



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

THEME

Évaluation des effets biochimiques de l'extrait aqueux de *Calligonum comosum* L. contre les altérations physiopathologiques induites par la Prégabaline

Présenté par :

- Attia Hanane
- Attia Raounek
- Diab Ferial
- Khiari Rayhana

Devant le jury composé de :

Président : Dr. MEDILA Ifriqya

M.A.A, Université d'El Oued.

Examineur : Dr.ADAIKA aicha

M.C.B, Université d'El Oued.

Promoteur : Dr. MEHDA Smail

M.C.B, Université d'El Oued

Co-promoteur: Dr .LAIB Ibtiham

Docteur, Université d'El Oued

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

*Avant toute chose, nous remercions «Allah», l'omnipotent, pour nos avoir donné la force
la patience et le courage pour mener ce travail à son terme .*

*À notre encadreur de mémoire Nous sommes heureux d'adresser nos remerciements à ceux qui nous
ont conseillés, guidés, , et contribué avec nous à la préparation de cette recherche en nous amenant aux
références et sources requises. était la meilleure aide pour nous en conseillant et en corrigeant et nous
avons eu une aide complète tout au long de la réalisation de nos recherches. Notre estimé professeur*

*** Dr. Mehda Ismail ***

*À notre cher professeur *Dr .Laïb Ibtiham* , Son aide et ses précieux conseils.
nous ont permis d'avancer plus loin dans mes recherches. Il a suivi mes travaux avec intérêt tout en
nous prodiguant des conseils toujours justes et il a su nous redonner courage et aider à traverser des
moments difficiles et des instants de doute. Aussi pour son soutien, son attention, son qualités
humaines. Pour tout cela, nous tiens à lui exprimer toute nos gratitude et tout particulièrement à le
remercier profondément .*

*On adresse nos sincères remerciements à tout l'ensemble des membres du laboratoire département de
la science de la nature et de la vie, Université HAMMA LAKHDAR El oued ,*

Nos respects et reconnaissance sont adressés à Mr KHIYARI ABDLATIF,* technicienne
au laboratoire d'Urgence 19 MARS d'El-oued .*

الاهداء

* إلى كل من أضاء بعلمه عقل غيره أو هدى بالجواب الصحيح حيرة سائليه فأظهر بسماحته تواضع العلماء وبرحابته سماحة العارفين .

* إلى قدوتي الأولى ونبراسي الذي ينير دربي إلى من أعطاني ولم يزل يعطيني بلا حدود إلى من رفعت رأسي عاليا
افتخارا به أبي العزيز - ذياب عبد الرحمان - أدامه الله ذخرا لي.

* إلى التي رأني قلبها قبل عينها وحضنتني أحشاؤها قبل يديها إلى شجرتي التي لا تدبل إلى الظل والذراع اليمنى
التي أوي إلما في كل حين وضيق أمني الغالية - ونيسي نادية - حفظها الله لي.

* إلى الشموع التي تنير لي الطريق وإلى من كانوا ظلي حين يلفحني التعب إخوتي حذيفة ومحمد الصالح وأخواتي
تقوى ونمارق حفظهم الله جميعا ورعاهم .

* إلى رفيق رحلة النجاح والتشجيع - عوادي عدنان -

* إلى فقيدي التي تسكن القلب جدتي الحبيبة - دادة الزهرة بن موسى - رحمها الله برحمته الواسعة.

* وأخيرا وليس آخرا أهدي هذا العمل المتواضع إلى كل من يتكبد عناء قراءته سواء لتقييمه أو لنقده أو لزيادته
علمه أو لإشباع فضوله .

الطالبة

π ذياب فريال 1

الاهداء

من قال انا لها « نالها» وانا لها وان ابت رغما عنها اتيت بها . عظم المراد فهان الطريق فجاءت لذة الوصول ..لتمحي مشقة السنين . الحمد لله الذي ما تيقنت به خيرا واملا الا واغرقني سرورا (وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ) .

الى الايادي الطاهرة التي ازلت من طريقي اشواك الفشل .. الى من ساندني بكل حب عند ضعفي .. الى من رسمولي المستقبل بخطوط من الثقة والحب ..اليكم عائلتي

«الى امي الغالية ساكر صباح ادامها الله »

اهدي فرحة تخرجي الى قرة عيني وطريقي الى الجنة الى تلك الانسنة العظيمة التي طالما تمننت ان تقر عينها برؤيتي في يوم كهذا الى التي كانت ولا زالت اول الداعمين لي

«الى والدي العزيز خياري عبد اللطيف حفظه الله »

معلمي الاول وسندي الثابت في كل خطوات حياتي الى مصدر فخري وسعادتي الذي لا ارى الدنيا الا به الى من كلل العرق جبينه وعلمني ان النجاح لا ياتي الا بالصبر والاصرار الى الذي اخرج اجمل ما في داخلي وشجعني دائما للوصول الى طموحاتي

«الى اخي الغالي احمد واخواتي بيان وحنين»

الى الذين امدوني دائما بالقوة وكانوا موضع الاتكاء في كل عثراتي وكانو لي حضنا وسندا وزرعو لي التفاؤل في دربي الى الشموع التي تنير دربي حفظهم الله جميعا

«الى دكاترتنا الاعزاء »

الى الذين غمرونا بالحب والتوجيه والنصيحة الى من كانوا وراء هذا النجاح ادعو الله ان يسدد خطاكم ويوفقكم

واخيرا وليس اخرا اهدي هذا العمل المتواضع الى كل من يتكبد عناء قراءته سواء لتقييمه او لزيادة علمه او لاشباع فضوله .

الأهداء

الى من بلغ الرسالة، وأدى الأمانة. ونصح الأمة الى نبي الرحمة ونور العالمين. سيدنا محمد ﷺ.

الى من كلله الله بالهيبة والوقار.. الى من علمني العطاء بدون انتظار.. الى من احمل اسمه بكل افتخار.. يا من افتقدك منذ الصغر يا من يدعش قلبي لذكرك.

يا من اودعتني لله كم تمنيتك من الله ان يمد في عمرك لتدري ثمارا قد حان قطافها بعد طول انتظار وستبقى كلماتك نجوما اهتدي بها اليوم وفي الغد والى الابد (والدي العزيز) _ رحمه الله _ واسكنه فسيح جناته.

الى ملاكي في الحياة الى من كان دمانها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحها الى أختي الحبايب _ امي الحبيبة _
متعها الله بالصحة والعافية.

الى رفيق الروح. ملازمي في مسري قبل يسري المتكأ والرفيق المعين الذي شاركني خطوات هذا الطريق
سدي _ زوجي الغالي سفيان بوغزالة _

ولا أنسى اخواني واخواني الذين بذلوا جهودا مشكورة في مسيرتي العلمية.

الى خالد الذكر وكان خير مثال لروح الاسرة وشرفني ان احمل اسمه لأولادي مستقبلا - أبي الثاني والغالي
العروسي بوغزالة ادامه الله بالصحة والعافية.

الى معني الحنان والتفاني.. الى بسمه الحياة والدته زوجي الغالية - نورة مصباحي -

وأخيرا الى مصدر قوتي.. الدائمة الساندة، ارضي الطلبة وجدواني المتبينة في مسيرتي اختي - حنان -

الاهداء

5 سنوات من الجد والسمر نختمها بأسطر ولن كثرتك لن تدروي ما عشناه من فرح وحزن وخوف وامل ...

ها قد وصلنا يا من قلتم لن نصل.

فالحمد لله الذي اقبلنا برحمته وعطفه ونعمته.

سيقبلون رؤوس ابائهم وانا يا ابي سأقبلك بالدعاء في يوم تخبرني (اللهم اجعل ابي من الضاحكين المستبشرين

الغارسين من ثمار جنتك الشاربين من حوض نبيك والمحظوظين بشفاعته وجميع موتى المسلمين.

الى التي نسجت لنا الامل، وزرعت فينا الحب والطمأنينة الى ربيتي في الليالي الشدايد الى خيري ونيرتي

واختياري، امي الحنونة

الى من نال منه التعب وتحمل قساوة الحياة لأجلنا، الى الذي قال لي يوما لن تشقي ما دمت حيا، الى سدي

ومسدي وقوتي واتكائي، زوجي الغالي.

الى شرايين قلبي اولادي قرة عيني، سيرين، محمد الهادي، مريم

الى اخوتي واخواتي كل واحد باسمه

الى حبيبتي وداعتي ورفيقة مشواري الدراسي اختي رونق

رحنان عطية 1

RESUME

L'objectif de la présente étude est d'étudier l'effet curatif (C) *Calligonum comosum L.* sur la toxicité induite par le prégabaline (PGB) chez les rats.

20 rats mâles Wistar ont été divisés en quatre groupes de 5 rats chacun : chacun dont le premier lot sert de témoin, le second lot sont exposés aux extrait de plant (100mg/1kgbw), le troisième lot sont exposés aux prégabaline (200mg/kg bw) pendant 28 jours, le quatrième lot sont exposés aux prégabaline pendant deux semaines et traité par plante (*Calligonum comosum L.*) pendant 14 jours.

Les résultats de l'analyse phytochimique qualitative de l'extrait aqueux de *Calligonum comosum L.* ont révélés l'existence des plusieurs principes actifs. Ensuite, l'analyse quantitative a montré des teneurs élevées en polyphénol total et en flavonoïde total dans l'extrait d'Cc (185.073 ± 4.0134 mg GAeq /g poids de sec, $21,757 \pm 2.862$ mg Q eq /g dry wt). . Les données de HPLC ont révélé la présence de 8 acides phénoliques. En outre, le test de toxicité aigu de *Calligonum comosum L.*, D'autre part n'a révélé aucune mortalité ni modification du comportement jusqu'à 2000 mg / kg chez les rats.

En ce qui concerne les effets pharmacologiques, à partir de l'analyse de nos résultats, on observe une augmentation significative ($p < 0.05$) considérable de poids corporelle et poids relatifs d certain organes prélevés (rein et testicule) des rats exposés au prégabaline par rapport au témoin, et la fonction hématologique et immunologique, des marqueurs enzymatiques hépatiques (TGO, TGP et LDH) et de la fonction rénale (urée, acide urique). Ces changements ont été accompagnés d'une augmentations significative ($p < 0.05$) (cholestérol, triglycéride, glucose). Les études histopathologiques ont montré une dégénérescence massive des tissus de foie, rein et testicule chez les rats exposés au PGB.

Cependant, le traitement par *Calligonum comosum L.* atténue la plupart des effets indésirables du prégabaline (PGB). Hématologique, biochimique, histopathologie, réduisant finalement l'accumulation de prégabaline.

En conclusion, cette étude montre que *Calligonum comosum L.* a un effet curatif contre la défaillance d'organes induite par la prégabaline.

Mots clés : *Calligonum comosum L.*, prégabaline, HPLC, Altérations physiologiques, Rats wistar.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة التأثير العلاجي لمستخلص نبات الارطا ضد التغيرات الفيزيولوجية المرضية التي يسببها لبريقبالين على فئران التجارب.

20 من ذكور الفئران البيضاء تم تقسيمها الى 4 مجموعات تحتوي كل منها على 5 فئران: كل منها تستخدم الدفعة الأولى كشاهدة، وتعرض الدفعة الثانية لمستخلص نباتي (100 مغ/ 1 كغ من وزن الجسم)، تم تعريض الدفعة الثالثة لمادة بريقبالين (200 مغ / كغ من وزن الجسم) لمدة 28 يوماً، أما الدفعة الرابعة فتعرض لمادة بريقبالين لمدة أسبوعين ومعالجتها بنبات (*Calligonum comosum* L) لمدة 14 يوماً.

أظهرت نتائج التحليل الكيميائي النباتي النوعي للمستخلص المائي (*Calligonum comosum* L) وجود العديد من العناصر الفعالة. بعد ذلك أظهرت التحليل الكمي محتويات عالية من البوليفينول الكلي و الفلافونويد الكلي في المستخلص Cc (185.073 ± 4.0134mg GAeq /g, 21,757±2.862 mg Q eq /g dry wt).

أظهرت بيانات HPLC وجود 8 أحماض فينولية. علاوة على ذلك أظهرت اختبار السمية الحادة ل (*Calligonum comosum* L) عدم حدوث وفيات أو تغيرات سلوكية تصل الى 2000 مغ/كلغ عند الفئران .

فيما يتعلق بالتأثيرات الدوائية، من تحليل نتائجنا، نلاحظ زيادة معنوية ($P < 0.05$) في وزن الجسم و الاوزان النسبية لبعض الأعضاء التي تم استئصالها (الكلى، الخصية). من الفئران المعرضة للبريقبالين مقارنة بالشاهدة، و وظيفة الدم و المناعة وعلامات انزيم الكبد (TGO , TGP, LDH) و وظيفة الكلى (اليوريا و حمض اليوريك). ترافقت هذه التغيرات مع زيادة معنوية ($p < 0,05$) للكوليسترول و الدهون الثلاثية و الجلوكوز . أظهرت الدراسات النسيجية المرضية تشوها لأنسجة الكبد و الكلى و الخصية للفئران المعرضة للـ PGB. ومع ذلك، فإن العلاج باستخدام *Calligonum comosum* يخفف من معظم الآثار الضارة للبريقبالين , امراض الدم و الكيمياء الحيوية و النسيجية مما يقلل في النهاية من تراكم البريقبالين.

في الختام , تظهر هذه الدراسة ان *Calligonum comosum* L له تأثير علاجي ضد فشل الأعضاء الناجم عن لبريقبالين .

الكلمات المفتاحية: نبات الارطا , البريقبالين , التغيرات الفيزيولوجية , فئران ويستار .

Liste des abréviations

BHT	Butyl Hydroxy Toluène
Cc	<i>Calligonum comosum L</i>
Cm	Centimètre
DPPH	Diphenylpicrylhydrazy
EC50	Concentration efficace médiane
FNS	Numération Formule Sanguine
FRAP	Feuille de Révélation et d'Analyse des Problèmes
FSH	Hormone folliculo-stimulante
GR	Globules Rouges
GRAN	Granulocytes
H2SO4	Acide Sulfurique
H3PO4	Acide Phosphorique
HAT	Transfert d'atome D'hydrogène
HCT	Hématocrit
HGB	Hémoglobine
HPLC	Chromatographie en Phase Liquide Haute Performance
IC50	Concentration inhibitrice médiane
LDH	Lactate Déshydrogénase
LH	Hormone Lutéinisante
LYM	Lymphocytes
MDA	Malondialdéhyde
PGB	Prégabaline
PLT	Plaquette
SET	Transfert D'électron Unique
TBARS	Thiobarbituric Acid Reactive Substances
TGO	Glutamate-Oxaloacetate-Transaminase
TGP	Glutamate-Pyruvate Transaminase

Liste des figures

Figure 1 : La forme commercial de prégabaline en Algérie.....	4
Figure 2 : Structures chimiques du GABA, de la prégabaline et de la gabapentine	5
Figure 3: <i>Calligonum comosum</i> (https://en.wikipedia.org/wiki/Calligonum_comosum)	11
Figure 4: Localisation de <i>Calligonum comosum</i> dans le monde	12
Figure 5 : la partie aérienne de <i>Calligonum comosum</i> L (photo originale).....	16
Figure 6 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental d'étude vivo	17
Figure 7 : Schéma de préparation de l'extrait aqueux <i>Calligonum comosum</i> L.	19
Figure 8 : Chromatogrammes HPLC de l'extrait	25
Figure 9 : Activités des enzymes hépatiques et sériques dans les groupes témoins et expérimentaux	30
Figure 10 : Glycémie, cholestérol et tri glycéride moyenne et valeur biochimique du sang chez les sujets témoins et groupes expérimentaux.	31
Figure 11 : Coupe de foie de groupe Contrôle (A) et Cc (B)	33
Figure 12 : Coupe du foie du groupe PGB.	33
Figure 13 : La coupe du foie(Pgb+Cc)	34
Figure 14 : Coupe de Rein de groupe Contrôle (A) et Cc (B).....	35
Figure 15 : Coupe du Rein du groupe Pgb	35
Figure 16: La coupe du Rein (Pgb+Cc)	36
Figure 17: Coupe de Testicule de groupe Contrôle (A) et Cc (B).....	37
Figure 18: Coupe du testicule du groupe PGB.....	37
Figure 19 : La coupe du testicule (Pgb+Cc).....	38

