



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

N° de série :

Republique Algérienne Democratique Et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministere De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar D'el-Oued

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculte Des Sciences De La Nature Et De La Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Departement De Biologie Cellulaire Et Moleculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en sciences

biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

L'effet de *Crataegus laevigata* sur la toxicité du cadmium chez les rates *Wistar albinos*

Présenté par:

M^{elle} BEN AMARA Soumaia

M^{elle} SOLTANI Khadidja

Devant le jury composé de:

Président	Mr BOUALI N.	M.A.A,	Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued
Examineur	Mr KHELEF Y.	M.A.A,	Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued
Promotrice	M ^{elle} RAMDANE F.	M.C.B,	Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued

Année universitaire 2018/2019

Remerciements

*Avant tout, nous remercions **Dieu** tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous exprimons d'abord les grands remerciements et notre profonde reconnaissance à M^{lle} **RAMDANE Farah** qui a encadré et dirigé ce travail depuis les premiers instants. Nous le remercions pour son sérieux et ses efforts Afin de nous aider, de nous conseiller et de nous orienter. Nous lui exprimons notre profond respect et nos chaleureux remerciements*
*Nous exprimons nos vifs remerciements à **Mr BOUALI Nourredine**, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire malgré ses nombreuses charges. Aussi, nous tenons à exprimer également notre profonde reconnaissance à **Mr KHELEF YAHIA** d'avoir accepté d'examiner notre travail. nous tenons à lui exprimer notre grand respect.*

*Nous tenons à remercier profondément **GOUBI Sana, RAZAK MOHCEN Bouchra, KHANOUFA Omar** et **LAOUIDE Hussame eddine** membres du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Echahid HAMMA LAKHDAR, El-Oued., pour l'attention qu'elle a porté à ce travail, son support et ses encouragements. Nos remerciements s'adressent aussi à tous les travailleurs du laboratoire.*

*Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à **Mr TLIBA Ali** ingénieur de laboratoire de la recherche dans l'Institut des sciences et de la technologie (VTRS) Université Echahid HAMMA LAKHDAR, El-Oued pour son aide. Nous le remercions pour sa bienveillance et ces conseils. Nous tenons à remercier particulièrement et aussi **Mr AHMMADI Ridha** chef de département de chimie - l'Institut des sciences exacte*

*Nous voudrions témoigner nos très grandes reconnaissances à **Mr DJAHRA Ali Boutelis** le doyen de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Echahid HAMMA LAKHDAR, El-Oued pour son aide et aussi Mm **BOURASS Baya** pour leurs sympathiques et leurs aides.*

*Un grand merci à toute l'équipe de laboratoire de l'**Hôpital EL-BACHIR BEN NACER, l'Hôpital 08 Mai 1945, l'Hôpital 19 Mars** pour leur aide afin d'obtenir des bons résultats.*

*Nous réservons une mention particulière à toutes les personnes qui nous ont apportées leurs soutiens et leurs aides particulièrement: **ZEGH-IB Khaoula, DOUDI Dalal, BOUHAMED Mouna, GHANEM Kinza** ainsi qu'à toutes les autres personnes que nous n'arrivons à les citer.*

Nos remerciements vont également à tous les enseignants et tous les responsables de la faculté de sciences de la nature et la vie, Université Echahid HAMMA LAKHDAR, El-Oued Enfin nous remercions gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail



Résumé

L'objectif de ce travail d'une part, est l'étude phytochimique et l'activité biologique (antioxydante) d'extrait aqueux de *Crataegus laevigata* issue d'Annaba, d'autre part pour évaluer l'effet protecteur des principes actifs dérivés de cette plante sur des rates Wistar *Albinos* atteinte d'une toxicité par administration de cadmium 5mg/kg pendant 15 jours. Ces rates sont réparties en trois lots de cinq rates chacun dont le premier lot sert comme témoin, le second est un lot contaminé par le cadmium et le troisième lot contaminé par le cadmium et traité par *Crataegus laevigata*. L'analyse phytochimique montre que notre extrait contient de polyphénols avec une quantité de $70.207 \pm 0.369 \mu\text{g}$ équivalent d'acide gallique/ mg de la matière sèche, flavonoïdes $15.29 \pm 0.135 \mu\text{g}$ équivalent de quercétine/mg de la matière sèche, tannins catéchiques $0.29533 \pm 0.013 \mu\text{g}$ équivalent de catéchine/mg de la matière sèche et tannins totaux $10.48 \pm 0.052 \mu\text{g}$ équivalent d'acide gallique/ mg de la matière sèche. L'activité antioxydante a été évaluée par des tests chimiques tels que les tests de PM, DPPH et le FRAP qui ont révélé une très importante activité attribué à cette espèce. À partir de l'analyse de nos résultats, on observe une diminution hautement significative considérable du poids corporel des rates contaminées au cadmium et une augmentation significative du poids relatif des organes prélevés (foie et cœur). Les résultats ont montré aussi des changements notables dans les paramètres biochimiques caractérisés surtout, par une augmentation significative de la concentration sérique de la créatinine, L'activité des transaminases (TGO, TGP) et de phosphatase alcaline chez les rates contaminées. En outre, cette plante a diminuée le stress oxydatif qui est traduit par une diminution de la teneur en malondialdéhyde (MDA), une augmentation du taux du glutathion réduit (GSH) dans les foie et cœur. La présente étude confirme que de *Crataegus laevigata* peut avoir un effet protecteur vis-à-vis la toxicité induite par le cadmium et les pathologies associées au stress oxydatif.

Mots clés: *Crataegus laevigata*, Cadmium, Toxicité, Stress oxydant, Activité antioxydante.

الهدف من العمل هو دراسة النشاطية البيولوجية للمستخلص المائي/نبات الزعرور البري من مدينة عنابة ، من جهة أخرى التأثير الوقائي لمكونات النشطة المستمدة من هذا النبات على جردان الأنثوية مصابة بالتسمم عن طريق التعرض للكادميوم بمعدل 5ملغ/كغ لمدة 15 يوما . الدراسة التجريبية أجريت في المختبر على 15 جرد من سلالة ويستار مقسمة إلى ثلاثة مجموعات ، خمسة فئران في كل منها . المجموعة الأولى غير معالجة إذا كشاهد، المجموعة الثانية المعرضة بالكادميوم و المجموعة الثالثة المعرضة بالكادميوم ومعالجتها باستخدام الزعرور البري.

يوضح التحليل الكيميائي النباتي أن المستخلص يحتوي على مادة البوليفينول بكمية (70.20 ± 0.36) ميكروغرام المكافئة للحمض الغاليك /ملغ من الكتلة الجافة) ، الفلافونويد (15.29 ± 0.135 ميكروغرام المكافئة للكرستين /ملغ على الكتلة الجافة) ، تينينات الكاتشيك (0.29 ± 0.013 ميكروغرام المكافئة للكاتشين /ملغ من الكتلة الجافة) وتينينات الكلية (10.48 ± 0.052 ميكروغرام المكافئة للحمض الغاليك /ملغ من الكتلة الجافة). تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة عن طريق الإختبارات FRAP ، DPPH ، PM، أظهر النبات قدرة مضادات الأكسدة كبيرة.

من تحليل نتائجنا ، نلاحظ انخفاضا كبيرا في وزن الجسم ا لجردان الملوثة بالكادميوم وزيادة ملحوظة في الوزن النسبي للأعضاء المدروسة(القلب و الكبد) . أظهرت النتائج أيضا تغيرات مهمة في المعايير الكيميائية الحيوية التي تتميز بشكل أساسي بزيادة تركيز مصل créatinine ونشاط الترانساميناز (TGO,TGP) ، PAL ، للدم في الجردان المصابة . بالإضافة إلى ذلك خفض هذا النبات من الإجهاد التأكسدي الذي تبين في إنخفاض في محتوى (MDA) malondialdehyde ، وزيادة في مستويات الجلوتاثيون المنخفضة (GSH) في الكبد والقلب .

تؤكد هذه الدراسة أن *Crataegus laevigata* ذات تأثير وقائي ضد السمية الناجمة عن الكادميوم والأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي .

الكلمات المفتاحية : *Crataegus laevigata* ، الكادميوم ، السمية ، النشاطية المضادة للأكسدة ، الإجهاد التأكسدي .

A:	Absorbance
ADN:	Acide désoxyribonucléique
ALAT:	Alanine aminotransferase
AlCl₃:	Trichlorure d'aluminium
ASAT:	Aspartate amino transférase
BHT:	Butylhydroxtoluene
Cd:	Cadmium
Do:	Densité optique
DPPH:	2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl
DTNB:	Acide dithio-bis2-nitrobenzoïque
ERO:	Espèces réactives de l'oxygène
ES:	Ecart-types
GSH:	Glutathione réduit.
H₂SO₄:	Acide salicylique
HCL:	Chlorure d'hydrogène
L'IC₅₀:	Concentration inhibitrice 50
LDH:	Lactate déshydrogénase
MDA:	Malondialdéhyde
Nacl:	Chlorure de sodium
NAD:	Nicotinamide adénine dinucleotide
NADH:	Nicotinamide adénine dinucleotide
NS:	Différence non significative
O₂:	HI'oxygène singulet
OH[•]:	Radical hydroxyle
PAL:	La phosphatase alcaline
PEB:	Poids de L'extrait brut.
pH:	Potentiel hydrogen
PMV:	Poids de matière végétale.
R:	Rendement.
SOD:	Superoxyde dismutase
T:	Témoin
TBA:	Acide thiobarbiturique

Liste des abréviations

TCA:	Acide trichloroacétique
TGO:	Transaminase glutamique oxaloacétique
TGP:	Transaminase glutamique pyruvique
TPTZ:	Tripyridyltriazine ferrique
Tris:	Trishydroxyméthylaminométhane
Zn:	Zinc

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Aspect du Cadmium	08
Figure 2	Voie du Cd dans le corps	10
Figure 3	Mécanismes d'induction du stress oxydant par le Cd	11
Figure 4	Arbre révérent de la descendance de l'aubépine d'Armathie en Angleterre à Glastonbury	16
Figure 5	Illustration des différentes parties de l'appareil végétatif et de <i>Crataegus laevigata</i>	17
Figure 6	Feuilles de <i>Crataegus laevigata</i>	18
Figure 7	Fleur de <i>Crataegus laevigata</i>	18
Figure 8	Baies de <i>Crataegus laevigata</i> montrant les sépales persistants	19
Figure 9	Répartition géographique du <i>Crataegus laevigata</i> dans le monde	20
Figure 10	Structure de base de Flavonoïdes <i>Crataegus laevigata</i>	20
Figure 11	Structure de l'acide caféique de <i>Crataegus laevigata</i>	21
Figure 12	Présentation géographique de la zone d'étude Annaba	26
Figure 13	Feuilles de <i>Crataegus laevigata</i>	27
Figure 14	Rates blanche de la souche <i>Wistar Albinos</i>	27
Figure 15	Protocole de préparation de l'extrait aqueux <i>Crataegus laevigata</i>	29
Figure16	Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH [*] et un antioxydant(RH)	33
Figure 17	Réaction du test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	34
Figure 18	Protocol expérimentale	36
Figure 19	Variation du poids corporel chez les rates	49

Figure 20	Teneur plasmatique la créatinine et la glycémie chez les groupes témoins et les groupes traités pendant 15 jours	49
Figure 21	L'activité des transaminases (TGO, TGP) chez les groupes témoins et les groupes traités pendant 15 jours.	50
Figure 22	Concentration du Phosphatase alcalin et LDH chez groupes témoins et les groupes Traités pendant 15 jours	51
Figure 23	Concentrations tissulaires de malondialdéhyde chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	52
Figure 24	Variation de la Concentrations tissulaires de glutathion (GSH) chez le groupe témoins et les groupes expérimentaux pendant 15 jours.	52
Figure 25	Coupes histologiques de foie de différents groupes (x40)	53
Figure 26	Coupes histologiques de cœurs de différents groupes (x40)	54

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Proportions des procyanidines dans les fleurs, feuilles+fleurs et l'extrait commercialisé de <i>Crataegus laevigata</i>	21
Tableau 2	Mode opératoire de dosage de la glycémie	37
Tableau 3	Rendements en extrait sec de plante étudiée	44
Tableau 4	Résultats des tests phytochimiques	44
Tableau 5	Teneurs en polyphénols de l'extrait aqueux <i>Crataegus laevigata</i>	45
Tableau 6	Teneurs en flavonoïdes de l'extrait	45
Tableau 7	Teneurs en tannins catéchique et totaux de <i>Crataegus laevigata</i>	46
Tableau 8	Valeur d'inhibition du radical DPPH'	47
Tableau 9	Poids relatif des foies chez le groupe témoin et les groupes traités pendant 15 jour	48
Tableau 10	Poids relatif des cœurs chez le groupe témoin et les groupes traités pendant 15 jours	48

SOMMAIRE

Remerciements	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	2

PREMIERE PARTIE: *Synthèse bibliographique*

CHAPITRE I

Toxicité et génération d'un stress oxydatif

I.1 Toxicité	5
I.1.1 Définition	5
I.1.2. Différents formes	5
I.1.3. Quelque éléments responsables de la toxicité	6
I.2. Métaux lourds	8
I.2.1. Définition	8
I.2.2. Métaux utilisés dans l'expérimentation	8
I.3. Les antioxydants	12
I.3.1. Antioxydants enzymatiques	12
I.3.2. Antioxydants nonenzymatiques	12

CHAPITRE II

Généralité sur la phytothérapie et description des plantes étudiées

II.1 Phytothérapie	15
II.1.1. Définition	15
II.2. Famille des Rosaceae	15
II .2.1. <i>Crataegus laevigata</i>	16
II .2.1.1. Description botanique	17
II .2.1.2. Systématique	19
II 2.1.3. Répartition géographique	19
II 2.1.4. Composition chimique	20
II 2.1.5. Utilisations de <i>Crataegus laevigata</i>	22

DEUXIEME PARTIE: *Etude Expérimentale*

CHAPITRE I

Matériels et Méthodes

I.1. Matériel	26
I.1.1. Zone d'étude (Annaba)	26
I.1.2. Matériel végétal	26
I.1.3. Animaux et conditions d'élevage.....	27
I.1.4. Matériel et techniques d'étude au laboratoire.....	28
I.2. Méthodes	28
I.2.1.Préparation de l'extrait aqueux	28
I.2.2.Détermination du rendement d'extraction	30
I.2.3.Tests phytochimiques (Détermination de quelques principes actifs)	30
I.2.4.Méthodes d'analyse quantitatives d'extrait	31
I.2.5.Evaluation de l'activité antioxydante	33
I.2.6. Etude des activités biologiques de <i>Crataegus laevigata</i> <i>vivo</i>	35
I.2.7.Dosage des paramètres de stress oxydatif	39
I.2.8. Etude histologique	41
I.2.9. Etude statistique	42

CHAPITRE II

Résultats et Discussion

I. Résultats	44
I. 1.Le rendement de l'extrait aqueux de <i>Crataegus laevigata</i>	44
I.2.Tests phytochimiques	44
I. 3. Détermination des teneurs des composés bioactifs.....	45
I.4. Evaluation de l'activité antioxydante	46
I.5. Effet du traitement par <i>Crataegus laevigata</i> sur les rates atteintes de toxicité par cadmium	47
I.6. Étude de l'effet de <i>Crataegus laevigata</i> sur des paramètres de stress oxydant chez les rates intoxiqués par cadmium	51
I.7. Étude histologique	53
II. Discussion	55
<i>Conclusion générale</i>	61
<i>Références bibliographiques</i>	64
<i>Annexes</i>	

Introduction générale

Les éléments traces métalliques (ETM) sont présents à différents niveaux de la croûte terrestre. Les concentrations moyennes d'ETM rencontrées dans les sols se trouvent dans une gamme allant de moins de 0,01 à plus de 1 500 mg par kg de sol mais peuvent dépasser 50 à 70 g dans les sols métallifères (**Zouainia, 2017**). La présence de métaux lourds dans l'environnement résulte de causes naturelles et des activités humaines. Elle pose un problème particulier, car les métaux lourds s'accumulent et ils ne sont pas biodégradables dans ce dernier (**Miguel, 2008**). Les métaux lourds les plus souvent considérés comme toxiques pour l'homme sont : le plomb, le mercure, l'arsenic et le cadmium. D'autres comme le cuivre, le zinc, le chrome, pourtant nécessaires à l'organisme en petites quantités, peuvent devenir toxiques à doses plus importantes est très variable et leur impact sur l'environnement très différent (**Shotyk et al., 2000**).

Le cadmium est connu depuis les années 50, très toxique sous toutes ses formes, il est l'un des rares éléments n'ayant aucune fonction connue dans le corps humain ou chez l'animal. Il faut éviter son contact avec des aliments. Chez l'Homme, il provoque notamment des problèmes rénaux et l'augmentation de la tension (**Plumlee et Ziegler, 2003**). Les effets toxiques du Cd ne le sont pas seulement pour l'Homme, mais aussi pour les végétaux et les animaux (**Benito et al., 1999**). L'un des principaux mécanismes qui expliquent la toxicité du cadmium a été attribuée au stress oxydatif (**Wang et al., 2012**).

Ce stress est caractérisé par un déséquilibre provoqué essentiellement par une production exagérée des espèces réactives à l'oxygène (ERO). Qui sont responsable des altérations biologiques, telles que la peroxydation lipidique et l'oxydation protéique et un déficit des défenses antioxydants (**Berger, 2006**). l'oxydation des protéines et les altérations de l'ADN, provoquant ainsi le développement du cancer, du diabète, des maladies neuro-dégénératives et des maladies cardio-vasculaires (**Wang et al., 2012**). De plus, la cardiotoxicité est significativement associée à l'hypertension artérielle l'athérosclérose et l'inflammation ...ect (**Donatiello, 2002**).

Durant ces deux dernières décennies, la recherche en phytothérapie devient une des plus grandes préoccupations scientifiques (**Nyah et al., 2005**). Depuis toujours, les plantes médicinales ont été utilisées pour prévenir ou traiter diverses maladies. Selon des études ethnopharmacologiques plus de 1200 plantes utilisées à travers le monde, en médecine traditionnelle, pour leurs activités biologiques (**Bisht et al., 2010**). Dans certaines sociétés traditionnelles non industrialisées (Chine, certains pays africains et latino-américains), la prise en charge médicamenteuse de pathologies dites chroniques est en grande partie assurée par l'utilisation des plantes médicinales et alimentaire (**Zhou et al., 2009**). Les plantes

médicinales contiennent des molécules bioactives qui représentent des intérêts multiples mis à profit dans différent domaine. Parmi ces composés, les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés dans le domaine thérapeutique (**Anderson et Markham, 2006**).

A la lumière de ces données, l'idée originale de notre travail était d'étudier et d'évaluer, chez des rattes de la souche Wistar intoxiquées par le cadmium. L'effet de la phytothérapie à base de traitement par l'extrait aqueux préparé à partir de la partie aérienne de *Crataegus laevigata* reconnue par la médecine traditionnelle dans le traitement la perturbation métabolique et physiologique et la prévention de la cardiotoxicité et des complications du cadmium. Cette étude a été entreprise et divisée en deux parties:

- Une bibliographique comprend deux chapitre le premier développe Généralité sur toxicité par cadmium et l'activité antioxydant; le deuxième était une description botanique et chimique de la plante selectionnée *Crataegus laevigata*.

-Une partie expérimentale, elle est divisée en 2 chapitres: Matériels - méthodes et résultats discussions ; nous avons mentionné l'ensemble des méthodes utilisées pour l'extraction, le dosage colorimétrique des polyphénols, des flavonoïdes et les tannins totaux, suivis par l'évaluation de l'activité anti-oxydante et une étude *in vivo* de la toxicité cardiaque et hépatique sur des rats *albinos* de type Wistar dont nous avons réalisé le dosage des paramètres sanguins biochimiques et hématologiques ensuite la détermination des paramètres du stress oxydatif. Une conclusion générale est donnée à la fin de ce mémoire

PREMIERE PARTIE

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I

*Toxicité et génération d'un stress
oxydatif*

I.1 Toxicité

I.1.1 Définition

La toxicité c'est un caractère des substances chimiques qui, au contact ou après pénétration dans un organisme, ont la propriété de causer un dysfonctionnement à l'échelle moléculaire, cellulaire ou organique (**Viau et Tardif, 2003**). Cette toxicité dépend de la nature de la substance, de la dose et de la durée d'exposition, des différents facteurs liés à l'individu (sexe, âge, état nutritionnel et hormonal), des facteurs environnementaux et de l'exposition simultanée ou antérieure à d'autres produits chimiques (**Tron et al., 2002**).

I.1.2. Différents formes

Selon la durée, la fréquence et la quantité de produits auxquelles un individu est exposé, on observe plusieurs types de toxicités (**Alain, 2002**). L'homme est constamment exposé à une toxicité soit aiguë soit subaiguë ou chronique (**Bismuth et al., 1987**).

I.1.2.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë se manifeste rapidement, voire immédiatement, juste après l'exposition de l'organisme (**Boulouiz, 2016**) une prise unique ou à court terme après plusieurs prises rapprochées. C'est l'étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après administration unique de la ou des substances actives contenues dans le médicament. La toxicité aiguë d'une substance chimique est estimée par une série de tests réalisés sur des animaux de laboratoire (**Benzidane, 2012**).

Le terme toxicité aiguë est plus souvent utilisé en liaison avec les déterminations de la létalité et de la DL_{50} . La DL_{50} est définie comme la dose déterminée statistiquement qui, lorsqu'elle est administrée dans un test de toxicité aiguë, est susceptible de causer la mort de 50% des animaux traités sur une période donnée (**Oliver, 1986**).

I.1.2.2. Toxicité subaiguë

Elle consiste à étudier les conséquences néfastes de l'administration répétée du produit étudié (**Laroche, 2001**). La substance à tester reste administrée quotidiennement à différents niveaux de dose à plusieurs groupes d'animaux. De manière générale, au moins trois groupes d'essai et un groupe témoin doivent être utilisés (**Ocde, 2008**).

I.1.2.3. Toxicité chronique

Elle permet de caractériser le profil toxicologique d'une substance chez les animaux, à la suite d'une exposition répétée et prolongée au-delà de 90 jours. Dans ce cas, le produit est administré quotidiennement, une à deux fois par jour pendant 18 à 24 mois. Le protocole

expérimental est similaire à celui utilisé pour la toxicité subaiguë, sauf que la période est plus longue (**Laroche, 2001**). Il est habituel de mettre fin au bout de deux ans aux expériences à long terme sur les animaux, car on considère ordinairement que cette durée couvre la plus grande partie de leur vie (**Schubik et al., 1956**).

I.1.3. Quelques éléments responsables de la toxicité

I.1.3.1. Toxicité des produits chimiques

L'exposition à des produits chimiques est un problème croissant dans les sociétés industrielles, Le risque est plus difficile à apprécier que pour les médicaments car il n'existe pas de réseaux spécifiques qui recueillent les effets secondaires. De plus, les effets à long terme à des expositions à doses variables, susceptibles de produire des maladies chroniques du foie et des cancers, restent peu connus. La période de latence entre l'exposition et l'événement peut durer des années (**Tolman et Dalpiaz, 2007**).

L'évaluation du risque nécessite l'étude systématique et coordonnée entre l'épidémiologie, la toxicologie. On estime que moins de 30 % des agents chimiques potentiellement toxiques sont correctement testés et qu'il persiste une exposition dans l'environnement et au travail, à des produits hépatotoxiques connus comme le chlorure de vinyle (**Tolman et Dalpiaz, 2007**).

Les atteintes causées par les agents industriels posent un problème spécifique particulier de mode d'exposition. La structure et la liposolubilité du produit sont des déterminants majeurs du mode de transport à travers les membranes cellulaires, Les voies principales d'exposition sont transcutanées, gastro-intestinales par ingestion et pulmonaire par inhalation (**Berry et Edward, 2000**).

Les mécanismes de toxicité des agents industriels sont similaires à ceux des médicaments classiques avec la formation de métabolites réactifs, de radicaux libres entraînant différentes lésions cellulaires. Cela est bien caractérisé pour le tétrachlorure de carbone et le chlorure de vinyle (**Bolt et al., 2005**). L'Agence nationale américaine responsable du contrôle des agents chimiques a récemment listé 667 agents chimiques dont 228 sont référencés comme potentiellement toxiques pour le foie, soit sur la base d'expérimentations animales ou bien d'observations cliniques (**Niosh, 1994**).

