,63% à 1, 2, 3, 4 et 5 heures, respectivement par rapport au groupe carraghénane.

Des travaux similaires de **Margret et al (2009)** ont démontré que les polysaccharides isolés de *Ulva lactuca* possèdent des propriétés anti-inflammatoires en réduisant l'œdème de la souris après 4 jours dans une expérimentation animal. Aussi, selon les travaux précédents un effet anti-inflammatoire a été rapporté chez les deux Algues vertes des genres *Enteromorpha* (**Okai et al., 1997**) et *Ulva* (**Hong et al.,2011**) .cette activité est due à cause de leurs teneur en acides gras, en terpènes et en polysaccharides, ces molécules s'avèrent être dotées d'activité anti-inflammatoire (**Assreuy et al., 2008**).

Une autre étude de **Rodrigues et al, (2013)** sur les activités anti-inflammatoires et anti-nociceptive des PS : le polysaccharide issu de l'algue verte *Caulerpa cupressoides* a été injecté par voie sous-cutanée pour des rats mâles Wistar dans un modèle de péritonite et un modèle d'œdème de la patte. Ont trouvé que le PS-CC a évidemment montré des effets anti-inflammatoires en diminuant la migration des neutrophiles et en réduisant le volume l'œdème de la patte.

L'agrégation des leucocytes dans l'environnement inflammatoire est un évènement fondamental de l'inflammation. La dégradation des pathogènes s'effectue par deux mécanismes concomitants : la production de formes réactives de l'oxygène (ROS : reactive oxygen species) par la voie du NADPH oxydase et la libération, de protéines enzymatiques (myéloperoxydase, élastases, lysosyme, gélatinase) et antimicrobiennes (lactoferrine, bactericidal/permeability-increasing protein ou BPI, défensines) par les granules des polymorphonucléaires neutrophiles (**Segal, 2005 ; Pierce, 2009**).

La réponse inflammatoire de la patte induite par la carraghénane s'accompagne d'une infiltration intense des neutrophiles (**Souza et al., 1998**). L'activité de la MPO est généralement considérée comme un paramètre biochimique et un indicateur important d'infiltration de neutrophiles (**Bradley et al., 1982**). Nos résultats ont démontré que 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 $59,76 \pm 2,98$ nmol/mg de tissu par rapport au groupe control carraghénane $78,67 \pm 3,51$ nmol/mg. On peut suggérer que notre extrait a inhibé l'infiltration des neutrophiles, qui a été évident de l'activité réduite de MPO mesurée dans les pattes des rats.

Des résultats similaires des travaux menés par **Tarcisio** et ces collaborateurs en (**2013**) ont rapporté une diminution de l'activité de MPO à 5 (UMPO)/mg de tissu, mesurée dans le tissus de la patte chez les animaux traités par la fraction de polysaccharides algaux par rapport au groupe control carraghénane 30 (UMPO)/mg de tissu. Ainsi une diminution des neutrophiles péritonéaux et, la cytokine pro-inflammatoire (IL-1 β) dans le liquide péritonéal qui présente des effets multiples, dont l'activation des cellules inflammatoires, induction de plusieurs protéines inflammatoires, cytotoxicité, formation d'œdèmes et migration des neutrophiles (**Rosenbaum, 1991**).

De plus, le polysaccharides obtenu à partir du la microalgue rouge *Porphyridium* a inhibé le recrutement des cellules immunitaires en bloquant la migration et l'adhérence des

leucocytes polymorphonucléaires (**Matsui, 2003**). L'administration orale de polysaccharide brut soluble dans l'eau d'algue brune *Turbinaria orné* évoquait une inhibition considérable sur la perméabilité vasculaire induite par l'acide chez la souris (**Ananthi, 2010**).

C'est bien établi que les AINS inhibent la migration des cellules en inhibant la libération de médiateurs chimiques (**Prempeh et al., 2008**), inhibant l'expression de molécules d'adhésion cellulaire (**Endemann et al., 1997**) et inhibant la motilité cellulaire (**Phelps et al., 1971**). Compte tenu de ces résultats, il est possible que l'extrait de polysaccharides sulfatés a inhibé la migration des neutrophiles en un ou plusieurs de ces mécanismes.

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que l'anion superoxyde radical (O₂⁻), espèces de radicaux hydroxyle (-OH), et de l'hydrogène peroxyde (H₂O₂) sont des espèces d'oxygène actifs qui sont souvent générés par des réactions d'oxydation biologique (**Cheeseman et al., 1993**). Il est bien connu que les ROS sont couramment produites au cours des processus inflammatoires, elles sont impliquées dans la transduction du signal, l'activation des gènes, et peuvent provoquer des dommages aux cellules hôtes et aux organes (**Li et al., 2010**).

La production excessive d'espèces réactives de l'oxygène dans l'environnement inflammatoire peut causer des dommages oxydatifs aux macromolécules biologiques telles que les protéines, les acides nucléiques, les lipides et l'ADN (**Xie et al., 2015**). Les lipides sont la cible la plus courante du stress oxydatif, et leur produit d'oxydation, le MDA, peut causer de graves dommages au complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale et à la membrane cellulaire, il est largement utilisé comme marqueur de la peroxydation lipidique (**Wang et al., 2010**). Par conséquent, l'élimination des ROS est considérée comme importante pour contrôler l'inflammation.

Dans la présente étude nous avons choisi de doser l'enzyme anti-oxydante (CAT), la molécule anti-oxydante endogène (GSH) et le produit d'oxydation des lipides (MDA) pour mettre en évidence le stress oxydatif. Nous avons observé une augmentation significative ($P < 0.05$) de l'activité de la catalase à ($52.22 \pm 4.38 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$) et de GSH à ($24.50 \pm 1.92 \text{ nmol}/\text{mg prot}$) et une diminution du taux de MDA à ($86.96 \pm 4.46 \text{ nmol}/\text{g}$) dans le tissu plantaire chez les rats traités par l'extrait de polysaccharides algaux à une dose de 100mg/kg par rapport au groupe carraghénane dont le taux est : CAT($33.69 \pm 3.80 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$), GSH($14.18 \pm 1.43 \text{ nmol}/\text{mg prot}$) et MDA($153.9 \pm 4.017 \text{ nmol}/\text{g tissu}$). Ce qui était conforme à l'étude de **Godard et al., (2009)** qui ont démontré que le

polysaccharide d'*U. lactuca* pourrait significativement augmenter les activités de différents systèmes de lutte contre les radicaux libres comme la superoxyde dismutase (SOD) , la glutathion peroxydase (GSH-Px) et surtout inhiber la peroxydation lipidique et la production d'anion superoxyde. Ainsi les fractions des polysaccharides extraites d'*Ulva lactuca* ont montré un effet inhibiteur significatif sur l'hydroxyle et l'activité des radicaux superoxydes (**Qi et al.,2010**).