Listes de tableaux

Tableau 1 : Effets indésirables de la prégabaline	7
Tableau 2 : Classification de <i>Calligonum comosum</i>	11
Tableau 3 : Composition photochimique de l'extrait aqueux de <i>Calligonum comosum</i> L.	24
Tableau 4 : Teneur totale en phénols, flavonoïdes.	24
Tableau 5 : Temps de rétention et concentration des composés phénoliques identifiés dans l'extrait aqueux C.C.	25
Tableau 6 : EC50 en DPPH de pouvoir réducteur FRAP de l'extrait aqueux de <i>Calligonum comosum</i> L	26
Tableau 7 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de <i>Calligonum comosum</i> L et pourcentage d'inhibition de vitamine C en termes de concentration	26
Tableau 8 : Effets toxiques potentiels de l'extrait de Cc chez le rat.	27
Tableau 9 : Gain de poids initial et gain de poids corporel chez groupes témoins et expérimentaux.	27
Tableau 10 : poids relatifs des reins, testicule et du foie chez groupes témoins et expérimentaux :	27
Tableau 11 /12 : Les paramètres hématopoïétiques chez les sujets témoins et groupes expérimentaux	28
Tableau 1 : Valeurs moyennes des paramètres rénaux dans les groupes contrôle et expérimental.....	30
Tableau 14 : Valeurs moyennes des paramètres rénaux dans les groupes contrôle et expérimental	30
Tableau 15: les paramètres hormonaux chez les sujets témoins et groupes expérimentaux .	32

Sommaire

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

Synthèse bibliographique

Chapitre I:

Prégabaline (Lyrica)

I.1. Généralité	4
I.2. Structure chimique de la prégabaline	4
I.3. Pharmacodynamique	5
I.4. Pharmacocinétique	6
I.5. Effets indésirables	6
I.6. Toxicologie	8
I.6.1. Toxicité aiguë	8
I.6.2. Toxicité génétique.....	9

Chapitre II:

Calligonum comosum

II.1. Définition	11
II.2. Description botanique	11
II.3. Classification	11
II.4. Localisation géographique	12
II.5. Etude phytochimique de <i>Calligonum comosum</i>	12
II.6. Effet thérapeutique.....	12

Études expérimentales

Chapitre I

Matériel et méthode

I.1. Matériels.....	16
I.1.1. Matériel végétal	16

I.1.2. Les animaux.....	16
I.1.2.1. Condition d'élevage.....	16
I.1.2.2. Traitement des animaux.....	16
I.1.3. Réactif et produits utilisés.....	18
I.2. Méthodes.....	18
I.2.1. Méthode d'Etude in-vitro.....	18
I.2.1.1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux	18
I.2.1.2. Analyse photochimiques.....	20
I.2.1.3. Méthode de dosage des poly phénols totaux	20
I.2.1.4. Méthode de dosage des Flavonoïdes	21
I.2.1.5. Méthode d'analyse de l'activité antioxydant (test DPPH).....	21
I.2.2. Méthode d'étude in-vivo.....	22
I.2.2.1. Détermination des paramètres Biochimique.....	22
I.2.2.2. Étude histopathologique des tissus du foie, des reins et des testicules.....	22
I.2.3. Méthode d'analyse statistique	22

Chapitre II

Résultat

II.1. Etude phytochimique de l'extrait aqueux <i>Calligonum comosum L</i>	24
II.1.1. Rendement d'extraction	24
II.1.2. Criblage photochimique	24
II.1.3. Quantification des composés photochimiques	24
II.1.4. Analyse qualitative par HPLC.....	24
II.2. Capacité antioxydante in vitro	25
II.3. Étude in vivo	26
II.3.1. Étude de toxicité aiguë	27
3.2. Effets curatifs du <i>Calligonum comosum L</i> sur prégabaline	27
3.2.1. Gain de poids corporel, poids relatif des reins, testicule et du foie	27
3.2.2. Paramètres Hématopoïétiques	28

3.2.3.Paramètres biochimiques :	29
3.2.4.Paramètres hormoniques	31
3.2.5.Etudes histopathologiques.....	32

Chapitre III

Discussion

Discussion.....	40
Conclusion.....	47
Références	49
<i>Annexes</i>	53

Introduction

La prégabaline est couramment consommée par les jeunes. Son accès facile depuis les pharmacies sans ordonnance a créé des marchés noirs et largement distribué le médicament. La prégabaline est couramment utilisée en psychiatrie, en neurologie et en médecine primaire soins de santé. C'est un médicament anticonvulsivant qui est structurellement similaire à Gabapentine avec six fois plus de puissance. La prégabaline est largement utilisée pour le traitement de l'épilepsie, de l'anxiété, de la fibromyalgie et des douleurs neuropathiques par exemple (**Loftus. 2014**). Patients diabétiques La prégabaline agit en se liant aux canaux calciques voltage-dépendants exerçant son activité antalgique et anxiolytique . Il a des propriétés similaires au GABA et il est impliqué dans le système de récompense dopaminergique (**Shokry et al. 2020**).

La prégabaline, vendue sous le nom de marque Lyrica, a augmenté ses prescriptions aux patients ces dernières années car elle est si efficace pour contrôler l'intensité de la douleur, en particulier pour les personnes souffrant de douleur chronique, que le médicament procure un certain soulagement de la douleur. Cependant, il y a eu des enquêtes et des recherches sur le fait qu'en abuser provoque une dépendance et est plus dangereux lorsqu'il est beaucoup abusé, et c'est la situation que nous voyons maintenant parmi ses utilisateurs, ce qui menace la santé humaine, en particulier chez les jeunes.

Par conséquent, la recherche s'est développée sur les dangers de la prégabaline et sur l'éducation des gens dans la mesure de son effet dangereux en cas de dépendance ou d'abus, et c'est ce qui nous a fait, ainsi que tous les chercheurs, éduquer les gens, et nous distinguons toujours la catégorie des jeunes, et cela pousse toujours nous de trouver une solution pour réduire son danger et le traiter lorsqu'il s'accumule dans l'organisme, et c'est ce qui nous a fait ouvrir une étude sur l'herboristerie médicamenteuse. La phytothérapie est l'art de guérir avec les plantes. C'est une drogue très ancienne. Actuellement, de nombreux médicaments tirent leur origine des plantes médicinales. *Comosum Calligonum* L Ou ce qu'on appelle ARTA c'est une plante médicinale arborescente qui appartient à la famille des agrumes. Il contient un groupe de composés chimiques qui en font une plante médicinale qui a de nombreux bienfaits pour la santé, comme le traitement du cancer, des tremblements, et les maladies nerveuses, ainsi qu'un remède contre la toux...etc .

Cependant, il y a un manque d'études qui testent tout effet curatif du PGB contre altérations physiopathologiques des drogues d'abus. Par conséquent, la présente étude visait à évaluer l'effet curatif possible de *Calligonum Comosum* L contre la toxicité potentielle d'une prégabaline chez les rats Wistar.

Première partie se compose de deux chapitres; le premier chapitre comprend un aperçu bibliographique de la prégabaline, et le deuxième chapitre présente d'*Calligonum comosum* L. La deuxième partie concerne le travail expérimental;

- ✓ **Première partie** : basée sur l'étude *in vitro* ; extraction d'extrait végétal, caractérisation quantitative et qualitative de ces composés, et évaluation de leurs activités biologiques via des dosages d'activité antioxydant.
- ✓ **Deuxième partie** : Basée sur l'étude *In vivo* pour l'évaluation de l'efficacité curative de l'extrait aqueux de *Calligonum Comosum* contre les altérations métaboliques, physiologiques et histologiques induites par la prégabaline expérimentale chez le rat.

Partie I

Synthèse bibliographique

Chapitre I:

Prégabaline (Lyrica)

I.1. Généralité

La prégabaline est un analogue du GABA sans action directe sur le récepteur gabaergique et ayant une structure proche de la gabapentine. C'est un ligand qui exerce des effets anticonvulsivants, analgésiques et anxiolytiques sur des modèles animaux et a une affinité élevée pour les sous-unités α -2- δ des canaux calciques voltage dépendant (GAGNEUX Sophie .2017) . Après avoir formé une liaison forte avec la sous-unité α -2- δ des canaux calciques des neurones hyperexcités, elle diminue l'afflux de calcium induit par la dépolarisation, réduisant ainsi les émissions de nombreux neurotransmetteurs excitateurs, y compris le glutamate, la noradrénaline et la substance P (GAGNEUX Sophie .2017).



Figure 1 : La forme commercial de prégabaline en Algérie

I.2. Structure chimique de la prégabaline

La prégabaline a une structure chimique dérivée du neurotransmetteur présent chez les mammifères, l'acide gamma aminobutyrique (GABA) (Silverman et al. 1991), mais n'agit pas sur les récepteurs GABA et ne paraît pas mimer l'action du GABA ni stimuler son activité pharmacologique.

L'activité pharmacologique de la prégabaline requiert la substitution chimique d'une chaîne aliphatique en position 3 sur la molécule du GABA (Figure 02), qui procure une forte affinité pour un nouveau site de fixation localisé dans les membranes du cerveau, à savoir la sous-unité auxiliaire α 2- δ des canaux calciques voltage-dépendants (Bellioti et al. 2005). À plusieurs titres, les mécanismes d'action de la prégabaline sont similaires à ceux du composé apparenté, la gabapentine, cependant améliorés par le mode d'administration par voie orale et une efficacité renforcée. (Bellioti et al. 2005).

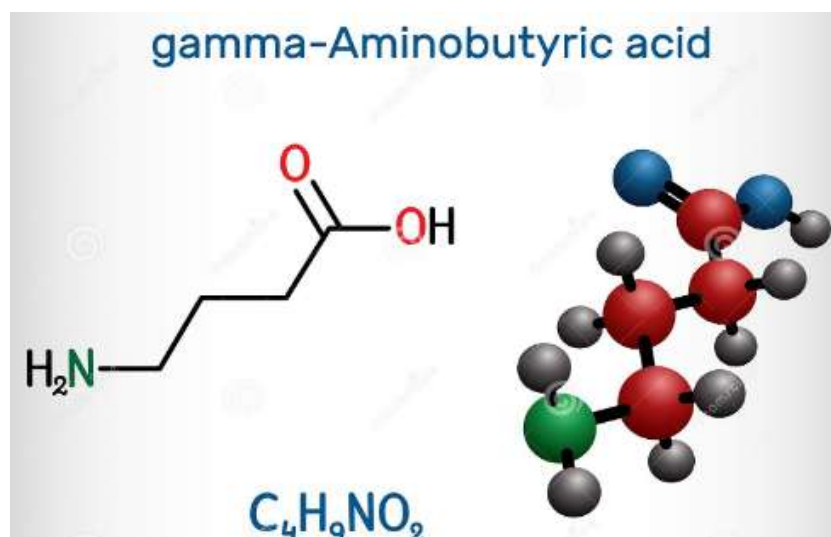


Figure 2 : Structures chimiques du GABA, de la prégabaline et de la gabapentine (Patel et Dickenson, 2016)

I.3. Pharmacodynamique

Même si les mécanismes d'action de la PGB ne sont pas encore entièrement connus, il a été démontré que la molécule est un ligand spécifique de la sous-unité $\alpha 2$ - δ des canaux Ca²⁺ de type P/Q voltage-dépendant. La conséquence de cette liaison de haute affinité est une diminution du flux entrant de calcium au niveau des terminaisons nerveuses, aboutissant à une diminution de la libération de neurotransmetteurs excitateurs : glutamate, noradrénaline et substance P. Cependant, bien qu'analogue structural du GABA, la PGB ne possède pas d'action GABAergique : elle n'agit pas sur les récepteurs GABAA ou GABAB, n'est pas métaboliquement convertie en GABA ou antagoniste GABA, et n'altère pas la recapture ou la dégradation du GABA (Errante et Petroff. 2003 .Bialer et al. 2002). L'action anticonvulsivant de la PGB a d'abord été démontrée dans des études précliniques chez l'animal (Taylor et Vatanian. 1997). En effet, la PGB possède une activité sur les crises induites dans divers modèles murins : crises toniques des extenseurs induites par électrochocs chez la souris et le rat, crises induites par *kindling* chez le rat, crises induites par des agents pharmacologiques comme le pentétrazole, la bicuculline, la picrotoxine, ainsi que sur les crises du modèle génétique de souris audiogéniques DBA/2. Plus récemment, un effet protecteur avec retard de l'apparition du statut induit par injection de lithiumpilocarpine a été démontrée chez le rat après administration à long terme de PGB (Andre et al. 2003). En revanche, aucune efficacité n'a été démontrée sur des modèles de crises généralisées spontanées de type absence chez les rats GAERS.

I.4. Pharmacocinétique

Le profil pharmacocinétique de la PGB est relativement simple et prédictible (**Busch et al. 1998 . Ben-Menachem. 2004**). Tout d'abord, son absorption orale est rapide, avec une concentration plasmatique maximale (C max) atteinte en un peu plus d'une heure. La C max, ainsi que l'aire sous la courbe (ASC) concentration/temps sont directement proportionnelles à la dose absorbée. La demi-vie plasmatique est d'environ 6 heures, indépendamment de la dose absorbée. La biodisponibilité orale est supérieure à 90 % et indépendante de la dose. La drogue n'est pas liée aux protéines plasmatiques et aucune interaction majeure n'a été démontrée entre la PGB et d'autres antiépileptiques potentiellement utilisés dans les épilepsies partielles pharmacorésistances (Carbamazépine, Lamotrigine, Phénobarbital, phénytoïne, topiramate, acide valproïque), ainsi qu'avec les contraceptifs oraux. L'utilisation de PGB n'affecte donc pas les propriétés pharmacocinétiques de ces médicaments, qui, réciproquement, ne modifient pas celles de la PGB (**Bialer et al. 2002**). La PGB est très peu métabolisée par le foie et son élimination est essentiellement rénale, à 98 % sous forme inchangée. Aucune interaction avec le cytochrome P450 n'a été démontrée. L'élimination rénale est proportionnelle à la clairance de la créatinine et doit être adaptée en cas d'insuffisance rénale et de dialyse, mais n'est pas dépendante de l'âge, du sexe, de la race, ou de l'utilisation d'autres antiépileptiques (**Randinitis et al. 2003**).