I.1.3.2. Toxicité des médicaments

Toxicité induite par les médicaments constitue un problème majeur de santé publique dans la majorité des pays occidentaux, puisqu'elle y représente la principale cause d'insuffisance hépatique aigue. La toxicité est le plus souvent due à la transformation du médicament en métabolite réactif toxique principalement par le cytochrome P450 et ses

isoenzymes (**Keeffe, 2005**). Ces métabolites réactifs sont transformés en métabolites a réactif par différents systèmes de protection en particulier la conjugaison au glutathion et les époxydes. Lorsque ces mécanismes sont insuffisants, les métabolites réactifs peuvent se lier de façon covalente sur certains constituants des hépatocytes et entraîner la mort cellulaire ou en déclenchant des réactions immunologiques, Mais cette toxicité est liée à une susceptibilité individuelle constitutionnelle appelée idiosyncrasie (**Keeffe, 2005**).

I.1.3.3. Toxicité des produits industriels

I.1.3.3.1. Hydrocarbures aliphatiques halogénés chlorés

- **Dichlorométhane (Chlorure de méthylène)**

Le dichlorométhane est un solvant utilisé dans de nombreuses applications industrielles. Chez l'homme, des cytolyses hépatiques ont été observées à la suite d'intoxications aiguës, ont décrit une augmentation sérique des transaminases à plus de 10 fois la normale à la suite d'une intoxication aigue (**Lauwerys, 1999**).

- **Trichlorométhane (Chloroforme)**

L'utilisation du trichlorométhane ou chloroforme est actuellement très limitée. Le chloroforme n'est plus employé comme anesthésique du fait du risque d'atteinte hépatique et d'hyperexcitabilité cardiaque. Chez l'homme, les décès résultant d'une intoxication au chloroforme observent le plus souvent dans des cas de suicides, d'accidents et quelque fois d'homicides. Une nécrose centrolobulaire et une stéatose sont observées lors d'une intoxication aiguë (**Lauwerys, 1999**).

I.1.3.4. Toxicité des métaux lourds

Ont un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration, ils n'ont aucuns effets bénéfiques connus pour la cellule (**Baker et Walker, 1989**). Les composés métalliques ont une toxicité variable selon leur nature et leur voie de pénétration (ingestion, respiration, contact avec la peau) (**Chiffolleau et al ., 2001**). Par ailleurs, si les métaux sont souvent indispensables au métabolisme des êtres vivants (oligo-éléments), nombreux d'entre eux sont cependant toxiques lorsque leur concentration cas du fer (Fe), du cuivre (Cu), du zinc(Zn), du nickel (Ni), du cobalt (Co), du molybdène (Mo) du manganèse (Mn), du chrome (Cr), du titane (Ti)etc (**Casas, 2005**). Leur toxicité se développe par bioaccumulation le long de la chaine alimentaire dans tous les cas comme du plomb(Pb), du mercure(Hg) et du cadmium(Cd) (**Nies, 1990**).

I.2.Métaux lourds

I.2.1. Définition

Les métaux lourds sont des éléments ayant des propriétés métalliques naturelles (densité, ductilité, stabilité des cations, spécifiés de ligand, conductivité) et qui possèdent un numéro atomique > 20 (Loué, 1993), caractérisés par une forte masse volumique supérieure à 5 g/cm^3 (Adriano, 2001). Ils sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, mais en générale en quantité très faibles et ne sont pas biodégradables. On dit que les métaux sont présents en « quantités traces » car ils représentent 0.6 % masse du totale des constituants de la croute terrestre et représentent aussi «la trace» du passé géologique et de l'activité anthropique (Blum, 1990). Certains métaux présents dans l'environnement jouent un rôle important dans la cellule (cuivre, fer, manganèse, nickel et zinc,...). D'autres, comme le cadmium, le plomb et des métalloïdes ne sont pas nécessaires à la vie et sont préjudiciables dans tous les cas (Zhang et al., 2009).

I.2.2. Métaux utilisés dans l'expérimentation

I.2.2.1.Cadmium

I.2.2.1.1.Définition

Le cadmium (Cd), du grec kadmeia (Goyer et Clarckson, 2001).Le nom de Cadmium vient du latin cadmia (calamine) (Nakib, 2010), l'ancien nom pour " calamine" ou "galmei", un minerai de zinc (Verge, 2006). Le Cd est un métal blanc argent, légèrement bleuté, très malléable et ductile, largement utilisé dans les pays industrialisés, (Behrouze, 1995; Martineau, 2008), n'est pas essentiel au développement des organismes animaux ou végétaux, appartenant à la famille de métaux de transition. En revanche, ses propriétés physiques et chimiques, proches de celles du zinc et du calcium, lui permettent de traverser les barrières biologiques et de s'accumuler dans les tissus. Il se trouve souvent associé dans les roches aux éléments du même groupe(Zorrig, 2010).



Figure 01 : Aspect du cadmium (Arris, 2008).

I.2.2.1.2.Métabolisme

❖ Absorption

La population générale est très majoritairement exposée par voie orale (alimentation), à l'exception des fumeurs qui peuvent absorber quotidiennement par inhalation une dose de cadmium équivalente à celle absorbée par voie orale (une cigarette contient en moyenne 2 µg de cadmium) (Aranguren, 2008). Lors d'une exposition par inhalation, une fraction du cadmium se dépose le long du tractus respiratoire. Soixante quatre pour cent du cadmium déposé dans les poumons sont absorbés (Debacker, 2007).

Selon sa forme, le Cd peut être inhalé ou ingéré; par les poumons, dont la biodisponibilité avoisine les 25%, lui permet de traverser la barrière alvéolo-capillaire et de court-circuiter le système hépatique, provoquant un plus lourd fardeau sanguin que lorsque ingéré par le tractus gastro-intestinal, la biodisponibilité orale étant de 35%. (Kim et Sharma, 2004). Les composés les plus hydro-solubles, chlorure et oxyde sont absorbés à environ 90-100 % et le sulfure est absorbé à hauteur de 10 %. Cette absorption après une inhalation unique peut se faire sur une période de plusieurs semaines (Debacker, 2007).

Bien que les formes solubles de cadmium puissent être absorbées partiellement au niveau de l'arbre bronchique, les alvéoles sont le lieu privilégié de l'absorption du Cd inhalé (Atsdr, 2008).

❖ Distribution

Le cadmium systémique est largement distribué dans l'organisme, mais avec un tropisme particulier pour le foie et les reins (Atsdr, 2008). Le cadmium est transporté dans le sang fixe à l'hémoglobine ou aux métallothionéines, Il est également retrouvé dans les os, le pancréas, la glande thyroïde, les testicules et les glandes salivaires (Bisson et Houeix, 2014). L'accumulation de cadmium dans le foie et les reins a été montrée dans plusieurs publications relatant les résultats d'autopsies de personnes décédées (cause accidentelles ou autres) (Oehha, 2006).

❖ Elimination

Le cadmium sous forme de cation divalent (Cd^{2+}) présente la propriété de se lier facilement à des groupes anioniques, ainsi qu'aux groupements sulfhydriles des protéines ou d'autres molécules à groupement thiols ou mercaptans, et cette dernière propriété est déterminante dans le métabolisme du cadmium. Ainsi, les complexants privilégiés du cadmium sont les métallothionéines (MT) (Efsa, 2009).

Le transport du cadmium dans le sang s'effectue sous forme liée à des MT, à l'albumine ou dans les érythrocytes. Dans les reins, la faible dimension du complexe Cd-MT

facilite son passage à travers les glomérules vers les tubules rénaux où il pénètre facilement par pinocytose dans les cellules tubulaires où il est dissocié puis réabsorbé par les cellules du tubule proximal jusqu'à une dose critique. En se liant notamment à la mégaline et à la cubiline apicales. Les vacuoles de pinocytose fusionnent avec les lysosomes dont les enzymes dégradent les MT et libèrent ainsi le cadmium. Lorsque la concentration critique est dépassée, des atteintes tubulaires surviennent correspondant à une enzymurie, protéinurie de bas poids moléculaire, une augmentation de l'excrétion urinaire de cadmium sous la forme complexée aux métallothionéines ou libre (Efsa, 2009).

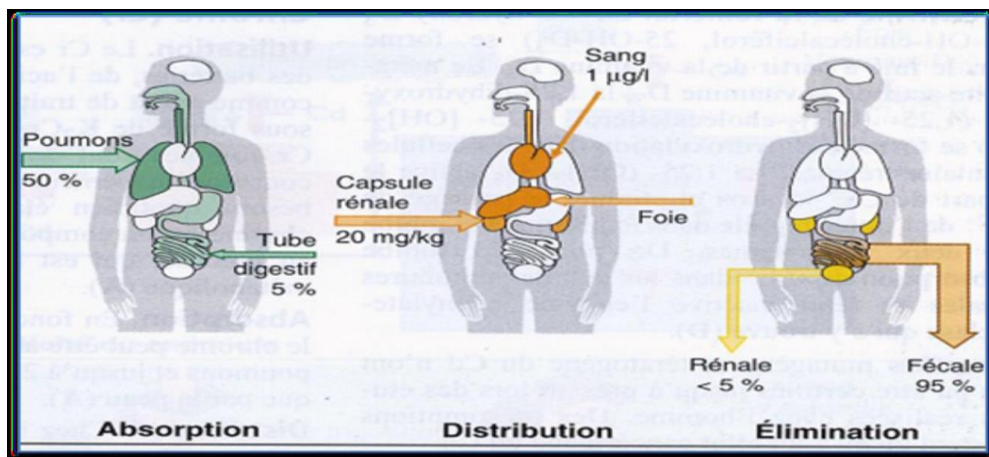


Figure 02 : La voie du Cd dans le corps (Evelyne, 2006).

I.2.2.1.3. Mécanismes de toxicité du cadmium

Le Cd est capable d'induire l'apparition des espèces réactives de l'oxygène (ERO) par des mécanismes indirects. Il est également décrit comme inhibiteur de la réparation de l'ADN

(Waisberg *et al.*, 2003). Ce métal peut avoir une toxicité importante par interférence avec des métaux essentiels comme le fer, le cuivre et le zinc. Les perturbations engendrées par le Cd aboutissent à plusieurs conséquences néfastes pour la cellule (Waisberg *et al.*, 2003).

Ses effets sont très toxiques, il est caractérisé par une longue demie-vie biologique (environ 20-30 ans), un faible taux d'excrétion par l'organisme, et un stockage prédominant dans les tissus mous (surtout le foie et les reins). Le cadmium a un large éventail d'effets de toxicité : la néphrotoxicité, le risque cancérigène, la tératogénicité, la toxicité endocrinienne et la toxicité de l'appareil reproductif (Lazou *et al.*, 2002), il peut également infecter le système immunitaire. Les effets de ce métal sont corrélés à une anomalie des réponses humorales ou cellulaires, bien que les données disponibles sont rares et dans une certaine mesure controversées (Koller, 1998).

I.2.2.1.4. Cadmium et génération d'un stress oxydant

La génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (anion superoxyde, radical hydroxyle, peroxyde d'hydrogène, oxyde nitrique) fait partie du métabolisme normal de la cellule. La chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie et les lysosomes génèrent ces espèces de manière constitutive (Nohl *et al.*, 2003). Par contre, lors d'une contamination par le cadmium, il se crée un déséquilibre entre la génération de ROS et la production d'antioxydants (Stohs et Bagchi, 1995; Ikediobi *et al.*, 2004). Les effets toxiques du Cd sont essentiellement indirects. Ce métal lourd non oxydoréducteur en milieu biologique provoquerait la diminution des taux cellulaires des principaux systèmes antioxydants (Stohs and Bagchi, 1995), il induit de façon indirecte la production de ROS et la peroxydation lipidique par interférence avec les systèmes antioxydants. En effet le cadmium peut entraîner une diminution de la quantité d'antioxydants (glutathion) ou de l'activité d'enzymes permettant de lutter contre le stress oxydant (superoxyde-dismutase, glutathion-peroxydase, catalase) (Leonard *et al.*, 2004).

Un autre mécanisme possible est l'augmentation de la concentration en fer ou en cuivre à la suite de leur déplacement par le cadmium de métalloprotéines. . A l'inverse du cadmium, ces deux métaux peuvent causer un stress oxydant direct par réaction de Fenton (Wardman et Candeias, 1996). En effet, l'augmentation de la quantité de ROS lors d'une contamination par du cadmium peut influencer l'expression de nombreux gènes dont ceux de facteurs de transcription (Haddad, 2002).

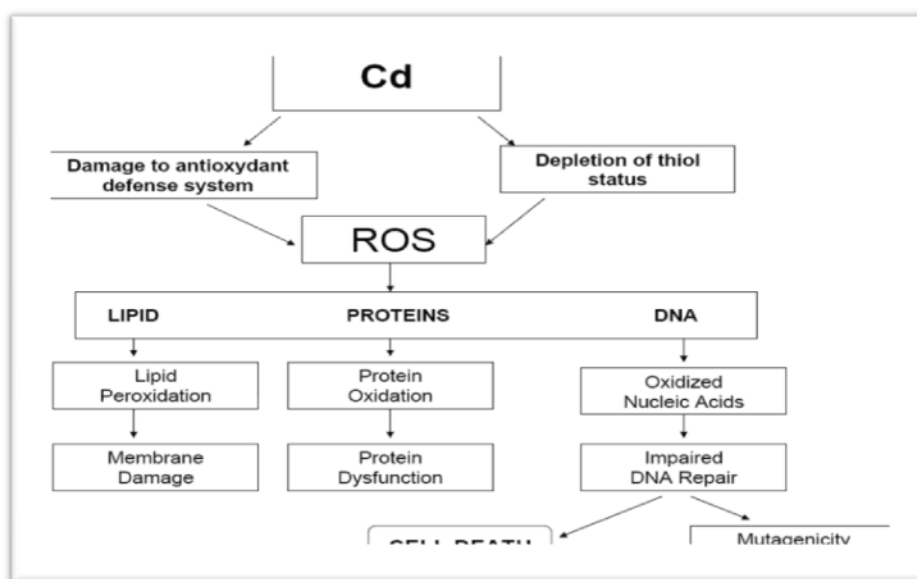


Figure 03: Mécanismes d'induction du stress oxydant par le Cd (Bonnefont-Rousselot 1994; Ercal *et al.*, 2001)

I.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des molécules ayant la capacité de neutraliser des radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies. Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives (Behera *et al.*, 2006).

I.3.1. Antioxydants enzymatiques

Ces mécanismes impliquent principalement des enzymes spécifiques (superoxyde dismutase ou SOD, catalase, glutathion peroxydase ou Gpx) (Vuldoukis *et al.*, 2004).

- **Superoxyde dismutase (SOD):** Le rôle déterminant de la SOD dans les systèmes de défenses antioxydants de l'organisme est connu depuis 1968. On sait que le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) est le point de départ de la chaîne de production des radicaux libres. Or, dès ce stade précoce, la SOD inactive le radical superoxyde en le transformant en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).
- **Catalase:** Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est ensuite rapidement catabolisé par la catalase et les peroxydases en dioxygène (O_2) et en molécules d'eau (H_2O).
- **Glutathion peroxydase (Gpx):** L'activité du GPx, est de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur (Vuldoukis *et al.*, 2004).

I.3.2. Antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non-enzymatiques sont des molécules antiradicalaires, qui piègent les radicaux libres (les vitamines antioxydantes (C, E)).

- **Vitamine E**

La vitamine E est le principal antioxydant liposoluble. Le terme vitamine E englobe différents isomères, l' α -tocophérol étant l'antioxydant le plus efficace, notamment dans la détoxification des radicaux peroxydes et alkoxydes (Ré *et al.*, 2005; Birben *et al.*, 2012).

- **Acide ascorbique: vitamine C**

La vitamine C est un antioxydant puissant. Elle participe dans les réactions avec la vitamine E et l'enzyme glutathion peroxydase pour neutralisation des radicaux libres (CheickTraore, 2006). La vitamine C agit principalement en piégeant directement les ROS (majoritairement l' $O_2^{\cdot-}$ et le $ONOO^-$). Il est présent dans les légumes, le chou, le poivron, les agrumes. Elle joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (Bossokpi, 2002).

- **Polyphénols**

Les polyphénols sont des composés possédant des activités biologiques qui les rendent bénéfiques à la santé humaine. Beaucoup d'études indiquent que les polyphénols pourraient diminuer le risque de survenue d'un certain nombre de pathologies, en particulier celles liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires ou euro dégénératives) (Leong et Shui, 2002). Les activités biologiques relatives à ce type de composés sont relativement diversifiées. Chaque classe chimique de polyphénols semble être utilisée pour ses vertus spécifiques (Martin et Andriantsitohaina, 2002). Les composés phénoliques sont principalement reconnus pour leur activité antimicrobienne et anti-oxydante, cette dernière est d'un intérêt général avec les récentes découvertes sur la prévention des cancers (Karakaya, 2004).

- **Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont de puissants antioxydants vis-à-vis des radicaux libres dus à leur propriété de donation d'atomes d'hydrogène disponibles dans les substituants hydroxyles de leurs groupes phénoliques (Sandhar et al., 2011). Les flavonoïdes préviennent efficacement la peroxydation lipidique puisqu'ils peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH₂ situé entre les deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés, ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives. De plus ils pourraient agir en chélatant les métaux de transition tels que le cuivre et le fer (Le et al., 2007).

CHAPITRE II

*Généralité sur la phytothérapie et
description des plantes étudiées*

II.1 Phytothérapie

II.1.1. Définition

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques: phyton et thérapie qui signifient respectivement "plante" et "traitement" (**Bellamine,1993**). La Phytothérapie avant tout se définit comme étant une discipline allopathique, fondée sur l'utilisation thérapeutique de la plante médicinale, qui est basée sur des connaissances issues de la tradition(**Achouri et Cherki,2018**). Elle est destinée à prévenir des maladies par l'usage des plantes (**Bellamin ,1993**).Le mode de préparation et d'administration sont des facteurs déterminants dans un traitement (**Hamza, 2011**).

La Phytothérapie fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces (**Zeghad ,2009**), consiste à utiliser des plantes comme médicaments pour rétablir et conserver le corps en bon état, dont plus de 80 % de la population mondiale l'utilisent pour les divers problèmes de santé (**Farnsworth et Kass ,1986**).

II.2. Famille des Rosaceae

Regroupe plus de 3000 à 3500 espèces classées en 4 sous familles: Rosoideae, Spiraeoideae, Amygdaloideae et Maloideae et retrouvées dans les régions tempérées de l'hémisphère nord. Cette famille présente une grande variabilité morphologique et une tendance évolutive marquée (**Berkane, 2017**). C'est aussi la famille du pommier, cerisier, fraisier, prunier et d'autres espèces qui fournissent les fruits comestibles des régions tempérées. Existe sous forme d'herbe, arbuste ou arbre c'est ainsi que la tige est soit herbacée vivace, parfois de type stolon comme chez le fraisier, soit ligneuse accompagnée d'une transformation des poils épidermiques en aiguillons piquants (**Takhtajan ,1993**). Les feuilles sont alternes, simples ou composés avec des folioles dentées et stipulées. La fleur qui caractérise cette famille est hermaphrodite, pentamère, actinomorphe et cyclique. Le gynécée est dialycarpellé et parfois gamocarpellé. L'ovaire supère ou infère est syncarpe contenant dans chaque loge 1 à 2 ovules anatropes et bitégumentés ou unitégumentés ayant une placentation marginale ou axile. Quant à l'androcée: le nombre d'étamines est variable. (**Botineau ,2010**). La déhiscence de l'anthere est longitudinale. Les fleurs superovariées et hypogynes se transforment après fécondation en akènes, follicules ou drupéoles. Celles qui sont péri/épigyne avec un ovaire également supère donneront naissance à des drupes. C'est alors aux fleurs inférovariées de se transformer en pomme. La graine est exalbuminée renfermant un embryon volumineux et riche en substances de réserves (**Berkane ,2017**).

II .2.1. *Crataegus laevigata*

✓ Nom latin

Le *Crataegus oxyacantha* L, dans sa nomination actuelle: *Crataegus laevigata* , tient son étymologie du latin: *crataegus* ou « kratos » dont la signification en français exprime la branche dure par allusion à la dureté de cet arbrisseau. *Oxyacantha* est à son tour subdivisé en « oxus » = aigue ou pointue et « akantha »= épine, l'ensemble donne épine pointue (**Couplan ,2012**).

✓ Noms communs

Cette espèce est connue en France sous les noms suivants : Aubépine: obtenu suite à une déformation du nom latin « spinaalba » puis « albispina » qui veut dire épine blanche(**Coquillat ,1962**)

-Aubépine à deux styles: vu que la fleur en présente deux (**Dif et al., 2015**)

-Aubépine des haies, épine blanche: vue qu'elle est armée d'épines sur ses branches claires.

-Epine de mai en se référant au mois de mai, la saison de sa floraison (**Bézanger et Pinkas ,2014**)

-Et en vieux français on l'appelait albinspine puis albinspin (**Coquillat ,1962**)

✓ Les anglais utilisent les appellations de: hawthorn qui tient sa racine d'un mot composé anglais ancien « hagathorn » dont hedge=haie thorn=épine (**Patrick et Henry ,1996**), haws, may bush, may bolossom, white thorn, hawthorn midland (**Jain et Khamesra , 2007**).

✓ En langue arabe littéraire cet arbrisseau porte la nomination de : الزعرور Zaaror (**Berkane, 2017**)



Figure04: Arbre révérent de la descendance de l'aubépine d'Armathie en Angleterre à Glastonbury (**Berkane ,2017**)

II .2.1.1.Description botanique

Crataegus laevigata L est un arbrisseau épineux appartenant à la famille des Rosaceae et incluse de 150 à 1200 espèces (Yanar et al., 2011) et pouvant atteindre 2 à 4 mètres jusqu'à 10 mètres de hauteur intervenant amplement dans la formation des haies (Berkane, 2017). IL est un arbuste épineux ou petit arbre qui a des feuilles vertes claires, fleurs blanches, et baies rouges vives (Tigrine et Moudache ,2013). Les rameaux sont épineux, étalés et lisses mais les jeunes rameaux sont le plus souvent glabres. Ci-dessous les principales caractéristiques des feuilles, fleurs et fruits... de l'espèce (Antony, 2011). Les deux espèces communes *Crataegus laevigata* (*Crataegus oxyacantha*) et *Crataegus monogyna* sont les plus utilisées dans la médecine traditionnelle (Svedstrom et al .,2002).



Figure05: Illustration des différentes parties de l'appareil végétatif et de *Crataegus laevigata* (Zelimir, 2010).

II .2.1.1.1.Feuilles

Les feuilles sont caduques, alternes et de petite à moyenne taille (3-5 cm). Leur couleur est d'un vert vif luisant à leur face supérieure et plus clair à la face inférieure. Elles deviennent jaunâtres en automne. Elles sont attachées aux branches par un pétiole long (0.8-1.5cm) laissant à sa base des stipules dentées de forme lancéolée à ovale. Le limbe qui est de forme obovée est légèrement découpé en 3 à 5 lobes obtus d'une marge entière à la base puis légèrement dentée en haut. La nervation est pennatifidée ou pennatilobée et saillante à la face inférieure. Les nervures secondaires sont recourbées vers l'intérieur (Kremer ,2017).



Figure06: Feuilles de *Crataegus laevigata*(**Berkane ,2017**).

II .2.1.1.2.Tronc et branches

Le tronc de bois dur grisâtre est revêtu d'une écorce lisse. Il s'assombrit, prend une couleur brunâtre et devient écailleux en vieillissant .Les branches sont glabres portants des épines robustes et droites d'environ 1-3cm (**Berkane ,2017**).

II .2.1.1.3.Fleurs

Les fleurs blanches ou rosâtres sont hermaphrodites et pentamères émettant une odeur désagréable de triméthylamine. Le calice renferme cinq sépales libres de couleur verte-brune d'un aspect glabre et de forme triangulaire. La corolle est aussi pentamère et libre, blanchâtre de forme arrondie à approximativement ovale. Le gynécée comporte d'une manière caractéristique 2 à 3 longs styles entourés d'un verticille de 15 à 20 étamines portant à leurs extrémités supérieures des anthères rougeâtres. L'ovaire est soudé au calice referment un ovule par carpelle. L'inflorescence est en corymbe regroupant 6 à 12 fleurs par bouquet. (**Kremer ,2017**).



Figure 07: Fleur de *Crataegus laevigata* (**Kremer ,2017**).

II .2.1.1.4.Fruit

Une baie globuleuse et ellipsoïde de couleur rouge foncée luisante renfermant deux à trois noyaux à l'intérieur de la face ventrale aplatie. Elle présente à sa face supérieure une couronne de sépales et le reste de styles au centre de cette dernière (**Berkane ,2017**).



Figure08: Baies de *Crataegus laevigata* montrant les sépales persistants (**Kremer, 2017**).

