

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
ET DE PHYSIOLOGIE
ANIMALES



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ANIMAL
BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE

ANIMAL PHYSIOLOGY LABORATORY

**Effets préventifs de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus
lingua* Warb. ex De Wild. & T. Durand (Moraceae) contre
l'hépatotoxicité induite par l'action combinée du
paracétamol et de l'éthanol chez le rat**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie des Organismes

Animaux

Option : Physiologie animale

Par

BOUYAP YONDJEU Josette

Matricule : 15A2495

Licenciée en Biologie des Organismes Animaux



Sous la Co-direction de

DJIOGUE Sefirin

Maître de Conférences

FS (UY1)

et

MEZUI Christophe

Maître de Conférences

ENS (UY1)

Année : 2024

Dédicace

Je dédie ce travail à ma mère KAYAP KAYA Monique Virginie.

Remerciements

Je tiens à exprimer ma gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire. J'adresse mes remerciements de manière particulière :

✓ Au Professeur **MEZUI Christophe** et au Professeur **DJIOGUE Sefirin**, pour avoir accepté de codiriger ce travail scientifique ; pour leurs encouragements, leur rigueur scientifique et leurs précieux conseils, qui ont été un grand atout pour la réalisation de ce travail ;

✓ Au Professeur **NJAMEN Dieudonné**, pour l'hospitalité dans son unité de recherche et la mise à disposition du matériel utile pour mener à bien les travaux ;

✓ Aux enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales pour les enseignements, les conseils et le savoir-faire qu'ils m'ont transmis tout au long de mon cursus académique ;

✓ Au Docteur **DJIKEM Rudig**, pour sa contribution au bon déroulement des manipulations ;

✓ Aux aînés de laboratoire : **MOTOUM Florette**, **ATSAMA Perpétue**, **FOSSO Ulrich**, **DJUNIE Corine**, **SIPPING Marius**, **ADJOFFOIN Chiara**, **BIKOI René**, **NKUIMI Ornella**, **KEMMO Christelle**, **MBOU William**, **TEFFO Hornela**, **TCHEUTCHOUA Yannick**, **FIFEN Rodrigue**, pour leur collaboration, leur soutien et leur disponibilité ;

✓ A mes camarades de promotion : **KEMMEGNE Sandrine**, **MEKA'A Yvan**, **PENDA Marguerite**, **BALLE Clément**, **TAYO Gabriel**, **NOUKATE Junior** pour leur assistance avant, pendant et après les manipulations ;

✓ A mes chers amis : **SAHLEHEU Stève**, **KOUGOUM Melicha**, **KAMMI Romaric**, **KENNE Jocelyne**, **KAHOU Rivaldo** pour leurs encouragements et leur soutien ;

✓ A ma famille, je pense ainsi à : **YONDJEU Monique**, **FOTSING Franck**, **FOTSING Ornella**, **CHAMGUE Arielle** pour leur soutien multiforme ;

✓ A tous ceux qui n'ont pas été cités mais qui ont contribué, de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Sommaire

Dédicace	i
Remerciements	ii
Liste des figures	v
Liste des tableaux	vi
Liste des abréviations	vii
Liste des annexes.....	viii
Résumé.....	ix
Abstract	x
Introduction	1
Chapitre I : Revue de la littérature	3
I.1. Généralités sur le foie	3
I.1.1. Anatomie du foie.....	3
I.1.2. Physiologie du foie	5
I.1.3. Quelques marqueurs biochimiques de la fonction hépatique.....	7
I.2. Hépatotoxicité	9
I.2.1. Définition et étiologie	9
I.2.2. Hépatotoxicité médicamenteuse	9
I.2.3. Hépatotoxicité liée à la consommation abusive de l'alcool.....	10
I.3. Traitement de l'hépatotoxicité	10
I.4. Phytothérapie : cas de <i>Ficus lingua</i>	11
I.4.1. Position systématique de <i>Ficus lingua</i>	11
I.4.2. Répartition géographique de <i>Ficus lingua</i>	11
I.4.3. Description de <i>Ficus lingua</i>	11
I.4.4. Vertus thérapeutiques de <i>Ficus lingua</i>	12
I.4.5. Phytochimie de <i>Ficus lingua</i>	12
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	13
II.1. Matériel.....	13
II.1.1. Matériel végétal	13
II.1.2. Matériel animal.....	13
II.2. Méthodes	13
II.2.1. Préparation de l'extrait aqueux des feuilles <i>Ficus lingua</i>	13
II.2.2. Préparation des solutions	14
II.2.3. Protocole expérimental	15
II.2.4. Sacrifice des animaux	16
II.2.5. Evaluation des paramètres anthropométriques	17

II.2.6. Dosage des marqueurs de la fonction hépatique.....	17
II.2.7. Evaluation des paramètres hématologiques.....	23
II.2.8. Dosage des paramètres du statut oxydant.....	23
II.2.9. Analyse histologique	27
II.2.10. Analyse statistique	28
Chapitre III : Résultats et discussion.....	29
III.1. Résultats	29
III.1.1. Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Ficus lingua</i> sur quelques paramètres anthropométriques	29
III.1.2. Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Ficus lingua</i> sur les marqueurs de la fonction hépatique	30
III.1.3. Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Ficus lingua</i> sur les paramètres hématologiques.....	33
III.1.4. Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Ficus lingua</i> sur les paramètres du statut oxydant.....	34
III.1.5. Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Ficus lingua</i> sur la microarchitecture du foie et autres organes.....	36
III.2. Discussion	40
Conclusion et perspectives	44
Références	45
Annexes	A

Liste des figures

Figure 1 : Anatomie macroscopique de la vue antérieure ou face diaphragmatique et de la vue postéro-inférieure ou face viscérale du foie	3
Figure 2 : Anatomie microscopique du foie.....	5
Figure 3 : <i>Ficus lingua</i>	12
Figure 4 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Ficus lingua</i>	14
Figure 5 : Schéma synoptique du protocole expérimental.	17
Figure 6 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Ficus lingua</i> sur la variation de la masse corporelle.....	29
Figure 7 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Ficus lingua</i> sur quelques paramètres du statut oxydant.	35
Figure 8 : Effets de l'extrait aqueux de <i>Ficus lingua</i> sur la microarchitecture du foie.....	36
Figure 9 : Effets de l'extrait aqueux de <i>Ficus lingua</i> sur la microarchitecture du rein.....	37
Figure 10 : Effets de l'extrait aqueux de <i>Ficus lingua</i> sur la microarchitecture du cœur	37
Figure 11 : Effets de l'extrait aqueux de <i>Ficus lingua</i> sur la microarchitecture du poumon..	38
Figure 12 : Effets de l'extrait aqueux de <i>Ficus lingua</i> sur la microarchitecture de la glande surrénale	39
Figure 13 : Effets de l'extrait aqueux de <i>Ficus lingua</i> sur la microarchitecture de la rate	39

Liste des tableaux

Tableau I : Protocole de dosage des transaminases	18
Tableau II : Protocole de dosage de la bilirubine totale	19
Tableau III : Protocole de dosage du cholestérol total	19
Tableau IV : Précipitation des VLDL-cholestérol et des LDL-cholestérol	20
Tableau V : Protocole de dosage du cholestérol HDL	20
Tableau VI : Protocole de dosage des triglycérides.....	21
Tableau VII : Protocole de dosage de la phosphatase alcaline	22
Tableau VIII : Protocole de dosage des protéines totales	22
Tableau IX : Protocole de dosage de la superoxyde dismutase.....	23
Tableau X : Etalonnage de l'activité de la catalase	24
Tableau XI : Protocole de dosage de la catalase.....	25
Tableau XII : Protocole de dosage du glutathion réduit.....	26
Tableau XIII : Protocole de dosage du malondialdéhyde	27
Tableau XIV : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Ficus lingua</i> sur la masse relative des organes	30
Tableau XV : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Ficus lingua</i> sur quelques paramètres sériques de la fonction hépatique	32

Liste des abréviations

ALAT : Alanine aminotransférase

ASAT : Aspartate aminotransférase

CAT : Catalase

CE : Cholestérol estérase

CO : Cholestérol oxydase

GK : Glycérol kinase

GPO : Glycérol-3-phosphate oxydase

GSH : Glutathion réduit

GPx : Glutathion peroxydase

LDH : Lactate déshydrogénase

MDA : Malondialdéhyde

MDH : Malate déshydrogénase

NAD⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide oxydé

NADH, H⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide réduit

NAPQI : N-acétyl-p-benzoquinoneimine

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAP : 4-Amino-antipyrine

PAL : Phosphatase alcaline

POD : Peroxydase

SOD : Superoxyde dismutase

Liste des annexes

Annexe 1 : Courbe d'étalonnage des protéines totales	A
Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de la catalase	A

Résumé

L'hépatotoxicité représente l'ensemble des dommages au foie causé, par un xénobiotique ou un agent infectieux, accompagné d'une perte de fonction hépatique. Compte tenu des limites d'usage des produits pharmaceutiques, la phytothérapie est alors employée comme alternative thérapeutique. *Ficus lingua* (Moraceae) est une plante utilisée dans le traitement des intoxications et de la fièvre jaune au Sud Cameroun. L'objectif général de cette étude était donc d'évaluer les effets hépatoprotecteurs de *Ficus lingua* contre les dommages hépatiques induits par l'action combinée du paracétamol et de l'éthanol chez le rat albinos. Pour y parvenir, 48 rats ont été répartis en 8 groupes de 6 rats chacun (3 mâles et 3 femelles) et traités *per os* pendant sept jours consécutifs : le groupe 1 témoin normal et les groupes 2, 3 et 4 témoins négatifs, ont reçu de l'eau distillée (10 mL/kg) ; les groupes tests 5, 6 et 7 ont reçu l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* (respectivement aux doses 50 ; 100 et 200 mg/kg) et le groupe 8 témoin positif a reçu la silymarine (50 mg/kg). Une heure après, le groupe 1 a reçu l'eau distillée (10 mL/kg) ; le groupe 2 l'éthanol 40° (400 mg/kg), le groupe 3 le paracétamol (400 mg/kg) et les groupes 4, 5, 6, 7 et 8 ont reçu l'éthanol 40° (400 mg/kg) et le paracétamol (400 mg/kg). Le 8^{ème} jour après un jeûne non hydrique de 12 h, la masse corporelle et la glycémie des animaux ont été mesurées. Puis ces rats ont été sacrifiés et le sang et les organes (foie, reins, cœur, surrénales, rate et poumons) ont été prélevés. Quelques marqueurs sériques de la fonction hépatique (transaminases, bilirubine totale, PAL, cholestérol total et HDL, triglycérides et protéines sériques) et les paramètres hématologiques ont été déterminés. Les homogénats de foie réalisés, ont permis de quantifier certains marqueurs du stress oxydant (SOD, CAT, GSH, MDA et protéines tissulaires). Enfin, une analyse histologique des organes prélevés a été réalisée. L'administration à la fois de l'éthanol et du paracétamol a entraîné chez les animaux une augmentation significative de l'activité des transaminases ($p < 0,001$), du taux de triglycérides ($p < 0,001$), de globules blancs ($p < 0,01$), de MDA ($p < 0,01$) et une baisse significative du taux de cholestérol HDL ($p < 0,01$) et de l'activité de la CAT ($p < 0,001$). Ce traitement combiné a aussi entraîné une augmentation de la masse relative des reins ($p < 0,05$), des altérations structurales du foie, reins, poumons et glandes surrénales, par comparaison aux rats normaux. L'extrait a prévenu significativement la hausse de l'activité des transaminases ($p < 0,001$), l'élévation des taux des triglycérides, de MDA ($p < 0,05$) et des globules blancs ainsi que la baisse de l'activité de la catalase et du taux de HDL cholestérol. En outre, l'extrait de *Ficus lingua* a entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'activité de la PAL et de la SOD. Il a également empêché la modification architecturale du foie, reins, poumons et glandes surrénales. Ainsi, l'extrait posséderait des propriétés antioxydantes et hépatoprotectrices.

Mots clés : *Ficus lingua*, Moraceae, effet hépatoprotecteur, paracétamol, éthanol.

Abstract

Hepatotoxicity represents all damage to the liver caused by a toxic substance (paracetamol, alcohol) or an infectious agent, with a loss of liver function. Given the limits of pharmaceutical products, herbal medicine is then used as a therapeutic alternative. *Ficus lingua* (Moraceae) is a plant used in the treatment of poisoning and yellow fever in southern Cameroon. The general objective of this study was therefore to evaluate the hepatoprotective effects of *Ficus lingua* against hepatic damages induced by the combined action of paracetamol and ethanol in Wistar rats. To achieve this, 48 rats were divided into 8 groups of 6 rats each (3 males and 3 females), which were treated orally for seven consecutive days as follows : normal control group 1 and negatives controls groups 2, 3 and 4 were treated with distilled water (10 mL/kg), test groups 5, 6 and 7 received the doses of aqueous extract of *Ficus lingua* leaves (respectively 50 ; 100 and 200 mg/kg) and positive control group 8 was treated with silymarin (50 mg/kg). One hour after each treatment, the group 1 received distilled water (10 mL/kg) ; group 2 received ethanol 40° (400 mg/kg), group 3 received paracetamol (400 mg/kg) and groups 4, 5, 6, 7 and 8 received ethanol 40° (400 mg/kg) and paracetamol (400 mg/kg). The rats underwent a 12-hour non-water fast on the 8th day, the mass and blood glucose levels of the animals were measured, then they were sacrificed, the blood and organs (liver, kidneys, heart, adrenals, spleen and lungs) were sampled. Some serum markers of liver function (transaminases, total bilirubin, alkaline phosphatase, total and HDL cholesterol, triglycerides and serum proteins) and hematological parameters were quantified. Liver homogenates were used to quantify certain oxidative stress markers (SOD, CAT, GSH, MDA and tissue proteins). Finally, a histological analysis of the sampled organs was performed. Administration of both ethanol and paracetamol resulted in a significant increase in, transaminase activity ($p < 0.001$), triglycerides ($p < 0.001$), white blood cells ($p < 0.01$) and MDA levels ($p < 0.01$) and a significant drop in HDL cholesterol level ($p < 0.01$) and CAT activity ($p < 0.001$). This combined treatment also led to an increase in the relative mass of the kidneys ($p < 0.05$) and structural alterations in the liver, kidneys, lungs and adrenal glands, compared with normal control rats. The extract significantly prevented the increase ($p < 0.001$) in transaminase activity, the increase of the levels of triglycerides ($p < 0.05$), white blood cells ($p < 0.01$) and MDA ($p < 0.05$) as well as the decrease in the activity of CAT and HDL cholesterol level. Furthermore, *Ficus lingua* extract caused a significant increase ($p < 0.05$) in ALP and SOD activities. It also prevented architectural changes in the liver, kidneys, lungs and adrenal glands. The extract therefore has antioxidant and hepatoprotective properties.

Keywords : *Ficus lingua*, Moraceae, hepatoprotective effect, paracetamol, ethanol.

Introduction

L'hépatotoxicité désigne l'ensemble des lésions hépatiques d'origine médicinale, chimique, alimentaire, végétale ou infectieux pouvant conduire à une perte de la fonction hépatique. Elle peut être aiguë ou chronique et affecte plus de 50 millions de la population mondiale (Thompson *et al.*, 2017). Les substances qui en sont responsables sont appelées hépatotoxines (Feroz et Nahida, 2012) et parmi ces substances, sont inclus les substances toxiques (tétrachlorure de carbone, produits du tabac, alcool...) et les médicaments (antibiotiques, antituberculeux, paracétamol...) (Shakya, 2020). Le paracétamol ou acétaminophène est l'un des médicaments les plus utilisés dans le monde pour ses propriétés antipyrétique et antalgique, pour sa grande disponibilité sur le marché et son moindre coût. Cependant, un surdosage de ce médicament est connu pour entraîner des dommages hépatiques, par formation d'un métabolite toxique, le N-acétyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI) par le cytochrome P-450 (Vouffo *et al.*, 2012). La prise excessive du paracétamol constitue la principale cause de l'hépatotoxicité médicamenteuse et est donc impliquée dans 7 % des lésions hépatiques d'origine médicamenteuse (Chidiac *et al.*, 2023). Le NAPQI cause la nécrose des hépatocytes par fixation aux macromolécules telles que les lipides et les protéines (Fogha *et al.*, 2015). L'alcool est l'une des substances les plus consommées dans le monde. Environ 43 % de la population mondiale consomment de l'alcool (Devarbhavi *et al.*, 2023). Sa consommation modérée (c'est-à-dire deux verres par jour pour les hommes et un verre pour les femmes, avec un verre correspondant à 355 mL de bière ou 148 mL de vin) est plutôt bénéfique pour l'organisme car réduit les risques d'apparition de certaines maladies comme les maladies coronariennes (Husain *et al.*, 2014). Cependant, une consommation excessive d'alcool est responsable de la détérioration de l'état de santé du consommateur. La prévalence globale des dommages dus à la consommation de l'alcool est de 5,10 % (Devarbhavi *et al.*, 2023). Au niveau du foie, l'alcool est transformé en acétaldéhyde, responsable de la peroxydation lipidique, ce qui conduit à l'augmentation de l'activité de certaines enzymes (transaminases, phosphatase alcaline...) dans la circulation sanguine (Nguepi *et al.*, 2021). Plusieurs consommateurs réguliers d'alcool ont l'habitude de prendre du paracétamol pour soulager les maux de tête liés à sa consommation. Par ailleurs, certains patients sous traitement à base de paracétamol, consomment de l'alcool. La consommation simultanée de ces deux substances pourrait être à l'origine de dommages encore plus importants au niveau hépatique (Louvet *et al.*, 2006). Ainsi, la consommation de ces substances hépatotoxiques (paracétamol et alcool) est responsable de nombreux troubles hépatiques, notamment les hépatites qui constituent un réel problème de santé publique, à cause des décès enregistrés dans le monde (Sharma *et al.*, 2012). En effet, environ 2 millions des décès annuels sont liés aux maladies hépatiques (Devarbhavi

et al., 2023). Bien que les recherches approfondies aient contribué à la compréhension des mécanismes impliqués dans l'hépatotoxicité, les traitements n'ont pas changé de manière significative (Benić et al., 2022). L'approche thérapeutique préconisée est l'arrêt de la prise de la substance en cause et la prise d'un médicament hépatoprotecteur tel que le Silybon® dont le principe actif est la silymarine (Vouffo et al., 2012). Dans les cas extrêmes une transplantation hépatique peut être envisagée (Nguepi et al., 2021). Cependant, l'inaccessibilité, le coût élevé du traitement moderne ainsi que les effets secondaires (nausées, douleur gastrique, diarrhées, nausées, dyspepsies et éruptions cutanées) liés à la prise de ces médicaments, poussent les populations à se tourner de plus en plus vers la médecine traditionnelle (Amang et al., 2020). Au Cameroun, malgré l'avancée faite en médecine moderne, la phytothérapie reste très employée pour les soins de santé (Njamen et al., 2013). En effet, les données littéraires révèlent que les composés bioactifs retrouvés dans les plantes, possèdent des effets hépatoprotecteurs en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-oxydantes et anti-apoptotiques (Benić et al., 2022). Il existe un nombre varié de plantes médicinales utilisées pour le traitement des dommages hépatiques telles que : *Morinda lucida*, *Opilia celidifolia* et *Tithonia diversifolia* (Fogha et al., 2015 ; Amang et al., 2020 ; Nguepi et al., 2021). *Ficus lingua* est une plante de la famille des Moraceae retrouvée dans les forêts équatoriales et qui est employée traditionnellement dans le traitement des intoxications et de la fièvre jaune, dans la région du Sud Cameroun. Par ailleurs, les feuilles de cette plante sont également indiquées dans le traitement de la néphrotoxicité et de l'hépatotoxicité induites par la gentamicine (Andji, 2020 ; Mossebo, 2021). Mais aucune information n'a été rapportée sur ses propriétés pharmacologiques contre une intoxication au paracétamol et à l'éthanol.

C'est ainsi que cette étude a été menée afin d'évaluer les effets hépatoprotecteurs de *Ficus lingua* contre les dommages hépatiques induits par l'action combinée de l'éthanol et du paracétamol chez le rat albinos. Spécifiquement, il s'agit de :

- ❖ Evaluer les effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur certains paramètres anthropométriques des rats traités à l'éthanol et au paracétamol ;
- ❖ Evaluer les effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur les marqueurs de la fonction hépatique, les paramètres hématologiques et le statut oxydant des rats traités à l'éthanol et au paracétamol ;
- ❖ Evaluer les effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la microarchitecture de quelques organes des rats traités à l'éthanol et au paracétamol.

Chapitre I : Revue de la littérature

I.1. Généralités sur le foie

I.1.1. Anatomie du foie

Anatomie macroscopique du foie

Le foie humain, de couleur rougeâtre et de masse environ 1,4 kg chez l'adulte, est un organe annexe du tube digestif situé dans la région hypochondriaque droite juste en dessous du diaphragme. Le foie présente deux faces : la face diaphragmatique qui comprend le lobe droit et le lobe gauche ; la face viscérale qui se divise en lobe carré et lobe caudé (Marieb et Hoehn, 2010) (Figure 1).