Li et ses collaborateurs (2018) ont démontré que les composants des polysaccharides algueux peuvent augmenter l'activité de la glutathion peroxydase (GSH), la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la télomérase, et les antioxydants totaux et diminuent le taux de malondialdéhyde (MDA). La forte activité antioxydante de l'ulvane d'*Ulva sp* est corrélée à la position et la composition en sulfate et leur poids moléculaire (**Massironi et al.,2019**). De plus, l'ulvane à haute teneur en sulfate a une capacité antioxydante évidente et une activité hypolipidémiant (**Li et al.,2020**). Cependant, les polysaccharides sulfatés n'ont pas tous des activités anti-oxydantes élevées, puisque plusieurs facteurs tels que le poids moléculaire, la composition des monomères, le degré de la sulfatation et de la position du sulfate peut considérablement modifier leur activité anti-oxydante (**Zhong et al, 2019**). Selon des études menées en 2015, 2019 et 2020, plusieurs sources d'ulvanes d'*Ulva sp* se sont avérées avoir un effet antioxydant ; ils comprennent *U. lactuca* et *U. ohnoi* (**bondu et al.,2015**)*U. rigida* (**Fernandes et al.,2019**) et *U. australis* (**Trentin et al., 2020**).

Chez les souris hypercholestérolémiques, l'ulvane réduit le stress oxydatif en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes (110 % pour CAT, 77 % pour GPx et 23 % pour SOD) et le niveau des antioxydants non enzymatiques (GSH). Ces changements limitent les conséquences de l'endommagement des macromolécules en minimisant la peroxydation des lipides et l'oxydation des protéines (**Bkhairia et al, 2017**). L'administration d'Ulvan à des souris exposées à un stress extrême a empêché le métabolisme anormal des lipides, et modulé les systèmes de défense antioxydant du foie, et réduit la peroxydation lipidique (**Wang et al, 2013**).

Dans un second volet de notre étude. Le criblage de l'activité anti inflammatoire a été aussi réalisé in vitro par teste de la dénaturation des protéines et stabilisation des membranes des globules rouges. (**EL Opie, 1962 ; Kumar et al., 2011**).

Le sang est un liquide rouge biologique circulant dans les artères et les veines sous l'impulsion du cœur. Un individu en contient de 5 à 7 litres de sang dans son corps, ce qui représente environ 8% de son poids total. Le sang est constitué des globules (hématies,

leucocytes ...) contenus dans un liquide riche en élément minéraux (chlorure de sodium ...) et en protéines (plasma). Il joue un rôle essentiel dans le transport de l'oxygène, les hormones et les nutriments à toutes les cellules, tous les tissus et tous les organes du corps.

Les globules rouges, encore appelés « hématies ou érythrocyte » est les cellules sanguines les plus abondantes anucléées dont le cytoplasme est constitué essentiellement d'une hémoprotéine (hémoglobine), les globules rouges se présente comme un disque biconcave qui possède une capacité de déformation lui permettant de circuler jusqu'au capillaires sanguins, le membranes de l'hématies est le siège des antigènes qui déterminent les groupes sanguins (système ABO, système rhésus et autre systèmes érythrocytaires). **(Raymonde Gilles et Michel Anctil, 2006).**

Dans notre expérience afin d'étudier la capacité d'un extrait de polysaccharide d'algues à inhiber l'inflammation induite par des injections de carragénine, nous avons choisi de réaliser un test in vitro d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA) par la chaleur (72°C) **(Kandikattu et al., 2013).**

Selon **EL Opie (1962)**, La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leur structure tertiaire et leur secondaire par application d'une contrainte ou d'un composé externe, tel qu'un acide ou une base forte, un sel inorganique concentré, un solvant organique ou la chaleur. La plupart des protéines biologiques perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées, la dénaturation des protéines tissulaires est l'une des causes d'inflammation bien documentées

Dans notre étude, nous remarquons que le taux de protection de l'extrait de polysaccharides algues d'*Ulva Lactuca* est directement proportionnel à la concentration utilisée, allant de $18.629 \pm 1.324\%$ pour la première concentration (50 µg/ml) jusqu'à plus de $56.189 \pm 1.674\%$ pour la cinquième (400 µg/ml). Cette proportion directe aux résultats avec des concentrations variables et croissant ($18.629 \pm 1.324\%$... jusqu'à $56.189 \pm 1.674\%$) indique que l'extrait polysaccharides algues d'*Ulva Lactuca* inhibant la dénaturation des protéines ont des propriétés anti-inflammatoires. Nous avons aussi choisi l'aspirine comme anti-inflammatoire de référence, son activité anti-inflammatoire a été évalué dans les mêmes conditions appliquées à nos échantillons. Ce qui a été démontré par **Brown et al, (1968)** et **Grant et al, (1970)** où ils ont été trouvés les polysaccharides issus des algues ont montré de nombreuses fonctions biologiques bénéfiques telles que l'antioxydant, l'anti cancérogène, l'antiviral, l'administration ciblée de médicaments, activités cicatrisantes et anti-inflammatoires.

Les processus inflammatoires et anti-inflammatoires impliquent de nombreuses molécules, dont la plupart sont des protéines. La dénaturation de ces protéines leur fait perdre leurs propriétés biologiques, ce qui peut déclencher ou accentuer l'inflammation (**Brown et al, 1968**). Cette dénaturation passe souvent par l'altération des liaisons qu'ils constituent (hydrogène, électrostatique, hydrophobe et disulfure). (**Grant et al., 1970**). Leurs résultats ont montré que l'extrait de polysaccharide avaient une bonne activité anti dénaturation de la BSA.