I.5. Effets indésirables

Les effets indésirables sont présentés dans le tableau ci-dessous, le tableau 1 ci-dessous énumère, par type et par fréquence, tous les effets indésirables survenus à une incidence supérieure à celle du placebo et chez plus d'un patient (très fréquents (> 1/10), fréquents (> 1/100 et < 1/10), peu fréquents (> 1/1.000 et < 1/100) et rares (< 1/1.000) (**Mylan Pharmaceuticals. 2017**)

Tableau 2 : Effets indésirables de la prégabaline (Mylan Pharmaceuticals. 2017)

Appareil ou système	Effets indésirables
Ensemble de l'organisme	
Fréquents	Syndrome grippal, dorsalgie, réaction allergique, fièvre, œdème Généralisé
Peu fréquents	Algie cervicale, néoplasme, cellulite, kyste, frissons, malaise, surdosage, candidose, hernie, infection virale, réaction de photosensibilité, douleur pelvienne, distension abdominale, abcès, raideur de la nuque.
Rares	Infection fongique, bienfait inattendu, frissons et fièvre, odeur corporelle, diminution des concentrations du médicament, haleine fétide, obnubilation
Système cardiovasculaire	
Fréquents	Hypertension, vasodilatation
Peu fréquents	Palpitations, migraine, tachycardie, angiopathie périphérique, anomalie de l'électrocardiogramme, trouble cardiovasculaire, insuffisance cardiaque congestive, hémorragie, infarctus du myocarde.
Rares	Arrêt cardiaque, anomalie vasculaire, occlusion, arythmie auriculaire, flutter auriculaire, infarctus cérébral, occlusion coronarienne, thrombophlébite, pâleur, , cardiomyopathie, hémorragie cérébrale, intoxication digitalique,
Appareil digestif	
Fréquents	Nausées, diarrhée, anorexie, trouble digestif

Peu fréquents	Gastroentérite, trouble dentaire, abcès périodontique, colite, gastrite, anomalies des résultats des épreuves de la fonction hépatique, ptyalisme.
Rares	Éructation, pancréatite, ulcère de l'estomac, stomatite ulcéreuse, sténose oesophagienne, incontinence fécale, hémorragie gingivale, obstruction intestinale, entérite, , cardiospasme, ulcère duodénal, perforation de l'intestin, sténose intestinale, ulcère intestinal, leucoplasie buccale, pancréatite nécrosante, trouble pancréatique, hémorragie ulcéreuse de l'estomac,
Système sanguin et lymphatique	
Peu fréquents	Anémie, leucopénie, thrombocytopénie, lymphadénopathie, anémie hypochrome, leucocytose, éosinophilie
Rares	Lymphocytose, pétéchies, anémie ferriprive, cyanose, lymphoedème, polyglobulie, pseudolymphome, anémie mégaloblastique, splénomégalie, purpura, thrombocytémie, purpura thrombopénique, leucémie chronique, trouble de la coagulation, anomalie des érythrocytes, état pseudoleucémique, lymphangite,

I.6. Toxicologie

I.6.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë de la prégabaline est faible. Les animaux ayant reçu de la prégabaline par voie orale dans le cadre d'études portant sur l'administration d'une dose unique et de doses multiples étaient : hypoactifs, hyperactifs et/ou ataxiques ; ces comportements sont souvent liés à l'emploi de médicaments agissant sur le SNC. Aucun effet toxique significatif sur les organes cibles n'a été observé chez les rats traités pendant une période maximale de 52 semaines ni chez les singes traités jusqu'à concurrence de 69 semaines, alors que l'exposition était au moins 8 fois supérieure à celle qu'on obtient en moyenne chez l'être humain à la dose maximale recommandée de 600 mg/jour. Les effets de la prégabaline chez les animaux jeunes et adultes étaient semblables. Des études de toxicité

aiguë orale et intraveineuse ont été menées chez la souris et le rat. L'administration d'une dose unique de 5000 mg/kg par voie orale ou de 300 mg/kg par voie intraveineuse (la plus forte dose possible par cette voie compte tenu des limites de solubilité et de volume) a entraîné l'hypoactivité chez la souris et le rat, ainsi que de la diarrhée et la coloration des urines chez le rat, sans toutefois provoquer la mort ou la modification des paramètres biochimiques cliniques. Aucune altération macroscopique ou histopathologique liée au médicament n'a été constatée chez les rongeurs ayant reçu une seule dose par voie orale ou intraveineuse (Mylan Pharmaceuticals. 2017).

I.6.2. Toxicité génétique

Le potentiel génotoxique de la prégabaline a été évalué dans le cadre d'une batterie de tests. La prégabaline n'a pas eu d'effet mutagène sur les bactéries cultivées (jusqu'à concurrence de 5000 µg/boîte de Petri), avec ou sans l'activation métabolique assurée par le surnageant post mitochondrial du foie de souris B6C3F1 ou CD-1, ou encore de rats Wistar traités par Arcelor 1254. Aucun signe de mutagénicité ou d'aberration structurale des chromosomes n'a été observé dans des cellules de mammifères *in vitro* à des doses pouvant atteindre 1600 µg/ml, avec ou sans activation métabolique. La prégabaline n'a pas déclenché la synthèse d'ADN non programmée dans les hépatocytes de souris B6C3F1 ou CD-1, ou encore de rats Wistar ayant reçu une dose unique par voie orale pouvant atteindre 2000 mg/kg. Le nombre de cellules porteuses de micronoyaux n'a pas augmenté dans la moelle osseuse des souris B6C3F1 ou CD-1 ni des rats Wistar exposés à une dose orale unique allant jusqu'à 2000 mg/kg. Ces résultats prouvent que la prégabaline n'a pas d'effet génotoxique que ce soit *in vitro* ou *in vivo* (Mylan Pharmaceuticals. 2017)

Les études actuellement disponibles sur la prégabaline (PGB) montrent cependant une supériorité de cette molécule par rapport à la gabapentine (GBP), notamment en termes d'efficacité, de propriétés pharmacocinétiques et de biodisponibilité orale aux doses utilisées en pratique clinique, au prix d'une augmentation substantielle de certains effets indésirables. Par ailleurs, son efficacité, évaluée au cours de trois essais cliniques multicentriques randomisés en double aveugle contre placebo entièrement publiés, semble équivalente à celle des autres nouveaux antiépileptiques. Dans cet article, au travers des données de la littérature actuellement disponibles, nous essaierons de définir la place potentielle de ce "nouvel antiépileptique" et son mode d'utilisation dans la prise en charge des épilepsies partielles résistantes. (Guye et Chauvel. 2005)

Chapitre II

Calligonum comosum

II.1. Définition

Calligonum comosum est une espèce de plante à fleurs de la famille des Polygonaceae. Cette plante contient des polyphénols antioxydants; *C. comosum* est utilisé comme source de bois de chauffage sans fumée et pour le tannage du cuir. De plus, il est utilisé dans la médecine folklorique traditionnelle (WALIED et al .2015)



Figure 3: *Calligonum comosum*
(https://en.wikipedia.org/wiki/Calligonum_comosum)

II.2. Description botanique

C'est un plant arbuste à branches rameuses et flexibles, sans tronc. Fleurs blanches petites, fruit de 1 à 2 cm portant des poils. Le fruit à en coupe une forme de croix. Plante excellent fixateur de dunes, une butte se forme au cours des années, sous la butte se trouvent les branches de la plante, et leur taille et nombre est impressionnant (Bowles.2004)

II.3. Classification

Place dans la systématique (Lahlou.2004)

Tableau 3 : Classification de *Calligonum comosum*

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Caryophyllidae
Ordre	Polygonales
Famille	Polygonaceae
Genre	Calligonum

Espèce	Calligonum comosum
--------	--------------------

II.4. Localisation géographique

Il est originaire du Sahara, de Socotra, de la péninsule arabique et du Moyen-Orient jusqu'au Pakistan et au désert du Rajasthan dans l'ouest de l'Inde.



Figure 4: Localisation de *Calligonum comosum* dans le monde
(https://en.wikipedia.org/wiki/Calligonum_comosum)

II.5. Etude phytochimique de *Calligonum comosum*

Etude phytochimique a été faite par El Sayyqd et wanger en 1978. les resultat de isolation et identofication chimique et spectroscopique sont ; flaonoids kaempferol ,quercetin , quercetin-2-O-beta-D-glusides (isoquercetin) et kaempferol-3-O-beta-D-glucuronide, procyanidines et carotenoids violaxanthin et neoxanthin.

II.6. Effet thérapeutique

Calligonum comosum est utilisé en médecine folklorique traditionnelle pour traiter les maux de ventre et les maux de dents.

Plusieurs études ont démontré un certain nombre d'effets biologiques de l'extrait de *C. comosum* dans des modèles animaux, notamment les activités thérapeutiques inclus :

Activités anti-inflammatoires, activités antioxydative, activités anti-ulcéreuses gastriques

activités antihyperglycémiques activités anticancéreuses chez des souris inoculées avec des cellules de carcinome d'ascite d'Ehrlich (**WALIED et al ,2015**).

Partie II

Études expérimentales

Chapitre I

Matériel et méthode

I.1. Matériels

I.1.1. Matériel végétal

La plante utilisée dans ce travail est la partie aérienne de *Calligonum comosum* L, a été Collecté dans la région d'El Ghenami, Province de Ouargla, lavés plusieurs fois, séché dans une chambre sombre et aérée pendant deux semaine, et conservé dans un récipient en verre jusqu'au début de l'expérience (Figure 05).



Figure 5 : la partie aérienne de *Calligonum comosum* L (photo originale).

I.1.2. Les animaux

I.1.2.1. Condition d'élevage

Notre étude a réalisé sur vingt-six rats mâles de type Wistar, provenant de l'institut pasteur d'Alger, âgés de huit semaines avec poids de 196.65 ± 21.303 . Les animaux sont élevés à l'animalerie de la faculté de sciences de nature et de la vie, à l'université Echahid Hamma Lakhdar-El-Oued. Ils soumissent à une période d'adaptation aux conditions de l'animalerie pendant un mois d'environ à une température de $18 \pm 0,18^\circ\text{C}$. Les rats sont logés dans des cages plastique et nourris par un régime alimentaire standard.

I.1.2.2. Traitement des animaux

Après la période d'adaptation, les rats ont réparti en quatre groupes de cinq rats chacun, les rats sont traités comme suit pendant 28 jours

Groupes 1 (T) : Rats sain (témoin)

Groupes 2 (Cc) : Rats exposés au extrait de plant (100mg/1kg bw) pendant 28 Jours

Groupes 3 (PGB) : Rats exposées au Prégabaline (200mg/kg bw) pendant 28 Jours.

Groupes 4(PGB + Cc) : Rats exposées au Prégabaline pendant 28jours et traité les deux dernières semaines par plant (*Calligonum comosum* L).

2.3. Sacrifice et prélèvement de sang et organe

Les rats sont anesthésiés par chloroforme (94%) après 16h de jeûne et sont sacrifiés part (décapitation). Les prélèvements sanguins s'effectuent au moment du sacrifice des rats récupérés dans des tubes secs préalablement étiquetés et numérotés pour chaque rat puis séparés par centrifugeuse à 3000 tours/ min pendant 15 minutes, le sérum obtenu est conservé à une congélateur jusqu'au moment des analyses biochimiques (urée, créatinine, acide urique, cholestérol, protéines totales, triglycérides, TGO, TGP, LDH, glycémie).

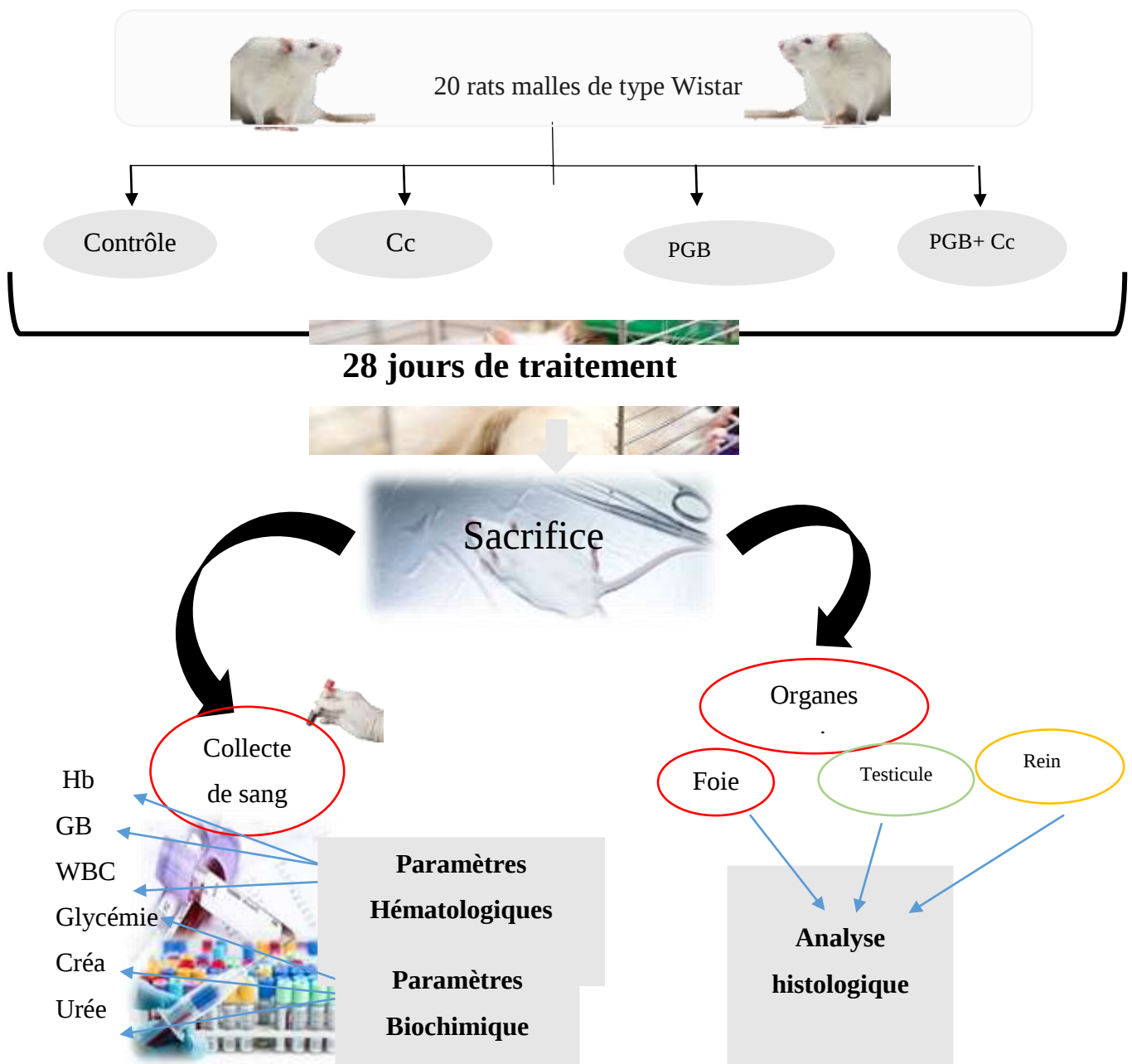


Figure 6 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental d'étude *in vivo*

I.1.3. Réactif et produits utilisés

Chlorure d'hydrogène (HCl), méthanol, chloroforme ,réactif de Mayer ,réactif de Wagner , acide sulfurique, folin-Ciocalteu (FCR) carbonate de sodium (Na_2CO_3),acide gallique , tris chlorure de sodium (NaCl), ammoniac acide nitrique (HNO_3) ,acide salicylique , acide trichloracétique (TCA), NAOH EDT , éthanol , solution de ferricyanure de potassium (K_3Fe) , acide de trichloracétique (TCA) chlorure ferrique (FeCl_3),vitamine C, 2,2_-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH).

I.2. Méthodes**I.2.1. Méthode d'Etude in-vitro****I.2.1.1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux**

10g de la plante sèche de *Calligonum comosum* L avec 100 ml d'eau distillée Placer dans un bécher avec un peu d'agitation dans l'obscurité pendant 24 heures, puis filtrés par papier Jusuf, ensuit a été évaporés à l'aide de l''étuve (Majhenic et al., 2007) (Figure 07).