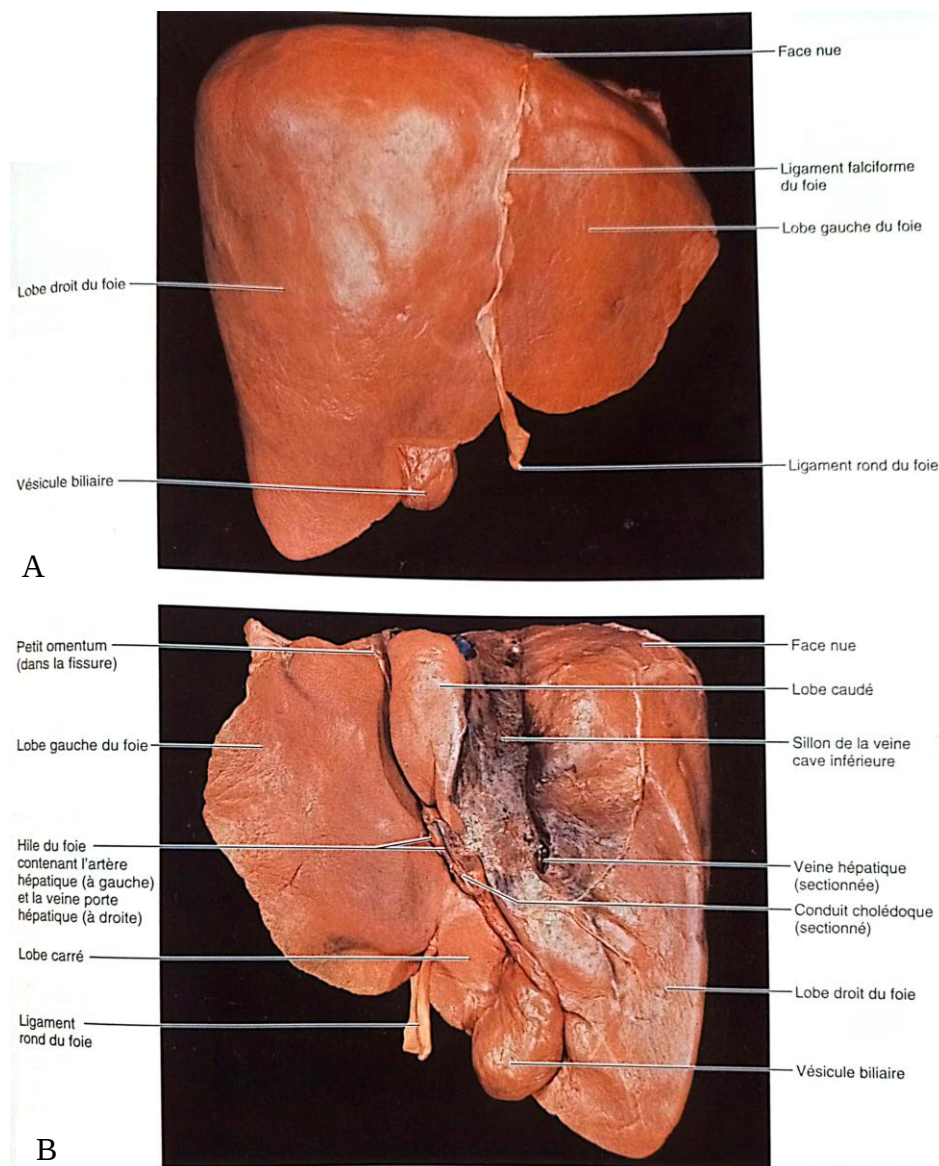


Figure 1 : Anatomie macroscopique de la vue antérieure ou face diaphragmatique (A) et de la vue postéro-inférieure ou face viscérale (B) du foie (Marieb et Hoehn, 2010).

Anatomie microscopique du foie

Le foie est constitué d'unités structurales et fonctionnelles appelées lobules hépatiques. Chaque lobule en forme d'hexagone et à la taille de grain de sésame, est formé de plusieurs cellules, les hépatocytes. Chacun des six coins d'un lobule hépatique comporte un espace interlobulaire ou espace porte dans lequel on retrouve l'artère hépatique, la veine porte hépatique et un conduit biliaire interlobulaire (Ozougwu, 2017 ; Jiu *et al.*, 2019) (Figure 2).

L'artère hépatique et la veine porte sont les deux principaux vaisseaux qui irriguent le foie. En effet, l'artère achemine le sang oxygéné au foie et la veine porte, le sang chargé de nutriments en provenance des viscères digestives. Les sinusoides du foie sont des capillaires dilatés qui envoient le sang provenant de l'artère hépatique et de la veine porte dans les veines centrales du foie. Ces dernières déversent leur contenu dans les veines hépatiques puis dans la veine cave (Marieb et Hoehn, 2010) (Figure 2).

Le foie comporte plusieurs types cellulaires parmi lesquels :

- **Les hépatocytes** : ce sont des cellules polyédriques polarisées de grande taille (Badlis et Haderbach, 2018). Elles constituent les principales cellules du foie qui assurent la plupart de ses fonctions (métabolisme, détoxification...) et représentent environ 60 % des cellules hépatiques (Jiu *et al.*, 2019) ;
- **Les cellules de Kupffer** : elles représentent 15 % des cellules du foie et constituent la paroi des sinusoides (Malarkey *et al.*, 2005). Ce sont des macrophages stellaires (cellules en forme d'étoile) qui débarrassent le sang des débris tels que les bactéries et les globules sanguins usés (Marieb et Hoehn, 2010) ;
- **Les cellules endothéliales** : elles font également partie de la paroi des sinusoides hépatiques (Jiu *et al.*, 2019). Elles représentent environ 20 % des cellules du foie (Malarkey *et al.*, 2005). Leur structure présente des fenêtres qui permettent la filtration du sang (Ozougwu, 2017) ;
- **Les cholangiocytes** : ce sont les cellules épithéliales qui tapissent les canaux biliaires (Jiu *et al.*, 2019). Ils représentent environ 3 à 5 % des types cellulaires du foie. Ils sont responsables de la modification de la concentration de la bile sécrétée par les hépatocytes (Malarkey *et al.*, 2005) ;
- **Les cellules stellaires** : encore appelées cellules de stockage des graisses, ces cellules stockent principalement la vitamine A (Ozougwu, 2017). Elles sont situées dans l'espace de Disse entre les hépatocytes et les sinusoides (Jiu *et al.*, 2019).

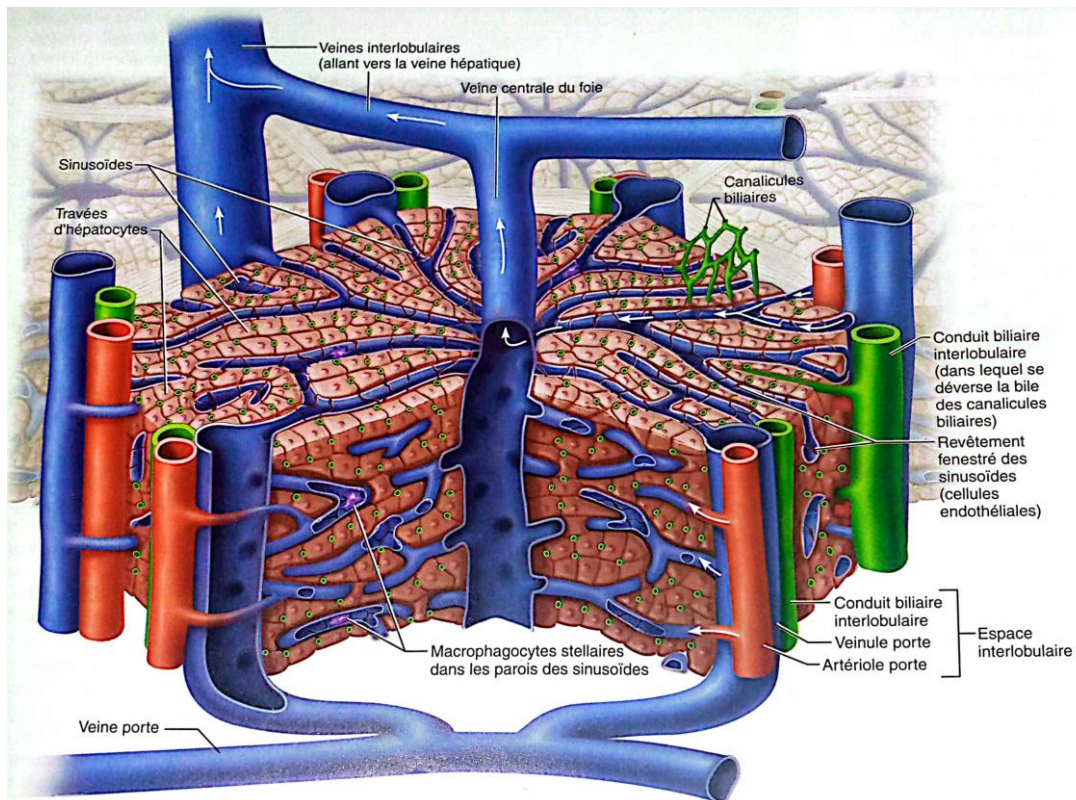


Figure 2 : Anatomie microscopique du foie (Marieb et Hoehn, 2010).

I.1.2. Physiologie du foie

Le fonctionnement du foie est assuré par ses différentes cellules constitutives. Elles sont impliquées dans plusieurs fonctions parmi lesquelles : la sécrétion, le métabolisme et le transport et stockage des nutriments (Pandit *et al.*, 2012).

✚ Fonction sécrétoire

Les cellules du foie interviennent dans la sécrétion de la bile. La bile est un liquide jaunâtre produit par les hépatocytes à raison d'environ 900 mL par jour (Marieb et Hoehn, 2010). Elle se forme par filtration en réponse au gradient osmotique généré par le déplacement des solutés osmotiquement actifs dans les canalicules biliaires. Une fois produite, elle se déplace dans les canalicules biliaires qui déversent leur contenu dans les conduits biliaires (Figure 2). Elle est soit stockée dans la vésicule biliaire soit libérée directement dans la lumière du duodénum (Boyer, 2013). Les sels biliaires qu'elle contient, servent à l'émulsification des graisses issues de l'alimentation (Ozougwu, 2017) et facilitent leur absorption intestinale (Boyer, 2013).

✚ Fonction métabolique

Le foie joue un rôle dans le métabolisme des nutriments et dans le métabolisme de la bilirubine (Ozougwu, 2017). Les nutriments obtenus après digestion des glucides, lipides et

protéines passent dans le sang et la lymphe qui les transportent jusqu'au foie où ils subissent certaines réactions biochimiques.

❖ **Métabolisme des glucides**

Le glucose est le principal produit issu de la digestion des glucides et utilisé dans la production d'énergie (ATP) dans la plupart des cellules de l'organisme (Marieb, 2008). Le foie étant un organe de réserve et de libération du glucose, participe à la régulation de la glycémie qui est le taux de glucose sanguin. En effet, en cas d'hyperglycémie, l'insuline (hormone hypoglycémisante) favorise la mise en réserve de l'excès de glucose sous forme de glycogène dans les hépatocytes : c'est la glycogénogenèse. En cas d'hypoglycémie, le foie stimulé par une hormone hyperglycémisante telle que le glucagon, libère le glucose par dégradation du glycogène : c'est la glycogénolyse. Lorsque les réserves de glycogène sont épuisées, le foie synthétise le glucose à partir de substrats non glucidiques tels que les acides gras et les acides aminés : c'est la néoglucogenèse (Ozougwu, 2017).

❖ **Métabolisme des lipides**

Le foie est l'organe qui participe en majeure partie au métabolisme des lipides. Les lipides issus de la digestion, arrivent au foie par la voie lymphatique (Ozougwu, 2017). Contrairement aux autres cellules de l'organisme, les cellules du foie utilisent les lipides (triglycérides) comme substrats pour produire de l'ATP (Marieb, 2008). Aussi, les lipides permettent la synthèse des lipoprotéines (VLDL, LDL, HDL) qui servent au transport des autres lipides du foie vers les tissus périphériques pour le VLDL et le LDL et vice versa pour le HDL (Marieb et Hoehn, 2010). De plus, les hépatocytes produisent environ 85 % de cholestérol nécessaires pour la synthèse des sels biliaires (Badlis et Haderbach, 2018) et les phospholipides (Ozougwu, 2017). Les lipides qui ne sont pas utilisés par le foie sont libérés dans le sang et vont rentrer dans la composition des membranes cellulaires et servir à la synthèse des hormones stéroïdiennes (Marieb, 2008).

❖ **Métabolisme des protéines**

De nombreuses protéines sont synthétisées par le foie à savoir :

- L'albumine, protéine plasmatique la plus abondante, est synthétisée par les hépatocytes (Onkar *et al.*, 2016). Elle transporte des molécules et maintient la pression artérielle ;
- Les facteurs de la coagulation tels que la prothrombine et le fibrinogène (Mohamad *et al.*, 2014) sont synthétisés (sous forme inactives) pour 90 % par le foie ;
- Les facteurs de croissance et les hormones (Mohamad *et al.*, 2014) ;

- Les acides aminés non essentiels et les enzymes sériques telles que les transaminases, la phosphatase alcaline et la lactate déshydrogénase (Ozougwu, 2017).

Le foie assure aussi la désamination des acides aminés, ce qui favorise leur conversion en glucose (néoglucogenèse) et la conversion de l'ammoniac en urée (Marieb et Hoehn, 2010).

❖ **Métabolisme de la bilirubine**

La bilirubine est un pigment jaune issue de la dégradation des globules rouges particulièrement dans le foie et la rate (Ozougwu, 2017). Lorsque les hématies vieillissent, elles sont prises en charge par les cellules de Kupffer du foie qui les détruisent. L'hémoglobine contenue dans ces hématies se décompose donc en globine et en hème. L'hème est formé du fer qui est recyclé après dégradation et de la porphyrine qui sous l'action de l'hème oxygénase produit la biliverdine (Valášková et Muchová, 2016). Cette dernière est ensuite convertie en bilirubine. La bilirubine produite est libérée dans le plasma et constitue donc la forme non conjuguée de la bilirubine ou bilirubine libre. Celle-ci est alors transportée par l'albumine jusqu'aux hépatocytes au niveau desquelles elle va subir la conjugaison par fixation à l'acide glucuronique (Ozougwu, 2017). La forme conjuguée va être excrétée dans la bile pour se retrouver dans le tube digestif puis, sera éliminée dans les fèces (Valášková et Muchová, 2016).

❖ **Détoxification**

La détoxification consiste en la purification du sang c'est-à-dire l'élimination de substances potentiellement toxiques qu'elles soient endogènes ou exogènes. Le foie se charge donc de filtrer le sang pour le débarrasser des déchets qu'il contient. Les toxines hydrosolubles ne nécessitent pas de transformation et sont facilement éliminées. Par contre, les toxines liposolubles telles que l'alcool, les hormones, certains médicaments doivent subir dans le foie, une biotransformation (détoxification) en molécules hydrosolubles moins toxiques et facilement éliminables par l'organisme (Ozougwu, 2017).

✚ **Fonction de transport et de stockage des nutriments**

Le foie permet le transport et le stockage des nutriments issus du sang. Il stocke les vitamines A, B12 et D au niveau des cellules stellaires (Mohamad *et al.*, 2014 ; Jiu *et al.*, 2019).

I.1.3. Quelques marqueurs biochimiques de la fonction hépatique

✚ **Transaminases**

Les aminotransférases ou transaminases (alanine aminotransférase et aspartate aminotransférase) sont des enzymes largement distribuées dans tout l'organisme et qui catalysent les réactions de transfert de groupement amine. Elles sont principalement retrouvées dans le foie, le rein, le cœur et le muscle squelettique (Dufour *et al.*, 2000). L'aspartate aminotransférase (ASAT) se retrouve à 80 % dans les mitochondries des cellules tandis que

l'alanine aminotransférase (ALAT) est exclusivement cytoplasmique et constitue de ce fait, un meilleur indicateur de l'inflammation ou des dommages hépatiques (Mezui *et al.*, 2019). L'ALAT et l'ASAT étant de bon indicateur de la fonction hépatique, une élévation de leurs activités au-delà des valeurs normales (c'est-à-dire à des valeurs supérieures à et 40 U/L chez l'homme et 31 U/L chez la femme pour l'ALAT et 38 U/L chez l'homme et 31 U/L chez la femme pour l'ASAT), traduirait une dysfonction hépatique (Aragon et Younossi, 2010).

Phosphatase alcaline

La phosphatase alcaline (PAL) est une enzyme produite par les os, le foie, l'intestin et le placenta. Elle est excrétée dans la bile. C'est une estérase qui hydrolyse les fonctions esters phosphoriques de plusieurs types de molécules telles que les nucléines et les alcaloïdes, et libère des phosphates minéraux insolubles (Benmarce *et al.*, 2016). En absence de maladie osseuse ou de grossesse, l'élévation sérique de l'activité de la PAL (les valeurs normales étant comprises entre 20 et 120 U/L) peut être attribuée à un dommage hépatique, empêchant son excrétion par la bile (Aragon et Younossi, 2010).

Bilirubine totale

La bilirubine provient de la destruction des globules rouges par les cellules de Kupffer du foie (Ozougwu, 2017). Elle est classée en bilirubine directe ou conjuguée et bilirubine indirecte ou non conjuguée et ces deux fractions forment la bilirubine totale (Badlis et Haderbach, 2018). Le foie se charge de transformer la bilirubine non conjuguée potentiellement toxique (liposoluble) en bilirubine conjuguée (hydrosoluble) qui est facilement éliminable dans les fèces. Un dysfonctionnement hépatique pourrait engendrer une production accrue de bilirubine au-delà de 1,20 mg/dL qui va alors s'accumuler dans le sang, si elle n'est pas rapidement conjuguée pour être excréter (Arun *et al.*, 2014 ; Aboubakr et Abdelazem, 2016).

Lipides

Plusieurs lipides sont synthétisés dans le foie à l'instar des triglycérides, du cholestérol, des phospholipides et des esters de cholestérol. De par leur insolubilité dans l'eau, ces lipides sont transportés dans la circulation sanguine, grâce aux lipoprotéines également produites par le foie (Sharma *et al.*, 2012). Une augmentation des taux de triglycérides (> 160 mg/dL chez l'homme et > 135 mg/dL chez la femme) et de cholestérol (> 200 mg/dL) pourrait être associée à un trouble de leur métabolisme, traduisant ainsi des lésions hépatiques.

Protéines

Le foie contribue à la synthèse de la majeure partie des protéines plasmatiques (albumine, fibrinogène, globulines, *androgen binding protein*) dont le taux normal est compris

entre 6 et 8 g/dL. Ainsi, un taux bas de protéines totales dans le sérum peut signifier un désordre hépatique ou une mauvaise digestion ou absorption de ces protéines. Par contre, un taux élevé de protéines totales dans le sérum impliquerait une inflammation chronique ou une infection hépatique (Mezui *et al.*, 2019).

Glycémie

La glycémie correspond au taux de glucose sanguin chez un individu. Elle est en moyenne de 1 g/L chez un individu sain à jeun. Sa régulation est possible grâce à plusieurs organes notamment le foie qui est sous l'influence des hormones pancréatiques. Le foie est non seulement responsable du stockage de l'excès de glucose sous forme de glycogène, mais aussi de sa libération dans le sang en cas de besoin (Mohamad *et al.*, 2014) ; contrairement aux muscles et aux tissus adipeux qui sont incapables de le libérer dans le sang (Marieb et Hoehn, 2010). Ainsi, les variations de la glycémie pourraient être un reflet du dysfonctionnement du foie.

I.2. Hépatotoxicité

I.2.1. Définition et étiologie

L'hépatotoxicité désigne l'ensemble des lésions hépatiques d'origine médicinale, chimique, diététique ou encore provoquées par des plantes par l'intermédiaire des hépatotoxines. Elle peut être causée par les médicaments (paracétamol, antibiotiques), les substances chimiques comme l'alcool, les substances industrielles (tétrachlorure de carbone) et même certaines plantes (Thompson *et al.*, 2017).

I.2.2. Hépatotoxicité médicamenteuse

L'hépatotoxicité induite par les médicaments constitue la cause la plus courante des cas d'insuffisance hépatique aiguë (environ 10 % des cas rencontrés dans le monde) et représente entre 40 et 50 % des cas de lésions hépatiques (Ponte *et al.*, 2017). Parmi les médicaments à l'origine de l'hépatotoxicité, nous pouvons citer : le paracétamol, les antibiotiques, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antiépileptiques... (Rhyner *et al.*, 2010).