Williams et al,(2002). Ont montré que le sérum sérique bovine contenait deux sites actifs avec l'acide aminée thréonine, lysine et tyrosine auxquels les molécules bioactives pouvaient se lier pour activer et réguler la transduction du signal.

Selon **Duganath et al, (2010)**. Rapportent que cet effet pourrait également être due à la liaison des molécules bioactives au plasma protéines et ainsi les protéger de toute agression.

L'étude menée par **Williams et al, (2008)**. A montré que Il a été ont rapporté que l'une des caractéristiques de plusieurs anti-inflammatoires non stéroïdiens est leur capacité à stabiliser (empêcher la dénaturation) l'albumine traitée thermiquement au pH physiologique (pH : 6,2-6,5).

La dénaturation des protéines est l'une des causes de plusieurs maladies inflammatoires. En effet, la dénaturation des protéines tissulaires est l'une des causes des maladies auto immunes telles que l'arthrite ou la production d'antigènes auto dénaturation (**Umopathy et al, 2010**).

D'autre part, l'hémolyse est classiquement définie comme un processus de rupture et de destruction des érythrocytes se produisant soit à l'intérieur (par exemple, in vivo, également connu sous le nom "d'hémolyse intra vasculaire" ou "anémie hémolytique"), soit à l'extérieur (c'est-à-dire in vitro, également connu sous le nom "d'hémolyse d'impulsion") (**Lippi et al, 2011**). Bien que la concentration « normale » (c'est-à-dire physiologique) d'hémoglobine libre soit généralement comprise entre 0,22 et 0,25 g/L dans le sérum et entre 0,10 et 0,13 g/L dans le plasma (**Lippi et al, 2014**). La définition de l'hémolyse est généralement réservée aux conditions où les échantillons de sérum ou de plasma contiennent une concentration d'hémoglobine acellulaire > 0,5 g/L et affichent une couleur rose à légèrement rouge. Lorsque la concentration d'hémoglobine acellulaire dépasse 2 à 3 g / L, elle est souvent appelée hémolyse «grossière» ou «franche» et s'accompagne d'une couleur rouge à brune du sérum ou du plasma, en fonction de la quantité finale de protéines (**Lippi et al, 2011**).

Afin d'évaluer l'activité anti-hémolytique de l'extrait de polysaccharide d'algues d'*Ulva lactuca*, nous avons examiné l'activité anti-hémolytique potentielle (hémolyse de l'extrait de polysaccharide d'algues, c'est-à-dire sa capacité à empêcher la destruction des globules rouges soumis à un stress osmotique). Nous remarquons que les pourcentages d'hémolyse obtenus après l'incubation des GR avec l'extrait de polysaccharides algues d'*Ulva lactuca* ont démontré que l'extrait présente une très faible cytotoxicité à des concentrations variables et qui ne dépasse pas les 5%. Ce qui a été démontré par **(Lahaye et Robic (2007))** les résultats des travaux ont indiqué que l'extrait d'Ulvan, un polysaccharide marin sulfaté issu l'algue marine verte *Ulva lactuca* est d'une grande versatilité, non toxique. **(Lahaye et Robic, 2007)**.

Aussi selon **Mccray et al, (2000)**. Les résultats ont également montré que les algues verts possèdent une activité hémolytique très inférieure et qu'elles peuvent en outre être utilisées pour l'isolement de composés bioactifs.

L'évaluation de l'activité stabilisatrice des membranes des GR par l'extrait de polysaccharides algues d'*Ulva lactuca* contre un stress osmotique. Le principe de cette méthode est basée sur la capacité des extraits à empêcher l'hémolyse des GR humaine, induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir la libération de l'hémoglobine. Le pourcentage de protection des GR par l'extrait polysaccharide algal *Ulva lactuca* 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 51,941 %, 59,654 %, 66,228 % et 75,146 % avec les concentrations de la saline suivantes : 0.3%, 0.5%, 0.7 et 0.9%, ceci indique que nos résultats démontrent une activité protectrice contre les érythrocytes et contre les stress osmotique, empêchant ainsi l'hémolyse. Ce qui a été démontré par **Kumar et al, (2011)**. Les lysosomes sont des organites cellulaires, présents dans le cytosol de toutes les cellules eucaryotes animales à l'exception des hématies, vu les similitudes existant entre la membrane érythrocytaire et la membrane lysosomale, l'effet de l'extrait polysaccharides algal verts sur la stabilité des hématies pourrait être extrapolé à la stabilisation de la membrane lysosmale. Cette stabilisation est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération des constituants lysosomaux.

Selon **Okoli et al, (2008)**. Les leucocytes jouent un rôle central dans l'infiltration cellulaire au cours du processus inflammatoire En libérant des enzymes lysosomales, telles que les protéases, l'extrait de polysaccharide algues *Ulva intestinalis* était plus efficace pour

protéger contre l'hémolyse induite par la chaleur car la membrane lysosomale est similaire à celle des globules rouges et l'inhibition de l'hémolyse donne une bonne vision du processus inflammatoire. En effet, la stabilité cellulaire La membrane empêche la lyse et la libération de substance cytoplasmique, stoppant ainsi l'inflammation.

L'extrait polysaccharidiques des algues vertes *Ulva rigida* (Ray et Lahaye, 1995), *Ulva fasciata* (Shonima et al, 2012), *Ulva intestinalis* (Okoli et al., 2008) donne de la stabilité aux membranes des GR, évitant ainsi leur éclatement par hémolyse. Il a déjà été décrit comme ayant une forte activité anti-inflammatoire.

Et enfin. Le but de cette étude était de savoir si le polysaccharide a ou non un potentiel protecteur. Dans notre étude, basée sur plusieurs références et de nombreux articles, nous avons constaté que les polysaccharides sulfatés présentent des activités biologiques importantes telles que des activités anticoagulantes (Abd El-baky et al., 2009), antioxydantes (Yildiza, 2012), anticytotoxiques (Mezghani, 2013), ainsi que des activités anti-bactérienne (Berri et al., 2016), antivirales (Aguilar et al., 2015) et anti-inflammatoires (Brown et al., 1968). Malgré les recherches avancées sur les sucres, il existe peu d'études par rapport à leur grande variété. Il serait donc intéressant d'identifier et de caractériser les nouvelles activités biologiques des polysaccharides, notamment ceux d'origine végétale, afin d'augmenter l'utilisation des remèdes naturels dans les domaines médical et nutritionnel. Afin de mieux évaluer les potentiels biologiques des polysaccharides, il est souhaitable d'exploiter et d'étendre diverses recherches d'investigation.