II .2.1.2. Systématique

Règne : Plantea

Clade : Angiospermes

Clade : Eudicots

Clade : Superosidées

Classe : Rosidées

Ordre : Rosale

Famille :Rosacées

Sous famille:Spiraeoidées

Genre : *Crataegus*

Espèce: *Crataegus laevigata*

Synonymes: *Crataegus oxyacantha* (L),*Crataegus oxyacanthoides*(**Roques ,2016**)

II2.1.3. Répartition géographique

Crataegus laevigata est retrouvé aisément en Europe de l'Angleterre jusqu'en Suède et même en Finlande, au Proche-Orient jusqu'à l'Himalaya et en Afrique du nord (**Berkane ,2017**). on trouve aussi en Afghanistan, l'aubépine monogyne est la plante la plus commune de toutes les espèces de haie, idéale à cet égard en raison de ses rameaux denses et épineux et de sa résistance (**Bouزيد, 2009**). Introduite à Tasmania, en Australie, par les anglais en 1800 en vue de créer des haies, l'espèce *Crataegus oxyacantha* a retrouvé le biotope convenable à sa croissance et envahie. Les autres villes australiennes pour se retrouver actuellement en

Victoria, Tasmania, les collines d'Adélaïde et les plateaux de Nouvelle-Galles du Sud (**Berkane, 2017**). On peut le retrouver également dans les lisières de forêts, les champs mais aussi dans les montagnes (**Berkane, 2017**). L'aubépine est localisée surtout dans le tell Algéro-Constantinois d'une façon spontanée et aussi un peu dans la région des Aurès (**Boudraa, 2008**)



Figure09: Répartition géographique du *Crataegus laevigata*
(Edward et Gilman, 2006)

II2.1.4. Composition chimique

II2.1.4.1. Flavonoïdes

Cette espèce contient 1 à 2% de flavonoïdes répartis essentiellement dans les fleurs et les feuilles (**Massacrier, 2015**). Les flavonoïdes synthétisés par cette espèce appartiennent principalement aux groupes flavone et flavonol où certains d'entre eux sont des aglycones. Quant aux autres ils sont soit des O-hétérosides ou C-hétérosides (**Carnet, 1990**).

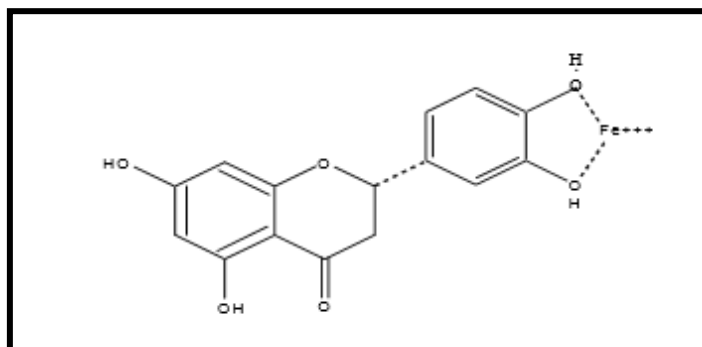


Figure10 : Structure de base de Flavonoïdes *Crataegus laevigata* (**Carnet, 1990**).

II2.1.4.2. Proanthocyanidols ou tanins condensés

La composition de la fraction proanthocyanidolique de *Crataegus laevigata* (2.5-4.5%) comporte: un procyanidol dimère B-2 [épicatechol (4 β → 8) épicatechol], un procyanidol trimère C-1 [épicatechol (4 β →8) épicatechol (4 β →8) épicatechol] majoritaires, et la présence aussi de procyanidol B-5 [épicatechol (4 β →6) épicatechol], d'un tétramère et d'oligomères. Le monomère épicatechol est lui-même présent en quantité notable, les catéchines sont aussi présents mais en quantité beaucoup plus moindre (**Vanhaelen, 1989**).

Tableau 01: Proportions des procyanidines dans les fleurs, feuilles+fleurs et l'extrait commercialisé de *Crataegus laevigata* (**Vanhaelen, 1989**).

Extrait	Feuilles et fleurs	Fleurs	Procyanidines
1.18%	0.85%	0.58%	(-) Epicatechine
Traces	0.18%	0.09%	Procyanidine B5(7)
1.78%	1.09%	0.87%	Procyanidine B2
0.43%	1.02%	0.79%	Procyanidine C1
Traces	0.74%	Traces	Procyanidine D1
3.39%	3.88%	2.33%	Total

II2.1.4.3. Acides phénoliques

Crataegus laevigata synthétise également des acides phénoliques, précisément des dérivés de l'acide caféique et des dérivés de l'acide -p-coumarique avec une prédominance de l'acide caféique (trans 5-O-(E) caféylquinique) (**Petereit et al., 2000**). Ils ont réussi à isoler à partir des fleurs de deux spécimens de *Crataegus laevigata* obtenus de deux jardins botaniques différents en Allemagne, cinq composés hydroxycinnamiques dont trois sont des dérivés de l'acide caféique (acide 4-O-(E)-caféoylquinique, acide 5-O-(E)-caféoylquinique et acide 3-5 di-O-(E)-caféoylquinique) et les deux autres des dérivés de l'acide-p-coumarique (acide 4 -O-(E) p- coumaroylquinique, acide 5-O-(E) p coumaroylquinique (**Petereit et al., 2000**)).

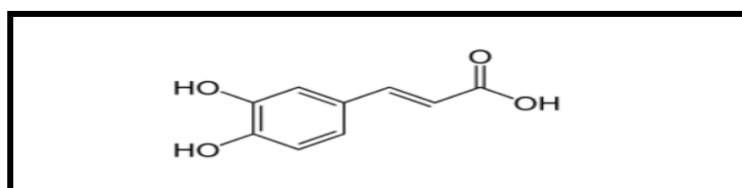


Figure 11: Structure de l'acide caféique de *Crataegus laevigata* (**Petereit et al., 2000**).

II.1.4.4. Autres composés

- ✓ Sucres: le D-sorbitol a été mis en évidence dans cette espèce.
- ✓ Acides triterpéniques: trois acides triterpéniques pentacycliques figurent dans cette espèce : acide oléanique, acide crataégoïque et l'acide ursolique.
- ✓ Amines aromatiques : phényléthylamine en quantité importante, O-méthoxyphényéthylamine et tyramine.
- ✓ Acides aminés : amino-purines.
- ✓ Huiles essentielles : à l'état de traces (**Massacrier, 2015**)
- ✓ Saponines. L'esculine est présente dans l'écorce de l'aubépine (**Anthoine, 2007**).
- ✓ Vitamines: la vitamine C s'avère être la vitamine la plus importante dans les baies d'aubépine, 5mg de vit C sont retrouvés dans 1g de baies (**Meiling, 1937**).
- ✓ Ions: le lithium n'est retrouvé que dans les feuilles de cette plante contrairement au magnésium qui n'est présent que dans le fruit. Les chlorures sont présents en quantité importante surtout dans le fruit suivi de potassium en quantité modérément importante (**Gulec, 2009**).

II.1.5. Utilisations de *Crataegus laevigata*

Il est possible d'utiliser *Crataegus laevigata* sous la forme d'infusion (soit l'équivalent de 1 à 2 g/jour de plante en 2 à 4 prises) ou sous la forme d'extraits hydroalcooliques standardisés (soit l'équivalent de 160 à 900 mg/jour en 2 à 4 prises) (**Pittler et al., 2003**).

L'utilisation, par voie orale, des sommités fleuries de l'aubépine, dans l'érythisme cardiaque chez l'adulte et dans les états neurotoniques des adultes et des enfants, en particulier dans les troubles mineurs du sommeil. De nombreuses études ont pu mettre en évidence l'intérêt de l'utilisation de cette plante dans les indications suivantes :

- Les insuffisances cardiaques légères du fait des effets inotrope positif (augmentation de la contractilité myocardique), dromotrope positif (accélération de la vitesse de la conduction auriculo-ventriculaire) et bathmotrope négatif (ralentissement du rythme cardiaque), ainsi qu'une vasodilatation artérielle.
- L'érythisme cardiaque (sensation d'oppression) (**Wichtl et Anton, 2003**).

Bien que traditionnellement, les fruits fussent employés pour le traitement des troubles cardiaques d'origine nerveuse. Actuellement, ces extraits sont presque exclusivement préparés avec les feuilles et les fleurs de l'arbuste (**Degenring et al., 2003**). Les sommités fleuries ont une action sédative sur le système nerveux et une action régulatrice sur le système cardiovasculaire; elles corrigent les troubles du rythme cardiaque; elles sont hypotensives et antispasmodiques au niveau des muscles lisses vasculaires. Ces actions neuro-sédatives,

cardio-sedatives, vasodilatatrices et antispasmodiques peuvent être utilisées dans les insomnies, le nervosisme, l'émotivité et le surmenage (**Tigrine et Moudache, 2013**).

Les décoctions des feuilles et des fruits de *Crataegus laevigata* sont utilisées pour traiter les maladies cardiovasculaires, le diabète, le cancer et l'impuissance sexuelle dans la médecine arabe traditionnelle (**Ljubuncic et al., 2005**).

L'activité antioxydante, anti-inflammatoire, hypotensive des extraits alcooliques de *Crataegus laevigata* (fruits, fleurs et feuilles) a été prouvée *in vitro* (**Fong et al., 2005**). Des expériences réalisées *in vivo* par (**Zhang et al., 2004**), ont démontré que l'administration de l'extrait obtenu à partir de la partie charnue des fruits du genre *Crataegus laevigata* augmente la concentration du α -tocophérol et inhibe l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein) humaines. En Europe, *Crataegus laevigata* a un usage interne contre la tachycardie (**Garcia et al., 1997**).

DEUXIEME PARTIE

Etude Expérimentale

CHAPITRE I

Matériels et Méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Zone d'étude (Annaba)

La wilaya d'Annaba est située à 600 km de la capitale Alger, à l'extrême Est du pays, ouverte sur le littoral méditerranéen sur 80 km. Elle s'étend sur 1 439 km² soit 0,06 % du territoire national.

La wilaya d'Annaba est limitée :

- ✓ Au Nord par la Mer Méditerranée.
- ✓ A l'Est par la Wilaya d'El –Tarf.
- ✓ A l'Ouest par la Wilaya de Skikda.
- ✓ Au Sud par la Wilaya de Guelma. (**Agence Nationale d'Intermédiation et de Régulation Foncière, 2013**)



Figure 12: Présentation géographique de la zone d'étude Annaba (Andi ,2013)

I.1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est une espèce appartenant à la famille des Rosaceae: *Crataegus laevigata*. Cette plante a été récoltée pendant le mois de Janvier 2019 dans la région d'Annaba. Les feuilles sont nettoyées, puis mis à sécher à l'abri de la lumière et d'humidité, à la température ambiante jusqu'à l'utilisation.

Cette plante a été choisie suite à une enquête ethnobotanique entrepris dans la région d'El'Oued pendant Octobre jusqu'au Décembre 2018 sur les plantes utilisées par la population locale dans le traitement des maladies cardiovasculaires.



Figure 13 : Feuilles de *Crataegus laevigata*(photo originale)

I.1.3. Animaux et conditions d'élevage

Notre étude a été réalisée sur quinze (15) rattes femelles *Wistar* Albinos âgés de 8 à 10 semaines et pesant entre 145g et 150 g. Ces animaux amenés de l'institut pasteur d'Alger, et élevés à l'animalerie au niveau de la faculté de sciences de la nature et de vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar d'El-Oued. Elles ont été soumises à une période d'adaptation aux conditions de l'animalerie, de deux mois d'environ à une température ambiante (T° de chambre), et une photopériode de 12 h/12 h. Les rattes sont logées dans des cages en plastique et ont un accès libre à l'eau et à la nourriture par un régime standard (Southon et *al.*,1984).



Figure 14: Rats blanche de la souche *Wistar* Albinos (photo originale)

I.1.4. Matériel et techniques d'étude au laboratoire

A. Les produits et réactifs

AlCl₃; Folin Ciocolteu; 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH); acide ascorbique; acide galique; quercétine; gélatine; molybdate; acide sulfurique (H₂SO₄); TPTZ (tripirydyltriazine); FeCl₃; acide acétique ; NaH₂PO₄; sérum physiologique 0.9 %; méthanol; formol 10%; liquide de Fehling; bicarbonate de sodium; HCl. Vanilline, acétate de sodium, acide acétique glacial.

B. Verreries et petits matériels:

- ✓ Erlenmeyer.
- ✓ Pipettes Pasteur, béchers de 500 et 1000 ml.
- ✓ Tubes à essai.
- ✓ Micropipette 10 ml.
- ✓ Flacons en verre de 20 ml.
- ✓ Seringue de 5 ml et 1ml.
- ✓ Disques de papier wattman.

I.2. Méthodes

I.2.1. Préparation de l'extrait aqueux

50g de poudre des feuilles dissous dans 500ml d'eau distillée et subit à l'ébullition pendant 30min .Ensuite l'extrait a été filtré à l'aide d'un papier Wattman, le filtrat est séché à l'étuve à 45 C°. L'extrait brut a été stocké dans des flacons stériles étiquetées et conservées au congélateur à 6C° (Kanerria et al., 2012).

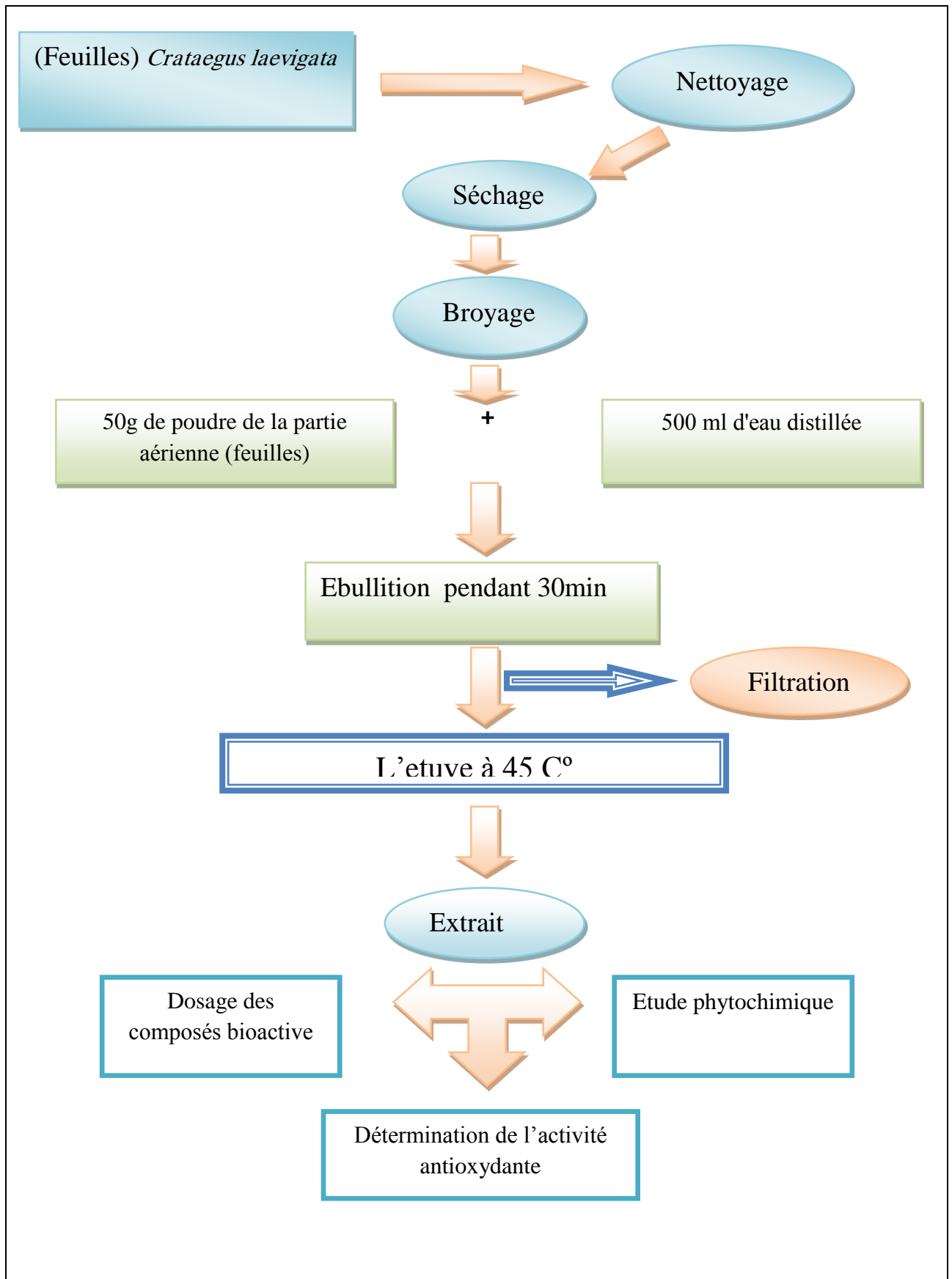


Figure 15: Protocole de préparation de l'extrait aqueux *Crataegus laevigata* (Kanerria et al., 2012)

I.2.2. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extrait a été calculé par la formule suivante

Où :

$$R \% = (PEB/PMV) \times 100$$

R : est le rendement en %.

PEB : Poids de l'Extrait Brut (g).

PMV : Poids de matière végétale (g) (Falleh et al., 2008)

I.2.3. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques sont réalisés sur l'extrait aqueux de *Crataegus laevigata* dans le but de mise en évidence l'existence de quelques métabolites secondaires:

❖ Les alcaloïdes

(0,5g dans 1ml) d'une solution d'extrait dans l'eau additionnée d'une goutte de HCl concentré, la solution obtenue est ajoutée 2 gouttes de réactif de Dragendorff. L'apparition d'un précipité ou d'une coloration brune-rougeâtre indique la présence d'alcaloïdes (Bagre et al., 2007).

❖ des polyphénols

1 ml d'extrait végétal, on ajoute deux gouttes de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée signe la présence des composés polyphénoliques (Bidie et al., 2011).

❖ des flavonoïdes

Réaction dite à la cyanidine (réaction de Shibata) : dans un tube à essai, mettre 1ml d'extrait végétal, ensuite ajouter 1ml d'alcool chlorhydrique (4ml EtOH + 1ml HCl concentré), ajouter ensuite deux à trois copeaux de magnésium. La présence d'une coloration rose-oranger ou violacée signe la présence des flavonoïdes (Békro et al., 2007).

❖ des polyterpènes et stérols

Dans 1ml d'extrait végétal ajouter quelques gouttes d'anhydride acétique. Ensuite introduire 0,5 ml d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une couleur rouge intense indique la présence des terpènes et verte foncée indique la présence des stérols (Bagre et al., 2007).

❖ des saponosides

1 ml d'extrait végétal sont mis dans un tube à essai. Après avoir agité pendant quelques minutes, la hauteur de mousse est mesurée. Une hauteur de mousse supérieure à 1 cm et persistante après 15mn de repos indique la présence des saponosides (Bidie et al., 2011).

❖ Les sucres réducteurs

1 ml d'extrait brut sont additionnés 1 ml de liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive (Békro *et al.*, 2007).

I.2.4. Méthodes d'analyse quantitatives d'extrait

I.2.4.1. Dosage des polyphénols

✓ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption environs 750- 765nm (Bonnaillie *et al.*, 2012).

✓ Mode opératoire

Dans un tube à essai on prélève : 200µl de chaque solution d'extrait est ajoutée 1ml de réactif de Folin Ciocalteu (1/10) après 5min, 0,8ml d'une solution de bicarbonate de sodium (7,5%) est ajoutée. La réaction est incubée à l'ombre à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance est mesurée à 765 nm avec UV-Vis spectrophotomètre.

La courbe d'étalonnage a été réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations (20 - 100 µg/ml), dans les mêmes conditions de dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en µg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait sec (µg d'EAG/mg). Toutes les mesures sont répétées 3 fois (Bonnaillie *et al.*, 2012).

I.2.4.2. Dosage des flavonoïdes

✓ Principe

Les flavonoïdes des extraits ont été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996); Le principe est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par ce réactif ($AlCl_3$), ce qui entraîne la formation d'un complexe jaune-orange qui absorbe à 420 nm. La coloration jaune-orange produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait testé (Chekroun, 2015).

✓ Mode opératoire

Mettre 1ml d'extrait dans un tube à essai; Ajouter 1 ml d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2%; incuber les tubes à 60 min à température ambiante. Lire l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à 420nm.

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (10-20 µg/ml) et est exprimée en microgramme d'équivalent de

quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ}/\text{mg}$ d'extrait), le test est répété 3 fois. (**Kebieche, 2009; Talbi et al., 2014**).

I.2.4.3. Dosage des tannins totaux

La détermination de tannins dans l'extrait a été réalisée par la même méthode de Folin Ciocalteu après précipitation des tannins par la gélatine selon la procédure décrite dans (**Adewusi et al., 2011**)

Un volume de 500 μl de l'extrait est homogénéisé avec 50mg de gélatine dans 500 μl d'eau distillée, Le mélange tannin- gélatine est laissé pendant 15min à congélateur à 4°C°, ensuite filtrer le mélange on prend surnageant de filtré par micropipette. Les composés phénoliques non adsorbés (constituant le surnageant) sont dosés par la méthode de Folin Ciocalteu comme précédemment décrit après qu'on complète le volume prélevé à partir de surnageant 150 μl ajouté 850 μl l'eau .dans un tube à essai on prend : 200 μl de solution préparée est ajoutée 1ml de réactif de Folin Ciocalt ensuite, nous les ajoutons aussi 0,8ml d'une solution de bicarbonate de sodium. La réaction est incubée à l'ombre à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance est mesurée à 765 nm avec UV-Vis spectrophotomètre.

La concentration des tannins totaux est estimée en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme du poids de la matière sèche ($\mu\text{g EC}/\text{mg}$ d'extrait). Le test est répété 3 fois.

I.2.4.4. Détermination des teneurs en tannins catéchiques

✓ Principe

Le dosage des tannins condensés a été réalisé par la méthode à la vanilline sulfurique (**Muanda, 2010; Pélagie et al., 2015**). Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupe aldéhydique de la vanilline sur le carbone en position 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore de couleur rouge (**Virginie et al., 2015**).

✓ Mode opératoire

Un volume de 50 μl de l'extrait brut est ajouté à 1500 μl de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v), puis mélangé. Ensuite, 750 μl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné et laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance à 550 nm est mesurée contre un blanc (**Belyagoubi, 2011**). La concentration des tannins est estimée en microgramme équivalent de catéchine par milligramme du poids de la matière sèche ($\mu\text{g EC}/\text{mg}$ d'extrait) à partir de la courbe d'étalonnage (**Belyagoubi, 2011**).

I.2.5. Evaluation de l'activité antioxydante

I.2.5.1 . Test du DPPH (diphénylpyryl-hydrazyl)

Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical libre stable. Le DPPH est caractérisé par une couleur violette (Chikhi, 2014). La stabilité de la molécule est assurée par la délocalisation des électrons au sein de la molécule. La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution. Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517 nm (Laraba et al., 2016). L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Boudjouref, 2011).

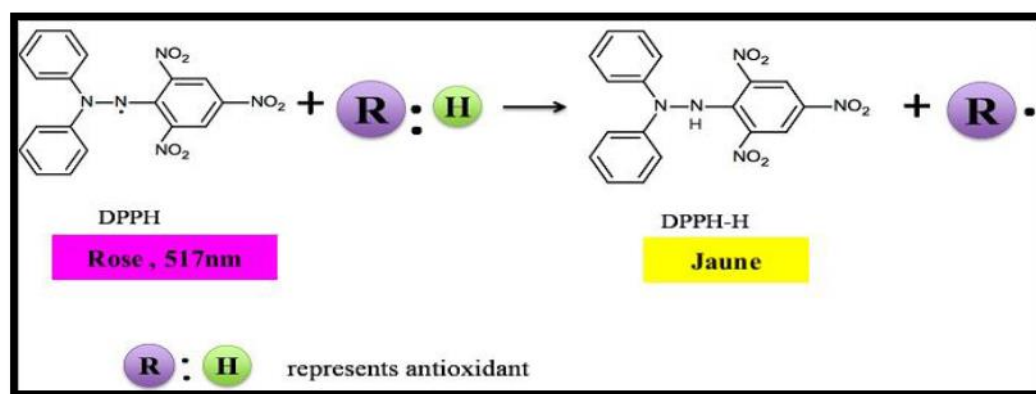


Figure 16 : Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH[•] et un antioxydant (RH) (Goudjil, 2016).

A 50 µl de solution d'extrait à différentes concentrations (100 µg/ml-1000 µg/ml) est ajouté 1 ml de la solution méthanolique du DPPH à 0.01M. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.

