

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA-1



Département de Biologie des populations et des Organismes

MEMOIRE

En vue de l'obtention du Diplôme des Etudes Supérieures
En Sciences Biologiques

Option: Biochimie

Thème

L'ETUDE DU POTENTIEL PREVENTIF DE CURCUMA LONGA CONTRE LES LESIONS
HEPATIQUES PROVOQUEES PAR LE PARACETAMOL

Réalisé par: Mme Kheloufi Nassiba

Devant le jury composé de:

Mme SAADI L.	MCA	USDB	Présidente
Mme KADRI F.	MCB	USDB	Examinatrice
Mme CHEBATA N.	MAA	USDB	Promotrice

Année Universitaire 2018 -2019

Dédicace

A

Celui qu'Allah a envoyé, clémence pour l'univers,

Ultime prophète et émissaire, seigneur des aïeux et des descendants, le sincère, le vertueux ;

Mohammad l'émissaire (l'envoyé) de Allah

Que le salut soit sur lui.

Et je dédié aussi ce modeste travaille

A celle qui m'a transmis, son amour, courage et audace, puisse tu d'aussi haut que tu sois m'accompagner et prendre soin de moi, encore longtemps : A toi omi Djamila.

A ma chère promotrice, Mme chebata Nada, merci d'avoir été si patiente avec moi et de m'avoir aidée dans les moments les plus difficiles. L'ouverture de votre esprit, vos qualités humaines et vos discussions avec nous m'ont laissée une large marge de liberté qui m'a apporté une compréhension plus approfondie sur le plan scientifique et même sur la vie. Vous resterez toujours mon excellent exemple.

A mon frère Mohamed Yacine ainsi que mes sœurs Fatima -Zohra, Salma.

A tous ceux qui ma t'ont encouragé et aidé avec leur présence et leur sourire.

A tous ma famille et mes amies surtout : Rachida, Amina.

A tous ceux que ma mémoire porte et mon mémoire ne peu supporter.



NASSIBA

Remerciements

Tous d'abord je rends grâce à Allah créateur de l'univers et maître des destinées, pour avoir permis à la mienne de suivre la bonne voie, celle de la foi et du savoir, et pour m'avoir guidé et soutenu lors de l'élaboration de cet humble travail.

Mes plus vifs remerciements vont à Mme Chebata N, maître assistante à l'université SAAD DAHLEB de Blida d'avoir accepté de prendre la charge d'encadrer ce travail ainsi que pour sa compréhension, disponibilité, dévouement, honnêteté et rigueur scientifique avec qui la recherche était très fructueuse.

Je remercie Mr. Kattabi A, responsable du laboratoire de pharmacotoxicologie du SAIDAL Anti-biotique à Médéa pour leur aide, leur patience, leur disponibilité, et leur compréhensibilité. Pour tous le savoir qu'ils m'ont transmis, ainsi que les efforts considérables qu'ils ont fournis le cadre de ce soutenance.

Nous exprimons nos remerciements aux honorables membres du jury :

Mme SAADI L.	MCA	USDB	Présidente
Mme KADRI F.	MAA	USDB	Examinatrice
Mme CHEBATA N.	MAA	USDB	Promotrice

A tous les enseignants de la faculté des agronomes de SAAD DAHLEB et surtout du département de Biologie. La bonne volonté et l'esprit scientifique de ces encadreuses sont de qualité extrêmement remarquable.

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



NASSIBA

LISTES DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Structure du foie.	3
Figure 2	Unité fonctionnelle du foie	4
Figure 3	Différents types de cellules hépatiques .	5
Figure 4	Structure chimique de paracétamol	8
Figure 5	Mode d'action du paracétamol	9
Figure 6	Métabolisme du paracétamol	10
Figure 7	Mécanismes de l'hépatotoxicité par le paracétamol	12
Figure 8	Aspect morphologique de <i>Curcuma longa</i>	14
Figure 9	Divers effets thérapeutiques des curcuminoïdes du rhizome de <i>Curcuma longa</i> .	16
Figure 10	Gavage des souris par les différentes doses de l'extrait éthanolique de <i>Curcuma longa</i>	19
Figure 11	Inclusion à la paraffine	22
Figure 12	Microtome.	23
Figure 13	Organigramme résultant la démarche de l'étude	24
Figure 14	photomicrographie qui montrent la structure hépatique réalisé chez le groupe de Témoin négative T ⁻ (A1 ,A2),et chez le groupe contrôle (D1,D2) .	28
Figure 15	photomicrographie qui montrent la structure hépatique réalisé chez le groupe de Témoin négative T ⁻ (B1 ,B2),et chez le groupe contrôle (C1,C2) .	29

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
1	Valeurs nutritionnelle et énergétique pour 100g de poudre de <i>Curcuma Longa</i>	15
2	Doses de l'extrait éthanolique de <i>Curcuma longa</i> , administrées aux souris dans les différents lots.	19
3	Taux de mortalité suite à l'injection de l'extrait éthanolique de <i>Curcuma longa</i>	27
4	Effet de l'extrait éthanolique de curcuma, sur les taux sériques des transaminases chez les souris intoxiquées par le paracétamol	27

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Introduction... .. 1

Chapitre I. Synthèse Bibliographique.

1-Foie	3
1.1. Segmentation et vascularisation	3
1.2. Unité fonctionnelle.....	3
1.3. Différents types de cellules hépatique.....	4
1.4. Fonctions	4
2. Paracétamol	7
2.1. Généralités	7
2.2. Absorption et distribution	8
2.3. Mode d'action	8
2.4. Elimination	10
2.5. Mécanismes de l'hépto-toxicité par le paracétamol	11
2.6. Systèmes de défense	13
3. <i>Curcuma longa</i>	
3.1. Généralités.....	13
3.2. Description botanique.....	13
3.3. Composition chimique.....	14
3.4. Usages thérapeutiques.....	15
3.5. Toxicité.....	16

Chapitre II. Matériel et Méthodes

1. Matériel.....	17
1.1. Matériel végétal... ..	17
1.2. Matériel animal	17
2. Méthodes	
2.1. Préparation de l'extrait éthanolique.....	17
2.2. Calcul du rendement	17

2.3. Analyse pharmaco-toxicologique	18
2.3.1. Etude de la toxicité aigue de l'extrait éthanolique <i>Curcuma longa</i>	18
2.4. Evolution de l'action hépatotoxique de paracétamol après l'administration de l'extrait éthanolique de <i>Curcuma longa L.</i>.....	19
2.4.1. Protocole expérimental.....	19
2.5. Prélèvement sanguin.....	20
2.6. Dosage sanguin des transaminases.....	20
2.7. Etude histopathologique du foie	21
2.7. Traitement statistique	24

Chapitre III. Résultats et Discussions

1 .Rendement en extrait éthanolique	26
2. Analyses toxicologique	26
3. Evaluation des taux sériques des transaminases (ALAT et ASAT).....	27
4. Etude histopathologique	28
Conclusion et perspectives... ..	32
Références bibliographiques... ..	35

Résumé

Ce travail avait pour but d'évaluer l'effet hépatoprotecteur de l'extrait éthanolique du rhizome sec de *Curcuma longa* L. contre une intoxication par le paracétamol. Le rendement en extrait éthanolique, obtenu par macération à froid, est de 16.34%. Cet extrait n'a montré aucune toxicité suite à son administration par voie orale aux souris traitées. L'injection d'une dose de 40mg/Kg de paracétamol a induit une augmentation très hautement significative ($P < 0,001$), dans les taux des transaminases, notamment les ALAT avec $233,815 \pm 22,5$ UI/L et les ASAT avec $375,71 \pm 33,19$ UI/L. Chez les souris prétraitées par l'extrait éthanolique du rhizome sec, nous avons enregistré une diminution très hautement significative ($P < 0,001$) dans les taux sériques, $81,48 \pm 3,84$ UI/L et $173,91 \pm 32,45$ UI/L pour les ALAT et les ASAT, respectivement. L'étude histologique a révélé la présence de lésions hépatiques remarquables telles que: la dilatation et la congestion de la veine centro-lobulaire, des infiltrations des neutrophiles, des stéatoses et des foyers de nécrose, chez les souris traitées par le paracétamol. Par contre, les foies des souris prétraitées par l'extrait éthanolique de curcuma, ont montré une structure hépatique normale sans nécrose, ni stéatose ou infiltration de neutrophile.

Mots clés: hépatotoxicité, paracétamol, *Curcuma longa*, transaminases, lésions hépatiques, hépatoprotection.

INTRODUCTION

Le foie est le centre de la majorité des fonctions de l'organisme. Il a un rôle primordial dans le métabolisme des molécules endogènes et exogènes telles que la détoxification et l'élimination des xénobiotiques. Ces composés regroupent des produits naturels, des polluants de l'environnement et des médicaments comme le paracétamol (PCM) (Poirier et al., 1975). Ce dernier, a été développé en 1893 par Von Mahring et commercialisé en 1949 (Botting, 2000). C'est l'antalgique et l'antipyrétique le plus utilisé dans l'automédication. La prise de ce médicament, à long terme ou même une surdose à court terme, est accompagnée de risques de cytolysse hépatique. Aux États-Unis, le paracétamol est responsable d'environ la moitié des cas d'insuffisance hépatique aiguë (Mitchel et al., 2011)

L'hépatotoxicité par le PCM est attribuée à son métabolite très réactif, le N-acétylpara-benzoquinone-imine (NAPQI) qui à grande concentration, épuise les réserves du glutathion. Ceci engendre la formation des adduits protéiques (Reid et al., 2005), la peroxydation lipidique (Favier, 2003), l'inflammation (Kim et al., 2010) et l'altération de la perméabilité mitochondriale (Reid et al., 2005). Ces événements conduisent à la mort hépatocellulaire par nécrose.

La N-acétylcystéine (NAC) est un antidote dérivé de la cystéine, fréquemment utilisée lors de l'intoxication par le PCM (Katzung, 2006). Néanmoins, cette molécule présente des effets secondaires tels que l'hypotension (Larocque, 2013). C'est pourquoi, la recherche des composés d'origine naturelle dotés d'une activité hépatoprotectrice, sans effets indésirables a fait l'objet de nombreuses recherches.

En effet, plusieurs extraits de plantes médicinales, testés contre l'hépatotoxicité induite par le paracétamol, se sont avérés être des agents hépatoprotecteurs prometteurs dans les applications pharmaceutiques (Pandy et al., 2012; Liu et al., 2011).

Curcuma longa est l'une des plantes riches en métabolites secondaires et est largement utilisée en phytothérapie traditionnelle (Fournier, 2010). Les études antérieures ont montré que cette espèce possède des activités biologiques importantes telles que l'activité antibactérienne (Vardar-Ünlü et al., 2008), anti-inflammatoire (Karawya et al., 2010) et antioxydante (Warnant et al., 2004).

Debbache et al. (2014), ont pu élucider l'activité anti-péroxydation lipidique *in vitro*. Ces memes auteurs indiquent que la peroxydation lipidique est l'un des principaux mécanismes de l'hépatotoxicité. De ce fait, l'évaluation de l'effet anti-péroxydation lipidique *in vivo* de cette plante pourrait protéger le foie contre une éventuelle hépatotoxicité.

