



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج  
Université Mohamed El Bachir Al 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 des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

## Intitulé

**Évaluation du potentiel hépatoprotecteur de l'extrait  
brut de polysaccharides algaux contre la toxicité induite  
par le paracétamol**

Présenté par :

HARBI Hichem

TAGGUICHE Mohamed

Soutenu le :

Devant le Jury :

<b>Président :</b>	Mme BENRADIA Hamida	MCB.	(U.BBA)
<b>Encadrant :</b>	M MEZDOUR Hichem	MCB.	(U.BBA)
<b>Examineur :</b>	Mme BOUSSAHEL Soulef	MCA.	(U.BBA)

Année Universitaire : 2021/2022

## **Remerciements**

*Tout D'abord, Merci à Dieu, le tout puissant, d'avoir guidé chacun de nos pas, de nous avoir donné la force, la patience, ainsi que le courage pour bien mener ce modeste travail.*

*À notre promoteur **Dr. Mezdour Hichem***

*Nous tenons à lui exprimer toute notre reconnaissance pour nous avoir accepté et de nous encadrer, ainsi que pour sa patience avec nous, son aide, ses conseils précieux et sa disponibilité toute au long de la période de l'expérimentation malgré ses obligations professionnelles*

*Nous vifs remerciements, et toutes nos expressions de respect à **Mme BENRADIA Hamida**, pour l'honneur qu'elle nous a fait par sa présence en qualité de présidente de jury*

*Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés au **Mme BOUSSAHEL Soulef** d'avoir accepté de faire partie du jury et de donner de son temps pour examiner ce travail.*

*Nous exprimons nos plus sincères remerciements à tous les membres du Laboratoire de notre département sans exception.*

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

*Nos derniers remerciements, vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation et le bon déroulement de ce travail.*

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce travail à*

*À mes parents pour votre amour et votre soutien, pour m'avoir supporté durant toutes ces années, Pour m'avoir aidé comme vous avez pu avec vos moyens.*

*À mes frères et mes sœurs pour leur appui et leur encouragement.*

*À mon binôme **Hichem** pour sa patience et sa compréhension le long de ce travail.*

*À mon ami **Abderraouf pour** les sympathiques moments qu'on passe ensemble.*

*Ainsi qu'à toutes mes amies en qui j'ai toujours trouvé le soutien et le*

*Réconfort.*

***TAGGUICHE Mohamed***

## ***Dédicaces***

*En tout premier lieu, je remercie le bon Dieu, tout puissant, de m'avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.*

### **À mes parents**

*Pour m'avoir soutenue tout au long de ces années. Cela n'a pas toujours été facile, ni pour vous, ni pour moi. Je suis heureuse de clôturer ce chapitre de ma vie par ce mémoire.*

*J'espère que vous en serez fiers.*

### **À mes grand-mères**

*Merci pour votre soutien et vos prières.*

### **À mon binôme**

*Mohamed un frère qui a toujours veillé à me soutenir.*

*À mon ami Abderraouf pour les sympathiques moments qu'on passe ensemble.*

### **À mes amis proches**

*Omar, Didine, Islem, Mohamed, Djamel, Khaled, Rami F, Rami H, Nour El Islam, Mimou, David, Adel, Alaa, Riadh, Amine, Manni, Aymen, Zaki, Youcef, Halim, Mazen.*

*Pour tous les très bons moments passés avec vous.*

***Harbi Hichem***

*Table des Matières*

**Table des matières**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Listes des tableaux**

**Résumé**

**Introduction** ..... 1

**Chapitre I : Synthèse bibliographique**

**I.1 Foie**..... 4

    I.1.1 Anatomie du foie..... 4

    I.2.2 Les rôles du foie..... 4

**I.2 Paracétamol**..... 5

    I.2.1 Généralité..... 5

    I.2.2 Données pharmacocinétique..... 5

    I.2.3 Mécanisme d'action du paracétamol au niveau hépatique..... 6

    I.2.4 Évaluation de l'intoxication du paracétamol..... 7

    I.2.5 Toxicité hépatique du paracétamol..... 7

    I.2.6 Stress oxydatif et toxicité par le paracétamol..... 9

**I.3 Les algues**..... 9

    I.3.1 Généralités sur les algues..... 9

    I.3.2 Classification des algues..... 9

        I.3.2.1 Les algues vertes (Chlorophycées)..... 9

        I.3.2.2 Les algues brunes (Phéophycées)..... 9

        I.3.2.3 Les algues rouges (Rhodophycées)..... 10

**Chapitre II : Matériel et Méthodes**

<b>II.1 Matériel.....</b>	<b>12</b>
II.1.1 Matériel végétal .....	12
II.1.2 Matériel animal.....	14
II.1.3 Réactifs.....	16
II.1.4 Appareillage.....	16
<b>II.2 Méthodes.....</b>	<b>16</b>
II.2.1 Méthodes de dosage des paramètres biochimiques du sang.....	16
II.2.2 Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydant.....	16
II.2.3 Méthodes d'évaluation in vitro de l'activité de l'extrait de polysaccharides algaux.....	21
II.2.3.1 Évaluation de L'activité protectrice de l'extrait de polysaccharides algaux .....	21
II.2.3.2 Évaluation de l'activité anti-hémolytique de l'extrait de polysaccharides algaux.....	21
II.2.3.3. Évaluation de la non-toxicité de l'extrait de polysaccharides pour les globules rouges.....	22
II.2.3.4.b Évaluation de l'activité stabilisatrice des membranes des GR par l'extrait de polysaccharides contre un stress osmotique.....	23
<b>II.3 Evaluation statistique.....</b>	<b>23</b>
<b>III Résultats.....</b>	<b>25</b>
III.1 Evaluation de l'activité d'extrait de polysaccharides <i>in vivo</i> .....	25
III.1.1 Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur les paramètres biochimiques du sang.....	25
III.1.2 Évaluation de l'effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur les paramètres du stress oxydant.....	25
III.2 Evaluation de l'activité d'extrait de polysaccharides <i>in vitro</i> .....	28

III.2.1 Évaluation de l'activité protectrice de l'extrait de polysaccharides.....	28
III.2.2 Évaluation de la non-toxicité de l'extrait de polysaccharides pour les globules rouges.....	29
III.2.3 Évaluation de l'activité stabilisatrice des membranes des GR par l'extrait de polysaccharides contre un stress osmotique.....	29
<b>IV. Discussion.....</b>	<b>32</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>40</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	

*Liste des Abréviations*

**AINS** : Anti-inflammatoire non stéroïdien

**ALT** : Alanine aminotransférase

**ATP** : L'adénosine triphosphate

**APAP** : N-acétylaminophénol

**AST** : Aspartate amino transférases

**BHA** : L'hydroxyanisolbutylé

**BHT** : L'hydroxytoluènebutylé

**BSA** : Bovine Serum Albumin

**CAT** : Catalase

**CL50** : Concentration Létale 50

**CRP** : Protéine C réactive

**DL50** : Dose létale 50

**DTNB** : Réactif d'Ellman

**EDTA** : Acide éthylène diamine tétra-acétique

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**GSH** : Glutathion réduit

**GR** : Globule rouge

**GST** : Glutathion S-transférase

**GPx** : Glutathion peroxydase

**GSSG** : Glutathion oxydé

**H2O2** : Peroxyde d'hydrogène

**KCl** : Chlorure de potassium

**MPO** : Myélo peroxydase

**MDA** : Malondialdéhyde

**NaCl** : Chlorure de sodium

**NAPQI** : N-acétyl-p-benzoquinone imine

**PLS** : Polysaccharide

**PBS** : Tampon phosphate salin



**SOD** : Super oxyde dismutase

**TBA** : Acide Thiobarbiturique

**TEP** : Tetraetoxypropane

**TCA** : Acide trichloracétique

**TNB** : Acide thionitrobenzoïque

**U. lactuca** : Ulva Lactuca

*Liste Des Figures*

<b>Figure 1 :</b> Organisation structurale et anatomique du foie.....	04
<b>Figure 2 :</b> Structure chimique du paracétamol.....	05
<b>Figure 3 :</b> Les différentes possibilités de métabolisation du paracétamol .....	07
<b>Figure 4 :</b> Le métabolisme toxicocinétique du paracétamol .....	08
<b>Figure 5 :</b> Algue verte ( <i>Ulva lactuca</i> ) .....	12
<b>Figure 6 :</b> L'homogénat de foie.....	15
<b>Figure 7 :</b> Centrifugeuse Sigma.....	16
<b>Figure 8 :</b> Bain Marie.....	16
<b>Figure 9 :</b> Spectrophotomètre.....	16
<b>Figure 10 :</b> Les réactions d'évaluation quantitative des transaminases.....	17
<b>Figure 11 :</b> Les fractions obtenues pour le dosage MDA.....	18
<b>Figure 12 :</b> Acidetrichloracétique (TCA).....	18
<b>Figure 13 :</b> Formule chimique du Glutathion réduit.....	19
<b>Figure 14 :</b> Réaction d'Ellman.....	19
<b>Figure 15 :</b> Récupération de la suspension érythrocytaire.....	22
<b>Figure 16 :</b> Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur le taux du MDA hépatique.	26
<b>Figure 17 :</b> Influence de l'administration de l'extrait de polysaccharides algaux sur la concentration hépatique en GSH.....	27
<b>Figure 18 :</b> L'effet de l'extrait de polysaccharide algaux sur l'activité de la CAT.....	28
<b>Figure 19 :</b> Taux de protection contre la dénaturation thermique du BSA en présence de l'aspirine et de l'extrait de polysaccharides algaux .....	28
<b>Figure 20 :</b> Pourcentage de protection des GR en fonction des concentrations de l'extrait de polysaccharides algaux contre un stress osmotique.....	30

*Liste Des Tableaux*

<b>Tableau I</b> : Position systématique d' <i>Ulva lactuca</i> .....	13
<b>Tableau II</b> : Résultats de dosage de L'ALT et L'AST.....	25
<b>Tableau III</b> : Pourcentage d'hémolyse avec différentes concentrations de l'extrait algal.	29

## Résumé

Les algues marines sont présentées comme une source de composés bioactifs pouvant être utiles, notamment dans le domaine biomédical, le présent travail a pour objectif d'évaluer l'effet hépatoprotecteur des polysaccharides extraits de l'algue verte *Ulva lactuca* sur la toxicité hépatique induite par le paracétamol. Ces polysaccharides sont des substances naturelles très actives et qui possèdent des propriétés biologiques bénéfiques, leurs activités antioxydantes et anti-inflammatoires améliorent la concentration hépatique en antioxydants ce qui permettrait d'optimiser le statut redox dans le foie. Le potentiel antioxydant a été évalué par le dosage des biomarqueurs de stress oxydant : la catalase (CAT), le glutathion (GSH) et le malondialdéhyde hépatique (MDA), nous avons constaté une augmentation significative des taux de GSH et CAT, une diminution de taux du MDA avec une baisse significative de taux de l'ALT, l'AST. Dans la deuxième partie de ce travail, les résultats obtenus prouvent que l'extrait de polysaccharides algaux possède une activité anti-inflammatoire par sa capacité à empêcher la dénaturation des protéines, à protéger les globules rouges et à prévenir l'hémolyse. L'extrait de l'algue *Ulva lactuca* a montré des activités intéressantes, suggérant la possibilité de l'utiliser comme agent antioxydant et anti-inflammatoire en industrie thérapeutique.

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

## Abstract

Seaweed is seen as a source of bioactive compounds that may be useful, particularly in the biomedical field, the objective of this work is to evaluate the hepatoprotective effect of polysaccharides extracted from the green alga *Ulva lactuca* on the hepatic toxicity induced by paracetamol. These polysaccharides are very active natural substances and have beneficial biological properties, their antioxidant and anti-inflammatory activities improve the liver concentration of antioxidants, which would help to optimize the redox status in the liver. The antioxidant potential was assessed by the assay of oxidizing stress biomarkers: catalase (CAT), glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA), we found a significant increase in GSH and CAT levels, a decrease in the MDA rate with a significant decrease in the ALT, AST rate. In the second part of this work, the results obtained prove that algal polysaccharide extract has an anti-inflammatory activity, demonstrated by its ability to prevent protein denaturation, protect red blood cells and prevent hemolysis. The extract of the alga *Ulva lactuca* showed interesting activities, suggesting the possibility of using it as an antioxidant and anti-inflammatory agent in therapeutic industry.

