



République Algérienne Démocratique et Populaire

N série:.....

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمزة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : **Biochimie appliquée**

THEME

Etude de l'effet de *Aquilaria malaccensis*, le Sélénium et le SeNPs sur des troubles physiologiques et métaboliques induits par le plomb chez des rattes gestantes

Présentés Par :

Melle Ahmouda Ibtissam

Melle Moussaoui Rokaya

Devant le jury composé de :

Président :	Mr Saadi Hamza	(MAA)	Université d'El Oued.
Examinatrice :	Mme Bekkouche Amel	(MAA)	Université d'El Oued.
Promoteur :	Dr. Derouiche Samir	(MCA)	Université d'El Oued

Année universitaire 2018/2019

Dédicaces

Une dédicace particulière et sincère à notre directeur Mr DEROUCHE SAMIR.

Je Dédie ce modeste travail

*À ma cher mère HAMIDA MABROUKA et mon cher père NADJIB pour leur
endurance et leurs sacrifices illimités*

*À mes frères: NABIL, WALID, RACHID et TAHA et mes sœurs: MOFIDA
KAOUTHAR DALAL et RATIBA*

en reconnaissance de leur affection toujours constante

*À tous mes proches, mes camarades de promotion, mes amis: TOURKIA et
DOAA*

IBTISSAM

Je Dédie ce modeste travail

*À mon père LAMINE ; ma mère BAHRI SALIHA , pour leur endurance et
leurs sacrifices sans limites*

*À mes frères BADERIDDINE ABEDALRAHMANE et
MOHAMEDALGHAZALI et mes sœurs KHAOULA ASMA KAOUTHAR
KHOLOUD et CHAIMA, .*

*À mon oncle MOHAMED . mon amis HAKIMA. À tous mes proches, mes
camarades de promotion.*

ROKAYA

Remerciements

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

À nos présidents de mémoire, Mr SAADI Hamza, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse. Hommage respectueux,

À notre jury de mémoire M^{me} BEKKOUCHE Amel, qui nous ont fait l'honneur de juger ce travail que ce travail soit le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

À notre encadreur de mémoire Mr DEROUICHE SAMIR, pour avoir accepté de nous encadrer, pour son dynamisme, son aide et ses précieux conseils, nous ont permis d'avancer plus loin dans mes recherches. de nous avoir accordé sa confiance en nous acceptant pour travailler sur ce sujet avec lui. Il a suivi nos travaux avec intérêt tout en nous prodiguant des conseils toujours justes et il a su nous redonner courage et aider à traverser des moments difficiles et des instants de doute. Aussi pour son soutien, son attention, son qualités humaines. Pour tout cela, nous tiens à lui exprimer toute nos gratitude et tous particulièrement à le remercier profondément.

On adresse nos sincères remerciements à tout l'ensemble des membres du laboratoire faculté de la science de la nature et de la vie, Université EL-chahid HAMMA LAKHDAR,

El-oued.

Nos respects et reconnaissance sont adressés à M^{elle} BECH NADJIA techniciens au laboratoire de l'urgence médicale DEBILA d'El-oued.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de traitement par *Aquilaria malaccensis*, le sélénium et le SeNPs sur certains paramètres biochimiques, hématologiques et de stress oxydant, chez des ratte gestantes exposées de façon aigue à l'acétate de plomb. Dans notre étude expérimentale on a utilisé 25 ratte Wistar , répartis en cinq groupes (n=5) dont le premier groupe sert de témoin, le second est exposé au plomb, le troisième est exposé au plomb et traité par le Sélénium, le quatrième est exposé au plomb et traité par le sélénium Nanoparticule (SeNPs) et le cinquième groupe est exposé au plomb et traité par *Aquilaria malaccensis*. L'exposition au plomb à raison de (100mg/kg P. C.) pendant 20 jours. Le traitement par les différentes systèmes thérapeutique est appliqué pendant 10 jours. Quelque analyses quantitatives et qualitatives et activités biologiques a été réalisé dans l'étude in-vitro et des paramètres biologiques sanguine et tissulaires a été dosé dans l'étude in-vivo sur les ratte. Les résultats obtenues montrent bien que notre plantes est très riche en différentes métabolites secondaires notamment les polyphénols et flavonoïdes. À partir de l'étude in-vivo, Les résultats des paramètres biochimiques ont montré une augmentation significative ($p < 0.05$) du taux de plomb et glycogène hépatique, de la concentration sérique du cholestérol, Acide urique, Urée et activité des transaminases (TGO et TGP) chez le groupe exposé au pb par rapport au témoin . Les résultats obtenus révèlent également une toxicité hématologique et stress oxydatif chez les ratte gestantes contaminées par le plomb, avec une diminution significative ($p < 0.05$) du taux des GR, GB , VGM et Hb , le GSH et l'activité de SOD tissulaire et une augmentation significative ($p < 0.05$) du taux de l'MDA tissulaire, activité antioxydant totale sérique et l'activité de GST hépatique et rénale en comparaison avec les ratte témoins. Le traitement par Sélénium , le SeNPs et *A. malaccensis* est partiellement amélioré les paramètres biochimiques et hématologiques avec protection des tissus contre les attaques radicalaires (stress oxydatif) provoquées par le plomb. En conclusion, ce travail montre que le Se et *A. malaccensis* ont des effets bénéfiques contre la toxicité de plomb au niveau moléculaire et tissulaire avec des effets encourageuses de SeNPs qui nécessite des amélioration au niveau de la dose et le mode d'administration pour augmenter l'effet thérapeutique présenter dans notre travail.

Mots clés: Plomb, Sélénium , SeNPs , *Aquilaria malaccensis* , stress oxydant, ratte Wistar.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير المعالجة بنبات العود و عنصر السيلينيوم والنانوسيلينيوم المركب بالطريقة البيولوجية على بعض المعايير البيولوجية ومعايير الدم و الاجهاد التأكسدي على فئران حوامل معرضة لتسمم حاد بعنصر الرصاص (100مغ / كغ) لمدة 20 يوم. هذه الدراسة اجريت على 25 فأرة من سلالة وستار حيث بعد وضعها في حالة حمل قسمت الى خمس مجموعات : المجموعة الاولى شاهدة والثانية ملوثة بالرصاص والثالثة ملوثة بالرصاص ومعالجة بالنانوسيلينيوم والرابعة ملوثة بالرصاص ومعالجة بنبات العود والخامسة ملوثة بالرصاص ومعالجة بالسليينيوم . تم اجراء بعض التحاليل البيولوجية وتحديد مكونات دم للفئران لدراسة تأثير العلاج بمختلف المواد المذكورة سابقا لمدة 10 ايام ضد التسمم بالرصاص. النتائج المتحصل عليها اظهرت ان نبات العود غني بالعناصر الكيميائية خاصة الفينولات والفلافونويدات. كما لاحظنا من خلال النتائج زيادة في تركيز الرصاص والجليكوجين في الكبد والكولسترول والبولة وحمض البولة وانزيمات نقل الامين في المصل مع انخفاض في كريات الدم الحمراء والبيضاء والصفائح الدموية والهيموغلوبين و في نشاط انزيم سوبراكسيد ديسميوتاز. من جهة اخرى لاحظنا زيادة في نشاط اكسدة الدهون ونشاط انزيم نقل الغلوتاثيون عند مجموعة الفئران الحوامل و المسممة بالرصاص مقارنة مع الفئران الشاهدة. من خلال النتائج المتحصل عليها وجدنا ان العلاج بنبات العود وعنصر السيلينيوم و بالنانو سيلينيوم يحسن جزئيا المعايير البيولوجية مع حماية جزئية من النشاط التأكسدي الناجم عن التسمم بالرصاص عند الفئران اثناء الحمل. وفي الاخير تبين الدراسة ان معالجة الفئران اثناء الحمل بالنانوسيلينيوم والسيلينيوم ونبات العود له تأثير ايجابي ضد التعرض للرصاص مع الاشارة الى النتائج المشجعة للعلاج بالنانو مما يستوجب المزيد من الدراسة و التعمق للتحسين والرفع من مردوديته وفعاليتة العلاجية.