L'objectif de ce travail est d'évaluer *in vivo* l'effet préventif et hépatoprotecteur de l'extrait éthanolique de *Curcuma longa* contre une intoxication induite par le paracétamol chez la souris.

chapitre I

Revue Bibliographique

1. Foie

Le foie est l'organe viscéral le plus volumineux du corps humain. C'est une glande abdominale unique et asymétrique appartenant au système digestif de couleur rouge brun (Fig1). Il est situé dans la partie supérieure droite de l'abdomen, dans la zone appelée hypochondre droit, juste sous la cage thoracique et le diaphragme (**Flament et al., 1982**).

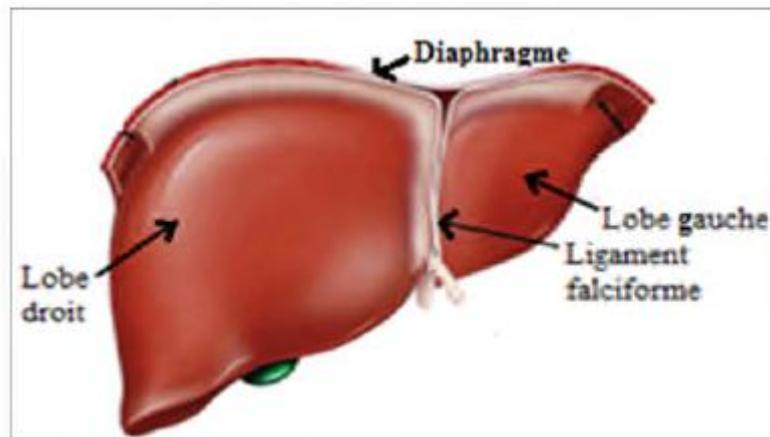


Figure1. Structure du foie (**Abdel-Misih et Bloomston, 2010**).

1.1. Segmentation et vascularisation

Le foie est divisé, grâce au ligament falciforme, en deux lobes. Un grand lobe hépatique droit et un plus petit lobe gauche, avec une subdivision en 4 segments pour chacun. C'est l'un des organes les plus densément vascularisés du corps humain. Il contient environ 25 % du volume sanguin total du corps (**Abdel-Misih et Bloomston, 2010**).

1.2. Unité fonctionnelle

Le foie est formé d'un grand nombre de lobules hépatiques constituant son unité fonctionnelle (Fig. 2). Sur des préparations en coupe, les lobules hépatiques apparaissent ordonnés en prismes polygonaux. A chaque angle de ces prismes, trois lobules rentrent en contact, c'est la zone appelée «espace porte» au niveau duquel on distingue l'artère hépatique, une branche de la veine porte et un petit canalicule biliaire. Ce réseau alimente, à chaque fois, trois lobules (**Menche, 2006**). Ces derniers, sont constitués majoritairement d'hépatocytes qui forment des

lames hépatocytaires anastomosées. Chaque lame est en contact avec des capillaires sinusoides par l'intermédiaire d'un espace de Diss (**Poirier et al., 1975**).

Le sang artériel se mélange avec le sang de la veine porte dans les capillaires sinusoides qui représentent la zone d'échange avec les hépatocytes et qui se dirigent vers le centre du lobule. Au centre du lobule, ces capillaires se jettent dans la veine centro-lobulaire par laquelle le sang quitte finalement le lobule pour rejoindre la veine cave inférieure, juste en-dessous du diaphragme (**Menche, 2006**).

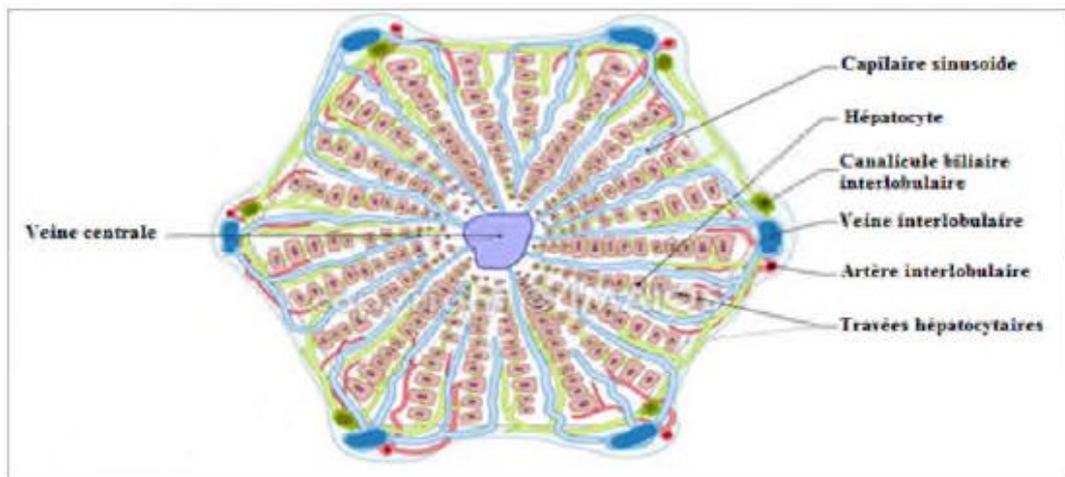
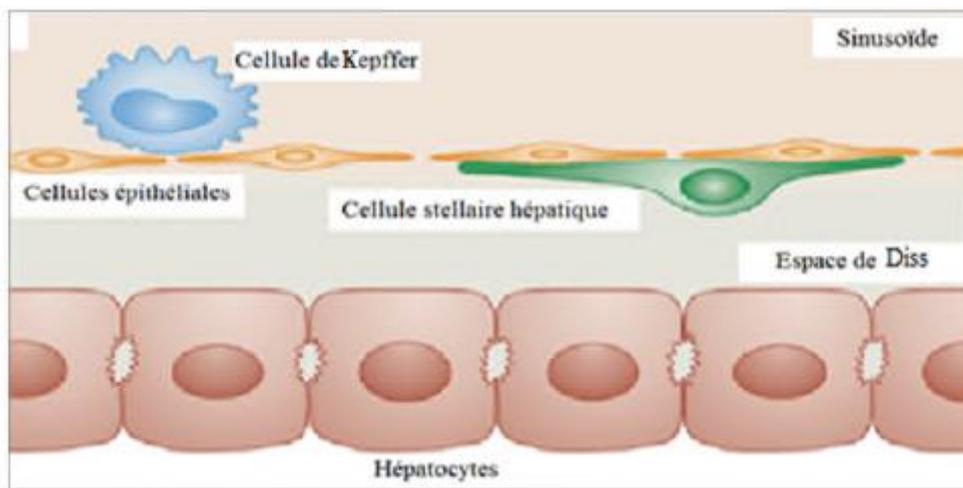


Figure 2. Unité fonctionnelle du foie (**Tortora et Derrickson, 2009**).

1.3. Différents types de cellules hépatiques

La structure du foie est composée de 60 % de cellules parenchymateuses représentant les hépatocytes (Fig. 3) et 40 % de cellules non parenchymateuses dont les cellules sinusoidales, les cellules de Kupffer, les cellules stellaires, les cellules cholangiocytes (**Rosenbaum et al., 1991**) et les cellules ovaies (**Laperche, 2003**)



1.4. Fonctions du foie

Le foie est considéré comme l'un des principaux régulateur de l'organisme. Il intervient dans trois grandes fonctions indispensables: le métabolisme, le stockage et l'épuration (**Poirier et al., 1975**).

1.4.1. Métabolismes

❖ Glucides

Le foie constitue le site principal de la glycogénolyse, la glycogénogenèse et la néoglucogenèse. Ainsi, il permet de maintenir une glycémie à un taux fixe quels que soient les apports (**Poirier et al., 1975**). De plus, il est le seul organe qui peut convertir le fructose et le galactose en glucose (**Menche, 2006**).

❖ Protéines

Il utilise les acides aminés pour la synthèse des protéines plasmatiques telles que l'albumine (**Menche, 2006**), la transferrine, la céruloplasmine, les protéines de l'inflammation, les protéines de la coagulation et les apolipoprotéines A, B, C, E. En outre, il est le lieu principal de la dégradation des bases pyrimidiques (**Poirier et al., 1975**).

❖ Lipides

Les lipides peuvent être stockés dans le foie sous forme de triglycérides ou décomposés en fonction des besoins produisant des acides gras libres qui subiront la β oxydation. Cette dernière conduit à l'accumulation de l'acétyl-CoA (acétyl coenzyme A) dans l'hépatocyte et génère également des corps cétoniques (**Menche, 2006**).

Le foie est le site de synthèse du cholestérol dont l'étape limitante est catalysée par l'enzyme 3-hydroxyl-3-méthylglutaryl-coenzyme A réductase (HMG CoA réductase). Ce stérol est transporté grâce aux lipoprotéines HDL (High density lipoprotein), LDL (Low density

lipoprotein) et VLDL (Very low density lipoprotein) qui sont également synthétisées par le foie (**Marieb, 2008**).

❖ **Production des acides biliaires**

Les sels biliaires sont synthétisés exclusivement dans les hépatocytes lors de la dégradation du cholestérol. Ils fonctionnent comme détergent en facilitant la digestion des lipides et leur absorption par l'intestin. De nombreuses enzymes localisées dans différents compartiments sous-cellulaires d'hépatocytes interagissent dans la conversion du cholestérol en acides biliaires, dont l'enzyme limitante est la 7 α -hydroxylase (**Marieb, 2008**).

1.4.2. Stockage des minéraux et des complexes vitaminiques

En plus d'emmagasiner le glycogène, le foie stocke certaines vitamines (A, B, D, E, K) et certains minéraux (cuivre et fer):

➤ Environ 90 % de la vitamine A hépatique sont contenus dans les granules lipidiques des cellules stellaires sous forme d'ester de rétinol (**Rosenbaum et al., 1991**).

➤ La vitamine E servira comme antioxydant protecteur contre les radicaux libres en protégeant les acides gras polyinsaturés de la peroxydation lipidique (**Pincemail et al., 1998**).

➤ Le foie contient 57 % du cuivre total à la naissance et 17 % à l'âge adulte; ce cuivre se trouve lié à une protéine appelée ceruloplasmine. Il stocke aussi 20 à 30 % du fer de l'organisme sous forme liée à la ferritine dans le cytoplasme des hépatocytes et des cellules de Kupffer (**Poirier et al., 1975**).

1.4.3. Epuration

❖ **Dégradation de l'ammoniac**

La dégradation des acides aminés dans les tissus périphériques produit un métabolite toxique, l'ammoniac. Celui-ci se combine au glutamate pour former la glutamine qui véhicule l'ammoniac jusqu'au foie. Cela permet l'élimination de l'ammoniac en le transformant en urée qui sera excrétée dans l'urine (**Marieb, 2008**).

❖ **Métabolisme des médicaments**

C'est la biotransformation des médicaments qui sont généralement des produits liposolubles en un ou plusieurs autres composés hydrosolubles actifs ou inactifs. Ceci est

réalisé principalement dans le foie, au niveau du réticulum endoplasmique lisse hépatocytaire (**Poirier et al., 1975**). En général, il passe par trois phases:

Phase I: comprend des réactions de modifications structurelles y compris l'oxydation, la réduction et l'hydrolyse. Cette phase a pour but de convertir les médicaments en métabolites plus polaires facilement excrétés par les reins ou le système biliaire. L'oxydation des médicaments est catalysée par deux grandes familles d'enzymes, à savoir le cytochrome P450 (CYP 450: CYP3A4, 3A5, 2Cs, 1A2, 2E1, 2A6, 2D6 et CYP2B6) ainsi que les mono-oxygénases à flavine (FMO) représentés par FMO 3. Ces enzymes métabolisent environ 90 % des médicaments. Le CYP 3A4 étant le plus important, permet le métabolisme de plus de 50 % des médicaments (**Yeung et al., 2014**).