Conclusion

Et

Perspectives

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

À l'heure actuelle, la recherche des anti-inflammatoires naturelles comme d'autres sources des anti-inflammatoires de synthèse a émergé et l'exploitation des divers métabolites secondaires de les algues a été souligné ces dernières années.

Les extraits d'algues sont également utilisés dans de nombreux domaines, y compris le secteur pharmaceutique, Les principes actifs extraits des algues sont utilisés comme anti-inflammatoires, pour lutter contre la prise de poids, pour leur effet laxatif ou pansement, les micro-algues peuvent être utilisées pour améliorer le confort des diabétiques. Certains sucres issus des algues peuvent également modifier l'absorption intestinale de la réponse du glucose et de l'insuline à la nourriture... etc.

L'algues verte *Ulva lactuca* a une force pharmacologique et des indications Beaucoup thérapeutiques. L'inhibition du développement de l'œdème de la patte induit par la carraghénane dans les rats permet de conclure que l'extrait polysaccharide possède une activité anti-inflammatoire, et comparable à celle de diclofénac qui est un anti-inflammatoire de référence.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait de polysaccharide a été évaluée pour l'algues verte *Ulva lactuca* par essai d'inhibition de la dénaturation des protéines. Nous avons constaté que l'extrait de polysaccharide d'*Ulva lactuca* a une capacité intéressante à faire face au processus inflammatoire en régulant le statut redox cellulaire et en réduisant le taux de dénaturation des protéines.

Alors que dans le test de stabilisation de la membrane des globules rouges humains, L'extrait polysaccharidique d'*Ulva lactuca* a montré la capacité de protéger la dégradation membranaire, les extraits de cette algue pourraient donc être utilisés sous diverses formes en algothérapie grâce à ses diverses activités biologiques.

Les résultats obtenus dans notre étude serviront de support dans le futur, afin de compléter et d'approfondir cet axe par des études avancées (composition osidique, degré de sulfatation, mécanismes d'action moléculaire).

Des travaux supplémentaires sont nécessaires pour tester d'autres doses et d'autres extraits d'algues. Il est également intéressant d'identifier les principes actifs des algues ainsi La structure et la méthode de leur travail.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abd El-Baky, HH, El-Baz FK, El-Baroty, GS. (2009).*Potential Biolo-Gical Properties of Sulphated Polysa-Ccharides Extracted From The Macroalgae Ulva Lactuca L. Acad J Cancer Research 2: 1-11.*

Ananthi, S, Raghavendran, H.R, Sunil, A.G, Gayathri, V, ramakrishnan, G, Vasanthi. (2010). *In vitro antioxidant and in vivo anti-inflammatory potential of crude polysaccharide from turbinaria ornata (Marine Brown Alga). Food Chem. Toxicol., 48, 187-192*

Aratani Y,(2018).*Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. Arch Biochem Biophys. Feb 15;640:47-52.*

Assreuy, D. M. Gomes, M.S.J. Silva, V. M. Torres, R.C.L. Siqueira, A. F. Pires, D.N. Criddle, N.M.N. Alencar, B.S. Cavada, A.H. Sampaio et W.R.L. Farias .(2008).*Biological Effects of Sulfated-Polysaccharide Isolated from the Marine Red Algae Champia Feldmannii. Biol. Pharm. Bu ll., 31(4), 691-695. .*

B

Barriento L .(2014).*Modulation fonctionnelle des cellules dendritiques par les « Neutrophil Extracellular Traps ». Cytokines, chimiokines et immunopathologie, 01 :11-16.*

Baumloh A, (2000).*Encyclopédie du médicament, Vidal, Paris, 166-167.*

Berri, M., Slugocki, C., Olivier, M., Helloin, E., Jacques, I., Salmon, H. & Collen, P. N. (2016).*Ulvane, un polysaccharide sulfaté d'Ulva armoricana, stimule la réponse immunitaire intestinale par un mécanisme impliquant la voie de signalisation TLR4/Akt*

Bkhairia, I, Ben Abdallah, F, Jaballi, I, Ktari, N, Boudawara, O, Nasri, M, gharsallah, N, Hakim, A, Ben Amara, I. (2017),*Potential protective effects of polysaccharide extracted from Ulva lactuca against Male reprotoxicity induced by thiaclopid. Arch. Physiol. Biochem. 123, 334–343. [CrossRef] [PubMed]*

Bondu, S, Bonnet, C, Gaubert, J, Deslandes, É, Turgeon, S, Beaulieu, L. (2015).*Bioassay-guided fractionation Approach for determination of protein precursors of proteolytic bioactive metabolites from macroalgae.* *J. Appl. Phycol.*, 27, 2059–2074. [CrossRef]

Bradley.R, D.Christensen , G. Rothstein .(1982). *Myéloperoxydase cellulaire et extracellulaire dans l'inflammation pyogénique Sang* , 60, p. 618 – 622

Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, Rothstein G .(1982).*Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. J Invest Dermatol*,78: 206-9.

Brahmbhatt M, M. PATEL , B. PATEL , A. K. SALUJA .(2010). *Analgesic and Anti-inflammatory activity of leaves of Rivea hypocrateriformis.**J.Pharmacognosy Phytother.* 1 (1), 001- 003

Brown, H. Mackey. (1968).*Inhibition of heat-induced denaturation of serum proteins by mixtures of nonsteroidal anti-inflammatory agents and amino acids, Proc. Soc.Exp. Biol. Med.* 128 (1),225–228.

C

Cheeseman, K.H. , Slater, T.F. (1993).*An introduction to free radical Biochemistry.**British. Med. Bull.*, 49, 481-489.

Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., et Zhao, L. (2018). *Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs.**Oncotarget*, 9(6): 7204-7206.

Chiellini, F. ; Morelli, A. (2011).*Ulvan une plate-forme polyvalente de biomatériaux issus de ressources renouvelables. Biomatière. Phys. Chim.* [Google Scholar] [CrossRef].