الكلمات المفتاحية: الرصاص. السيلينيوم. النانوسيلينيوم. العود الاجهاد التاكسدي. فئران حوامل.

Table des matières	
DEDICACE	
REMERCIEMENT	
Résumé	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Liste des Abréviations	
Introduction	
PREMIÈRE PARTIE: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I: Le plomb	
1.Définition	5
2.Les caractéristiques physico-chimiques du plomb	5
3. Voies d'exposition	6
4. Métabolisme	7
4.1. Absorption	7
4.1.1. Absorption pulmonaire (inhalation)	7
4.1.2. Ingestion	7
4.1.3. Contact cutané	8
4.2. Distribution	8
4.3. Élimination	9
5. Les effets toxiques du plomb	9
5.1. Effets sur le système nerveux :	9
5.2. Effets sur les reins :	10
5.3. Effets sur le foie	10

5.4. Effets sur la reproduction	10
5.5. Le plomb et stress oxydatif	10
CHAPITRE II: Sélénium et nanoparticule de sélénium	
I. Sélénium	13
1. Définition	13
2. Métabolisme du sélénium dans l'organisme	13
2. 1. Absorption	13
2.2.Transport	14
2.3. Elimination	15
3. Rôle anti-oxydante du sélénium	15
3.1. La glutathion peroxydase (GPx)	16
3.2.Thiorédoxine réductase	16
3.3. Toxicité du sélénium	17
II. Nanoparticule de Sélénium (SeNPs)	18
1. Définition de Nano particule	18
2. Caractérisation des nanoparticules de sélénium	18
3. effet biologique de SeNPs	18
3.1.Effet antioxydant de SeNPs	18
3.2. Rôle dans la réduction de l'inflammation	19
3.3. Effet des SeNPs sur le stress oxydatif	19
4. Synthèse verte de nano sélénium	19
CHAPITRE III: <i>Aquilaria malacensis</i>	
1.les plantes médicinales	22
2. <i>Aquilaria malacensis</i>	22

2.1. Taxonomie et caractéristiques biologiques	22
2.2. Répartition et habitat	23
2.3. Composition chimique	24
2.3.1. Les terpénoïdes	24
2.3.2. Flavonoïdes	24
3. Utilisation thérapeutique	24
DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE	
CHAPITRE I: Matériel et méthodes	
I. Matériels	28
1. Matériels végétal	28
2. Matériels biologiques	28
2.1. Condition d'élevage	28
2.2. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes	29
3. Réactifs et produits utilisés	31
II. Méthode	31
1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux.	31
2. Traitement les animaux	31/32
3. L'analyse phytochimiques	32
4. Méthode de dosage des polyphénols totaux	32
5. Dosage de l'activité antioxydant in vitro	33
6. Protocole de la synthèse vertes des nanoparticules de selenium	33
7. Méthode de dosage de plomb tissulaire	34
8. Dosage des paramètres hématologiques	34
9. Détermination paramètres Biochimique	34

10. Dosage des paramètres de stress oxydatif	35
10.1. dosage de glucides totaux	35
10.2. Préparation de l'homogénats des organes	35
10.3. Méthode de dosage des protéines tissulaires	36
10.4. Dosage des malondialdéhyde (MDA) tissulaires :	36
10.5. Dosage des glutathion réduit (GSH)	37
10.6.Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase (GSTs)	37
10.7. dosage de l'activité de superoxyde dismutase(SOD)	38
10.8. Test FRAP	40
11. Méthode d'analyse statistique	41
CHAPITRE II: Résultat	
1. Etude phytochimique et dosage polyphénol	43
2. Activité antioxydante	43
2.1.Test DPPH	43
3. Analyse HPLC	44
3.1. Analyse HPLC de polyphénols	44
3.2.Analyse HPLC des flavonoïdes	44
4. Effet de traitement par SeNPs , A. malaccensis et Se sur le poids relative des organes et le statut de plomb tissulaire chez les rattes contaminées par le plomb	45
5 . Effet le traitement par SeNPs , A. malaccensis et Se sur des paramètres hématologique et biochimique chez les rats contaminé par le plomb	47
6. Effet de traitement par SeNPs , A. malaccensis et Se sur des paramètres de stress oxydant chez les rattes contaminées par le plomb	51
7. Effet de traitement par SeNPs , A. malaccensis et Se sur de paramètre antioxydant de stress chez les rattes contaminées par le plomb	54

8. Effet de traitement par SeNPS , A . malaccensis et Se sur le glycogène hépatique chez les rattes contaminées par le plomb	56
Chapitre III: Discussion	
1. Discussion	59
Analyse quantitative et qualitative sur l'Aquilaria malaccensis	59
Paramètre de croissances	60
Analyse de plomb tissulaire	60
Paramètres hématologiques	61
Marqueur biochimiques de métaboliques	62
Marqueurs de la fonction rénale	63
Paramètres biochimiques de la fonction hépatique	64
Paramètre de stress oxydatif	65
CONCLUSION	68
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

Liste des figures:

Figure	Titre	Page
Figure 01	Métabolisme du plomb chez l'être humain.	5
Figure 02	Répartition du plomb dans l'organisme.	7
Figure 03	Génération d'ion superoxide par l'ALA .	10
Figure 04	Métabolisme cellulaire du sélénium.	13
Figure 05	Voies métaboliques des différentes formes d'apport en sélénium .	14
Figure 06	Mécanisme d'action de GPx.	15
Figure 07	Rôle de la glutathion peroxydase dans la réduction des peroxydes .	15
Figure 08	Rôle des sélénoenzymes dans l'élimination de dérivés réactifs de l'oxygène .	16
Figure 09	Diagramme montrant les applications de SeNPs .	18
Figure 10	<i>Aquilaria malaccensis</i> Lam .	22
Figure 11	Ecorce de tronc de l' <i>Aquilaria malaccensis</i> Lam .	27
Figure 12	Les valeurs IC 50 (test DPPH) d'extrait aqueux d' <i>Aquilaria malaccensis</i> et Vit C.	40
Figure 13	Chromatogramme du polyphénol pour l'extrait aqueux d' <i>Aquilaria malaccensis</i> .	41
Figure 14	Chromatogramme des flavonoïdes pour l'extrait aqueux d' <i>Aquilaria malaccensis</i> .	41
Figure 15	Variation du Poids relatif de foie, reins et cœur chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	42
Figure 16	Variation de la concentration hépatique du plomb chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux .	43