Les métabolites résultant de la phase I peuvent être facilement excrétés s'ils sont rendus suffisamment polaires.

Phase II: elle implique la conjugaison des métabolites de la phase I avec des molécules endogènes fortement polaires qui augmentent la solubilité du médicament telle que l'ajout de l'acide glucuronique, les sulfates, certains acides aminés (glycine, glutamine, ornithine) ou le glutathion. Dans cette phase, il y a trois familles d'enzymes: les sulfotransférases, les UDP-glucuronosyl transférases (UGT) et les glutathion-Stransférases (GST) (**Mitchell et al., 2011**).

Phase III: englobe des transporteurs du côté basolatéral et apical des hépatocytes tels que les transporteurs biliaire P-gp (P-glycoprotéine). Ces derniers sont des systèmes de transport actifs qui excrètent les xénobiotiques dans la bile ou le sang. Cette excrétion permet ainsi une élimination rénale, fécale ou un cycle entéro-hépatique (**Mitchell et al., 2011**).

2. Paracétamol

2.1. Généralités

Le paracétamol aussi dénommé acétaminophène ou 4-hydroxyacetanilide est un médicament analgésique antipyrétique indiqué dans le traitement de la fièvre et des douleurs d'intensité faible à modérée.

Ce médicament est le plus vendu mondialement. Il est commercialisé seul ou en association dans de multiples spécialités pharmaceutiques telles que Doliprane®, Dafalgan® et Efferalgan® (**Katzung, 2006**).

C'est un dérivé phénolique comportant un cycle benzénique substitué par un groupement hydroxyle et un groupement acétamide en position *para* (Fig. 4).

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

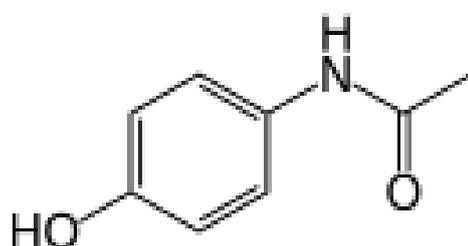


Figure 4. Structure chimique de paracétamol (**Reichl, 2004**).

2.2. Absorption et distribution

Comme le paracétamol possède un pKa proche de 9,5, il est sous forme non ionisée, au niveau du tube digestif, ce qui facilite son absorption qui atteint 88 % pour la majorité des formes galéniques (**Katzung, 2006**).

Le paracétamol diffuse rapidement et très largement dans les compartiments liquidiens (sang, liquide céphalorachidien, salive) et tissus de l'organisme particulièrement dans le foie et le rein. Le volume de distribution est de 0,9 à 1,0 L/kg. Il est très faiblement lié aux protéines plasmatiques notamment l'albumine (5 à 20 %). La concentration plasmatique maximale est atteinte en 30 à 60 minutes après ingestion avec une fourchette de 10 à 20 mg/L. Son effet apparaît 20 minutes après sa prise et dure environ 4 heures avec une demi-vie d'élimination de l'ordre de 2 heures (**Katzung, 2006**).

2.3. Mode d'action

Le paracétamol agit principalement au niveau du système nerveux central (fig. 5) en exerçant un effet antalgique et antipyrétique (**Botting, 2000**).

Selon **Hogestatt et al. (2005)**, les effets antalgique et antipyrétique proviennent de la métabolisation hépatique du paracétamol par dés-acétylation en p-aminophénol. Cette substance passe dans le sang et arrive au cerveau où elle se conjugue avec l'acide arachidonique grâce à l'hydrolase des amides d'acide gras (FAAH: Fatty acid amide hydrolase) afin de produire le N-arachidonoyl phénolamine (AM404).

Ce dernier est la forme pharmacologiquement active du paracétamol car il inhibe la cyclooxygénase centrale (COX) en empêchant la transformation de l'acide arachidonique en prostaglandine, un médiateur central de la douleur et de la fièvre (**Botting, 2003**).

En outre, le AM404 est un agoniste du récepteur TRPV1 (Transient receptor potential vanilloid 1) situé à la surface des neurones sensitifs et impliqué dans la modulation de la douleur (**Barrière et al., 2010**). Par ailleurs, c'est un ligand du récepteur cannabinoïde CB1 et un inhibiteur de la recapture cellulaire des endocannabinoïdes comme l'anandamide. Ces molécules endogènes sont capables de moduler le message nociceptif au niveau central via le récepteur CB1 (**Hogestatt et al., 2005**).

Enfin, le paracétamol renforce le système sérotoninergique central conduisant à une libération de sérotonine au niveau médullaire et l'activation des récepteurs sérotoninergiques spinaux, ce qui inhibe la transmission du message douloureux (**Barrière et al., 2010**).

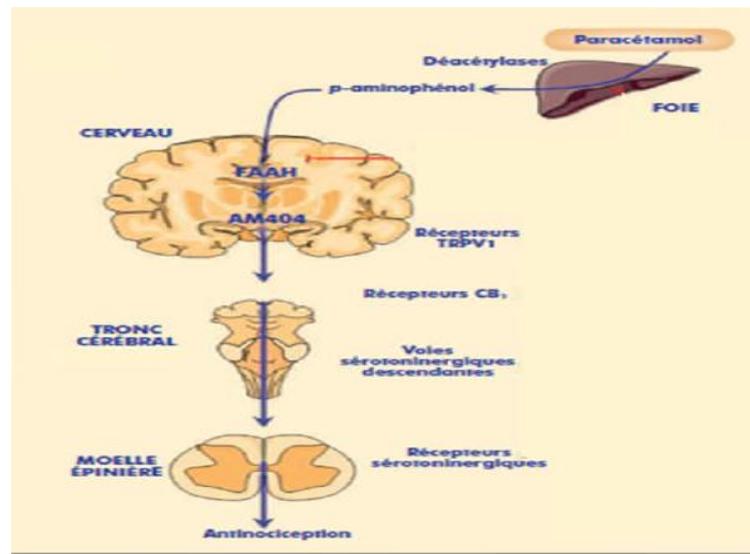


Figure 5. Mode d'action du paracétamol (Barrière et al., 2010). FAAH: Fatty acid amide hydrolase, AM404: N-arachidonoyl phénolamine, Récepteur CB1: récepteur cannabinoïde 1, TRPV1: Transient receptor potential vanilloïd

2.4. Elimination

Pour être éliminé, le paracétamol est métabolisé par le foie au niveau des hépatocytes (Fig. 6). A dose thérapeutique, une grande fraction subit des conjugaisons, à savoir la sulfo- (20-46 %) et la glucurono-conjugaison (40-67 %) sous l'action respectivement de deux sulfotransférases (SULT1A1 et SULT1A3), et de l'uridine 5'-diphospho- glucuronyltransférase (Bellier, 2011). Une fraction minime sera oxydée via le cytochrome P450 (principalement le CYP 2E1, mais aussi les isoformes CYP 1A2 et CYP 3A4) en un intermédiaire électrophile hautement réactif et toxique: le N-acétyl p-benzoquinone-imine (NAPQI).

Celui-ci produit en quantité infime à dose thérapeutique, est détoxifié par conjugaison au glutathion hépatique via le glutathion-S-transférase donnant lieu à des conjugués de mercaptate, et de cystéine qui seront éliminés dans les urines (Meister et Anderson, 1983). En cas de surdosage, une grande quantité de paracétamol sera oxydée en NAPQI alors qu'une minorité subira une conjugaison ce qui abaisse son niveau d'élimination induisant ainsi des dommages et des nécroses hépatiques centro-lobulaires (James et al., 2003).

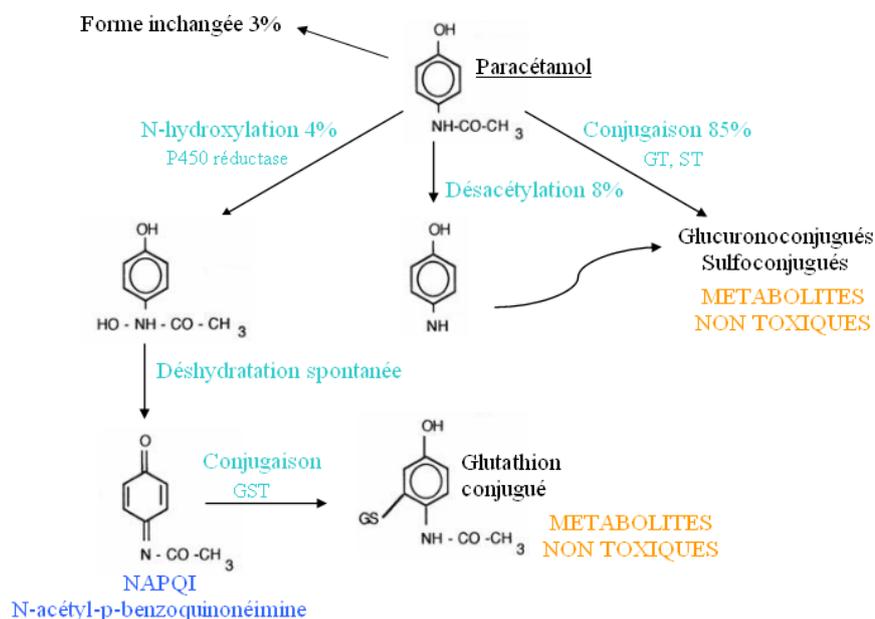


Figure 6. Métabolisme du paracétamol (James et al., 2003).

2.5. Mécanismes de l'hépatotoxicité par le paracétamol

L'expression de l'hépatotoxicité par le paracétamol est le résultat de plusieurs événements tels que la formation des adduits protéiques, la transition de la perméabilité mitochondriale, la peroxydation lipidique et l'inflammation (fig. 7).

✓ Formation des adduits protéiques

A dose toxique, une grande quantité du paracétamol sera transformée en NAPQI, ce qui conduit à l'épuisement du glutathion hépatique. Cependant, le NAPQI se liera de façon covalente au groupe sulfhydryle des protéines pour former des adduits protéiques 3-(cystéine-S-yl)-acétaminophène. Ces adduits se produisent uniquement au niveau des cellules hépatiques centrolobulaires, conduisant à la perturbation des structures et fonctions des protéines hépatiques (Reid et al., 2005).

Ainsi, le NAPQI induira un déséquilibre de l'homéostasie calcique par inhibition de la pompe $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ ATPase, ce qui est à l'origine de l'augmentation des niveaux cytosoliques de Ca^{2+} qui mènent à l'activation des protéases intracellulaires dépendantes de Ca^{2+} comme les calpaïnes. Ces enzymes peuvent cliver des protéines de structure à l'intérieur de la cellule et

Contribuer à la nécrose. Une autre conséquence de la perturbation intracellulaire de l'homéostasie de Ca^{2+} est l'accumulation de Ca^{2+} dans le noyau et l'activation d'une endonucléase $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ dépendante (DNAS1L3) responsable de la fragmentation de l'ADN (Figure 7) (**Jaeschke et Bajt, 2006**).