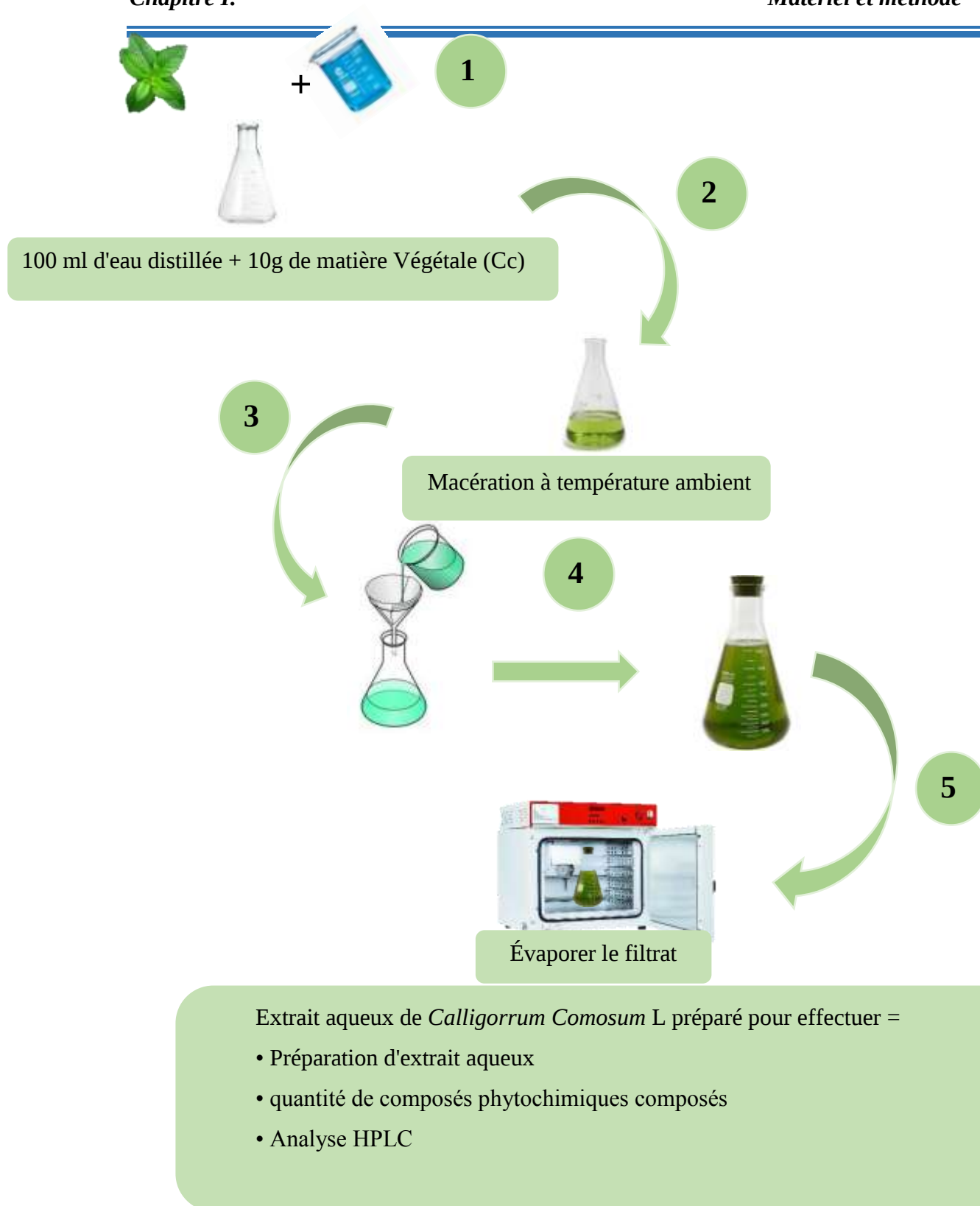


Figure 7 : Schéma de préparation de l'extrait aqueux *Calligonum comosum* L.

I.2.1.2. Analyse photochimiques

Les tests photochimiques ont été réalisés sur les extraits préparés de la plante en milieu aqueux par des techniques de caractéristiques qualificatives, selon les méthodes selon les méthodes de (Evans. 2009 ; Harborne., 1998 : Wadood et al, 2013).

✓ Alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 1 ml d'extrait à l'analyse. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCL et ajouter gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et quelques gouttes de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun respectivement révèle la présence d'alcaloïdes.

✓ Tannins

Dans un tube à essai, introduire 2.5ml d'extrait à analyser et ajouter 0.5ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 2 %. La présence des tanins est indiqué par une coloration verdâtre ou bleu- noirâtre.

✓ Flavonoïdes

Ajouter dans tube à essai, 2.5ml d'extrait à tester ,2.5 ml d'ammoniac dilué et 0.5ml de H₂SO₄ l'apparition d'une coloration jaune prouve la présence de flavonoïdes.

✓ Saponines : test de mousse

Dans un tube à essai, introduire 2ml d'extrait à analyser, mélangé avec 2ml d'eau distillée dans tube à essai et ont agité vigoureusement. La formation d'une mousse de sable a été prise comme une indication de la présence de saponine.

✓ Terpénoïdes

Dans un tube à essai, ajouter à 2.5ml d'extrait de plante, 1 ml de chloroforme et 1.5 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un couleur brun rougeâtre indique la présence des terpénoïdes.

I.2.1.3. Méthode de dosage des poly phénols totaux

La quantité totale de composés phénoliques a été déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Ajouter 0,2 ml d'extrait aqueux d' *Calligonum comosum* L à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu à 10 %. Après 4 min, 800µl de carbonate de sodium saturé (75 g/L) ont été ajoutés. Après incubation pendant 2 heures à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 765 nm. Afin d'assurer des résultats reproductibles, les tests ont été effectués trois fois (Slinkard et Singleton, 1977). Le contenu phénolique total a été calculé en

milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait selon une équation d'étalonnage linéaire pour l'acide gallique utilisé comme standard.

I.2.1.4. Méthode de dosage des Flavonoïdes

Ajouter 1 ml de chaque échantillon et de standard (préparé dans du méthanol) à 1 ml de solution AlCl_3 (2 % dissous dans du méthanol). Après 30 minutes, mesurer l'absorbance à $\lambda_{\text{max}}=430$ par rapport au blanc réactif préparé (**Ahn. MR., et al 2007**). Les concentrations en flavonoïdes ont été déduites d'une gamme de courbe d'étalonnage (5-10-20-35-50 mg/ml) établie avec la quercétine. Toutes les mesures ont été répétées 03 fois par la même procédure de dosage. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents de quercétine/g d'extrait.

Analyse qualitative par HPLC

À l'aide d'un équipement de balayage et d'une chromatographie liquide à haute performance, les composants actifs ont été découverts (HPLC). Pour l'étude des produits chimiques phénoliques dans l'extrait brut, nous avons utilisé HPLC avec UV-Vis type Shimadzu LC20 AL équipé de l'injecteur universel (Hamilton 25l), une colonne analytique était un Shim-pack VP-ODSC18 (4,6mm250mm, 5m), et détecteur UV-VIS type SPD 20A (Shimadzu). Les études de chromatographie en phase inverse ont été menées en utilisant des résidus aliphatiques non polaires, et la phase mobile comprenait un gradient d'élution d'une combinaison d'acétonitrile et d'acide acétique (0,1 %). Le volume d'injection était de 0,45µL et le débit était de 1mL/min. La longueur d'onde de surveillance était de 268 nm, et le volume d'échantillon et d'injection standard était de 20 µL.

La durée de rétention et l'absorbance UV de divers composés ont été comparées à celles des étalons pour les identifier.

I.2.1.5. Méthode d'analyse de l'activité antioxydant (test DPPH)

La solution de 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl est préparée en solubilisant 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. 1 ml de chaque extrait phénolique (ou acide ascorbique en tant que standard) (5, 25, 50, 75, 100, 125 mg / l) est ajouté à 1 ml de la solution de DPPH préparée précédemment. Le mélange réactionnel est immédiatement secoué, puis maintenu dans le noir pendant 30 min à température ambiante pour que la réaction soit accomplie. L'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à 517 nm contre le contrôle (méthanol-eau distillé) (**Mansouri et al., 2005**). Pourcentage d'inhibition (IP) = $[(\text{Un contrôle} - \text{Un échantillon}) \times 100] / \text{Un contrôle}$ où Un contrôle est l'absorbance du contrôle (contenant tout le réactif sauf l'échantillon) et Un échantillon est l'absorbance de l'échantillon, les deux étant mesurés à 517 nm.

Dosage du pouvoir réducteur (RP)

Les méthodes d'Oyaizu ont été utilisées pour calculer le pouvoir réducteur de l'extrait. Les échantillons ont été combinés avec un tampon phosphate (2,5 mL, 0,2 M, pH 6,6) et une solution aqueuse de ferricyanure de potassium à 1 % (2,5 mL, K₃ [Fe (CN) 6]) à diverses concentrations (mg/mL) dans de l'eau distillée. Après avoir ajouté des aliquotes d'acide trichloracétique (2,5 ml, solution aqueuse à 10 %), le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 minutes avant centrifugation pendant 10 minutes à 3 000 tr/min. Le surnageant (2,5 ml) et l'eau filtrée ont été mélangés avec une solution de FeCl₃ (0,5 ml, 0,1 %) fraîchement fabriquée (2,5 ml). L'absorbance a été déterminée à une longueur d'onde de 700 nm. L'utilisation de l'acide ascorbique comme témoin positif a été utilisée (**Oraiza, 1986**).

I.2.2. Méthode d'étude in-vivo

I.2.2.1. Détermination des paramètres Biochimique

Les taux d'urée sérique, acide urique, créatinine, de protéines sériques et lipide dans le sérum ont été déterminés à l'aide du kit commercial de Spinreact, Espagne (réf : urée-20141, acide urique-20091, créatinine-20151 cholestérol-20111, et triglycéride-20131,). Et pour les enzymes sont aussi mesuré par l'utilisation de kits commercial (Spinreat, ref: GOT-20042, GPT-20046)

I.2.2.2. Étude histopathologique des tissus du foie, des reins et des testicules

La partie du foie, des reins et des testicules a été retirée des rats après qu'ils aient été tués et placés dans un fixateur (10 % de formaldéhyde) jusqu'à ce qu'il soit temps de préparer les tranches pour l'analyse. Les échantillons ont été déshydratés dans des séries graduées ascendantes d'éthanol (60 %, 70 %, 80 % et 100 %), nettoyés avec du xylène et immergés dans de la paraffine. Des sections de 4 à 6 µm ont été préparées à partir de blocs de paraffine à l'aide d'un microtome rotatif Histoline (Thermo Scientific (Micron HM 325)). L'hématoxyline et l'éosine ont été utilisées pour colorer l'image. À l'aide d'un microscope optique, une observation histopathologique a été effectuée.

I.2.3. Méthode d'analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne $\pm$ Ecartype moyen. L'analyse des données a été effectuée par application du test T de Student, qui est basé sur la comparaison entre deux moyennes, en utilisant le logiciel MINITAB (Version 13Fr) et EXCEL (Version 2019) qui nous aide pour faire les tests et les courbes.

Chapitre II

Résultat

II.1. Etude phytochimique de l'extrait aqueux *Calligonum comosum* L

II.1.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction était de 10.695 ± 0.275 % de matière végétale sèche.

II.1.2. Criblage photochimique

L'analyse photochimique a révélé la présence de flavonoïdes, de tanins, d'alcaloïdes, de saponines, de terpenoïde dans l'extrait aqueux *Calligonum comosum* L. (Tableau 3).

Tableau 4 : Composition photochimique de l'extrait aqueux de *Calligonum comosum* L.

Composés phytochimiques	<i>Calligonum comosum</i> (aqueous extract)
Polyphenols	(+)
Alkaloids	Mayer (-)
	Wagner (+)
Tannins	Catechin (+)
	Gallic (+)
Flavonoids	(+)
Saponines	(+)
Terpenoïde	(+)

- = absence de photochimiques

+ = présence de photochimiques

II.1.3. Quantification des composés photochimiques

Les composés phénoliques et flavonoïdes totaux ont été exprimés en termes d'acide gallique équivalent (mg GA eq/g extrait sec) et d'équivalent Quercétine (mg Q eq/g extrait sec) Respectivement, en utilisant les équations suivantes basées sur la courbe d'étalonnage :

$y = 0.0096x + 0,0521$, $R^2 = 0,994$ pour les composés phénoliques et $Y = 0,0104x + 0,0819$
 $R^2 = 0,9925$ pour composés de flavonoïdes.

Tableau 5 : Teneur totale en phénols, flavonoïdes.

Composés	<i>Calligonum comosum</i> L
Composé phénolique total (mgGAE/g extrait)	185.073±4.013
Flavonoids (mg Q eq/g dry wt)	21,75±2,86

II.1.4. Analyse qualitative par HPLC

Les résultats de la séparation de l'extrait aqueux de par HPLC sont illustrés dans le chromatogramme *C.comosum* (Figure 08).

L'HPLC a identifié huit composés de neuf composés de référence au niveau des composés phénoliques sur 60 pics dans l'extrait brut aqueux de *C.comosum*. L'analyse a

révélé que la quercétine (6499,419 μ g/g) était le composé phénolique le plus abondant, également caractérisé par une teneur élevée en rutine (4618,419 μ g/g). D'autre part, une teneur modérée en acide chlorogénique (677 156 μ g/g) et en acide gallique (529 050 μ g/g), tandis que seules des traces de certains composés phénoliques identifiés, la vanilline (78 914 μ g/g) et l'acide p-coumarique (12 958 μ g /g) ont été détectés dans C.C.

Tableau 6 : Temps de rétention et concentration des composés phénoliques identifiés dans l'extrait aqueux *C.comosum*

Composés phénoliques	Temps de repos (min)	Contenu de l'équation	Concentration (μ g/g extrait)
L'acide chlorogénique	13.392	y=21665x	677,156
Acide caféique	16.277	y=84066x	201,624
Acide p-coumarique	23.817	y=49495x	12,958
Acide gallique	5.29	y=54681x	529,050
Acide vanillique	15.53	y=65077x	159,189
Naringine	34.788	y=19379x	ND
Rutine	28.37	y=28144x	4618,419
Quercétine	45.047	y=45378x	6499,760
Vanilline	21.46	y=58930x	78,914

y : aire du pic HPLC, x : concentration (μ g/mL), ND : non détecté

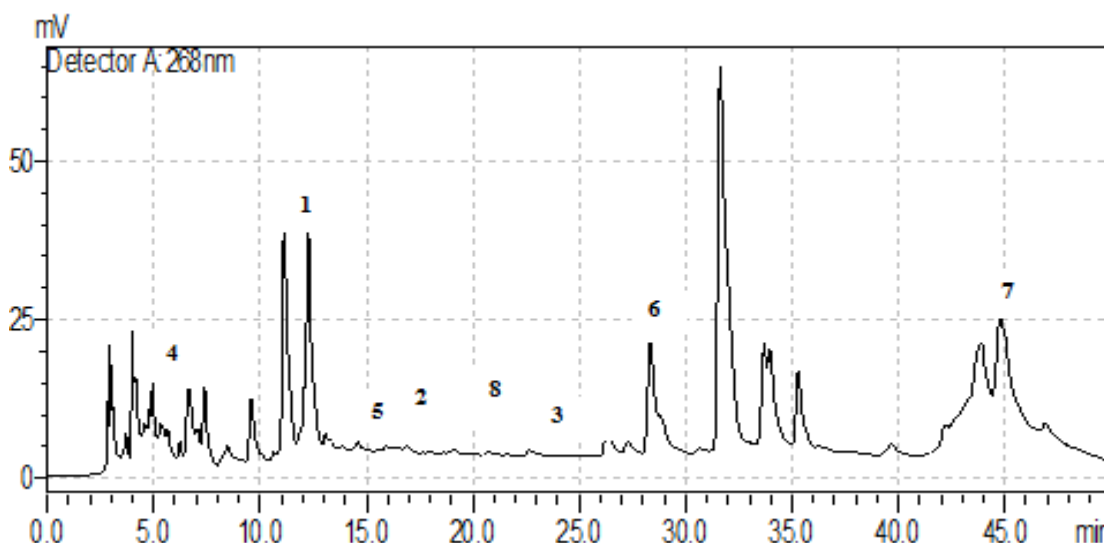


Figure 8 : Chromatogrammes HPLC de l'extrait de C.c : 1 : Acide chlorogénique ; 2 : Acide caféique ; 3 : acide p-coumarique ; 4 : Acide gallique ; 5 : Acide vanillique ; 6 : Rutine ; 7 : Quercétine ; 8 : Vanilline

II.2. Capacité antioxydante in vitro

Les résultats des activités de piégeage des radicaux DPPH et hydroxyle et le résultat du pouvoir réducteur basé sur le FRAP par extrait aqueux de *Calligonum comosum* L et différents antioxydants standards sont résumés dans les tableaux 6 et 7. Il existe des

différences remarquables dans la capacité antioxydant parmi les antioxydants testés ; l'activité antioxydant de Cc était très inférieure à celle de l'antioxydant standard avec ses valeurs pourcentage d'inhibition pour le DPPH de extrait Cc 57.337 % et 60.068% et 66.552% respectivement , alors que valeurs pourcentage d'inhibition de ascorbique 73.037 % et 81.228% et 81.569% respectivement , Donc l'extrait de plante était bon et Presque identique à Vitamine C . Et le pouvoir réducteur de FRAP était de 0.1415 ± 0.000707 extrait. Alors qu'un ascorbique avait les activités de DPPH et de piégeage des radicaux hydroxyles les plus élevées avec une valeur IC50 de 0.685 ± 0.007071 respectivement.