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

ملخص:

يتم تقديم الطحالب البحرية كمصدر للمركبات النشطة بيولوجيًا والتي يمكن أن تكون مفيدة خاصة في المجال الطبي، الهدف من هذا العمل هو تقييم دور متعدد السكريات المستخرجة من الطحالب الخضراء *Ulva lactuca* في الوقاية ضد تسمم الكبد بالباراسيتامول، هذه السكريات هي مواد طبيعية فعالة للغاية وذات خصائص بيولوجية مفيدة ميزتها كمضادات للأكسدة والالتهاب تساعد على تحسين تركيز مضادات الأكسدة والمعادلات الكيميائية الحيوية على مستوى الكبد. فقد تم تقييم إمكانات مضادات الأكسدة من خلال قياس مؤشرات الأكسدة: الكاتلاز (CAT) والجلوتاثيون (GSH) ومالونديالدهيد الكبد (MDA). تم تسجيل ارتفاع معتبر في معدلات GSH و CAT مع انخفاض في معدلات L'ALT و L'AST. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلص الطحالب متعدد السكريات له نشاط هام كمضاد للالتهابات بسبب قدرته على حماية خلايا الدم الحمراء ومنع انحلال الدم.

أظهر مستخلص الطحالب البحرية قدرات هامة تتيح إمكانية استخدامه كمضاد للأكسدة وعامل مضاد للالتهابات.

**الكلمات المفتاحية:** مضاد الالتهاب، مضاد الأكسدة مستخلص الطحالب اولفالاكتوكا متعدد سكريات.



# *Introduction*

## **Introduction**

Le foie est l'un des organes les plus importants du corps, jouant un rôle fondamental dans la régulation de divers processus, parmi lesquels le métabolisme, la sécrétion, le stockage et la détoxification des substances endogènes et exogènes (**Lin et Lu, 1997**). En raison de ces fonctions, les maladies hépatiques continuent d'être parmi les principales menaces pour la santé publique, et elles demeurent des problèmes dans le monde entier (**Adewusi et Afolayan, 2010**).

La maladie hépatique est un terme qui indique des dommages aux cellules, aux tissus, à la structure ou à la fonction hépatique, et ces dommages peuvent être induits par certains médicaments, tels que le paracétamol (**Deshwal et al., 2010**), il est autrement appelé acétaminophène, un analgésique et antipyrétique largement utilisé, la N-acétyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) est le produit final issu du métabolisme du paracétamol au niveau du foie, une dose excessive de NAPQI déclenche le stress oxydatif, dysfonctionnement mitochondrial, la nécrose cellulaire, l'apoptose. (**Huo et al., 2017**).

L'inflammation résultant de l'hépatotoxicité à l'acétaminophène est causée par la surproduction d'espèces réactives d'oxygène (ERO) ce qui entraîne la sécrétion des médiateurs inflammatoires et l'activation de neutrophiles et de monocytes, le recrutement excessif de cellules inflammatoires dans les tissus endommagés contribue également à la formation de grandes quantités de ROS déclenchant un stress oxydatif et des lésions tissulaires (**Shampa, 2016**). Afin de minimiser les dommages oxydatifs, plusieurs antioxydants synthétiques sont couramment utilisés mais ils se sont avérés toxiques, responsables de dommages au foie, de promoteurs de cancérogenèse et d'altération des activités enzymatiques (**Hanaa et al., 2008**).

L'extraction des molécules bioactives à partir des ressources naturelles afin d'obtenir de nouvelles molécules avec peu ou pas d'effets indésirables et leur utilisation comme traitement alternatif est un objectif de grande importance pour la recherche scientifique, parmi ces ressources, les extraits isolés à partir des algues marines qui présentent une potentialité pharmacologique bien supérieure à celle de produits naturels provenant d'organismes terrestres (**El-Gamal, 2010**), plusieurs preuves indiquent que les polysaccharides des algues vertes (Chlorophycées) peuvent jouer un rôle important dans la prévention contre les dommages causés par le stress oxydant (**Cynthia, 2011 ; Massironi., 2019**). Les polysaccharides obtenus de diverses espèces d'algues vertes et en particulier *Ulva lactuca* ont montré diverses activités biologiques, y compris des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antibactériennes et antivirales (**Jiao et al., 2011; Alves et al.,**

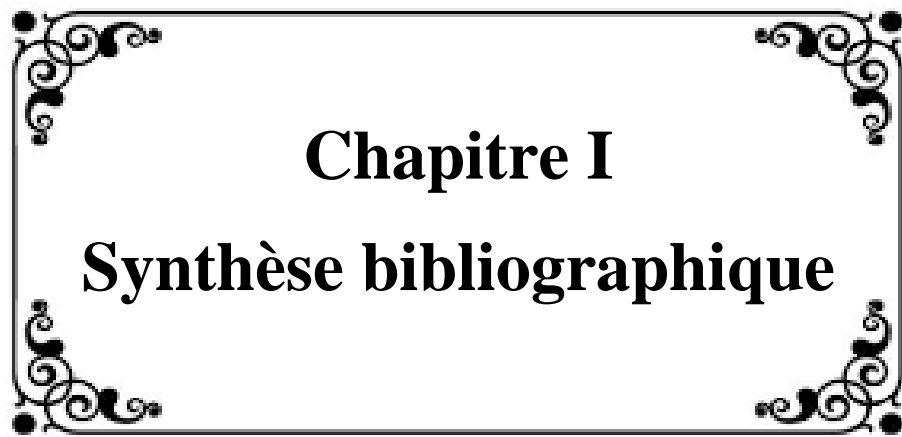
**2013**). Cette algue a une capacité anti-radicalaire en inhibant la peroxydation des lipides et en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes (**Faradila et al., 2020**).

Dans ce contexte, L'objectif de ce travail consistait à étudier le potentiel hépatoprotecteur des polysaccharides issus de l'algue verte *Ulva lactuca*, notre approche est divisée en deux parties :

➤ Première partie : Comporte une série de tests et de dosages des paramètres hépatiques essentiellement de stress oxydant, visant à évaluer le potentiel hépatoprotecteur de l'extrait sur des échantillons de foie issus des différents groupes de rats ayant reçu différents traitements *in vivo*.

➤ Deuxième partie : Comporte des tests *in vitro* sur la capacité de l'extrait à inhiber la dénaturation de protéine (*BSA*), à stabiliser la membrane des GR ainsi que sa non-toxicité (innocuité) à l'égard de ces dernières. Cette série de tests a pour but d'évaluer l'efficacité de l'extrait à prévenir l'inflammation (hépatite).





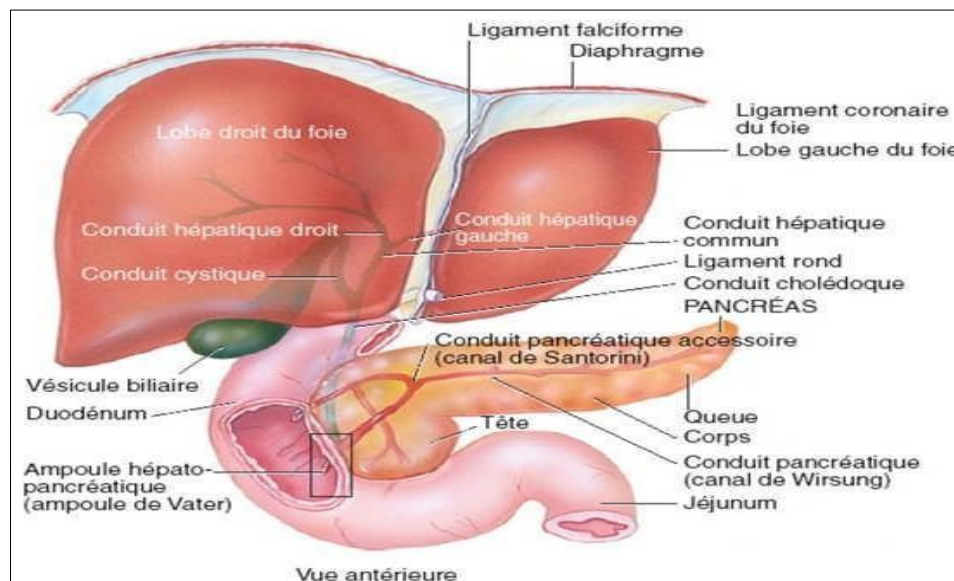
**Chapitre I**  
**Synthèse bibliographique**

## I.1 Le foie

### I.1.1 Anatomie de foie :

Le Foie est l'organe le plus volumineux dans l'organisme, lisse et souple de couleur rouge brun, il mesure en moyenne 28 cm de large, 16 cm de haut et 8 cm d'épaisseur, son poids est d'environ 1,5 kg pour l'être humain. (Moore et Dalley, 1999).

Le foie est placé dans la partie supérieure droite de la cavité abdominale séparé des poumons et du cœur par le diaphragme, localisé à droite de l'estomac, au-dessus du duodénum et de l'angle colique droit, il est raccordé à la veine porte et l'artère hépatique qui acheminent le sang vers les différentes parties du foie, et puis le sang est évacué à travers la veine hépatique, qui se déverse ensuite dans la veine cave inférieure qui retourne au cœur. Le foie est formé de deux lobes distincts par le ligament falciforme, le lobe hépatique droit est le plus volumineux, et lobe gauche est la partie la plus étroite de l'organe, entre ces deux lobes majeurs, deux autres lobes mineurs peuvent être également individualisés : le lobe caudé, ou lobe de Spiegel et le lobe carré (Moore et Dalley, 1999).



**Figure 1 :** Organisation structurale et anatomique du foie (Marchall et Bangert., 2004).

### I.2.2 Les rôles du foie

Le foie remplit différentes fonctions vitales pour le corps, il participe à la quasi-totalité des voies biochimiques, la lutte contre les maladies, l'apport énergétique, la croissance, le maintien de l'homéostasie corporelle. La sécrétion biliaire et le stockage des vitamines, il joue un rôle primordial dans le métabolisme des glucides, des protéines et des lipides (Pandit *et al.*,

2011).

Ainsi, le foie assure la détoxification des produits chimiques médicamenteuses ou non au moyen de plusieurs procédés. (Hikino et Kiso, 1988), il est la glande digestive la plus importante dans laquelle les médicaments sont métabolisés par oxydation, réduction, hydratation, hydrolyse, condensation, conjugaison ou isomérisation (Thompson *et al.*, 2017). Les systèmes de détoxification permettent de bio-transformer les molécules étrangères (xénobiotiques) pour réduire leur lipophilie, accentuer leur polarité et faciliter leur élimination Jocelyn C (2011).

## I.2 Paracétamol

### I.2.1 Généralité

Le paracétamol ou encore appelé l'acétaminophène, ce médicament possède des propriétés analgésiques et antipyrétiques qui se comparent à celles des salicylés mais il est dépourvu d'activité anti-inflammatoire (Ellenborn *et al.*, 1988). Il s'agit d'un dérivé phénolique dont la structure se compose d'un cycle benzénique substitué par un groupe hydroxyle et un groupe acétamide (Figure 2), ce dernier est dépourvu de carbone asymétrique et de stéréoisomères. (Clayden *et al.*, 2002).

La posologie thérapeutique du paracétamol est de 4 g/jour avec une dose efficace 50 (DE50) de 45 mg/kg/24h, tandis que sa dose toxique 50 (DT50) est de 150mg/kg/24h et sa dose létale 50(DL50) de 2,4g/kg (Reichl.,2004).

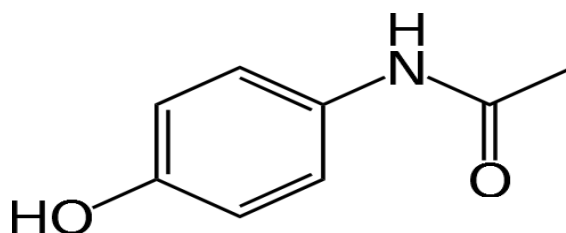


Figure 2 : Structure chimique du paracétamol (Ellenborn *et al.*,1988).

### I.2.2 Données pharmacocinétique

#### ➤ Absorption

Après avoir administré le paracétamol, l'absorption se fait rapidement, sans tenir compte de la dose, par diffusion passive, ceci est liée à ses propriétés physicochimiques (Bannwarth *et al.*,1992 ; Depré *et al.* ,1992 ; Grattan *et al.* ,2000).

Un tiers de processus d'absorption se déroule au niveau gastrique et colique tandis que les deux autres tiers sont absorbés au niveau intestinal. Chez l'Homme, le pic plasmatique du paracétamol varie en fonction de la voie d'administration et la forme galénique, il peut être rapide, 15-60 min, alors qu'il peut également être plus lent, 2-3h, (**Rawlins et al.,1977 ; Bannwarth et al.,2003**).

#### ➤Distribution

La distribution du paracétamol s'effectue de manière rapide et uniforme dans tous les tissus, il propage dans tous les milieux liquidiens et la liaison aux protéines plasmatiques est relativement faible (15 à 20%) (**Gazzad et al.,1973**). De manière intéressante, les niveaux de concentrations constatées dans le liquide céphalorachidien et dans le plasma sont similaires, reflétant la diffusion rapide au travers de la barrière hémato-encéphalique très (**Depré et al.,1992**), ce qui affirme le potentiel d'action centrale du paracétamol. (**Bannwarth et al., 1992**).