✓ **Transition de la perméabilité mitochondriale**

La transition de la perméabilité mitochondriale (MPT) est un autre phénomène de l'hépatotoxicité par le paracétamol. Il a été montré que les oxydants tels que les peroxydes et peroxy-nitrites ainsi que le Ca^{2+} favorisent la MPT. Cette dernière est caractérisée par un changement de la perméabilité de la membrane mitochondriale interne, la formation de pores dénommés PTPM (pores de transition de la perméabilité mitochondriale) et le découplage de la phosphorylation oxydative favorisant ainsi la diminution du potentiel membranaire et de la synthèse d'ATP (**Reid et al., 2005; Hinson et al., 2010**).

✓ **Peroxydation lipidique**

Lors de l'intoxication par le paracétamol, le glutathion est en pénurie à cause de l'excès de NAPQI. Ainsi, la glutathion peroxydase qui nécessite le GSH comme cofacteur ne sera plus fonctionnelle et ne pourra plus détoxifier le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) formé à partir du super oxyde oxydant via la réaction de Fenton qui générera le radical hydroxyle ($\text{OH}\cdot$) (**Hinson, 2010**).

Ce dernier oxyde un acide gras polyinsaturé (LH), formant un radical lipidique ($\text{L}\cdot$) qui réagit avec une molécule de dioxygène pour produire un radical peroxyde ($\text{LOO}\cdot$). Celui-ci attaque un autre acide gras polyinsaturé pour former un produit primaire: l'hydroperoxyde (LOOH) qui, sous l'action des métaux (Fe^{2+}), formera des radicaux alkoxydes ($\text{LO}\cdot$) et hydroxyles ($\text{HO}\cdot$) (Figure 8). Enfin, des phases terminales de dégradation conduiront à des aldéhydes, parmi eux le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE). Ces produits terminaux peuvent être mesurés dans le plasma en tant que biomarqueurs du stress oxydant (**Michel et al., 2008**).

Comme conséquence, la peroxydation lipidique peut créer des altérations de la membrane telles que la modification de sa fluidité, mais aussi l'inactivation de récepteurs, d'enzymes et de la voie de transduction des signaux (**Favier, 2003**).

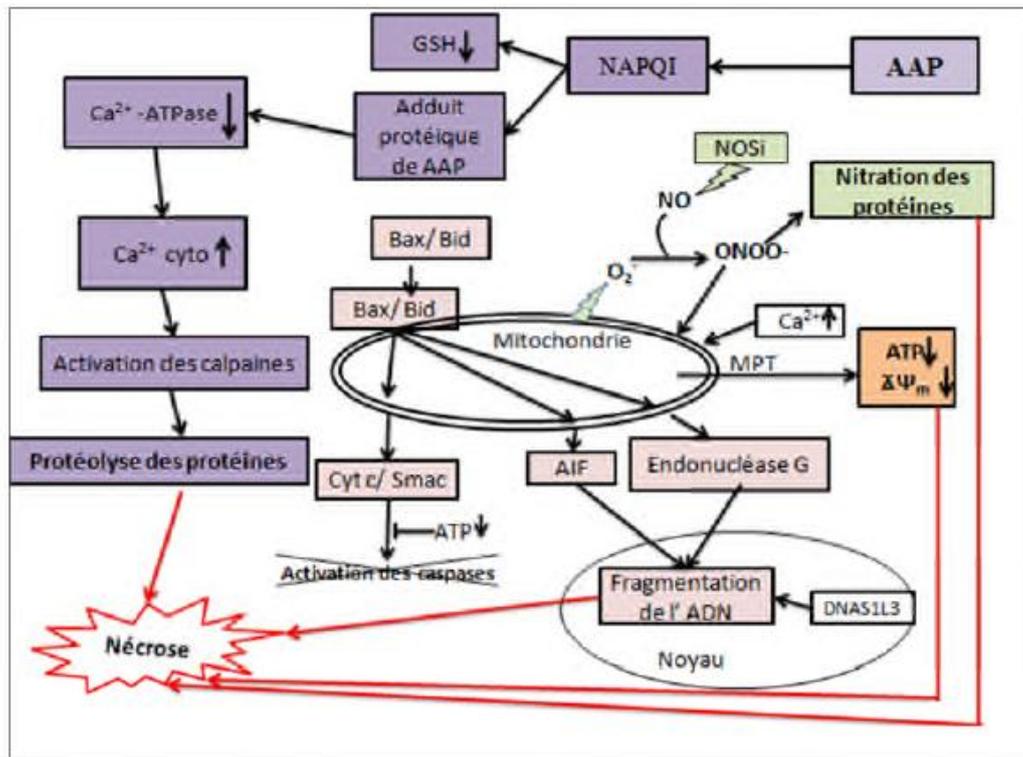


Figure 7. Mécanismes de l'hépatotoxicité par le paracétamol (Jaeschke et Bajt, 2006).

AAP: Acétaminophène , **NAPQI:** N-acétyl p-benzoquinone-imine , **GSH:** Glutathion réduit, **Ca²⁺cyto:** Calcium cytosolique , **Ca²⁺-ATPase:** Pompe calcium, **Bax:** Bcl-2 associated X protein, **Bid:** BH3 interacting death domain agonist, **Cyt c:** Cytochrome c , **Smac:** Second mitochondrial activator of caspase , **ATP:** Adénosine triphosphate , **AIF:** Facteur d'induction d'apoptose, **DNAS1L3:** Endonucléase Ca²⁺/Mg²⁺ dépendante; **MPT:** Transition de la perméabilité mitochondriale, **ΔΨ_m:** Potentiel membranaire, **NO:** Oxyde nitrique, **ONOO⁻:** Peroxynitrite, **NOSi:** Oxyde nitrique synthase inductible.

2.6. Système de défense

Pour faire face à l'hépatotoxicité induite par le paracétamol, la cellule développe des systèmes de défense d'origine endogène (enzymatique et non enzymatique) ou de provenance exogène (les vitamines, terpènes, alcaloïdes, polyphénols). Ce sont les antioxydants. Ces antioxydants sont des substances susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène et du nitrogène ces antioxydants sont trouver principalement dans plusieurs plante qui contiennent des composants des valeurs thérapeutiques (Favier, 2003).

3. *Curcuma longa*

3.1. Généralités

Le terme de curcuma est d'origine irano-indienne. Il dérive du sanscrit *Kartouma* qui a donné *kurkum* en persanancien, *kourkoum* en arabe et *curcuma* en latin (Delaveau, 1987).

C'est une plante vivace appartenant à la famille *Zingiberaceae*. Le rhizome est la partie utilisée de la plante en tant qu'épice alimentaire, conservateur, et comme colorant des aliments et des textiles. on l'utilise aussi depuis des siècles en médecine traditionnelle indienne et chinoise (Sikha et al., 2015).

La couleur jaune caractéristique de la poudre de rhizome est donnée par les curcuminoïdes dont la curcumine, qui est la molécule la plus abondante et la plus étudiée. Elle a été isolée pour la première fois en 1815 et obtenue sous forme cristalline en 1870 (Huet et Fleurentin, 2013).

Il est parfois qualifié de safran indien, ou safran des pauvres, bien qu'il soit très éloigné tant sur le plan botanique que sur le plan organoleptique du « vrai » safran issu de *Crocus sativus* (Lecerf, 2012).

Cette espèce est également utilisée depuis de longues années en médecine traditionnelle, notamment en Inde ayurvédique (Huet et Fleurentin, 2013).

3.2. Description botanique

Selon Loap (2008), *Curcuma longa* est une grande plante herbacée, vivace, robuste, qui pousse sous tous les climats tropicaux, pouvant atteindre 1, 50 m de haut. Les feuilles vertes lancéolées, longues mesurant 50 cm de long, engainées à leur base et présentant une extrémité en pointe (fig. 8a). Les fleurs jaune pâle regroupées en un épi apical cylindrique (fig. 8b).

Le rhizome (partie active) peut être globuleux, ou cylindrique et ramifié (fig. 8b), Sa surface externe est gris-jaune, marquée par la cicatrice des racines. La section est franche et finement granuleuse, variant du jaune à l'orange sombre .



Figure 8. Aspect morphologique de *Curcuma longa* (Gaurisankar et Tanya, 2008),
a: appareil végétatif; **b:** inflorescence; **c:** rhizome.

3.3. Composition chimique

Le tableau 1, résume la valeur nutritionnelle et énergétique calculée pour 100 g de poudre de rhizome de *Curcuma longa* L.

Tableau 1. Valeurs nutritionnelle et énergétique pour 100g de poudre de *Curcuma Longa* (Dohare et Garg, 2008).

Energie	354kcal	Minéraux		Vitamines	
L'eau	11,4 g	Calcium	183 mg	Vit B1	0,15mg
Protéine	7,8 g	Magnésium	193 mg	Vit B2	0,23 mg
Lipide	9,9 g	Phosphore	268 mg	Vit B3	5,14 mg
Glucide	64,9 g	fer	41,4 mg	Vit B6	1,80 mg
Fibre	21,1 g	zinc	44 mg	Vit B9	39 mg
Omega 9	3,12 g	Potassium	2525 mg	Vit C	26 mg
Omega 3	0,48 g	Manganèse	7,8 mg	Vit E	3,1 mg
Omega 6	1,69 g	Cuivre	603 mg	Vit K	13 ,4mg

Selon les mêmes auteurs, outre ces constituants, le rhizome de curcuma renferme de l'huile essentielle (2 à 7%) de couleur rouge orangée et légèrement fluorescente. Les principaux constituants de cette huile sont un sesquiterpène, zingiberène (25%) et ses dérivés cétoniques: la turmérone (35%) et l'arturmérone (dehydroturmérone) (12%). Elle se compose, également en petites quantités de monoterpènes oxygénés, associés à de petites quantités de sesquiterpènes hydrocarbonés et de monoterpènes hydrocarbonés.

Bruneton (2008), mentionne la présence d'oléorésine (principes amer et colorants) dont 60% de curcumine I, 24% monodesmethoxycurcumin (curcumine).

3.4. Usages thérapeutiques

C'est à la curcumine, l'un de ses principaux composants actifs, que le curcuma doit la plus grande partie de ses effets bénéfiques pour la santé (**Mascolo et al., 1989**).

Le curcuma est un puissant antioxydant, quatre fois plus fort que la vitamine E, qui apporte une protection efficace contre les dommages cellulaires occasionnés par les radicaux libres (**Govindajan, 1982**).

Grâce à la curcumine, il peut limiter la progression des cellules cancéreuses en provoquant le phénomène d'apoptose, c'est-à-dire le suicide des cellules malignes. En effet, l'effet thérapeutique de ces propriétés a été démontré sur les cancers de l'estomac, de l'intestin, du

côlon, du foie de même que sur les cancers de la peau, voire du sein (Yogeshwer et Madhulika, 2006). Il a la capacité de faire baisser le taux de mauvais cholestérol.