Tableau 7 : EC50 en DPPH de pouvoir réducteur FRAP de l'extrait aqueux de *Calligonum comosum* L .

l'échantillon	EC50 mg/mL
<i>Calligonum comosum</i> L	0.1415 ± 0.007
A. ascorbic	0.685 ± 0.0071

Tableau 8 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de *Calligonum comosum* L et pourcentage d'inhibition de vitamine C en termes de concentration

Concentration (µg/mL)	Pourcentage d'inhibition (plant)	Pourcentage d'inhibition (vitamine C)
5	57.337	73.037
25	60.068	81.228
50	66.552	81.569

II.3. Étude in vivo

II.3.1. Étude de toxicité aiguë

D'après le résultat de l'étude de toxicité aiguë de l'extrait aqueux de *Calligonum comosum* L chez le rat, il n'y a eu aucun changement significatif dans le comportement ou les activités physiques et aucune mortalité n'a été enregistrée dans aucun des groupes de test en 24 h, 72 h et jusqu'aux deux semaines de suivi de la période de l'étude (Tableau 8).

Tableau 9 : Effets toxiques potentiels de l'extrait de Cc chez le rat.

Dose (mg/kg)	Symptômes toxiques	Décès
Contrôle	Aucun	0
100	Aucun	0
1000	Aucun	0
2000	Aucun	0

3.2. Effets curatifs du *Calligonum comosum* L sur prégabaline

3.2.1. Gain de poids corporel, poids relatif des reins, testicule et du foie

L'exposition au PGB chez les rats a entraîné une augmentation significative ($p < 0.05$) du gain de poids corporel par rapport au témoins, le traitement PGB+Cc a entraîné une augmentation haute significative ($p < 0.001$) du gain de poids corporel par rapport au témoins, pendant l'exposition au Cc a entraîné une augmentation haute significative ($p < 0.001$) du gain de poids corporel par rapport au témoins des rats (table 9).

Tableau 10 : Gain de poids initial et gain de poids corporel chez groupes témoins et expérimentaux.

Paramètre	Contrôle	Cc	PGB	PGB+Cc
Poids corporel initial (g)	197±11.958	193.8±24.681	190.6±23.607	205.2±26.432
Gain De Poids corporel (g/d)	4.619±1.24	8.334±0.857***	6.230±0.679*	11.510±0.797 ^c

*: significative, **: très significative, ***: haute significative.

a : significative, b: très significative, c: haute significative.

L'exposition du PGB à entrainer une augmentation haute significative ($p < 0.001$) du gain de poids au niveau de rein, et augmentation très significative ($p < 0.01$) au niveau (testicule) pendant que aucun effet significatif au niveau de (foie). Pendant le traitement PGB+Cc, Cette

plante provoqué augmentation haute significative du gain de poids ($p<0.0001$) au niveau de foie et une diminution significative du gain de poids ($p<0.05$) au niveau de rein. Pendant que aucun effet significatif au niveau de testicule. L'exposition au Cc à entrainer une augmentation haute significative ($p<0.001$) au niveau de (foie, testicule) et une augmentation très significative ($p<0.01$) au niveau de rein (table 10).

Tableau 11 : poids relatifs des reins, testicule et du foie chez groupes témoins et expérimentaux :

Paramètre	Rein	Foie	Testicule
Contrôle	0.62±0.0131	2.654±0.0548	2.0350±0.0327
Cc	0.66±0.00894**	2.9±0.066***	2.1728±0.0136***
PGB	0.688±0.0124***	2.668±0.095	2.1237±0.0265**
PGB+Cc	0.655±0.0112 ^a	2.915±0.0539 ^c	2.1323±0.0296

3.2.2. Paramètres Hématopoïétiques

L'exposition au PGB à entrainer une diminution haute significative ($p<0.001$) de taux PLT, avec une diminution significative ($p<0.05$) de taux (HGB, GR). Pendant que aucun effet significatif de taux HCT. Pendant le traitement PGB+Cc, Cette plante à entrainer une augmentation haute significative ($p<0.001$) de taux PLT et diminution haute significative ($p<0.001$) de taux HCT et diminution très significative ($p<0.01$) de taux HGB, pendant que aucun effet significatif de taux GR, l'exposition au Cc à entrainer une diminution haute significative ($p<0.001$) de taux PLT avec une augmentation significative ($p<0.05$) de taux HCT. Pendant que aucun effet significatif de taux GR, HGB (table 11).

Tableau 12 : Les paramètres hématopoïétiques chez les sujets témoins et groupes expérimentaux

Paramètre	GR	PLT	HCT	HGB
Contrôle	8.4133±0.0484	786±20.7	42.033±0.188	15.68±0.046
Cc	8.46±0.112	752.2±7.71***	43.5±0.571*	16.04±0.198
PGB	8.3725±0.0819 ^a	673.6±11***	42.04±0.489	15.24±0.195*
Cc+PGB	8.077±0.102	712±6.76 ^c	40.167±0.376 ^c	14.7±0.132 ^b

L'exposition au PGB à entrainer une diminution haute significative ($p<0.001$) de taux GRAN et augmentation significative ($p<0.05$) de taux LYM. Pendant que aucun effet significatif de taux GR., pendant le traitement PGB+Cc, Cette plante provoqué une diminution haute significative ($p<0.001$) de taux LYM, GB, pendant que aucun effet

significatif de taux GRAN. - L'exposition au Cc à entrainer aucun effet significatif de taux LYM, GB, GRAN (table 12).

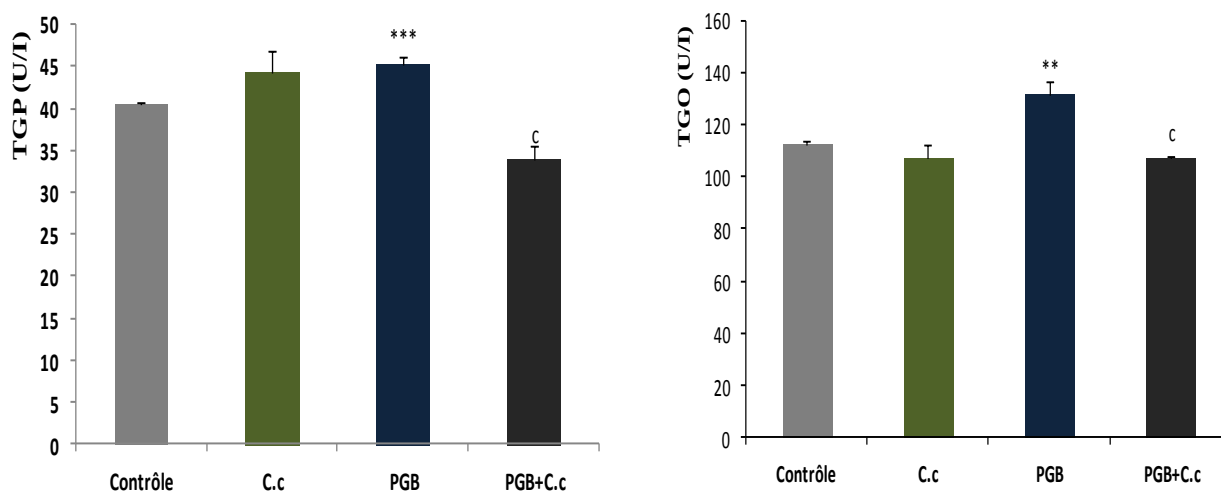
Tableau 13

Paramètre	LYM	GB	GRAN
Contrôle	5.28±0.302	9.62±0.536	3.340±0.225
Cc	6±0.379	10.2±0.755	3.46±0.221
PGB	6.42±0.442*	8.98±0.525	1.940±0.105***
Cc + PGB	4±0.2 ^c	7±0.404 ^c	1.967±0.145

3.2.3. Paramètres biochimiques

L'exposition de PGB chez les rats à entrainer une augmentation haute significative ($p<0.001$) de taux TGP, LDH. Et augmentation très significative ($p<0.05$) de taux TGO. Pendant traitement PGB+Cc, Cette plante diminution haute significative ($p<0.001$) de taux TGO, TGP .et diminution significative ($p<0.05$) de taux LDH. L'exposition au Cc à entrainer une augmentation très significative ($p<0.01$) de taux LDH, avec aucun effet significatif de taux (TGO, TGP) par rapport au témoin.

Les résultats sont présentés dans la figure suivant :



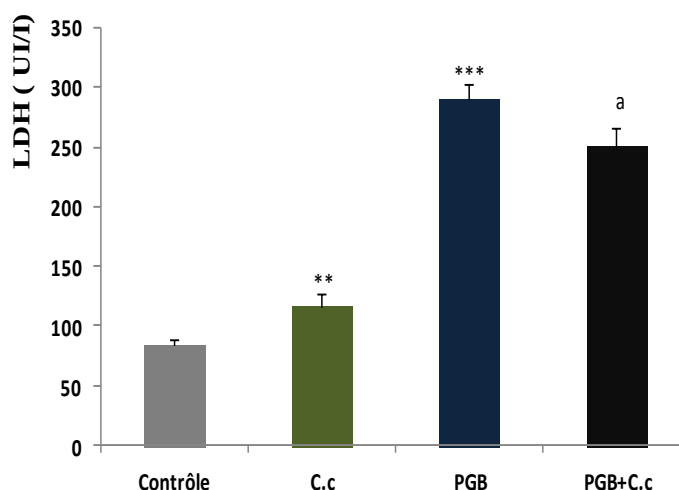


Figure 9 : Activités des enzymes hépatiques et sériques dans les groupes témoins et expérimentaux

L'exposition au PGB à entraîner une augmentation haute significative ($p < 0.001$) de taux Uree, et une augmentation significative ($p < 0.05$) de taux acide urique, pendant que aucun effet significatif de taux créatinine. Pendant le traitement pgb + cc, cette plante à entraîner une diminution haute significative ($p < 0.001$) de taux uree, acide urique. Pendant que aucun effet significatif de taux creat, l'exposition au cc aucun effet significatif de uree, creat, acide urique.

Tableau 14 : Valeurs moyennes des paramètres rénaux dans les groupes contrôle et expérimental

Paramètre	urée (mg/l)	créatinine (mg/l)	acide urique (mg/l)
Contrôle	0.51333 ± 0.00963	5.22 ± 0.0464	12.46 ± 0.859
Cc	0.51667 ± 0.00717	5.2825 ± 0.0546	11.923 ± 0.595
PGB	$0.5575 \pm 0.0112^{***}$	5.435 ± 0.180	$14.684 \pm 0.948^*$
Cc+PGB	0.4825 ± 0.00614^c	5.195 ± 0.189	10.285 ± 0.766^C

L'exposition de PGB à entraîner une augmentation haute significative ($p < 0.001$) de taux (Glucose), et une augmentation significative ($p < 0.05$) de taux (cholestérol, Triglycéride), pendant le traitement PGB + Cc, Cette plante à provoquer une diminution haute significative ($p < 0.001$) de taux (Glucose), et diminution très significative ($p < 0.01$) de taux (cholestérol), pendant que aucun effet significative de taux (Triglycéride). Pendant ce temps, le traitement avec l'extrait aqueux de C.c seul n'a aucun effet sur la plupart de ces paramètres.

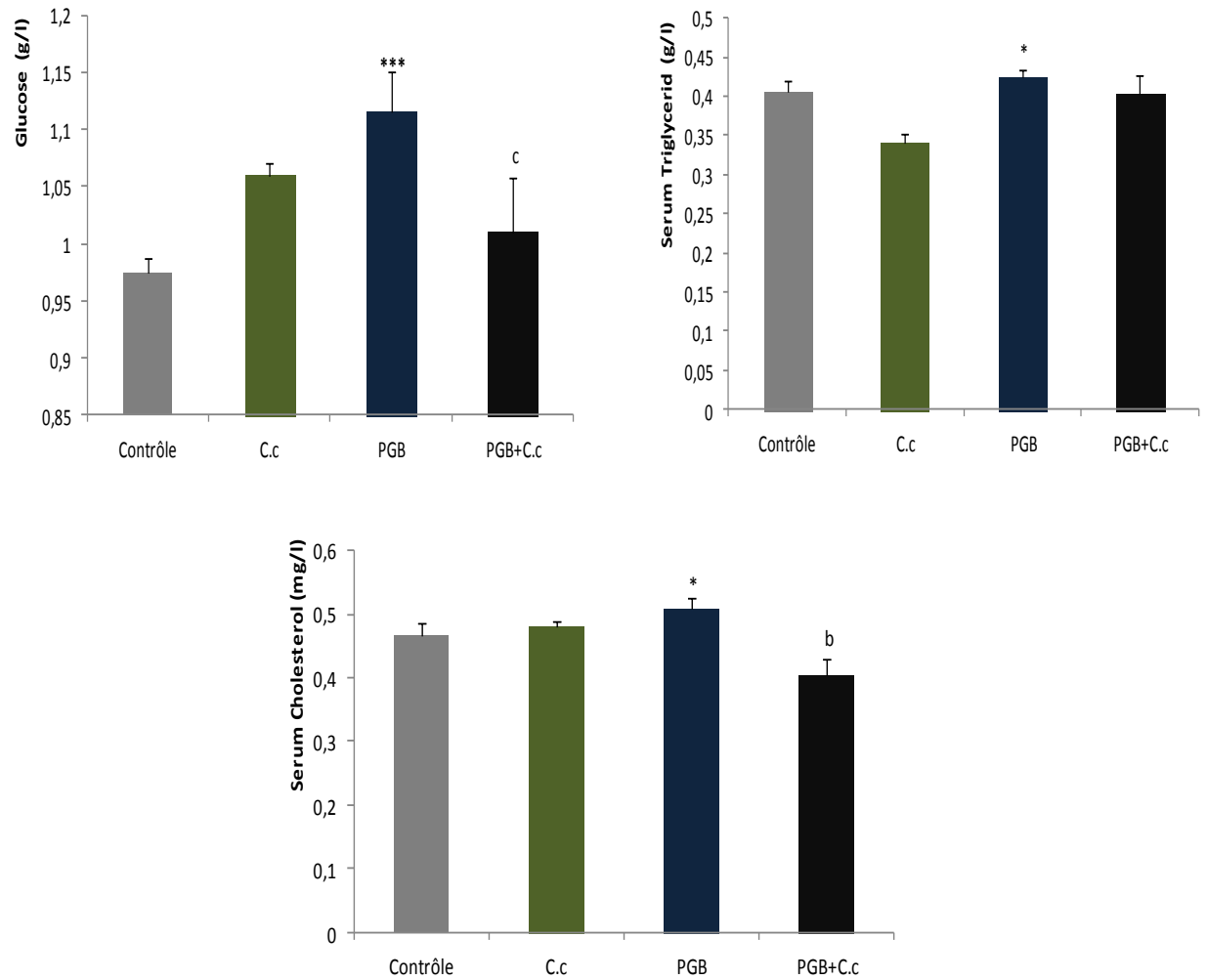


Figure 10 : Glycémie, cholestérol et tri glycéride moyenne et valeur biochimique du sang chez les sujets témoins et groupes expérimentaux.

3.2.4. Paramètres hormoniqes

L'exposition au PGB aucun effet significatif de taux (testostérone, FSH, LH). Pendant le traitement PGB+Cc, Cette plante aucun effet significative de taux (testestérone, FSH, LH). L'exposition au Cc à entrainer une augmentation très significative ($p < 0.01$) de taux FSH, et une diminution significative ($p < 0.05$) de taux (testostérone), pendant que aucun effet significatif de taux LH (table 14).