D

Devilier P. (2001).*Pharmacologie des drogues anti-inflammatoires non Stéroïdiens et de la pathologie ORL, ELSEVIER, France.*70-9. . 5.

Duganath, S.R. Kumar, R. Kumanan, K. Jayaveera. (2010) *Activity of traditionally used medicinal plants, Int. J. Pharm. Bio Sci.*1 ,2.

E

EL Opie. J. Exp. Med.(1962).*On The Relation of necrosis and Inflammation to denaturation of proteins* 115, 597-608.

Espinosa .E, Chillet P. (2006).*Immunologie. Édition Ellipses.Paris. P :16- 110- 114-117-121-114-128.*

F

Fernandes. H, Salgado. J, Martins. N, Peres. H, Oliva-Teles.A, Belo. I. (2019).*Sequential bioprocessing of Ulva rigida to produce lignocellulolytic enzymes and to improve its nutritional value as aquaculture feed.**Bioresour. Technol.*281, 277–285. [CrossRef]

Fischer W., Schneider M. & Bauchot M.-L., (1987).*Guide F.A.O d'Identification des Espèces pour les Besoins de la Pêche, Méditerranée et Mer Noire – Zone de Pêche 37, Volume 1 : Végétaux et Invertébrés, 1-1*

G

Godard, M. Décordé, K. Ventura, E. Soteras, G. Baccou, J. Cristol, J. Rouanet, J. (2009).*Polysaccharides from the green alga Ulva rigida improve the antioxidant status and prevent fatty streak lesions in the high cholesterol fed hamster, an animal model of Nutritionally-induced atherosclerosis. Food Chem.,* 115, 176–180. [CrossRef]

Grant, H.E. Alburn, C. Kryzanasuskas. (1970) .*Stabilization of serum albumin by anti inflammatory drugs, Biochem.Pharmacol.* 19 (3) ,715–722.

Guiry M.-D. & Guiry G.-M. (2014).*Algaebase.World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway.(En ligne) (Sans date) Adresse URL : Consulté le 16/02/201*

H

Hajjaj G .(2017).*Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de matricaria chamomilla l. et de l'ormenis mixta l. (asteraceae). Thèse de Doctorat, Université MohammedV,Maroc,216*

Hartman PE .(1983). *Review: putative mutagens and carcinogens in foods. Malonaldehyde.* *Environ Mutagen* ; 5:603_7.

Hentati, F., L. Tounsi, D. Djomdi, G. Pierre, C. Delattre, A. V. Ursu, Fendri, S. Abdelkafi, and P. Michaud. (2020). *Bioactive polysaccharides from seaweeds.* *Molecules* 25 (14) :3152. Doi : 10.3390/molecules25143152.

Honda D, Yokochi T, Nakahara T, Erata M, Higashihara T. (1998). *Schizochytrium limacinum sp. Nov., a new thraustochitrid from a Mangrove area in the west Pacific Ocean.* *Phycol. Res.* 102(4) : 439

Hong, H.M. Hien, and H.T.L. 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*, 10(12), 2308-2314.

J

Jean-Luc A., Lefranc G. (2009). *Immunologie humaine. Édition De Boeck.* *Bruxelles*, P :59

Jesus Raposo, M. F., A. M. B. De Morais, and R. M. S. C. De Morais. (2015). *Marine polysaccharides from algae with potential Biomedical applications.* *Marine Drugs* 13 (5) :2967–3028. Doi : 10.3390/md13052967.

Jha, R. and Zi-rong, X. (2004). *Biomedical Compounds from Marine organisms.* *Marine Drugs*, 2(3) : 123–146.

K

Kandikattu, K., Bharath, RKP, Venu, PR, Sunil, KK, Ranjith Singh, BR. (2013). *Evaluation of anti-inflammatory activity of Canthium parviflorum by in-vitro method.* *Indian J. Res. Pharm. Biotech.* 1(5), , 729-730.

Kang JY, Khan MNA, Park NH, Cho JY, Lee MC, Fujii H, Hong YK .(2008). *Antipyretic, analgesic, and anti-inflammatory activities of the Seaweed Sargassum fulvellum and Sargassum thunbergii in mice.* *J. Ethnopharmacol.* 116 : 187-190

Kehrer, J.D. Robertson, C.V. Smith.(2010). *Comprehensive toxicology*;1: 277-307.

Kidgel, JT , Magnusson, M. , de Nys, R. , Glasson. (2019).*CRK Ulvan : Une revue systématique de l'extraction, de la composition et de la fonction. Algal Res.*, 39 , 101422. [Google Scholar] [CrossRef]

Kumar V., BHAT Z.A., KUMAR D., BOHRA P. et SHEELA S. (2011). *In vitro anti-inflammatory activity of leaf extracts of Basella alba llin. Var. Alba; international Journal of Drug Development & Research.* 3(2): 176-179.

L

Lahaye, A. Robic. (2007).*Structure and functional properties of ulvan, a polysaccharide from green seaweeds, Biomacromolecules.*;8 (6),1765– 1774.

Lakshmi, DS , Sankaranarayanan, S. , Gajaria, TK , Li, G. , Kujawski, W. , Kujawa, J. , Navia, R. (2020).*Une brève revue sur la valorisation des algues vertes et des ulvanes : matière première pour les produits chimiques et les biomatériaux. Biomolécules,* 10 , 991. [Google Scholar] [CrossRef]

Lee JC, Hou MF, Huang HW, Chang FR, Yeh CC, Tang JY, et al. . (2013).*Produits naturels d'algues marines aux propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Cancer Cell Int;*13 :55. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-13-55> .