Il est particulièrement préconisé pour le traitement de divers troubles inflammatoires: soulagement des douleurs arthritiques, rhumatismales, traitement de diverses inflammations cutanées ou ophtalmologiques (Mascolo et al., 1989)

Des études ont montré l'effet de la curcumine contre la toxicité hépatique lors de l'utilisation du tétrachlorure de carbone (CCL4) et le galactosamine et l'acétaminophène (paracétamol) pour induire une cyto-toxicité chez les rats (Hikinon et al., 1985)

D'après Badreldine et al. (2007), le curcuma se révèle efficace comme fébrifuge, antiseptique, analgésique, antispasmodique, Apéritif et expectorant.

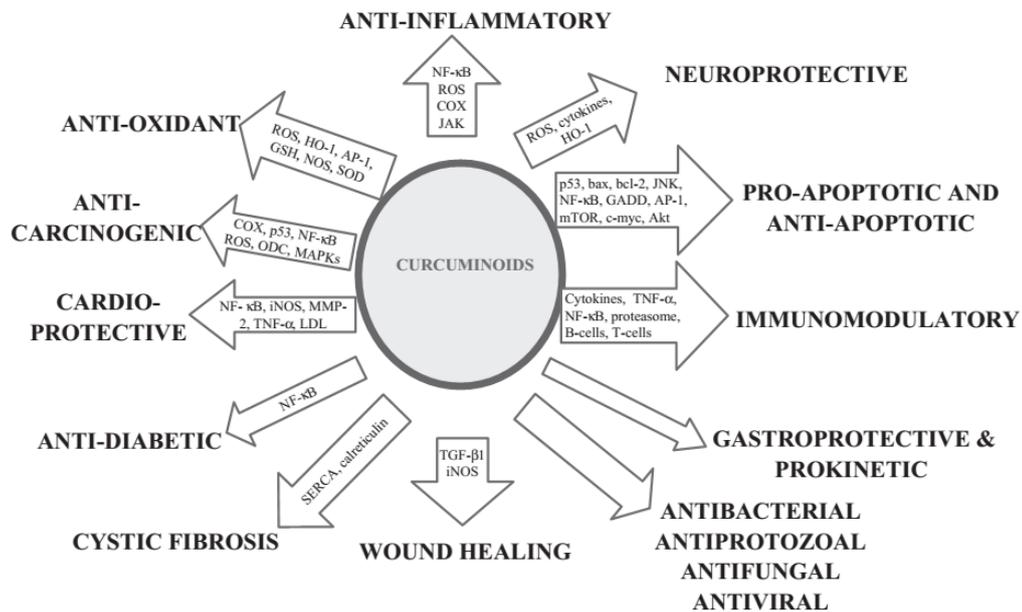


Figure 9. Divers effets thérapeutiques des curcuminoïdes du rhizome de *Curcuma longa*.

3.5. Toxicité

Aucun effet toxique majeur n'a été répertorié avec des doses orales allant jusqu'à 8 g/jour, à part quelques troubles gastro-intestinaux du type diarrhées et nausées, s'amendant spontanément sans interruption du traitement. Enfin quelques rares cas de dermatite allergique de contact ont été répertoriés (**Bernard et al., 2005**).

Chapitre II

Matériels et Méthodes

Notre expérimentation a été déroulée au niveau de la filiale ANTIBIOTICAL de l'entreprise de fabrication des produits pharmaceutiques du groupe SAIDAL à MEDEA, durant une période de quatre mois, allant de Mars jusqu'au mois de Juin 2011.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des rhizomes secs de curcuma (*Curcuma longa* L.) Importé de la Chine. Ils ont été achetés chez un herboriste à Médéa, et broyés à l'aide d'un moulin.

1.1.2. Matériel animal

Afin de réaliser l'étude toxicologique, nous avons utilisé 60 Souris saines de race Swiss Albinos, souches NMRI (Naval Medical Research Institute), mâles et femelles, ayant un poids qui varie entre 22-30 g avec une moyenne d'âge (6 ± 2) semaines.

Ces animaux proviennent du centre d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger et l'expérimentation a été réalisée au niveau du Laboratoire de Pharmacotoxicologie Animale de SAIDAL à Médéa.

Afin de respecter leur cycle biologique, les animaux ont été mis sous des conditions de température ambiante de (25 ± 2) °C et 60-70 % d'humidité avec un cycle 12/12h (lumière/obscurité). Les souris ont été nourries à volonté avec l'aliment à bouchon et l'eau de robinet.

1.2. Matériel non biologique

Appareils et dispositifs dont : Agitateur mécanique, étuve, verreries,.....et d'autres dont sont détaillés dans l'annexe.

2. Méthodes

2.1. Préparation de l'extrait éthanolique

L'extrait éthanolique est préparé selon la méthode d'extraction solide/liquide en utilisant l'éthanol comme solvant, selon le protocole de SAIDAL, Médéa.

Mode opératoire

1000 g de poudre curcuma sont macérés dans de l'éthanol 96 % avec un rapport de 1:6 (P/V). Le mélange est agité pendant 2h sur un agitateur mécanique ensuite laissé macérer pendant 24h à l'obscurité. Le surnageant récupéré est centrifugé à 3000 g/10 minutes puis

Transféré dans un cristallisateur et laissé séché à l'étuve à 40°C et l'abri de la lumière jusqu'à évaporation totale du solvant. L'extrait sec a été conservé à -20°C jusqu'à utilisation.

Ce l'extrait sec est reconstitué dans l'eau distillée, la solution aqueuse obtenue a été utilisée dans l'étude toxicologique et dans l'évolution du potentiel préventif contre l'hépatotoxicité du paracétamol (tableau 2).

2.2 .Calcul du rendement

Selon AFNOR(2000), le rendement est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la biomasse végétale, il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$R\% = \frac{MH}{Mv} \times 100$$

Où:

R: rendement extrait sec

MH: masse de l'extrait (g).

Mv: masse de la matière végétale (g).

2.3. Analyse pharmaco-toxicologique

2.3.1. Etude de la toxicité aiguë du *Curcuma longa*

Principe

L'étude toxicologique consiste à déterminer la dose létale médiane (DL50), qui est déterminée après un temps d'application donné (**Laurent et al, 2005**).

Selon la pharmacopée, Un essai limite peut être effectué sur des rongeurs (souris) en administrant, par gavage, une dose unique du produit à tester. Nous observons pendant 15 jours les cas de mortalité.

Mode opératoire

42 souris réparties en 7 lots de 6 souris/lot, sont mises à jeun pendant 16 heures avant l'expérimentation, selon la méthode **Up and down**, qui consiste à administrer (fig.10), des doses importantes allant de 5,5 à 7,3 g/kg avec un pas de 0,3g de l'extrait éthanolique de curcuma.

Tableau 2. Doses de l'extrait éthanolique de *Curcuma longa*, administrées aux souris dans les différents lots.

Lots	Doses g/kg	Nombre de souris
1	5,5	6
2	5,8	6
3	6,1	6
4	6,4	6
5	6,7	6
6	7	6
7	7,3	6



Figure 10. Gavage des souris par les différentes doses de l'extrait éthanolique de *Curcuma longa*

2.4. Evolution de l'action hépatotoxique du paracétamol

2.4.1. Protocole expérimental

Durant cette étude nous avons provoqué des lésions hépatique *in vivo* chez un groupe de souris, par le paracétamol à une dose de (4mg/kg), selon (Reichl, 2004).

Les souris sont privées de la nourriture une heure avant chaque gavage et ont eu accès une heure après. Les lots sont répartis comme suit:

Lot Témoin négatif (T⁻): le régime alimentaire ne subi aucun changement.

Lot Témoin positive (T⁺): les souris reçoivent quotidiennement 0,5ml d'une solution de paracétamol à une concentration de 4mg /ml, par voie péritonéale. 1 heure après, les animaux reçoivent de l'eau physiologique trois fois par jour pendant 15 jours.

Lot Essai (E): constitué de souris ayant déjà reçu une dose de l'extrait éthanolique de *Curcuma longa*, pour lesquelles 0,5ml de la solution de paracétamol (4mg /kg) sont injectés.

Lot Contrôle (C): les souris reçoivent par gavage, 7,3 g /kg l'extrait éthanolique pendant 15 jours.

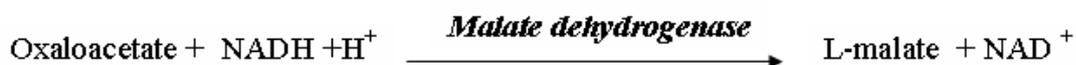
2.5. Prélèvements sanguins

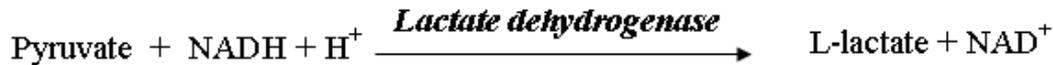
Juste avant les sacrifices, le sang est prélevé au niveau de l'œil par ponction dans le sinus retro-orbital et mis dans des tubes secs à température ambiante. Ces prélèvements sont effectués sur des souris à jeun à la fin de l'expérimentation. Une heure après, le sang est centrifugé à 6000 tours/minute pendant 15 minutes. Le sérum est récupéré pour les dosages biochimiques des transaminases (ALAT et AST).

2.6. Dosage sanguin des transaminases

Le dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT) et de l'alanine aminotransférase (ALAT) a été réalisé au niveau des établissements publics de santé de proximité (EPSP) de Médéa, par la méthode du dosage enzymatique couplé selon la fiche technique du Kit SPINREACT (Espagne)..

Les transaminases (ou amino-transférases) 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 α -cétonique. Il existe 2 transaminases dont le coenzyme est la vitamine B6 (phosphate de pyridoxal) AST et ALAT. L'évaluation quantitative des transaminases dans le sérum est réalisée en utilisant des kits selon les réactions suivantes :





La concentration de ces enzymes est exprimée en unité internationale par litre de substrat (UI/L). 1UI correspond à la quantité d'enzymes qui transforment 1 μ mol des substrat/min .

Sacrifice des animaux et prélèvements des organes

A la fin de la période de l'expérimentation, les souris sont sacrifiées (par décapitation) après 16h de jeune sous légère anesthésie à la vapeur de chloroforme. Les foies des souris sont soigneusement prélevés, rincés avec de l'eau physiologique (0,9% de NaCl) et trempés immédiatement dans le formol à 10 % pour l'étude histologique.

2.7. Etude histopathologique

Les coupes histologiques des foies sont réalisées à l'hôpital de Médéa, Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologique.

Objectif

Cette étude permet de valider l'éventuelle hépatoprotection de l'extrait éthanolique de *Curcuma longa* à travers la visualisation microscopique des foies et la détection de la présence ou l'absence de lésions.

Mode opératoire

Le foie coupé en petit fragments et déposés dans des cassettes en plastiques et fixés dans le formol à 10% puis soumis aux étapes de l'étude histopathologique.

Fixation des échantillons

La fixation est un moyen technique permettant de préserver les structures tissulaires à étudier dans un état aussi proche que de l'état vivant.

Elle a pour but d'immobiliser les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies. Le temps de la fixation est essentiel pour la réussite de la technique histologie. Elle doit être réalisée rapidement après la décapitation des souris et prélèvement des organes .Des fragment de foie ont été alors mis dans le formol à 10% le fixateur classique la plus utilisé. Il permet de durcir l'échantillon sans l'abimer. Les échantillons sont placés dans des cassettes spéciales à

Parois trouées afin de permettre le passage des liquides au cours des manipulations qui suivent.