Pour tracer la courbe d'étalonnage en prenant l'acide ascorbique comme un standard à différentes concentrations (20-100 µg/ml), dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons, le test est répété 3 fois. L'activité antioxydante est exprimée comme le pourcentage d'inhibition calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Activité Antioxydante (\%)} = \left(\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échant}}}{A_{\text{contrôle}}} \right) \times 100$$

Où: AC: absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif)

AE: absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon)

Les résultats sont exprimés en IC₅₀ et calculés à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait. Il faut rappeler

que plus la valeur de IC_{50} est petite, plus l'activité antioxydante des extraits est grande (Popovici et al., 2009).

I.2.5.2. Test de phosphomolybdate (PM)

Le test du pouvoir réducteur du phosphomolybdate est un essai direct qu'on emploie principalement pour mesurer la puissance des antioxydants non enzymatiques. Il repose sur la réduction des molybdates en molybdène en présence des extraits en donnant une coloration verte détectable par l'UV à une longueur d'onde de 695nm (Prieto et al., 1999).

Mettre 150 μ l de solution d'extrait végétal dans des tubes à essai; Ajouter 1350 μ l de solution de molybdate et incubé le mélange dans un bain marie à une température de 95°C pendant 90min. après on les laisse refroidir à température ambiante, puis on mesure l'absorbance à une longueur d'onde égale à 695nm. Pour tracer la courbe d'étalonnage en prenant l'acide ascorbique comme un standard comparatif à différentes concentrations (0.02-0.1mg/ml). Le test est répété 3 fois (Jayaprakasha et al., 2006).

I.2.5.3. Test du pouvoir réducteur du fer

✓ Principe

Cette méthode correspond à la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)₂] en un complexe tripyridyltriazine ferreux [(Fe(II)-TPTZ)₂] par un antioxydant (RH), à un pH bas pour maintenir la solubilité du fer. (Fe(II)-TPTZ) a une couleur bleu intense et peut être contrôlé à 593 nm (figure 17) (Réka et al., 2002).

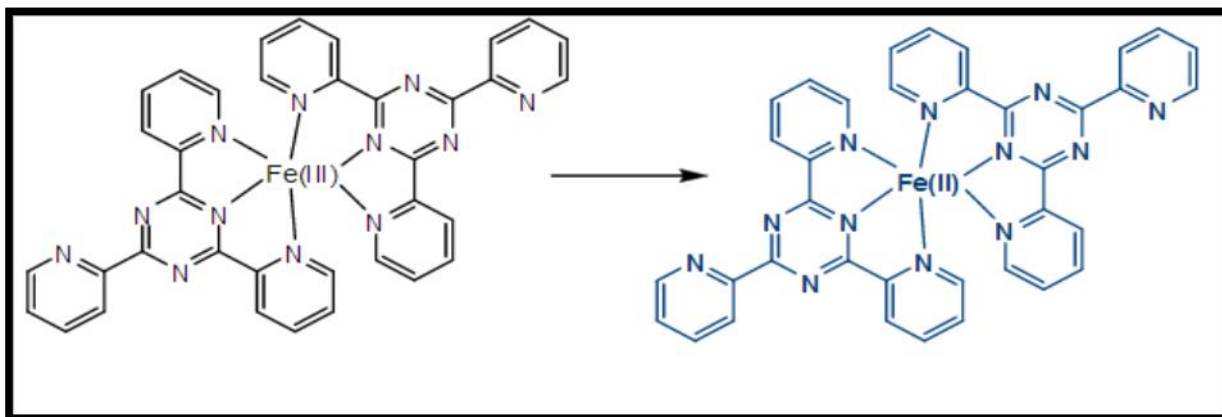


Figure 17: Réaction du test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

(Nadal, 2009)

✓ Mode opératoire

Mettre 50 μ l de solution d'extrait (1mg/ml) dans un tube à essai, ajouter 1.5 ml de réactif de FRAP fraîchement préparé ensuite lire l'absorbance après 5min à 593 nm contre un blanc de réactif. Pour tracer la courbe d'étalonnage en prenant l'acide ascorbique comme un

standard comparatif, à différentes concentrations (20- 100 μ g/ml) mg/ml. Le test est répété 3 fois (Huang et al., 2005).

I.2.6. Etude des activités biologiques de *Crataegus laevigata* in vivo

I.2.6.1. Traitement des animaux

Après la période d'adaptation, les rates femelle étaient réparties en trois groupes de cinq rates, chacun (groupe) était traité pendant 15 jours comme suivant:

Groupe (T) : Rates saines témoins ont reçu seulement l'eau potable par voie orale.

Groupe(Cd) : Rates intoxiquées non traité ont reçu l'eau distillée par voie orale concomitante à l'injection intra péritonéale (ip) de cadmium 5mg/kg/jour.

Groupe (ECd) : Rates malade traité ont reçu 350 mg/Kg/jour d'extrait de *Crataegus laevigata* par gavage, concomitante à l'injection intra péritonéale (ip) de cadmium à la même dose que le groupe 02.

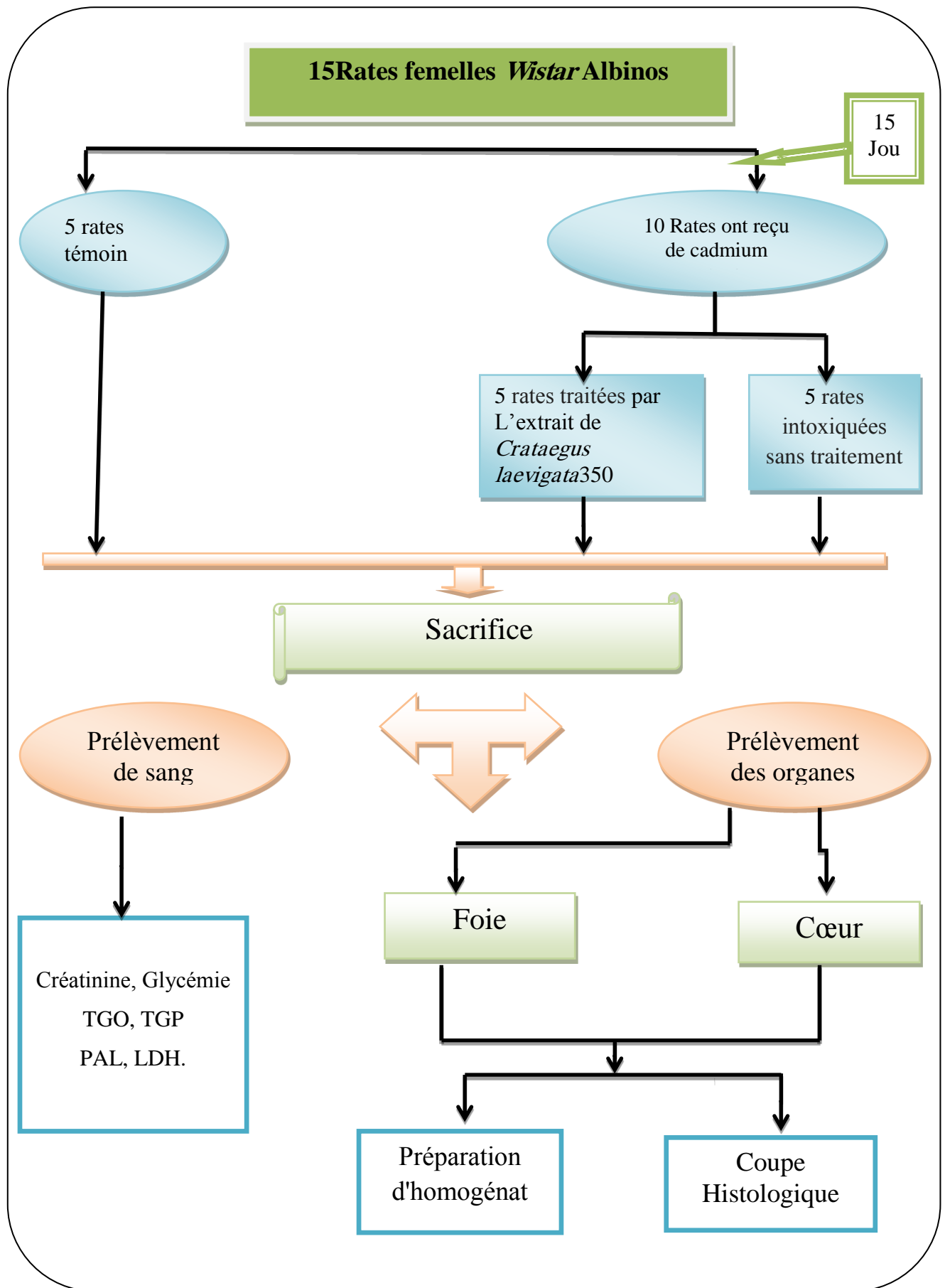


Figure 18: Protocole expérimentale

I.2.6.2. Sacrifice et prélèvement du sang et des organes

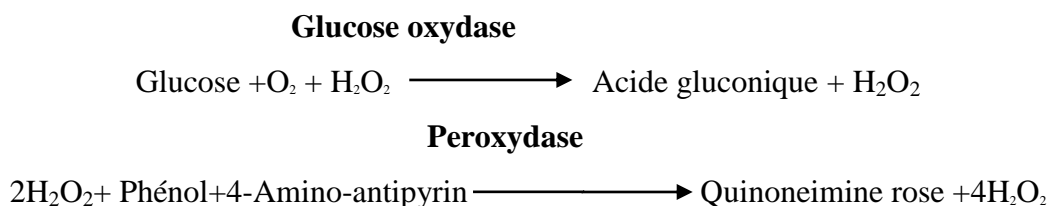
Après 16 h de jeûne les rates sont sacrifiées (par décapitation). Au moment du sacrifice, le sang est collecté sur des tubes secs. La glycémie est mesurée par le glucomètre pour chaque rat. Après centrifugation à 3000 tours/minute pendant 15 minutes le sérum obtenu est récupéré puis conservé à -20°C jusqu'au moment des analyses biochimiques (glycémie, créatinine, phosphatase alcaline (PAL), TGO, TGP, LDH). Après la dissection le foie et le cœur sont soigneusement prélevés, rincés avec l'eau physiologique, ensuite pesés. Une partie du foie, le cœur sont récupérés dans des flacons de formol (10%) pour faire l'étude histologique. Les homogénats des organes sont préparés pour le dosage des paramètres du stress oxydatif.

I.2.6.3. Méthode de dosage des paramètres biochimiques

I.2.6.3.1. Dosage de la glycémie

✓ Principe

La glycémie est la détermination enzymatique du glucose se fait selon les réactions suivantes:



✓ Mode opératoire

- Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif
- Doser selon le tableau ci-après. Ensuite lire les DO après une incubation de 10 minutes à 37°C ou 30 mn à 20-25°C la coloration est stable à 30 minutes. La fiche technique est dans l'annexe.

Tableau 02 : Mode opératoire de dosage de la glycémie

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10µl	--
Echantillon	--	--	10µl
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml

I.2.6.3.2. Dosage de la créatinine

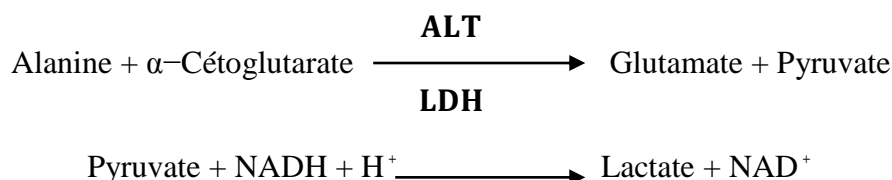
✓ Principe

Dans notre étude, la créatinine a été déterminée suivant une méthode cinétique par un auto analyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de créatinine sérique. Le test

de la créatinine est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium. La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe de couleur rouge. L'intervalle du temps choisi pour les lectures permet d'éliminer une grande partie des interférences connue pour la méthode. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé. L'absorption est mesurée à 490 nm (Murray et al., 1984).

I.2.6.3.3. Dosage d'alanine amino transférase TGP

L'alanine amino transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogéné (LDH) et NADH:

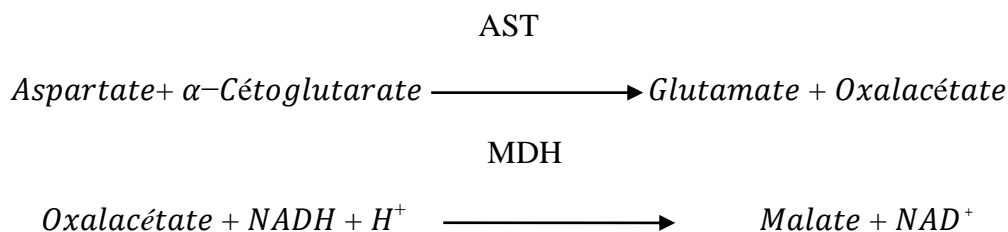


La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon (Murray, 1984). L'absorption est mesurée à 340 nm.

I.2.6.3.4. Dosage d'aspartate amino transférase GOT

✓ Principe

Dans notre étude, l'Aspartate aminotransférase ont été déterminés suivant une méthode cinétique par un autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de l'Aspartate aminotransférase (Murray, 1984). L'Aspartate aminotransférase (ASAT) initialement appelée glutamate oxalo acétate-transaminase (GOT) catalyse le transfert d'un groupe aminé d'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate pour donne du glutamate et l'oxaloacetate. L'oxaloacetate est réduit au Malate par Malate déshydrogénase (MDH):



Le taux de diminution de NADH, mesurée photométriquement. Elle est proportionnelle avec la concentration de ASAT catalyse dans L'échantillon, l'absorption est mesurée à 340 nm. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=340$ nm.

I.2.6.3.5. Dosage de phosphatase alcaline

✓ Principe

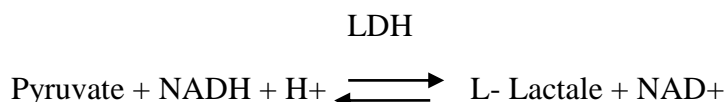
Phosphatase alcaline (PAL) catalyse l'hydrolyse des p-nitrophénylphosphate à pH= 10.4 et libération de p-nitrophénol et le phosphate, selon la réaction suivante:



Le taux de formation de p-nitrophénol, mesurée par photométrie, est proportionnel à l'activité de la phosphatase alcaline présente dans l'échantillon (**Rosalki, 1993**).

I.2.6.3.6. Dosage LDH

Détermination cinétique de l'activité lactate déhydrogénase. Selon les recommandations de la société Française de Biologie Clinique. (SFBC) La réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif. Le schéma réactionnel est le suivant:



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité lactate déshydrogénase dans l'échantillon. La fiche technique est dans l'annexe.

I.2.7. Dosage des paramètres de stress oxydatif

I.2.7.1. Dosage des protéines tissulaire

✓ Principe

Le dosage des protéines par la méthode de **Bradford (1976)** permet de déterminer des concentrations tissulaires de protéines. C'est une méthode colorimétrique, qui utilise le bleue Coomassie comme réactif qui s'associe au groupement amine ($-\text{NH}_2$) des résidusprotéiques pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

L'absorption est mesurée à 595nm.

✓ Mode opératoire

- Prélever 0,1 ml de l'homogénat.
- Ajouter 5 ml du réactif de Bradford.
- Agiter et laisser reposer 5 min pour la stabilisation de la couleur.

-Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc.

-La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée.

- La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (BSA) (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions.

I.2.7.2.Dosage des malondialdéhyde (MDA) tissulaires

✓ Principe

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe decouleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique qui peut être donc mesuré parspectrophotométrie d'absorption à 532nm (Yagi, 1976).

● Réactif

20g de acide trichloroacétique (TCA); 375 mg de acide thiobarbiturique (TBA); 0,01gde Butylhydroxytoluène (BHT); 25 ml de Chlorure d'hydrogène (HCl) 1N et 50 ml d'eauidistillée ont été introduit dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans unbain Marie jusqu'à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100 ml etcomplété le volume par l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

● Mode opératoire

Prélever 100 ul d'échantillon (homogénat) et 400 ul de réactif TBA dans les tubes à essaïen verre et à vis, et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100 °Cpendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant lestubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Après centrifugerà 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532nm à l`aided`un spectrophotomètre.

● Expression des résultats

La concentration de TBARS a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinctionmoléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en umol/l.

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de prot}) = (\text{Do échantillon}/1.53 \times 10^5)/\text{mg de prot}$$

I.2.7.3. Dosage des glutathion réduit (GSH)

✓ Principe

Le complexe formé entre le GSH et l'acide 5,5'dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB), ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) lequel présente une absorbance à 412nm (Weckbercker et Cory, 1988).

✓ Mode opératoire

Mélanger avec l'agitateur 0.8 ml de solution homogène et 0.2ml de l'acide salicylique(0.25%) et laisser 15 minutes dans le réfrigérateur puis centrifuger à 1000 t/min pendant 5minutes. Puis, prélever 0.5ml de surnagent, ajouter le 1ml de solution tampon tris avec NaCl solution 1 avec 0.025ml de DTNB (0.01mol) méthanol solution 3. Laisser le mélange 5min de température de chambre puis lire l'absorbance avec spectrophotomètre d'absorption moléculaire à 412 nm contre le blanc (eau distillé).

✓ Expression des résultats

On calcule la concentration du GSH exprimée en nanomoles par milligramme de protéines (nmol/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{GSH (nM /mg de prot)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1.525}{13133 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg de prot}} \times d$$

GSH: concentration de glutathion.

DO: la lecture d'absorbance par le spectrophotomètre.

1: volume de mélange de protéine.

1.525ml: volume total de mélange.

13133: constante d'absorption des groupes SH à 412 nm.

0.8ml: volume de solution homogène sans protéine existe dans 1ml.

0.5ml: volume de solution surnagent.

d: facteur de dilution.

I.2.8. Etude histologique

Dans notre étude, tissus foie et cœur de toutes les animaux traités ou non traités ont été soumis à une autopsie complète après conservations dans un milieu approprié (Formaldéhyde 10 %). les coupe histologique à été effectuer dans laboratoire privé.

I.2.9. Etude statistique

L'évaluation statistique est effectuée par le test **T** de student. Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types (ES). Alors, nous avons utilisé un logiciel **MINITAB** 13 et **EXCEL** (office 2007) qui nous aident pour faire l'analyse.

Ce test nous donne le degré de signification **P** où on dit que la différence :

NS : Différence non significative $P > 0.05$.

***** : Différence significative $P < 0.05$.

****** : Différence hautement significative $P < 0.01$.

******* : Différence très hautement significative $P < 0.001$.

CHAPITRE II

Résultats et Discussion

I. Résultats

I. 1. Le rendement de l'extrait aqueux de *Crataegus laevigata*

Le rendement moyen en extrait aqueux a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne (des feuilles) de la plante *Crataegus laevigata*. Ce rendement est présenté dans le tableau suivant :

Tableau03: Rendement couleur et aspect de l'extrait sec de la plante étudiée

Caractéristiques de l'extrait brut	Rendement	Couleur	Aspect
	17,65± 2.68	Marron foncée	Pâteux

Selon les résultats obtenus, nous remarquons que la plante a un rendement en extrait brut considérable avec une couleur marron foncée et un aspect pâteux.

I.2. Tests phytochimiques

Les tests chimiques réalisés sur l'extrait brut montrent la présence de plusieurs familles de composés tels que saponosides, flavonoïdes, alcaloïdes, polyterpènes, mais particulièrement les polyphénols et les sucres réducteurs. Par contre on note l'absence des stérols. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitations ou de colorations par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé (Zirar, 2014). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 05.

Tableau 04: Résultats des tests phytochimiques

Composés	Réactifs	<i>Crataegus laevigata</i>
Alcaloïdes	Dragendorff	+
Polyphénols	FeCl ₃	+++
Flavonoïde	d'alcool chlorhydrique	++
Polyterpènes	d'acide sulfurique	+
Stérols	d'acide sulfurique	-
Saponosides	Test de mousse	+
Sucres réducteurs	Liqueur de Fehling	+++

(+) présence, (++) abondant, (+++) très abondant, (-) absence

I. 3. Détermination des teneurs des composés bioactifs

I.3.1. Dosage des polyphénols

L'étude quantitative de l'extrait réalisée par le dosage spectrophotométrique par la méthode de Folin-Ciocalteu avait pour objectif la détermination de la teneur totale en polyphénol présent dans l'extrait de *Crataegus laevigata*. Cette teneur a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, exprimée en μg d'acide gallique/mg d'extrait sec. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 06.

Tableau 05 : Teneurs en polyphénols de l'extrait aqueux *Crataegus laevigata*

Espèce	<i>Crataegus laevigata</i>
μg d'acide gallique/mg d'extrait sec	70.20 \pm 0.36

On remarque d'après les résultats illustrés dans le tableau ci-dessus que la teneur en composé polyphénolique dans l'extrait aqueux de l'espèce *Crataegus laevigata* contient une teneur de l'ordre de 70.207 μg équivalent de l'acide gallique par ml d'extrait (μg EAG/ml d'extrait).

I.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et l'étalon est la quercétine. La teneur en flavonoïde a été déterminée dans l'extrait, est exprimée en μg de quercétine /mg d'extrait sec. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 07.

Tableau 06 : Teneurs en flavonoïdes de l'extrait

<i>Crataegus laevigata</i>	
μg de quercétine/mg d'extrait sec	15.29 \pm 0.13

Le tableau ci-dessus montre que la concentration de flavonoïde est de l'ordre de 15.29 \pm 0.13 μg EQ/mg d'extrait.

I.3.3. Dosage des tannins

Les résultats du dosage des tannins catéchiques et totaux des extraits aqueux de *Crataegus laevigata* sont déterminées à partir des équations de régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimées successivement en μg équivalent de l'acide catéchique et μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait sec. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 07: Teneurs en tannins catéchiques et totaux de *Crataegus laevigata*

Extrait aqueux	Tannins Catéchique (μg EAC/mg MS) ^a	Tannins Totaux (μg EAG/mg MS) ^b
<i>Crataegus laevigata</i>	0.29 \pm 0.01	10.48 \pm 0.052

^a μg équivalent de l'acide catéchique /mg de la matière sèche. ^b μg équivalent d'acide gallique /mg de la matière sèche.

Il en ressort des résultats obtenus que l'extrait obtenu est de très faible teneur en tannins dans la partie aérienne (feuille) qui correspondant au (0.29533 \pm 0.01328 μg d'acide catéchique /mg d'extrait sec) et (10.48 \pm 0.052 μg équivalent de l'acide gallique /mg d'extrait sec) respectivement.

I.4. Evaluation de l'activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir antioxydant de l'extrait de *Crataegus laevigata* a été réalisée par trois techniques chimiques (test de phosphomolybdate, le piégeage du radical libre DPPH., la réduction de fer).

I.4. 1. La méthode de phosphomolybdate (PM)

Le test du pouvoir réducteur au phosphomolybdate est un essai direct qui est employé principalement pour mesurer la puissance des antioxydants non enzymatiques. Il repose sur la réduction des molybdates en molybdène en présence des extraits en donnant une coloration verte détectable par l'UV à une longueur d'onde de 695 nm (Halmi, 2015).

Les résultats montrent que la capacité antioxydante par le phosphomolybdate de notre extrait est importante de l'ordre de 286.5 \pm 23.1 en microgramme (μg) équivalents d'acide ascorbique par milligramme (mg) de la matière sèche (μg EAA/mgMS).

I.4. 2. Test de DPPH

L'activité antiradicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. L'inhibition de la décoloration du radical DPPH est en fonction de la concentration de l'extrait utilisée (Cuendet *et al.*, 1997).

L'activité antioxydante de l'extrait est exprimée en IC_{50} , il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH. Dans ce test on a utilisé l'acide ascorbique comme standard, les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) est représenté dans le tableau 09.

Tableau 08: IC_{50} de l'extrait brut et l'acide ascorbique

<i>Crataegus laevigata</i>		Acide ascorbique
$IC_{50}(\mu\text{g/ml})$	439.93 ± 5.93	61.97 ± 3.68

A partir des résultats, on remarque que l'activité antioxydante de l'extrait *Crataegus laevigata* est moins importante que celle d'acide ascorbique.

I.4. 3. Réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

En présence d'extrait de la plante le fer ferrique Fe^{3+} a été réduit à la forme ferreuse Fe^{2+} . Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 593 nm.

Le résultat montre que l'activité réductrice du fer de l'extrait aqueux de *Crataegus laevigata* est très forte qui correspond au 295.9 ± 33.9 microgramme (μg) équivalents d'acide ascorbique par milligramme (mg) de la matière sèche ($\mu\text{g EAA/ mg MS}$).

I.5. Effet du traitement par *Crataegus laevigata* sur les rates atteintes de toxicité par cadmium

I.5. 1. Étude de l'effet de traitement sur le poids relative des organes

- Les foies ont été prélevés et pesés après sacrifice des rates. Les résultats sont représentés dans le tableau (10).

Tableau09: Poids relatif du foie chez le groupe témoin et les groupes traités pendant 15 jour.