Liste des figures

Figure 17	Variation de taux de hémoglobine ,de nombre de globule rouges , globules blancs , VGM , HCT, PLT chez les groupes témoins et les groupes expérimentaux .	44/45
Figure 18	Variation de la glycémie, concentration sérique d'urée, acide urique, triglycérides, cholestérol, activité de TGO et TGP chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	46/47
Figure19	Variation de la teneur en glycogène hépatique chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	47
Figure 20	Variation de la peroxydation lipidique au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	49
Figure 21	Variation de la glutathion réduit (GSH) au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	50
Figure 22	Variation de l'activité tissulaire de glutathion S-transférase (GSTs) chez le groupe témoins et les groupes expérimentaux.	51
Figure23	Variation de la superoxyde dismutase (SOD) au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	52
Figure24	Variation de l'activité antioxydant totale (FRAP) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	53

Liste des tableaux:

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Voie d'exposition au plomb chez l'homme .	4
Tableau 02	Propriétés physiques et chimiques du plomb.	5
Tableau 03	Classification d'Aquilaria malaccensis .	22
Tableau 04	Composition du régime standard.	28
Tableau 05	Tests phytochimiques de l'extrait aqueux d'A.malaccensis.	40
Tableau 06	Contenu en polyphénols de l'extrait aqueux d'A. malaccensis.	40

Liste de abréviations:

8-OHG	8-hydroxy-guanine
ADN	Acide désoxyribonucléique
AGPI	Acides gras poly-insaturés
ALA	Acide 6-aminolévulinique
ALA-D	Acide 6-aminolévulinique deshydratase
ALAT	Alanine amino transférase
ASAT	Aspartate aminotransférase
DL50	Dose létale 50
DPPH	(1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle)
EDTA	Éthylène Diamine Tétra-Acétique
Fe ²⁺	Fer ferreux
Fe ³⁺	Fer ferrique
FNS	Formule de numération sanguine
FRAP	Ferric-reducing ability of plasma
FRO	Forme Réactive de l'Oxygène
GB	Globules Blancs
GR	Globules Rouges
GPx	Glutathion peroxydase
GRAN	Granulocyte
GSH	Glutathion réduit
GSSG	Disulfure de glutathion
GST	Glutathion s-transférase
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène

Liste des abréviations

HGb	Hémoglobine
HCT	Hématocrite
HOCl	Acide hypochloreux
HPLC	Chromatographie Liquide Haute Performance
LDL	Lipoprotéines de densité légère
LPO	Peroxydation lipidique
MDA	Maondialdéhyde
NADPH	Nicotinamide adénine di-nucléotide phosphate
NO	Oxydes nitrique
NO•	Monoxyde d'azote
NP	Nanoparticule
O ₂ •-	Radical superoxyde
OH•	Radical hydroxyle
ONOO-	Ion peroxynitrite
PLT	Plaquette
R•	Radical lipidique
ROO•	Radical peroxyde
ROOH	Hydroperoxyde lipidique
ROS	Reactive oxygen species
SeNPs	Nanoparticule de Sélénium
SOD	Superoxyde dismutase
TGO	Glutamate oxalo acétate-transaminase
TGP	Transaminase glutamique pyruvique
VGM	Volume globulaire moyenne

Introduction

Introduction

La pollution est une altération caractérisée par des mesures de polluants chimiques, biologiques ou physiques ont des conséquences néfastes à la santé humaine et l'êtres vivants.

Les polluants biologiques ont un effet nocif sur les organismes vivants , peuvent être d'origine naturelle ou des produits toxiques tels que les métaux lourds.

Le plomb (Pb) est un métal lourd toxique non essentiel largement répandu dans l'environnement. Divers dysfonctionnements dans les systèmes physiologiques, biochimiques et comportementaux sont induits par l'exposition chronique de la concentration infime de plomb (Ahamed et Siddiqui, 2007). Le plomb est connu pour induire aussi un large éventail de dysfonctionnements de systèmes nerveux central et périphérique et le système hémo-poïétique, (derouiche et al., 2018). L'étude de Burroughs et Rollins (2017) a montré que le plomb est responsable de plusieurs maladies cardiovasculaires comme hypertension artérielle (Burroughs et Rollins, 2017). Le foie et les reins sont des cibles privilégiées pour de nombreux xénobiotiques, y compris le plomb qui est bioaccumulé dans le foie d'une manière très importante (33%). Le stress oxydatif est un agent important responsable de différents dommages au tissu par peroxydation lipidique (LPO) induite par des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Cichoż-Lach H, Michalak, 2014). Les métaux toxiques augmentent la production de radicaux libres et réduisent la disponibilité de réserves d'antioxydants afin de réagir au stress résultant des dommages (Leena et al., 2011). Une quantité croissante de données prouve que les métaux sont capables d'interagir avec les protéines nucléaires et l'ADN, provoquant la détérioration oxydative des macromolécules biologiques, entraînant éventuellement de nombreuses maladies chroniques, telles que l'athérosclérose, le cancer et le diabète (Ponce-Canchihuamán et al., 2010).

Le sélénium est une molécule ambivalente car sa présence en faible concentration est indispensable à la vie de l'être vivant. Des données récentes confirment le rôle majeur que joue le sélénium dans de nombreuses situations physiopathologiques. Une carence modérée en sélénium, surtout lorsqu'elle est associée à un statut en vitamine E bas, semble accroître la sensibilité à diverses maladies dans lesquelles le stress oxydant est impliqué : maladies cardiovasculaires, maladies inflammatoires, infections virales, maladies neurodégénératives et cancers (Roussel et Hininger-Favier , 2009). Mais Mahan et al. ont déclaré que le degré d'absorption de sélénium est beaucoup plus faible chez les ruminants que chez les non-ruminants lorsque la supplémentation de sélénium est par voie orale. Afin d'éviter ce phénomène négatif d'absorption réduite de sélénium , des systèmes de polymères NP à potentiel in vivo ont été proposés ces nano formes de sélénium caractérisés par leur petite taille ce qui

facilite l'accès des cellules et leur pouvoir antioxydant et anti-inflammatoire (Wang et al., 2007) .