Déshydratation des échantillons (circulation)

Comme la paraffine n'est pas miscible à l'eau, les échantillons doivent être alors complètement déshydratés avant l'inclusion dans la paraffine. Cette dernière n'est pas soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation, on assiste donc à une substitution par le xylène.

La déshydratation se fait grâce à un automate qui fait immerger les échantillons dans des bains d'éthanol à concentration croissante (70%,95% ,100%), puis dans des bains de xylène qui constitue un agent éclaircissant donnant au tissu une certaine transparence. Ensuite, dans l'étuve le xylène s'évapore des pièces anatomique. Cette étape est réalisé par un appareil appelé le circulateur ou automate .

Inclusion des échantillons

Les pièces sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide. Les tissus étant maintenant et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui en se solidifiant va permettre sa coupe **(Figure 11)**



Figure 11 : Inclusion à la paraffine

Confection des coupes histologiques

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés avant de subir des coupes au microtome **(Figure 12)** de 2 à 3 μm . Les rubans de paraffine obtenus sont étalés sur des lames porte – objet, puis dépliés. Les lames portant les coupes de l'organe sont ensuite séchées dans une étuve à 60°C afin de permettre un déparaffinage.



Figure 12 : Microtome.

Coloration des lames

Après déparaffinage les lames passent par des bains de xylène pendant 30 min pour l'éclaircissement, puis on fait les colorations suivantes :

- **Coloration par l'Hématoxyline Eosine (HE)**

- Immerger les lames pendant 10 secondes dans un bain d'hématoxyline, qui colore en bleu violacée les structures basophiles comme les noyaux.
- Laver les lames à l'eau de robinet pendant 5 minutes.
- Immerger les lames pendant 30 secondes, dans un bain d'éosine qui colore en rose les structures acidiphiles comme cytoplasme.
- Rincer rapidement les lames avec l'eau de robinet.
- Sécher dans l'étuve.

Montage

Le montage est la dernière étape de la préparation des lames pour la lecture en microscopie. Il s'agit de recouvrir l'étalement avec une lamelle en utilisant un milieu de montage permanent. Le but est l'obtention d'un degré de transparence élevé mais aussi pour protéger

Mécaniquement l'étalement qui ne supporte pas la dessèchement. Le milieu de montage est l'EUKITT.

Le montage se fait par collage de la lamelle à la lame d'une manière rapide et durable.

Lecture

La lecture a été réalisée par un microscope photonique de type «LEICA», aux différents grossissements. La prise des photos a été réalisée par un appareil numérique placé sur l'un des oculaires du microscope à différents objectifs.

2.8. Traitement statistique

L'évaluation statistique est effectuée par le logiciel *Graph Pad Prism 5.0*. Les valeurs du groupe Témoin et celles des groupes traités par l'extrait éthanoïque de *Curcuma longa* sont analysées par one-way analysis of variance (ANOVA) suivi par le test de Student. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 3$, la différence est considérée:

Non significative: $P > 0.05$;

Significative à $*P < 0.05$;

Hautement significative: $**P < 0.001$

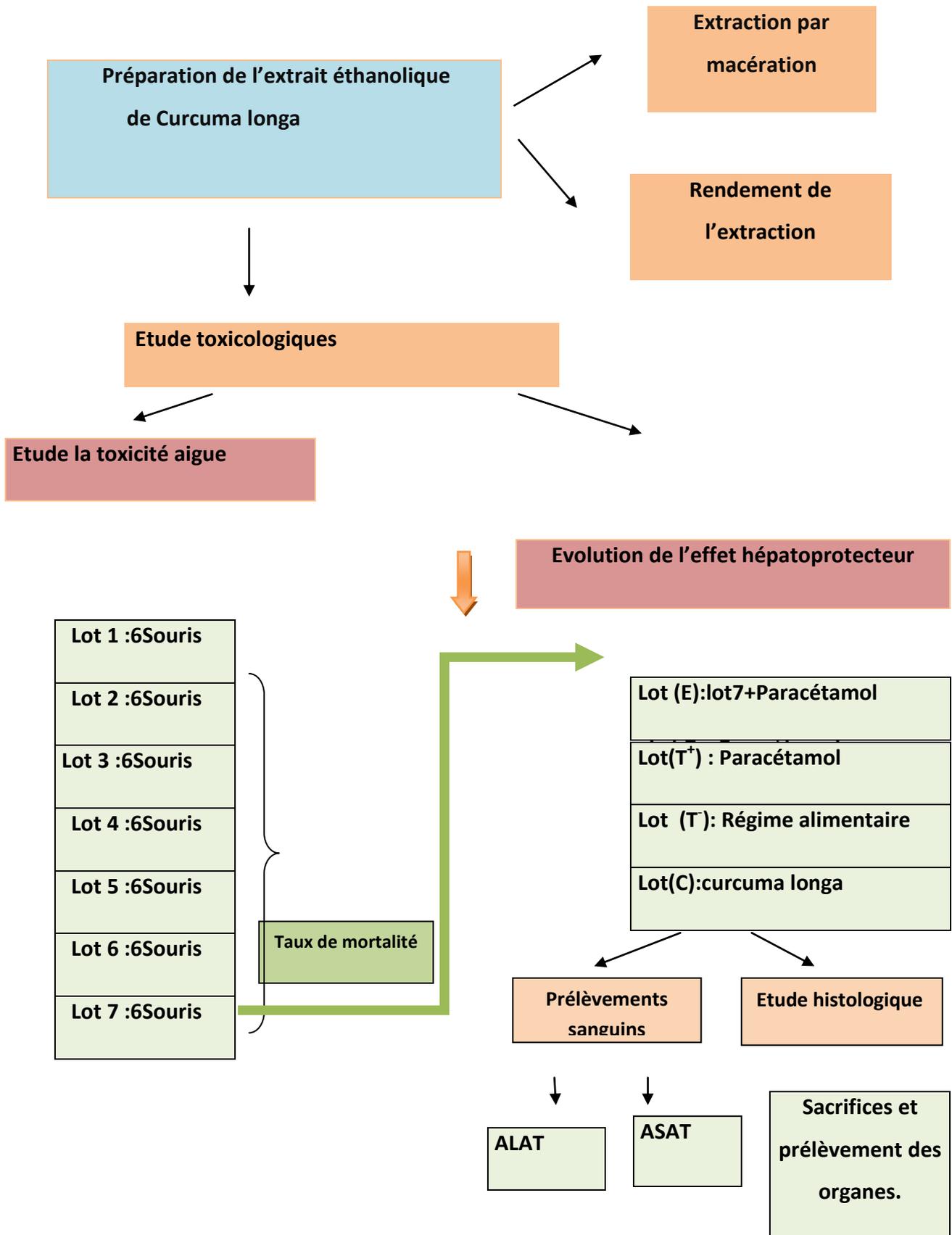


Figure 13 : Organigramme résultant la démarche de l'étude

Chapitre III

Résultats et Discussions

1. Rendement en extrait éthanolique

Le rendement en extrait éthanolique de curcuma, obtenu est de **16,34%**.

Ce résultat est inférieur à celui obtenu par **Jensen (2005)**, qui mentionne des taux variant entre 18,5 et 20%.

AFNOR(2000) ; Chavan et al., (2001), rapportent que le rendement dépend de nombreux facteurs tels que la méthode et la durée d'extraction, la taille des particules, la période de la récolte et les conditions de stockage

2. Analyses toxicologique

Les résultats de l'analyse toxicologique de l'extrait éthanolique du rhizome de curcuma sont indiqués dans le tableau 3.

Tableau 3. Taux de mortalité suite à l'injection de l'extrait éthanolique de *Curcuma longa*

Lots	Doses g /kg	Taux de mortalité (%)
1	5,5	0
2	5,8	0
3	6,1	0
4	6,4	2
5	6,7	2
6	7	0
7	7,3	0

Le tableau ci-dessus nous permet de constater que l'extrait éthanolique n'a présenté aucune toxicité. En effet, 5 lots sur les 7, n'ont présenté aucune mortalité, indépendamment des doses administrées. Les 2% de mortalité enregistrés dans les lots 4 et 5, représentent des taux de mortalité normale chez une population de 42 souris.

Ces résultats sont en accord avec les travaux d'**Aggarwelt et al. (2003)**, qui n'ont enregistré aucune toxicité des extraits de curcuma, même forte dose allant jusqu'à 10 g/jour pour un adulte.

Egalement, l'éthanol comme solvant d'extraction n'a pas présenté un effet toxique. Selon **Cowan (1999)**, l'éthanol possède une faible toxicité en comparaison avec celle du méthanol.

D'après **Vauboudolle (2007)**, la DL50 est soumise à de multiple facteurs de variation : certains sont liés à l'espèce, l'âge le sexe, le poids, la pathologie spontanée et %imentation; d'autre sont liés aux conditions expérimentales comme la température ambiante, les conditions d'hébergement des animaux ainsi que les vois d'administration, la concentration administrée et la vitesse d'injection.

3. Evaluation des taux sériques des transaminases (ALAT et ASAT)

Les résultats des dosages des transaminases pour les quatre lots sont regroupés dans le tableau 4.

Tableau 4. Effet de l'extrait éthanolique de curcuma, sur les taux sériques des transaminases chez les souris intoxiquées par le paracétamol (4mg/kg).

Enzymes	Lots			
	Régime alimentaire(T ⁻)	Paracétamol(T ⁺)	Curcuma ensuite paracétamol(E)	(C)Curcuma longa
ALAT	60.61±7.04	**223.85±22.5	**81.48±3.84	71.48±3.84
ASAT	106.25±7.89	**375.71±33.19	**173.91±32.45	106.91±2.45

** différence très hautement significative p<0.001

Le tableau ci-dessus, montre que le groupe contrôle (C), traitées par l'extrait à 7,3g/kg n'a révélé aucune différence significative dans les taux des ALAT (71,48 ± 3 ,84 UI/L) et des ASAT (106,91 ± 2,45 UI/L respectivement, comparativement au groupe témoin négative (T⁻) dont les taux des ALAT et des ASAT sont (60,61 ± 7,04 UI/L) et (106,25 ± 7,89 UI/L) respectivement.

Toutefois, nous notons une augmentation très hautement significative (P < 0,001) des taux sériques des ALAT (233,815 ± 22,5 UI/L) et des ASAT (375,71 ± 33,19 UI/L) chez le groupe traité par le paracétamol (40mg//kg) en comparaison au groupe ayant reçu l'eau physiologique T⁻ dont ALAT et ASAT sont (60,61± 7,04 UI/L) et (106,25± 7,89) UI/L).

En outre, l'administration de l'extrait de *Curcuma longa* (7,3g/kg), suivie par l'injection du PCM à la dose de 4 mg/kg, a montré une diminution très hautement significative (P < 0,001)

où les taux des ALAT sont de $81,48 \pm 3,84$ UI/L et ceux des ASAT sont de $173,91 \pm 32,45$ UI/L, comparativement au groupe T⁺.