Lee, CY , Parc, SH , Lim, HY , Jang, SG , Parc, KJ , Kim, DS , Kim, JH , Cho, JY. (2021).*Effets anti-inflammatoires in vivo de l' extrait d'éthanol de Prasiola japonica . J. Fonction. Aliments,* 80 , 104440. [Google Scholar] [CrossRef]

Li, B. , Xu, H. , Wang, X. , Wan, Y. , Jiang, N. , Qi, H. ,Liu, X. (2020).*Antioxidant and antihyperlipidemic activities of high sulfate content Purified polysaccharide from Ulva pertusa. Int. J. Biol. Macromol,* 146, 756–762. [CrossRef]

Li, W. , Jiang, N. , Li, B. , Wan, M. , Chang, X. , Liu, H. , Zhang, L. , Yin, S. , Qi, H. , Liu, S. (2018). *Antioxidant activity of Purified ulvan in hyperlipidemic mice. Int. J. Biol. Macromol.,* 113, 971–975. [CrossRef]

Li, Y.J. , Takizawa, H. , Kawada, T.(2010).*Role of oxidative stresses Induced by diesel exhaust particles in airway inflammation, allergy And asthma : their potential as a target of chemoprevention. Inflamm. Allergy Drug Targets,* 9, 300-305

Lippi G, Giavarina D, Gelati M, et al.. (2014).*Reference range of hemolysis index in serum and lithium-heparin plasma measured with two analytical platforms in a population of unselected outpatients. Clin Chim Acta* 429:143-6. 10.1016/j.cca..12.010 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar] [Ref list].

Lippi G, Plebani M, Di Somma S, et al. (2011).*Hemolyzed specimens: a major challenge for emergency departments and clinical laboratories. Crit Rev Clin Lab Sci;* 48:143-53. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar] [Ref list].

Lovric J, Mesic M, Macan M, Koprivanac M, Kelava M, Bradamante V. *Measurement of malondialdehyde (MDA) level in rat plasma after simvastatin treatment using two different analytical methods. Period Biol* 2008;110:63_7.

Lüllmann-Rauch R .(2008). *Histologie.Édition De Boeck. .Bruxelle,P : 284-288.*

M

Madhusudan, C., Manoj, S., Rahul, K., and Rishi, C. M. (2011).*Seaweeds : A diet with nutritional, medicinal and industrial value.*Res J Med Plant 5, 153-7.

Mao, W., Zang, X., Li, Y., and Zhang, H. (2006).*Sulfated polysaccharides from marine green algae *Ulva conglobata* and their anticoagulant activity. Journal of Applied phycology* 18, 9-1..

Margret, R.J. , Kumaresan, S. , Ravikumar, S. A.(2009).*preliminary study on the anti-inflammatory ativity of methanol extract of *Ulva lactuca* in rat.*J. Environ. Biol.30, 899–902.

Massironi, A. , Morelli, A. , Grassi, L. , Puppi, D. , Braccini, S. , Maisetta, G. , Esin, S. Batoni, G. , Della Pina, C. ,Chiellini, F.(2009).*Ulvan as novel reducing and stabilizing agent from renewable algal biomass : Application to Green synthesis of silver nanoparticles.*Carbohydr.Polym. 203, 310–321. [CrossRef]

Matsui, M.S. , Muizzuddin, N. , Arad, S. , Marenus, K.(2003).*Sulfated Polysaccharides from red microalgae have antiinflammatory properties in vitro and in vivo. Appl. Biochem. Biotechnol,* 104, 13-22.

Mccray Jr, Lehrer RI, Welsh MJ andTack BF.(2000). *Bactericidal Activity ofMammalian Cathelicidin- DerivedPeptides. Infection and Immunity .* 68(5): 2748-55.

Mezghani S. Bourguiba I., Hfaïdh I. , Amri M.(2013). *Antioxidant Potential of Ulva rigida Extracts: Protection of HeLa Cells Against H₂O₂ Cytotoxicity. The Biological Bulletin* 225:1-7.

Morelli, A. , Puppi, D. , Chiellini, F. (2017). *Perspectives sur les applications biomédicales d'Ulvan ; Elsevier Inc. : Amsterdam, Pays-Bas : ISBN 9780128098172. [Google Scholar]*

Morris (2003). *Carrageenan-induced paw Edema in the rat and mouse. Methods Mol. Biomol.* 115-121.

O

Okai and K.Higashi Okai (1997). *Potent Anti-inflammatory activity of pheophytin a derived from edible green algae enteromorpha prolifera (Sujiao-nori). Int. J.Immunopharmacol.,*19, 355-358

Okoli, C.O., Akah, P.A., Onuoha, N.J., Okoye, T.C., Nwoye, A.C., Nworu, C.S.(2008). *Acanthus montanus: An experimental evaluation of the antimicrobial, anti-inflammatory and immunological properties of a traditional remedy for furuncles. BMC Complement. Altern. Med.* 8, 27. [CrossRef].

P

Pacheco-Sanchez M.(2006). *Polysaccharides ayant une activité immunomodulatrice chez les champignons indigènes du québec., Université Laval Quebec, Canada,* 119

Pal, S., Bhattacharjee, A., Ali, A., Mandal, N. C., Mandal, S. C., et Pal, M. (2014). *Chronic inflammation and cancer : potential chemoprevention through nuclear factor kappa B and p53 mutual antagonism. Journal of inflammation:* 23-12

Pengzhan, Y., Quanbin, Z., Ning, L., Zuhong, X., Yanmei, W., and Zhi'en, L. (2003). *Polysaccharides from Ulva pertusa (Chlorophyta) and preliminary studies on their antihyperlipidemia activity. Journal of applied phycology* 15, 21-27

Phelps P, McCarty DJ .(1971). *Suppressive effect of indomethacin on crystal-induced inflammation in canine joints and on neutrophil motility in vitro.J. Pharmacol. Exp. Ther :* 546-545.