Depuis longtemps, les plantes sont utilisées comme médicament contre plusieurs maladies pour beaucoup toujours à la base d'un système de médecine traditionnelle dans différents cultures (Rakotoarivelo et al., 2015). *Aquilaria malaccensis* fait partie de ces plantes médicinales plante de la famille Thymelaeaceae appartient à la tropicale espèce (Saikia et Khan, 2014), est l'une des principales sources de bois d'agar, qui fournit des indices sur leurs propriétés pharmacologiques. Effectivement, le bois d'agar est très riche en substances bioactives qui favorisent utilisation en médecine traditionnelle (Caia et al., 2004).

À la lumière de ces informations, notre objectif pour ce travail est d'évaluè les effets toxiques du plomb chez des rattes gestantes et étudiè l'efficacité de systèmes thérapeutiques basé sur un supplément de sélénium , Se nanoparticule synthétisé biologiquement et la phytothérapie par l'*Aquilaria malaccensis* chez des rattes de la souche Wistar . Nous allons pour cela mis au point sur le dosage des paramètres biochimiques sanguins et hématologique ainsi que l'évaluation des paramètres du stress oxydant tissulaire.

Ce travail contient 4 parties:

1-Partie bibliographique.

2- Matériels et Méthodes.

3- Résultats.

4- Discussion.

PREMIÈRE PARTIE

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

Le PLOMB

1. Définition

Le plomb provient du terme latin Plumbum, de symbole (Pb), mou et déformable. Il possède une densité de 11.3 et se retrouve à l'air d'une couleur carbonatée grisâtre. Il n'a ni goût ni odeur caractéristique, de numéro atomique 82 et de poids atomique 207.2. Son point de fusion est de 327.4 °C et sa température d'ébullition est de 1500 °C (Larousse 1980).

Le plomb est un métal lourd largement utilisé dans les activités métallurgiques dès l'antiquité et redécouvert au moment de la révolution industrielle, le plomb est désigné comme matériau d'écriture, les Grecs et Romains l'ont employé pour produire des céramiques.

D'après Garnier (2005), les Romains se servaient aussi de l'acétate de plomb comme édulcorant et conservateur du vin, et aussi comme un métal pour les conduites d'eau, pour les poids-étalons. Le plomb est un métal si répandu et si utilisé que les occasions d'intoxications sont innombrables, que ce soit chez l'homme ou chez les animaux. L'intoxication chronique par le plomb ou saturnisme est l'une des plus fréquentes chez les animaux domestiques puisque il a été largement employé à des fins commerciales et qu'il demeure très longtemps dans l'environnement (*Pelletier et al., 1997*).

2. Voies d'exposition

Les différentes voies de pénétration du plomb sont résumées dans le Tableau 1. Chez l'adulte, la voie de pénétration majoritaire est l'inhalation de particules, alors que chez l'enfant, c'est plutôt l'ingestion par voie orale. La consommation d'eau passant par des canalisations en plomb peut également être responsable de l'ingestion de plomb. Plus rarement, le plomb peut pénétrer par voie cutanée, notamment par contact avec des crèmes contenant du plomb. Enfin, il ne faut pas négliger la consommation de gibiers tués par des balles en plomb, qui représente une source non négligeable de contamination au plomb (d'après Brgm, 2004).

Tableau 01: Voie d'exposition au plomb chez l'homme (d'après Brgm, 2004).

Alimentation	Ingestion	Plantes contaminées par des retombées atmosphériques et/ou accumulation depuis le sol Gibier Stockage des aliments
Poussières	Inhalation	Poussières fines Fumées de cigarettes Emissions automobiles
Peintures	Ingestion Inhalation	Écailles de peintures anciennes Poussières de peinture lors des travaux de rénovation Ingestion de sol par les jeunes enfants (pica)
Activité professionnelle/ Loisirs	inhalation	Métallurgie du plomb Fabrication d'accumulateurs et de batteries Récupération des métaux Soudure Décapage des vieilles peintures Manipulation de pigments Poussières Activité de poteries, imprimerie artisanale...

3. Les caractéristiques physico-chimiques du plomb

Le plomb est un métal dense ($d=11,34$ à 20°C), de couleur bleu-gris argenté qui se trouve sur la croûte terrestre en petites quantités (0.002%). Il se trouve associé à plusieurs minerais (plus de 200 minerais de plomb) seulement les plus communes sont : la galène (PbS), la cérusite (PbCO_3) et l'anglésite (PbSO_4) (Adriano, 2001). Le plomb métallique est malléable, il forme divers alliages fusibles, il est peu soluble dans l'eau froide, l'eau chaude et les acides dilués, mais il se dissout facilement dans les acides forts. L'eau chargée d'oxygène dissous attaque par contre le plomb, et produit l'hydroxyde de plomb $\text{Pb}(\text{OH})_2$ qui est très toxique (OMS, 1978). Le plomb est classé parmi les métaux lourds et se caractérise par : - Une forte affinité au soufre. - Il ne se détruit pas, il se transporte et change de forme en donnant des sels. - Il a une conductivité élevée, ce qui explique son utilisation dans de nombreuses industries. - Il présente une certaine toxicité entraînant des lésions plus ou moins graves (*Garnier et al., 2005; Bonnard et al., 2006*).

. Les caractéristiques chimiques du plomb sont données dans le Tableau 2 :

Tableau 02: Propriétés physiques et chimiques du plomb (*Garnier et al., 2005; Bonnard et al., 2006*).

Dénomination	Masse atomique	Point de fusion (°C)	Point d'ébullition (°C)	Solubilité
Plomb (Pb)	207,19	327,5	1740	Insoluble dans l'eau froide, faiblement soluble dans l'eau chaude, soluble dans l'acide nitrique et l'acide sulfurique à chaud, faiblement soluble dans l'alcool.
Acétate de plomb	325,28	280	-	Très soluble dans l'eau.
Nitrate de plomb	331,20	470	453	Très soluble dans l'eau, l'alcool et l'ammoniaque.
Oxyde jaune de plomb (litharge)	223,19	888	-	Très peu soluble dans l'eau ; très soluble dans l'acide acétique

4. Métabolisme

Les effets du plomb sont liés au métabolisme de celui-ci, c'est-à-dire en particulier à sa répartition dans l'organisme. La connaissance des mécanismes d'absorption, de transfert dans les tissus, de stockage dans certains organes permet de mieux aborder l'évaluation des risques pour les populations exposées (Figure 1) (*Haguenoer et al., 2004*).