4. Etude histopathologique

Les examens histopathologiques des sections de foie des souris sont représentés dans les figures suivantes :

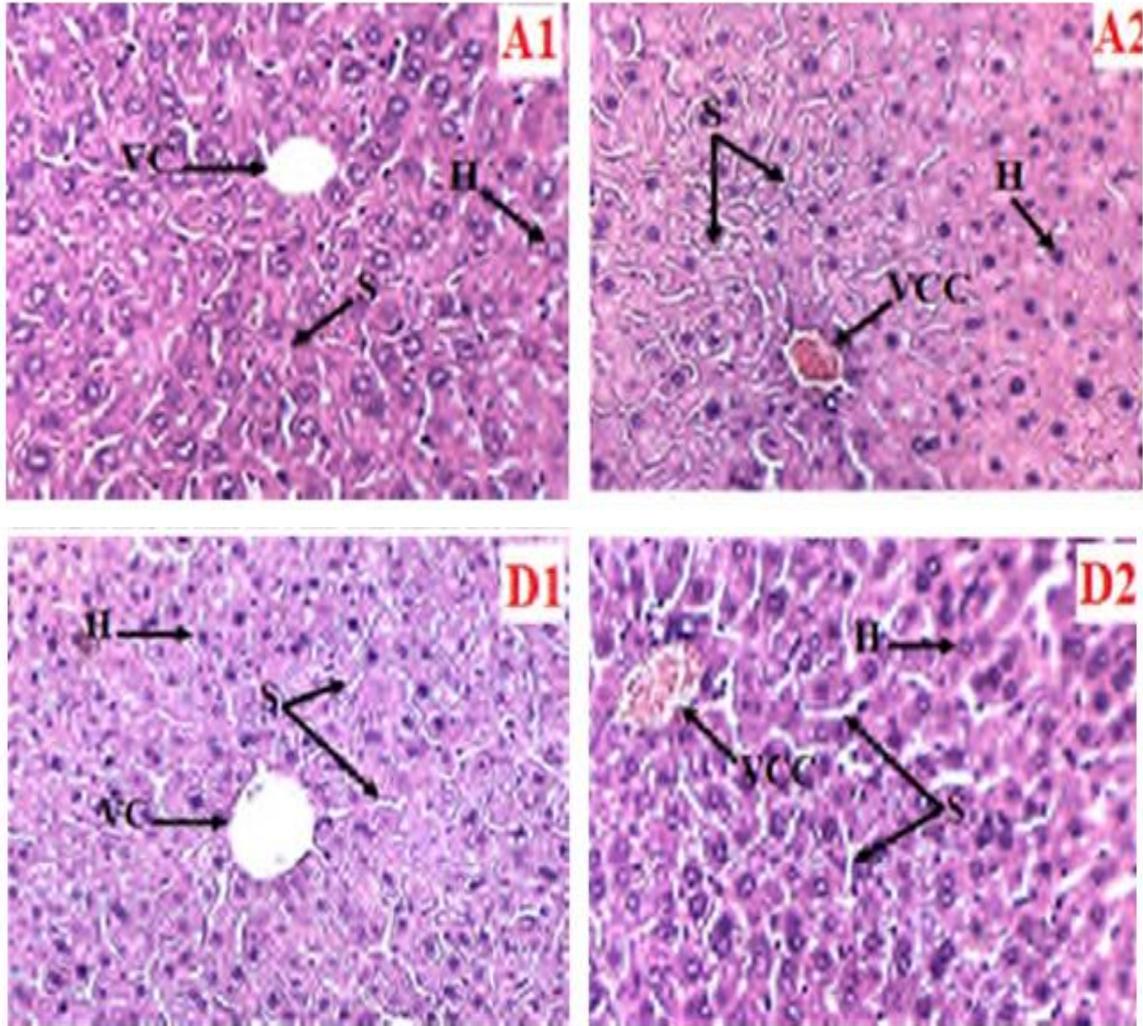


Figure 13 :photomicrographie qui montrent la structure hépatique réalisé chez le groupede Témoin négative T⁻(A1 ,A2),et chez le groupe contrôle (D1,D2) .

Coloration HE

A : GR ×10 B : GR×40

H: Hépatocyte, **S:** Sinusoïde, **VC:** Veine centrale, **VCC:** Vein centrale congestive, **VCDC:** Veine centrale dilatée et congestive, **ST:** Stéatose, **IN:** Infiltration des neutrophiles, **N:** nécrose

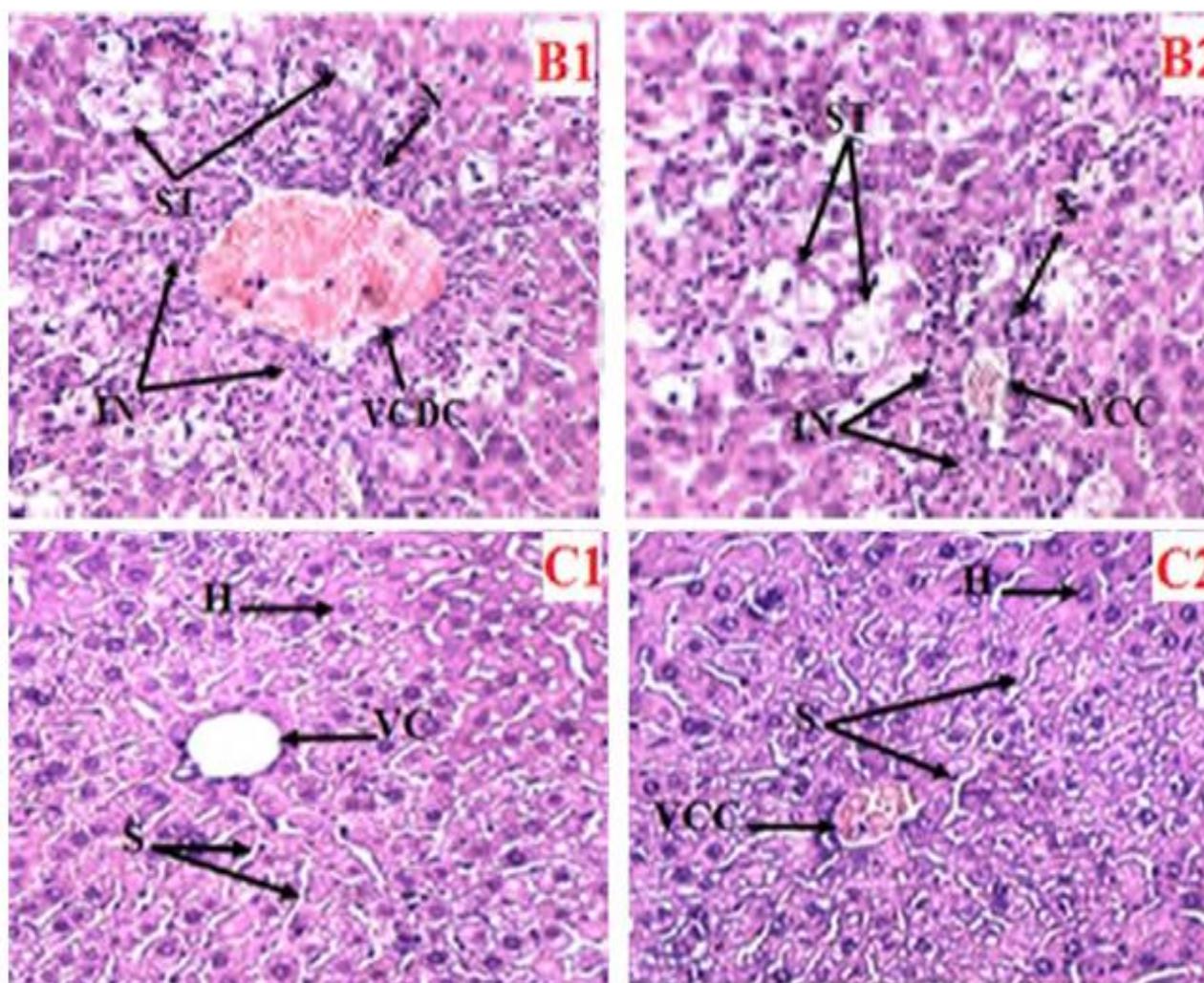


Figure 13 :photomicrographie qui montrent la structure hépatique réalisé chez le groupede Témoin négative T⁻(B1 ,B2),et chez le groupe contrôle (C1,C2) .

Coloration HE

A : GR ×10 B : GR×40

H: Hépatocyte, **S:** Sinusoïde, **VC:** Veine centrale, **VCC:** Vein centrale congestive, **VCDC:** Veine centrale dilatée et congestive, **ST:** Stéatose, **IN:** Infiltration des neutrophiles, **N:** nécrose

Interprétation des planches

La première figure nous permet d'observer une structure hépatique normale chez le groupe Témoin négative T⁻, représentée par des sinusoides d'aspect normale, une veine Centro-lobulaire congestive d'aspect normal et des hépatocytes bien délimités arrangés sous forme de lames hépatocytaires anastomosées (fig. 11 A1-A2). Aucune lésion hépatique n'a été observée (absence de nécrose, de stéatose et d'infiltration de neutrophile) chez ce groupe, semblable à celle du groupe contrôle (Curcuma L 7,3g/kg) (fig. 11 D1-D2).

Les souris traitées avec du paracétamol (40 mg/kg) ont montré une altération de la structure hépatique. En effet, plusieurs types de lésions sont décelées, parmi, la dilatation et la congestion de la veine Centro-lobulaire, des infiltrations des neutrophiles, des stéatoses et des foyers de nécrose (fig. 11 B1-B2).

Par ailleurs, aucune nécrose, stéatose ou infiltration de neutrophile n'a été trouvée et la structure hépatique normale a été restaurée chez le groupe de souris Essai, prétraité par l'extrait éthanolique du rhizome de *Curcuma longa* (fig. 11 C1-C2).

A partir des résultats obtenus pour le dosage des paramètres sériques et les coupes histologiques, nous avons observé que l'administration de 40 mg/kg du PCM par voie intra-péritonéale aux souris a conduit à l'apparition de lésions hépatiques et à une augmentation significative des taux sériques des ALAT et des ASAT.

Ces résultats concordent avec ceux cités par **Pandey et al. (2012)**, qui notent que l'administration du PCM induit une hépatotoxicité, avec augmentation des taux hépatiques en ALAT accompagnés par des lésions hépatiques Centro-lobulaires.

Plusieurs études ont montré que le paracétamol est un modèle expérimental prometteur pour évaluer l'effet hépatoprotecteur des extraits de plantes, car l'utilisation d'une seule dose est suffisante pour induire l'hépatotoxicité (**Kanbur et al., 2009; Liu et al., 2011; Pandey et al., 2012; Soliman et al., 2014; Naguib et al., 2014**), alors que d'autres substances telles que l'aluminium nécessite plusieurs doses et une plus longue durée expérimentale (**Ighodaro et al., 2012**).

Le prétraitement des souris avec l'extrait éthanolique de *Curcuma longa* avant l'injection du PCM a permis une réduction significative des taux de ASAT, ALAT et une réduction remarquable de nécrose et des stéatose.

Il semblerait que l'administration de l'extrait avant la survenue de l'intoxication par le PCM a permis la détoxification du foie et la restauration de sa structure anatomique normale. De ce fait, le rhizome de *Curcuma longa* pourrait être exploité comme antioxydant dans le traitement préventif contre les intoxications du foie par les médicaments. En effet, **Meister et Anderson (1983)**, indiquent que les toxines sont éliminées par le foie grâce à leur conjugaison à un antioxydant (GSH).