Groupes	Lot T	Lot Cd	Lot ECd
	Moy ± Es	Moy ± Es	Moy ± Es
Poids relatif(%) des Foies (g)	4.41±0.29	4.64±0.83*	4.12±0.83 ^{NS a}

Moy ± S.E.M. de 05 rates de chaque groupe.

NS $p > 0.05$; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin(T).

^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$ comparaison avec le lot de cadmium (Cd).

D'après nos résultats nous observons une augmentation significative du poids relatif des foies chez le groupe cadmium (Cd) par rapport au groupe témoin(T). Par contre nous observons une diminution significative chez le groupe (ECd) par rapport au groupe (Cd).

- Les cœurs ont été prélevés et pesés après sacrifice des rates. Les résultats sont représentés dans le tableau (11)

Tableau10 : Poids relatif des cœurs chez le groupe témoin et les groupes traités pendant 15 jours

Groupes	Lot T	Lot Cd	Lot ECd
	Moy ± Es	Moy ± Es	Moy ± Es
Poids relatif(%) des cœurs (g)	0.02±0.37	0.025±0.35*	0.073±0.35 ^{NS a}

Moy ± S.E.M. de 05 rates de chaque groupe.

NS $p > 0.05$; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin(T).

^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$ comparaison avec le lot de cadmium (Cd).

Nos résultats montrent que le poids relatif des cœurs chez le groupe cadmium (Cd) augmente de façon significative par rapport au groupe témoin (T), par contre chez le groupe (ECd) augmente de façon significative par rapport au groupe cadmium.

I.5. 2. Étude de l'effet du traitement sur le poids corporel

Les résultats obtenus dans la figure (19) représentent le poids corporel des rats témoins et traités.

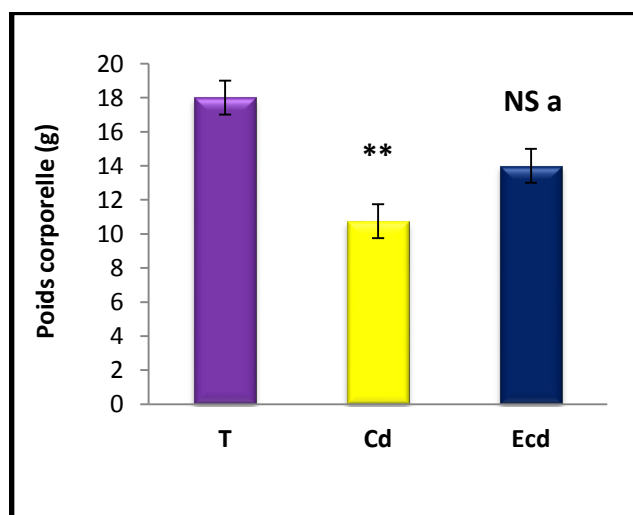


Figure 19: Variation du poids corporel chez les rates

.Comparaison avec groupe témoin (T): * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, avec groupe témoin cadmium (Cd): NS $p > 0.05$, ^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ et $n = 5$ rats.

Au cours du traitement, les rats recevant le cadmium (Cd) présentent une diminution hautement significative du poids corporel ($p < 0.01$) par rapport au groupe témoin (T) et aucune variation significative a été observée chez le groupe (Ecd) par rapport au groupe (T). Le traitement par l'extrait aqueux de *Crataegus laevigata* induit une augmentation significative (^a $p < 0.05$) du poids corporel comparé au groupe (Cd).

I.5.3. Étude des paramètres biochimiques

La figure (20) représente l'influence du traitement d'extrait aqueux de *Crataegus laevigata* sur les taux sériques de glycémie, l'urée, la créatinine chez des rates atteintes de la toxicité par cadmium administré pendant 15 jours.

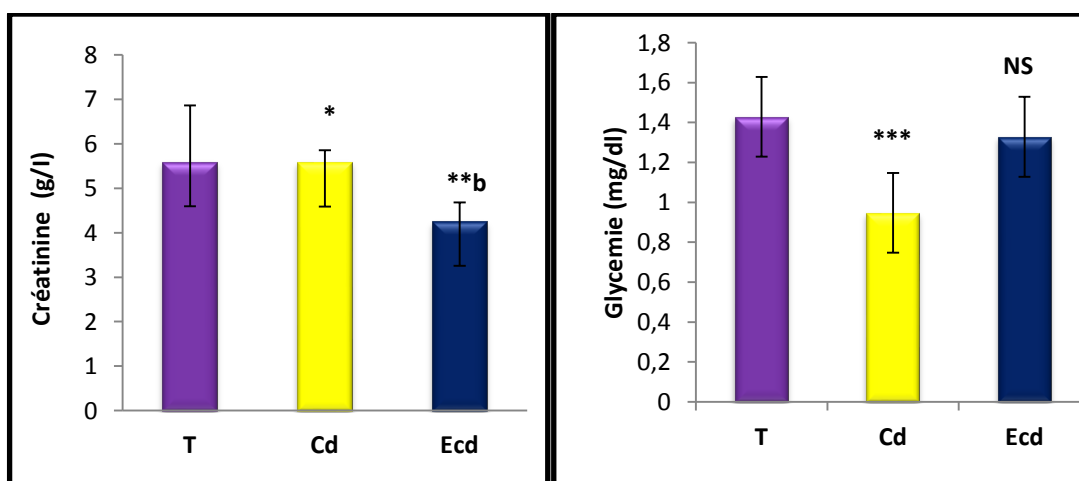


Figure 20 : Teneur plasmatique la créatinine et les glycémies chez les groupes témoins et les groupes traités pendant 15 jours. Comparaison avec groupe témoin (T): * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, avec groupe témoin cadmium (Cd): NS $p > 0.05$, ^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ et $n = 5$ rats.

Le taux plasmatique de créatinine montre une augmentation significative chez le groupe cadmium (Cd) par rapport au groupe témoin (T). Par ailleurs, une diminution hautement significative ($p < 0.01$) est vue pour l'autre groupe (Ecd) par rapport au groupe T. Le traitement par l'extrait de *Crataegus laevigata* à une dose de 350mg/kg aboutissant à une diminution hautement significative ($^b p < 0.01$) par rapport au groupe cadmium (Cd).

Le taux plasmatique de la glycémie est diminué d'une façon très hautement significative chez le groupe cadmium ($p < 0.001$) par rapport au témoin. Le lot malade traité par l'extrait représente une augmentation non significative en comparaison avec le groupe cadmium (Cd).

● L'activité des transaminases (TGO, TGP)

La figure (21) représente l'activité des transaminases (TGO, TGP) chez les groupes témoins et les groupes traités pendant 15 jours.

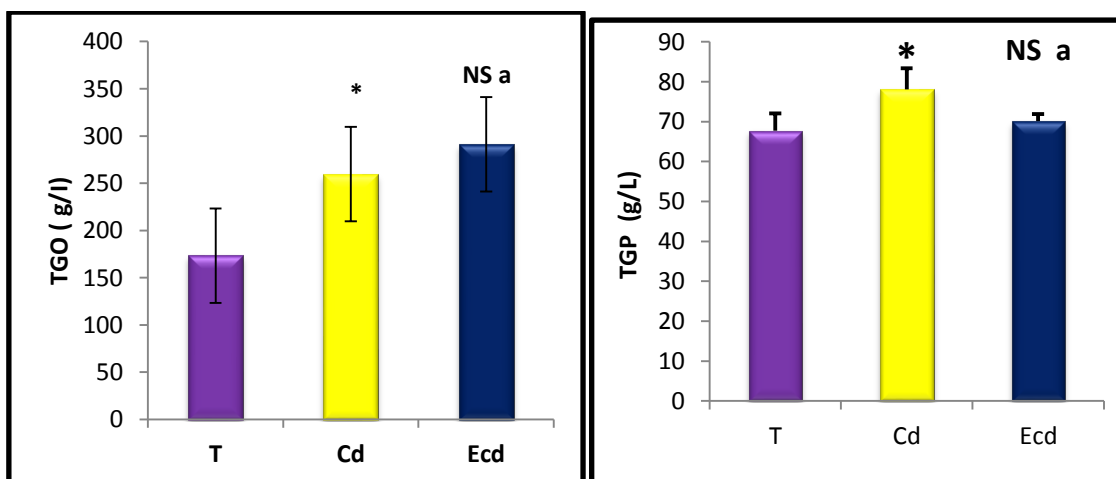


Figure 21: L'activité des transaminases (TGO, TGP) chez les groupes témoins et les groupes traités pendant 15 jours. Comparaison avec groupe témoin (T): * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, avec groupe témoin cadmium (Cd): $NS p > 0.05$, $^a p < 0.05$, $^b p < 0.01$, $^c p < 0.001$ et $n = 5$ rats.

On observe une augmentation significative de l'activité de TGO des rats contaminés par cadmium (Cd) par rapport aux rats normaux et aussi une augmentation significative chez les groupes (Ecd) par rapport au témoin. Alors qu'il y a une variation significative chez les rats du groupe (Ecd) traités par l'extrait de *Crataegus laevigata* à une dose de 350mg/kg par rapport au groupe (Cd).

Nos résultats de l'activité de transaminase TGP montrent une augmentation significative chez le groupe cadmium (Cd) par rapport aux rats normaux (T), on marque aussi aucune variation significative chez les rats du groupe (Ecd) par rapport au groupe T. Par contre, une diminution de façon significative est observée chez le groupe (Ecd) par rapport au groupe (Cd).

● Concentration du Phosphatase alcalin et LDH

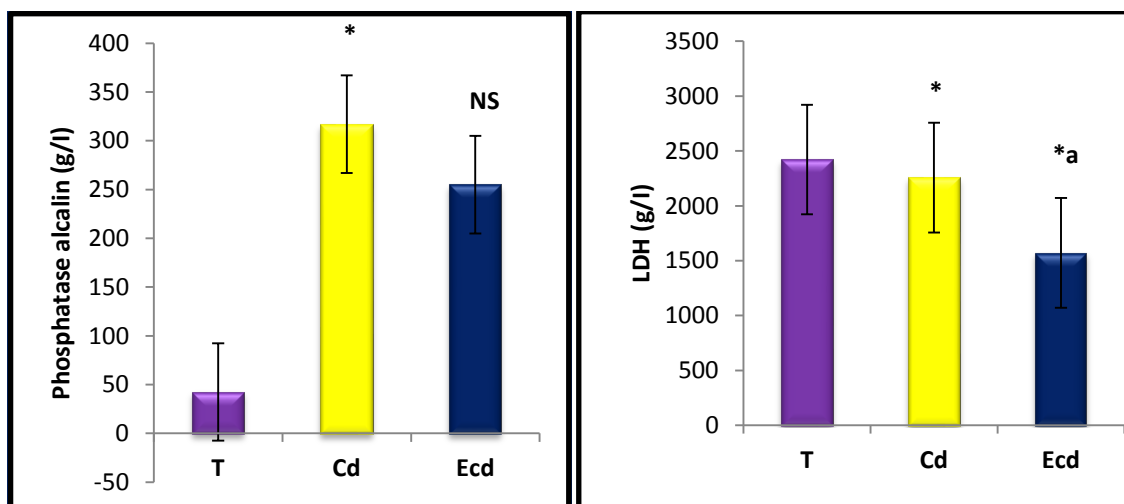


Figure 22: Concentration de la phosphatase alcaline et LDH chez les groupes témoins et les groupes Traités pendant 15 jours. Comparaison avec groupe témoin (T): * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, avec groupe témoin cadmium (Cd): NS $p > 0.05$, ^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ et $n = 5$ rats.

D'après les résultats obtenus, on marque une augmentation du PAL de façon significative ($p < 0.05$) chez le groupe (Cd) par rapport au groupe (T), et d'une façon non significative chez le groupe (Ecd) par rapport au groupe (T). Nos résultats illustrent une diminution non significative ($p > 0.05$) du PAL chez les rats du groupe (Ecd) par rapport au groupe (Cd).

Les résultats obtenus révèlent que la concentration de LDH est diminuée de façon significative ($p < 0.05$) chez le groupe (Cd) par rapport au groupe (T), par contre le lot (Ecd) diminue de façon significative par rapport au groupe (T). D'autre part nous avons remarqué chez le groupe intoxiqué par le cadmium et traité par l'extrait de *Crataegus laevigata* une diminution significative de l'activation de LDH (^a $p < 0.05$) par rapport au groupe (Cd).

I.6. Étude de l'effet de *Crataegus laevigata* sur des paramètres de stress oxydant chez les rats intoxiqués par cadmium

I.6.1. Étude de la Malondialdéhyde (MDA)

Les résultats de l'étude de l'influence d'un traitement de 15 jours en utilisant l'extrait de *Crataegus laevigata* sur le taux tissulaire des MDA (foie et cœur) sont illustrés dans la figure (23).

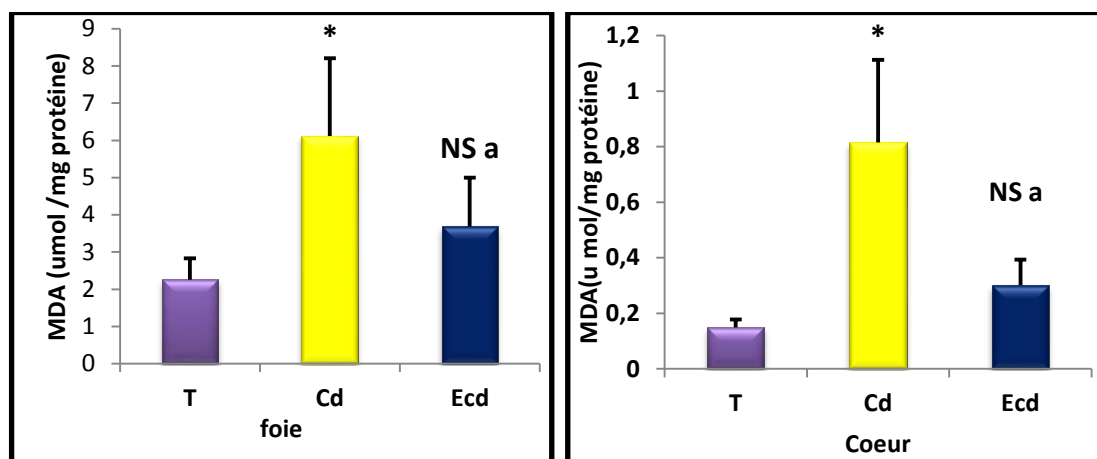


Figure 23: Concentrations tissulaires de malondialdéhyde chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours. Comparaison avec groupe témoin: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, comparaison avec groupe Cd: ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, $n = 5$ rats.

Nos résultats montrent que la malonyldialdéhyde (MDA) hépatique et cardiaque chez les rats (Cd) a été augmenté de façon significative ($p < 0.05$) par rapport au groupe témoin (T). D'autre part, les rats administrés Cd et traités par 350mg/kg *Crataegus laevigata* présentent une diminution significative ($p < 0.05$) du MDA dans le foie et le cœur par rapport aux rats intoxiqués par cadmium.

I.6. 2. Variation de concentration du glutathion réduit (GSH)

Les résultats obtenus après l'évaluation du taux du GSH sont montrés dans la figure (24).

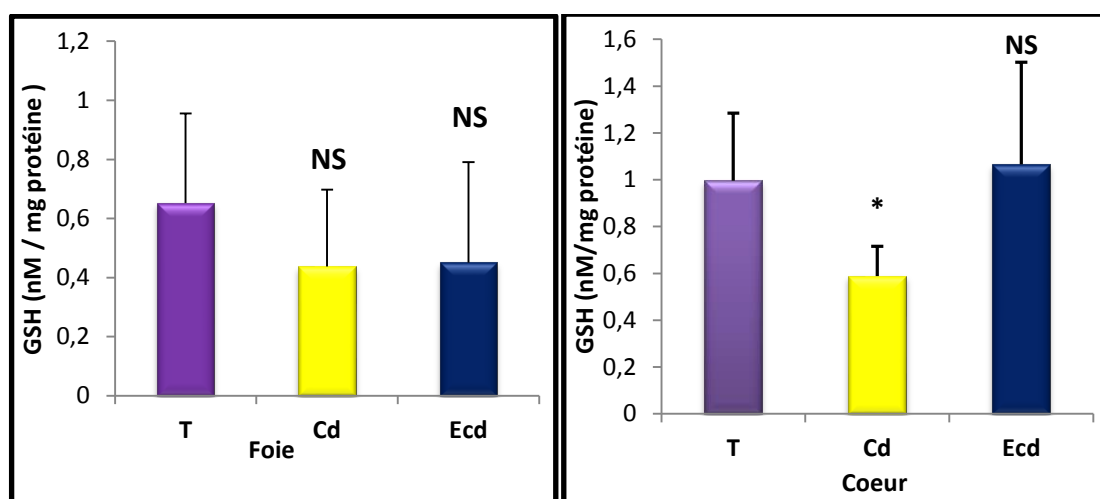


Figure 24: Variation de la Concentrations tissulaires de glutathion (GSH) chez le groupe témoins et les groupes expérimentaux pendant 15 jours. Comparaison avec groupe témoin: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, comparaison avec groupe Cd: NS $p > 0.05$, ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, $n = 5$ rats.

Nos résultats montrent que la concentration de glutathion réduit tissulaires hépatiques ne présente aucune variation significative ($p>0.05$), mais dans le cœur est diminuée de façon significative ($p<0.05$) chez les rates du lot (Cd) par rapports au groupe témoins sain.

D'autre part, nos résultats obtenus révèlent que la concentration de GSH hépatique et cardiaque chez les rates (ECd) a été augmentée de façon non significative en comparaison avec les rates injectées du cadmium.

I.7. Étude histologique

L'observation microscopique des coupes histologiques des foies et cœurs des rates injectées du cadmium révèle une modification cellulaire bien visible (nécrose tubulaire, dilatation tubulaire, hémorragie). Alors que les coupes histologiques des foies et cœurs des rates traitées par l'extrait de la plante à la doses 350mg/Kg présentent une amélioration au niveau cellulaire.

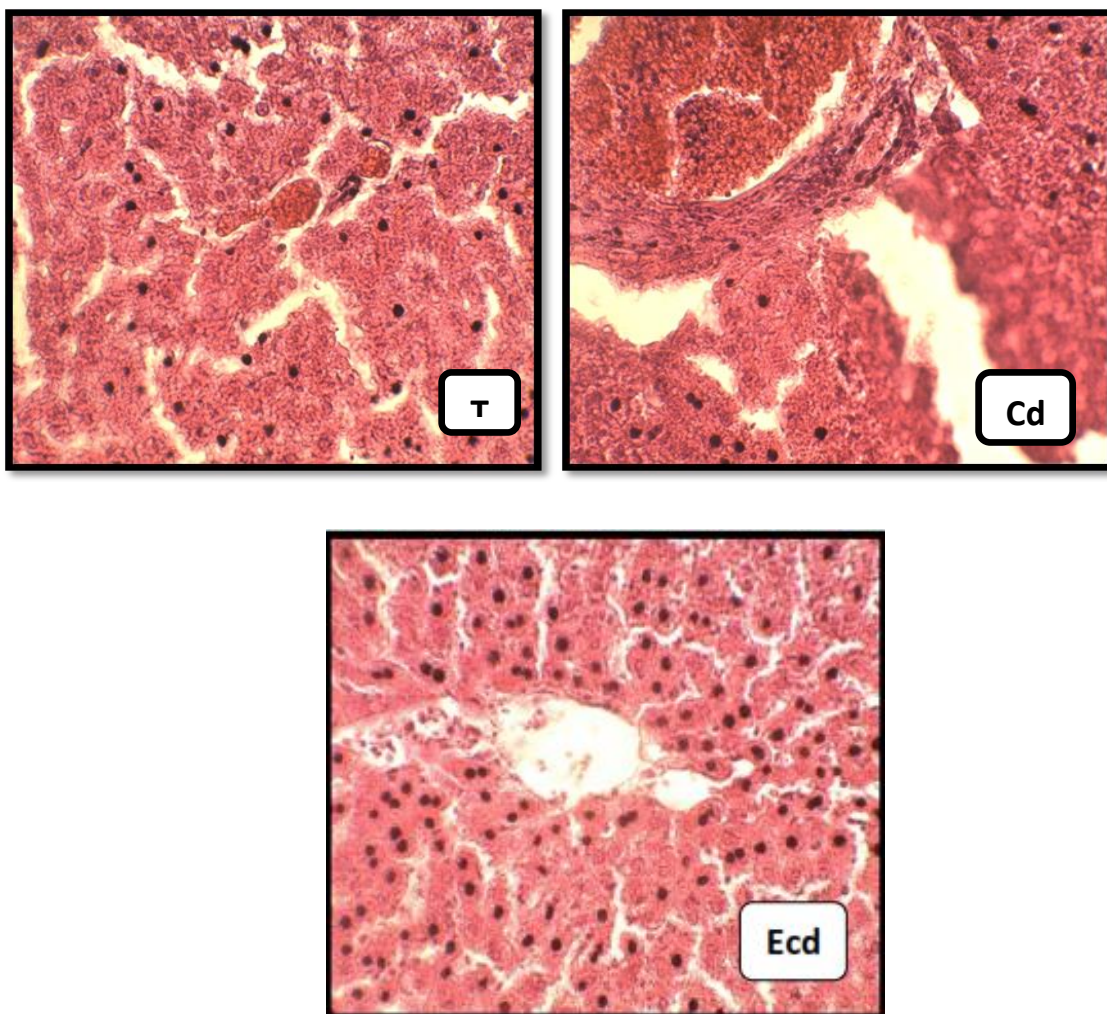


Figure 25: Coupes histologiques de foie de différents groupes (x40)

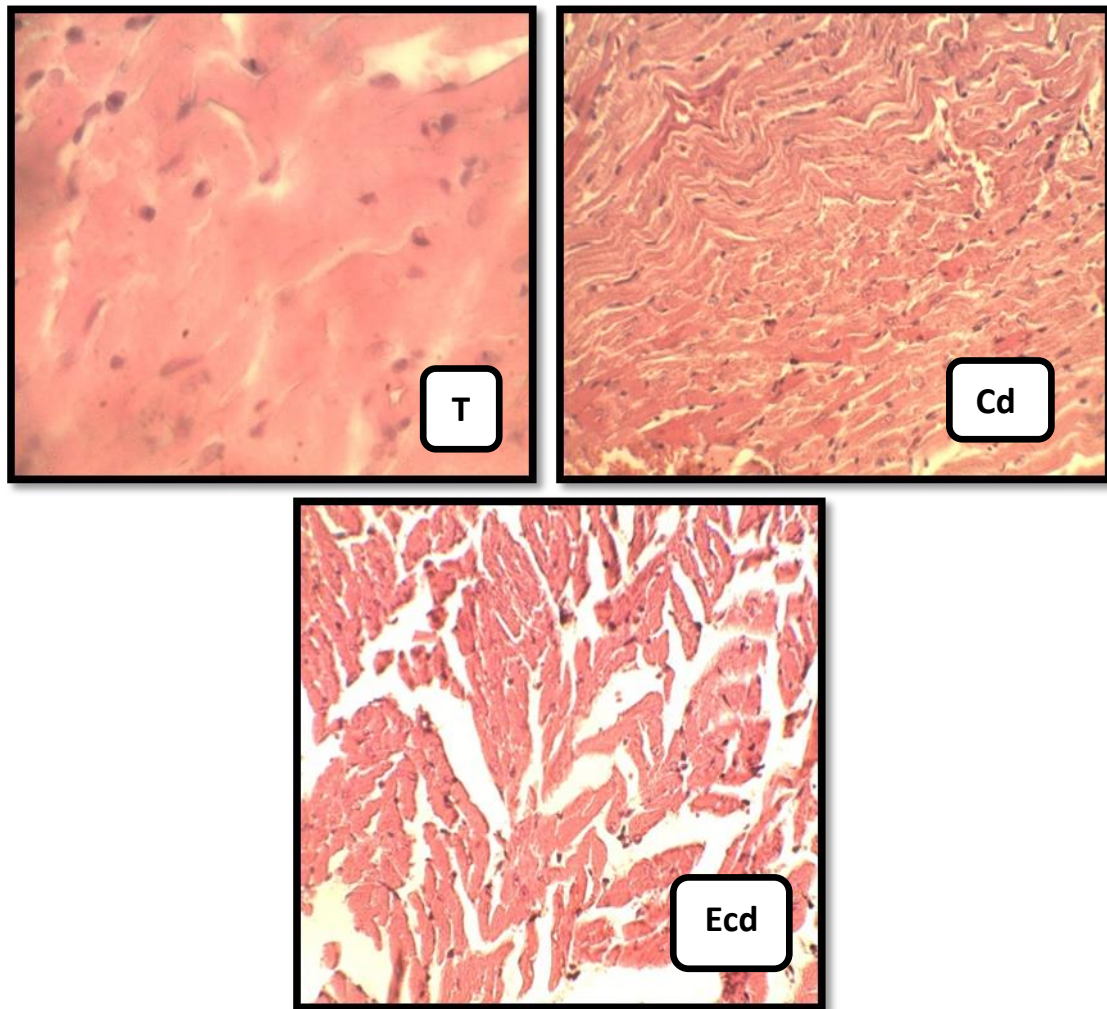


Figure 26: Coupes histologiques de cœurs de différents groupes (x40)

II. Discussion

Parmi la flore Algérienne, nous nous sommes intéressés à une espèce peuplant spontanément, connu pour sa richesse floristique diversifiée. Il s'agit de *Crataegus laevigata* plante médicinale appartenant à la famille des *Rosacées*, utilisée en phytothérapie pour ses propriétés sédatives, vasculoprotectrices et antioxydantes (**Bahorun, 1997**). Elle est aussi utilisée comme plante ornementale (**Mohand, 2006**). L'utilisation des plantes médicinales est aujourd'hui la forme de médecine de plus en plus utilisée à travers le monde. Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche des nouvelles substances à activités biologiques constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques (**Djedioui, 2010**). Notre étude a porté dans un premier temps à l'identification des groupes phytochimiques, qui caractérisent l'extrait aqueux de *Crataegus laevigata* et la recherche d'activité biologique que peuvent avoir cet extrait *in vitro* à savoir les capacités antioxydantes. Dans un deuxième temps, *in vivo* à savoir les effets protecteurs contre la toxicité et les dommages induit par le cadmium chez les rattes Wistar.