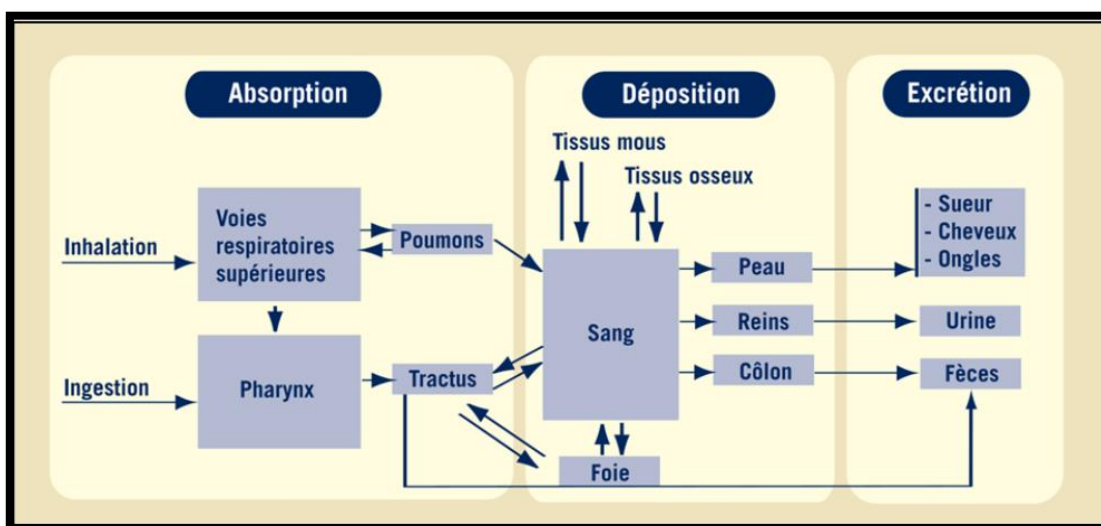


Figure 01: Métabolisme du plomb chez l'être humain (*Turcot et al., 2003*).

4.1. Absorption

4.1.1. Absorption pulmonaire (inhalation)

L'absorption des vapeurs de plomb est respiratoire. Les statistiques montrent que 50 à 70% environ de la dose journalière inhalée est absorbée (Opptbp, 2015). Celle des poussières inhalées dont le diamètre aérodynamique est compris entre 0,1 et 0,5 μm sont les mieux absorbées; leur passage systémique est d'autant plus important qu'elles sont plus hydro solubles ou acido-solubles (Garnier *et al.*, 2005). Les particules de diamètre supérieur à 5 μm se déposent dans l'arbre respiratoire, mais elles sont drainées vers le carrefour aérodigestif et finalement dégluties (Bailly *et al.*, 2001). Les particules grossières non absorbées sont éliminées en 24 heures par voie lymphatique (Opptbp, 2015).

4.1.2. Ingestion

Le plomb ingéré est absorbé dans la région duodénale de l'intestin grêle. L'absorption diminue avec l'âge, probablement à cause d'un processus de maturation selon lequel l'intestin perd sa capacité d'ingestion des particules par pinocytose (Bonnard *et al.*, 2006).

Il y aurait deux mécanismes d'absorption: le premier, passif, peu vraisemblable pour le plomb et le second, actif, qui utilise les voies d'absorption du calcium, du magnésium et du fer (Haguenoer *et al.*, 2004). L'absorption digestive du plomb est augmentée par la vitamine D, le jeûne, les régimes riches en graisses ou carencés en calcium, en magnésium, zinc et surtout par la carence martiale (fer) (Frery *et al.*, 2011; Haguenoer *et al.*, 2004; Turcot *et al.*, 2003; Baunot *et al.*, 2006) qui diminuent la compétition avec le plomb. Ce point est important car il montre que le risque d'absorption augmente chez les populations sous-alimentées (Opptbp, 2015).

4.1.3. Contact cutané

Le passage transcutané des dérivés inorganiques du plomb est très faible (<0,5%), négligeable, (Frery *et al.*, 2011; Alexander *et al.*, 2013). La pénétration des poussières déposées sur la peau des mains est digestive, elle résulte de l'activité main-bouche et de la contamination d'aliments ou d'objets portés à la bouche (Garnier *et al.*, 2005). De plus, si la peau présente des blessures, il y a lieu de prendre les mesures préventives appropriées (Turcot *et al.*, 2003).

4.2. Distribution

Le plomb absorbé par voie digestive passe dans la circulation sanguine, 98% du plomb se retrouve dans le compartiment intra-érythrocytaire, le reste du plomb est lié à l'albumine (Mortureux *et al.*, 2013) et les gammaglobulines. Le plomb libre interagit avec le calcium à différents niveaux cellulaires où il inhibe les systèmes de transport membranaire (pompes NA/K/Ca) (Titton *et al.*, 2010). La demi-durée de plomb dans le sang peut être aussi courte que 20-40 jours). Le plomb peut être libéré de la décalcification des os dans les processus liés aux personnes âgées, de la grossesse, de l'acidose, thyrotoxicoses ou active de remodelage des os d'enfants (Who, 2001). On le retrouve aussi dans l'appareil reproducteur mâle ainsi que dans le liquide séminal (Mortureux *et al.*, 2013). Pendant la grossesse et l'allaitement, le plomb biologiquement actif. Il franchit aisément la barrière placentaire et est accumulée dans les organes du fœtus, y compris le cerveau (Frery *et al.*, 2011).

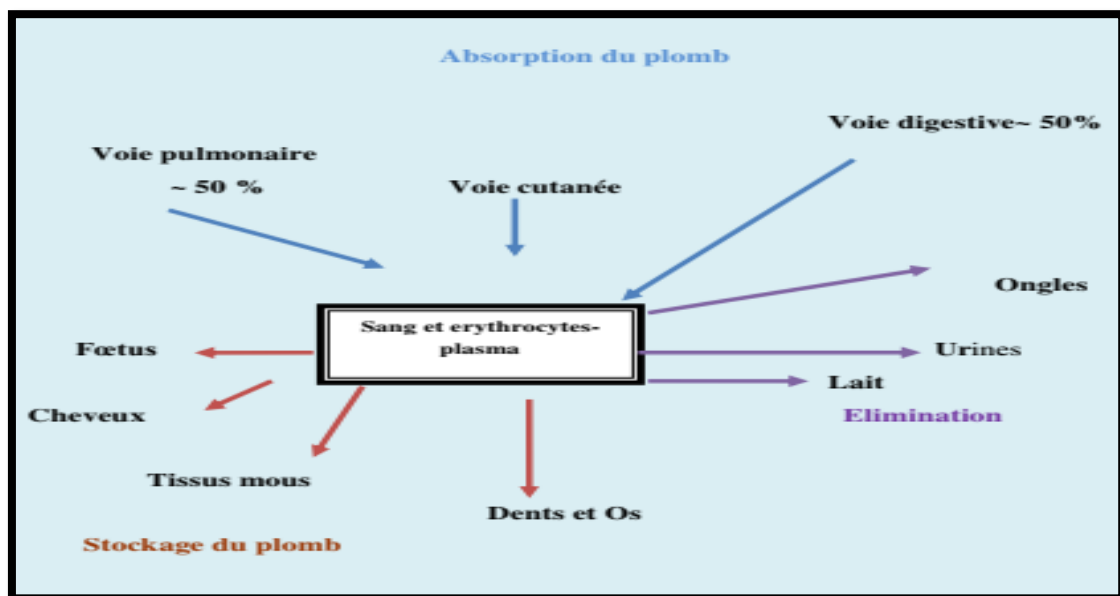


Figure 02: répartition du plomb dans l'organisme (Insserm, 1999).