Tableau 15: les paramètres hormonaux chez les sujets témoins et groupes expérimentaux

paramètre	Testosterone	FSH	LH
contrôle	7.33±1.38	0.16±0.005	0.6175±0.0253
Cc	4.865±0.807*	0.17667±0.00441**	0.5907±0.0117
PGB	6.315±0.946	0.16±0.01	0.6110±0.0201
Cc+PGB	5.895±0.418	0.16±0.00289	0.6118±0.226

3.2.5. Etudes histopathologiques

3.2.5.1. Foie

Des images microscopiques optiques du tissu hépatique ont montré une structure cellulaire hépatique normale et intacte avec une région centrale et porte normale dans le groupe témoin et les groupes Cc (Figure 9), tandis que dans le groupe de souris empoisonnées à la PGB, une pathologie pathologique sévère des changements et une modification du tissu et de la structure du foie sont apparus sous forme de dégénérescence et d'expansion dans le milieu, de congestion, de rougeur et d'expansion des sinus hépatiques et d'accumulation de cellules inflammatoires autour de la veine centrale. En outre, infiltration sévère des zones du tractus porte avec des cellules inflammatoires, congestion et dilatation de la veine porte et œdème (Figure 10). Cependant, le foie de rats PGB traité avec l'extrait de Calligonum comosum L a significativement amélioré et traité les changements histologiques et amélioré la nécrose cellulaire et l'hépatite (Figure 11).

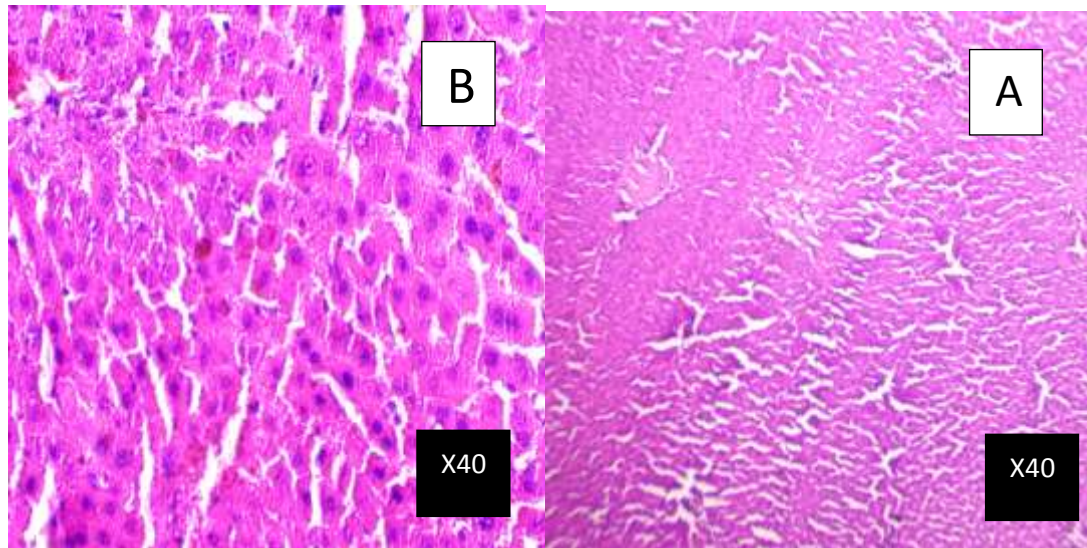


Figure 11 : Coupe de foie de groupe Contrôle (A) et Cc (B) montrant des cellules hépatiques normales.

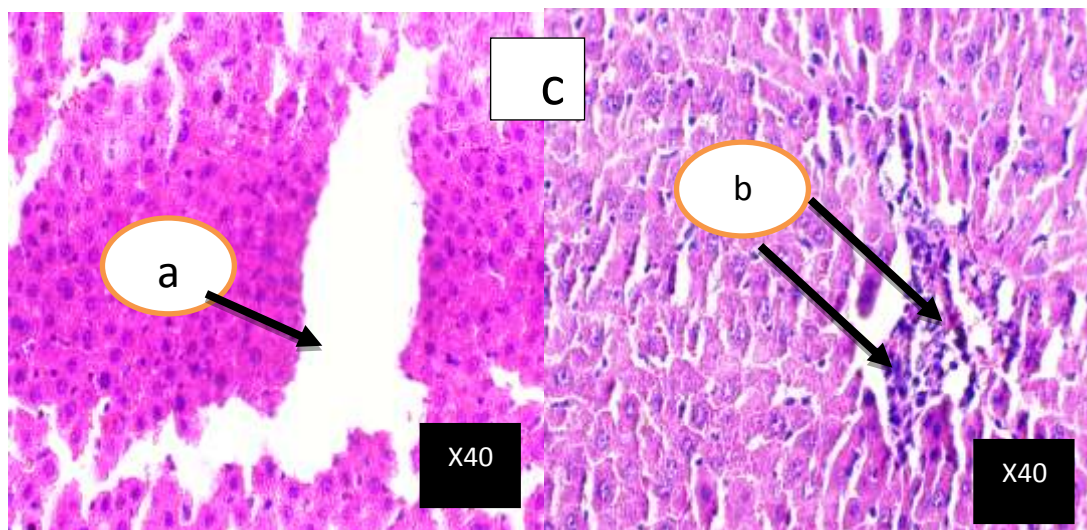


Figure 12 : Coupe du foie du groupe PGB montrant : (a) congestion et dilatation sinusoidales, vacuolisation cytoplasmique (b) rougeur et expansion des sinus hépatiques et accumulation de cellules inflammatoires .

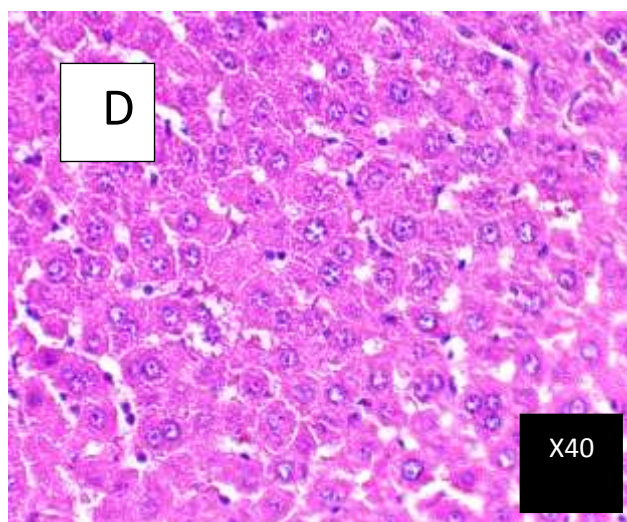


Figure 13 : La coupe du foie(Pgb+Cc) montre une amélioration des cellules hépatiques et un retour à la normale

3.2.5.2. Rein

L'observation microscopique des coupes histologiques et de la structure rénale des souris du groupe témoin et du groupe Cc a montré une structure rénale normale et non lésée contenant des glomérules, des tubules et des régions corticales et médullaires, tous présentés normalement (Figure 12). Cependant, des coupes histologiques de rats empoisonnés à la Pgb ont révélé de graves lésions des tissus rénaux. Une accumulation tissulaire inflammatoire, une atrophie des glomérules, une nécrose tubulaire, une dilatation tubulaire, une lumière, une congestion, une néphrite interstitielle lymphatique, une nécrose cellulaire et une hypertrophie de l'espace de Bowman ont été observées dans les coupes rénales de ce groupe (Figure 13). En revanche, il a été observé dans le groupe (Pgb + Cc), lorsque nous avons traité les rats avec l'extrait aqueux de *Calligonum comosum* L, une amélioration de la forme de la structure rénale, et le traitement a contribué à réduire et partiellement traiter les lésions tissulaires rénales aiguës, en plus de traiter les infections rénales (Figure 14).

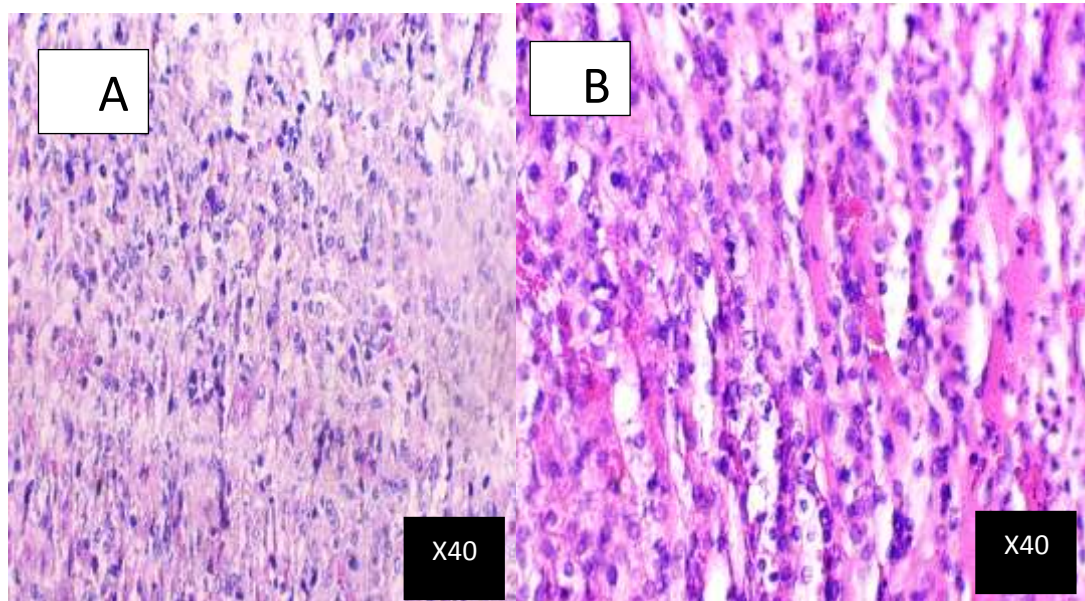


Figure 14 : Coupe de Rein de groupe Contrôle (A) et Cc (B) montrant des cellules normales.

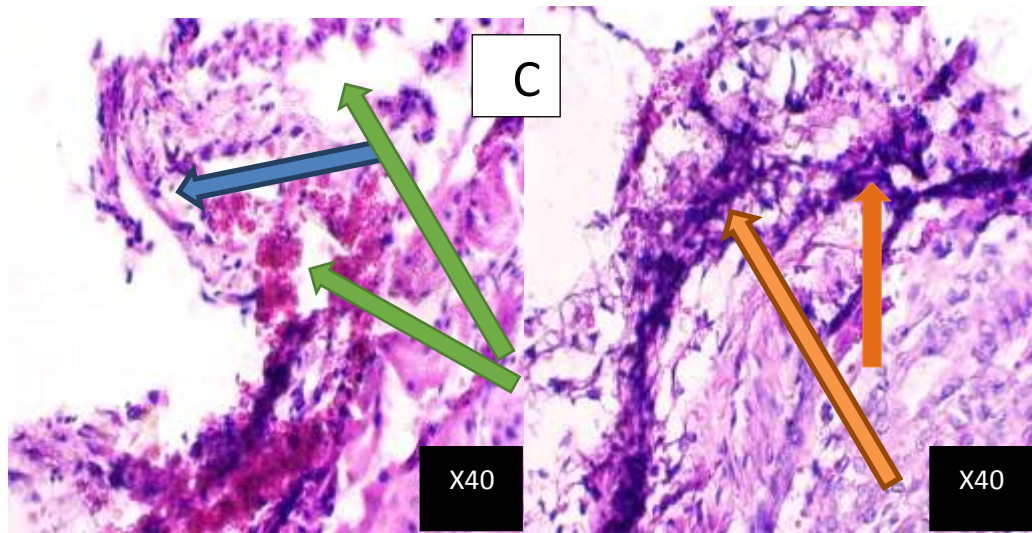


Figure 15 : Coupe du Rein du groupe Pgb montrant : Accumulation tissulaire inflammatoire(flèche orange), atrophie des glomérules (flèche bleue), nécrose (C) lumière tubulaire(flèche verte)

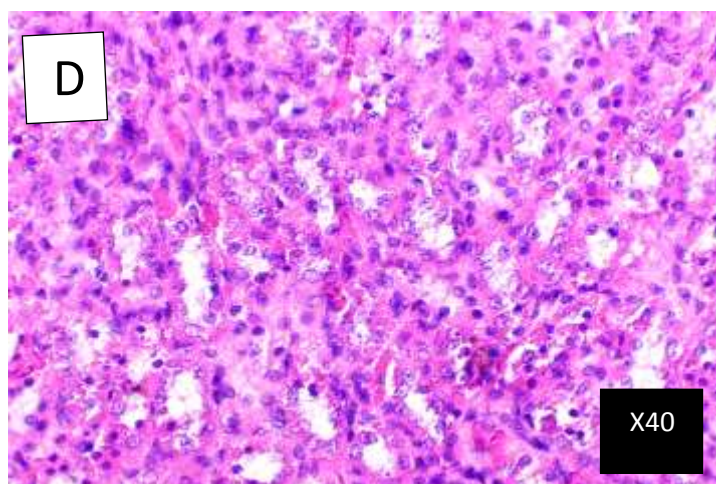


Figure 16: La coupe du Rein (Pgb+Cc) montre une amélioration des cellules et un retour à la normale

3.2.5.3. Testicules

L'observation microscopique des tissus testiculaires du groupe témoin et du groupe CC a montré que la structure et les tissus des testicules semblaient normaux, en bon état et qu'aucun changement pathologique n'était observé (Figure 15). Alors que dans le groupe de rats intoxiqués à la prégabaline à la dose de (200 mg/kg) celle-ci provoquait des lésions sévères, des modifications et des perturbations dans les tissus ainsi que dans la structure des testicules, et ces lésions se caractérisaient par la destruction des cellules germinales et des tubules séminifères, une congestion des vaisseaux sanguins, la présence d'une nécrose tissulaire focale, un gonflement des testicules et une rupture tissulaire (Figure 16).). D'autre part, dans le groupe de rats traités avec *Calligonium comosum* L, une inhibition marquée des réponses destructrices induites par la prégabaline a été observée, et le sauvetage des testicules du gonflement, de la congestion vasculaire et des divers changements pathologiques qui se sont produits (Figure 17) a été observé.