Le paracétamol est utilisé à dose thérapeutique comme analgésique et antipyrétique (Shah *et al.*, 2018). Il est métabolisé au niveau du foie par la cytochrome P-450 mono-oxygénase, en N-acétyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI). Ce métabolite peut être conjugué au glutathion réduit ou au sulfate pour être facilement éliminé de l'organisme (Fogha *et al.*, 2015). Cependant à forte dose, la consommation du paracétamol cause des lésions hépatiques notamment, la nécrose des cellules hépatiques centrolobulaires (Pandit *et al.*, 2012). Ces lésions sont dues à l'accumulation du NAPQI qui est un électrophile toxique. Cet électrophile en

quantité importante dans l'organisme, se fixe sur les macromolécules (lipides et protéines). Il provoque l'oxydation des lipides et l'altération de la structure membranaire et de l'homéostasie du calcium (Fogha *et al.*, 2015), successifs à une baisse des taux des antioxydants tels que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), le glutathion peroxydase (GPx) et le glutathion réduit (GSH) (Singh et Gupta, 2011). La perte de l'intégrité membranaire engendre aussi la libération de nombreuses substances dans la circulation sanguine à l'instar des transaminases, du cholestérol et des triglycérides, responsable de l'élévation sériques des taux de ces substances (Fogha *et al.*, 2015).

I.2.3. Hépatotoxicité liée à la consommation abusive de l'alcool

L'éthanol est une substance potentiellement toxique dont la consommation abusive affecte le foie. En effet, ses effets hépatotoxiques peuvent être liés à son action directe (Feroz et Nahida, 2012) ou à sa métabolisation par les enzymes du CYP2E1, en un métabolite toxique qui est l'acétaldéhyde (Ameaka *et al.*, 2021). Ainsi, la consommation abusive d'alcool entraîne l'infiltration des graisses par remplacement des acides gras par l'alcool dans les mitochondries. Elle pourrait aussi causer l'augmentation de la peroxydation des lipides, aboutissant à l'altération de la composition de la membrane plasmique des hépatocytes et à la perte de son intégrité ; ce qui a comme conséquence la libération de nombreuses molécules intracellulaires. La consommation abusive de l'éthanol provoque par ailleurs, la déplétion du taux de GSH et la baisse de l'activité des enzymes antioxydantes à savoir la SOD, la CAT et la GPx (Feroz et Nahida, 2012), ainsi que la libération des espèces réactives de l'oxygène par les cellules de Kupffer à l'origine du stress oxydant (Singh et Gupta, 2011).

I.3. Traitement de l'hépatotoxicité

Le traitement des cas d'hépatotoxicité implique en premier lieu la suppression de la cause. En plus de cela, la consommation de la silymarine, de la N-acétylcystéine ou même une transplantation hépatique dans les cas extrêmes (Benić *et al.*, 2022).

La silymarine est une substance extraite d'une plante endémique de la région méditerranéenne appelée *Silybum marianum*, appartenant à la famille des Asteraceae (Benmarce *et al.*, 2016). Cette molécule est appelée sous sa forme commerciale, Silybon[®]. Le Silybon[®] est indiqué dans le traitement des lésions hépatiques car la silymarine qui est son principe actif, possède des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et régénératrices (Fraschini *et al.*, 2002). Cependant, ce médicament n'est pas toujours accessible et peut engendrer de nombreux effets secondaires indésirables (Nguepi *et al.*, 2021) notamment les diarrhées, les nausées, les dyspepsies, les maux d'estomac et les éruptions cutanées.

La N-acétylcystéine est surtout utilisée comme antidote en cas d'hépatotoxicité due au paracétamol (Benić *et al.*, 2022). Elle possède la capacité de restaurer les taux de glutathion, ce qui facilite l'élimination du NAPQI.

L'hépatotoxicité entraînant généralement une insuffisance hépatique, le traitement conventionnel peut devenir inefficace ce qui pousse à faire recourt à une transplantation. La transplantation du foie devient dès lors, la procédure indispensable pour sauver la vie du patient (Yoon *et al.*, 2016). Néanmoins, la probabilité de trouver un donneur compatible n'est pas toujours évidente. En cas d'incompatibilité du greffon avec l'organisme receveur, il se produit un rejet de greffe pouvant conduire à la mort du patient.

I.4. Phytothérapie : cas de *Ficus lingua*

L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement des maladies est une pratique ancienne. Dans le cas des maladies hépatiques, plusieurs plantes ont déjà démontré leurs effets thérapeutiques à l'instar de : *Morinda lucida*, *Opilia celtidifolia*, *Tithonia diversifolia*, *Ficus lingua*... (Fogha *et al.*, 2015 ; Amang *et al.*, 2020 ; Mossebo, 2021 ; Nguepi *et al.*, 2021)

I.4.1. Position systématique de *Ficus lingua*

Domaine :	Eukaryote	Sous-classe :	Dillniidae
Règne :	Plantae	Super-ordre :	Urticanae
Sous-règne :	Viridaeplantae	Ordre :	Urticales
Embranchement :	Tracheophyta	Famille :	Moraceae
Sous-embranchement :	Euphyllophytina	Genre :	Ficus
Infra-embranchement :	Radiatopses	Espèce :	<i>Ficus lingua</i> (Siva
Classe :	Magnoliopsida		<i>et al.</i> , 2016)

I.4.2. Répartition géographique de *Ficus lingua*

Le genre *Ficus* constitue l'un des plus grands genres d'angiospermes (Frodin, 2004 ; Murugesu *et al.*, 2021), avec près de 800 espèces d'arbres terrestres, d'arbustes, d'hémi épiphytes et de plantes grimpantes, retrouvées dans les régions tropicales et subtropicales du monde entier. En Afrique, on retrouve environ 105 espèces de *Ficus* (Ronsted *et al.*, 2007) parmi lesquelles *Ficus lingua*, qui pousse préférentiellement dans les forêts denses humides sempervirentes (Chatelain *et al.*, 2001). Cette dernière est retrouvée dans les pays tels que le Cameroun, le Gabon, la République Démocratique du Congo, le Libéria, l'Ouganda, le Kenya, le Malawi, le Mozambique et le Swaziland (Ronsted *et al.*, 2007 ; Tkachenko *et al.*, 2022).

I.4.3. Description de *Ficus lingua*

Ficus lingua est un arbuste à feuilles persistantes, parfois à port grimpant. Il peut devenir un arbre de 30 mètres de haut avec une couronne étalée et très ramifiée (Figure 3). Il

commence souvent sa vie comme épiphyte sur la branche d'un arbre et peut éventuellement avoir des racines aériennes qui, une fois qu'elles atteignent le sol, fournissent des nutriments supplémentaires qui aident à la croissance rapide de la plante (Tkachenko *et al.*, 2022). Ses racines aériennes peuvent encercler complètement le tronc de l'arbre hôte, limitant sa croissance (Pękala-Safińska *et al.*, 2019), d'où l'appellation de ficus étrangleur. *Ficus lingua* possède des feuilles entières et alternes, à limbe de forme elliptique, oblancéolé ou obtriangulaire (1,1-3 x 0,5-1,5 cm). Ces feuilles sont portées par des pétioles de 0,2 à 0,5 cm de long à stiplules persistantes (Ebika *et al.*, 2018).



A : Plante entière

B : Tronc

C : Rameau feuillé

Figure 3 : *Ficus lingua* (Photographies prises par Bouyap, Ambam 2022).

I.4.4. Vertus thérapeutiques de *Ficus lingua*

Les espèces du genre *Ficus* possèdent des propriétés pharmacologiques : analgésiques, anti-inflammatoires, antibactériennes, antifongiques, hypolipémiants, antiulcéreux, antidiabétiques, antipyrétiques, antidiarrhéiques, anticonvulsivantes, antiasthmiques, analgésiques, antioxydantes, hépatoprotectrices (Badgujar *et al.*, 2014 ; Yadav *et al.*, 2015 ; Pękala-Safińska *et al.*, 2019). *Ficus lingua* en particulier, a des propriétés hépatoprotectrices, néphroprotectrices et antibactériennes (Andji, 2020 ; Mossebo, 2021 ; Tkachenko *et al.*, 2022).

I.4.5. Phytochimie de *Ficus lingua*

Les espèces de *Ficus* contiennent un large éventail de phytoconstituants, notamment des phénols, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins, des saponines, des terpénoïdes, des glycosides, des sucres, des protéines, des huiles essentielles et volatiles et des stéroïdes (Murugesu *et al.*, 2021). Ainsi, les plantes appartenant au genre *Ficus* sont considérées comme une bonne source de composés naturels pour traiter, prévenir et contrôler de nombreuses maladies et troubles (Deepa *et al.*, 2018). En outre, les travaux de Mossebo en 2021 ont montré que l'espèce *Ficus lingua* est riche en composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins, les phénols, les triterpènes, les saponines et les anthraquinones.

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Ficus lingua* ont été récoltées dans une forêt équatoriale au Sud du Cameroun, dans le département de la Vallée du Ntem, l'arrondissement d'Ambam. Cet arrondissement se situe entre le 2°15'0'' et le 2°45'0'' de la latitude Nord et entre le 10°55'0'' et 11°40'0'' de la longitude Est. La récolte s'est faite le 1^{er} décembre de l'an 2019 entre 7 h et 8 h du matin. Le choix de la feuille plutôt qu'une autre partie de la plante était basé sur l'usage traditionnel de cette plante dans la localité de récolte.

La plante a été identifiée par Tadjouteu Fulbert à l'Herbier National du Cameroun (HNC), par comparaison à la collection botanique de D.W. Thomas numéro 7895 et enregistrée sous le numéro 57067/HNC.

II.1.2. Matériel animal

Les animaux utilisés étaient des rats mâles et femelles de souche Wistar, âgés de 12 à 14 semaines et pesant entre 150 et 200 g. Ces animaux ont été élevés à l'animalerie de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé dans les conditions ambiantes et sous un cycle nyctéméral naturel. Ils étaient logés dans des bassines en plastique contenant les copeaux de bois et recouvertes de grillages avec libre accès à l'eau. Ils ont été alimentés à la provende de composition suivante : 50 % de maïs, 10 % de tourteau de blé, 10 % de soja, 8 % de farine de poisson, 2 % de farine d'os, 10 % d'arachides, 10 % de palmistes et quelques éléments en trace notamment les vitamines.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de l'extrait aqueux des feuilles *Ficus lingua*

Les feuilles de *Ficus lingua* récoltées, ont été séchées au laboratoire de physiologie animale de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé puis pulvérisées. 900 g de cette poudre ont été infusés dans de l'eau distillée bouillante (9 litres) jusqu'à refroidissement total. La solution obtenue a été filtrée à l'aide du papier filtre Whatman N°4. Le filtrat obtenu a été lyophilisé. La lyophilisation effectuée à l'Institut de Recherches Médicales et d'Etudes des Plantes Médicinales (IMPM), a permis d'obtenir 74,97 g d'extrait aqueux de *Ficus lingua*, soit un rendement de 8,33 % (Figure 4).

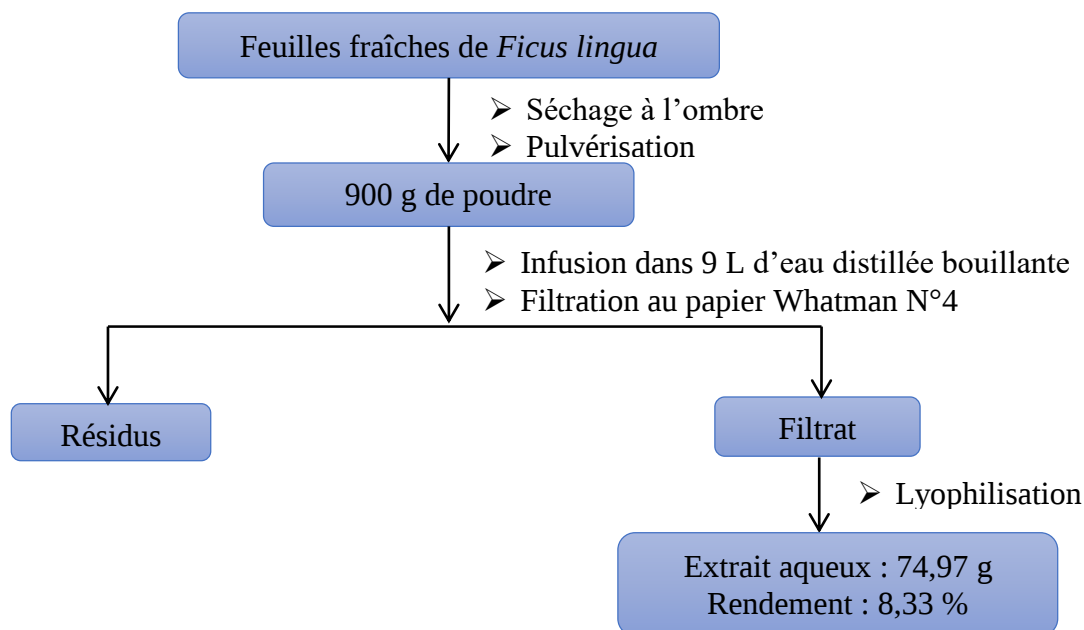


Figure 4 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua*.

II.2.2. Préparation des solutions

❖ Solution d'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* à administrer

L'extrait aqueux de *Ficus lingua* a été administré aux doses 50 ; 100 et 200 mg/kg. Le choix de ces doses était basé sur les travaux menés par Mossebo en 2021, qui traitaient des propriétés hépatoprotectrices de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* contre une intoxication à la gentamicine. Les solutions de concentration 5 ; 10 et 20 mg/mL ont été obtenues en introduisant respectivement 10 ; 20 et 40 mg d'extrait dans des béchers et les volumes ont été complétés avec de l'eau distillée jusqu'à 2 mL. Les mélanges ont été homogénéisés à l'aide d'un agitateur magnétique.

❖ Solution de silymarine

Pour la préparation d'une solution de silymarine 5 mg/mL, un comprimé de Silybon® (silymarine 70 mg, lot SIBY0007, MICRO LABS LIMITED, INDIA) contenant 70 mg de silymarine a été dissout dans de l'eau distillée afin d'obtenir un volume final de 14 mL. Puis, le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un agitateur magnétique.

❖ Solution de paracétamol

Pour préparer une solution de paracétamol de concentration 40 mg/mL, un comprimé de paracétamol (paracétamol 500 mg, lot H230202, UBITHERA, INDIA) a été introduit dans une fiole jaugée et le volume a été complété à 12,5 mL avec de l'eau distillée. Puis, le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un agitateur magnétique.

❖ **Solution d'éthanol 40°**

L'obtention de la solution d'éthanol 40° a été réalisée par dilution d'une solution d'éthanol 95° suivant la table de Gay Lussac. C'est ainsi qu'à 100 mL d'éthanol 95° introduits dans une fiole jaugée, ont été ajoutés 144,46 mL d'eau distillée et le mélange a été homogénéisé.

❖ **Tampon Tris-HCl 50 mM pH 7,4**

Pour la préparation du tampon Tris, 1,21 g de Tris et 2,79 g de chlorure de potassium (KCl) ont été dilués dans 333 µL d'acide chlorhydrique (HCl) 12 N et le volume a été complété à 250 mL avec de l'eau distillée.

❖ **Solution de formaldéhyde 10 %**

La préparation de la solution de formaldéhyde 10 % s'est faite à partir du formol commercial à 30 %. Pour un volume final de 1000 mL, un volume initial de 333,33 mL de formaldéhyde à 30 % a été introduit dans une fiole jaugée et le volume final a été complété par ajout d'eau distillée. Le mélange a été homogénéisé grâce à un agitateur magnétique.

II.2.3. Protocole expérimental

Le protocole utilisé a été adapté à partir de celui de Muhammed *et al.* en 2019. Pour cette expérimentation, 48 rats de souche wistar ont été randomisés en 8 groupes de 6 rats chacun, avec un sexe ratio de 3 mâles et 3 femelles. Ces animaux ont été co-traités pendant 7 jours consécutifs tel que suit (Figure 5) :

- le groupe 1, témoin normal a reçu de l'eau distillée (10 mL/kg, *po*) et une heure plus tard a encore reçu de l'eau distillée (10 mL/kg, *po*) ;
- le groupe 2, témoin négatif 1 a reçu de l'eau distillée (10 mL/kg, *po*) puis de l'éthanol 40° (400 mg/kg, *po*) une heure plus tard ;
- le groupe 3, témoin négatif 2 a reçu de l'eau distillée (10 mL/kg, *po*) puis du paracétamol (400 mg/kg, *po*) une heure plus tard ;
- le groupe 4, témoin négatif 3 a reçu de l'eau distillée (10 mL/kg, *po*) puis une heure plus tard, a reçu simultanément de l'éthanol 40° (400 mg/kg, *po*) et du paracétamol (400 mg/kg, *po*) ;
- les groupes 5, 6 et 7 ou groupes tests ont reçu l'extrait aqueux de *Ficus lingua* (EAFI) aux doses 50 ; 100 et 200 mg/kg (*po*) respectivement et une heure plus tard, ces groupes ont reçu simultanément de l'éthanol 40° (400 mg/kg, *po*) et du paracétamol (400 mg/kg, *po*) ;
- le groupe 8, témoin positif a reçu la silymarine (50 mg/kg, *po*) et une heure plus tard, a reçu simultanément de l'éthanol 40° (400 mg/kg, *po*) et du paracétamol (400 mg/kg, *po*).

Le volume de solution d'éthanol 40° (Vs) à administrer a été déterminé à partir la formule :

$$Vs = \frac{Veth \times 100}{D^{\circ}} \text{ avec } Veth = \frac{m}{\rho}$$

- **Veth** : volume d'éthanol contenu dans la solution d'éthanol 40° (mL) ;
- **D°** : degré alcoolique (°) ;
- **ρ** : masse volumique de l'éthanol égale à 789 kg/m³ ;
- **m** : masse d'éthanol à administrer égale à 400 mg.

Le volume des autres substances à administrer a été déterminé à partir de la formule :

$$V = \frac{D \times P}{C}$$

- **V** : volume de la substance à administrer (mL) ;
- **D** : dose à administrer (mg/kg) ;
- **P** : poids corporel de l'animal (kg) ;
- **C** : concentration de la solution (mg/mL).

II.2.4. Sacrifice des animaux

Le jour suivant la fin du traitement des animaux (8^e jour), ces derniers ont été pesés à l'aide d'une balance électronique et leurs glycémies mesurées grâce à un glucomètre de marque ACCU CHEK ACTIVE, après un jeûne non hydrique de 12 heures.

Par la suite, ces animaux ont été anesthésiés avec de l'éther et le sang prélevé par ponction cardiaque à l'aide d'une seringue. Le sang a été introduit dans des tubes secs et des tubes EDTA. Après centrifugation (3000 tours/min pendant 15 minutes) du sang contenu dans les tubes secs, les séra obtenus ont été conservés au réfrigérateur dans des tubes Eppendorfs pour le dosage de quelques biomarqueurs de la fonction hépatique. Le sang contenu dans les tubes EDTA a permis d'évaluer les paramètres hématologiques.

Ensuite, le foie, les reins, les glandes surrénales, le cœur, les poumons et la rate ont été prélevés et pesés. Une partie du grand lobe du foie a servi à la réalisation d'homogénats. Pour ce faire, 1 g de foie a été broyé dans un mortier à froid sur glace puis mélangé avec 4 mL de solution de tris. Les homogénats obtenus ont été introduits dans des tubes secs pour centrifugation à 3000 tours/min pendant 15 minutes. Puis les surnageants ont été conservés au réfrigérateur dans des tubes Eppendorfs pour le dosage de quelques marqueurs du stress oxydant.

La partie du foie restante ainsi que les autres organes prélevés ont été conservés dans de la formaline 10 % pour la réalisation des coupes histologiques (Figure 5).