4.3. Élimination

L'excrétion rénale (> 75%) (Baunot *et al.*, 2006) se fait par filtration glomérulaire, avec une réabsorption tubulaire possible. Le plomb excrété par voie biliaire (environ 16%) soit en grande partie réabsorbé par la muqueuse intestinale pour être finalement excrété par voie urinaire. Il existe aussi une excrétion fécale (15-20%), lactée (10 et 30% de la Pbs (Garnier *et al.*, 2005).

5. Les effets toxiques du plomb

5.1. Effets sur le système nerveux

Au niveau du système nerveux central, le plomb inhibe également certaines enzymes (ALA déshydratase, hexokinase, deshydrogénase succinique) entraînant des perturbations du métabolisme glucidique (très important pour la cellule nerveuse) et de la respiration cellulaire. Il en résulterait des microlésions vasculaires et des troubles de l'excitabilité nerveuse. Le plomb inhibe également l'adénylcyclase, pouvant interférer avec le métabolisme des catécholamines (Delphine, 2001).

5.2. Effets sur les reins

Comme les reins ont un rôle important dans l'excrétion du plomb, on observe des changements au niveau des tubules proximaux. L'augmentation de l'urée et de la créatinine indique un mauvais fonctionnement du rein lié au saturnisme (Nuyts *et al.*, 1991). Lors d'intoxication aiguë, on aura une irritation et une nécrose de la muqueuse digestive à l'origine des signes digestifs observés lors de saturnisme ainsi qu'une dégénérescence des tubules rénaux. L'atteinte des tubules rénaux proximaux est réversible si l'intoxication est peu importante et on constate alors de l'aminocidurie, de la glycosurie et une hyper phosphaturie relative avec hypophosphatémie. Cependant, si l'exposition est chronique et prolongée la néphrite interstitielle chronique peut aboutir à une défaillance rénale (Meschy, 2010).

5.3. Effets sur le foie

La cytolysé hépatique est un signe d'intoxication aiguë par le plomb. Elle ne s'observe qu'après des contaminations massives (Goering, 1993). De plus, ces variations biochimiques sont non spécifiques du plomb, des modifications des enzymes hépatiques sont aussi notées, mais de manière plus inconstante ; Il semble que les transaminases (ASAT, ALAT) et les phosphatases alcalines augmentent lors d'intoxication chronique. Cependant, aucun seuil n'a encore été fixé pour cet effet (Swarup *et al.*, 1991).

5.4. Effets sur la reproduction

L'intoxication chronique par le plomb perturbe la spermatogenèse, pouvant provoquer une diminution de la fertilité chez l'homme. Des modifications des concentrations sanguines de testostérone ont parfois été retrouvées (Garnier, 2005). L'exposition au cours de la grossesse est responsable d'une augmentation dose dépendante de l'incidence des avortements spontanés,

de la prématurité et de l'hypotrophie fœtale (enfants de petit poids de naissance). Le plomb peut entraîner une éventuelle atteinte du système nerveux central fœtal en développement, suspecté surtout pour les plombémies maternelles les plus élevées (Rhainds et Levallois, 1997).

5.5. Le plomb et stress oxydatif

Chez des sujets exposés en milieu professionnel, l'activité de la G6PD est diminuée, tandis que celle de la Glutathion réductase est élevée, suggérant un mécanisme compensateur à la perte de radicaux sulfhydriles (Howard, 1974). Pourtant, le taux de glutathion réduit est bas dans des érythrocytes de sujets exposés au plomb, reflétant une insuffisance de réduction du glutathion oxydé et une capacité diminuée de défense cellulaire contre le stress oxydatif. L'activité de la superoxyde dismutase et de la catalase est diminuée dans les érythrocytes des sujets exposés (Ito et coll., 1985 ; Sugawara et coll., 1991), alors que l'activité superoxyde dismutase du plasma est augmentée (Sugawara et coll., 1991 ; Costa et coll., 1997). Les peroxydes formés à partir des lipides sont élevés dans le sérum et l'activité de la glutathion peroxydase est augmentée chez les sujets exposés au plomb, à des niveaux de plombémies compris entre 400 et 1 000 g/l (Monteiro et coll., 1985 ; Solliway et coll., 1996). Une fraction de l'action prooxydante du plomb s'exerce également très certainement par l'intermédiaire de l'accumulation de l'ALA. Ce dernier peut, en effet, générer l'ion superoxyde selon les réactions indiquées dans la figure 3 (Hermes-Lima, 1995). L'administration in vitro d'ALA à des cellules de hamster (CHO) entraîne une baisse du glutathion réduit (GSH), une augmentation du glutathion oxydé (GSSG) et une augmentation du malonyldialdéhyde ou MDA, traduisant une activation de la peroxydation des lipides (Neal et coll., 1997). Chez le rat, l'administration d'ALA déclenche un stress oxydatif au niveau du foie, du cerveau et des muscles, qui s'accompagne d'une augmentation de la capacité antioxydante du plasma (Demasi et coll., 1997). Cette activité prooxydante d'ALA a été mise en évidence au niveau des lipides (peroxydation de liposomes riches en cardiolipides), des protéines (oxydation de l'hémoglobine en méthémoglobine), de l'ADN (coupure simple-brin dans l'ADN plasmidique) et des mitochondries (Hermes-Lima et coll., 1991, 1992 ; Onuki et coll., 1994 ; Oteiza et Bechara, 1993).

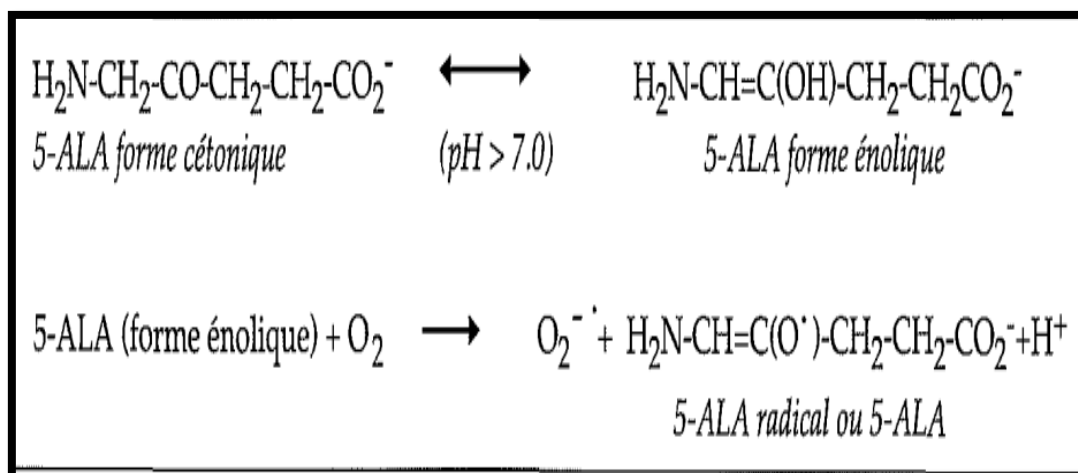


Figure 03 : Génération d'ion superoxide par l'ALA (Hermès-Lima ,1995).