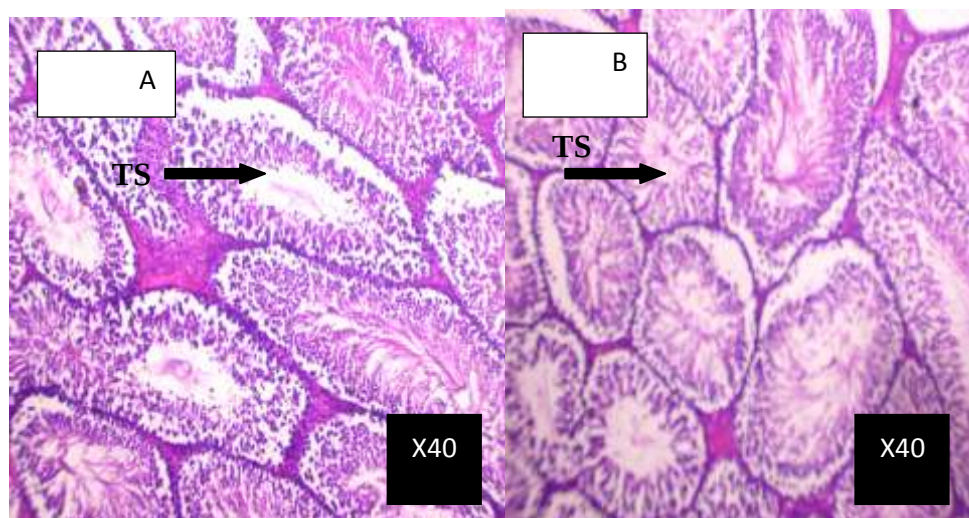


Figure 17: Coupe de Testicule de groupe Contrôle (A) et Cc (B) montrant des cellules normales

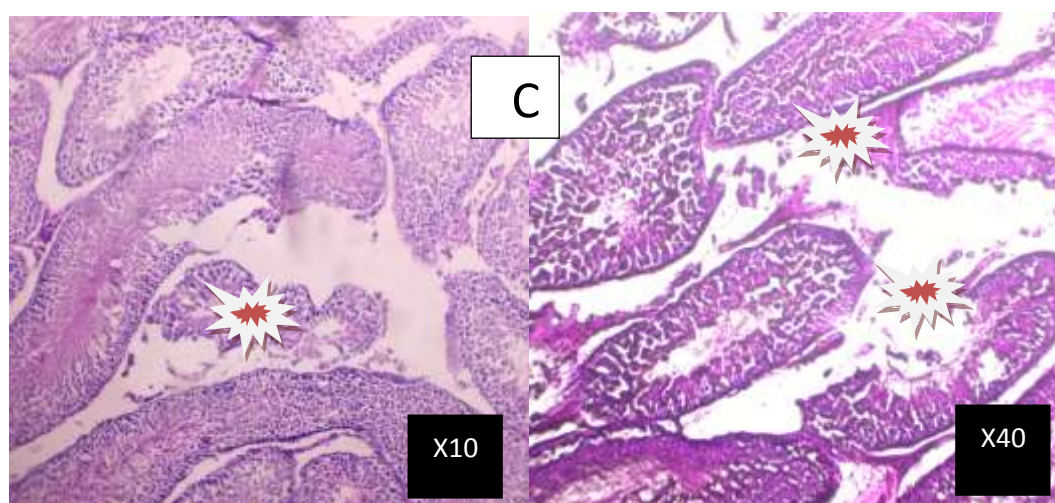


Figure 18: Coupe du testicule du groupe PGB montrant : un gonflement des testicules et une rupture tissulaire (). TS (Tube Séminal)

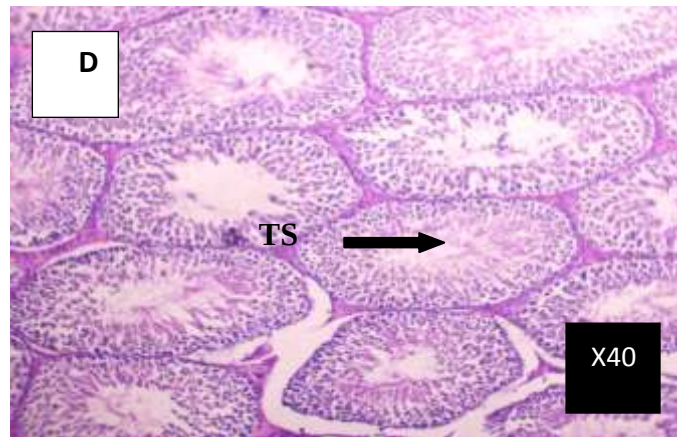


Figure 19 : La coupe du testicule (Pgb+Cc) montre une amélioration des cellules et un retour à la normale. TS (Tube Séminifère)

Chapitre III

Discussion

Discussion

La prégabaline était couramment consommée par les jeunes. Son accès facile depuis les pharmacies sans ordonnance a créé des marchés noirs et largement distribué le médicament. L'étude actuelle a prouvé que la prégabaline affectait négativement les rats. L'exposition cumulative prolongée à des composés chimiques pourrait avoir des effets nocifs conséquences sur la santé humaine et pourraient évoluer vers des maladies chroniques (Sears et Genuis. 2012). D'autre part, il est généralement rapporté que la nutrition peut atténuer les effets néfastes des composés chimiques (Mohammadi et Ahmad izadeh. 2018). Donc, ce travail présente de nouvelles recherches pour évaluer la toxicité potentielle du Pregabaline. Sur différents organes cibles pendant 28 jours d'exposition chez le rat et d'étudier l'amélioration des effets de *Calligonum comosum L* contre la toxicité de Pregabaline.

La chimie des plantes est à la base des utilisations thérapeutiques des herbes. Une bonne connaissance de la composition chimique des plantes conduit à une meilleure compréhension de son éventuelle valeur médicinale (Hussein et El-Anssary. 2018). Analyse phytochimique des extraits aqueux de *Calligonum comosum L* a révélé l'existence de nombreux composés bioactifs Polyphénol, Terpenoïde, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, et saponines.

Les métabolites secondaires produites par cette plante possèdent plusieurs activités pharmacologiques telles que , traiter les maux de ventre et les maux de dents, leur action sur le drainage hépatique et rénal ainsi que les effet antioxydants , antidiabétiques, antimicrobiens, anti-inflammatoires, anti-mutagènes, activités anticancéreuses antihypertention, les maladies cardiovasculaires (walied et al .2015) , Ensuite, le contenu phénolique total a ($185.073 \pm 4.0134 \text{ mg GAeq /g poids de sec}$)été estimée à Par conséquent, il peut être a déclaré que *Calligonum comosum L* est une source importante de composés phénoliques, De plus, Les données HPLC ont révélé la présence de 8 composés phénoliques (acide chlorogénique, acide caféique , acide p-coumarique , acide gallique , acide vanillique , naringine, rutine, quercétine , vanilline) .

La présence de chaque métabolite secondaire dans *Calligonum comosum L*, nous donne une justification de l'utilisation traditionnelle de cette plante dans le traitement de divers problèmes de santé.

La diminution et augmentation du poids corporel est un indicateur important pour évaluer la détérioration de la santé statut (Ullman-Culleré et Foltz. 1999). Dans notre étude, l'exposition au PGB à une dose (200 mg/kg)a entraîné une augmentation significative du poids corporel et du poids relatif du rein et testicule résultat des effets directs de PGB et cela

explique qui ont rapporté une importante augmentation du gain de poids corporel des animaux intoxiqués au PGB Suggérant que le gain de les poids corporels peuvent être dus à la a accrue des lipides accumulation des lipides et des protéines en tant que résultat des effets directs de PGB (Lyrica) est également lié à une augmentation de l'appétit et de la rétention d'eau.

L'exposition par (PGB)Lyrica peut également provoquer un œdème périphérique (gonflement des mains, des jambes et des pieds), qui peut être associé à une prise de poids **(Pfizer.NY(2020) Lyrica product information)**. En revanche, le traitement par *Calligonum comosum L* avec PGBa restauré les poids du des reins proches de la normale, ce qui peut indiquer l'effet bénéfique et gain de poids corporel donc le Cc a augmenté l'appétit.

Le système hématopoïétique est une cible critique pour la toxicité du PGB **(Wilbur et al. 2007)**. L'exposition au PGB chez des rats qui provoque leucopénie, lymphocytopenie et anémie induites par PGB chez des rats, Les anémies dues à une insuffisance de production de globules rouges et de l'hémoglobine par la moelle osseuse sont la conséquence de un manque de fer, de vitamine B12 ou de vitamine B9, éléments indispensables à la fabrication de l'hémoglobine et des globules rouges. C'est la cause la plus fréquente d'anémie ; une maladie inflammatoire chronique. L'utilisation du fer pour la fabrication des globules rouges peut être perturbée du fait de mécanismes inflammatoires observés dans les situations d'infections, de cancers, de maladies inflammatoires chroniques ; un déficit en érythropoïétine (ou EPO). Cette hormone qui stimule la moelle osseuse est normalement fabriquée par les reins. L'anémie peut donc être liée à une maladie rénale chronique ; un mauvais fonctionnement de la moelle osseuse, tissu de l'os où se forment les globules rouges et l'hémoglobine. Cette insuffisance médullaire peut être provoquée par un produit toxique ou un médicament. Elle peut également survenir à cause d'un cancer ou au cours du vieillissement naturel **(Inca. Boulogne Billancourt (2022) Institut national du cancer. L'anémie)**

Une leucopénie peut survenir chez des patients souffrant d'un cancer et étant traité de façon agressive (chimiothérapie, radiothérapie, certains médicaments). Elle survient également dans des cas de maladie de la moelle osseuse, comme la leucémie. Enfin, elle peut être le signe d'une pathologie de la moelle osseuse (Anne-Florence Salvetti-Lionne. (2023) Leucopénie : définition, causes, symptômes, taux de globules blancs, traitements).

Les plaquettes sanguines sont des cellules sans noyau formées dans la moelle osseuse. Elles jouent un rôle essentiel dans la coagulation car elles forment des agrégats qui vont "boucher" une blessure (coupure, plaie) juste après qu'elle se produise et avant que les autres

facteurs de la coagulation ne se déclenchent. Les plaquettes permettent d'éviter un saignement à l'intérieur du corps. Des plaquettes basses augmentent le risque d'hémorragie grave.

Un taux bas de plaquettes dans le sang peut être la conséquence, d'une destruction des cellules de la moelle osseuse, d'une maladie virale (mononucléose infectieuse, hépatite, varicelle, oreillons, rubéole, etc.) ; d'une toxo-allergie médicamenteuse (allergie provoquée par des médicaments) d'un purpura thrombopénique idiopathique (maladie bénigne qui provoque une destruction périphérique des plaquettes), d'une collagénose (ensemble de maladies qui touchent le tissu conjonctif présent dans les muscles, les articulations, le cœur, le système nerveux et l'appareil digestif) ; D'un cancer comme la leucémie ou le lymphome (cancer du système lymphatique) : les cellules anormales associées au cancer prennent le dessus sur les cellules saines du siège de fabrication des plaquettes : la moelle osseuse. La coagulation intra-vasculaire disséminée (Pascal Dieusaert. (2015) analyses médicales).

Une hyperlymphocytose aigue Cela est dû à l'effet nocif de prégabaline qui provoque (hépatite, tuberculose, des troubles endocriniens, des maladies auto-immunes) et aussi

Une hyperlymphocytose chronique peut-être provoquée (Des leucémies, notamment la leucémie lymphoïde ; des lymphomes ; des inflammations chroniques, notamment du système digestif (M. le Pr ZANDECKI Marc. (2016) diplôme d'état de docteur en médecine qualification en biologie médical). Une diminution ou un taux anormalement bas de polynucléaires neutrophils" (neutropénie), Cette baisse peut notamment Cela est dû à l'effet nocif de prégabaline qui est capable provoquer des altérations de la moelle osseuse, une maladie auto-immune, un cancer.

Lors le traitement *Calligonum comosum* L avec PGB , nous remarquons le plant amélioration du taux LYM, et PLT proche de la normale, ce qui peut indiquer l'effet bénéfique , Et cela revient Efficacité antioxydante Ils contiennent plusieurs composés phénoliques qui ont été analysés dans nos résultats dans HPLC qui a prouvé son efficacité (acide chlorogénique, acide cafeique, et quercétine) Il a été prouvé par de nombreuses études antérieures qu'il antioxydant, anticancérigène, antihypertension. ((KIHAL Fatima Zohra et al. 2021).

Cette étude, examinant l'effet du prégabaline (lyrica) sur les paramètres biochimiques du Des rats blancs ont été examinés ; La fonction hépatique a été évaluée en examinant les activités de l'AST(TGO), de l'ALT(TGP) et de la LDH chez les rats. Les résultats ont démontré que les activités de l'ALT, AST, LDH (Manuel Quintero-Castellanos . 2017) hépatique étaient augmentation significative après une intoxication au PGB par rapport à le

groupe de contrôle. Nos données étaient cohérentes avec **(Adeyemi et al. 2009)** qui ont rapporté une réduction dans le foie des activités ALT, AST, LDH. Comme raison de notre observation, les enzymes hépatiques ALT, AST et LDH sont des marqueurs connus Des enzymes pour évaluer l'intégrité fonctionnelle des hépatocytes. ces enzymes Elle est généralement élevée en cas d 'hépatotoxicité aiguë ou de lésion hépatocellulaire légère .Un taux augmenté de transaminase ALT ,AST signifie une destruction de cellules hépatiques, avec une libération d'ALT ,AST dans le sang. Cette altération des cellules peut avoir une origine hépatique, due : à une hépatite (virale, médicamenteuse, toxique...) ; à une nécrose du foie lors d'une cirrhose ou d'un cancer ;à une cholestase : les voies biliaires sont obstruées et il y a une accumulation des sels biliaires dans le foie ;à un syndrome de Budd-Chiari ;à une stéatose hépatique. L'augmentation du taux de transaminases ALAT Cela est dû à l'effet nocif de la prégabaline qui peut conduire à d'une angiocholite ; d'une hémochromatose ;d'une maladie de Wilson ;d'une parasitose (parasites dans le sang) ;de la dengue. Une augmentation des AST est, quant à elle, plus spécifique d'une destruction des cellules du myocarde (cœur), et peut être liée à : un infarctus du myocarde ; une insuffisance cardiaque ; une myopathie.

Une élévation du taux de LDH dans le sang indique que des cellules dans l'un des tissus se brisent, et que celles-ci libèrent leur contenu en LDH, sans que l'on puisse déterminer quel tissu ou quel organe est atteint. Les anomalies du taux de LDH doivent être interprétées à l'aide d'autres tests et d'indications cliniques. Un taux élevé de LDH peut être observé lorsqu'un grand nombre de globules rouges se brisent (anémie hémolytique ou pernicieuse), de septicémie, de maladies aiguës (foie, reins, muscles, poumons, intestin ou pancréas).

Nos résultats montrent que le traitement des souris avec Cc avec des niveaux restaurés d'enzymes hépatiques PGB, ce qui explique pourquoi la plante a un effet thérapeutique si efficace sur le foie, car elle contient les composés phénoliques analysés dans les résultats HPLC, y compris l'acide chlorogénique et l'acide caféique prouvé Plusieurs études antérieures ont dit qu'ils avaient une efficacité une source d'antioxydants, propriétés cardiaques, hépatiques protectrices, anti-âge et anti cancérigène(KIHAL Fatima Zohra et al. 2021).

Les niveaux élevés d'urée sont considérés comme des marqueurs d'un dysfonctionnement d'un ou des deux reins, qui peut être aigu (comme une lésion rénale) ou chronique. **(SanisHealthInc et al. 25 août 2020)**, l'insuffisance rénale chronique, Un trouble cardiaque (insuffisance cardiaque, infarctus récent...) qui induit une réduction du flux sanguin vers les reins, Un régime alimentaire riche en protéines, qui génère naturellement une augmentation de l'urée lors de leur dégradation.

La déshydratation, l'eau contribuant à une bonne fonction rénale, Le syndrome métabolique, l'association de plusieurs troubles parmi un excès de graisse abdominale, un taux de triglycérides élevé, une résistance à l'insuline et une hypertension artérielle. L'acide urique est un produit de déchets, résultant de la dégradation des cellules mortes mais également de la digestion de certains aliments. Il est éliminé par les reins qui le font passer dans les urines. "L'acide urique doit normalement être filtré par les reins et éliminé dans les urines, explique le Dr Monique Quillard, médecin généraliste. S'il est en trop grande quantité dans le sang et/ou si les reins sont défaillants, il augmente dans le sang (on parle d'hyperuricémie) et forme des cristaux d'acide urique qui peuvent s'accumuler dans les articulations". Si les cristaux d'acide urique se forment au niveau du gros orteil par exemple, cela peut provoquer une goutte et s'ils se forment au niveau des voies urinaires, cela peut générer des calculs rénaux qui, en cas de blocage de ceux-ci dans les voies excrétrices, engendrent une crise de colique néphrétique, très douloureuse.

(Ingrid Habermeld. (2020) Hyperuricémie : cause de l'augmentation de l'acide urique dans le sang)

Nos résultats montrent que le traitement des souris PGB avec Cc restaure largement la gamme normale d'acide urique et d'urée et cela s'explique par l'activité antioxydante des composés phénoliques analysés dans nos résultats et dont l'efficacité a été prouvée par de nombreuses études antérieures. Une grande partie des réactions chimiques primaires des antioxydants peuvent être regroupées dans les catégories de transfert d'atome d'hydrogène (HAT) et transfert d'électron unique (SET), qui sont tous deux applicables à la discussion de l'action antioxydante phénolique. Les composés phénoliques sont également considérés comme fonctionnant comme secondaires oxydants en raison de leur capacité à se lier avec potentiellement pro-oxydant. Ions métalliques (Rice-Evans et al. 1997). Cela garantit que les cellules rénales sont protégées contre les dommages. Nous avons également remarqué l'effet de la prégabaline sur les rats, qui a entraîné une augmentation significative des taux de glucose, cholestérol et de triglycérides.