Le rendement de la plante en extrait brut était considérable comparaison avec **Amor, (2017)**, ce rendement chez les plantes peut être variable ma comparaison avec l'gré chez la même espèce; cette variabilité est due probablement à la variation des facteurs suivants : les conditions pédoclimatique, la période du récolte, le temps du récolte, la méthode de séchage aussi aux méthodes d'extraction appliquées (**Makhloufi, 2009**).

L'extrait aqueux de feuilles sèches de *Crataegus laevigata* contient plusieurs composés bioactifs. Les composés polyphénoliques sont bien connus comme des agents antioxydants et dirigé contre les radicaux libres associés aux dommages oxydatifs. La présence de ces composés, tels que des flavonoïdes dans l'extrait de *Crataegus laevigata* susceptibles de donner crédibilité à son utilisation locale pour la gestion d'affection induit par le stress oxydatif. Les glycosides et les flavonoïdes peuvent inhiber la croissance tumorale et la protection contre les infections gastro-intestinales. Les alcaloïde sont une histoire dans les effets pharmacologiques pour leurs effets analgésiques et antispasmodiques (**Njoku et Obi, 2009**). Ainsi, les alcaloïdes jouent un rôle détoxifiant et un antihypertenseur (**Awoyinka et al., 2007**).

L'étude quantitative des extraits bruts de *Crataegus laevigata*. Au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins totaux et catéchiques. La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Les résultats montrent que les

composés polyphénoliques sont abondants dans la partie aérienne de *Crataegus laevigata*. Si on compare les résultats à ceux de **(Bouaziz et al., 2014)** on constate que les teneurs d'extraits aqueux (2.12 ± 0.0134 mg QE/g MS) des feuilles de *C. azarolus* sont beaucoup proches aux résultats trouvés dans l'étude.

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques, des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que des facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante, la période de sa récolte et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols **(Aganga et al., 2001)**.

Les flavonoïdes sont des composés naturels qui interviennent non seulement dans la pigmentation des végétaux, mais aussi qui présentent des activités biologiques, telles que des actions antioxydantes **(Sebastien, 2006)**. En présence du chlorure d'aluminium, les flavonoïdes révèlent l'apparition de coloration jaune, qui est due à la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones des flavonoïdes **(Zeghad, 2009)**.

La teneur de flavonoïdes de l'extrait aqueux des feuilles de *Crataegus pinnatifida*, rapporté par **(Yoo et al., 2008)** in **(Bouaziz, 2009)** est équivalent à 4.07 mg EQ/g sont bien supérieurs par rapport à nos résultats, toutefois il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études **(Aganga, 2001; Pedneault et al., 2001; Fiorucci, 2006)**.

Les tanins sont responsables des propriétés hémostatiques **(Asquith et Butler, 1986)**. Nos résultats sont inférieurs que celles de **Bouaziz et al. (2014)**; en raison des conditions climatiques ou degré de la température ainsi que le type de solvant utilisé et la méthode d'extraction **(Aganga, 2001; Pedneault et al., 2001; Fiorucci, 2006)**.

Dans le but d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Crataegus laevigata*, nous avons utilisé trois méthodes basées sur trois mécanismes antioxydants différents: l'effet piègeur des radicaux libres évalué par le test de DPPH. La capacité antioxydante totale estimée par le test de phosphomolybdate et le pouvoir réducteur du fer en utilisant le test FRAP. Selon les résultats trouvés, l'extrait aqueux est doté d'un pouvoir piègeur avec une IC_{50} de 439.93 ± 5.93 μ g /ml mais plus forte en comparaison avec du standard (acide ascorbique) IC_{50} 61.97 ± 3.68 μ g /ml. Alors que cet extrait possède une capacité antioxydante importante de l'ordre de 286.5 ± 23.1 et 295.9 ± 33.9 μ g équivalent AA/mg de la matière sèche pour le test de PM et FRAP respectivement. Le test DPPH, radical

libre de couleur violet est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés anti-radicalaires. L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des composés dont on souhaite déterminer l'activité (Kouamé et al., 2009). Il est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter des substances actives à des basses concentrations. A cet effet, il a été employé pour le criblage des activités antiradicalaire des extraits végétaux (Yi et al., 2008).

L'extrait aqueux des feuilles de *Crataegus pinnatifida*, rapporté par Yoo et al., (2008) est inférieure par rapport de nos résultats. Les solvants, les protocoles, la durée de conservation des échantillons et la température pourraient expliquer les différences constatées entre nos résultats et ceux de la bibliographie (Klervi, 2005 ; Sokol, 2007).

Selon Turkmen et al., (2007) les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur structure chimique idéale. Les autres composés phénoliques mineurs ne devraient pas être négligés, par ce que la synergie entre les différents produits chimiques devrait être prise en considération dans l'activité biologique (Bourgou et al., 2008).

Pour l'évaluation de l'activité protecteur de l'extrait aqueux de *Crataegus laevigata*, nous avons essayé d'évaluer l'effet de cette plante en l'administrant à dose 350 mg/kg par voie orale pendant 15 jours chez des rates atteintes une toxicité provoquée par le cadmium.

L'exposition de cadmium à dose (5mg/kg) chez les rates a provoqué une diminution du poids corporel. Ce résultat est en accord avec plusieurs études (Newairy et al., 2007) qui ont suggéré que la réduction de la croissance est due à la réduction de la consommation alimentaire par des effets de cadmium sur les centres nerveux responsable de la régulation de la satiété et de la faim (Missoun et al., 2010). D'autre part, perte du poids est due au catabolisme, plus particulièrement des lipides par lipolyse des tissus adipeux (Vats et al., 2004; Oliveira et al., 2008). Cependant chez toutes les rates traitées par l'extrait de *Crataegus laevigata* à une dose de 350 mg/kg, on observe à la fin un gain de poids. L'amélioration des poids corporels pourrait être expliquée par le pouvoir de la plante à restaurer le stock en triglycérides (Farnier, 2002; Babu et al, 2007).

Concernant le poids relatif des organes (foie et cœur), nous remarquons l'augmentation du poids relatif des organes chez les rates exposées au cadmium. Ceux-ci peuvent être expliqué, d'une part, par l'hypertrophie tissulaire de ces organes causée par ce

métal et d'autre part, par l'accumulation intense du métal lui-même dans ces organes cibles (**Messaadia et al.,2013**) ; ainsi une cardio - et hépatotoxicité causée par l'accumulation de cadmium dans ces organes peut avoir comme conséquences une nécrose (**Ibrahim et al., 2011**). Cette anomalie du foie est un phénomène qui a été signalé par de nombreux auteurs à la suite de l'agression par des substances chimique (**Huang et al.,2012**).

En revanche, le traitement par de *Crataegus laevigata* du groupe exposé au cadmium a entraîné une amélioration du poids relatif des organes notamment le foie. Cette amélioration est due probablement par l'effet inhibiteur de ces plantes contre l'accumulation de cadmium dans cet organe ce qui diminue leur effet néfaste sur cet organe et donc diminue leur poids relatifs.

Dans notre étude, nous avons constaté que l'administration quotidienne du cadmium à une dose de 5mg/kg pendant une période de 15 jours a provoqué un changement significatif des marqueurs biochimiques; glycémie, créatinine, TGO, TGP, PAL, LDH chez le groupe des rates administré du cadmium et les groupes traités.

La créatinine est un métabolite de la créatine, excrété dans l'urine par filtration glomérulaire. Une élévation de sa concentration dans le sang est une indication de dysfonctionnement rénal (**Frank, 1992; Siby., 2008**). Cette molécule indispensable pour la production d'énergie dans les muscles. En temps normal, la créatinine est transportée par le sang puis éliminée par les reins, dans les urines. L'administration de *Crataegus laevigata* (350 mg / kg / jour) a restauré de manière hautement significative de la fonction rénale et protège le rein de l'intoxication au Cd. La valeur de créatinine dans le plasma est inversement liée au débit de filtration glomérulaire (DFG), donc à la fonction rénale. Ainsi, plus la fonction rénale est altérée, plus la créatininémie augmente (**Laib,2018**).

La perturbation du bilan hépatique, exprimée par l'augmentation sérique des transaminases l'ASAT(TGO), ALAT(TGP), la PAL et de la LDH chez les rats intoxiqués par le cadmium, indique une lésion hépatique qui peut s'expliquer par la fuite des enzymes tissulaires vers le plasma. Dans notre étude on a observé l'augmentation de leur activités enzymatiques qui est en accord avec les travaux d'**Aouacheri,(2017)**. Leur activité enzymatiques est proportionnelle au degré de dommages hépatiques (**Kesari et al., 2007**). Ils sont donc bons indicateurs de l'hépatotoxicité (**Babu et al., 2007; Eidi et al., 2007**).

Cette fuite est due à l'altération de la perméabilité membranaire (**Salem, 2005**). L'augmentation sérique des enzymes peut être due à des lésions tissulaires dans le foie, suite à des modifications de la perméabilité de la membrane cellulaire, ou également due à une augmentation de la synthèse ou à une diminution du catabolisme des aminotransférases

(Krim et al., 2013). L'ASAT, l'ALAT, la LDH et la PAL sont les biomarqueurs les plus sensibles qui sont directement impliqués dans l'étendue de la toxicité et des dommages cellulaires puisqu'ils sont cytoplasmiques et libérés immédiatement dans la circulation après l'atteinte cellulaire (Farag, 2010).

Le stress oxydatif peut progresser aux dommages oxydatifs impliquant des protéines cellulaires (contractiles, structurelles, et enzymatiques), des lipides, l'ADN et d'autres molécules d'une manière qui pourrait conduire à la fonction cellulaire anormale (Powers et Jackson, 2008). Il résulte d'un déséquilibre entre la production des ROS et leur élimination par les défenses anti oxydantes, contribue à l'initiation et à la progression de plusieurs maladies. Les métaux lourds peuvent induire des dommages oxydatif et être une source endogène potentielle des radicaux libres (Moreira et al., 2001).

Les résultats obtenus dans notre étude concernant la partie du stress oxydatif *in vivo* montrent une élévation bien définie de la concentration du MDA tissulaires (foie et cœur) chez les rats cadmium par rapport aux rats normaux, ceux-ci accordent avec les travaux de Valco,(2006). Le malondialdéhyde (MDA) est le paramètre le plus largement utilisé pour évaluer les dommages oxydatifs aux lipides .Cette augmentation peut probablement être le résultat de l'augmentation des ROS qui attaquent les acides gras polyinsaturés de lamembrane cellulaire et provoque la peroxydation lipidique (Battacharya et al., 1997).L'augmentation de la peroxydation lipidique affaiblit le fonctionnement des membranes par labaisse de la fluidité membranaire et par la diminution de l'activité des enzymes et desrécepteurs liés aux membranes (Kakkar et al., 1998).

Nos résultats suggèrent aussi que l'extrait aqueux de *Crataegus laevigata* induit un effet antioxydant, qui peut être du à la richesse de cette plante en composés bioactifs et en anti oxydant qui inhibent la lipoperoxydation et l'altération causées par la production excessive de radicaux libres (Liu et al.,2000).

Nos résultats montrent une diminution claire de teneur en glutathion réduit (GSH) hépatique et même au niveau de cœur chez le groupe cadmium par rapport au groupe témoin. Le GSH joue son rôle antioxydant également en synergie avec les enzymes antioxydantes telles la CAT et la SOD (Cempel ,2002).

D'après les résultats de la présente investigation, on a observé une augmentation de la concentration de glutathion réduit (GSH) du foie et du cœur, chez les rates traitées par l'extrait aqueux de *Crataegus laevigata* par rapport aux rates cadmium. L'effet de l'extrait aqueux de

Crataegus laevigata serait probablement dû à l'influence des composés bioactifs présents dans les plantes, tels que les flavonoïdes et leur pouvoir antioxydant. D'autre part, les composés phénoliques sont connus par leurs capacités de recycler la vitamine E et de piéger les radicaux libres, ceci peut donc participer directement à une réduction de l'utilisation de GSH (**Babu et al,2007**). De plus cette augmentation peut être expliquée par l'effet de vitamine C sur le recyclage de glutathion (**Baskin et Salem, 1997**).

Les enzymes antioxydantes limitent les effets des molécules oxydantes dans les tissus et jouent un rôle dans la défense contre les dommages oxydatifs cellulaires étant piègeurs de radicaux libres (**Ghosh et al,2012**).

En général, et d'après les résultats des stress oxydatifs tissulaires suggèrent que chaque organe a un effet antioxydant spécifique (**Begget & Korti ,2016**), ce qui rend la gravité de l'attaque oxydative différente entre les organes, c'est pourquoi on trouve que la variation des antioxydants défère d'un organe à l'autre.

Les études histologiques ont été largement utilisées comme biomarqueurs pour les investigations toxicologiques (**Uzun et al., 2009**). Nos résultats au niveau du foie et du cœur montrent quelques altérations par rapport au groupe témoin. Le foie est le principale organe cible dans les études toxicologiques. Les altérations histologiques observées au niveau du foie et du cœur chez les groupes des rates cadmium produit des dommages histologiques inclus une nécrose, dilatation et vacuolisation tubulaire, atrophie glomérulaire, nécrose, hémorragie, cellules inflammatoires. Des altérations histologiques similaires ont été observées par **Sylvie,(2003)**. L'observation des coupes histologiques que nous avons réalisées révèle des atteintes tissulaires. Ces altérations peut-être induites, au cours d'un stress oxydatif, par l'augmentation de la peroxydation des lipides. Il en résulte l'activation d'inflammations cellulaires (**Milton et al,2011**). En effet, ces radicaux peuvent diffuser dans le cytoplasme et à travers les membranes, pour aller attaquer des composants cellulaires éloignés de leur site de production ou encore pour atteindre d'autres cellules (**Layachi, 2013**). Les coupes histologiques du foie et cœur des rates intoxiquées et traitées par *Crataegus laevigata* montrent la présence très peu des nécroses cellulaires. Cela pourrait signifier que la plante a un effet protecteur. En effet il a été rapporté que les flavonoïdes (**Perez et al, 1998**) et plusieurs autres composés phénoliques (exp : tanins) ont été testés comme cytoprotecteurs et chélateurs de radicaux libres (**Ouali et al, 2007**).

Conclusion générale

En Algérie, la médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement de différentes maladies, à titre d'exemple de *Crataegus laevigata*. Qui pousse à l'état spontané dans la région d'Annaba, cette plante est fréquemment employée pour ses vertus médicinales, car elle contient des principes actifs qui agissent sur l'organisme. Notre travail a été pour l'objectif d'évaluer l'effet de *Crataegus laevigata* sur des rates Wistar Albinos contaminé par cadmium. À la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que:

- L'extraction réalisée à partir de la partie aérienne de la plante étudiée dans ce travail a permis d'obtenir un rendement de 17,65 %. L'analyse phytochimique montre que *Crataegus laevigata* est très riche en alcaloïdes, polyphénols, flavonoïdes, polyterpènes, saponosides et sucres réducteurs, mais l'absence des stérols. Donc cette plante peut être une nouvelle source des molécules bioactives qui ont un important effet thérapeutique contre plusieurs pathologies.

- L'analyse quantitative montre que l'extrait aqueux de cette plante contient des polyphénols ($70.20 \pm 0.36 \mu\text{g}$ équivalent d'acide gallique/ mg de la matière sèche), flavonoïdes ($15.29 \pm 0.13 \mu\text{g}$ équivalent de quercétine/mg de la matière sèche), tannins catéchiques ($0.29 \pm 0.01 \mu\text{g}$ équivalent de catéchine/mg de la matière sèche), tannins totaux ($10.48 \pm 0.052 \mu\text{g}$ équivalent de l'acide gallique /mg d'extrait sec). De même, cet extrait a une activité antioxydante confirmée par différents tests à savoir le PM, FRAP et DPPH.

- L'étude physiologique a montré que le traitement par ces plantes augmente le poids corporel des rates et améliore le poids relatif des organes notamment le foie et le cœur et l'absence de l'effet secondaire toxique sur ces deux organes cibles.

- L'administration d'extrait aqueux de *Crataegus laevigata* en concomitance avec le cadmium a fait diminuer le niveau de la toxicité, en modulant les niveaux des biomarqueurs du stress oxydant, et en régulant l'activité des enzymes antioxydantes (diminution de la concentration du MDA, élévation du taux du glutathion réduit (GSH) dans le foie et le cœur. Cette combinaison a aussi révélé une restauration du taux de certains paramètres biochimique (glycémie, TGO, TGP), ainsi que l'analyse tissulaire réalisée au niveau du foie et du cœur a permis de montrer que cette espèce provoque une régénération remarquable du tissu hépatique et cardiaque, ce qui a permis de mettre en évidence l'action protectrice de *Crataegus laevigata* et sa capacité à améliorer l'activité du système biologique des rates intoxiquées par cadmium.

Ces résultats ne constituent bien évidemment qu'une première étape de recherche des molécules biologiquement actives. Nos perspectives de recherche pour le futur sont les suivantes :

- Isoler les molécules actives contenues dans l'extrait de *Crataegus laevigata*, ensuite déterminer l'effet pharmacologique et les mécanismes d'action de ces molécules sur les différents systèmes biologiques au cours de la toxicité hépatique et cardiaque.
- déterminé les molécules impliquées dans d'autres effets thérapeutiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Achouri, D & Cherki, A. (2018)**. Phytothérapie et Grossesse. département de Pharmacie. Tlemcen. Algerie. p5.
2. **Adewusi, E.A., Moodley, N., Steenkamp, V. (2011)**. In vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from southern Africa. *Asian Pac J Trop Med.* ;4:829–835. En ligne:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22014742>
3. **Adriano, S. (2001)**. Trace Metals in Terrestrial Environments: Biogeochemistry Bioavailability and Risks of Metals . New York .springer-Verlag , 866p.
4. **Aganga, A.A & Mosase, K.W. (2001)**. Tannins content, nutritive value and drymatter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocaryabirrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*.(91):107-113.
5. **Alain, D. (2002)** .Guide du traitement des déchets. 3 édition. Dunod. Paris. p74.
6. **Anderson, M & Markham, K.R. (2006)**. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry And Applications. Crc Press, Taylor & Francis Group. 1(32): 397-425.
7. **Anthonie, J. (2007)**. Synthèse enzymatique, modélisation moléculaire et caractérisation d'oligomères de flavonoïdes. Institut National polytechnique de Lorraine. American. p86.
8. **Antony, G. (2011)**. L'apport de Marrubium Vulgare L dans La Prévention du Risque Cardiovasculaire . Université de Nantes. Faculté de Pharmacie. France. p 31-32.
9. **Anusha, M., Venkateswarlu, M., Prabhakaran, V., Shareen, S., Pushp, A., Kumari, B., . (2011)**. Hepatoprotective Activity Of Aqueous Extract Of Portulaca Oleracea In Combination With Lycopene In Rats. *Indian J Pharmacol.* 43(5): 563-567.
10. **Aouacheri, O., Kehili, N., Saka , S. (2017)**. L'effet Phytoprotecteur de La Nigelle (*Nigella Sativa*) Contre La Toxicité Induite Par Le Cadmium Chez Les Rats. Lavoisier SAS . DOI 10.1007/S10298-017-1099.
11. **Aranguren, M.M.S, (2008)** .Contamination en métaux lourds des eaux de surface et des sédiments du Val de Milluni (Andes Boliviennes) par des déchets miniers. Approches géochimique, minéralogique et hydrochimique. thèse doctorat en Sciences de la Terre et Environnement. Université de Toulouse. p10-11- 20-21.
12. **Arris, S. (2008)**. Etude Expérimentale de l'Élimination des Polluants Organiques et Inorganiques par Adsorption sur des Sous Produits de Céréales. doctorat en sciences en genie des procedes. p10-11.
13. **Asquith, T., Butler, L.G. (1986)**. Interaction of condensed tannins with selected protochemistry. 25(7): 1591-1593.

14. **Atlin, G., Alptekin, I.t., Ukel, S.(2006).**Response Of Catalase Activity To Ag⁺, Cd²⁺, Cr⁶⁺, Cu²⁺ And Zn²⁺ In Five Tissues Of Freshwater Fish Oreochromis Niloticus. *Comp Biochem Physiol.*(143) :218–24.
15. **Atsdr, Q.(2008).** Draft Toxicological Profile for Cadmium. In ATSDR. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, [En ligne].<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf>.
16. **Awoyinka, O.A., Balogun, I.O & Ogunnowo, A..A.(2007).** Phytochemical screening and in vitro bioactivity of *Cnidioscolus aconitifolius* (Euphorbiaceae). *J. Med. Plant. Res.* 1(3) : 063-065.
17. **Babu, P.S., Prabuseenivansan, S., Ignacimuthu, S.(2007).**Cinnamaldehyde – A Potential Antidiabetic Agent. *Phytomedicine.* (14) : 15-22.
18. **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunete, C., Dine, T., Vasseur, J., Gazin, J.C., Pinkas, M., Luycky, M. & Gazin, M. (1996).**Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *ArzneimForsch / Drug Res.* 1-6.
19. **Baker, A.J.M & Walker, P.L.(1989).** Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In : heavy metal tolerance in plants .Evolutionary aspects. Shaw . (Eds). CRC press, pp 155 - 177.
20. **Baskin, S.I .,Salem, H.(1997).** Oxidants, Antioxidants And Free Radicals. Ed. Taylor et Francis. Washington. p450.
21. **Baynes, J.w., Thorpe, S.R.(1999).** Rôle Of Oxidative Stress In Diabetic Complications A New Perspective On An Old Paradigm. *Diabetes.* 48 (9): 1-9.
22. **Beggat, K., Korti, N .(2016).** Etude De L'effet Toxique Des Nanoparticules De L'oxyde De Fer Et L'effet Antidote Du Quercetine Chez Les Lapins. *Memoire Fin D'etude De Master Academique En Biochimie Appliquee .* Universite Echahid Hamma Lakhdar -El Oued. p104 .
23. **Behera, J. N. & Rao, J.(2006).**Kagome Compound Templated by 1,8-Diazacubane. *American of Chemistry Society.* **128** (29): 9334 -9335.
24. **Behrouz, E.M .(1995)** .Décontamination des sols contenant des métaux lourds à l'aide de plantes et de microorganismes, Thèse en Biologie des Organismes. Université HenriPoincaré. Espagne . pp6-8 -17.
25. **Bellamine, K.(1993).** La phytothérapie clinique dans les affections dermatologiques. Université Mohamed Rabat.Maghrab.p58.
26. **Belyagoubi, M. (2011).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat en Biologie.Université Aboubakr Belkaïd. Tlemcen.p56.