#### ➤Métabolisme

Le foie est le site essentiel de la biotransformation du paracétamol, il est métabolisé par glucuroconjugaison et sulfoconjugaison. Une faible portion (10%) est métabolisée par les cytochromes P450 ce qui conduit à la formation d'un métabolite hautement réactif nommé N-acétyl-p-benzoquinone-imine (NAPQI). En des circonstances normales, ce métabolite est réduit par le glutathion et puis éliminé par voie rénale (**Kociancic et Reed,2003**).

#### ➤Élimination

L'élimination du paracétamol se fait par voie rénale, à savoir : moins de 5% du paracétamol sous forme inchangée, 50 à 80 % sous forme glycoconjugué et 20 à 40 % sous forme sulfoconjuguée. Près de 90 % de la dose ingérée est éliminée en 24 heures. La demi-vie d'élimination est d'environ 2 heures (**Pons, 1997**).

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

Au niveau du foie, les transférases et les oxydases sont des enzymes qui conjuguent le paracétamol en dérivés très hydrosolubles (figure 3).

- Les transférases sont réparties en deux sous-catégories, la première est l'uridine di-phosphate glucuronyl transférase (UDP-glucuronyl-transférase), le coenzyme est l'acide uridine-5'-diphospho -D-glucuronique (UDPGA) qui convertit le paracétamol en un dérivé glucuroconjugué en transférant le groupement glucuronate porté par le coenzyme. Tandis que,

la sulfotransférase dont le coenzyme est le 3-phosphoadénosine-5'-phosphosulfate (PAPS), convertit le paracétamol en un dérivé sulfoconjugué en transférant le groupement sulfate inorganique porté par le coenzyme (Sterner,1999).

• Les oxydases sont définies comme des mono-oxygénases à cytochrome P450, en particulier, les cytochromes CYP2E1 et CYP3A4, ils convertissent le paracétamol en N-acétyl-p-benzoquinone-imine (NAPQI), qui est conjugué ultérieurement avec le glutathion (GSH) en un composite conjugué (NAPQI-GS) (Figure 3) (Hachulla et Flipo, 1999 ; Laura *et al.*, 2003).

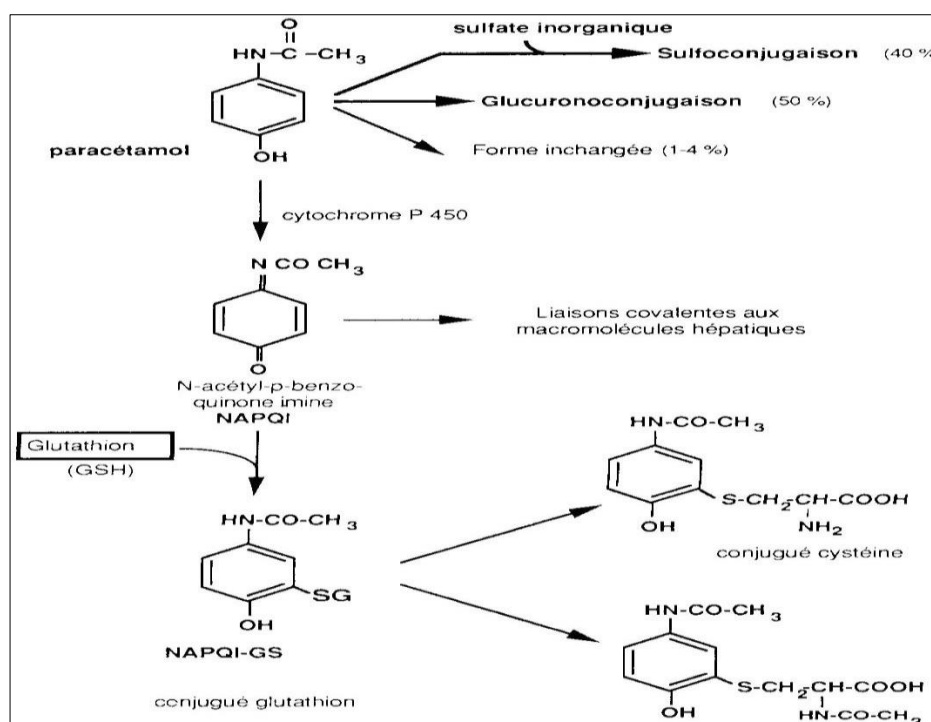


Figure 3 : Les différentes possibilités de métabolisation du paracétamol (Laura *et al.*, 2003).

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

Le risque d'hépatotoxicité du paracétamol est essentiellement lié à la dose administrée, néanmoins, le risque de cette toxicité peut augmenter suite à une diminution des capacités de glucoro-conjugaison, un déficit en glutathion ou une augmentation de l'activité du cytochrome P450. (Seirafi et Hadengue, 2007).

#### I.2.5 Toxicité hépatique du paracétamol

La toxicité hépatique du paracétamol est engendrée par plusieurs mécanismes qui affectent les cellules à des degrés divers (Seirafi *et al.*, 2007).

### ➤ Paracétamol vise les protéines hépatiques

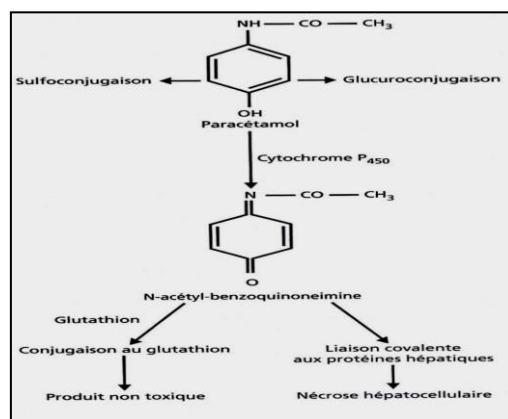
Au niveau du foie, une faible proportion de paracétamol est métabolisée par les cytochromes P450 en métabolite toxique, la N-acétyl-p-benzoquinone imine (NAPQI), elle est toxique par sa capacité à se lier de manière covalente aux protéines intramoléculaires du foie, LXR (Liver X receptor), ChREBP (Carbohydrate responsive element-binding protein) conduit à la lyse des hépatocytes (Seirafi *et al.*, 2007). Le NAPQI est extrêmement électrophile et rapidement conjugué avec le glutathion réduit pour inhiber son activité (Kociancic et Reed, 2003).

En cas de surdose ; la concentration de glutathion est diminuée en raison d'un apport excessif du paracétamol. Le NAPQI accumulé crée des liaisons avec les protéines hépatiques menant à des lésions cellulaires déclenchant l'apoptose, et conduisant à une nécrose hépatocyttaire centrolobulaire (Figure 4) (Megarbane et Deye., 2007).

En outre, la toxicité hépatique est due également aux autres mécanismes. En effet, un excès de NAPQI est à l'origine de l'altération de la membrane des hépatocytes en provoquant la dégradation des lipides membranaires. Ces derniers affectent aussi l'homéostasie calcique responsable de l'activation d'enzymes cytolitiques. (Bismuth *et al.*, 1998).

### ➤ Paracétamol vise les pores mitochondriaux

L'intoxication par le paracétamol provoque un dysfonctionnement mitochondrial conduisant à l'ouverture des pores communément appelés « pores de transition de perméabilité mitochondriale » (PTPM), ils sont constitués surtout des protéines voltage-dépendant anion Channel (VDAC), adénine nucléotide translocase (ANT) et cyclophiline D, ce qui est capable de causer la mort des hépatocytes par nécrose ou apoptose selon le nombre de mitochondries impliquées (Yasuhiro *et al.*, 2005).



**Figure 4** : Le métabolisme toxicocinétique du paracétamol (Claverie I et Hedde H, 2008).

### **I.2.6 Stress oxydatif et toxicité par le paracétamol**

L'intoxication par le paracétamol est une cause majeure des déficiences fonctionnelles hépatiques.

L'atteinte des protéines mitochondriales tels que le glutathion qui maintient le taux de métabolite (NAPQI) à des niveaux physiologiques. Ça mène à l'augmentation des activités des espèces réactifs de l'oxygène (ERO) provoquant ainsi le stress oxydant (**Berson, 2005 ; Fromenty, 2010 ; Tomečková et al., 2011**).

## **I.3 Les algues**

### **I.3.1 Généralités sur les algues :**

Les algues macroscopiques diffèrent des autres végétaux au niveau de leur thalle, appareil végétatif pluricellulaire ne possède aucun organe spécifique (racines, tige, feuilles et fleurs) (**Barsanti et Gualtieri 2010**). Les algues poussent dans l'eau ou dans des environnements extrêmement humides, elles sont surtout abondantes dans les eaux des mers, et peuvent coloniser les mares, les lacs et les étangs. Elles peuvent aussi exister sur la terre (**Reviere B., 2002**).

### **I.3.2 Classification des algues**

Les algues ont été classées en une dizaine d'embranchements, les critères de classification se basent sur les polysaccharides de réserve, la pigmentation et les caractéristiques structurales (**Ruiz, 2005**).

La composition pigmentaire des algues permet de définir trois groupes :

#### **1.3.2.1 Les algues vertes (Chlorophycées)**

Elles sont de formes très variées, uni- ou pluricellulaires. Les chlorophylles a et b colorent les plastes en vert, auxquelles sont associés des carotènes et des xanthophylles. La formation d'amidon est assurée par la photosynthèse. La majorité des algues vertes se développent en milieux marins et eau douce et certaines espèces peuvent exister sur terre. Son rôle est de fournir l'oxygène à l'eau favorisant ainsi la vie animale. (**Garon-Lardiere, 2004**).

#### **1.3.2.2 Les algues brunes (Phéophycées)**

La dominance des pigments xanthophylles et surtout la fucoxanthine donne aux algues une couleur brune qui masque les autres pigments à savoir : chlorophylle et le  $\beta$ -carotène. Toutes les algues brunes ont une structure pluricellulaire sauf que la dimension varie depuis les

éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens (**Garon-Lardiere, 2004**).

### **1.3.2.3 Les algues rouges (Rhodophycées)**

Les rhodophycées représentent un groupe très varié qui contient presque 6000 espèces de macro-algues rouges (**Person, 2010**). Elles sont divisées en deux groupes : les Bangiophycées et les Floridéophycées. La couleur de ces algues est due à la présence de plastides roses où un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé aux autres pigments dont les chlorophylles. La plupart de ces algues rouges sont pluricellulaires et marines et quelques-unes vivent également en eau douce. (**Garon-Lardiere, 2004**).



**Algue verte**



**Algue brune**



**Algue rouge**





*Chapitre II*

*Matériel et Méthodes*

## II.1 Matériel

### II.1.1 Matériel végétal

Cette étude a porté sur *Ulva lactuca*, une espèce d'algues verte de la famille des Ulvaceae (figure).



**Figure 5** : algue verte (*Ulva lactuca*)

#### A-Description et distribution

*Ulva lactuca*, appelée aussi laitue de mer, se distingue par un thalle très mince en forme de feuille présentant un crampon par lequel l'algue se fixe à son support. De couleur vert émeraude et translucide qui peut virer à la transparence en cas de stress, Leur taille est variable, en moyenne de 30 à 40 cm et peut même atteindre 1 mètre si elles se trouvent dans des zones eutrophisées (**Botany 2001**).

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

**B-Classification****Tableaux 1 : Position systématique d'*Ulva lactuca* (Botany 2001).**

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

**C-Récolte de *Ulva lactuca***

Les échantillons d'*Ulva lactuca* ont été récoltés à la fin du mois d'Avril 2019. Ils sont ensuite lavés puis séchés à l'air libre et à l'ombre. Les algues collectées devenues sèches, ont été conservées dans de la glace et lavées doucement quelques fois avec de l'eau distillée pour éliminer les débris indésirables et ensuite séchées une nouvelle fois à l'air. Elles ont ensuite été broyées en poudre et conservées dans des bocaux en verre recouverts de papier d'aluminium.

**D-Utilisation**

L'algue verte *Ulva lactuca* est considérée comme substance bioactive largement utilisée dans les industries alimentaires et pharmaceutiques, les polysaccharides d'*Ulva Lactuca* sont des composés largement étudiés pour leurs structures et fonctions. Des études récentes ont démontré qu'ils ont une activité d'inhibition de la génération de thrombine et des activités anti nociceptives, anti-inflammatoires, anti-oxydants et anti-apoptotiques (Zhao, 2018).

**II.1.1.1 Extraction des polysaccharides**

La technique utilisée pour l'extraction des polysaccharides est la « Hot Water extraction » (L.Rong, 2010),

Décrite ci-dessous :

De la poudre de *Ulva lactuca* (40g) a été ajoutée à 1,6 L d'eau. Le mélange a été agité vigoureusement dans un bain marie (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.

## II.1.2 Matériel animal

### II.1.2.1 Entretien des animaux

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 souris. 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.

### II.1.2.2 Induction de l'hépatotoxicité par le paracétamol

Pour reproduire le modèle de d'hépatotoxicité, le paracétamol a été dissout dans une solution de chlorure de sodium à 0.9 % et administrée par gavage avec une seule dose aiguë de 2g/kg, après un traitement de 10 jours à l'extrait de polysaccharides algaux, un volume équivalent de chlorure de sodium à 0.9 % a été administré par voie intrapéritonéale aux rats témoins.