Est expliqué l'augmentation de glucose Les troubles du stockage du glycogène sont causés par le déficit d'une enzyme nécessaire à la transformation du glucose en glycogène et à la dégradation du glycogène en glucose. (Matt Demczko. (2021) Troubles du stockage du glycogène). Les analyses ont montré que les rats qui prenaient de la prégabaline avaient une légère augmentation du taux de sucre dans le sang 1,115 (mmol/L) par rapport le taux normal ce qui explique qu'ils sont plus susceptibles de développer un diabète. ((Endocrinologist

Yogish Kudva. (2023) diabète). Les anomalies lipidiques du sang ou dyslipidémies, sont le plus souvent favorisées par une prédisposition génétique, le surpoids, la sédentarité, l'alimentation. Elles constituent un facteur de risque majeur d'athérosclérose. Comme tout nutriment, les triglycérides peuvent devenir néfastes lorsqu'ils sont présents en excès au sein de l'organisme. La gravité des conséquences dépend néanmoins de l'origine et de l'évolution de l'hypertriglycéridémie. Comme tout nutriment, les triglycérides peuvent devenir néfastes lorsqu'ils sont présents en excès au sein de l'organisme. La gravité des conséquences dépend néanmoins de l'origine et de l'évolution de l'hypertriglycéridémie. Lorsqu'elle est associée à une hypercholestérolémie, l'hypertriglycéridémie est associée à une augmentation du risque de maladies cardiovasculaires. L'hypertriglycéridémie est dite majeure et représente un risque important de pancréatite aiguë (inflammation du pancréas). En l'absence d'un traitement adéquat, le taux en triglycérides peut continuer à augmenter. Ce seuil critique constitue une urgence médicale. (Quentin Nicard. (2017) L'hypertriglycéridémie)

Lors le traitement *Calligonum comosum L* avec PGB, nous remarquons le plant amélioration du taux glucose, cholestérol et triglycéride proche de la normale, ce qui peut indiquer l'effet bénéfique. Cela est dû à l'activité antioxydante de nombreux composés phénoliques (acide chlorogénique) analysés dans nos résultats HPLC, dont l'efficacité a été prouvée par de nombreuses études antérieures. Une fonction adipocytaire et l'équilibre redox ont été améliorés en présence de l'acide chlorogénique avec augmentation de la lipolyse et réduire la glycogénolyse hépatique (transformation du glycogène en glucose) (KIHAL Fatima Zohra et al,2021).

Observation de coupes histopathologies de tissus hépatiques, rénaux et testiculaires exposée aux prégabaline. Les résultats biochimiques (augmentations significatives de l'urée, l'acide urique, TGO, TGP, LDH) sont confirmés et à montrés des signes claires de hépatotoxicités, néphrotoxicités et altérations testiculaires, où Les coupes colorées révèlent une dégénérescence sévère du glomérule et tubules, lésions importantes des zones centrale et porte du foie, cellules inflammatoires infiltration, congestion vasculaire, vacuolisation et dilatation. l'exposition au PGB peut endommager d'importantes biomolécules (protéines, lipides, et ADN) et augmentent les facteurs pro-inflammatoires, ce qui peut entraîner à la mort cellulaire (nécrotique) et à l'inflammation associée aux tissus rénaux et hépatiques et testiculaires dommages (Cottone et al., 2008). Cependant le traitement par *Calligonum comosum L* a amélioré les changements histologiques hépatiques, rénaux et testiculaires induits par la prégabaline. L'effet histoprotecteur de *Calligonum comosum L* est dû à la

présence d'antioxydants et des composants inflammatoires de cette plante. De plus, il contient des flavonoïdes, qui ont à leur tour un rôle important dans la protection des veines et des capillaires (**Rouane et al., 2019**).

Conclusion

Afin de rechercher de nouvelles molécules bioactives contenues dans les plantes, caractérisées par un traitement efficace de différentes maladies et moins d'effets secondaires, il est nécessaire de mener des études pharmacologiques sur les plantes utilisées par les guérisseurs traditionnels. Dans cette étude, nous évaluons les effets thérapeutiques de *Calligonum comosum* L et ses effets pharmacologiques contre la cytotoxicité et les dommages induits par la prégabaline. A la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que :

Calligonum comosum L est très riche en composés bioactifs, en particulier les antioxydants, ce qui nous permet de découvrir une nouvelle source de molécules bioactives qui pourraient être utilisées pour traiter de nombreuses maladies ainsi que comme aliment pour aider à maintenir la santé au quotidien.

En ce qui concerne les résultats toxicologiques aigus et subchroniques, *Calligonum comosum* L est une plante non toxique et sans danger à des fins thérapeutiques.

Accumulation d'un niveau élevé de prégabaline dans le corps des souris, ce qui indique un risque élevé et une toxicité élevée de la prégabaline pour la santé publique et nécessite plus d'attention. En revanche, aucune toxicité potentielle n'a été détectée pour *Calligonum comosum* L. C'est ce qui a amené la plante à montrer de puissants effets thérapeutiques contre l'accumulation de prégabaline dans le corps.

Sur le plan biochimique, la toxicité de deux toxines s'est manifestée par un déséquilibre métabolique caractérisé par une altération des fonctions hépatique et rénale. Ensuite, *Calligonum comosum* L possède une puissante activité hépato protectrice et néphroprotectrice contre PGB.

Outre les coupes histologiques réalisées sur les testicules, le foie et les reins ont également confirmé l'effet nocif des toxines doubles et montré une grave détérioration de la structure de ces tissus. Cependant, après traitement avec *Calligonum comosum* L, la plupart des tissus étudiés ont retrouvé une structure proche de celle du témoin.

Enfin, la présente étude a confirmé la capacité bénéfique de l'extrait aqueux de Cc à prévenir et à réduire la toxicité induite par la prégabaline qui affecte spécifiquement le foie et les reins. Ainsi, la L-dépendance de *Calligonum comosum* L pourrait être un traitement efficace contre la prégabaline.

Nos résultats sont pour nous remarquables car ils ouvrent dans la future des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre d'identifier clairement :

- ✓ Identification de tous les composés bioactifs, en particulier le principe actif principal pouvant être responsable des effets thérapeutiques de la plante étudiée.
- ✓ Evaluation de l'effet de ces molécules dans la prévention et le traitement de certaines maladies chroniques.
- ✓ Une étude de l'effet de la prégabaline sur le cerveau et les risques de troubles neurologiques qui en découlent.
- ✓ Une étude approfondie sur les maladies chroniques graves pouvant résulter de l'usage addictif de la prégabaline.

Références

- Adeyemi, O., Ajayi, J. O., Olajuyin, A. M., Oloyede, O. B., Oladiji, A. T., Oluba, O. M.,... & Adebayo, E. A. (2009). Toxicological evaluation of the effect of water contaminated with lead, phenol and benzene on liver, kidney and colon of Albino rats. *Food and chemical toxicology*, 47(4), 885-887
- Ahn, S., Singh, P., Castro-Aceituno, V., Yesmin Simu, S., Kim, Y.-J., Mathiyalagan, R., & Yang, D.-C. (2017). Gold nanoparticles synthesized using Panax ginseng leaves suppress inflammatory-mediators production via blockade of NF- κ B activation in macrophages. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 45(2), 270-276.
- Anne-Florence Salvetti-Lionne. (2023) Leucopénie : définition, causes, symptômes, taux de globules blancs, traitements . (<https://www.femmeactuelle.fr/sante/maladie/leucopenie-definition-causes-symptomes-taux-de-globules-blancs-traitements-2135707>).
- BELLIOTTI T., EKHATO IV., CAPIRIS T., 2005- Structure-activity relationships of pregabalin and analogs that target the $\alpha 2$ - δ protein. *J Med Chem*; 48:2294-307.
- BEN-MENACHEM E.,2004. Pregabalin pharmacology and its relevance to clinical practice. *Epilepsia* ;45(suppl. 6) :13-8.
- BIALER M, JOHANNESSEN SI, KUPFERBERG HJ, LEVY RH, LOISEAU P, PERUCCA E., 2002.Progress report on new antiepileptic drugs: a summary of the Sixth Eilat. Conference (EILAT VI). *EpilepsyRes* ;51(1-2):31-71.
- BOWLES, E., J., 2004. 3rd Ed. Crows Nest, NSW: Allen& Unwin Academic.
- BUSCH JA, STRAND JC, POSVAR EL .,1998.Pregabalin (CI-1008) single-dose pharmacokinetics and safety/tolerance in healthy subjects after oral administration of pregabalin solution or capsule doses (abstract 2.108). *Epilepsia* ;39(suppl. 6):58.
- Cottone, S., Lorito, M. C., Riccobene, R., Nardi, E., Mule, G., Buscemi, S., ... & Cerasola, G. (2008). Oxidative stress, inflammation and cardiovascular disease in chronic renal failure. *Journal of nephrology*, 21(2), 175-179
- EL SAYYQD , WANGER 1978 . Photochemical study of Calligonum comosum L. Henry [drug plants]". 33 262 *planta med*
- ERRANTE LD., PETROFF OA.,2003.Acute effects of gabapentin and pregabalin on ratforebrain cellular GABA, glutamate, and glutamine concentrations. *Seizure*;12(5) :300-6.

- GAGNEUX Sophie 2017.Comparaison de l'efficacité de la prégabaline (LYRICA) et de la mésothérapie dans le traitement des douleurs neuropathiques. Mémoire de DIU de mésothérapie
- Guide pratique des analyses médicales de Pascal Dieusaert – 6^e édition - Editions Maloine – avril 2015
- GUYE M., CHAUVEL P., 2005.La prégabaline dans le traitement de l'épilepsie ; La Lettre du Pharmacologue ; Volume 19 ; n° 4 ; octobre-novembre-décembre ; p 129
- Hussein, R. A., & El-Anssary, A. A. (2018). Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological Actions of Medicinal Plants. In Herbal Medicine. IntechOpen.
- IBERS JA , 2001. "Gabapentin and gabapentin monohydrate". Acta Crystallogr C 57 (Pt 5): 641-3. [https:// www.alamyimages.fr/photos_images/ pregabalin.html? sortBy=relevant](https://www.alamyimages.fr/photos_images/pregabalin.html?sortBy=relevant)
- Inca Boulogne Billancourt (2022) Institut national du cancer. L'anémie.<https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Qualite-de-vie/Fatigue/Causes-de-la-fatigue/L-anemie>
- Ingrid Haberfeld. (2020) Hyperuricémie : cause de l'augmentation de l'acide urique dans le sang. S<https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2623231-hyperuricemie-definition-causes-alimentation-goutte-traitement/>
- KIHAL Fatima Zohra MOKHTARI Mariem Le : 11/07/2021 Valorisation de l'espèce *Salvia hispanica* L (Chia) : Etude Théorique)
- LAHLOU, M., 2004. Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action.Flavour .Fragr. J .19, 159 165
- Laura Talmasson. (2022) Urée élevée : quelles sont les causes et que faire pour qu'elle diminue ? <https://www.qare.fr/sante/prise-de-sang/uree-elevee/>
- linkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. American journal of enology and viticulture, 28(1), 49-55.
- Loftus, H., & Wright, A. (2014). Potential misuse of pregabalin and gabapentin. *BMJ*, 348.
- Lyrica [product information. Pfizer. NY, NY. Revised April 2020. Accessed Nov. 11, 2020 at <http://labeling.pfizer.com/showlabeling.aspx?id=561>)

- Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., & Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 89(3), 411-420.
- Manuel Quintero-Castellanos 2017/10/1 Revista Colombiana de Anestesiología 45(4)349-352 No longer published by Elsevier
- Matt Demczko .(2021) Troubles du stockage du glycogène at (<https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/probl%C3%A8mes-de-sant%C3%A9-infantiles/troubles-m%C3%A9taboliques-h%C3%A9r%C3%A9ditaires/troubles-du-stockage-du-glycog%C3%A8ne>
- Mohammadi, A., & Ahmadizadeh, M. (2018). Effects of antioxidants on xenobiotics-induced nephrotoxicity. *J Renal Inj Prev*, 7, 56-7.
- MYLAN PHARMACEUTICALS ULC 2017. Prégabaline en capsules ; Etobicoke, ON, M8Z 2S6 ; Canada.
- Oraiza, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J Nutr*, 44, 307-315.
- Parke-Davis Div of Pfizer Inc. (2020) highlights of prescribing information((Lyrica [product information. Pfizer. NY, NY. Revised April 2020. Accessed Nov. 11, 2020. <http://labeling.pfizer.com/showlabeling.aspx?id=561>)
- Pascal Dieusaert. (2015) des analyses medicales. <https://www.fnac.com/a8239390/Pascal-Dieusaert-Guide-pratique-des-analyses-medicales-6e-ed>
- Quentin Nicard. (2017). L'hypertriglycéridémie : causes, symptômes et traitements. (https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=hypertriglyceridemie_pm)
- RANDINITIS EJ., POSVAR EL., ALVEY CW., SEDMAN AJ., COOK JA., BOCKBRADER HN., 2003.Pharmacokinetics of pregabalin in subjects with various degrees of renal function. *Clin Pharmacol.*, 43(3) :277-83
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci* 2:152–59.
- Rouane, A., Chabane, D., & Arab, K. (2019). Evaluation of acute toxicity and anti-inflammatory activity of callus extracts of *pulicaria incisa* (lam.) dc. *applied ecology and environmental research*, 17(1), 1013-1025.

- Sears, M. E., & Genuis, S. J. (2012). Environmental determinants of chronic disease and medical approaches: recognition, avoidance, supportive therapy, and detoxification. *Journal of environmental and public health*, 2012.
- Shokry, D. A., El Nabrawy, N., Yassa, H. D., Gaber, S. S., Batiha, G. E. S., & Welson, N. N. (2020). Pregabalin induced reproductive toxicity and body weight changes by affecting caspase3 and leptin expression: protective role of wheat germ oil. *Life Sciences*, 260, 118344.
- SILVERMAN RB. ANDRUSZKIEWICZ R., NANAVATI SM., TAYLOR CP, VARTANIAN MG 1991. 3-Alkyl-4-aminobutyric Acid : the first class of anticonvulsant agents that activates l-glutamic acid decarboxylase. *J Med Chem*; 34:2295-8.
- TAYLOR CP., VATANIAN MG. 1997. Profile of anticonvulsant activity of CI 1008 (pregabalin) in animal models [abstract 1.109]. *Epilepsia* ;38 (suppl. 8) :35.
- Ullman-Culleré, M. H., & Foltz, C. J. (1999). Body condition scoring: a rapid and accurate method for assessing health status in mice. *Comparative Medicine*, 49(3), 319- 323.
- WALIED ABDO, AKIHIRO HIRATA, MOSTAFA SHUKRY,TAREK KAMAL, ESSAM ABDEL-SATTAR, ENGI MAHROUS, TOKUMA YANAI , 2015. Calligonum comosum extract inhibits diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in rats. 10.3892/ol.3313
- Wilbur, S. B., Keith, S., Faroon, O., & Wohlers, D. (2007). Toxicological profile for benzene.
- Yogish Kudva. (2023). diabetes. sur <https://www.mayoclinic.org/ar/diseases-conditions/diabetes/diagnosis-treatment/drc-20371451>)
- ZANDECKI Marc. (2016). DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE Qualification en BIOLOGIE MEDICAL. Sur [Http://dune.univ-angers.fr/fichiers/20126977/2016MDEBI5287/fichier/5287F.pdf](http://dune.univ-angers.fr/fichiers/20126977/2016MDEBI5287/fichier/5287F.pdf)

Annexes

Annex 01



Annex 02



Annex 03