Par ailleurs, **Al Hussaini et Mahasneh (2009)** **Kanbur et al. (2009)**; **Fournier (2010)**; **Liu et al. (2011)**, mentionnent que curcuma possède un effet hépatoprotecteur vis-à-vis des toxines et il pourrait être considéré comme une source photochimique préventive capable de contrer l'hépatotoxicité induite par le paracétamol.

Al-Jawad et al. (2016), notent que cet effet revient à la présence de la curcumine dans les rhizomes de cette espèce.

Conclusion

Conclusion

Dans le but d'évaluer l'effet préventif de *Curcuma longa*, une plante médicinale, largement utilisées comme épice, nous avons testé l'effet de son extrait éthanolique sur la toxicité du foie induite par le paracétamol.

L'extraction solide liquide à partir de la poudre du rhizome de curcuma, en utilisant l'éthanol comme solvant a donné un rendement en extrait sec de 16,34%.

Aucun effet toxique de l'extrait éthanolique n'a été enregistré sur les souris traitées.

L'injection du paracétamol a provoqué une augmentation très hautement significative ($P < 0,001$), dans les taux sériques $233,815 \pm 22,5$ UI/L et $375,71 \pm 33,19$ UI/L, pour les ALAT et les ASAT, respectivement.

Les lots préalablement traités par l'extrait éthanolique du rhizome sec de *Curcuma longa*, ont marqué une diminution très hautement significative ($P < 0,001$) des transaminases, où nous avons enregistré des valeurs respectives de $81,48 \pm 3,84$ UI/L et $173,91 \pm 32,45$ UI/L pour les ALAT et les ASAT.

Sur le plan anatomique, le paracétamol a provoqué des lésions hépatiques remarquables telles que: la dilatation et la congestion de la veine centro-lobulaire, des infiltrations des neutrophiles, des stéatoses et des foyers de nécrose.

Cependant, une structure hépatique normale sans aucune nécrose, stéatose ou infiltration de neutrophile a été observée chez le lot prétraité par l'extrait éthanolique de curcuma.

A la lumière de ces résultats nous pouvons dire que *Curcuma longa* présente des potentiels préventifs vis-à-vis des intoxications du foie liées aux xénobiotiques et elle pourrait constituer une source de molécules antioxydantes et anti-inflammatoires très puissantes.

C'est pourquoi ce travail doit être approfondi par la purification et l'identification des principes actifs responsables de l'effet hépatoprotecteur, ainsi que la détermination du mécanisme d'action des ces molécules dans le but d'une application pharmacologique.

Référence Bibliographique

Référence Bibliographiques

Abdel-Misih, S. R. Z. et Bloomston M. (2010). Liver anatomy. *Surgical Clinics of North America*, **90** (4): 643-653.

Al-Jawad F. H., Haqi A. I., Al- JezaniH. A., Al- Hussaini J. A., 2016. Zinc Sulfate and *Curcuma domestica* are hepatoprotective agents against acute liver injury model induced by CCl₄. *Sch. Acad. J. Pharm.*, **5**(12): 425-429

Barrière, D., Mallet, C. et Eschalier, A. (2010). Le paracétamol de nouvelles cibles pour un vieux médicament. *La Lettre*, **33**: 1-7.

Bellier, R. (2011). *Toxicite hépatique du paracetamol a dose thérapeutique: Revue de littérature et proposition d'un protocole d'évaluation en période postopératoire.* Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine, faculté de médecine, Université de Limoges, 2011, P. 25.

Bernard M., Couderc R., Cynober L., 2005. Les aliments traditionnels: Remèdes de bonne femme ou pharmacopée du XX^e siècle, l'exemple de la curcumine. *Cah.Nutr. Diét.*, **40** (6): 325-333.

Böhm, F., Köhler, U. A., Speicher, T. et Werner, S. (2010). Regulation of liver regeneration by growth factors and cytokines. *Molecular Medicine*, **2**: 294-305.

Botting, R. M. (2000). Mechanism of action of acetaminophen: Is There a Cyclooxygenase 3? *Clinical Infectious Diseases*, **31**: 202-210.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation

Delaveau P., 1987. Les épices, histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. *Revue d'histoire de la pharmacie*, **272** : 130-136.

(Dohare et Garg, 2008). Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Paris : Albin Michel, p.130-

Favier, A. (2003). Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, P. 108-115.

Flament, J. B., Delattre, J. F. et Hidden, G. (1982). The mechanisms responsible for stabilising the liver. *Clinical Anatomy*, **4**: 125-135.

Fournier, P. V. (2010). *Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France*. Paris: Omnibus. P. 750-752

Flament, J. B., Delattre, J. F. et Hidden, G. (1982). The mechanisms responsible for

Jaeschke, H. et Bajt, M.L. (2006). Intracellular signaling mechanisms of acetaminophen-induced liver cell death. *Toxicological Sciences*, **89** (1): 31-41.

James, L. P., Mayeux, P. R. et Hinson, J. A. (2003). Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug metabolism and disposition*, **31** (12): 1499-1506

Gaurisankar S. et Tanya D., 2008. Anti cancer effects of curcumin: cycle of life and death. *Cell Div.*, **3**: 14.

Hinson, J. A., Roberts, D.W. et James, L. P. (2010). Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. *Handbook of experimental pharmacology*, **196**: 369-405.

Hogestatt, E. D., Jonsson, B. A. G., Ermund, A., Andersson, D. A., Bjork, H., Alexander, J. P., Cravatt, B. F., Basbaum, A. I. et Zygmunt, P. M. (2005). Conversion of acetaminophen to the bioactive *n*-acylphenolamine AM404 via fatty acid amide hydrolase-dependent arachidonic acid conjugation in the nervous system. *The Journal of Biological Chemistry*, **280** (36): 31405-31412.

Huet M. et Fleurentin J., 2013. Curcuma, thé vert et chardon-marie: quelle stratégie adopter en prévention du cancer ou en complément des traitements? *Hegel*, **3** (4): 268- 281.

Karawya, M. S., Ammar, N. M., Hifnawy, M. S., Al-ookbi, S. Y., Mohamed D. A. et El- Aansary, A. A. (2010). Phytochemical study and evaluation of the anti-inflammatory activity of some medicinal plants growing in Egypt. *Medical Journal Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*, **18** (4): 139-150.

Katzung, B. G. (2006). Pharmacocinétique et pharmacodynamie. In: *Pharmacologie*

fondamentale et clinique. 9^{ème} éd. Italie : Piccin. P. 36-37.

Kim, H. J. et Vaziri, N. D. (2010). Contribution of impaired Nrf 2-Keap1 pathway to oxidative stress and inflammation in chronic renal failure. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, **298**: 662-671.

Laperche, Y. (2003). Les cellules ovales et la régénération du foie. *Médecine sciences*, **19** (6 -7): 697-698.

Larocque, A. (2013). Implications thérapeutiques des différents modes d'intoxication au paracétamol chez l'adulte. In : *Intoxications aiguës*. Paris: Springer-Verlag. P. 179-195

Lecerf J. M., 2012. Effets métaboliques du Curcumin (obésité, lipides circulants, insulino-résistance, diabète et athérosclérose). *Phytothérapie*, **10**:100–104.

Loap S., 2008. Curcuma (partie I). *Phytotherapie* , **6**: 22–28.

Marieb, E. N. (2008). Le système digestif et le métabolisme. In : *Principes d'anatomie et de physiologie*. 8^{ème} éd. Paris: Pearson Education. P. 524-525.

Mascolo et . Girre L. La médecine par les plantes à travers les âges. Rennes : Ouest France, 187, p, 1981., **1989**).

Menche, N. (2006). Système digestif, nutrition et métabolisme. In: *Anatomie physiologie biologie*. 3^{ème} éd. Paris: Maloine. P. 340-346.

Mitchell, S. J., Kane, A. E. et Hilmer, S. N. (2011). Age-related changes in the hepatic pharmacology and toxicology of paracetamol. *Current Gerontology and Geriatrics Research*, **4**: 1-14.

Pandey, N., Barve, D., Prajapati, N. et Dubey, B. K. (2012). Evaluation of hepatoprotective activity of ethanolic extract of *Arisaema leschenaultii* blume tuber in paracetamol induced hepatotoxicity in swiss albino mice. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, **3** (1): 312-318

Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R. et Defraigne, J.O. (1998). Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine. *Medi Sphere*, P. 73-77.

Poirier, J., Cohen, I. et Bernaudin, J. F. (1975). Histologie du foie et des voies biliaires. In: Histologie humaine: Tube digestif foie et voies biliaires pancréas exocrine. 3^{ème} éd, Paris: Maloine S. A. P. 49-72.

Reid, A. B., Kurten, R.C., McCullough, S.S., Brock, R.W. et Hinson, J. A. (2005). Mechanisms of acetaminophen-induced hepatotoxicity: Role of oxidative stress and mitochondrial permeability transition in freshly isolated mouse hepatocytes. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **312** (2): 509- 516.

Reichl, F. X. (2004). Médicaments. In: *Guide pratique de toxicology*. 1^{ère} éd. Paris: De boeck. P. 74-75.

Rosenbaum, J., Mavier, P. et Dhumeaux, D. (1991). Interactions cellulaires dans le foie. *médecine/sciences*, **7** (2): 110-117.

Sikha A., Harini A., Hegde Prakash L., 2015. Pharmacological activities of wild turmeric (*Curcuma aromatica* Salisb): a review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistr*, **3**(5):

Tortora, G. J. et Derrickson, B. (2009). Le maintien du fonctionnement du corps humain. In: *Manuel d'anatomie et de physiologie humaine*. Paris: De boeck. P. 482.

Vardar-Ünlü, G., Silici, S. et Ünlü, M. (2008). Composition and *In vitro* antimicrobial activity of *Populus* buds and poplar-type propolis. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **24**: 1011-1017

Warnant, P., Mertens, P. et Marche, C. (2004). Screening of poplar biomass for bio-active compounds: a simple method to assess antioxidant activity. *Bioresource Technology*, **93** (1): 43-48.

Debbache-Benaida, N., Atmani-Kilani, D., Schini-Keirth, V. B., Djebbli, N. et Atmani, D. (2013). Pharmacological potential of *Curcuma longa* extract as antioxidant, antiinflammatory, cardiovascular and hepatoprotective agent. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **3** (9): 697-704.

Yeung, C. K., Shen, D. D., Thummel, K. E. et Himmelfarb, J. (2014). Effects of chronic kidney disease and uremia on hepatic drug metabolism and transport. *Kidney International*, **85** (3): 522-528

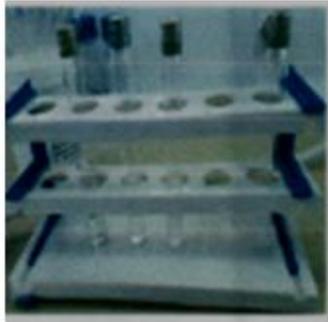
Yogeshwer et Madhulika, 2006; Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric (*Curcuma longa* L.) *Pharmaceutical Crops*, 2 : 28-54,2011.

ANNEXES

Annexes



Agitateur



Tubes à essai stériles



Alcool



Microtome



Microscope optique



Xylène



Hématoxyline



Eosine



Extrait éthanologique de Curcuma longa