Pierce A, Legrand D, Mazurier J .(2009).*La lactoferrine : une protéine multifonctionnelle. Med Sci (Paris) : 361–9.*

Prempeh ABA, Mensah-Attipoe J .(2008).*Crude aqueous extract of the root bark of zanthoxylum xanthoxyloides inhibits white blood cells migration in acute inflammation, Ghana. Med. J: 117-119.*

Q

Qi, H., Liu, X., Ma, J., Zhang, Q., and Li, Z. (2010).*In vitro antioxidant activity of acetylated derivatives of Polysaccharide extracted from Ulva pertusa (Chlorophyta). J Med Plants Res 4, 2445-245.*

Qi, H., Zhang, Q., Zhao, T., Hu, R., Zhang, K., and Li, Z. (2006).*In vitro antioxidant activity of acetylated and benzoylated derivatives of polysaccharide extracted from Ulva pertusa (Chlorophyta). Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 16, 2441-2445.*

R

Rani, A, A., S, M, J, Punitha., M, Rema .(2014).*"Anti-inflammatory activity of flower extract of Cassia auriculata-an in vitro study." Int. Res. J. Pharm. Appl. Sci. 4: 57-60.*

Ratheesh M, Helen A .(2007).*Anti-inflammatory activity of Ruta Graveolens Linn on carrageenan induced paw edema in wistar male Rats. Afr. J. Biotechnol.: 1209-1211.*

Ray, M. Lahaye .(1995).*Cell-wall polysaccharides from the marine green alga Ulvarigida (Ulvales, Chlorophyta). Chemical structure of ulvan, Carbohydr. Res: 313–318.*

Raymonde Gilles, Michel Anctil .(2006).Aperçu page157 (*PHYSIOLOGIE ANIMALE*)

Rodrigues, J.A. , Oliveira Vanderlei, E.D.S. , Silva, L.M. , de Araujo, I.W. , de Queiroz, I.N. , De Paula, G.A. , Abreu, T.M. , Ribeiro, N.A. , Bezerra, M.M. , Chaves,H.V.(2012).*Antinociceptive and anti-inflammatory activities of a sulfated polysaccharide isolated from the green seaweed Caulerpa cupressoides. Pharmacol. 282–292*

Rong.(2010).*"Extraction, purification and anti-tumor activity of polysaccharide from mycelium of mutant cordyceps militaris," Advanced Chemistry Research, pp. 798–802.*

Rosenbaum JT, Boney RS. (1991).*Use of A soluble interleukin-1 receptor to inhibit ocular inflammation. Curr EyeRes : 1137–1139.*

S

Segal AW .(2005). *How neutrophils kill microbes. Annu Rev Immunol . 197–223*

Shonima, J. Thomas, G.M. (2012).*In vitro antioxidant and antitumor activity of polysaccharide isolated from Ulva fasciata. Int. J. Pharm. Bio. Sci. 238–246.*

Sousa, RA , Reis, RL. (2013).*Une perspective pratique sur les ulvanes extraites d'algues vertes. J.Appl. phycol.407-424.*

Souza GE et al. (1988).*Neutrophil migration induced by inflammatory stimuli is Reduced by macrophage depletion.Agents Actions : 377–380.*

Stevens A., Lowe J., Barbara Y. (2004).*Anatomie pathologique générale et spéciale. Édition De Boeck .4emeÉdition.Bruxelle,P25.*

Stewart, N. Kellett et D.Castro. (2003).*The Central nervous system and cardiovascular effects Of levobupivacaine and ropivacaine in healthy Volunteers.Anesth. Analg., 97, 412-416.*

T

Talbert M.(1998). *Guide pharmacologique, LAMMARIE ,3éd, Paris, 49-61.*

Tarcisio Vieira de Britoa, ,Rafael da Silva Prudêncioa, , Adriano Bezerra Salesa ,Ana Lúcia Ponte Freitasc, Jand-Venes Rolim Medeirosa and André Luiz dosReis Barbosa. (2013).*Royal Pharmaceutical Society Journal of Pharmacy and Pharmacology, 65, pp. 724–733.*

Trentin, R. , Custódio, L. , Rodrigues, M.J. , Moschin, E. , Sciuto, K. , da Silva, J.P. , Moro, I. (2020).*Exploring UlvaAustralis Areschoug for possible biotechnological applications : In vitro antioxidant and enzymatic inhibitory Properties, and fatty acids contents.Algal Res.50, 101980. [CrossRef]*

W

Wang, J. , Sun, B. , Cao, Y. , Wang, C. (2010).*Wheat bran feruloyl oligosaccharides enhance the antioxidant activity of rat plasma. Food Chem: 472–476. [CrossRef]*

Wang, R. , Paul, V.J. , Luesch, H. (2013).*Seaweed extracts and unsaturated fatty acid constituents from the green alga *Ulva lactuca* as activators of the cytoprotective Nrf2-ARE pathway. *Free Radic. Biol. Med:* 141–153.[CrossRef]*

Williams, A O’Connor, L Latore, O Dennis, S Ringer, JA Whittaker, et al. (2008).*West Indian Med: 327-331.The in vitro Anti-denaturation Effects Induced by Natural Products and Non-steroidal Compounds in Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum Albumin as 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*

Williams, E. Vasquez, P. Milan, C. Zebitz, W. Kraus. (2002). *In vitro anti-inflammatory and antimicrobial activities of phenylpropanoids from Piper betle L. (Piperaceae), Natural Products in the New Millennium: Prospects and Industrial Application, Springer.pp. 221–227.*

Winter CA, Risely EA, Nuss CW. (1962). *Carrageenan-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. Proc Soc Experimental Biol Med. 544–7.*

X

Xie, Z.X. , Xia, S.F. , Qiao, Y. , Shi, Y.H. , Le, G.W. (2015).*Effect of GABA on oxidative stress in the skeletal muscles and plasma free amino Acids in mice fed high-fat diet. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.492–500. [CrossRef] [PubMed]*

Y

Yildiza G. CS, Vatana O.,Derea S. (2012). *Determination of the Anti-Oxidative Capacity and Bioactive Compounds in Green Seaweed *Ulva rigida* C. Agardh. International Journal of Food Properties 15:1182-1182-1189.*

Z

Zhang, Y., X. Fu, D. Duan, J. Xu, and X. Gao. (2019). *Preparation and Characterization of agar, agarose, and agaropectin from the red alga *Ahnfeltia plicata*.Journal of Oceanology and Limnology 37 (3) :815–24. Doi : 10.1007/s00343-019-8129-6.*

Résumé

Résumé

Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer le potentiel anti-inflammatoire d'un extrait polysaccharidique de l'algue verte *Ulva lactuca*. Etant donné que les algues représentent une source prometteuse d'agents bioactifs.