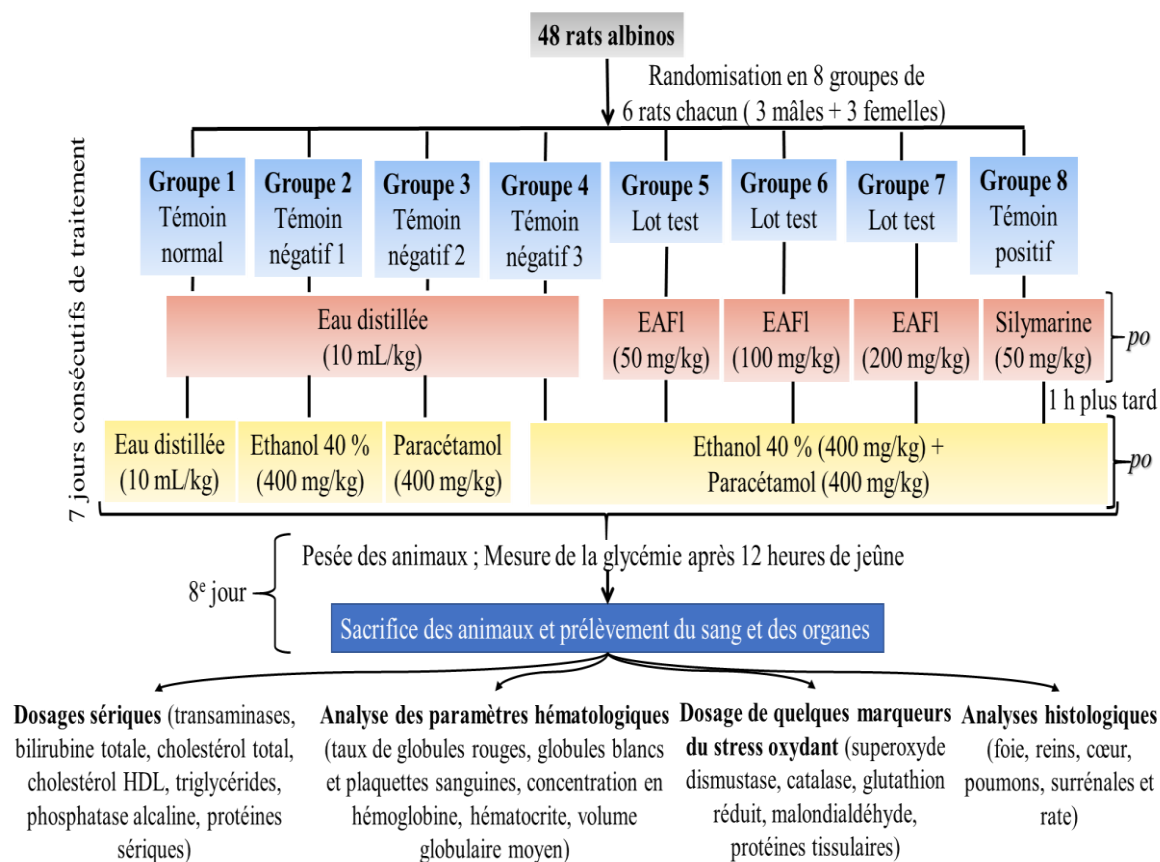


Figure 5 : Schéma synoptique du protocole expérimental.

II.2.5. Evaluation des paramètres anthropométriques

+ Variation de la masse corporelle

La variation de la masse corporelle des animaux (Δm) au terme de la manipulation a été déterminée grâce à la formule ci-après :

$$\Delta m = \frac{(\text{Masse finale} - \text{Masse initiale}) \times 100}{\text{Masse initiale}}$$

+ Masse relative

La masse relative des organes prélevés a été évaluée à partir de la formule suivante :

$$\text{Masse relative} = \frac{\text{Masse de l'organe} \times 100}{\text{Masse de l'animal}}$$

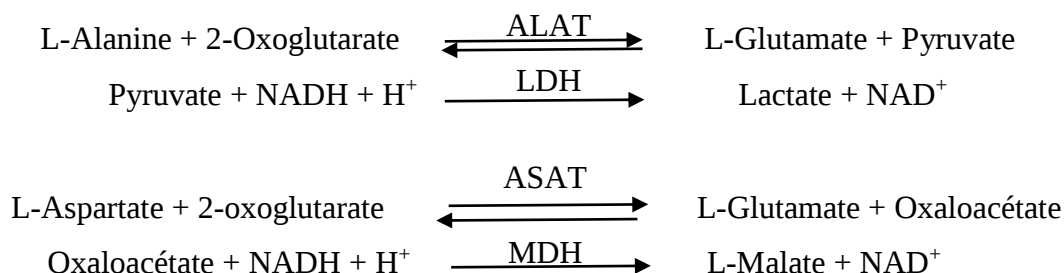
II.2.6. Dosage des marqueurs de la fonction hépatique

Le sérum obtenu après centrifugation du sang a été utilisé pour déterminer les activités d'alanine aminotransférase (ALAT), d'aspartate aminotransférase (ASAT), de phosphatase alcaline et les taux de bilirubine totale, de cholestérol total, de cholestérol HDL, de triglycérides et de protéines totales.

+ Dosage des transaminases

❖ Principe

L'ALAT et l'ASAT catalysent le transfert du groupement amine respectivement de l'alanine à l'oxoglutarate avec formation de pyruvate et de glutamate et de l'aspartate à l'oxoglutarate pour former l'oxaloacétate et le glutamate. Le pyruvate et l'oxaloacétate vont réagir chacun avec le nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH, H⁺) pour être réduit respectivement en lactate en présence de la lactate déshydrogénase (LDH) et en malate en présence de malate déshydrogénase (MDH) suivant les équations :



La conversion du NADH en nicotinamide adénine dinucléotide oxydé (NAD⁺) provoque une diminution de l'absorbance qui est proportionnelle à l'activité de l'ALAT ou de l'ASAT dans l'échantillon et mesurée à 340 nm.

❖ Mode opératoire

Le dosage des transaminases a été réalisé à l'aide du kit LABKIT et le protocole suivi est présenté par le Tableau I.

Tableau I : Protocole de dosage des transaminases

Echantillon (µL)	100
Réactif de travail (µL)	1000
Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé à température ambiante pendant 10 minutes. Les absorbances des échantillons ont ensuite été lues contre l'eau distillée à 0 ; 1 ; 2 et 3 minutes avec un spectrophotomètre de marque URIT 810 à 340 nm.	

L'activité enzymatique de l'ALAT est obtenue par la formule :

$$\text{Activité ALAT ou ASAT (U/L)} = \Delta A / \text{min} \times 1750$$

$\Delta A / \text{min}$: moyenne des variations de l'absorbance par minute.

🚦 Dosage de la bilirubine totale

❖ Principe

La réaction entre la bilirubine et l'acide sulfanilique diazoté conduit à la formation d'un composé, l'azobilirubine coloré en milieu très acide ou basique. Pour doser la bilirubine totale, il est nécessaire de rompre la liaison entre la bilirubine indirecte et l'albumine ceci grâce à l'addition de diméthyl-sulfoxyde. L'absorbance de l'azobilirubine est proportionnelle à la concentration en bilirubine et est mesurée à 550 nm.

❖ Mode opératoire

Le mode opératoire est décrit dans le kit de dosage conçu par LABKIT et résumé dans le Tableau II.

Tableau II : Protocole de dosage de la bilirubine totale

	Blanc	Echantillon
Réactif 1 (mL)	1,5	1,5
Réactif 2 (mL)	-	50
Standard / échantillon	100	100

Le mélange a été agité à l'aide du vortex puis incubé pendant 5 minutes à température ambiante. L'absorbance des tubes échantillons a été lue contre le blanc à 546 nm.

La concentration en bilirubine totale de chaque échantillon a été calculée en appliquant la formule suivante :

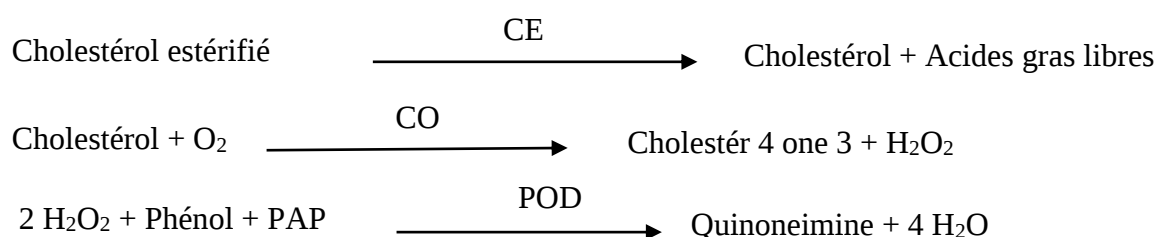
$$[\text{Bilirubine totale}] \text{ (mg/dL)} = (\text{Abs de l'échantillon} - \text{Abs du blanc}) \times 530$$

Abs : absorbance.

🚦 Dosage du cholestérol total

❖ Principe

Les esters de cholestérol sont séparés par le cholestérol estérase (CE) en acides gras et en cholestérol. Le cholestérol est oxydé en présence de cholestérol oxydase (CO) pour donner le cholestérone et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier entre en réaction avec le phénol et le 4-amino-antipyrine (PAP) pour former la quinoneimine (complexe rose) et l'eau (H₂O). Cette réaction est catalysée par la peroxydase (POD).



La quinoneimine est mesurée par photométrie colorimétrique et l'intensité de sa coloration est proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon.

❖ Mode opératoire

Le protocole de dosage du cholestérol total a été fourni par le kit de dosage LABKIT et est décrit dans le Tableau III.

Tableau III : Protocole de dosage du cholestérol total

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10	-	
Standard (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)		-	10
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000

Après agitation, le mélange a été incubé à température ambiante pendant 10 minutes. Les absorbances des échantillons et du standard ont été lues contre le blanc au spectrophotomètre à 500 nm.

La concentration du cholestérol total a été déterminée par la formule ci-dessous :

$$[\text{Cholestérol total}](\text{mg/dL}) = \frac{(\text{Abs de l'échantillon} - \text{Abs du blanc}) \times C}{\text{Abs du standard} - \text{Abs du blanc}}$$

Abs : absorbance ; C : concentration du standard (200 mg/dL).

Dosage du cholestérol HDL

❖ Principe

Les lipoprotéines de faible densité (LDL), les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et chylomicrons de l'échantillon sont précipités par l'acide phosphotungstique et le chlorure de magnésium. Après centrifugation, le cholestérol HDL obtenu dans le surnageant est dosé par le réactif de dosage du cholestérol total.

❖ Mode opératoire

Le mode opératoire suivi pour le dosage du cholestérol HDL est celui proposé par le kit de dosage LABKIT et comprend deux phases : une phase de précipitation (Tableau IV) et une phase de quantification (Tableau V).

Tableau IV : Précipitation des VLDL-cholestérol et des LDL-cholestérol

	Echantillon
Echantillon (µL)	1000
Précipitant dilué (µL)	100

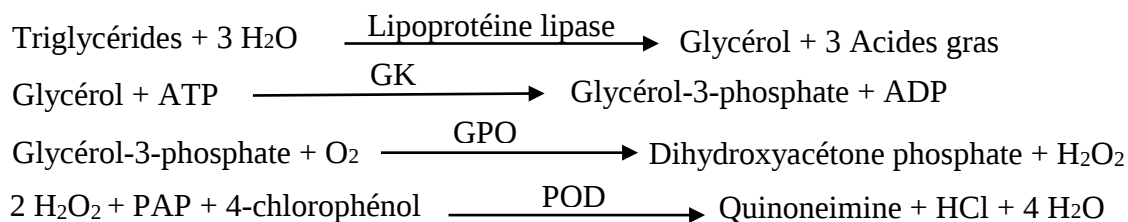
Le mélange a été agité et laissé à température ambiante pendant 10 minutes. Après incubation, les échantillons ont été centrifugés à 4000 tours/minutes pendant 20 minutes à 37 °C. Le surnageant (échantillon) a été pipeté pour le dosage du HDL-Cholestérol.

Tableau V : Protocole de dosage du cholestérol HDL

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10	-	-
Standard (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000

Après agitation, le mélange a été incubé à 37 °C dans un bain-marie pendant 5 minutes. Les absorbances des échantillons et du standard ont été lues contre le blanc réactif au spectrophotomètre à la longueur d'onde 500 nm.

La réaction de dégradation des triglycérides en glycérol et acides gras est catalysée par la lipase. Le glycérol formé réagit avec l'adénosine triphosphate (ATP) sous l'action de la glycérol kinase (GK) pour donner l'adénosine diphosphate (ADP) et le glycérol-3-phosphate. L'oxydation de ce dernier en présence de glycérol-3-phosphate oxydase (GPO) aboutit à la formation de dihydroxyacétone phosphate et de H₂O₂. A son tour, le peroxyde d'hydrogène entre en réaction avec le 4-chlorophénol et le PAP générant ainsi la quinoneimine et l'eau, ceci sous l'action de la POD.



L'absorbance de la quinoneimine mesurée à 500 nm, est proportionnelle à la concentration en triglycérides dans l'échantillon.

❖ Mode opératoire

Le protocole de dosage des triglycérides est décrit dans le kit de dosage LABKIT et présenté dans le Tableau VI ci-dessous.

Tableau VI : Protocole de dosage des triglycérides

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10	-	-
Standard (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000
Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé à température ambiante pendant 10 minutes puis les densités optiques ont été lues contre le blanc à 546 nm.			

La formule qui a servi au calcul de la concentration en triglycérides dans les échantillons est la suivante :

$$[\text{Triglycérides}](\text{mg/dL}) = \frac{(\text{Abs de l'échantillon} - \text{Abs du blanc}) \times C}{\text{Abs du standard} - \text{Abs du blanc}}$$

Abs : absorbance ; C : concentration du standard (200 mg/dL).

🚦 Dosage de la phosphatase alcaline

❖ Principe

En milieu alcalin, les phosphatases alcalines catalysent l'hydrolyse du p-nitro phényl phosphate en p-nitrophénol et phosphate. La vitesse d'apparition du p-nitrophénol, proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline est mesurée à 405 nm.

❖ Mode opératoire

Le dosage de la PAL s'est fait en suivant le protocole décrit par le kit de dosage de marque LABKIT et illustré dans le Tableau VII.

Tableau VII : Protocole de dosage de la phosphatase alcaline

Réactif	1000 µL
Calibrant	10 µL

Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé à température ambiante. Après 1 minute, l'absorbance a été lue contre l'eau distillée au spectrophotomètre à 405 nm puis toutes les minutes pendant 3 minutes.

L'activité de la phosphatase alcaline a été déterminée par la formule :

$$\text{Activité PAL (UI/L)} = \Delta A/\text{min} \times 5450$$

$\Delta A/\text{min}$: moyenne des variations de l'absorbance par minute.

Dosage des protéines totales sériques

La méthode utilisée pour le dosage des protéines totales est celle de Biuret décrite par Henry *et al.* (1974).

❖ Principe

En milieu basique, le tartrate de sodium et de potassium forme un complexe soluble avec les ions Cu^{2+} . L'ajout d'une protéine ajoutée rompt le complexe formé et cette protéine se lie au cuivre pour former un complexe de coloration violette. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans la solution (Gornall *et al.*, 1949).

❖ Mode opératoire

Le dosage des protéines totales a été réalisé suivant la méthode de Biuret, le protocole de dosage étant présenté dans le Tableau VIII.

Tableau VIII : Protocole de dosage des protéines totales

	Blanc			Etalons				Echantillons	
Tubes	0	1	2	3	4	5	6	X1 Xn	
SAB (µL)	0	50	100	150	200	250	300	-	-
Eau distillée (µL)	600	550	500	450	400	350	300	590	590
Réactif de Biuret (µL)	400	400	400	400	400	400	400	400	400
Echantillons (µL)	-	-	-	-	-	-	-	10	10
Quantité de protéines (mg)	0	0,15	0,30	0,45	0,60	0,75	0,90	-	-

Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé pendant 10 minutes à température ambiante. L'absorbance a été lue contre le blanc réactif à 540 nm.

SAB : Serum Albumin Bovin ; **0** : Tube blanc ; **1-6** : Tubes étalons ; **X1-Xn** : Tubes échantillons.

La courbe d'étalonnage a été obtenue en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons à la quantité de protéines. La quantité de protéines contenue dans chaque échantillon a été déterminée à partir de la droite d'équation $y = ax$ (Annexe A).

II.2.7. Evaluation des paramètres hématologiques

Le sang recueilli dans les tubes EDTA a permis de déterminer les taux de globules rouges, globules blancs et plaquettes sanguines, la concentration en hémoglobine, l'hématocrite et le volume globulaire moyen, directement grâce à un analyseur automatique de marque Mindray BC 3000. Cet appareil, après avoir aspiré le sang, effectue automatiquement la numération des cellules sanguines, ceci par lyse différentielle des hématies.

II.2.8. Dosage des paramètres du statut oxydant

Le surnageant recueilli après centrifugation des homogénats a servi pour le dosage des paramètres du statut oxydant tels que la superoxyde dismutase, la catalase, le glutathion réduit, le malondialdéhyde et les protéines totales.

Dosage de la superoxyde dismutase

❖ Principe

La superoxyde dismutase (SOD) présente dans un échantillon inhibe l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome. La variation de l'absorbance est proportionnelle à l'activité de la SOD et est notée entre 20 et 80 secondes à 480 nm (Misra et Fridovich, 1972).

❖ Préparation des solutions

- **Tampon carbonate (0,05 M ; pH = 10,2)**

Le tampon carbonate (0,05 M ; pH = 10,2) a été préparé en faisant dissoudre 4,5 g de carbonate de sodium (Na_2CO_3 , 10 H_2O) et 4,2 g de carbonate monosodique (NaCO_3) dans 500 mL d'eau distillée. Le pH de la solution a été ajusté à 10,2 avec de la soude 1 M et le volume complété à 1000 mL avec de l'eau distillée.

- **Solution d'adrénaline 0,06 mg/mL**

La solution d'adrénaline 0,06 mg/mL a été préparée à l'abri de la lumière, en dissolvant 6 mg d'adrénaline dans de l'eau distillée pour un volume final de 100 mL.

❖ Mode opératoire

Le dosage de la SOD a été réalisé comme décrit dans le Tableau IX.

Tableau IX : Protocole de dosage de la superoxyde dismutase

	Blanc réactif	Echantillon
Homogénats (µL)	-	134
Tampon carbonate 0,05 M, pH 10,2 (µL)	1800	1666
Adrénaline 0,3 mM (µL)	200	200

Après homogénéisation, l'absorbance des tubes tests à 480 nm a été mesurée à 20 et à 80 secondes contre le blanc.

L'activité de la SOD a été déterminée comme suit :

- La variation de l'absorbance : $\Delta A (\text{min}) = A_{20\text{s}} - A_{80\text{s}}$;

- % d'inhibition = $100 - (\Delta A_{\text{échantillon}} \times 100 / \Delta A_{\text{blanc}}) = n$ unités de SOD ;
- **L'activité spécifique de la SOD (unité d'activité de SOD/g d'organes) = nombre d'unité de SOD/mL/g d'organes x f.**

A_{20s} : Absorbance mesurée à 20 secondes ; **A_{80s}** : Absorbance mesurée à 80 secondes ;
ΔA_{échantillon} : Variation de l'absorbance de l'échantillon ; **ΔA_{blanc}** : Variation de l'absorbance du blanc ; **f** : Facteur de dilution ; 50 % d'inhibition équivaut à une unité de SOD.

Dosage de la catalase

❖ **Principe**

Le H₂O₂ est rompu en présence de la catalase et le résidu qui en résulte se lie au dichromate de potassium pour former un précipité instable d'acide perchlorique de coloration bleue verte, qui va être décomposé par la chaleur et former un complexe vert (Sinha, 1972).

❖ **Préparation des solutions**

- **Solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM**

La solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM a été obtenue en diluant 243 μL de peroxyde d'hydrogène 35 % dans de l'eau distillée pour un volume final de 50 mL.

- **Solution de dichromate de potassium 5 %/acide acétique glacial**

La solution de dichromate de potassium 5 % a été préparée en faisant dissoudre 2,5 g de dichromate de potassium dans de l'eau distillée pour un volume total de 50 mL. Ensuite, 150 mL d'acide acétique glacial y ont été ajoutés.

❖ **Mode opératoire**

La courbe d'étalonnage de l'activité de la catalase a été réalisée à partir des données consignées dans le tableau X.

Tableau X : Etalonnage de l'activité de la catalase

Tubes	1	2	3	4	5
Volume de H₂O₂ (50 mM) (μL)	0	20	40	80	160
Solution de dichromate/ acide acétique (mL)	2	2	2	2	2
Après formation d'un précipité bleu, le mélange est chauffé jusqu'à ébullition pendant 10 minutes (apparition de la couleur verte de l'acétate chromique) et refroidi à température ambiante.					
Eau distillée (μL)	1000	980	960	920	840
La lecture de l'absorbance s'est faite à 570 nm.					

La courbe d'étalonnage a été tracée en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons aux concentrations de H₂O₂.

Le dosage de la catalase a été réalisé comme décrit dans le Tableau XI.

Tableau XI : Protocole de dosage de la catalase

	Blanc réactif	Echantillon
Eau distillée (µL)	50	-
Homogénats (µL)	-	50
Tampon phosphate 0,1 mM ; pH 7,5 (µL)	750	750
Peroxyde d'hydrogène 50 mM (µL)	200	200
Incubation pendant 1 minute à température ambiante.		
Dichromate de potassium/acide acétique glacial (µL)	2000	2000
Les tubes ont été bouchés à l'aide des billes de verre et les solutions ont été chauffées à ébullition pendant 10 minutes. Après refroidissement, l'absorbance des échantillons a été lue contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre Urit-810 à 570 nm.		

L'activité spécifique de la catalase a été déterminée à partir de la formule suivante :

$$\text{Activité CAT (mM de H}_2\text{O}_2/\text{min/g d'organes)} = \frac{\Delta\text{DO}}{a \times t \times m}$$

ΔDO : DO essai - DO blanc ; **a** : Pente de la courbe d'étalonnages ; **t** : Durée de la réaction (1 minute) ; **m** : Masse de l'organe (g).