27. **Benoit, G & Rozan, T.F.(1999)**. The influence of size distribution on the particle concentration effect and trace metal partitioning in rivers. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 63(1): 113-127.
28. **Benzidane, C. (2012)**. Effet toxique des résidus des pesticides utilisés sur la flore de la région de Sétif. Mémoire de Magister, Université du Ferhat Abbas Sétif. p 87.
29. **Berger, M.(2006)**. Manipulations Nutritionnelles Du Stress Oxydant: Etats Des Connaissances. *Nut Clin Et Met. .(20) : 48-53*.
30. **Berkane, M.(2017)**. Etude Bibliographique Sur L'aubépine :Crataegus Laevigata Poir (Dc) (Syn: Crataegus Oxyacantha L). Département de Pharmacie. faculté de médecine. Tlemcen. Alger. p45-47-50.
31. **Berthet, O.(2014)**. Y A-T-Il Une Place Pour La Phytothérapie dans La Prévention des Maladies Cardiovasculaires. Thèse Doctera .Grenoble. p 56.
32. **Bézanger, L & Pinkas, B.(2014)**. Plantes médicinales de la région du Nord (Nord, Pas-de-Calais, Somme). *Bulletin de la Société Botanique .France*. p36.
33. **Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S. & Kalayci, O. (2012)**. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization*. 5(1): 9-19. doi:10.1097/WOX.0b013e3182439613.
34. **Bisht K., Wagner K.H., Bulmer A.C.(2010)**. Curcumin, Resveratrol And Flavonoids As Anti-Inflammatory, Cyto-And Dna-Protective Dietary Compounds. *Toxicology*. 278(1):88-100.
35. **Bisht, K., Wagner, K.H & Bulmer, A.C.(2010)**. Curcumin, Resveratrol And Flavonoids As Anti-Inflammatory, Cyto-And Dna-Protective Dietary Compounds. *Toxicology*. 278(1):88-100.
36. **Bismuth, C., Baud, F., Fréjaville, P.P. & Garnier, R.(1987)**. Toxicologie clinique. Flammarion Médecine Sciences. Paris. p 956.
37. **Bisson, M., Houeix, N.(2014)**. Cadmium et ses derives. **INERIS** - Fiche de donnees toxicologiques et environnementales des substances chimiques, michele.bisson@ineris.fr.
38. **Blum, W.E.(1990)**. Pollution des sols par métaux lourds. Sixième conférence ministérielle européenne sur l'environnement. Bruxelles.
39. **Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassiliova, E & Saykova, I. (2012)**. Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea L.*). *Revue de génie industriel*, 7, 35-45. En ligne <http://www.revue-genie-industriel.info>
40. **Bonnefont, R.D. (1994)**. Irradiation des membranes cellulaires. *J. Chim. Phys* .(91):968-983.

41. **Bossokpi, I. P. L.(2002).** Etude des activités biologiques de Fagarazan thoyloides Lam (Rutaceae).Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako .9p.
42. **Botineau, M.(2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Paris. p89
43. **Bouaziz, A., Khennouf, S., Abdalla, S., Djidel, S., Zarga, M., Bentahar, A., Dahamna, S., Baghiani, A & Amira, S.(2014).** Phytochemical analysis, antioxidant activity and hypotensive effect of Algerian azarole (*Crataegus azarolus* L.) leaves extracts. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* **5(2):** 286-305.
44. **Boudjouref, M. (2011).**Etude de l'activite antioxydante et antimicrobienne d'extraitsd'*Artemisia campestris* L. Mémoire de magister. Université Ferhat Abbas.Sétif, p99.
45. **Boulouiz, H. (2016).** Etude phytochimique et recherche d'effet hémolytique des extraits isolés des feuilles de Nerium oleander L (laurier rose). Mémoire de Master, Université de Tlemcen, p8.
46. **Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H & Marzouk, B. (2008).**Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots.*C. R. Biologies.*(**331**): 48–55.
47. **Bouزيد, W. (2009).**Etude de l'activité Biologique des extraits du fruit de *Crataegus monogyna jacq.* Mémoire de Magister. Université Elhadj Lakhder -Batna.p66.
48. **Bouزيد, W.(2008) .** Etude de l'Activité Biologique des Extraits du Fruit de Crataegus monogyna .Mémoire de Magistère. Université-El hadj Lakhder .Batna. p16.
49. **Bradford, M.M. (1976).** A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Academic Press,* 72 (57), 248-254. En ligne http://hoffman.cm.utexas.edu/courses/bradford_assay.pdf.
50. **Buettner, G.R., (1993) .**Arch Biochem Biophys. (300):535-543.
51. **Carnet, A.(1990).** Teneurs en Principaux Flavonoides des fleurs de Crataegus Monogyna Jacq et de Crataegus Laevigata en Fonction de la végétation. Pharmaceutica. p55.
52. **Casas, S.(2005).** Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb. Et Zn) en milieu méditerranéen. Thèse du Doctorat en Océanologie biologique.Environnement marin. UnivDu Sud Toulon. p301.
53. **Cempel, M., Janicka, K .(2002).**Distribution Of Nickel, Zinc, And Copper In Rat Organs After Oral Administration Of Nickel (Ii) Chloride. *Biol Trace Elem Res .* (90):215 26
54. **Cheick, T.M.(2006).** Etude de la phytochimie et des activites biologiques de quelques *Chemistry.*72(2): 145-171.
55. **Chekroun, E. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique et recherche

d'activités antioxydante et antidiabétique de deux cucurbitacées : *Bryonia dioica* Jacq et *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. Thèse de Doctorat en Biologie, Université Aboubekr Belkaïd, Aboubekr Belkaïd –Tlemcen, p26.

56. Chifolleau, J.F. (2001). La contamination métallique. (Ed). Ifremer. 39p.

57. Chikhi, I. (2014). composition chimique et activités biologiques des extraits de cinq plantes aromatiques et médicinales de l'ouest d'Algérie. ,thèse doctorat. Université Abou Bekr Belkaïd .Tlemcen, p36.

58. Chiu, F. (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, (105): 353-363.

59. Company, R., Serafim, A., Bebianno, M.j. (2004). Effect Of Cadmium, Copper And Mercury On Antioxidant Enzyme Activities And Lipid Peroxidation In The Gills Of The Hydrothermal Vent Mussel *Bathymodiolus Azoricus*. *Mar Environ Res* .(58) :377–81

60. Coquillat, M. (1962). Sur quelques noms patois de plantes. Bulletin mensuel de la société linnéenne . Lyon. France. 31:26-39.

61. Couplan, F. (2012). Les plantes et leurs noms : Histoires insolites. Ed. Quae. Espagne. p28.

62. Cuendet, M., Hostettmann, K. & Potterat, O. (1997). Iridoidglucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea ablupei*. *Helvetica Chimica Acta*.(80): 1144-1152.

63. Cuendet, M., Hostettmann, K. & Potterat, O. (1997). Iridoidglucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea ablupei*. *Helvetica Chimica Acta* .(80):1144-1152.

64. Degenring, F., Suter, A., Weber, M & Saller., R. (2003). A randomised double blind placebo controlled clinical trial of standardised extract of fresh *Crataegus* berries in the treatment of patients with congestive heart failure NYHA II. *Phytomedicine*. (10):363- 369.

65. Dif, M., Benali, T., Benyahia, M & Becheikhi A. (2015). Enquête sur l'utilisation phytothérapeutique de 11 plantes médicinales poussant dans le Tessala. Lavoisier .p25.

66. Djediou, A. (2010). Evaluation De L'activité Hypoglycémiant Et Antihyperglycémiant De L'extrait Aqueux D' *Inula viscosa* ; Une Plante De L'est Algérien Chez Le Rat Avec Un Diabète Induit. Mémoire Magister. Badji Mokhtar Université Annaba, p55.

67. Donatiello, C. (2002). La toxicité cardiaque des anthracyclines dans le traitement des tumeurs de l'enfant. Thèse de doctorat. Université Genève. France .p7.

68. Edward, F & Gilman, G. (2006). *Crataegus laevigata*: English Hawthorn. Université Florida. America. p369.

69. Efsa, K. (2009) . Cadmium in food Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain (Question No EFSA-Q-2007-138). Scientific opinion. (86):1-139.

- 70. Eidi, A., Eidi, M., Sokhteh, M.(2007).**Effect Of Fenugreek (Trigonella Foenugraecum L)Seeds On Serum Parameters In Normal An Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *NutritionResearch*.(**27**): 728-733.
- 71. Ercal, N., Gurer, H., &Aykin, N. (2001).** Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current topics in medicinal chemistry* .(1):529-39.
- 72. Evelyne, C.(2006)** .Le cadmium. Besançon.(ED). Taylor .France, p78.
- 73. Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C. (2008) .** Phenolic compositionof *Cynaracardunculus*L.organs, and their biologicalactivities, *C. R.Biologies*.(331), 372-379.
- 74. Farag, A ., Elhalwagy, M ., Farid, E .(2010).**Effect Of Ginger Supplementation On Developmental Toxicity Induced By Fenitrothion Insecticide And/Or Lead In Albino Rats. *Pestic Biochem Physiol*.(97) :267–74.
- 75. Farnier, M., (2002).** Dyslipidemies Du Diabétique.(Ed) . Jhon Libbey, Paris, p21-22.
- 76. Farnsworth, N.K & Kass, C.J.(1986).** An approach utilizing information from traditional medicine to identify tumor inhibiting plants .l’OMS. *Bulletinde* .(15) :66 -159.
- 77. Fong, H ., Bauman, J.(2002).** Hawthorn. *Journal of Cardiovascular .Nursing*. Italia. (16): 1-8.
- 78. Ghosh, D., Benazir, S., Mitra, E., Dey, M.(2012).** Protective Effect Of Aqueous Leaf Extract Of *Murraya Koenigi* Against Lead Induced Oxidative Stress In Rat Liver, Heart And Kidney: A Dose Response Study. *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research*, 5(4): 54-58. En Ligne: [Http://Www.Ajpcr.Com/Vol5suppl4/1307.Pdf](http://Www.Ajpcr.Com/Vol5suppl4/1307.Pdf).
- 79. Gilles, G. (2004).** Notions de Toxicologie. Commission de la Santé et de la Sécurité du Travail du Québec. Italia. 67 p.
- 80. Gilles, L . (2004).**Notions De Toxicologie.2^{ème} Ed. Revue Et Augmenté .France .p202..
- 81. Goudjil, M.B. (2016).**Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. thèse doctorat .Université kasdi marbah. Ouargla.p45.
- 82. Goyer, A.G., Clarkson, T.W.(2001).** Toxics effects of metals. *Dans Casarett and Doull's toxicology, the basic sciences of poisons*, fifth Edition. *Éditeur*: C.D. Klaassen. McGraw-Hill, Montréal. .(18): 1880-1886.
- 83. Gulec, M., Ogur, R & Bakir, B.(2009).**Investigation of Vasoactive Ion Content of Herbs Used in Hemorrhoid Treatment .Turkey. p77.
- 84. Haddad, J.J. (2002).** Antioxidant and prooxidant mechanisms in the regulation of redox(y)- sensitive transcription factors. *Cell Signal*. (14): 879-897.
- 85. Halmi, S.(2015).** Etude botanique et phytochimique approche biologique et

pharmacologique d'opuntia ficus. diplôme de doctorat, biotechnologie végétale, p17, 25.

- 86. Hamdaoui, M. (2018).** Valorisation Biochimique Et Comportement Germinatif De Crataegus Monogyna Jacq. Du Mont De Tessala (Algérie Occidentale). Thèse Doctorat En Sciences. Université Djillali Liabes . Sidi Bel Abbès. Alger. p 20.
- 87. Hamza, N. (2011).** Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J. Thèse Doctorat en Science Alimentaire. Université Mentouri .Constantine. p154.
- 88. Hansen, J.m., Zhang, H., Jones, D.p. (2006).** Differential Oxidation Of Thioredoxin-1, Thioredoxin-2, And Glutathione By Metal Ions. *Free Rad Biol Med* . (40):138–45
- 89. Huang Q.F., Zhang S, J., Zheng, L., Huang, R. (2012).** Hepatoprotective Effects Of Total Saponins Isolated From Taraphochlamys Affinis Against Carbon Tetrachloride Induced Liver Injury In Rats. *Food And Chemical Toxicology*.(50): 713-718.
- 90. Huang, D., Prior, R. L. (2005).** The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53, 1841–1856. DOI: 10.1021/jf030723c.
- 91. Ibrahim, N.M., Eweis, E.A., El-Beltagi, H.S., Abdel-Mobdy , Y.E. (2011).** The Effect of Lead Acetate Toxicity On Experimental Male Albino Rat. *Biological Trace Element Research*, 144: 1120-1132. Doi: 10.1007/S12011-011-9149-Z.
- 92. Ikediobi, C.O., Badisa, V.L., Ayuk, T., Latinwo, L.M & West, J. (2004).** Response of antioxidant enzymes and redox metabolites to cadmium-induced oxidative stress in CRL-1439 normal rat liver cells. *Int. J. Molec. Med.* (14): 87-92.
- 93. Jain, S.K & Khamesra D. (2007).** Crataegus oxyacantha a cardioprotective herb. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*. p21.
- 94. Jayaprakasha, G.K., Rao, L. J ., Sakariah, K.K. (2006).** Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food Chemistry* .(98): 720–724.
- 95. Karakaya, S. (2004).** Bioavailability of phenolic compounds. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44 (6): 453-64.
- 96. Kebieche, M. (2009).** Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante, Ranunculus repens L : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Thèse de Doctorat en sciences. Université Mentouri .Constantine, p88.
- 97. Keeffe, E. B. (2005).** Acute liver failure. *Rev Gastroenterol Mex.*, vol. 70, p. 56-62.
- 98. Kesari, A., Kesari, S., Singh, S.k., Watal, G. (2007).** Etudes On The Glycemic And Lipidemic Effect Of Murraya Koenigii On Experimental Animals. *Journal Of Ethnopharmacology*.(112) : 305-311.
- 99. Kim, J., Sharma, R.P. (2004).** Calcium-mediated activation of c-Jun NH2-terminal

kinase (JNK) and apoptosis in response to cadmium in murine macrophages, *Toxicol.Sci.*81: 518-527.

100.Klervi, L.L.(2005). "Connaissance chimio-taxonomique du genre *Turbinaria* et étude des composés de défense de différents espèces de Sargassacées des Iles Salmon (Pacific sud). 210p.

101.Koller, L.D. (1998). Cadmium. Immunotoxicology of Environmental and Occupational Metals. p 41–61.

102.Kouamé, J., Gnoula C., Palé, E., Bassolé, H. I., Guissoul, I.P., Simporé, J., & Nikiéma, J. B.(2009). Etude des propriétés cytotoxiques et anti radicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). Science et technique, Sciences de la santé.(**32**): 1-2.

103.Kremer, B.(2017). Arbres et arbustes. Gunter Steinbach. Disponible sur <http://woodwood.co/fiche-bois/aubepine-commun/> (consulté le 23/05/2017)

104.Kri, M., Messaadia, A & Maldi I.(2013).Protective Effect Of Ginger Against Toxicity Induced By Chromate In Rats. *Ann Biol Clin* .(71):165–73

105.Lapointe, G.(2004).Notions De Toxicologie: Commission De La Santé Et De La Sécurité du Travail (2): 16-20.

106.Laraba, M ., Serrat, A., Ouassaa, G., (2016).Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Université des Frères Mentouri. Constantine.p36.

107.Laroche, L. (2001). Toxicologie générale .p25.

108.Lauwers, R.R. (1999). Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. 4^{ème} (Ed). Paris : Masson.149p.

109.Layachi, N.(2013). L'effet Combiné des Vitamines C (Acide Ascorbique) et E (A-Tocophérol) Sur La Toxicité Du Cadmium Chez Les Rats Wistar. Thèse De Doctorat .Université Baji Mokhtar . Annaba.p105.

110.Lazou, B., Henge, M., Minaro, L., Mirto, H., Barrouill&Cambar, J. (2002).Effects of cadmium and uranium on same in vitro targets. *CellBiology and Toxicology*. (**18**) : 329- 340.

111.Lee, M.R., Yoon , M.Y & Park, H.R.(2008). Methanolic extracts of *Uncaria rhynchophylla* induce cytotoxicity and apoptosis in HT-29 human colon carcinoma cells. *Plant Foods for Human Nutrition* . (63):77-82

112.Leonard, S.S., Harris, G.K.(2004). Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Rad. Biol. Med.* (37):1921-1942.

113.Leong, L.P & Shui, G. (2002).An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem.* **76**: 69-75.

- 114.Liu, L., Howe, P., Zhou, Y.f., Hocart, C., Zhan, R.(2000).** Fatty Acids And Betacarotene In Australian Purslane (*Portulaca Oleracea*) Varieties. *J Chromatogr A.* 893(1): 207-213.
- 115.Ljubuneire, P., portonaya, I., Cognan, U., Azaich, H & Bomzon, A.(2005).** Antioxydant activity of *Crataegus aronia* aqueous extract used in traditional Arab medicine in Israel. *Journal of Euthopharmacology.* (101):153-161.
- 116.Loué, A.(1993) .** Oligo-éléments en agriculture. Ed. Nathan ,p 45-177.
- 117.Mah, V., Jalilehvand F.(2010).** Cadmium (II) Complex Formation With Glutathione. *J Biol Inorg Chem.*(15) :441–58.
- 118.Makhloufi, A. (2009).** *Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (Matricaria pubescens (Desf.) et Rosmarinus officinalis L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru.* Thèse de doctorat d'état en biologie. Université Aboubaker Belkaid. p80.
- 119.Martin, S & Andriantsitohaina, R.(2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Ann. Cardiol. Angéiol.*(51) :304-315.
- 120.Martineau, C.(2008) .** caractérisation de la cytotoxicité et de l'accumulation du cadmium dans différentes lignées ostéoblastiques humaines et murines. Université du québec à montréal.11-15p.
- 121.Marty, J., Moré, J.(1977).** Mise En Evidence D'une Excrétion De L'acide Urique Chez Le Lapin Porteur D'une Poche Cæcale. *Ann Res Veter.*(8) :67–71
- 122.Massacrier, N.(2015).**Phytothérapie et ménopause Interaction plantes et médicaments. Participation à Hedrine. Université Joseph Fourier de Grenoble. France . p38
- 123.Meiling, R.L.(1937).** L'utilisation pratique des haws, *Crataegus oxyacantha*, comme source de vitamine C dans le régime quotidien. *Zentralblatt fur Innere Medizin* .(58): 289-302.
- 124.Ménager, MT., Garnier, J & Gayffon, M (2009).**Toxicologie Nucléaire Environnementale Et Humaine. (Éd): Technique Et Documentation, Paris,p 264.
- 125.Messaadia, A., Saka, S., Krim, M.(2013).** Ginger-Supplemented Diet Ameliorates Ammonium Nitrate-Induced Oxidative Stress In Rats. *Afr J Biotechnol.*(12): 09–59.
- 126.Miguel, M.(2008).** Contamination en métaux lourds des eaux de surface et des sédiments du Val de Milluni (Andes Boliviennes) par des déchets miniers Approches géochimique, minéralogique et hydrochimique. Thèse doctorat. Université Paul Sabatier. Français. p88.
- 127.Milton, S., Shagirthab, K& Renugadevia J.(2011).** Quercetin InCombination With Vitamins (C And E) Improve Oxidative Stress And Hepatic Injury In Cadmium Intoxicated

Rats. Biomedicine & Preventive Nutrition . (1) : 1–7.

128.Missoun, F., Slimani, M., Aoues , A.(2010). Toxic Effect Of Lead On Kidney Function53In Rat Wistar. African Journal Of Biochemistry Research. 4(2): 21-27.

129.Mohand, A.Y.(2006)."Plantes Médicinales De Kabylie (Préface Du Docteur Jean-Philippe Brette). Éd .Ibis Press .Paris. pp 99-102.

130.Moreira, E.G., Jordao, G., Magalhaes, R., Barros , S & Vassillieff, I. (2001). Antioxidant Defense In Rat Brain Regions After Developmentallead Exposure. Toxicology, 169: 145–151. Doi: 10.1016/S0300-483x(01)00497-8.

131.Mosaad, A., Abd-Allah, Y.(2004). Evaluation Of Some Biochemical Changes In Diabetic Patients. Clinica Chimica Acta. (346): 161-170.

132.Muanda, F.N. (2010). Identification de polyphenols, évaluation de leur activite antioxydante et etude de leurs proprietes biologiques. Thèse de Doctorat en Chimie organique. Université Paul Verlaine-Metz.p96.

133.Murray, R. (1984). Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin chem the C.V.Mosby Co. St louis. toronto. Princeto:1112-116. Cité par fiche technique SPINREACT. Ref: 1001160.

134.Murray, R., & Kaplan, A. (1984). ClinChem The C.V.Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton, 1088-1090.

135.Nadal, B. (2009). Synthèse et évaluation de nouveaux agents de protection contre les rayonnements ionisants. Thèse de Doctorat en Chimie Organique. Université Paris sud XI.p69.

136.Naito, H.K & Kaplan, A. (1984).Clin Chem. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton.(25): 1194-11206 .

137.Nakib, (2010). Mise au point d'une technique d'extraction des elements traces metalliques dans les produits de la mer et leurs dosages par spectrophotometrie d'absorption atomique.Magister en médecine vétérinaire. Universite mentouri .Constantine. 29-35p.

138.Nies, D.H.(1990). « Microbial heavy-metalresistance. »*ApplMicrobialbiotechnol* .51(6) :730-50.

139.Niosh, K .(1994). Pocket Guide to chemicals hazards. US Government Printing Office, EdUS Department of Health and Human Services Publications. US Government PrintingOffice. 94-116p.

140.Niyah G., Watcho P., Nguelefack, T & Bet Kamanyi A.(2005).Hypoglycaemic Activity Of The Leaves Of *Bersama Engleriana* In Rats. Afr J Trad. 2(3): 215-221.

141.Niyah, N.G., Watcho P., Nguelefack T.B., Kamanyi A.(2005).Hypoglycaemic Activity Of The Leaves Of *Bersama Engleriana* In Rats. Afr J Trad. Vol. 2(3): 215-221.

- 142.Njoku, O.V.(2009).**Phytochemical constituents of some selected medicinal plants. Afr J Pure Appl Chem. 3(11):228-233.
- 143.Nohl, H., Kozlov, A.V., Gille, L., Staniek K. (2003).**Cell respiration and formation of reactive oxygen species: facts and artefacts. *Biochem. Soc. Trans.* (31):1308-1311.
- 144.Oehha, Q.(2006).** Public heath goals for chemicals in drinking water. Cadmium,p82.
- 145.Ocde.(2008).** Etude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. In : Lignes directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. Paris. pp1-14.
- 146.Oliveira, H.C., Santos, M.P., Grigulo, R., Lima, L.L., Martins, D., Lima, J., Stoppiglia, L.F., Lopes, C.F., Kawashita, N.H.(2008).** Antidiabetic Activity Of Valairea Macrocarpa Extract In Rats. *Journal Of Ethnopharmacology.* (111): 515-519.
- 147.Oliver, J. A. (1986).** Opportunities for using fewer animals in acute toxicity studies. In *Chemicals Testing and Animal Welfare (The National Chemicals Inspectorate).* Sweden : Solna. pp119-142.
- 148.OMS (Organisation Mondiale De La Santé).(2007).** Prévention Et Contrôle DuDiabète :Une Stratégie Pour La Région Africaine De L'oms . Comité Régional De L'afrique. Brazzaville. Congo.43 P.
- 149.Patrick, J & Henry, M.(1996).**A Milton Herbal. *Milton Quarterly Journal.*(30):72-80
- 150.Pélagie, Y., Alexis, T., Koudorom, Y., Agbangnan, P., Ndahischimiye, V., Sébastien, D.T., Wotto.D., Azandégbé, E.S., & Sohounhloue, D. (2015).** Comparativestudy of phenolic compounds and radical-scavenging activityof the extracts of seeds ofGarcinia kola (Guttiféreae) and Cucumeropsis edulis (cucurbitacéae) of Benin.*International Journal of Innovation and Scientific Research.*(15): 217-227.
- 151.Perez, G., Zavala, S& Perez.(1998).** Antidiabetic Effect Of Compounds Islated From Plants .*Phytomedicine.*(5) :55-75.
- 152.Petereit, F., Kuczkowiak U & Nahrstedt, A. (2000).**Hydroxycinnamic Acid Derivatives Obtained from a Commercial Crataegus Extract and from Authentic Crataegus .*Scientia Pharmaceutica.* p66.
- 153.Pittler, M.H., Schmidt K & Ernst E.(2003).**Hawthorn extract for treating chronic heart failure: meta-analysis of randomizedtrials .*Journal of Medicine. American .* (114): 665-674.
- 154.Plumlee, G.S ., Ziegler, T.L.(2003).**The medical geochemistry of dust, soils and other earth materials. In: B.S. Lollar (Ed.), *Environmental Geochemistry. Treatise on Geochemistry.* Elsevier-Pergamon, Oxford, pp. 264-310.
- 155.Plumlee, G.S et Ziegler T.L.(2003).**The medical geochemistry of dust, soils and other earth materials. In: B.S. Lollar (Ed.), *Environmental Geochemistry. Treatise on*

Geochemistry. Elsevier-Pergamon, Oxford, pp. 264-310.

156.Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999).Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, pp 337-341. Doi :10.1006/abio.1999.4019.