L'activité anti inflammatoire a donc été évaluée par deux méthodes : dans la première, sur des échantillons tissulaires issus d'un traitement *in vivo* de rats adultes de souche *Wistar*, pesant entre 150 et 175 g. Un œdème de la patte a été induit par l'injection 0,1 ml de carraghénane de la patte arrière gauche de chaque rat, en testant l'activité anti-oxydante *in vivo* par dosage des bio-marqueurs de stress oxydant : la myélopéroxydase MPO la molonydialdéhyde MDA la catalase CAT et le glutathion réduit GSH. Les résultats obtenus révèlent que l'extrait d'algue *Ulva lactuca* induit une diminution de la MPO et MDA par contre une augmentation de la CAT et GSH. En même temps, les résultats ont montré que l'extrait a réduit l'épaisseur de l'œdème de la patte de la rats, même si elle reste moins importante par rapport à l'anti-inflammatoire de référence le diclofénac. Ces données confirment que l'extrait présentant une activité anti-oxydante et peut devenir une nouvelle alternative thérapeutique.

Dans le deuxième volet, une série de teste *in vitro* a été réalisée, dans le but d'évaluer l'activité protectrice et anti hémolytique de l'extrait de polysaccharides d'algue *Ulva lactuca* vis a vis des globules rouges (la dénaturation du BSA et la stabilisation des membranes des globules rouges humains). L'extrait polysaccharide brut de *Ulva lactuca* présenté une capacité intéressante pour réduire le taux de la dénaturation des protéines, un maximal taux d'inhibition a été enregistré avec une valeur de $56.189 \pm 1.674\%$ à la dose $400 \mu\text{g/ml}$. Il présenté aussi une capacité de la protection de la lyse de la membrane, un maximal taux d'inhibition et de protection de la membrane enregistré avec $75,146 \%$ à la dose $400 \mu\text{g/ml}$.

En conclusion, *Ulva lactuca* est une algue intéressante dont l'extrait polysaccharidique pourrait être utilisé de manière raisonnée dans le traitement de l'inflammation.

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

Abstract:

The aim of this study is to evaluate the anti-inflammatory potential of a polysaccharide extract of the green alga *Ulva lactuca*. Since algae represent a promising source of bioactive agents.

The anti-inflammatory activity was therefore evaluated by two methods: in the first, on tissue samples from an *in vivo* treatment of adult *Wistar* strain rats, weighing between 150 and 175 g. A paw edema was induced by injecting 0.1 ml of carrageenan into the left hind paw of each rat, by testing the antioxidant activity *in vivo* by assaying the biomarkers of oxidative stress: myeloperoxidase MPO malonyldialdehyde MDA catalase CAT and reduced glutathione GSH. The results obtained show that the seaweed extract *Ulva lactuca* induces a decrease in MPO and MDA on the other hand an increase in CAT and GSH. At the same time, the results showed that the extract reduced the thickness of the paw edema of the rats, although it remained less significant compared to the reference anti-inflammatory diclofenac. These data confirm that the extract exhibits antioxidant activity and can become a new therapeutic alternative.

In the second part, a series of *in vitro* tests were carried out, with the aim of evaluating the protective and anti-hemolytic activity of the polysaccharide extract of *Ulva lactuca* algae against red blood cells (the denaturation of BSA and stabilization of human red blood cell membranes). The crude polysaccharide extract of *Ulva lactuca* presented an interesting capacity to reduce the rate of protein denaturation, a maximum rate of inhibition was recorded with a value of $56.189 \pm 1.674\%$ at the dose of 400 $\mu\text{g} / \text{ml}$. It also presented a capacity for the protection of the lysis of the membrane, a maximum rate of inhibition and protection of the membrane recorded with 75.146% at the dose of 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

In conclusion, *Ulva lactuca* is an interesting algae whose polysaccharide extract could be used sensibly in the treatment of inflammation.

Keywords: Polysaccharides, *U. lactuca*, Green Algae, Anti-inflammatory, Antioxidant.

الملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم القدرة المضادة للالتهابات لمستخلص عديد السكاريد من الطحالب الخضراء *Ulva lactuca* لأن الطحالب تمثل مصدرًا واعدًا للعوامل النشطة بيولوجيًا.

لذلك تم تقييم النشاط المضاد للالتهابات من خلال طريقتين: الأولى ، على عينات الأنسجة من علاج في الجسم الحي لفئران سلالة *Wistar* البالغة ، والتي يتراوح وزنها بين 150 و 175 جم .تم إحداث وذمة مخلب عن طريق حقن 0.1 مل من الكاراجينان في المخلب الخلفي الأيسر لكل فأر ، عن طريق اختبار نشاط مضادات الأكسدة في الجسم الحي عن طريق فحص المؤشرات الحيوية للإجهاد التأكسدي MDA molonydialdehyde MPO myeloperoxidase : *Ulva lactuca* و *catalase* CAT وتقليل الجلوتاثيون GSH. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلص الطحالب البحرية *Ulva lactuca* يؤدي إلى انخفاض في MPO و MDA ومن ناحية أخرى زيادة في CAT و GSH. في الوقت نفسه ، أظهرت النتائج أن المستخلص يقلل من سماكة وذمة مخالب الفئران ، على الرغم من أنه ظل أقل أهمية مقارنة بمضاد التهاب الديكلوفيناك المرجعي .تؤكد هذه البيانات أن المستخلص يعرض نشاطًا مضادًا للأكسدة ويمكن أن يصبح بديلاً علاجيًا جديدًا.

في الجزء الثاني ، تم إجراء سلسلة من الاختبارات في المختبر ، بهدف تقييم النشاط الوقائي والمضاد للانحلالي لمستخلص عديد السكاريد من طحالب *Ulva lactuca* ضد خلايا الدم الحمراء (تمسخ BSA وتنشيط الدم الأحمر البشري. أغشية الخلايا .) قدم مستخلص السكاريد الخام من *Ulva lactuca* قدرة مثيرة للاهتمام لتقليل معدل تمسخ البروتين ، تم تسجيل أقصى معدل للتنشيط بقيمة 56.189 ± 1.674 % بجرعة 400 ميكروغرام / مل .كما قدم قدرة على حماية تحلل الغشاء ، أقصى معدل للتنشيط وحماية الغشاء مسجل بنسبة 75.146% بجرعة 400 ميكروغرام / مل.

الكلمات المفتاحية: عديد السكريات ، اولفا لاكتوكا ، الطحالب الخضراء ، مضاد للالتهابات ، مضاد للأكسدة.