### II.1.2.3 Traitement des animaux

L'ensemble des rats ont été divisés en trois groupes de 5 rats chacun :

- **Groupe I (5 rats) : Sains témoins ou contrôle** ; reçoivent chaque jour par gavage 0.4 ml/kg d'eau physiologique.
- **Groupe II (5 rats) : paracétamol témoin** : reçoivent quotidiennement, par gavage de l'eau physiologique pendant 10 jours, puis au 10<sup>ème</sup> jour juste après le dernier traitement, ils reçoivent 2g/kg de paracétamol.
- **Groupe III (5 rats) : paracétamol + Polysaccharides** ; reçoivent quotidiennement, par voie orale 100mg/kg de l'extrait de polysaccharides algaux pendant 10 jours, puis au 10<sup>ème</sup> jour juste après le dernier traitement, ils reçoivent 2g/kg de paracétamol.

#### II.1.2.4 Prélèvement sanguin

Après 3h de l'administration du paracétamol, le sang est prélevé et mis dans des tubes secs. Ces prélèvements ont été effectués, sur des rats à jeun à la fin de l'expérimentation. Après le prélèvement sanguin, le sang est mis dans des tubes secs, laissé à température ambiante 1h puis centrifugé à 6000 tours/minute pendant 15 minutes puis le sérum est récupéré et utilisé pour les dosages biochimiques des transaminases (ALT et AST).

#### II.1.2.5 Sacrifice des animaux, récupération du foie et préparation de la fraction cytosolique de tissus hépatique

Après les 10 jours de traitement, puis l'administration du paracétamol, les rats ont été par la suite sacrifiés par translocation cervicale pour récupérer le foie.

Le foie est récupéré, rincé par l'eau physiologique saline 0.9 %, puis conservé à 4°.

Le jour de la manipulation (dosage), 0.5 g de foie est additionné à 3ml de solution tampon Tris-EDT Aphosphate 0.1 M pH ; 7.4 contenant du KCl 1,15M, le mélange est homogénéisé.

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).



**Figure 6** : L'homogénat de foie

### II.1.3 Réactifs

L'Acide Thiobarbiturique (TBA), le 1,1,3,3-Tetraoxypropane (TEP), l'Acide Thionitrobenzoïque (DTNB), le Glutathion réduit (GSH) est de chez SIGMA ALDRICH.CO., ST Louis, MoLe Tris, le KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, le K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> et l'EDTA sont de chez BIOCHEM., CHEMOPHARMA, Gorgia; USA.

- Le Trichloroacide Acétique (TCA) est de chez FLUKA CHEMIKA ; Switzerland.
- Le peroxyde d'hydrogène, et le KCl sont de chez PANREAC QUIMICA, SA ; Espana
- Le n-butanol et acheté de PROLAB, MERK EUROLAB.
- BSA de BIOCHEM., CHEMOPHARMA, Gorgia; USA.

### II.1.4 Appareillage

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



Figure 7 : Centrifugeuse Sigma



Figure 8 : Bain Marie



Figure 9 : Spectrophotomètre

## II.2 Méthodes

### II.2.1 Méthodes de dosage des paramètres biochimiques du sang

Le dosage des paramètres biochimiques a été réalisé de la manière suivante :

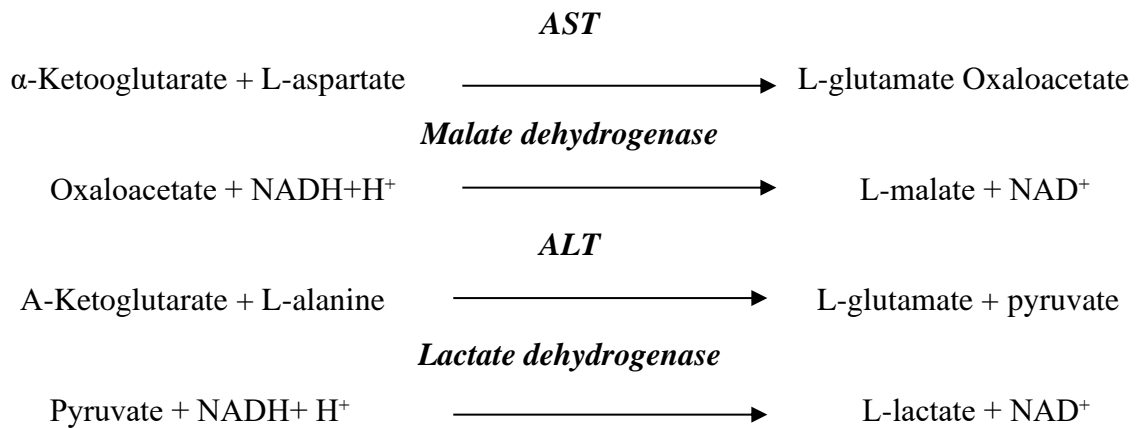
#### II.2.1.1 Les transaminases

Les transaminases (ou amino transférase) sont des enzymes hépatocytaires dont la fonction est de catalyser des réactions de transfert d'un groupe aminé d'un acide alpha aminé à

un acide  $\alpha$ -cétonique. Il existe 2 transaminases dont le coenzyme est la vitamine B6 (phosphate de pyridoxal) AST et ALT.

### ➤ Principe

L'évaluation quantitative de transaminases dans le sérum est réalisée en utilisant des kits selon les réactions suivantes :



**Figure 10** : Les réactions d'évaluation quantitative des transaminases

## II.2.2 Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydant

### II.2.2.1 Dosage du malondialdéhyde (MDA) dans une fraction cytosolique de foie

#### ➤ Principe

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

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

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

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

#### Méthode de dosage :

À 0.5 ml de la fraction cytosolique 10% (KCl 1,15M) de foie 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, l'absorbance est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 520 nm. La quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nm/gramme de tissu (foie). Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du 1, 1, 3,3-tetraoxypropane dans les mêmes conditions.



**Figure 11 :** Les fractions obtenues pour le dosage MDA



**Figure 12 :** d'acide trichloracétique (TCA)

#### II.2.2.2 Dosage du glutathion réduit hépatique

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<sup>-1</sup>. Elle fait partie intégrante de la biotransformation des substances xénobiotiques et sert à protéger l'organisme des agents réducteurs (Gad, 2014). Le glutathion se trouve dans la cellule sous deux formes : une forme oxydée « GSSG » et une forme réduite « GSH » représentant plus de 99% de la quantité total (Lahouel, 2005).



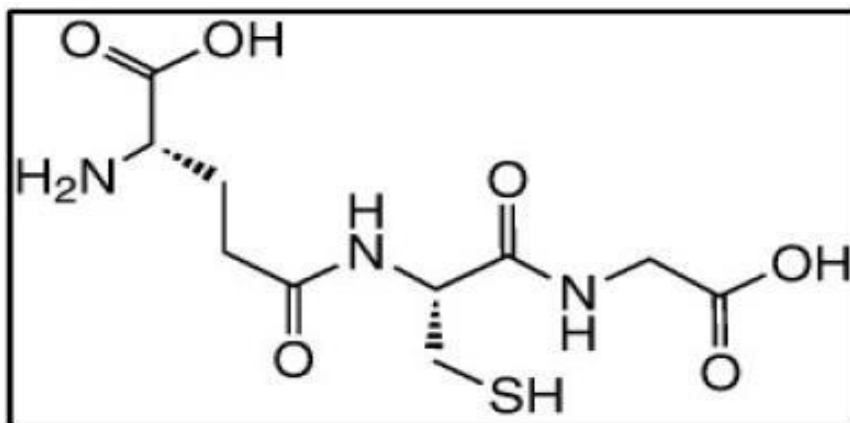


Figure 13 : Formule chimique du Glutathion réduit. (Lahouel, 2005).

### ➤ 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 :

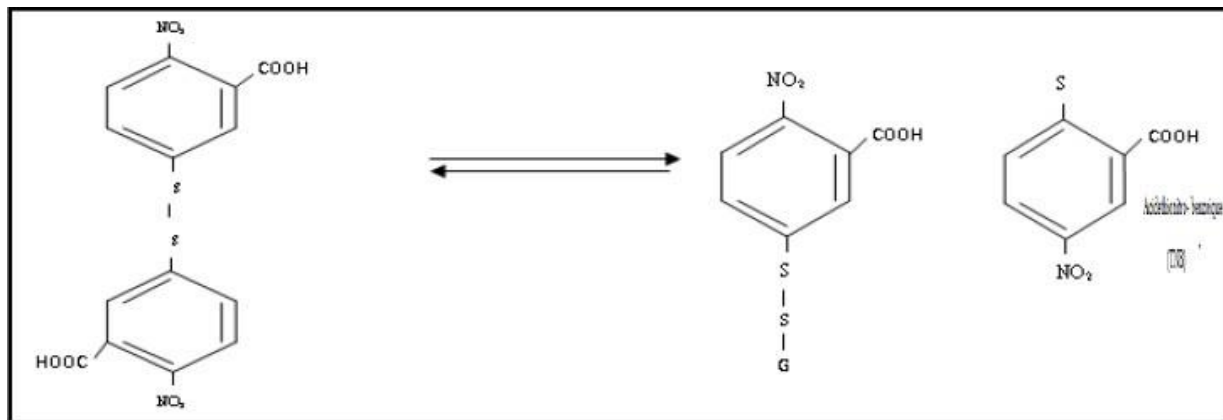


Figure 14 : Réaction d'Ellman (Ellman,1959).

### Méthode de dosage :

- 1- À 0.5ml de la fraction cytosolique 10% (KCl 1,15M) du foie nous avons additionné 0.5 ml d'acide trichloracétique (TCA)10% puis centrifugé 2000tours/min pendant 5minutes.
- 2- Ensuite, à 1.7 ml du tampon phosphate, pH : 8, nous avons additionné 0.2 ml de surnageant et 0.1ml du réactif d'**Ellman**. La lecture de la densité optique est effectuée après 5 minutes à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA10%.

3- Les concentrations du GSH dans l'échantillon sont exprimées en  $\mu\text{m}/\text{gramme}$  de tissu. Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du GSH dans les mêmes conditions.

### II.2.2.3 Dosage de l'activité de la catalase cytosolique

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

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

#### ➤ Principe

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

#### ➤ Méthode de dosage

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

#### ➤ Calcule

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

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

- **T** : Intervalle de temps.

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

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

L'activité de l'enzyme est calculée selon l'équation suivante :  $\text{U/mg} = \frac{K}{n}$

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

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

## II.2.3 Méthodes d'évaluation in vitro de l'activité de l'extrait de polysaccharides algaux

### II.2.3.1 Évaluation de L'activité protectrice de l'extrait de polysaccharide

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

- 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 1ml 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 660 nm.
- 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 : **(%) Protection = 100 - (Doéchantillon / Doducontrôle) X 100.**

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

### II.2.3.2 Évaluation de l'activité anti-hémolytique de l'extrait de polysaccharides

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

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

#### ➤ Préparation de la suspension érythrocytaire

- Le sang prélevé pour la réalisation de nos tests est récupéré dans des tubes héparines à partir de personnes volontaires saines qui n'ont pas de pathologies particulières afin d'éviter toute interférence avec nos résultats.
- Le sang est centrifugé à 3000rpm /5min, le culot récupéré et lavé 3 fois avec la solution PBS iso-saline formée de tampon phosphate de potassium 10mM, pH=7,4 et 154mM de NaCl.

Chaque lavage consiste en une suspension des cellules dans du PBS Iso-saline et une centrifugation à 3000 rpm/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 15 :** Récupération de la suspension érythrocytaire.

### II.2.3.3. Évaluation 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:

- 1- 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%.
- 2- Le mélange a été incubé pendant 10 min à température ambiante, ensuite centrifugé à 2000 rpm à 4° C.
- 3- lire l'absorbance du surnageant à 540 nm.
- 4- Le pourcentage de protection a été calculé en utilisant la saponine (à 1200 µg/ml), C'est notre hémolytique de référence, provoquant 100% d'hémolyse.
- 5- Un tube sans traitement qui représente le témoin négatif a aussi été préparé, afin d'observer une hémolyse naturelle.

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

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

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

**Doc-** : Densité du contrôle négatif

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

#### II.2.3.4.b Évaluation 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 540 nm.

1. Nous avons donc commencé par préparer une série des concentrations en NaCl de 0.3%, 0.5%, 0.7 % et 0.9%.
2. Ensuite, nous avons mélangé 1 ml de la suspension érythrocytaire à 2 % à 1 ml de l'une des concentrations variables en NaCl citées précédemment (préparées dans PBS).
3. Chacune est combinée par la suite à des concentrations variables de l'extrait (50,100,200,300,400 µg/ml), cela veut dire que chaque concentration de l'extrait sera testée avec les quatre concentrations de NaCl.