157.Ré, D.B., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian, L & Aissouni, L.(2005). Cerebral oxidative stress: are astrocytes vulnerable to low intracellular glutamate concentrations? Consequences for neuronal viability. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 24,502–509. doi: 10.1016/j.annfar.2005.03.004.

158.Réka, S &Ilona, S.(2002). Total antioxidant power in some species of Labiatae (Adaptation of FRAP method). 46(3-4):125-127. En ligne: <http://www.sci.u-szeged.hu/ABS>.

159.Roques, H.(2016). Précis de Botanique Pharmaceutique-Phanérogamie Tome II. Société anonyme (Ed). Médicales et scientifiques. Paris. p78.

160.Rosalki, S. (1993). Alkaline phosphatase. *Clin. Chem.* 39 (4): 648-652.

161.Salem, M .(2005).Immunomodulatory And Therapeutic Properties Of Nigella Sativa L. Seed. *Int Immunopharm.* (5):1749–70.

162.Sandhar, H.K., Kumar B., Prasher S., Tiwari P., Salhan M. & Sharma P. (2011). A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1 (1): 25-41.

163.Sergent, O., Griffon, B., Cillard, P., & Cillard, J. (2001). Alcool et stress oxydatif.*Pathologie Biologie*, 49(9), 689-95. doi:10.1016/S0369-8114(01)00244-9.

164.Sharma, C .(2007). Cadmium metal Part II : Human Health : Risk Assessment - cadmium. Communauté Européenne. Bruxelles. Belgique ,p55.

165.Shotyk, W., Blaser, P., Grunig, A & Cheburkin, A.K.(2000).A new approach for quantifying cumulative, anthropogenic, atmospheric lead deposition using peat cores from bogs: Pb in eight Swiss peat bog profiles. *Science of The Total Environment*. 249(1-3): 281-295.

166.Singhal, R.k., Anderson, M.E., Meister, A .(1987).Glutathione, A First Line Of Defense Against Cadmium Toxicity. *Fed Am Soc Exp Biol.* (1):220–3

167.Sokol, L.A., Oszmiansk, J & wojdylo, A. (2007)."Antioxydant activity of the phenolic compounds of Hawthorn, pine and skullcap." *Food chemistry*. (103): 853-859.

168.Southon, S., Gee, J., &Johnson, I.T., (1984). Hexose transport and mucosal morphology in the small intestine of the zinc-deficient rat. *Brit J Nutr.* 52(5), 371.

169.Stohs, S.J., Bagchi, D. (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic. Biol. Med.* (18):321-336.

- 170.Svedstrom, U., Vuorela, H., Kostianen, R., Tuominen, J., Kokkonen, J., & Rauha, J.(2002).** Isolement et identification des procyanidins oligomères des feuilles et des fleurs de crataegus. *Photochemistry*. (60): 821-825.
- 171.Sylvie S.(2003).** Toxicité Du Cadmium Chez Les Têtards De La Grenouille Verte (Rana Clamitans, Latreille). Université Du Québec. Italie. p203.
- 172.Takhtajan, A.(1893).** Diversity and Classification of Flowering Plants. Columbia University Press. New York. America. p 65.
- 173.Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J., & Hilali, A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la Nigella sativa L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of Nigella sativa L.). *Mater. Environ. Sci*, 6 (4), 1111-1117.
- 174.Tigrine, S., Moudache., K.(2013).** Activité antioxydante des extraits polyphénoliques De l'aubépine. Département des sciences alimentaires. Bejaia. p 55.
- 175.Tigrine, C.(2014).** Effets Anticancéreux et Chimioprotecteur de L'extrait Polyphénolique, Riche En Flavonoïdes, des Feuilles de Cléome Arabica. Thèse Doctorat. Algerie.p55.
- 176.Timbrell, J.(2000).** Principles Of Biochemical Toxicology. Taylor Et Francis. (3):1-390
- 177.Tolman, K.G (2007).** Dalpiaz AS. Occupational and environmental hepatotoxicity. In:Kaplowitz N, DeLeve LD. Editors. Drug-induced liver disease. New-York.London.Informa Healthcare, p.755-70.
- 178.Turkmen, N., Velioglu, Y., Sari, F & Polat, G. (2007).** Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, **12**: 484-496.
- 179. Tron, I., Piquet, O., Baert, A. & Mouton, C. (2002).** Toxon Manuel de Toxicologie. Guide technique. ADEME: Angers. 128p.
- 180.Uzun, F.G., Kalender, S., Durak, D., Demir, F., Kalender, Y(2009).** Malathion-Induced testicular Toxicity In Male Rats And The Protective Effect Of Vitamins C And E. *Food Chem. Toxicol.* (47) : 1903–1908.
- 181.Valco, M., Rhodes, Cj., Moncol, J.(2006).** Free Radicals, Metals And Antioxidants In Oxidative Stress Induced Cancer. *Chem Biol Interact* .(160) :1–40
- 182.Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J.(2007).** Free Radicals And Antioxidants In Normal Physiological Functions And Human Disease. *Int J Biochem Cell Biol* .(39) :44–84
- 183.Vanhaelen, R.(1989).** densitometric determination of 2,3- procyanidin monomer and oligomers from Hawthorn (Crataegus laevigata and C. monogyna). *Journal of Pharmaceutical*

and Biomedical Analysis. American. p30.

184.Vats, V., Yadav, S., Grover, J.K.(2004).Ethanollic Extract Of Ocimum Sunctum LeavesPartially Attenuates Streptozotocin-Induced Alterations In Glycogen Content And Carbohyd Rate Metabolism In Rats. *J Ethnopharmacol.* (90) : 155-160.

185.Viau, C& Tardif, R.(2003). Toxicologie. In : Environnement et santé publique fondements et pratiques. Paris. pp119-143.

186.Virginie, G., Mèdoatinsa, S.E., Nonviho, G., Bogninou, G.S.R., Agbangnan, D.C. P., & Sohounhloué, C. K. D.(2015). Etude chimique et évaluation de l'Influence de la granulométrie sur la cinétique d'extraction des polyphénols naturels de *Pterocarpus erinaceus* acclimaté au Bénin. *International Journal of Innovation and Applied Studies.* 12(.2):325-333.

187.Vouldoukis, I., Conti M., Krauss P., Blazquez S., Tefit M., Mazier D., Calenda A. & Dugas B. (2004). Supplementation with gliadin-combined plant superoxide dismutase extract promotes antioxidant defences and protects against oxidative stress. *PhytotherRes.* **18** (12): 957-62.

188.Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B., & Beyersmann, D. (2003).Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology .(192):*95-117.

189.Walters, M., & Gerarde, H., (1970). *Microchem J*, 15, 231-243. Cité par fichetechnique BIOLABO. Réf. 80403.

190.Wamick, G., & Wood, D. (1995). National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol : Executive Summary, *Clinical Chemisfry.*(41): 1427-1433.

191.Wang, J., Yang, Z., Lin, L., Zhao, Z., Liu, Z. & Liu, X.(2012).Protective effect of Naringenin against lead-induced oxidative stress in rats. *Biological Trace Element Research,* 146:354–359. doi: 10.1007/s12011-011-9268-6.

192.Wang, J., Yang, Z., Lin, L., Zhao, Z., Liu, Z. et Liu X.(2012). Protective effect ofNaringenin against lead-induced oxidative stress in rats. *Biological Trace Element Research,* 146:354–359. doi: 10.1007/s12011-011-9268-6.

193.Wardman, P., Candeias, L.P. (1996). Fenton chemistry: an introduction. *Radiat. Res.* (145):523- 531.

194.Weckbercker, G&Cory, J.G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growthof glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters.* 40(3): 257-264.

195.Wichtl, M., Anton, R .(2003). Plantes thérapeutiques ; Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique .(Ed). Tec et Doc .p 692.

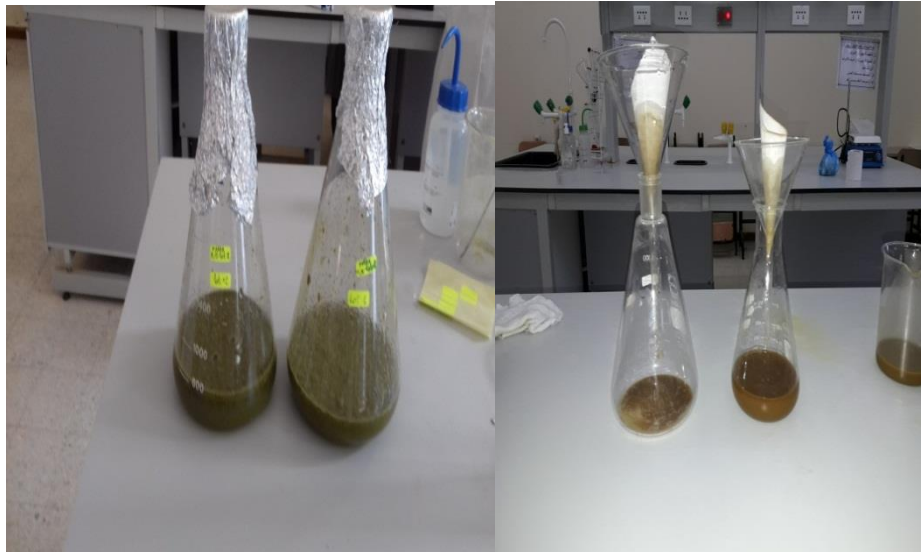
196.Yagi, K. (1976). Simple Fluorometric Assay for lipoperoxyde in blood plasma. *Biochemical. Medecine.*(15):212-216.

197. Yanar, M., Ercisli, S., Yilmaz, K.U., Sahiner, H., Taskin, T., Zengin, Y., Akgul, & Celikm F.(2011). Morphological and chemical diversity among hawthorn (*Crataegus* spp.) genotypes from Turkey. *Scientific research and essays*. 6(1):35- 48.
198. Yi, Z.B., Yan, Y., Liang, Y & Zeng, B.(2008). *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of Pericarpium Citri Reticulatae of a new Citrus Cultivar and its main flavonoids. *LWT-Food science and technology*. (41): 597-603.
199. Yoo, K. M, Lee, H. C., Moon B & Lee, C. Y.(2008). Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs . *Food chemistry*.(106) : 929-936.
200. Young, D.S. (1995). *Effects of drugs on Clinical Lab. Tests*. (Ed). AACC. Press. p17.
201. Zeghad, N.(2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse magiste .Constantine. Algérie. p2.
202. Zeghad, N. (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne Thèse de magister. Université Mentouri .Constantine. p11.
203. Zelimir, B.(2010). Arboretum du Petit Charme Forêt domaniale .Université de Zagreb. Roumare. Irlande. p 28.
204. Zhang, D., Zhang, Y., Yin, J & zhao, B .(2004). Oral administration of *Crataegus* flavonoids protects against ischemia reperfusion brain damage in gerbils. *Journal of Neurochemistry*. (90):211-219.
205. Zhang, M., Cui, L., Sheng, L., Wang, Y. (2009). Distribution and enrichment of heavy metals among sediments, water body and plants in Hengshuihu Wetland of Northern China. pp563 –569.
206. Zhou I., Zhou S., Tang J., Zhang K., Guang L., Huang Y., Xu Y., Ying Y., Zhang L., Li D.(2009). Protective Effect Of Berberine On Beta Cells In Streptozotocin And High-Carbohydrate/High-Fat Diet-Induced Diabetic Rats. *European Journal Of Pharmacology*. Vol. 606 : 262-268.
207. Zhou, I., Zhou, S., Tang, J., Zhang, K., Guang, L., Huang, Y., Ying, Y & Zhang, L. (2009). Protective Effect Of Berberine On Beta Cells In Streptozotocin High-Carbohydrate/High-Fat Diet-Induced Diabetic Rats. *European Journal Of Pharmacology*.(606) : 262-268.
208. Zorrig, W.(2010) .Recherche et caractérisation de déterminants contrôlant l'accumulation de cadmium chez la laitue "*Lactuca sativa*". thèse doctorat en Physiologie végétale et biologie moléculaire. Université Tunis El Manar. 15-20-24-29p.
209. Zouainia, S.(2017). Evaluation de la toxicité de deux métaux lourds (cadmium et zinc)

sur le métabolisme énergétique (respiratoire et photosynthétique) d'une plante aquatique « *elodea canadensis* ». Thèse doctorat. Annaba. p75.

210. Zouainia, S.(2017). Evaluation de la toxicité de deux métaux lourds (cadmium et zinc) sur le métabolisme énergétique (respiratoire et photosynthétique) d'une plante aquatique « *elodea canadensis* ». Thèse doctorat. Annaba, p75.

Annexes



Annexes 01 : Préparation des extraies aqueux de *Crataegus laevigata*

(Originale, 2019)



Annexes 02: Résultat des tests phytochimiques de *Crataegus laevigata*

(Originale, 2019)



Annexes 03:Spectrephotomètre



Annexes 04: Administration de l'extrait de *Crataegus laevigata* par gavage gastrique (Originale, 2019)



Annexes 05 :Injection intrapéritonéale de cadmium 5 mg / kg/ jour.

PRESENTATION

Ref: 20121, (1000 tests) R1 : 2 x 500 ml R2 : 2 flacons (lyophil) R3 : 2 x 6 ml	Ref: 20124, (2000 tests) R1 : 6 x 500 ml R2 : 6 flacons (lyophil) R3 : 2 x 11 ml	Ref: 20127, (600 tests) R1 : 4 x 100 ml R2 : 4 flacons (lyophil) R3 : 1 x 5 ml
Ref: 20122, (2000 tests) R1 : 2 x 1000 ml R2 : 2 flacons (lyophil) R3 : 2 x 11 ml	Ref: 20126, (1000 tests) R1 : 5 x 200 ml R2 : 5 flacons (lyophil) R3 : 2 x 6 ml	

PRINCIPE
Détermination enzymatique du glucose selon les réactions suivantes :

$$\text{Glucose} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Glucose oxydase}} \text{Acide gluconique} + \text{H}_2\text{O}_2$$

$$2 \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Phénol} + 4 \text{Amino-antipyrine} \xrightarrow{\text{Péroxydase}} \text{Quinoléine rose} + 4\text{H}_2\text{O}$$

REACTIFS

Réactif 1	Tampon Tris pH: 7	100 mmol/l
Solution tampon	Phénol	0,3 mmol/l
Réactif 2	Glucose oxydase	1000 U/l
Enzymes	Péroxydase	1000 U/l
	Amino-antipyrine	2,0 mmol/l
Réactif 3	Glucose	100 mg/l
Standard		5,56 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE
Dissoudre le lyophilisat R2 dans le tampon R1.
Protéger de la lumière.
Stabilité du réactif de travail
Température : 37 °C (20-25°C)
- 6 mois à 2 - 8°C

ECHANTILLONS
Sérum (non hémolysé)
Plasma recueilli sur fluorure-héparine ou héparine-iodo-cétate (non hémolysé)
Liquide Céphalo-rachidien.

MODE OPERATOIRE
Longueur d'onde : 505 nm (492-550)
Température : 37 °C (20-25°C)
Cuve : 1 cm d'épaisseur
Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10 µl	--
Echantillon	--	--	10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger, lire les DO après une incubation de 10 minutes à 37 °C ou 30 mn à 20-25 °C.
La coloration est stable 30 minutes.

GLUCOSE
Méthode enzymatique (GOD - PAP)

CALCUL

$$\text{Glucose} = \frac{\text{D.O Echantillon}}{\text{D.O Standard}} \times n$$

mg/dl n = 100
g/l n = 1
mmol/l n = 5,56

LINEARITE
La méthode est linéaire jusqu'à 5 g/l (500 mg/dl - 27,8 mmol/l).
Si la concentration en glucose est supérieure à 5 g/l, recommencer le dosage sur l'échantillon dilué au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l. Multiplier le résultat par 2.

VALEURS USUELLES

Sérum, plasma	70 - 105 mg/dl 0,70 - 1,05 g/l 3,89 - 5,84 mmol/l
Liquide céphalo rachidien	50 - 70 mg/dl 0,50 - 0,70 g/l 2,78 - 3,89 mmol/l

NOTES
Les substances suivantes n'interfèrent pas : Hémoglobine (jusqu'à 4 g/l), Bilirubine (jusqu'à 200 mg/l), créatinine (jusqu'à 100 mg/l), Galactose (jusqu'à 1 g/l) et EDTA (jusqu'à 2 g/l).

BIBLIOGRAPHIE
Dingemans B., Ann. Biol. Clin. 33,3 (1975)
Lot J.A. Clin. Chem. 21, 1754 (1975)
Trinder P. Ann. Clin. Biochem. 6,24 (1969)

PRESENTATION

Ref: 20011, (50 Tests) R1 : 1 x 65 ml R2: 20 x 5 ml (lyophil)	Ref: 20012, (100 Tests) R1 : 1 x 130 ml R2: 40 x 10 ml (lyophil)	Ref: 20012G, (110 Tests) R1 : 2 x 55 ml R2: 2 x 55 ml (lyophil)
Ref: 20012S, (600 Tests) R1 : 6 x 50 ml R2: 6 x 50 ml (lyophil)	Ref: 20012L, (500 Tests) R1 : 1 x 500 ml R2: 10 x 10 ml	

PRINCIPE
Détermination cinétique de l'activité lactate déshydrogénase. Selon les recommandations de la Société Française de Biologie Clinique (SFBC), la réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif. Le schéma réactionnel est le suivant:

$$\text{Pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{L-Lactate} + \text{NAD}^+$$

Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité lactate déshydrogénase dans l'échantillon.

REACTIFS

Réactif 1	Tampon Tris pH 7,2	80 mmol/l
Solution tampon	Pyruvate	1,6 mmol/l
	NaCl	200 mmol/l
Réactif 2	NADH	0,2 mmol/l
Coenzyme		

PREPARATION ET STABILITE
Prendre le substrat R2 par 3 ml (Ref 20011) ou 10 ml (Ref 20012 / 20012S) de Tampon R1
Pour les réf (20012S) et (20012L), reconstituer chaque flacon R2 par 1 flacon de R1.
Cette solution de travail est stable 15 jours à 2-8°C ou 24 heures à 20-25°C.

ECHANTILLON
Sérum ou plasma hépariné sans hémolyse.

MODE OPERATOIRE
Longueur d'onde.....340 nm
Température.....30-37°C
Cuve.....1 cm d'épaisseur
Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

Solution de travail	1 ml	3 ml
Préincuber à la température choisie (30 ou 37°C)		
Echantillon	20 µl	60 µl

Mélanger et incuber 1 minute.
Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minutes.

LDH
Méthode cinétique SFBC

CALCUL
à 340nm ADO/min x 8095 - U/l

LINEARITE
Si la ADO/min à 340 nm est supérieure à 0,160
Répéter le test en diluant l'échantillon au 1/10 avec une solution de NaCl à 9 g/l. Multiplier le résultat par 10.

VALEURS USUELLES

	30°C	37°C
Adultes	140 à 280 U/l	230 à 430 U/l
Enfants de 0 à 6 mois	415 à 600 U/l	565 à 940 U/l

REMARQUE
L'hémolyse peut interférer.

BIBLIOGRAPHIE
Bergmeyer, H.U., J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 13,507 (1975).
Howell B.F. and coll. Clin. Chem. 25, 269 (1979).
Commission Enzymologie - SFBC - Inform. Sci - Biol - 1981,5.

Annexes 06: La fiche technique de dosage de la glycémie et LDH

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère des Ressources en Eau et l'environnement
Office National de l'Assainissement
Direction de l'Assainissement d'El Oued

O N A

وزارة الموارد المائية والبيئة
الديوان الوطني للتطهير
مديرية التطهير بالوادي

Complexe d'Assainissement El-Oued SUD
STEP 01 Kouinine

مركز التطهير الوادي-جنوب
محطة التصفية 01 كوينين


El-OUED : 14/05/2019

Fiche D'analyse

- Les analyses de cadmium

les chantillons	Resultats	Unité	Norme
C9	0.687	mg/l	<2

Analyste laboratoire



Annexes 07: Les analyses de cadmium

المخلص :

الهدف من العمل هو دراسة النشاطية البيولوجية للمستخلص المائي لنبات الزعرور البري من مدينة عنابة ، من جهة أخرى التأثير الوقائي لمكونات النشطة المستمدة من هذا النبات على جردان الأنثوية مصابة بالتسمم عن طريق التعرض للكاديوم بمعدل 5ملغ/كغ لمدة 15 يوما . الدراسة التجريبية أجريت في المختبر على 15 جرد من سلالة ويستار مقسمة إلى ثلاثة مجموعات ، خمسة فئران في كل منها . المجموعة الأولى غير معالجة إذا كشاهد، المجموعة الثانية المعرضة بالكاديوم و المجموعة الثالثة المعرضة بالكاديوم ومعالجتها باستخدام الزعرور البري.

يوضح التحليل الكيميائي النباتي أن المستخلص يحتوي على مادة البوليفينول بكمية (70.20 ± 0.36) ميكروغرام المكافئة للحمض الغاليك /ملغ من الكتلة الجافة) ، الفلافونويد (15.29 ± 0.135 ميكروغرام المكافئة للكروستين /ملغ على الكتلة الجافة) ، تينينات الكاتشيك (0.29 ± 0.013 ميكروغرام المكافئة للكاتشين /ملغ من الكتلة الجافة) وتينينات الكلية (10.48 ± 0.052 ميكروغرام المكافئة للحمض الغاليك /ملغ من الكتلة الجافة). تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة عن طريق الإختبارات . FRAP, PM, DPPH أظهر النبات قدرة مضادات الأكسدة كبيرة.

من تحليل نتائجنا ، نلاحظ انخفاضا كبيرا في وزن الجسم الجردان الملوثة بالكاديوم وزيادة ملحوظة في الوزن النسبي للأعضاء المدروسة (القلب والكبد) . أظهرت النتائج أيضا تغيرات مهمة في المعايير الكيميائية الحيوية التي تتميز بشكل أساسي بزيادة تركيز مصل creatinine ونشاط الترانساميناز (TGO, TGP) ، PAL ، للدم في الجردان المصابة . بالإضافة إلى ذلك خفض هذا النبات من الإجهاد التأكسدي الذي تبين في إنخفاض في محتوى malondialdehyde (MDA) ، وزيادة في مستويات الجلوتاثيون المنخفضة (GSH) في الكبد والقلب .

تؤكد هذه الدراسة أن *Crataegus laevigata* ذات تأثير وقائي ضد السمية الناجمة عن الكاديوم والأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي .

الكلمات المفتاحية : *Crataegus laevigata* ، الكاديوم ، السمية ، النشاطية المضادة للأكسدة ، الإجهاد التأكسدي .

Résumé:

L'objectif de ce travail d'une part, est l'étude phytochimique et l'activité biologique (antioxydante) d'extrait aqueux de *Crataegus laevigata* issue d'Annaba, d'autre part pour évaluer l'effet protecteur des principes actifs dérivés de cette plante sur des rates Wistar *Albinos* atteint d'une toxicité par administration de cadmium 5mg/kg pendant 15 jours. Ces rates sont réparties en trois lots de cinq rates chacun dont le premier lot sert comme témoin, le second est un lot contaminé par le cadmium et le troisième lot contaminé par le cadmium et traité par *Crataegus laevigata*. L'analyse phytochimique montre que notre extrait contient de polyphénols avec une quantité de $70.207 \pm 0.369 \mu\text{g}$ équivalent d'acide gallique/ mg de la matière sèche, flavonoïdes $15.29 \pm 0.135 \mu\text{g}$ équivalent de quercétine/mg de la matière sèche, tannins catéchiques $0.29533 \pm 0.013 \mu\text{g}$ équivalent de catéchine/mg de la matière sèche et tannins totaux $10.48 \pm 0.052 \mu\text{g}$ équivalent d'acide gallique/ mg de la matière sèche. L'activité antioxydante a été évaluée par des tests chimiques tels que les tests de PM, DPPH et le FRAP qui ont révélé une très importante activité attribué à cette espèce. À partir de l'analyse de nos résultats, on observe une diminution hautement significative considérable du poids corporel des rates contaminées au cadmium et une augmentation significative du poids relatif des organes prélevés (foie et cœur). Les résultats ont montré aussi des changements notables dans les paramètres biochimiques caractérisés surtout, par une augmentation significative de la concentration sérique de la créatinine, L'activité des transaminases (TGO, TGP) et de phosphatase alcaline chez les rates contaminées. En outre, cette plante a diminuée le stress oxydatif qui est traduit par une diminution de la teneur en malondialdéhyde (MDA), une augmentation du taux du glutathion réduit (GSH) dans les foie et cœur .La présente étude confirme que de *Crataegus laevigata* peut avoir un effet protecteur vis-à-vis la toxicité induite par le cadmium et les pathologies associées au stress oxydatif.

Mots clés: *Crataegus laevigata*, Cadmium, Toxicité, Stress oxydant, Activité antioxydante.