CHAPITRE II

Sélénium et Nano particule de Sélénium (SeNPs)

I. Sélénium

1. Définition

Le sélénium (Se) est un élément trace essentiel plus communément appelé oligoélément. C'est le 34^{ème} élément de la classification périodique de Mendeleïev, de masse atomique égale à 78,96, c'est le 69^{ème} élément en termes d'abondance des différents éléments sur terre. Il est situé dans la colonne VIa, sous l'élément soufre, dans la famille des chalcogènes, comprenant également l'oxygène (Jacob et al., 2003). Il est essentiel au bon fonctionnement de l'organisme. On le trouve dans l'alimentation, en fortes concentrations dans certains végétaux comme l'ail et le chou. La dose journalière recommandée est d'environ 70 µg/jour (World Health Organization, 1996).

2. Métabolisme du sélénium dans l'organisme

2. 1. Absorption

L'efficacité d'absorption intestinale du sélénium est élevée (50 à 95 %). Elle dépend de la forme d'apport du sélénium, du statut adéquat ou non en sélénium et de la présence ou non d'autres aliments. Certaines formes sont préférentiellement incorporés dans les sélénoprotéines (protéines qui nécessite Se pour l'activité catalytique), d'autres ne sont pas spécifiquement incorporé dans les protéines, tandis que d'autres sont excrétés (Navarro-Alarcon et Cabrera-Vique, 2008 ; Pedrero et Madrid, 2009 ; Zeng et al., 2008).

La sélénométhionine, mieux absorbée que le sélénite, elle est majoritairement absorbée au niveau du duodénum par un transport actif, alors que le sélénite est absorbé par simple diffusion. Le sélénate est absorbé par un mécanisme de transport actif. L'ensemble des formes organiques et inorganiques du sélénium peuvent être utilisées par l'organisme mais leur métabolisme est différent (Figure 4). (Ducros et Favier, 2004 ; Underwood et Suttle, 2004 ; Lebreton et al., 1998).

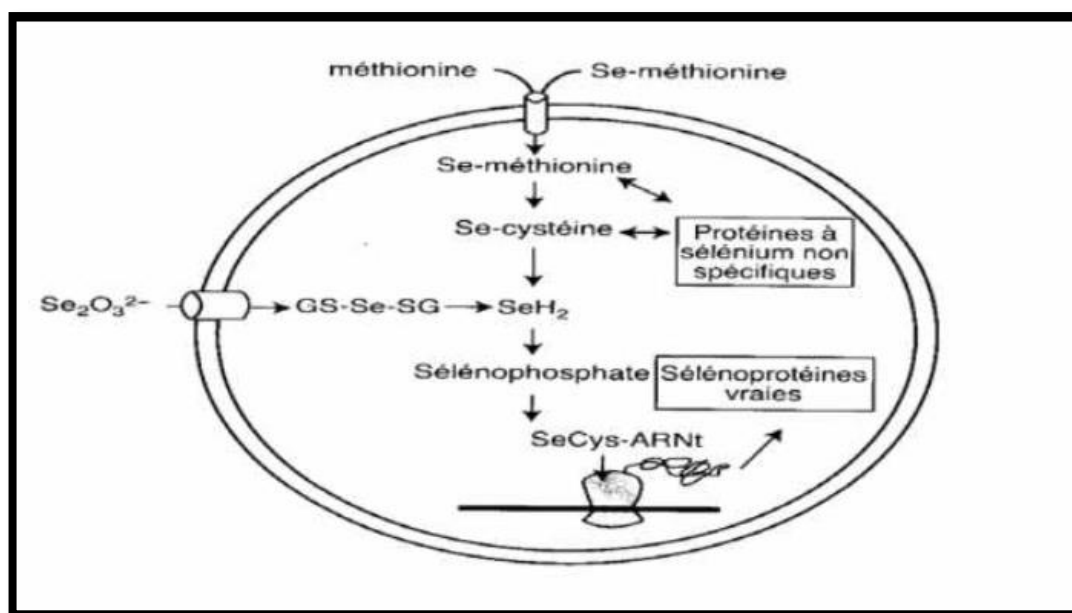


Figure 04: Métabolisme cellulaire du sélénium (Ducros et Favier, 2004)

2.2.Transport

Les formes solubles du sélénium sont redistribuées dans tout l'organisme à partir du duodénum (Graham, 1991). Le sélénium est lié à des protéines plasmatiques identifiées comme étant des protéines de transport. Actuellement, on distingue trois entités : la glutathion peroxydase qui représente 12 à 15 % du sélénium plasmatique chez l'homme, la sélénoprotéine- P qui en représente plus de la moitié dont sa concentration varie directement avec la concentration alimentaire en sélénium lorsque celle-ci est supérieure à 0,1 mg/kg d'aliment (Saito et al., 1999 Underwood et Suttle, 2004) et les sélénoprotéines non spécifiques où le sélénium est incorporé de façon non spécifique qui sont essentiellement assimilées à la sélénalbumine car l'albumine est la protéine plasmatique la plus abondante (Behne et Kyriakopoulos, 2001).

La concentration en sélénium des différents organes est variable. Deux organes sont riches en sélénium: le foie et le rein. Le rein, principal lieu de synthèse de la glutathion peroxydase plasmatique a la plus haute teneur en sélénium par unité de poids. Le muscle squelettique semble fonctionner comme un organe de stockage du sélénium, il représente 45 % du sélénium corporel total (Avissar et al., 1989 ; Whittin et al., 2002).

2.3. Elimination

L'excrétion du sélénium absorbé se fait sous forme de dérivés méthyles, mais l'importance relative des voies d'élimination ou d'excrétion dépend de la nature des composés séléniés ou ingérés, de la quantité absorbée et de la durée de l'exposition.

✓ **Les poumons** constituent une voie d'élimination mineure sous forme de diméthylsélénure qui n'intervient qu'en cas de forte absorption.

✓ **L'élimination urinaire** est la voie d'excrétion majoritaire. D'après Lebreton et al., 1998 elle représente 60% de l'excrétion lors d'apport satisfaisant en sélénium. Le taux d'excrétion urinaire est régulé par les apports : il y a conservation du sélénium qui sera dirigé vers des organes prioritaires (cerveau, glandes endocrines...) en cas d'apports faibles (Hatfield et Gladyshev, 2002).

✓ **L'élimination fécale** est causée par les transformations du sélénium sous forme insoluble, tandis que la quantité de sélénium excrétée est corrélée à la quantité de sélénium ingérée (Underwood et Suttle, 2004).