### II.3 Évaluation statistique

L'évaluation statistique est effectuée par le logiciel *Graph Pad Prism 8*. Les valeurs du groupe Témoin et celles des groupes traités par l'extrait de polysaccharides algaux sont analysées par one-way analysis of variance (ANOVA) suivi par Student. Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types pour 5 rats dans chaque groupe. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type n = 5 : Différence non significative  $P > 0.05$  ; Différence Significative \* $P < 0.05$  ; \*\* $P < 0.01$ .



*Résultats*

### III Résultats :

#### III.1 Evaluation de l'activité d'extrait de polysaccharides *in vivo*

##### III.1.1 Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur les paramètres biochimiques du sang

###### ➤ Transaminases

Les résultats de l'influence d'un traitement de 10 jours par l'extrait de polysaccharides d'*Ulva lactuca* sur les transaminases chez des rats atteints d'une hépatotoxicité par l'administration de paracétamol sont rassemblés dans le tableau II.

Les résultats obtenus dans notre travail ont montré que l'administration du paracétamol (2g/Kg) a provoqué une augmentation hautement significative ( $p < 0.01$ ) de la concentration sérique de l'ALT (254,517±15.38 UI /L contre 49.67,81±4.41 UI /L) et de l'AST (377.281±63.228UI/L contre 118,931±7.33) par rapport au témoin. Cependant L'administration par voie orale de l'extrait de polysaccharides de *Ulva lactuca* pendant 10Jours, avec une dose de 100mg/kg a provoqué une baisse significative ( $p < 0.05$ ) de l'ALT (102,171±5.22 UI /L) et de l'AST (189,259±36.11) par rapport au témoin traité par le Paracétamol.

**Tableau II :** Résultats de dosage de L'ALT et L'AST

Groupes	ALT	AST
<b>Control</b>	49.67,81±4.41	118,931±7.33
<b>Paracétamol</b>	254,517±15.38**	377.281±63.228**
<b>Paracétamol+Extrait</b>	102,171±5.22**	189,259±36.11**

Les résultats sont exprimés en moyenne ±écart -type, n=3.ns. : Différence non significative  $P > 0.05$  ; \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ .

##### III.1.2 Évaluation de l'effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur les paramètres du stress oxydant

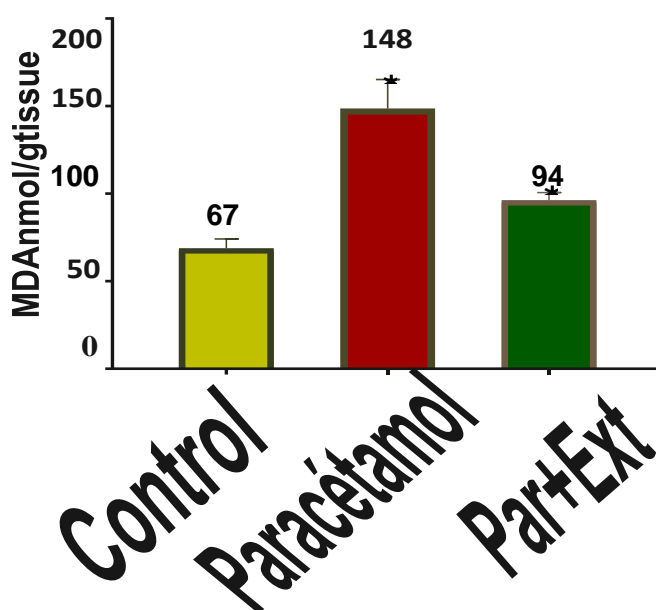
###### III.1.2.1 Effet sur la concentration du molonydialdéhyde (MDA)

La figure 16 représente la variation du taux hépatique en MDA chez les rats traités avec le paracétamol et des rats traités avec le paracétamol plus l'extrait de polysaccharides algaux par rapport aux témoins.

Pour cette étude, la concentration en MDA a été déterminée sur la réaction cytosolique

du foie. Nous avons constaté que chez les rats traités par le paracétamol, l'hépatotoxicité provoquée est associée à une peroxydation lipidique exprimée par l'augmentation significative ( $P < 0.05$ ) du taux du MDA au niveau hépatique ( $148.731 \pm 9.555 \text{ nmol/g tissu}$ ) par rapport au groupe témoin ( $67.77 \pm 3.387 \text{ nmol/g tissu}$ ).

Par contre un traitement de 10 jours par l'extrait de polysaccharides algaux a significativement baissé le taux du MDA à  $94.88 \pm 3.804 \text{ nmol/g tissu}$  par rapport aux témoins traités par le paracétamol seul.



**Figure 16** : Effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur le taux du MDA hépatique

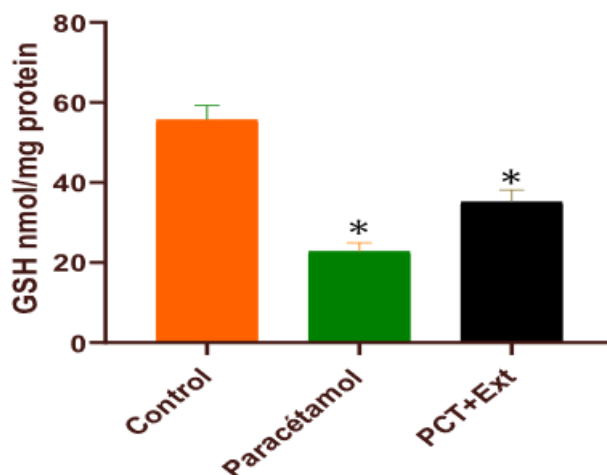
Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$ écart -type,  $n = 3$ .

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

### III.1.2.2 Variation de taux hépatique en glutathion réduit (GSH)

Les résultats de l'étude de l'influence d'un traitement de 10 jours par l'extrait de polysaccharides algaux sur le taux hépatique du GSH sont rassemblés dans la figure 17. Chez les rats traités par le paracétamol, nous avons constaté une diminution significative du taux du GSH hépatique ( $15.80 \pm 2.131 \text{ nmol/mg prot}$ ) par rapport à celui enregistré chez les témoins sains ( $40.71 \pm 3.035 \text{ nmol/mg prot}$ ) ( $P < 0.05$ ). Par contre, la déplétion du glutathion réduit (GSH) hépatique causée par le paracétamol a été en partie limitée à ( $24.71 \pm 1.598 \text{ nmol/mg prot}$ ) chez le groupe ayant reçu l'extrait *Ulva lactuca* pendant 10 jours à la dose quotidienne de 100 mg/kg, par rapport au groupe paracétamol ( $P < 0.05$ ).





**Figure 17** : Influence de l'administration de l'extrait de polysaccharides algaux sur la Concentration hépatique en GSH

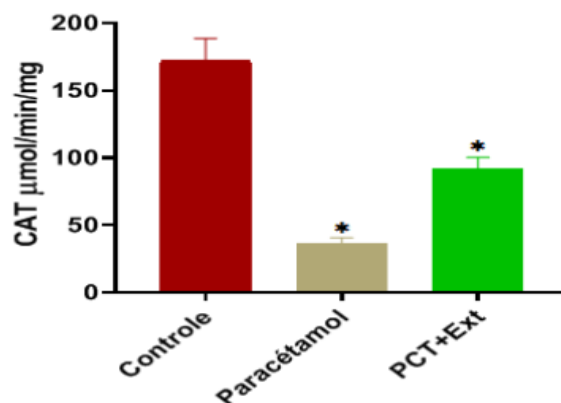
Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$ écart -type, n=5.

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

### III.1.2.3 Activité de la catalase (CAT) hépatique

L'activité de la catalase a été déterminée sur une fraction cytosolique du foie. La figure 18 présente les résultats de l'influence d'un traitement de 10 jours par l'extrait de polysaccharides algaux sur l'activité de la catalase dans le foie. Dans notre étude nous avons constaté une réduction significative ( $P < 0.05$ ) de l'activité de la catalase a un niveau du foie chez les rats traités par le paracétamol ( $44.90 \pm 3.146 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ ) par rapport à celles des rats sains témoins ( $149.9 \pm 7.790 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ ).

D'autre part, on a constaté que l'administration de l'extrait de polysaccharides algaux (100 mg/Kg) a permis une augmentation significative ( $P < 0.05$ ) de l'activité de la catalase cytosoliques normalement réduite par l'administration du paracétamol. Cette hausse est à l'ordre de ( $86.48 \pm 5.863 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ ) mais elle reste cependant encore inférieure à celle des rats sains témoins.



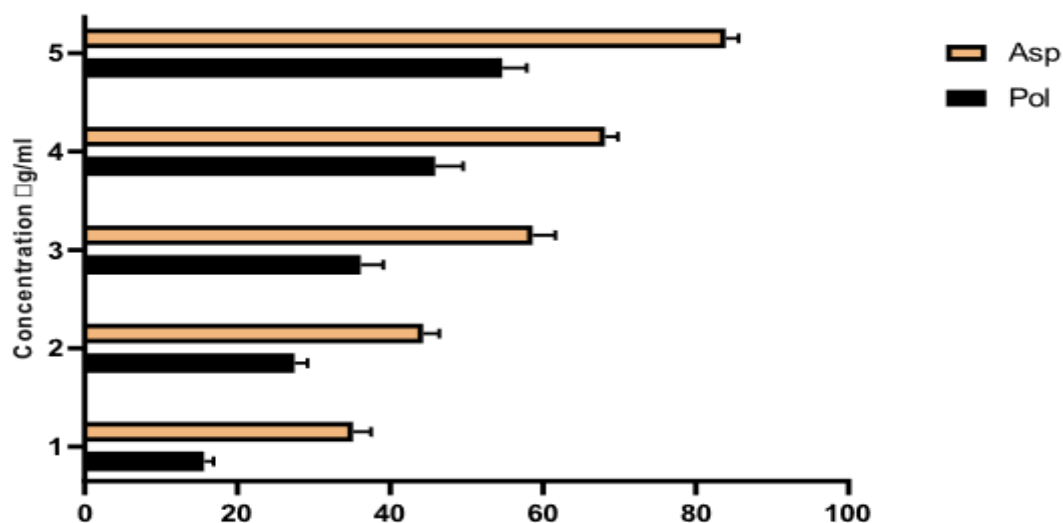
**Figure 18** : L'effet de l'extrait de polysaccharides algaux sur l'activité de la CAT

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type, n =5.

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

### III.2 Evaluation de l'activité d'extrait de polysaccharides *in vitro*

#### III.2.1 Evaluation de l'activité protectrice de l'extrait de polysaccharides



**Figure 19** : 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 17.347% pour la première concentration (50µg/ml) jusqu'à plus de 52.12% pour la cinquième (400µg/ml). Cependant, ces valeurs restent en dessous de celles enregistrées pour l'aspirine qui

vont de 37.644% pour la première concentration de 50 µg/ml jusqu'à 82.197% pour la cinquième (400 µg/ml).

### **III.2.2 Évaluation de la non-toxicité de l'extrait de polysaccharides pour les globules rouges**

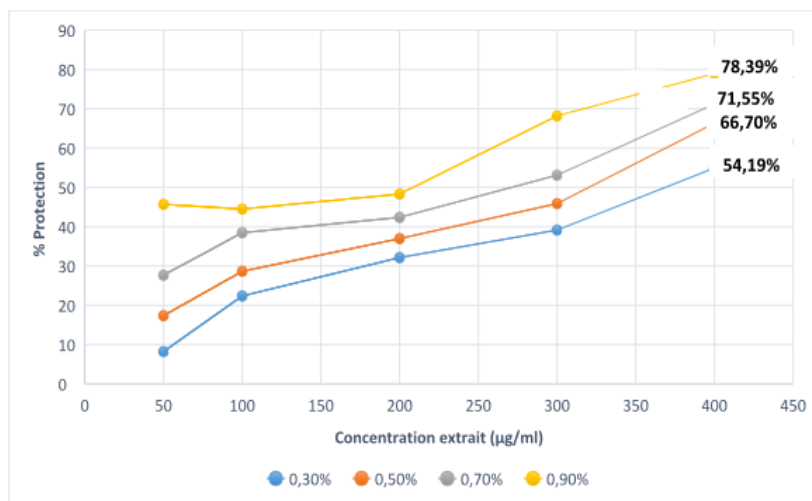
Le tableau III présente les pourcentages d'hémolyse obtenus après l'incubation des GR avec l'extrait de polysaccharides algaux, les taux ont été calculés en prenant en considération un témoin positif (GR avec saponine) et un témoin négatif (hémolyse naturelle).

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

<b>Concentration de l'extrait (µg/ml)</b>	<b>% Hémolyse</b>
<b>50</b>	<b>1.39±0.31%</b>
<b>100</b>	<b>1.91±0.75%</b>
<b>200</b>	<b>3.65±0.88%</b>
<b>300</b>	<b>3.88±0.67%</b>
<b>400</b>	<b>4.26±1.42%</b>

### **III.2.3 Évaluation de l'activité stabilisatrice des membranes des GR par l'extrait de polysaccharides contre un stress osmotique**

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



**Figure 20 :** 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 54.19%, 66.70%, 71.55% et 78.39% avec la 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 prévenir l'hémolyse.