Dosage du glutathion réduit

❖ **Principe**

L'acide dinitro-2,2'-dithio-5,5'-dibenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements thiols (-SH) du glutathion et forme un complexe jaune dont l'absorption est maximale à 412 nm (Ellman, 1959).

❖ **Préparation des solutions**

- **Tampon tris-HCl (50 mM ; pH = 7,4)**

Pour la préparation de ce tampon, 1,21 g de tris base (NaHPO₄) et 2,79 g de chlorure de potassium (KCl) ont été dissous dans de l'eau distillée pour un volume total de 250 mL. Le pH a été ajusté à 7,4 par ajout d'acide chlorhydrique (HCl) 11,8 N et le volume a été complété à 500 mL avec de l'eau distillée.

- **Tampon phosphate (0,1 M ; pH = 6,5)**

Le tampon phosphate a été préparé en faisant dissoudre 8,9 g de phosphate disodique hydraté (Na₂HPO₄ ; H₂O) dans de l'eau distillée pour un volume total de 500 mL (solution A). 6,5 g de phosphate monosodique hydraté (NaH₂PO₄ ; H₂O) ont été dissous dans 250 mL d'eau distillée, puis le volume a été complété à 500 avec de l'eau distillée (solution B). Le pH de la solution B a été ajusté à 6,5 avec la solution A.

- **Réactif de Ellman**

Pour la préparation du réactif de Ellman, 5 mg d'acide 2-dithio bis-nitrobenzène (DTNB) ont été dissous dans du tampon phosphate (0,1 M ; pH = 6,5) pour un volume final de 250 mL.

Tableau XII : Protocole de dosage du glutathion réduit

	Blanc réactif	Echantillon
Tampon Tris-HCl 50 mM, pH 7,4/ tampon Mc-Even (µL)	100	-
Homogénats (µL)	-	100
Réactif de Ellman	1500	1500

Les tubes ont été agités et incubés pendant 60 minutes à température ambiante et les absorbances des échantillons ont été lues contre le blanc à 412 nm.

La concentration du glutathion réduit dans chaque échantillon a été déterminée par la formule suivante :

$$[\text{GSH}](\text{mol/g d'organes}) = \frac{\Delta\text{DO}}{\epsilon \times L \times m}$$

ΔDO : DO essai - DO blanc ; L : Trajet optique (1 cm) ; ϵ : Coefficient d'extinction molaire ($13600 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) ; m : Masse de l'organe (g).

Dosage du malondialdéhyde

❖ Principe

En milieu acide et chaud, le malondialdéhyde réagit avec l'acide thiobarbiturique pour donner un complexe rose qui absorbe la lumière à 530 nm (Wilbur *et al.*, 1949), l'intensité de la coloration étant proportionnelle à la quantité de MDA présente dans le milieu.

❖ Préparation des solutions

• Tampon Mc-Even

Pour la préparation de la solution de Mc-Even, 8,6 g de NaCl, 0,42 g de KCl, 0,109 g de NaH_2PO_4 , 1 g de CO_3NaH , 0,03 g de MgCl_2 et 2 g de $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ont été dissous dans de l'eau distillée pour un volume de 500 mL (solution A). Ensuite, 0,28 g de CaCl_2 ont été dissous dans de l'eau distillée pour un volume de 50 mL (solution B). Les solutions A et B ont été mélangées et le volume complété à 1000 mL par ajout d'eau distillée.

• Solution d'acide trichloroacétique 20 %

La solution d'acide trichloroacétique 20 % a été obtenue en dissolvant 20 g d'acide trichloroacétique dans de l'eau distillée pour un volume total de 100 mL.

• Solution d'acide thiobarbiturique 0,67 %

La solution d'acide thiobarbiturique 0,67 % a été obtenue en dissolvant 0,67 g d'acide thiobarbiturique dans 50 mL d'eau distillée. Le volume a ensuite été complété à 100 mL par ajout d'eau distillée.

❖ Mode opératoire

Le dosage du malondialdéhyde a été réalisé comme décrit dans le Tableau XIII.

Tableau XIII : Protocole de dosage du malondialdéhyde

	Blanc réactif	Echantillon
Tampon Tris-HCl 50 mM, pH 7,4/ tampon Mc-Even (µL)	250	-
Homogénats (µL)	-	250
TCA 20 % (µL)	125	125
TBA 0,67 % (µL)	250	250

Les tubes ont été bouchés à l'aide de billes de verre, chauffés à 90°C au bain-marie pendant 10 minutes, puis refroidis à l'eau et centrifugés à 3000 tours/min à température ambiante pendant 15 minutes. Le surnageant a été pipeté et l'absorbance lue à 530 nm contre le blanc.

La concentration en MDA dans chaque échantillon a été déterminée par la formule :

$$[\text{MDA}] \text{ (mol/g d'organes)} = \frac{\Delta\text{DO}}{\epsilon \times L \times m}$$

ΔDO : DO essai - DO blanc ; L : Trajet optique (1 cm) ; ϵ : Coefficient d'extinction molaire (15600 mol⁻¹.cm⁻¹) ; m : Masse de l'organe (g).

Dosage des protéines totales tissulaires

Le principe et le mode opératoire sont les mêmes que ceux décrits pour les protéines totales sériques.

II.2.9. Analyse histologique

Elle consiste en une observation au microscope d'un tissu ou d'un organe. La technique utilisée était l'analyse histologique avec inclusion en paraffine. Cette technique se déroule en plusieurs étapes après prélèvement des organes à savoir : fixation, recoupe, déshydratation, inclusion, coupe, coloration, montage et observation (Kim *et al.*, 2019).

➤ **Fixation** : elle consiste à préserver les cellules et les constituants tissulaires dans un état aussi proche que possible de celui du vivant. Les organes prélevés après le sacrifice des animaux ont été conservés dans de la formoline 10 % tamponnée.

➤ **Recoupe ou « trimming »** : après fixation, chaque organe a été coupé et les fragments obtenus ont été placés dans des cassettes en plastique préalablement étiquetées.

➤ **Déshydratation** : elle se déroule en trois étapes à savoir : la déshydratation proprement dite, l'éclaircissement et l'imprégnation.

- Déshydratation proprement dite : les cassettes ont séjourné successivement dans des bains d'éthanol de concentration croissante : éthanol 70° (1 h) → éthanol 95° (1 h) → éthanol 95° (1 h 30) → éthanol 100° (1 h) → éthanol 100° (1 h 30) → éthanol 100° (2 h).
- Eclaircissement : suite au passage dans les différents bains d'éthanol, les cassettes ont séjourné dans deux bains de xylène pendant une heure et une heure trente respectivement.

- Imprégnation : elle consiste à faire séjourner les cassettes dans trois bains de paraffine en fusion (60 °C) pendant une heure, une heure et trente minutes et deux heures respectivement, afin que la paraffine pénètre parfaitement à l'intérieur des tissus.

➤ **Inclusion** : les fragments d'organes ont tout d'abord été déposés dans des moules en inox suivant une orientation précise. Par la suite, ces moules ont été remplis de paraffine en fusion et enfin, l'ensemble a été mis à solidifier sur une plaque réfrigérante pour en former des blocs.

➤ **Coupe au microtome** : la coupe de ces blocs de paraffine a été réalisée à l'aide d'un microtome de marque Reichert-Jung 2030 pour obtenir une épaisseur de 5 µm. Les sections de rubans obtenues après coupe ont été mises à déplier dans un bain-marie contenant de l'eau gélatinée 1 % à environ 40 °C. Elles ont été par la suite récupérées sur des lames de verre étiquetées et séchées à l'étuve à 45 °C pendant vingt-quatre heures.

➤ **Coloration** : les colorations ne pouvant être effectuées sur une coupe paraffinée, les coupes ont d'abord été déparaffinées. Ainsi, les coupes ont séjourné dans 3 bains de xylène (5 minutes par bain). Elles ont par la suite été réhydratées en passant successivement dans des bains d'éthanol de degrés décroissants (3 bains d'éthanol 100°, 1 bain d'éthanol 95°, et un bain d'éthanol 70°) et rincées à l'eau distillée pendant 5 minutes. Après réhydratation, la technique de coloration à l'hématoxyline-éosine (HE) a été utilisée. Les lames ont été plongées dans l'hématoxyline de Mayer pendant 10 minutes puis rincées à l'eau courante. Ensuite, elles ont été plongées successivement dans des bacs contenant de l'éthanol 70° et 90°, 5 minutes par bain. Les lames ont enfin séjourné 5 minutes dans de l'éosine alcoolique 0,5 %.

➤ **Montage et observation** : après la coloration, les lames ont été déshydratées dans trois bains d'éthanol 100° puis, éclaircies dans trois bains de xylène (5 minutes par bain). Une fois sortie du xylène, quelques gouttes de résine ont été déposées sur les coupes, puis ces dernières ont été recouvertes à l'aide de lamelles de verre pour observation au microscope Scientico STM-50, possédant un dispositif de microphotographie connecté à un ordinateur.

II.2.10. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne arithmétique plus ou moins l'erreur standard sur la moyenne (ESM). Ces données ont été analysées par le biais du logiciel GraphPad Prism version 8.0.1. Les tests statistiques utilisés pour comparer les données, étaient le test *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) suivi du test de Tukey. Les valeurs de $p < 0,05$ ont été considérées comme significatives.

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* sur quelques paramètres anthropométriques

✚ Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* sur la variation de la masse corporelle

La Figure 6 qui représente les effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la variation de la masse corporelle, ne révèle aucune variation significative ($p > 0,05$) de ce paramètre chez les animaux co-traités à l'éthanol et au paracétamol comparé aux rats normaux.

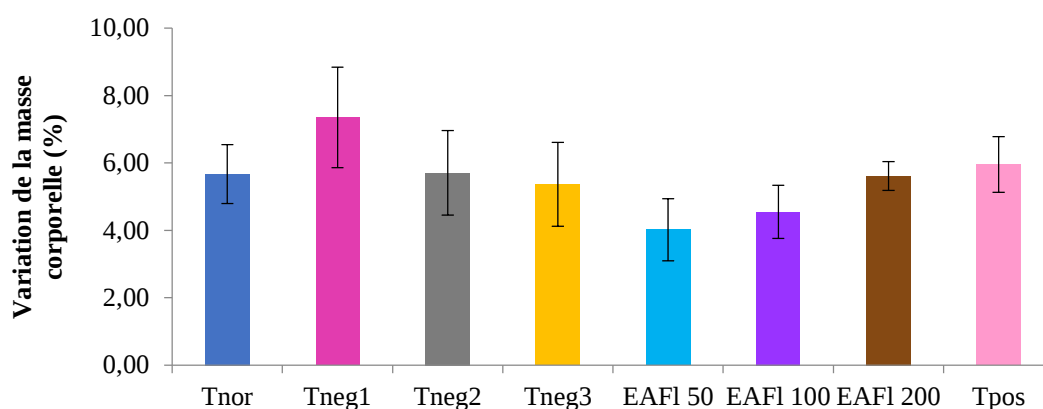


Figure 6 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* sur la variation de la masse corporelle.

Chaque barre représente la moyenne $\pm$ ESM, avec $n=6$; $p > 0,05$: aucune variation significative.

Tnor= témoin normal recevant l'eau distillée ; Tneg1= témoin négatif traité à l'éthanol 40° (400 mg/kg) uniquement ; Tneg2= témoin négatif traité au paracétamol (400 mg/kg) uniquement ; Tneg3= témoin négatif traité à l'éthanol 40° (400 mg/kg) et au paracétamol (400 mg/kg) ; EAFI 50 ; 100 et 200= lots tests traités à l'extrait aqueux de *Ficus lingua* respectivement aux doses 50 ; 100 et 200 mg/kg ; Tpos= témoin positif recevant la silymarine (50 mg/kg).

✚ Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* sur la masse relative des organes

Chez les rats traités simultanément à l'éthanol et au paracétamol, il a été relevé une augmentation significative de la masse relative des reins de 28,26 % ($p < 0,05$) par comparaison à ceux ayant reçu l'eau distillée. De même, une augmentation significative ($p < 0,01$) de la masse relative des glandes surrénales des rats co-traités à l'éthanol et au paracétamol, a été relevée par comparaison à ceux traités au paracétamol uniquement. Cette augmentation était de 52,38 % (Tableau XIV).

Tableau XIV : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* sur la masse relative des organes

	Paramètres	Tnor	Tneg 1	Tneg 2	Tneg 3	EAFI 50	EAFI 100	EAFI 200	Tpos
Masse relative	Foie (%)	3,08± 0,14	3,23± 0,21	3,23± 0,27	3,26± 0,21	3,40± 0,17	3,08± 0,19	3,13± 0,10	3,01± 0,08
	Reins (%)	0,46± 0,03	0,57± 0,03	0,55± 0,03	0,59± 0,01 ^a	0,59± 0,03	0,55± 0,01	0,56± 0,03	0,58± 0,02
	Rate (%)	0,38± 0,04	0,47± 0,05	0,38± 0,03	0,43± 0,05	0,46± 0,09	0,34± 0,05	0,33± 0,04	0,35± 0,07
	Surrénales (10 ⁻² %)	2,25± 0,09	2,83± 0,16	1,89± 0,14	2,88± 0,20 ^{cc}	2,91± 0,20	2,23± 0,18	2,21± 0,14	2,54± 0,18
	Poumons (%)	0,49± 0,04	0,58± 0,03	0,56± 0,02	0,57± 0,02	0,58± 0,03	0,51± 0,01	0,53± 0,04	0,56± 0,03
	Cœur (%)	0,29± 0,03	0,33± 0,02	0,31± 0,01	0,32± 0,01	0,31± 0,01	0,29± 0,00	0,30± 0,01	0,32± 0,02

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM, avec n=6 ; ^a p < 0,05 : différence significative par rapport au témoin normal ; ^{cc} p < 0,01 : différence significative par rapport au témoin négatif ayant reçu uniquement le paracétamol.

Tnor= témoin normal recevant l'eau distillée ; Tneg1= témoin négatif traité à l'éthanol 40° (400 mg/kg) uniquement ; Tneg2= témoin négatif traité au paracétamol (400 mg/kg) uniquement ; Tneg3= témoin négatif traité à l'éthanol 40° (400 mg/kg) et au paracétamol (400 mg/kg) ; EAFI 50 ; 100 et 200= lots tests traités à l'extrait aqueux de *Ficus lingua* respectivement aux doses 50 ; 100 et 200 mg/kg ; Tpos= témoin positif recevant la silymarine (50 mg/kg).

III.1.2. Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* sur les marqueurs de la fonction hépatique

L'administration de l'éthanol a entraîné une augmentation significative de l'activité de l'ASAT (p < 0,001), du taux de triglycérides (p < 0,05) par comparaison au témoin normal. Cette augmentation était respectivement de 63,87 % et 27,08 %. Par ailleurs, une baisse significative de 46,07 % du taux de cholestérol HDL (p < 0,001) a été notée chez les rats traités à l'éthanol par comparaison au témoin normal. L'administration du paracétamol a également causé une hausse significative de 33,18 % de l'activité de l'ASAT (p < 0,01) par comparaison au témoin normal, bien que la valeur soit inférieure à celle des rats traités à l'éthanol uniquement (p < 0,01).

Chez les rats traités simultanément à l'éthanol et au paracétamol, une élévation significative de l'activité de l'ASAT (p < 0,001), de l'ALAT (p < 0,001) et du taux de triglycérides (p < 0,001) par comparaison aux rats témoins normaux a été notée. Cette

augmentation était respectivement de 74,20 % ; 60,77 % et 51,90 %. Cette augmentation de l'activité des transaminases et du taux de triglycérides est davantage marquée chez les rats traités à la fois à l'éthanol et au paracétamol par rapport à ceux ayant reçu uniquement l'éthanol et ceux ayant reçu uniquement le paracétamol. Par ailleurs, une baisse significative du taux de cholestérol HDL ($p < 0,01$) de 28,64 % a été relevée chez ces mêmes animaux, par comparaison aux rats témoins normaux.

Le pré-traitement des animaux à l'extrait aqueux de *Ficus lingua* a empêché une augmentation significative de l'activité des transaminases ($p < 0,001$) à toutes les doses. Les différences constatées chez les lots tests par rapport au témoin négatif co-traité à l'éthanol et au paracétamol, étaient respectivement de 29,85 % ; 34,45 % et 24,43 % pour l'ASAT et respectivement de 46,10 % ; 49,30 % et 36,86 % pour l'ALAT. L'extrait aqueux de *Ficus lingua* a également prévenu l'augmentation significative de l'activité de la phosphatase alcaline aux doses 100 (49,73 % ; $p < 0,001$) et 200 mg/kg (59,19 % ; $p < 0,001$). Par ailleurs, l'extrait aqueux de *Ficus lingua* a prévenu de façon significative, l'augmentation du taux de triglycérides aux doses 50 (19,40 % ; $p < 0,05$) et 100 mg/kg (19,43 % ; $p < 0,05$) et du taux de protéines sériques à la dose 100 mg/kg (18,31 % ; $p < 0,05$) par comparaison aux rats traités à l'éthanol et au paracétamol.

Le traitement des rats témoins positifs à la silymarine a prévenu de façon significative l'augmentation de l'activité des transaminases ($p < 0,01$ pour l'ASAT et $p < 0,05$ pour l'ALAT) et la baisse du taux de cholestérol HDL ($p < 0,01$) induites par l'administration combinée de l'éthanol et du paracétamol. La différence observée chez les témoins positifs par rapport aux rats ayant reçu la combinaison éthanol/paracétamol, était de 20,03 % ; 21,53 % et 39,67 % respectivement pour l'ASAT, l'ALAT et le cholestérol HDL (Tableau XV).

Tableau XV : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* sur quelques paramètres sériques de la fonction hépatique

Paramètres	Tnor	Tneg1	Tneg2	Tneg3	EAFI 50	EAFI 100	EAFI 200	Tpos
Glycémie (mg/dL)	79,17±0,91	79,17±4,45	79,17±1,11	88,17±3,29	94,00±3,96	91,17±3,20	87,00±3,44	89,17±2,33
ASAT (U/L)	89,35±1,74	146,42±5,26 _{aaa}	119,00±5,79 ^a _{abb}	155,65±4,62 ^a _{aaccc}	109,18±7,03 ^d _{dd}	102,03±9,02 ^d _{dd}	117,63 ± 4,74 ^{ddd}	124,47± 3,24 ^{dd}
ALAT (U/L)	24,50±1,57	27,22±2,33	24,89±2,09	39,39±2,30 ^{aaa} _{bbbccc}	21,23±1,54 ^{ddd}	19,97±1,57 ^{ddd}	24,87±1,11 ^{ddd}	30,91±1,88 ^d
PAL (U/L)	68,60±6,77	76,89±8,85	68,92±6,39	75,18±6,92	54,47±8,02	37,79±6,55 ^{dd}	30,68±4,72 ^{ddd}	69,03±3,43
Bilirubine totale (mg/dL)	0,15±0,01	0,21±0,02	0,17±0,02	0,18±0,02	0,17±0,02	0,10±0,02	0,14±0,02	0,17±0,02
Cholestérol total (mg/dL)	140,11±1,4 ₂	152,70±12,0 ₀	130,43±2,39	150,61±2,12	127,01±4,32	128,44±5,86	158,64±4,86	139,83±2,8 ₀
Cholestérol HDL (mg/dL)	50,83±1,35	27,41±2,26 ^{aa} _a	46,02±3,70	36,27±3,51 ^{aa}	37,81±3,43	35,56±1,36	35,20±1,62	50,66±1,84 ^d _d
Triglycérides (mg/dL)	77,94±3,35	99,05±6,40 ^a	85,93±5,67	118,39±2,28 ^a _{aaccc}	95,42±4,73 ^d	95,38±3,42 ^d	109,35±1,87	104,25±6,0 ₀
Protéines sériques (mg/dL)	3,40±0,08	3,62±0,16	3,50±0,12	3,33±0,15	2,90±0,10	2,72±0,15 ^d	3,31±0,05	3,10±0,05

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM, avec n=6. ^a p < 0,05 ; ^{aa} p < 0,01 ; ^{aaa} p < 0,001 : différence significative par rapport au témoin normal ; ^{bb} p < 0,01 ; ^{bbb} p < 0,001 : différence significative par rapport au témoin négatif ayant reçu uniquement l'éthanol ; ^{ccc} p < 0,001 : différence significative par rapport au témoin négatif ayant reçu uniquement le paracétamol ; ^d p < 0,05 ; ^{dd} p < 0,01 ; ^{ddd} p < 0,001 : différence significative par rapport au témoin négatif traité à l'éthanol et au paracétamol.