*Discussion*

#### IV. Discussion

Les algues prennent de l'importance dans divers domaines allant de l'alimentation à la médecine. À cet égard, *L'Ulva lactuca*, une macro algue verte, parfois appelée laitue de mer, a été bien étudiée et documentée. Il a été signalé que cette algue verte a suffisamment d'antioxydants, antimicrobiens, antiviraux, antihyperlipidémiques, antitumoraux et anti-inflammatoires qui suggèrent qu'elle est une source puissante contre divers maux (**Tang et al., 2016**). De plus, les rapports concernant l'utilisation de ses polysaccharides dans l'administration de médicaments, les pansements des plaies et l'ingénierie tissulaire authentifient sa candidature dans des applications biomédicales (**Tang et al., 2016**).

En outre, il a été démontré que les algues contiennent de nombreux composants biologiquement actifs, qui pourraient être utilisés comme agents thérapeutiques dans les compléments alimentaires (**Ana Maria et al., 2010 ; Madhusudan et al., 2011**). De même, *Ulva sp.* (Algues vertes) a été connue pour ses divers composés bioactifs fonctionnels qui ont été étudiés pour leurs activités (**Tang et al., 2016**). Dans le genre *Ulva*, environ 50 espèces ont été identifiées et signalées (**Nic et Guiry, 2002**).

L'objectif de notre travail consistait à évaluer le potentiel hépatoprotecteur de l'extrait de polysaccharides de l'algue *Ulva lactuca* contre l'intoxication provoqué par le paracétamol *in vivo* et ce par le biais du dosage de certains paramètres biochimiques du stress oxydant tissulaire, mais également à inspecter l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par le test de stabilisation de la BSA (Bovine Serum-Albumin) et de la membrane des érythrocytes.

L'acétaminophène chimiquement appelé N-acétylaminophénol (APAP) est un antipyrétique et analgésique couramment utilisé. Il est sûr lorsqu'il est pris à des doses thérapeutiques ; cependant, le surdosage peut conduire à une hépatotoxicité grave et même mortelle (**Anne et Larson, 2007**). En faible pourcentage, les enzymes du cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) oxydent l'APAP et forment l'imine N-acétyl-p-benzoquinone (NAPQI), un intermédiaire hautement réactif, qui est détoxifié par liaison covalente avec le glutathion (GSH). Cependant, dans l'intoxication à l'APAP, il génère un excès de NAPQI, ce qui provoque la déplétion du GSH qui se lie aux macromolécules, déclenchant ainsi un stress oxydatif accompagné d'un dysfonctionnement mitochondrial, et finalement entraînant la mort hépatocellulaire (**Yuan et al., 2016**).

L'hépatotoxicité de l'acétaminophène (APAP) suivie des événements cités précédemment, conduisent à une altération de la respiration mitochondriale de la formation d'espèces réactives d'oxygène (ROS) et du stress oxydant (**Fotio et al., 2020**). L'ingestion d'une

dose plus élevée d'acétaminophène induit la synthèse de nombreuses cytokines et chimiokines comme le TNF- $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$ , l'IL-6, l'IL-10, le MCP-1, le MIP-2 et l'IL-8, ce qui entraîne l'activation de neutrophiles et de monocytes, puis leur recrutement dans le foie endommagé (Yan *et al.*, 2018). Le recrutement excessif de cellules inflammatoires dans les tissus endommagés contribue également à la formation de grandes quantités de ROS (Du *et al.*, 2016).

L'étude menée par (Shampa, 2016) a montré que l'apparition d'une inflammation suite à un excès de ROS peut être causé par un excès d'acétaminophène, amène les cellules immunitaires à sécréter diverses cytokines et chimiokines afin de recruter diverses autres cellules immunitaires au site de stress oxydative. La génération accrue de ROS par les cellules immunitaires au site de l'inflammation provoque un stress oxydatif et des lésions tissulaires (Shampa *et al.*, 2016). En plus, L'excès de NAPQI mène aussi à l'appauvrissement du glutathion (GSH), et de l'adénosine triphosphate (ATP) (Jaeschke *et al.*, 2015).

D'autre part, la cytotoxicité de l'acétaminophène est associée à une perturbation de l'homéostasie intracellulaire causée par l'interaction de son métabolite NAPQI avec les thiols des hépatocytes dans la mesure où le NAPQI peut à la fois se lier de manière covalente aux thiols et de les oxyder, cette perturbation peut causer des lésions hépatiques ainsi qu'un dysfonctionnement hépatique supplémentaire (Nicotera *et al.*, 1989).

Abd El-Baky et ses collaborateurs (2008) ont révélé que afin de minimiser les dommages oxydatifs aux cellules vivantes, des antioxydants synthétiques comme l'hydroxyanisobutylé (BHA) et l'hydroxytoluènebutylé (BHT) sont couramment utilisés pour inhiber la peroxydation des lipides mais ils se sont avérés toxiques responsables de dommages au foie, de promoteurs de cancérogenèse et d'altération des activités enzymatiques (Abd El-Baky *et al.*, 2008).

Il est donc important d'utiliser de nouvelles sources d'antioxydants sûrs et efficaces d'origine naturelle comme les algues marines. (Gey, 1990), a signalé que les antioxydants de source naturelle ont une biodisponibilité plus élevée et donc une efficacité protectrice plus élevée contre le stress oxydatif que les antioxydants synthétiques (Gey, 1990).

Comme évoqué dans les parties précédentes, les algues vertes et en particulier *Ulva lactuca* sont utilisées dans différents domaines, des compléments alimentaires aux applications biomédicale (Faradila *et al.*, 2020). Les polysaccharides obtenus de diverses espèces d'*Ulva*, ont montré diverses activités biologiques, y compris des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antibactériennes et antivirales. Cette algue a une capacité anti-radicalaire en inhibant la peroxydation des lipides et en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes (Cindana *et al.*, 2020).

Des études qui ont été menées comme celles de (**Ianna et al., 2016**) montre que la fraction polysaccharidique sulfatée de l'algue verte *Ulva lactuca* à la dose la plus faible (1 mg/kg) présentait une bonne activité car elle présentait un effet anti-inflammatoire par l'inhibition de l'œdème osmotique. En outre, la fraction polysaccharidique sulfatée est dépourvue de toxicité significative ce qui la rend sûre pour d'autres études précliniques.

Dans notre étude, le but consistait à évaluer l'activité hépato-protectrice par le dosage de certains paramètres hépatiques essentiellement de stress oxydant représentés par la catalase (CAT) et le *glutathion* (GSH), mais aussi du malondialdéhyde hépatique (MDA) pour déterminer le degré de la peroxydation lipidique chez les différents groupes de rats. Nous avons aussi dosé le taux d'enzymes hépatiques, l'alanine aminotransférase (ALT), et l'aspartate aminotransférase (AST) qui sont des indicateurs de souffrance cellulaire au niveau du foie (hépatotoxicité), afin de détecter une éventuelle amélioration chez les rats traités par l'extrait de polysaccharides.

L'intoxication par l'acétaminophène stimule l'enflure cellulaire, l'augmentation du poids du foie, la vascularisation, l'inflammation et la nécrose des hépatocytes (**Yoon et al., 2016**). Cela entraîne la libération d'enzymes hépatiques comme l'ALT et l'AST des cellules hépatiques endommagées dans le sang. La détermination de la concentration sérique d'ALT et d'AST est utilisée pour estimer l'étendue des dommages hépatiques (**Krithika et Verma, 2019**).

Nos résultats sont compatibles, car nous avons remarqué que l'administration d'une dose toxique d'APAP (2g/kg) a significativement ( $P \leq 0.05$ ) augmenté le taux des AST, ALT par rapport aux témoins sains. D'autre part, nous avons également constaté une réduction significative ( $P \leq 0.05$ ) des taux de GSH et CAT ( $15.80 \pm 2.131$  nmol/mg prot) et ( $44.90 \pm 3.146$   $\mu$ mol/min/mg) respectivement, par rapport à celles des témoins sains ( $40.71 \pm 3.035$  nmol/mg prot) ( $149.9 \pm 7.790$   $\mu$ mol/min/mg) respectivement, les études de (**Hodgman et Garrard, 2012**) ; (**Yoon et al., 2016**) ont montré que l'hépatotoxicité à l'APAP provoque la production d'une grande quantité du métabolite nocif NAPQI, ce qui conduit par la suite à l'épuisement des enzymes GSH avec une augmentation de la formation d'espèces réactives d'oxygène et d'azote, c'est ce que nous avons observé précédemment dans nos résultats ( $P < 0.05$ ) et qui sont aussi compatibles avec ceux de (**Fotio et al., 2019**) qui a constaté que le taux de GSH a été considérablement réduit par le traitement à l'acétaminophène dans le foie de souris ( $P \leq 0.001$ ) et CAT a été réduit ( $P \leq 0.05$ ).

De plus, les données de (**Guven et al., 2008**) ont montré que le taux de CAT a nettement baissé chez des rats ayant reçu des doses répétées d'acétaminophène (1 g/kg). Nos résultats sont



cohérents, car nous avons constaté que l'administration d'une dose toxique d'APAP (2g/kg) a significativement ( $P \leq 0.05$ ) réduit le taux de CAT.

En contrepartie, nous avons constaté une augmentation significative ( $P < 0.05$ ) du MDA au niveau hépatique ( $148.731 \pm 9.555$  nmol/g tissu) par rapport au groupe témoin ( $67.77 \pm 3.387$  nmol/g tissu), comme le montrent les résultats ci-dessus, en revanche un traitement de 10 jours par l'extrait de polysaccharides algaux a significativement baissé ( $P \leq 0.05$ ) le taux du MDA à  $94.88 \pm 3.804$  nmol/g tissu par rapport aux témoins traités par le paracétamol seul ( $148.731 \pm 9.555$  nmol/g). Le MDA (malondialdéhyde) est considéré comme l'un des produits terminaux de l'oxydation des acides gras poly-insaturés (**Stefan et al., 2004**).

**Fotio et al., (2019)** ont prouvé par leurs études que l'administration d'acétaminophène entraîne une augmentation significative ( $P \leq 0,05$ ) de la peroxydation lipidique évaluée par le niveau de MDA dans l'homogénat hépatique jusqu'à  $12 \mu\text{mol/g}$  tissu par rapport au groupe témoin sain ( $5 \mu\text{mol/g}$  tissu).

Un certain nombre d'œuvres et des nombreux chercheurs tels que (**Pourmorad et al., 2006**) ont étudié les activités antioxydantes des polysaccharides issus des algues vertes et ont déjà révélé que l'extrait d'*Ulva lactuca* a une grande quantité de flavonoïdes et des teneurs phénoliques totales comme la quercétine qui leur donnent une capacité antioxydante élevée leur permettant d'être utilisés pour le traitement de plusieurs maladies (**Pourmorad et al., 2006**). En outre, nos extraits d'algues ont montré une action inhibitrice puissante contre le stress oxydatif dans les tissus hépatiques. Ainsi, ces extraits pourraient être utilisés dans le traitement des lésions hépatiques liées au stress oxydatif. (**Sire et al., 1983**) et (**Qi et al., 2006**) ont signalé que les polysaccharides d'*Ulva lactuca* ont la capacité de protéger le foie contre les radicaux libres. De plus, *Ulva lactuca* contient des polysaccharides présentent des activités de balayage radical et de chélation des métaux, ce qui confirme leurs propriétés antioxydante (**Olasehinde et al., 2019**).

Les études de **Hassan et al., (2011)** ont montré que la supplémentation en polysaccharide extraits de *U lactuca* à des rats hypercholestérolémiques s'est montrée efficace pour diminuer le stress oxydatif et réguler le dysfonctionnement hépatique en augmentant les activités des enzymes antioxydantes (CAT et GSH), réduisant le taux de MDA par la réduction de processus de peroxydation des lipides, et les taux de l'ALT et l'AST ont été réduits de façon significative. Ce qui signifie que cet extrait pourrait donc réguler le système de défense antioxydant par l'inhibition de la production de ROS.

**Arumugam** et ses coopérateurs (2008) ont révélé que les polysaccharides d'*Ulva lactuca* présentent des propriétés antipéroxydantes et anti-hyperlipidémiques avec une amélioration de

la concentration hépatique des antioxydants non enzymatiques (GSH) et des thiols protéiques hépatiques ce qui permettrait d'optimiser le statut antioxydant dans le foie.

Nos résultats sont en accord avec tout ce qui a été précédemment mentionné, car nous avons constaté que l'utilisation de concentration d'extrait de polysaccharides de 100 mg/kg avait provoqué une baisse significative de taux du l'ALT, l'AST et MDA jusqu'à (102,171±5.22 UI /L), (189,259±36.11) et (94.88±3.804 nmol/g) respectivement. En concomitance, nous avons constaté l'augmentation de la l'activité antioxydante principale qui protège contre le stress oxydatif jusqu'à (24.71±1.598 nmol/mg prot) pour la GSH et (86.48±5.863 umol /min/mg) pour la CAT, par rapport aux témoins traités par le paracétamol seul.

Dans l'autre partie de notre étude, L'évaluation de l'activité hépato protectrice a été réalisée aussi par des tests *in vitro* qui peuvent témoigner du potentiel anti-inflammatoire de l'extrait étudié, c'est-à-dire leur capacité de prévenir les inflammations (hépatite).

Nous avons choisi de réaliser le test d'inhibition de la dénaturation du sérum albumine bovine (BSA), ainsi que le test de tolérance des *globules rouges* (GR) à l'extrait pour *s'assurer* de sa non-toxicité et enfin le test de stabilisation de la membrane des GR afin d'estimer l'effet protecteur de l'extrait vis-à-vis d'un stress osmotique.

L'inflammation est généralement considérée comme une réponse biologique complexe des tissus vasculaires aux stimuli nocifs. De plus, l'inflammation est associée à la douleur, et elle implique une augmentation de la dénaturation des protéines, une augmentation de la perméabilité vasculaire et une altération des membranes (**Gunathilak et al., 2018**)

D'après **Hajare et al., (2001)** la plupart des anti-inflammatoires (AINS) possèdent la capacité intrinsèque de stabiliser ou de prévenir la dénaturation de l'albumine induite par la chaleur, donc tout agent qui peut prévenir la dénaturation des protéines serait à envisager pour le développement de médicaments anti-inflammatoires (**Hajare et al., 2001**).

La dénaturation des protéines facilite la production d'auto-antigènes, ce qui provoque des pathologies inflammatoires (**Zhao et al., 2008**). Le mécanisme d'inhibition de la dénaturation des protéines à l'aide des anti-inflammatoires à haute température a été identifié par (**Bhattacharya et al., 2012**).

Les recherches de **Tang al., (2016)** sur l'action anti-inflammatoire des polysaccharides d'algue *Ulva lactuca* ont indiqué que l'extrait pourrait être un agent anti-inflammatoire prometteur grâce à leur capacité de réduire l'inflammation sans laisser des traces indésirables. De plus, les analyses hématologiques se sont révélées normales, ce qui donne à penser que les

propriétés anti-inflammatoires des algues marines vertes devraient être prises en considération (Margret *et al.*, 2009).

Madelyn et ses collaborateurs (2021) ont constaté que l'utilisation des polysaccharides issus des algues vertes inhibent en fonction de la concentration de l'extrait la dénaturation de la BSA induite par la chaleur. L'augmentation du pourcentage d'inhibition avec les concentrations les plus élevées était la tendance générale. De toute évidence, les polysaccharides inhibent la dénaturation de la protéine BSA, cette activité a été enregistré avec des concentrations faibles et ça augmente avec des concentrations plus élevées, Nos résultats sont conformes à ces affirmations de sorte que l'utilisation de 50 à 400 µg/ml l'extrait des polysaccharides d'algue *Ulva lactuca* a inhibé la dénaturation de BSA de 17.34 % jusqu'à 52.12% respectivement.

Elmegeed *et al.*, (2014) avaient réalisé une étude de toxicité qui a été estimé par le test d'hémolyse, les pourcentages d'hémolyse obtenus après l'incubation des GR avec l'extrait algal *Ulva lactuca* ont démontré que toutes les concentrations d'extrait brut testées ont un effet non-hémolytique sur les globules rouges et toutes les fractions d'ulvanes extraites d'*Ulva lactuca* n'ont montré aucun effet cytotoxique.

L'étude menée par Faggioie *et al.*, (2015) visant à évaluer l'activité anticoagulante des polysaccharides des algues vertes, Genre *Ulva*, a montré que l'extrait n'a aucun effet cytotoxique sur les globules rouges et n'a pas affecté les paramètres hématologiques.

De plus, Les recherches de (Elbayomi *et al.*, 2021) ont montré que l'administration de 10 à 100 µg/ml d'extrait de polysaccharides a réussi à stabiliser la membrane érythrocytaire contre l'hémolyse induite par l'hypotonicité d'une manière dépendante de la concentration. Les polysaccharides n'étaient pas considérablement toxiques pour les globules rouges, même à des concentrations élevées.

Nos résultats sont cohérents, car nous avons remarqué quel pourcentage de protection des globules rouges par l'extrait algal *Ulva lactuca* s'accroît proportionnellement avec la concentration de ce dernier. L'activité maximale a été obtenu à une concentration de 400 µg/ml donnant respectivement 54.19%, 66.70%, 71.55% et 78.39% avec les concentrations de la saline suivantes : 0.3%, 0.5%, 0.7 et 0.9%. Les résultats obtenus s'avèrent assez intéressants au point qu'elles montrent la présence d'une activité protectrice à l'égard de GR contre le stress osmotique et par conséquent prévenir l'hémolyse.

Compte tenu de toutes les études et les constatations susmentionnées, la sévérité de l'atteinte hépatique peut être évaluée par le dosage des paramètres hépatiques, en effet, le changement des taux de ces paramètres prouve l'existence d'une souffrance hépatique qui peut être liée à des processus inflammatoires dégénératifs au niveau du foie, médié

vraisemblablement par un déséquilibre redox (stress oxydant) important, de l'infiltration des cellules immunitaires, de la peroxydation lipidique voire de la nécrose. Les résultats obtenus ont montré quel traitement des rats par l'extrait de polysaccharides algaux d'*Ulva lactuca* a significativement amélioré les paramètres biochimiques du foie par rapport aux témoins traités par le paracétamol seul. Ces résultats nous laissent suggérer quels polysaccharides algaux possèdent une activité antioxydante qui se manifeste par leurs capacités de lutter contre les effets indésirables de l'acétaminophène en réduisant le stress oxydatif, cela a été constaté par une augmentation remarquable des taux de GSH et CAT avec une diminution de taux du MDA. De ce fait, nous pouvons affirmer que les polysaccharides issus de l'algue verte *Ulva lactuca* possèdent effectivement un effet protecteur contre la toxicité hépatique du paracétamol (l'acétaminophène) chez les rats. Cependant, il est nécessaire de réaliser des analyses complémentaires pour mettre en évidence les différents constituants de ces polysaccharides afin de donner des explications plus pointues sur leurs cibles et leurs mécanismes d'action.



*Conclusion et perspectives*

## **Conclusion et perspectives**

Les plantes, qu'elles soient aquatiques ou terrestres, ont toujours représenté la principale source d'intérêt pour l'industrie pharmaceutique, plusieurs molécules d'origine végétale sont utilisées comme remèdes sous forme de préparations traditionnelles ou de principes actifs purs. Ensuite, la purification des molécules à usage thérapeutique s'est étendue ces dernières décennies à d'autres systèmes, tel que les algues marines.

Les algues marines sont des sources potentiellement prolifiques de métabolites hautement bioactifs qui pourraient représenter des pistes utiles dans le développement de nouveaux agents pharmaceutiques, et en vue de réduire les effets secondaires engendrés par les molécules d'origine chimique, des études modernes visent à valoriser le potentiel pharmacologique des extraits de ces algues afin d'explorer des nouveaux principes actifs d'origines naturels qui sont biologiquement et physiologiquement adaptés à notre organisme.

Le présent travail s'est orienté vers l'évaluation de l'effet hépatoprotecteur des polysaccharides extraits de l'algue *Ulva Lactuca* et sa capacité à prévenir le stress oxydatif résultant d'intoxication par le paracétamol. Les résultats obtenus permettent de conclure que l'extrait de polysaccharides algaux possède la capacité de lutter contre l'inflammation en rétablissant la balance oxydants/antioxydants et en améliorant, par conséquent, les taux des biomarqueurs hépatiques du stress oxydatif, son activité anti-inflammatoire tient aussi à sa capacité à prévenir la dénaturation des protéines et à fournir une stabilité membranaire permettant de lutter contre les dommages cellulaires. L'extrait d'algue *Ulva lactuca* a montré donc des activités intéressantes qui pourraient être utilisées pour développer des agents antioxydants et anti-inflammatoires d'origine naturels.

En perspectives, il serait donc intéressant de faire d'autres recherches en vue d'explorer les différents composants de cette algue et de déterminer d'autres principes actifs ainsi que leurs cibles et leurs mécanismes d'action avec exactitude. Il serait aussi important d'étudier d'autres propriétés biologiques, toutes aussi intéressantes, comme l'activité immuno-modulatrice, antivirale ou encore antimicrobienne, afin d'évaluer toutes les activités bénéfiques et d'élargir les éventuels domaines d'application.



*Références bibliographiques*

- **Abd El megeed, Doaa A. Ghareeb Muhammed Elsayed, Dalia F. Muhammad El-Saadani (2014).** Phytochemical constituents and bioscreening activities of green algae (*Ulva Lactuca*). *International Journal of Agricultural Policy and Research Vol.2 (11)*, pp. 373-378.
- **Adewusi EA, Afolayan AJ. (2010).** À review of natural products with hepatoprotective activity. *J Med Plants Res*; 4:1318–1334.
- **Ali El-Gamal A. (2010).** Biological importance of marine algae. *Journal pharmaceutique saoudien.18 (1) :1-25*.
- **Alves A, Sousa R, Reis R. (2013).** In vitro cytotoxicity assessment of Ulvan, a polysaccharide extracted from green algae. *Phytother. Res. 27 (8)*, 143–1148.
- **Ana Maria S, Grazielle C, Natália V, Daniel M. (2010).** Vascular Effects of a Sulfated Polysaccharide from the Red Marine Alga *Solieria filiformis*. *Champia feldmannii, Biol. Pharm. Bull. 31 .691–695*.
- **Anne M et Larson MD, (2007).** Acetaminophen Hepatotoxicity, *Clinics in Liver Disease ;525-548*
- **Arumugam Sathivel, Hanumantha Rao Balaji, Periasamy Srinivasan, Thiruvengadam Devaki,.(2008).**Anti-peroxidative and anti-hyperlipidemic nature of *Ulva lactuca* crude polysaccharide on d-Galactosamine induced hepatitis in rats.*P : 3262-3267*.
- **Bannwarth B, Péhourcq F (2003).** [Pharmacologic basis for using paracetamol: pharmacokinetic and pharmacodynamic issues]. *Drugs 63 Spec No 2, 5-13*.
- **Bannwarth B, Netter P, Lopicque F, Gillet R, Péré P, Boccard E, Royer R, Gaucher.A (1992).** Plasma and cerebrospinal fluid concentrations of paracetamol after a single intravenous dose of propacetamol. *Br. J. Clin. Pharmacol 34, 79-8*.
- **Barsanti L, Gualtieri P. (2010).** Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology, Second Edition. *Taylor and Francis group. (1)*.
- **Berson A. (2005).** Hépatotoxicité médicamenteuse par atteinte mitochondriale. *Mini-revuhépto-gastro, 12, N° 3 : 191-198*.
- **Bhattacharya S.; Chandra S.; Chatterjee P.; Dey P. (2012).** Evaluation of anti-inflammatory effects of green tea and black tea: A comparative in vitro study. *J. Adv. Pharm. Technol. Res. 2012, 3, 136–138*.



- **Bismuth C. (1998).** Toxicologie clinique. - 5<sup>ème</sup> éd. - Paris : Médecine Sciences Flammarion, 1092p.
- **Botany. (2001).** Algae: Native Ulva lactuca C Agardh 1823: *University of Hawaii at Manoa.*
- **Claverie I, Hedde H. (2008)** - Pharmacologie générale et toxicologie. - 2<sup>ème</sup> éd. - Rueil Malmaison : Porphyre, 100p.
- **Clayden, J., Warren, S., Greeves, N., Wothers, P. (2003).** Chimie organique. Paris : 2<sup>ème</sup> Ed. De Boeck.
- **Cynthia LF, Heloia S, Gedson R , Camila A, Narlize S. (2011).** Bioactivity from marine algae of the genus Glacilaria. *Int Journal Mol Sciences*, 12, 4550-4573.
- **Della Pina C.; Chiellini, F. (2019).** Ulvan as novel reducing and stabilizing agent from renewable algal biomass: Application to green synthesis of silver nanoparticles. *Carbohydr. Polym.* 203, 310–321.
- **Depré M, Hecken A, Verbesselt R, Gerin M, (1992).** Tolerance and pharmacokinetics of propacetamol, a paracetamol formulation for intravenous use. *Fundam. Clin. Pharmacol* 6, 259-262.
- **Deshwal N, Sharma AK, Sharma., P (2011).** Review on hepatoprotective plants. *Int J PharmSciRev Res.*; 7:15–26.
- **Du k, Ramachandran A, Jaeschke H., (2016).** Oxidative stress during acetaminophen hepatotoxicity: sources, pathophysiological role and therapeutic potential. *Redox Biol.* 10, 148–156.
- **Elbayomi S.M., Wang H., Tamer T.M., You Y., (2021).** Enhancement of Antioxidant and Hydrophobic Properties of Alginate via Aromatic Derivatization: Preparation, Characterization, and Evaluation. *Polymers*, 13, 2575.
- **Ellenborn MJ, Barceloux DG. (1988).** Paracetamol, Medical toxicology. *Elsevier (New York, Amsterdam, Londres)* :156-166.
- **Faggio C, Pagano M, Dottore A, Genovese G, Morabito M. (2015).** Evaluation of anticoagulant activity of two algal polysaccharides., *Natural Product Research*, 1478-6419.
- **Faradila Ratu Cindana, Gofarana Wilar, Hari Prasad Devkota, Nasrul Wathoni, (2020)** Ulvan, a Polysaccharide from Macroalga Ulva sp.: *A review of Chemistry, Biological Activities and Potential for Food and Biomedical Applications.*