Tnor= témoin normal recevant l'eau distillée ; Tneg1= témoin négatif traité à l'éthanol 40° (400 mg/kg) uniquement ; Tneg2= témoin négatif traité au paracétamol (400 mg/kg) uniquement ; Tneg3= témoin négatif traité à l'éthanol 40° (400 mg/kg) et au paracétamol (400 mg/kg) ; EAFI 50 ; 100 et 200= lots tests traités à l'extrait aqueux de *Ficus lingua* respectivement aux doses 50 ; 100 et 200 mg/kg ; Tpos= témoin positif recevant la silymarine (50 mg/kg).

III.1.3. Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* sur les paramètres hématologiques

Le taux de globules blancs a augmenté significativement de 65,96 % chez les rats ayant reçu la combinaison éthanol/paracétamol comparativement aux rats normaux ($p < 0,01$).

L'administration de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* à la dose 50 mg/kg a empêché la hausse significative du taux de globules blancs de 38,87 % ($p < 0,01$), induite par la combinaison éthanol/paracétamol.

L'administration de la silymarine a prévenu l'augmentation significative ($p < 0,05$) du nombre de globules blancs de 34,47 % induite par la combinaison éthanol/paracétamol (Tableau XVI).

Tableau XVI : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* sur les paramètres hématologiques

Paramètres	Tnor	Tneg1	Tneg2	Tneg3	EAFI 50	EAFI 100	EAFI 200	Tpos
Globules blancs ($10^3/\mu\text{L}$)	6,17±0,50	6,89±0,58	5,99±0,43	10,24±0,63 ^{aabc} _c	6,26±0,94 ^{dd}	7,43±0,51	9,63±0,83	6,71±0,70 ^d
Globules rouges ($10^6/\mu\text{L}$)	6,55±0,71	7,18±0,45	6,72±0,31	7,28±0,26	5,77±0,31	6,36±0,34	7,36±0,43	6,45±0,29
Plaquettes sanguines ($10^3/\mu\text{L}$)	342,33±27,39	257,67±25,17	351,83±41,72	381,67±20,74	313,67±25,21	343,67±26,16	291,17±37,04	327,33±19,23
Hémoglobine (g/dL)	13,77±0,48	13,17±0,81	12,55±0,48	13,85±0,24	11,45±0,70	12,58±0,48	13,92±0,65	11,90±0,44
Hématocrite (%)	32,73±0,95	30,59±1,59	28,85±1,24	31,95±1,02	26,50±0,74	28,12±1,34	30,60±1,73	27,55±1,47
Volume globulaire moyen (fL)	44,18±0,36	42,88±1,20	43,50±0,66	41,95±1,04	43,05±1,43	40,75±1,06	41,68±0,62	42,63±0,53

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM, avec n=6. ^{aa} $p < 0,01$: différence significative par rapport au témoin normal ; ^b $p < 0,001$: différence significative par rapport au témoin négatif ayant reçu uniquement l'éthanol ; ^{cc} $p < 0,01$: différence significative par rapport au témoin négatif ayant reçu uniquement le paracétamol ; ^d $p < 0,05$ et ^{dd} $p < 0,01$: différence significative par rapport au témoin négatif traité à l'éthanol et au paracétamol.

Tnor= témoin normal recevant l'eau distillée ; Tneg1= témoin négatif traité à l'éthanol 40° (400 mg/kg) uniquement ; Tneg2= témoin négatif traité au paracétamol (400 mg/kg) uniquement ; Tneg3= témoin négatif traité à l'éthanol 40° (400 mg/kg) et au paracétamol (400 mg/kg) ; EAFI 50 ; 100 et 200= lots tests traités à l'extrait aqueux de *Ficus lingua* respectivement aux doses 50 ; 100 et 200 mg/kg ; Tpos= témoin positif recevant la silymarine (50 mg/kg).

III.1.4. Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* sur les paramètres du statut oxydant

L'administration de l'éthanol, du paracétamol et de la combinaison éthanol/paracétamol a induit une baisse des antioxydants (SOD et CAT) chez les rats. L'éthanol et la combinaison éthanol/paracétamol ont entraîné une diminution significative ($p < 0,05$) de l'activité de la catalase chez les rats témoins négatifs par comparaison aux rats normaux. Cette diminution a été plus marquée chez les rats ayant reçu la combinaison éthanol/ paracétamol avec 58,63 % contre 52,45 % pour les rats traités à l'éthanol uniquement. Cette diminution des antioxydants a été accompagnée d'une augmentation significative du taux de malondialdéhyde chez les lots de rats témoins négatifs ayant reçu le paracétamol et la combinaison éthanol/paracétamol ($p < 0,05$ et $p < 0,01$ respectivement) comparativement aux rats témoins normaux. Cette augmentation était davantage marquée chez les rats traités simultanément à l'éthanol et au paracétamol avec 76,79 % contre 63,19 % chez les témoins négatifs traités au paracétamol.

L'extrait aqueux de *Ficus lingua* à toutes les doses, a prévenu significativement ($p < 0,001$) la baisse de l'activité de la superoxyde dismutase induite par la combinaison éthanol/paracétamol. Cette prévention était de 46,03 % ; 48,04 % et 46,97 % respectivement pour les doses 50 ; 100 et 200 mg/kg. De plus, l'extrait aqueux de *Ficus lingua* à la dose 100 mg/kg, a empêché de manière significative ($p < 0,05$) la diminution de l'activité de la catalase d'un pourcentage de 132,81 %. Cet extrait aux doses 50 et 100 mg/kg, a également prévenu significativement ($p < 0,01$), respectivement de 39,81 % et 44,36 %, le taux de malondialdéhyde ; ceci par rapport aux rats témoins négatifs traités à l'éthanol et au paracétamol.

La silymarine a empêché de façon significative ($p < 0,01$) la baisse de l'activité de la superoxyde dismutase de 34,08 % par rapport au témoin négatif ayant reçu la combinaison éthanol/paracétamol. La silymarine a aussi prévenu significativement ($p < 0,01$) la hausse de 39,54 % du taux de malondialdéhyde induite par l'action combinée de l'éthanol et du paracétamol (Figure 7).

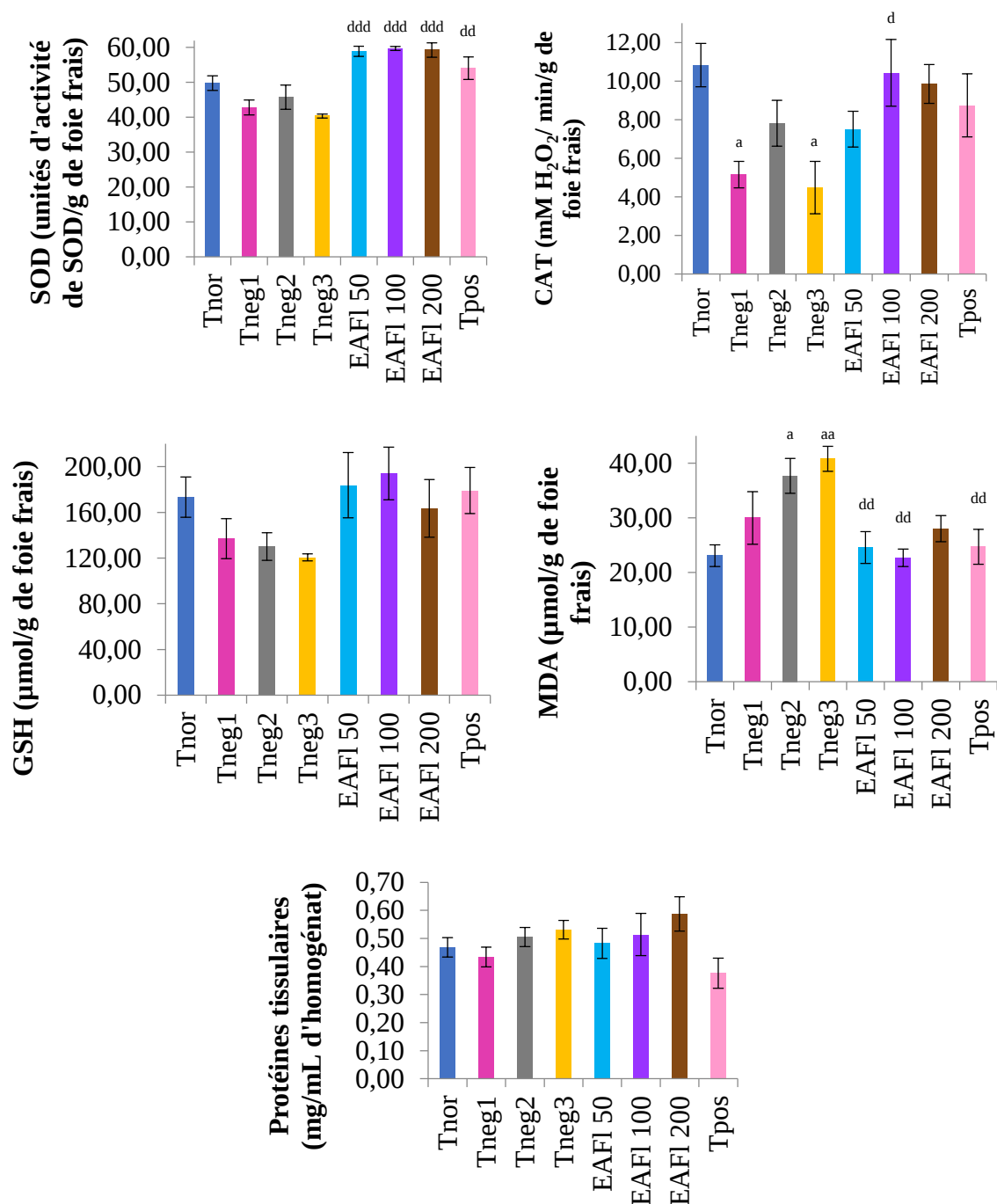


Figure 7 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* sur quelques paramètres du statut oxydant.

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ESM, n=6. ^a p < 0,05 et ^{aa} p < 0,01 : différence significative par rapport au témoin normal ; ^{dd} p < 0,01 et ^{ddd} p < 0,001 : différence significative par rapport au témoin négatif traité à l'éthanol et au paracétamol.

Tnor= témoin normal recevant l'eau distillée ; Tneg1= témoin négatif traité à l'éthanol 40° (400 mg/kg) uniquement ; Tneg2= témoin négatif traité au paracétamol (400 mg/kg) uniquement ; Tneg3= témoin négatif traité à l'éthanol 40° (400 mg/kg) et au paracétamol (400 mg/kg) ; EAFI 50 ; 100 et 200= lots tests traités à l'extrait aqueux de *Ficus lingua* respectivement aux doses 50 ; 100 et 200 mg/kg ; Tpos= témoin positif recevant la silymarine (50 mg/kg).

III.1.5. Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* sur la microarchitecture du foie et autres organes

✚ Effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la microarchitecture du foie

L'analyse histologique du foie des rats normaux révèle une architecture du parenchyme hépatique normale avec des hépatocytes qui sont disposées en pavés autour de la veine centrolobulaire. Chez les rats témoins négatifs co-traités au paracétamol et à l'éthanol, des altérations matérialisées principalement par une infiltration leucocytaire sont relevées par rapport aux rats normaux. L'observation microscopique du foie des rats traités aux doses 50 ; 100 et 200 mg/kg de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* et à la silymarine, montre une amélioration de la microarchitecture du foie par réduction de l'infiltration leucocytaire, comparativement aux rats traités de façon simultanée à l'éthanol et au paracétamol (Figure 8).

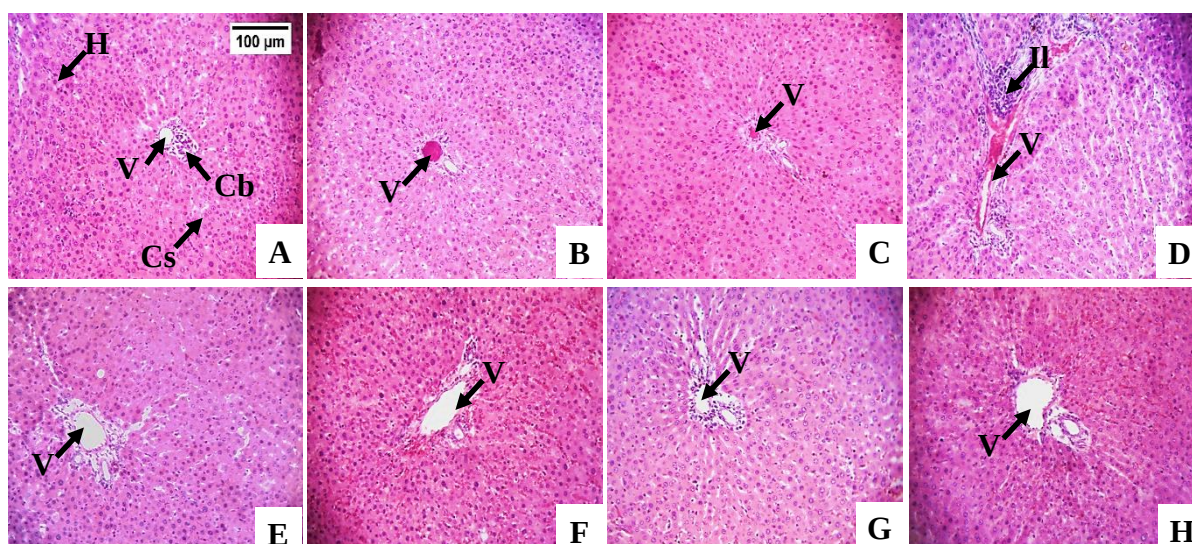


Figure 8 : Effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la microarchitecture du foie (×250) ; coloration à l'hématoxyline-éosine.

A = Témoin normal ; B = Témoin négatif recevant l'éthanol ; C = Témoin négatif recevant le paracétamol ; D = Témoin négatif recevant l'éthanol et le paracétamol ; E, F, G = Lots recevant l'extrait aqueux de *Ficus lingua* aux doses de 50 ; 100 et de 200 mg/kg respectivement ; H = Témoin positif recevant la silymarine ; V = Veine centrolobulaire ; He = Hépatocyte ; Cs = Capillaire sinusoidé ; Cb = Canalicule biliaire ; Il = Infiltration leucocytaire.

✚ Effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la microarchitecture des reins

Au niveau rénal, les rats normaux ont présenté une architecture normale avec des glomérules et tubules contournés proximal et distal. Des infiltrations leucocytaires ont été observées chez les animaux traités à l'éthanol uniquement et ceux traités à l'éthanol et au paracétamol par comparaison aux rats normaux. Ces infiltrations leucocytaires ont été prévenues par le prétraitement à l'extrait aqueux de *Ficus lingua* et à la silymarine (Figure 9).

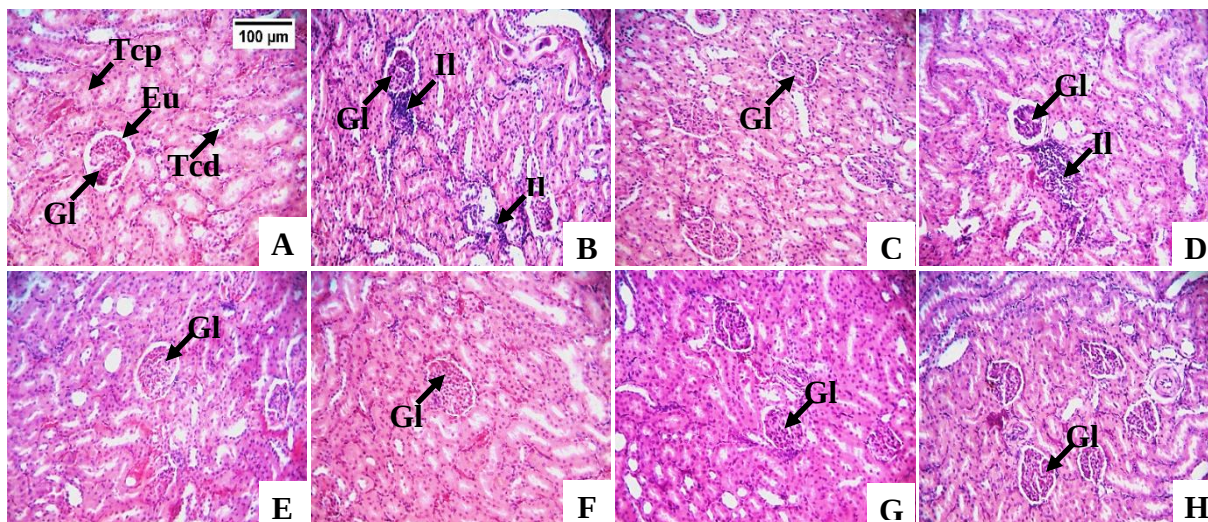


Figure 9 : Effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la microarchitecture du rein ($\times 250$) ; coloration à l'hématoxyline-éosine.

A = Témoin normal ; B = Témoin négatif recevant l'éthanol ; C = Témoin négatif recevant le paracétamol ; D = Témoin négatif recevant l'éthanol et le paracétamol ; E, F, G = Lots recevant l'extrait aqueux de *Ficus lingua* aux doses de 50 ; 100 et de 200 mg/kg respectivement ; H = Témoin positif recevant la silymarine ; Gl = Glomérule ; Eu = Espace urinaire ; Tcd = Tubule contourné distal ; Tcp = Tubule contourné proximal ; Il = Infiltration leucocytaire.

✚ Effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la microarchitecture du cœur

La microarchitecture du cœur ne montre aucune altération dans tous les groupes (Figure 10).

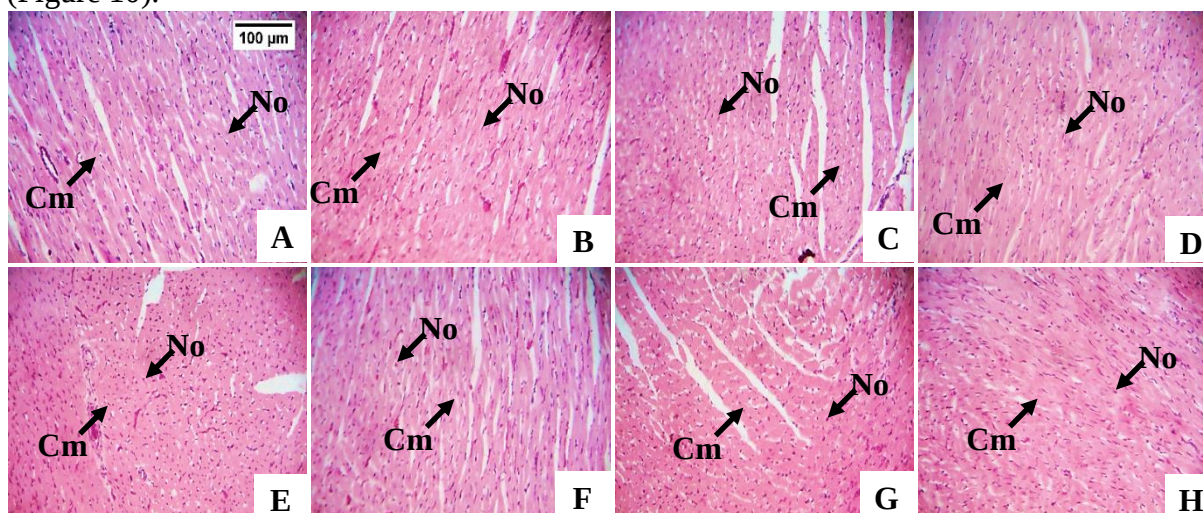


Figure 10 : Effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la microarchitecture du cœur ($\times 250$) ; coloration à l'hématoxyline-éosine.

A= Témoin normal ; B= Témoin négatif recevant l'éthanol ; C= Témoin négatif recevant le paracétamol ; D= Témoin négatif recevant l'éthanol et le paracétamol ; E, F, G= Lots recevant l'extrait aqueux de *Ficus lingua* aux doses de 50 ; 100 et de 200 mg/kg respectivement ; H= Témoin positif recevant la silymarine ; Cm= Cardiomyocytes ; No= Noyau.

✚ Effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la microarchitecture des poumons

L'observation des poumons des rats normaux au microscope révèle une architecture normale des bronches, des sacs alvéolaires, des artérioles pulmonaires et des veinules pulmonaires. La microarchitecture du poumon chez les animaux traités à l'éthanol uniquement et chez ceux traités à l'éthanol et au paracétamol, révèle la présence des granulomes inflammatoires par comparaison aux rats témoins normaux (Figure 11).

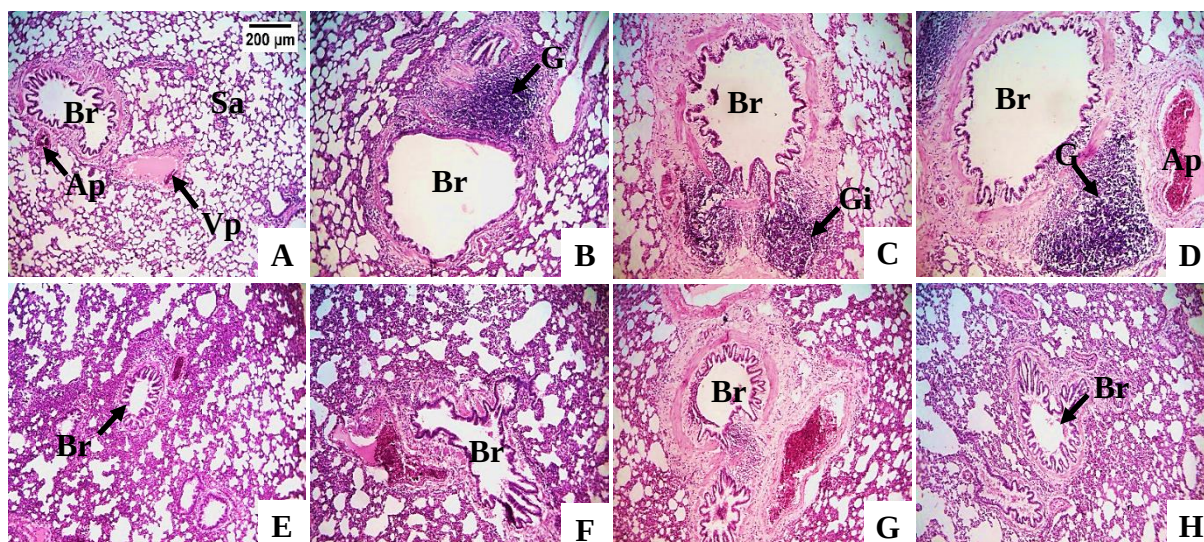


Figure 11 : Effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la microarchitecture du poumon ($\times 100$) ; coloration à l'hématoxyline-éosine.

A = Témoin normal ; B = Témoin négatif recevant l'éthanol ; C = Témoin négatif recevant le paracétamol ; D = Témoin négatif recevant l'éthanol et le paracétamol ; E, F, G = Lots recevant l'extrait aqueux de *Ficus lingua* aux doses de 50 ; 100 et de 200 mg/kg respectivement ; H = Témoin positif recevant la silymarine ; Br = Bronchioles ; Ap = Artériole pulmonaire ; Vp = Veinule pulmonaire ; Gi = Granulome inflammatoire ; Sa = Sac alvéolaire.

✚ Effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la microarchitecture des glandes surrénales

La glande surrénale chez les rats normaux présente deux parties essentielles : le cortex et la médulla. La microarchitecture de la glande surrénale présente une destruction de la médulla chez les rats des lots témoins négatifs comparativement au témoin normal. La structure de la glande surrénale chez les rats tests et ceux traités à la silymarine est similaire à celle des rats normaux (Figure 12).

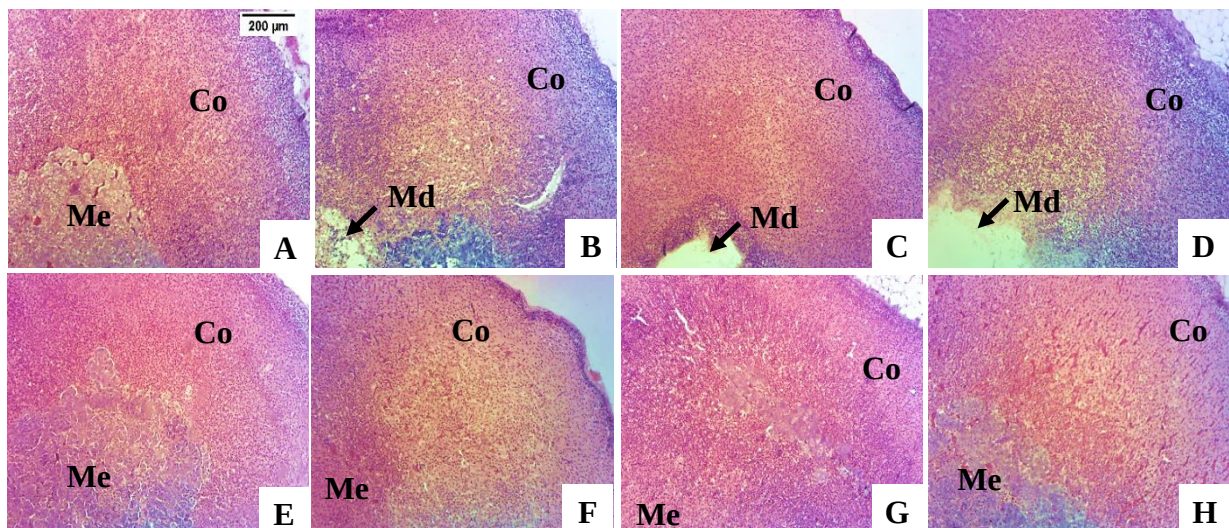


Figure 12 : Effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la microarchitecture de la glande surrénale ($\times 100$) ; coloration à l'hématoxyline-éosine.

A = Témoin normal ; B = Témoin négatif recevant l'éthanol ; C = Témoin négatif recevant le paracétamol ; D = Témoin négatif recevant l'éthanol et le paracétamol ; E, F, G = Lots recevant l'extrait aqueux de *Ficus lingua* aux doses de 50 ; 100 et de 200 mg/kg respectivement ; H = Témoin positif recevant la silymarine ; Me = Médulla-surrénale ; Md = Médulla détruite ; Co = Cortex surrénale.

✚ Effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la microarchitecture de la rate

La microarchitecture de la rate ne présente aucune altération dans tous les groupes. Elle révèle deux principales parties à savoir : la pulpe blanche et la pulpe rouge (Figure 13).

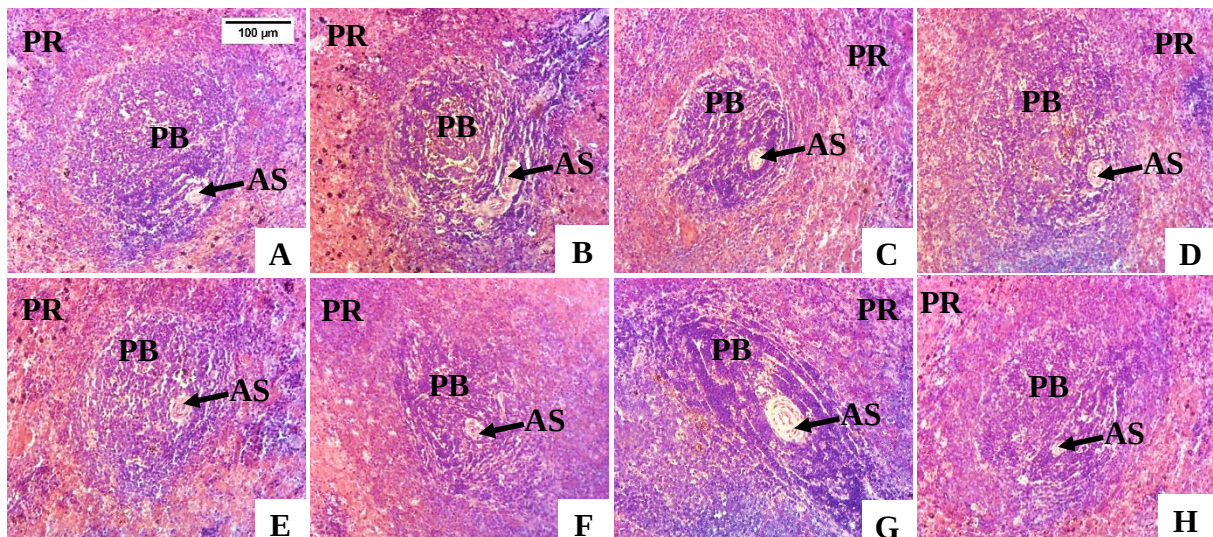


Figure 13 : Effets de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* sur la microarchitecture de la rate ($\times 100$) ; coloration à l'hématoxyline-éosine.

A = Témoin normal ; B = Témoin négatif recevant l'éthanol ; C = Témoin négatif recevant le paracétamol ; D = Témoin négatif recevant l'éthanol et le paracétamol ; E, F, G = Lots recevant l'extrait aqueux de *Ficus lingua* aux doses de 50 ; 100 et de 200 mg/kg respectivement ; H = Témoin positif recevant la silymarine ; AS = artère splénique ; PB = Pulpe blanche ; PR = Pulpe rouge.

III.2. Discussion

Le foie est un organe qui exerce plus de 500 fonctions au sein de l'organisme parmi lesquelles la biotransformation des substances potentiellement hépatotoxiques comme l'éthanol et les médicaments notamment le paracétamol (Marieb et Hoehn, 2010). L'éthanol et le paracétamol sont des produits très consommés dans le monde. Elles sont également très employées comme modèles d'hépatotoxicité (Shah *et al.*, 2018). Leur transformation est assurée par les hépatocytes, qui peuvent soit synthétiser des produits inactifs qui seront éliminés par les reins, soit les transformer en produits plus ou moins actifs comme par exemple l'acétaldéhyde et le N-acétyl-para-benzoquinoneimine (Fogha *et al.*, 2015 ; Ameaka *et al.*, 2021). Dans ce dernier cas, les métabolites toxiques produits peuvent altérer plusieurs fonctions du foie. L'étude des plantes médicinales se fait dans l'optique de trouver des alternatives thérapeutiques avec le moins d'effets indésirables possibles, pour contrer les effets de ces métabolites toxiques. *Ficus lingua* est une plante dont les propriétés antibactériennes (Tkachenko *et al.*, 2022), les effets néphroprotecteurs et hépatoprotecteurs contre la gentamicine (Andji, 2020 ; Mossebo, 2021) ont été démontrées. Cette étude a été menée afin d'évaluer les effets hépatoprotecteurs de *Ficus lingua* contre la toxicité induite par l'action combinée du paracétamol et de l'éthanol.

Une modification de la masse corporelle ou de la masse d'un organe peut être un indicateur de l'exposition de l'organisme à une substance fortement toxique (Mezui *et al.*, 2019). Dans le cas présent, aucune variation significative de la masse corporelle n'a été notée. *A contrario*, la masse relative des reins a augmenté significativement chez les rats traités à l'éthanol et au paracétamol par rapport aux rats normaux. Cette augmentation de la masse relative peut s'expliquer par la mise en place d'une réponse inflammatoire suite à l'intoxication à l'éthanol et au paracétamol. L'administration de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* n'a eu aucune incidence sur la masse corporelle et sur la masse relative des reins des animaux comparativement au groupe co-traité à l'éthanol et au paracétamol. Les travaux d'Andji en 2020 ont également relevé que l'extrait aqueux de *Ficus lingua* n'influait pas la masse relative des reins.

La régulation de la glycémie implique le foie, qui est à la fois un site de stockage et un site de libération du glucose (Ozougwu, 2017). Cependant, il n'y a pas eu de variation significative du taux de glucose sanguin suite à l'administration concomitante du paracétamol et de l'éthanol. Il en est de même chez les rats ayant reçu l'extrait aqueux de *Ficus lingua*.

Les aminotransférases (en particulier l'alanine aminotransférase) ainsi que la phosphatase alcaline, constituent de bons indicateurs des dommages hépatiques (Silva-Correa

et al., 2021). L'augmentation des activités des transaminases (ALAT et ASAT) et de la phosphatase alcaline chez les animaux ayant reçu à la fois l'éthanol et le paracétamol, serait due une perturbation de la perméabilité membranaire des hépatocytes. L'éthanol, de par ses propriétés hydrophobes, traverse la membrane plasmique et perturbe sa perméabilité (Castaneda et Kinne, 2004) causant ainsi la libération de ces enzymes (ALAT, ASAT et PAL) dans la circulation sanguine. Shah et al. (2018) ont obtenu des résultats similaires suite à l'induction de l'hépatotoxicité avec l'éthanol et le paracétamol. La baisse significative des activités de l'ALAT, de l'ASAT et de celle de la PAL chez les rats tests, suggère que l'extrait aqueux de *Ficus lingua* aurait limité la destruction des membranes hépatocytaires et donc empêcher une libération importante de ces enzymes dans la circulation sanguine. Cette capacité de l'extrait serait due à la présence des flavonoïdes et saponines qui protègent les membranes des lésions.

L'élévation du taux de bilirubine totale pourrait également traduire une perte de l'intégrité des membranes hépatocytaires (Shah et al., 2018), étant donné l'implication du foie dans le métabolisme de la bilirubine. En effet, la bilirubine est conjuguée dans le foie, ce qui facilite son élimination. Tout dysfonctionnement du foie peut empêcher cette élimination et par conséquent augmenter la bilirubinémie (Arun et al., 2014, Aboubakr et Abdelazem, 2016). Cependant, dans la présente étude, le co-traitement éthanol et paracétamol n'a induit aucune variation significative du taux de bilirubine totale.

Le profil lipidique constitue un indicateur de la fonction métabolique du foie. La baisse significative du taux de cholestérol HDL et l'augmentation significative du taux de triglycérides induites par l'action combinée de l'éthanol et du paracétamol, traduiraient une altération des voies métaboliques lipidiques au niveau foie. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus lors des travaux de Sharma et al. en 2021. En effet, l'éthanol contribue à augmenter la lipogenèse notamment la synthèse d'acides et triglycérides (Amang et al., 2020). Il inhibe aussi l'activité des lipases impliquées dans la transformation des lipoprotéines et des triglycérides (Oumarou et al., 2012). Par ailleurs, le paracétamol augmente la disponibilité des acides gras et leur estérification en triglycérides (Fogha et al., 2015). L'augmentation significative du taux de cholestérol HDL chez le témoin positif s'explique par le fait que la silymarine contribue à diminuer l'absorption intestinale du cholestérol et augmente le taux de HDL sérique (Khazaei et al., 2022). La baisse significative du taux de triglycérides aux doses 50 et 100 mg/kg montre que l'extrait aqueux de *Ficus lingua* aurait inhibé la libération des triglycérides dans le sang et favoriser son utilisation par les hépatocytes, pour la production d'énergie indispensable à leur bon fonctionnement. Les propriétés hypolipémiantes de l'extrait seraient dues à la présence

des alcaloïdes et des flavonoïdes, qui empêchent les effets délétères de l'éthanol et du paracétamol sur le métabolisme lipidique (Mossebo, 2021 ; Nguepi *et al.*, 2021).

Le foie intervient dans le métabolisme de nombreuses protéines sériques (Gupta *et al.*, 2023). L'administration de l'éthanol et/ou du paracétamol n'a pas influencé significativement la teneur sérique en protéines. Ceci pourrait s'expliquer par le fait qu'il existe une compétition entre l'éthanol et le paracétamol pour le CYP450 (Shah *et al.*, 2018), qui aurait limité leur conversion en métabolites toxiques responsables des dommages hépatiques. La baisse significative du taux de protéines chez les rats traités à la dose 100 mg/kg de l'extrait aqueux de *Ficus lingua*, peut se justifier par l'effet protéolytique ou inhibiteur de la protéosynthèse que posséderait la plante.

Un dysfonctionnement du foie peut être à l'origine de la variation des paramètres hématologiques. L'augmentation du taux de globules blancs des rats co-traités à l'éthanol et au paracétamol, serait un mécanisme de défense de l'organisme pour se protéger contre les infections consécutives à l'installation des lésions hépatiques (Gupta *et al.*, 2023). L'extrait aqueux de *Ficus lingua* à la dose 50 mg/kg ainsi que la silymarine, ont empêché l'augmentation du taux de globules blancs, probablement en réduisant les lésions hépatiques.

Le stress oxydant est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et le système de défense antioxydante (Betteridge, 2000). Le système de défense antioxydante inclut les antioxydants enzymatiques dont les plus importants sont la superoxyde dismutase et la catalase (Palanivel *et al.*, 2008) et les antioxydants non enzymatiques tels que le glutathion réduit. La SOD convertit l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène moins toxique (Mei-Fen *et al.*, 2012). La catalase est très répandue dans tous les tissus mais son activité est plus élevée dans les globules rouges et le foie (Palanivel *et al.*, 2008). Elle agit à la suite de la SOD en décomposant le peroxyde d'hydrogène et protège les tissus des radicaux hydroxyls hautement réactifs (Singanan *et al.*, 2007). La baisse de l'activité de la catalase chez les rats co-traités à l'éthanol et au paracétamol par rapport au témoin normal pourrait être due à une augmentation de la génération des radicaux libres qui créerait le stress oxydant au sein des cellules hépatiques. En effet, le métabolisme de l'éthanol est associé à la production d'espèces réactives de l'oxygène (Oumarou *et al.*, 2012). L'augmentation de l'activité de la catalase chez les animaux ayant reçu l'extrait aqueux de *Ficus lingua* montre que cet extrait préviendrait la génération des radicaux libres. Cette propriété de l'extrait pourrait être attribuée à la présence des flavonoïdes (Ngene *et al.*, 2015). En effet, les flavonoïdes contenus dans l'extrait aqueux de *Ficus lingua*, ont la capacité de neutraliser les radicaux libres (Mossebo, 2021).

Le glutathion réduit est l'un des plus abondants antioxydants non enzymatiques présents dans le foie (Palanivel *et al.*, 2008), qui protège les cellules contre les espèces réactives de l'oxygène (Fogha *et al.*, 2015). Il est impliqué dans le métabolisme du paracétamol, en ce sens qu'il permet la conjugaison du NAPQI par fixation de ce dernier au groupement -SH du glutathion réduit. Cependant, un surdosage au paracétamol entraîne une surproduction du NAPQI, conduisant à une déplétion du taux de GSH (McGill et Jaeschke, 2013). L'extrait aqueux de *Ficus lingua* a entraîné une augmentation non significative du taux de glutathion réduit, empêchant ainsi la peroxydation des lipides membranaires et par conséquent la formation de malondialdéhyde, qui est un biomarqueur de la peroxydation des lipides (Hazem, 2012 ; Gupta *et al.*, 2015). L'augmentation du taux de malondialdéhyde chez les rats co-traités à l'éthanol et au paracétamol est liée à une formation importante des radicaux libres causant le stress oxydant. Les radicaux ainsi formés peuvent réagir directement avec les biomolécules comme les phospholipides membranaires, entraînant la peroxydation de ces lipides et par conséquent la perte de l'intégrité de la membrane des hépatocytes (Noorani *et al.*, 2011). L'extrait aqueux de *Ficus lingua* posséderait donc des effets antioxydants à travers sa capacité à empêcher non seulement la peroxydation lipidique, mais également à réduire le taux de malondialdéhyde. Les propriétés antioxydantes de l'extrait aqueux de *Ficus lingua* ont également été démontrées *in vitro* (Mossebo, 2021). Cet extrait, de par sa richesse en phytoconstituants tels que les flavonoïdes et les tanins, possède une activité antiradicalaire permettant de piéger les espèces réactives de l'oxygène.

D'après les résultats de l'analyse histologique, l'action combinée de l'éthanol et du paracétamol a causé une infiltration leucocytaire au niveau du foie. Celle-ci pourrait être due en partie, à l'implication du foie dans la biotransformation des xénobiotiques (Bulus *et al.*, 2011). L'éthanol et le paracétamol au cours de leur métabolisme, se transforment en métabolites toxiques pour les membranes hépatocytaires (Fogha *et al.*, 2015 ; Amang *et al.*, 2020). Les atteintes rénales, surrénales et pulmonaires également observées, prouvent que les dommages causés par l'éthanol et le paracétamol pourraient s'étendre à d'autres organes. L'extrait aqueux de *Ficus lingua* aurait préservé ces organes de l'attaque par l'éthanol et le paracétamol, ce qui témoignerait de ses potentiels effets hépatoprotecteurs.

Conclusion et perspectives

Cette étude avait pour objectif général d'évaluer les effets hépatoprotecteurs de *Ficus lingua* contre l'hépatotoxicité induite par l'action combinée du paracétamol et de l'éthanol chez le rat albinos. Il en ressort que le paracétamol et l'éthanol sont deux molécules qui à fortes doses (400 mg/kg), induisent des dégâts séparément mais peuvent en causer davantage lorsqu'ils sont administrés simultanément. Ainsi, l'action combinée de l'éthanol et du paracétamol augmente la masse relative des reins ; elle augmente l'activité ou la concentration de certains biomarqueurs de la fonction hépatique (ALAT, ASAT, PAL et triglycérides) et diminue le taux de cholestérol HDL ; elle augmente le taux de globules blancs ; elle réduit l'activité de la SOD et de la CAT et favorise l'installation du stress oxydant ; elle cause des modifications de la microarchitecture du foie et aussi de celle des reins, glandes surrénales et poumons. L'administration préventive de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* :

- n'a eu aucun effet sur la variation de la masse corporelle et la masse relative des organes prélevés ;
- a prévenu l'augmentation de l'activité des enzymes (transaminases et phosphatase alcaline), des taux de triglycérides et de globules blancs et la baisse du taux de cholestérol HDL induites par l'action combinée de l'éthanol et du paracétamol ;
- a réduit le stress oxydant induit par l'action combinée de l'éthanol et du paracétamol en entraînant une augmentation des taux d'antioxydants (superoxyde dismutase et catalase) et une baisse du taux de malondialdéhyde ;
- a limité l'infiltration leucocytaire des vaisseaux du foie ainsi que les altérations microarchitecturales des reins, des poumons et des glandes surrénales induites par l'action combinée de l'éthanol et du paracétamol.