- **Fomenty, B. (2010).** Toxicité mitochondriale et métabolique des médicaments : mécanismes et conséquences au niveau du foie. *Réanimation*, 19: 552-567.
- **Fotio A, Nguepi M, Tonfack L, Temdie R, Nguelefack T. (2020).** Acetaminophen induces liver injury and depletes glutathione in mice brain: *Prevention by Moringa oleifera extract. South African Journal of Botany* 129, 317–323.
- **Gad SC. (2014).** Glutathione. *Encyclopedia of toxicology*; p 751.
- **Garon-Lardiere S. (2004).** Étude structurale des polysaccharides pariétaux de l’algue rouge *Asparagopsis armata*. Thèse de doctorat en chimie, *université de Bretagne occidentale école doctorale des sciences de la matière* 226p.
- **Gazzard, B.G., Ford, H.A.W., Smith, M.W R. (1973).** The binding of paracetamol to plasma proteins of man and pig. *Journal of Pharmacology &Pharmacotherapeutics*, 25: 964-7.
- **Gey, K.F., (1990).** The antioxidant hypothesis of cardiovascular disease: epidemiology and mechanisms. *Biochem. Soc. Transactions*, 18: 1041-1045.
- **Grattan T, Hickman R, Darby-Dowman A, Hayward M, Boyce M, WarringtonS. (2000).**A five way crossover human volunteer study to compare the pharmacokinetics of paracetamol following oral administration of two commercially available paracetamol tablets and three development tablets containing paracetamol in combination carbonate. *Eur. JPharm. Biopharm. Off. J. Arbeitsgemeinschaft Für Pharm. Verfahrenstechnik EV* 49, 225-229.
- **Gunathilake P, Ranaweera K, Vasantha H. (2018).** In Vitro Anti-Inflammatory Properties of Selected Green Leafy Vegetables. *Journale Biomedicines*, 6, 107.
- **Hachulla E, Flipo RM. (1999).** Corticothérapie en pratique de ville : Médecine interneet rhumatologie. *Paris: Estem. 1ére Ed.*
- **Hanaa H. Abd El-Baky, Farouk K. El Baz and Gamal S.El Baroty., (2008).** Evaluation of Marine Alga *Ulva lactuca L.* as A Source of Natural Preservative Ingredient. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 3 (3): 434-444.
- **Hartman PE. (1983).** Review: putative mutagens and carcinogens in foods. Malonaldehyde. *Environ Mutagen*1983; 5:603\_7.
- **Hikino H, Kiso Y. (1988).** Naturel products for liver diseases. *Econ Med Plant Res*, 2: 39-72.

- **Hodgman, M.J., Garrard, A.R., (2012).** À review of acetaminophen poisoning. *Crit. Care Clin.* 28, 499–516.
- **HuoY, Yin S, Yan M, Win S, Aung-Thant T, Aghajan M, Hu H, Kaplowitz N. (2017).** Protective role of p53 in acetaminophen hepatotoxicity. *Free Radic. Biol. Med.*, 106, 111–117.
- **Ianna Wivianne, José Ariévil, Ana Luíza, (2016).** Analgesic and anti-inflammatory actions on bradykinin route of a polysulfated fraction from alga *Ulva lactuca*, *International Journal of Biological Macromolecules*, p : 820-830.
- **Jaeschke H, McGill MR. (2015).** Cytochrome P450-derived versus mitochondrial oxidant stress in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicol Lett.* 235:216–217
- **Jiao G, Yu G, Zhang J, Ewart H. (2011).** Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Mar. Drugs*; 9, 196–223.
- **Jocelyn C (2011).** Gènes, environnement et cancérogenèse. *UDS/Faculté de Médecine/EA* 4438.
- **Junhui Yuan , Kuang Ge , Junhuan Mu , Jiang Rong , Li Zhang , Bin Wang , Jingyuan Wan , Gong Xia. (2016).** Ferulic acid attenuated acetaminophen-induced hepatotoxicity through down-regulating the cytochrome P 2E1 and inhibiting toll-like receptor 4 signaling-mediated inflammation in mice. *American J.Transl. Res*, 8'10). p.4205.
- **J.P.Kehrer, J.D. Robertson, C.V. Smith.(2010) .Comprehensive toxicology; 1: 277-307.**
- **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.
- **Kociancic, T., Reed, M.D. (2003).** Acetaminophen intoxication and length of treatment: how long is long enough? *Pharmacotherapy*, 23: 1052-9.
- **Krithika R., Verma R.J., (2019).** *Solanum nigrum* confers protection against CCl4-induced experimental hepatotoxicity by increasing hepatic protein synthesis and regulation of energy metabolism. *Clin. Phytosci.* 5, 1–8
- **Kuvandik G, Duru M, Nacar A, Yonden Z, Helvaci R. (2008).** Effects of Erdosteine on Acetaminophen-induced Hepatotoxicity in Rats. *Toxicologic Pathology*, 36: 714-719.
- **Laura, p., James, P.R.M., Histon, j.k.A. (2003).** Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metabolism and Disposition*, 31, N° 12: 1499-1506.

- **L. Rong, (2010).** “Extraction, purification and anti-tumor activity of polysaccharide from mycelium of mutant cordyceps militaris,” *Advanced Chemistry Research*, pp. 798–802,
- **Lin JH, Lu AY. (1997).** Role of pharmacokinetics and metabolism in drug discovery and development. *Pharmacol Rev* ;49 :403–449.
- **Lovric J, Mesic M, Macan M, Koprivanac M, Kelava M, Bradamante V. (2008).** Measurement of malondialdehyde (MDA) level in rat plasma after simvastatin treatment using two different analytical methods. *Period Biol* ;110 :63\_7.217.
- **Madelyn N. Moawad, Abeer A.M. El-Sayed, Hala H.Abd El Latif, Naglaa A.El-Naggar, Nihal G.Shams El-Din , Hermine R.Z. Tadros.(2021).**Chemical characterization and biochemical activity of polysaccharides isolated from Egyptian *Ulva fasciata* Delile. *Oceanologia. Pages 117-130.*
- **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.
- **Megarbane B, Deye N, Baud F. (2007) –** Foie toxique : mécanismes lésionnels et thérapeutiques pharmacologiques spécifiques. - *Réanimation. 16, p. 632-642.*
- **Margret, R. J., Kumaresan, S., and Ravikumar, S. (2009).** A preliminary study on the anti-inflammatory activity of methanol extract of *Ulva lactuca* in rat. *Journal of Environmental Biology*, 30(5 Suppl.) :899-902.
- **Marchall WJ, Bangert SK. (2004).** Biochimie médicale : physiopathologie et diagnostic. 5<sup>ème</sup> édition. Française. France. Elsevier. pp.59-87.
- **Massironi A.; Morelli A.; Grassi L.; Puppi D.; Braccini S.; Maisetta G.; Esin S.; Batoni G. (2019);** Ulvan as novelreducing and stabilizing agent from renewable algal biomass: Application to green synthesis of silver *nanoparticles* (2019) *CARBOHYDRATE POLYMERS*.203. p.310-321
- **Moore KI, Dalley AF. (1999).** Anatomies médicales. USA: DE BOECK. 1999.1123.
- **Nic Dhonncha E., Guiry M. (2002).** Algae Base: documenting seaweed biodiversity in Ireland and the world. In "*Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy*", pp. 185-188.JSTOR.
- **Nicotera P, Rundgren M, Porubek DJ.Cotgreave I, Moldéus P (1989).**On the role of Ca<sup>2+</sup> in the toxicity of alkylating and oxidizing quinone imines in isolated hepatocytes ;

2(1):46-50.

- **Pandit A, Sachdeva T, Bafna P. (2011).** Drug-Induced Hepatotoxicity: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 02 (05): 233-243.
- **Person J.2010.**Livre turquoise : Algues, filière du future. *Adebiotech-Romainville*,163p.
- **Pons, G. (1997).** Traitement de la fièvre par le paracétamol, *Journal de Pédiaterie et de puériculture*, 10 : 144-149.
- **Qi H, Zhang Q, Zhao T, Hu R, Zhang K, Li Z. (2006).** In vitro antioxidant activity of acetylated and benzoylated derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16 :2441-2445.
- **Rani, A, A., S, M, J, Punitha., M, Rema. (2014).** & quot;Anti-inflammatory activity of flower extract of *Cassia auriculata*-an in vitro study.&quot; *Int. Res. J. Pharm. Appl. Sci.* 4 : 57-60.
- **Rawlins MD, Henderson DB, Hijab AR (1977).** Pharmacokinetics of paracetamol (acetaminophen) after intravenous and oral administration. *Eur. J. Clin. Pharmacol*11, 283-286.
- **Reichl FX (2004).** Guide Pratique de Toxicologie, 1<sup>ère</sup> édition, De Boeck& Larcier, Bruxelles: 03-08.
- **Reviere B. (2002).** Biologie et Phylogénie des algues. *Editions Belin.*, tome1. pp 34.
- **Ruiz G. (2005).** Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. *Thèse de doctorat, 'université de Limoges*, 230p.
- **Sakat S, Juvekar A, Gambhire M. (2010).** In vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn, *Inter J.Pharm. Pharm. Sci.*, 2 (1), pp. 146-155.
- **Seirafi, M., Iten, A., Hadengue, A. (2007).** Acetaminophen: hepatotoxicity at therapeutic doses and riskfactors. *Revue Médicinale Suisse*, 3 : 2345-9.
- **Shampa Chatterjee., (2016).** Oxidative Stress, Inflammation, and Disease, *Oxidative Stress and Biomaterials*. p: 35-58.
- **Sherif Hassan, Sanaa Abd El-Twab, Mona Hetta, Basant Mahmoud (2011).** Improvement of lipid profile and antioxidant of hypercholesterolemic albino rats by

polysaccharides extracted from the green alga *Ulva lactuca* Linnaeus. *Saudi Journal of Biological Sciences* .18, 333–340.

- **Sire O, Mangeney M, Montagne J, Nordmann R, Nordmann J (1983).** Carnitine palmitoyltransferase I. Inhibition by D-Galactosamine and role of phospholipids. *Eur. J. Biochem.*136 (2) :371–375.
- **Stefan G, Maria W, Elzbieta N, Piotr W.(2004).**Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Int Journal Mol Sciences*, 57(9-10) :453-5.
- **Sterner, O. (1999).** Chemistry, health and environnement. Allemagne: Wiley VCH. 1<sup>ère</sup>Ed.
- **Tang Yu-Qing., Kaiser Mahmood., Ruqyia Shehzadi., Muhammad Furqan Ashraf. (2016).** *Ulva Lactuca* and Its Polysaccharides: Food and Biomedical Aspects. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*.
- **Tosin A. Olasehindea Leonard V. Mabinyad Ademola O. AnthonyI(2019).**Chemical characterization of sulfated polysaccharides from *Gracilaria gracilis* and *Ulva lactuca* and their radical scavenging, metal chelating, and cholinesterase inhibitory activities. *International Journal of Food Properties*. Vol. 22, No. 1, 100-110.
- **Thompson M, Jaiswal Y, Wang I, Williams L. (2017).** Hepatotoxicity: Treatment, causes and applications of medicinal plants as therapeutic agents. *The Journal of Phytopharmacology*. 6(3): 186-193.
- **Yan, M., Huo, Y., Yin, S., Hu, H., (2018).** Mechanisms of acetaminophen-induced liver injury and its implications for therapeutic interventions. *Redox Biol.* 17, 274–283.
- **Yasuhiro M, Chieko S, Toshiharu H. (2005).** Involvement of mitochondrial permeability transition in acetaminophen-induced liver injury in mice. *Journal of Hepatology*, 42 :110–116.
- **Yoon, E., Babar, A., Choudhary, M., Kutner, M., Pysopoulos, N., (2016).** Acetaminophen induced hepatotoxicity: a comprehensive update. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 4, 131–142.
- **Zhao C., C. Yang, B. Liu, L. Lin, S.D. Sarker, L. Nahar, H. Yu, H. Cao, J. Xiao, (2018).** Bioactive compounds from marine macroalgae and their hypoglycemic benefits, *Trends Food Sci. Tech.* 72 1–12.
- **Zhao, H.; Harding, S.; Marinangeli, C.; Kim, Y.; Jones, P. (2008).** Hypocholesterolemic and anti-obesity effects of Saponins from *Platycodon grandiflorum* in hamsters fed Atherogenic

diets. *J. Food Sci.* 73, 195–200.