Par conséquent, l'extrait aqueux de *Ficus lingua* en particulier à la dose de 100 mg/kg, posséderait des effets hépatoprotecteurs et antioxydants contre les dommages induits par l'action combinée de l'éthanol et du paracétamol.

Pour les études ultérieures, nous proposons de :

- Evaluer la toxicité aiguë et chronique de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* chez le rat
- Evaluer les effets curatifs de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* contre l'hépatotoxicité induite par l'action combinée de l'éthanol et du paracétamol chez le rat
- Etudier les mécanismes d'action impliqués dans la protection du foie contre les dommages induits par l'action combinée de l'éthanol et du paracétamol
- Etudier les effets hépatoprotecteurs de cette plante sur d'autres modèles d'hépatotoxicité

Références

- Aboubakr M., Abdelazem M.A. (2016).** Hepatoprotective effect of aqueous extract of cardamom against gentamicin induced hepatic damage in rats. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, 5 (1) : 1-4.
- Amang A.P., Kodji E., Mezui C., Baane M.P., Siwe G.T., Kuissu T.M., Emakoua J., Tan P.V. (2020).** Hepatoprotective effects of aqueous extract of *Opilia celtidifolia* (Opiliaceae) leaves against ethanol-induced liver damage in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-8, DOI : 10.1155/2020/6297475.
- Ameaka F.N., Tembe E., Tchadji M.V.E., Bayaga H., Dobgima J.F., Eustace B.B., Njinkio B.N., Tabi Y.O., Ngameni B. Fokunang C. (2021).** Phytochemical characterization, hepatoprotective activity on alcohol-induced toxicity of the aqueous extract of *Curcuma longa* (Zingiberaceae) in wistar rats. *Journal of Complementary and Alternative Medical Research*, 16 (4) : 134-149.
- Andji I. (2020).** Evaluation des effets néphroprotecteurs de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* (Moraceae) chez le rat. *Mémoire de Di.P.E.S II, Université de Yaoundé I, Ecole Normale Supérieure, Cameroun*, 55 pages.
- Aragon G., Younossi Z.M. (2010).** When and how to evaluate mildly elevated liver enzymes in apparently healthy patients. *Cleveland clinic journal of medicine*, 77 (3) : 195-204.
- Arun K., Suguna S., Balasubramanian U., Yusoff M.M., Maniam G.P., Serfoji P., Govindan N. (2014).** Hepatoprotective activity of *Cinnamon zeylanicum* leaves against alcohol induced albino rats. *International Journal of Engineering Research and Applications*, 4 (8) : 177-184.
- Badgujar S.B., Patel V.V., Bandivdekar A.H., Mahajan R.T. (2014).** Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Ficus carica* : a review. *Pharmaceutical biology*, 52 (11) :1487-1503, DOI : 10.3109/13880209.2014.892515.
- Badlis L., Haderbache L. (2018).** L'effet hépatoprotecteur d'*Elettaria cardamomum* vis-à-vis l'hépatotoxicité induite par la gentamicine. *Mémoire, Université des Frères Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, République Algérienne Démocratique et Populaire*.
- Benić M.S., Nežić L., Vujić-Aleksić V., Mititelu-Tartau L. (2022).** Novel therapies for the treatment of drug induced liver injury : a systematic review. *Frontiers in pharmacology*, 12 (785790) : 1-24, DOI : 10.3389/fphar.2021.785790.
- Benmarce Y., Assas N., Chaalal A. (2016).** La silymarine (chardon-marie), de puissantes propriétés anticancéreuses et hépatoprotectrices. *Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, République Algérienne Démocratique et Populaire*.
- Betteridge D.J. (2000).** What is oxidative stress ? *Metabolism*, 49 (1) : 3-8, DOI : 10.1016/S0026-0495(00)80077-3.
- Boyer J.L. (2013).** Bile formation and secretion. *Comprehensive Physiology*, 3 : 1-44.

- Bulus T., Atawodi S.E., Mamman M. (2011).** Acute toxicity effect of the aqueous extract of *Terminalia avicennioides* on white albino rats. *Science World Journal*, 6 (2) : 1-4.
- Castaneda F., Kinne R.K.H. (2004).** Ethanol treatment of hepatocellular carcinoma : high potentials of low concentrations. *Cancer biology & Therapy*, 3 (5) : 430-433.
- Chatelain C., Gautier L., Spichiger R. (2001).** Application du SIG IVOIRE à la distribution potentielle des espèces en fonction des facteurs écologiques. *Systematics and Geography of Plants*, 71 : 313-326, DOI : 10.2307/3668678.
- Chidiac A.S., Buckley N.A., Noghrehchi F., Cairns R. (2023).** Paracetamol (acetaminophen) overdose and hepatotoxicity : mechanism, treatment, prevention measures, and estimates of burden of disease. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 19 (5) : 297-317.
- Deepa P., Sowndhararajan K., Kim S., Park S.J. (2018).** A role of Ficus species in the management of diabetes mellitus : a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 215 : 210-232.
- Devarbhavi H., Asrani S.K., Arab J.P., Nartey Y.A., Pose E., Kamath P.S. (2023).** Global burden of liver disease : 2023 update. *Journal of Hepatology*, 79 : 516-537, DOI : 10.1016/j.jhep.2023.03.017.
- Djuidje N.M., Fepa K.A.G., Nwobegahay J., Moundipa F.P. (2018).** HBV and HCV seroprevalence and the predominant HCV genotypes in a hospital setting in Cameroon. *Virology & Mycology*, 7 (178) : 2161-0517, DOI : 10.4172/2161-0517.1000178.
- Dufour D.R., Lott J.A., Nolte F.S., Gretch D.R., Koff R.S., Seeff L.B. (2000).** Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. *Clinical Chemistry*, 46 : 2027-2049.
- Ebika S.N., Morgan D., Sanz C., Harris D.J. (2018).** Ficus species in the Sangha trinational, central Africa. *Edinburgh Journal of Botany*, 75 (3) : 377-420.
- Ellman G. (1959).** Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82 : 70-77.
- Feroz A., Nahida T. (2012).** Experimental models used for the study of antihepatotoxicity agents. *Journal of Acute Disease*, 85-89, DOI : 10.1016/S2221-6189(13)60064-5.
- Fogha V.J., Tchamgoue A.D., Domekouo U.L.F., Tarkang P.A., Agbor G.A. (2015).** *Morinda lucida* stem bark protects paracetamol induced liver damage. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 31 (1) : 198-204.
- Fraschini F., Demartini G., Esposti D. (2002).** Pharmacology of silymarin. *Clinical Drug Investigation*, 22 (1) : 51-65.
- Frodin D.G. (2004).** History and concepts of big plant genera. *Taxon*, 53 : 753-776. DOI : 10.2307/4135449.
- Gornall A., Bradwill C., David M. (1949).** Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biology and Chemistry*, 77 : 167-182.
- Gupta A., Sharman K., Kushwaha G., Goyal G., Singh G., Mansoori M.S. (2023).** Hepatoprotective activity of silymarin against paracetamol induced liver toxicity in albino rats. *The Pharma Innovation Journal*, 12 (7) : 1701-1705.

- Gupta R., Gupta A., Singh R.L. (2015).** Hepatoprotective activities of Triphala and its constituents. *International Journal of Pharma Research & Review*, 4 (1) : 34-55.
- Hazem M.M.H. (2012).** Hepatoprotective effect of red grape seed extracts against ethanol-induced cytotoxicity. *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry*, 7 (2) : 30-37, DOI : 10.5829/idosi.gjbb.2012.7.2.1102.
- Henry R.J., Canon D.C., Winkelman J.W. (1974).** Clinical chemistry, principles and techniques, 2^e édition. *Harper and Row*, 412-525.
- Husain K. Ansari R.A., Ferder L. (2014).** Alcohol-induced hypertension : mechanism and prevention. *World Journal of Cardiology*, 6 (5) : 245-252.
- Jiu D., Wenbo W., Zongzheng C. Bingcheng L., Weijie Z., Yong L., Xiuli Z. (2019).** Engineered liver-on-a-chip platform to mimic liver functions and its biomedical applications : a review. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, 10 (676) : 1-26, DOI : 10.3390/mi10100676.
- John D.B., Alan S. (1982).** Theory and practice of histological techniques. Churchill, Livingstone 2, 647 pages.
- Khazaei R., Seidavi A., Bouyeh M. (2022).** A review on the mechanisms of the effect of silymarin in milk thistle (*Silybum marianum*) on some laboratory animals. *Veterinary Medicinal and Science*, 8 : 289-301, DOI : 10.1002/vms3.641.
- Kim S., Christopher L., John D. (2019).** Bancroft's theory and practice of histological techniques 9th edition, *Elsevier*, 557 pages.
- Louvet A., Boitard J., Dharancy S., Duriez A., Deltenre P., Paris J-C., Mathurin P. (2006).** La mésaventure thérapeutique du paracétamol chez le buveur excessif. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 30 : 769-774.
- Malarkey D.E., Johnson K., Ryan L., Boorman G., Maronpot R.R. (2005).** New insights into functional aspects of liver morphology. *Toxicologic Pathology*, 33 : 27-34.
- Marieb E.N. (2008).** Biologie humaine, Principes d'anatomie et de physiologie. *France*, traduction de la 8^{ème} édition française, *Renouveau Pédagogique*, 631 pages.
- Marieb E.N., Hoehn K. (2010).** Anatomie et physiologie humaines. *Paris*, adaptation de la 8^{ème} édition américaine, *Nouveaux Horizons*, 1293 pages.
- McGill M.R., Jaeschke H. (2013).** Metabolism and disposition of acetaminophen : recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. *Pharmaceutical research*, 30 : 2174-2187.
- Mei-Fen C., Hsien-Hui C., Han-Lin L. (2012).** Protection of the extract of *Lentinus edodes* mycelia against carbon-tetrachloride-induced hepatic injury in rats. *The Scientific World Journal*, 1-8, DOI : 10.1100/2012/231586.
- Mezui C., Amang A.P., Ayissi M.R.E., Kuissu T.M.M., Lontsi-Nolah M.C., Mossebo T.Y., Tan P.V. (2019).** Acute and subacute toxicity of *Oxalis barrelieri* (Oxalidaceae) aqueous aerial parts extract. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 22 (2) : 1-13.

Mezui C., Siwe T.G., Amang A.P., Essong O., Boumzina L., Effouba N., Etende A.F., Tan P.V. (2016). Anti-ulcers properties and safety profile assessment of aqueous stem bark extract of *Alstonia boonei* de wild (Apocynaceae) in rodents. *Journal of International Research in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 10 (3) : 133-145.

Misra H., Fridovish I. (1972). Determination of the level of superoxide dismutase in whole blood. *Yale University Press New Haven*, 101-109.

Mohamad J.E., Jamileh M.J., Rasool C., Ghazaleh H., Mohamad K., Latif G. (2014). Hepatoprotective herbal medicine in iranian traditional medicine (ITM). *European Journal of Experimental Biology*, 4 (3) : 88-92.

Mossebo Y. (2021). Evaluation de l'effet hépatoprotecteur de l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus lingua* (Moraceae) sur l'hépatotoxicité induite par la gentamicine chez le rat. *Mémoire de master, Université de Yaoundé I, Faculté des Sciences, Cameroun*, 52 pages.

Muhammed M., Anjali P., Sarang B., Beena B., Muthuraman G. (2019). Hepatoprotective effect of Garcinol in acute paracetamol induced and chronic alcohol induced liver injury in experimental rats. *International Journal of Research Studies in Medical and Health Sciences*, 4 (7) : 11-20.

Murugesu S., Selamat J., Perumal V. (2021). Phytochemistry, pharmacological properties, and recent applications of *Ficus benghalensis* and *Ficus religiosa*. *Plants*, 10 (2749) : 1-29, DOI : 10.3390/plants10122749.

Ngene J.P., Ngoule C.C., Kidik C.P., Ottou P.M., Dibong S.D., Mpondo E.M. (2015). Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 88 : 8194-8210, DOI : 10.4314/jab.v88i1.6.

Nguepi T.S.I., Nguenguim T.F., Gounoue K.R., Mbatchou A., Dimo T. (2021). Curative effects of the aqueous extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. gray (Asteraceae) against ethanol induced-hepatotoxicity in rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 1-7, DOI : 10.1515/jbcpp-2019-0370.

Njamen D., Mvondo M.A., Djiogue S., Ketcha W.G.J.M., Magne N.C.B., Vollmer G. (2013). Phytotherapy and Women's Reproductive Health : The Cameroonian Perspective. *Planta Medica*, 79 : 600-611.

Noorani A.A., Gupta K., Bhadada K., Kale M.K. (2011). Protective effect of methanolic leaf extract of *Caesalpinia bonduc* (L.) on gentamicin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*, 10 (1) : 21-25.

Onkar B., Krishna R.V.B., Puneet K., Vinod G. (2016). Herbal induced hepatoprotection and hepatotoxicity : a critical review. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 60 (1) : 6-21.

Organisation Mondiale de la Santé (2012). Prévention et lutte contre l'hépatite virale : Cadre pour l'action mondiale. *Genève, Switzerland*, 5-26.

- Oumarou B.A., Ndzana M.B., TOM E.N.L., Bilanda D.C., Dimo T. (2012).** Antihypertensive activity of *Jateorhiza macrantha* (Menispermaceae) aqueous extract on ethanol-induced hypertension in wistar. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4 (2) : 293-298.
- Ozougwu J.C. (2017).** Physiology of the liver. *International Journal of Research in Pharmacy and Bioscience*, 4 (8) : 13-24.
- Palanivel M.G., Rajkapoor B., Senthil K.R., Einstein J.W., Kumar E.P., Rupesh K.M., Kavitha K., Pradeep K.M., Jayakar B. (2008).** Hepatoprotective and antioxidant effect of *Pisonia aculeata* against CCl₄-induced hepatic damage in rats. *Scientia Pharmaceutica*, 76 : 203-215, DOI :10.3797/scipharm.0803-16.
- Pandit A., Sachdeva T., Bafna P. (2012).** Drug-induced hepatotoxicity : a review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 02 (05) : 233-243.
- Pękala-Safińska A., Tkachenko H., Buyun L., Kurhaluk N., Kasiyan O., Honcharenko V., Prokopiv A., Osadowski Z. (2019).** Antibacterial efficacy of leaf extract obtained from *Ficus lingua* Warb. ex De Wild. & T. Durand (Moraceae) against *Aeromonas* spp. strains. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*, (3) : 139-153, DOI : 10.15414/agrobiodiversity.2019.2585-8246.139-153.
- Ponte M.L., Flores L.C., Fernandez A.J.M., Noferi L.N., Tosi E.J., Manzano D.C., Serra H.A. (2017).** Drug-induced hepatotoxicity. *Ec Gastroenterology and Digestive System*, 2 (5) : 429-432.
- Rhyner G., Zahedi K., Stadler P., Hayoz D. (2010).** Hépatotoxicité médicamenteuse due aux antibiotiques. *Revue Médecine Suisse*, 6 : 2180-2187.
- Ronsted N., Salvo G., Savolainen V. (2007).** Biogeographical and phylogenetic origins of African fig species (*Ficus* section *Galoglychia*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43 : 190-201.
- Shah P., Singh S.P., Gupta A.K., Kumar A. (2018).** Combined hepatoprotective activity of *Murraya koenigii* and *Phyllanthus niruri* extracts against paracetamol induced hepatotoxicity in alcoholic rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India, Section B : Biological Sciences*, 88 (2) : 655-665, DOI : 10.1007/s40011-016-0800-5.
- Shakya A.K. (2020).** Drug-induced hepatotoxicity and hepatoprotective medicinal plants : a review. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 54 (2) : 234-250, DOI : 10.5530/ijper.54.2.28.
- Sharma A., Sangameswaran B., Jain V., Saluja M.S. (2012).** Hepatoprotective activity of *Adina cordifolia* against ethanol induce hepatotoxicity in rats. *International Current Pharmaceutical Journal*, 1 (9) : 279-284.
- Sharma G.K., Saokar R., Shetty S.K., Ravi M. (2021).** Hepatoprotective effect of a indigenous polyherbal formulation Sumukti syrup against ethanol and paracetamol induced liver

damage in swiss albino rats. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 10 (9) : 3192-3203.

Silva-Correa C.R., Villarreal-La Torre V.E., Cruzado-Razco J.L., Sagástegui-Guarniz W.A., González-Blas M.V., González-Siccha A.D., Calderón-Peña A.A., Aspajo-Villalaz C.L., Guerrero-Espino L.M., Rosario-Chávarri J.D., Hilario-Vargas J. (2021). Antioxidant and hepatoprotective activity of ethanol extract of *Annona cherimola* Mill. on paracetamol-induced liver toxicity in rats. *Pharmacognosy Journal*, 13 (4) : 874-882.

Singanan V., Singanan M., Begum H. (2007). The hepatoprotective effect of bael leaves (*Aegle marmelos*) in alcohol induced liver injury in albino rats. *International Journal of Science & Technology*, 2 (2) : 83-92.

Singh D., Gupta R.S. (2011). Hepatoprotective activity of methanol extract of *Tecomella undulata* against alcohol and paracetamol induced hepatotoxicity in rats. *Life Sciences and Medicine Research*, 26 : 1-8.

Sinha K. (1972). Colorimetric essay of catalase. *Analyze biochemistry*, 47 : 389-394.

Siva T.K., Swarnalatha D., Sreenivasulu M., Gopinath C., Sowjanya G. (2016). A review on biological and phytochemical properties of Ficus species. *Critical Review in Pharmaceutical Sciences*, 5 (2) : 2319-1082.

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.

Tkachenko H., Buyun L., Hasiuk O., Beschasnyi S., Honcharenko V., Prokopiv A., Kurhaluk N. (2020). Antibacterial activity of an ethanolic extract derived from leaves of *Ficus lingua* Warb. ex De Wild. & T.Durand (Moraceae) against some gram-positive and gram-negative strains. *Природничий альманах (біологічні науки)*, 33 : 38-50.

Valášková P., Muchová L. (2016). Metabolism of bilirubin and its biological properties. *Klinická biochemie a metabolismus*, 24 (4) : 198–202.

Vouffo Y.E., Donfack M.F., Temdie J.R., Nguenguim T.F., Donfack H.J., Dzeufiet D.D., Dongmo B.A., Dimo T. (2012). Hepatho-nephroprotective and antioxidant effect of stem bark of *Allanblackia gabonensis* aqueous extract against acetaminophen-induced liver and kidney disorders in rats. *Journal of Experimental and Integrative Medicine*, 2 (4) : 337-344.

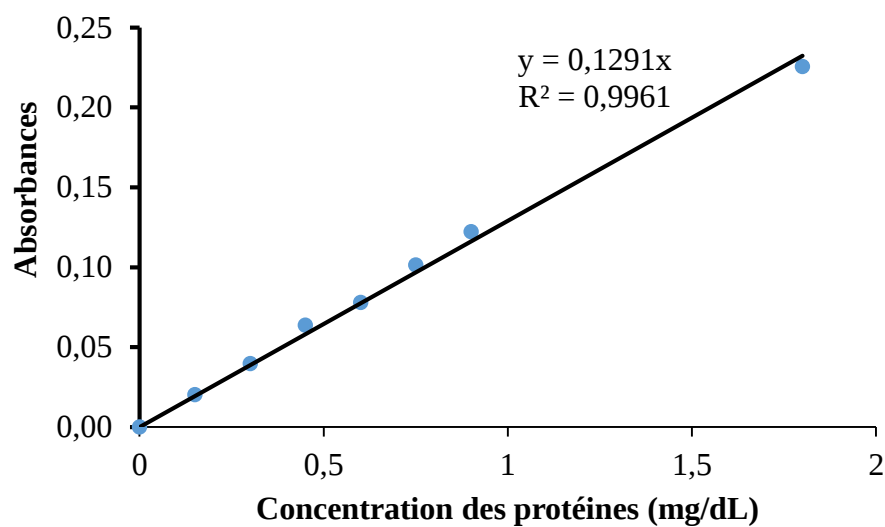
Wilbur K., Bernhein F., Shapiro O. (1949). Determination of lipid peroxydation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 24 : 3959-3964.

Yadav R.K., Nandy B.C., Maity S., Sarkar S., Saha S. (2015). Phytochemistry, pharmacology, toxicology, and clinical trial of *Ficus racemosa*. *Pharmacognosy Revue*, 9 (17) : 73–80, DOI : 10.4103/0973-7847.156356.

Yoon E., Babar A., Choudhary M., Kutner M., Pysopoulos N. (2016). Acetaminophen-induced hepatotoxicity : a comprehensive update. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 4 (2) : 131-142, DOI : 10.14218/JCTH.2015.00052.

Annexes

Annexe 1 : Courbe d'étalonnage des protéines totales



Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de la catalase