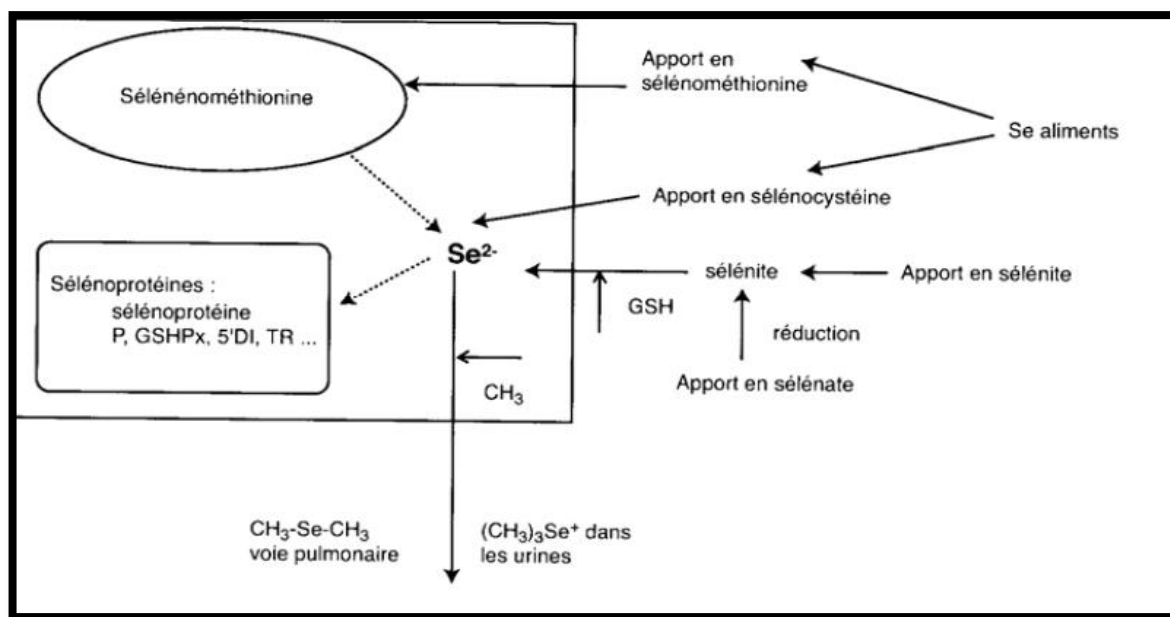


Figure 05 : Voies métaboliques des différentes formes d'apport en sélénium (d'après Ducros et Favier, 2004).

3. Rôle anti-oxydante du sélénium

Le sélénium est essentiel pour le fonctionnement d'enzymes antioxydantes tel que :

3.1. La glutathion peroxydase (GPx)

La Glutathion peroxydase (GSHpx) est une métallo-enzyme de 84000 Daltons, constituée de 4 sous-unités identiques de 21000 Daltons. Chaque sous-unité possède un atome de sélénium sous forme de sélénocystéine. Cette dernière est un analogue de la cystéine dans laquelle l'atome de soufre a été remplacé par un atome de sélénium. La GSH-Px, localisée dans les mitochondries et le cytoplasme, catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes lipidiques (*Forstrom JW et al., 1978*) (figure 6):

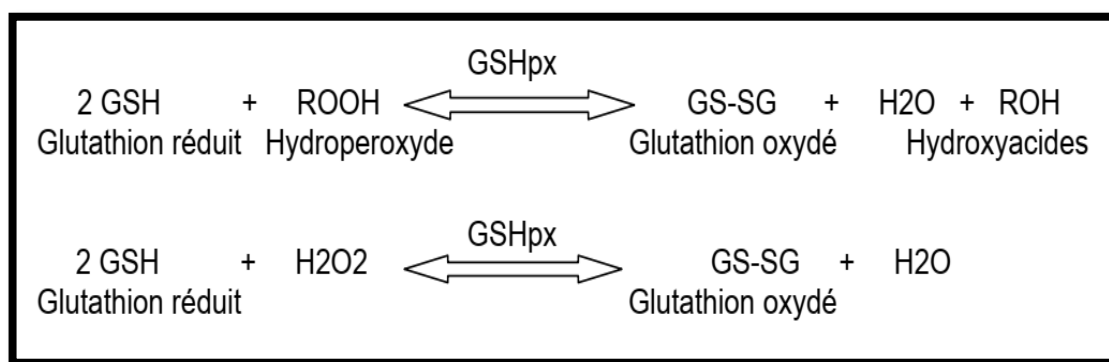


Figure 06 : Mécanisme d'action de GPx (*Forstrom JW et al., 1978*).

Une autre enzyme, la glucose 6P déshydrogénase permet le retour du glutathion oxydé à son état initial (figure 7). Les peroxydes, une fois réduits en hydroxyacides, subissent une β -oxydation (Richy, 1978).

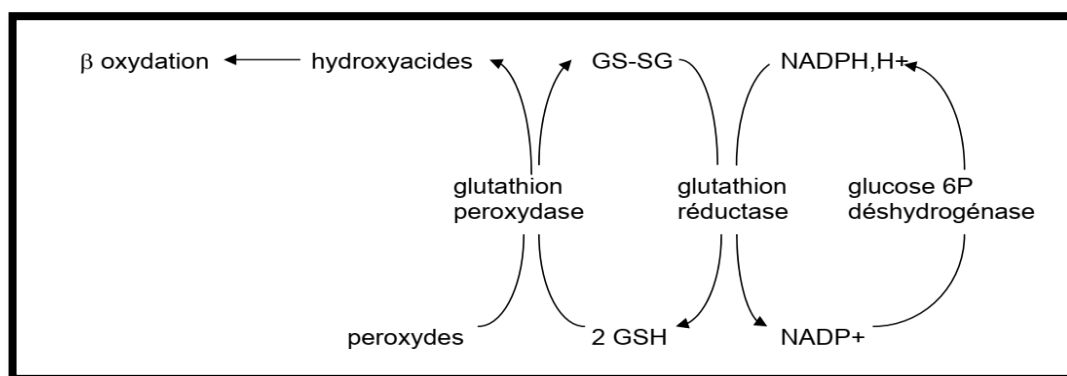


Figure 07 : Rôle de la glutathion peroxy dase dans la réduction des peroxydes (Richy, 1978).

3.2.Thiorédoxine réductase

Les membres de cette famille sont des protéines homodimériques, chaque monomère incluant un groupement prosthétique FAD, un site de liaison à la NADPH et deux sites actifs, un formé par un groupement disulfide et un autre constitué par un résidu sélénio-cystéine. Elle catalyse la réduction de la forme oxydée de la thiorédoxine qui, entre autre, active la thiorédoxine peroxydase, capable de réduire le peroxyde d'hydrogène (Rakotovao, 2009). L'isoforme mitochondriale (TR2) fournit une défense spécifique contre les ERO produits par la chaîne respiratoire, maintenant ainsi la balance rédox cellulaire, critique pour la survie cellulaire. L'isoforme cytosolique (TR1) quant à elle, est associée plus particulièrement dans la régénération de protéines inactivées par le stress oxydant dont la vitamine C et la NOS (Mckenzie et al., 2002).

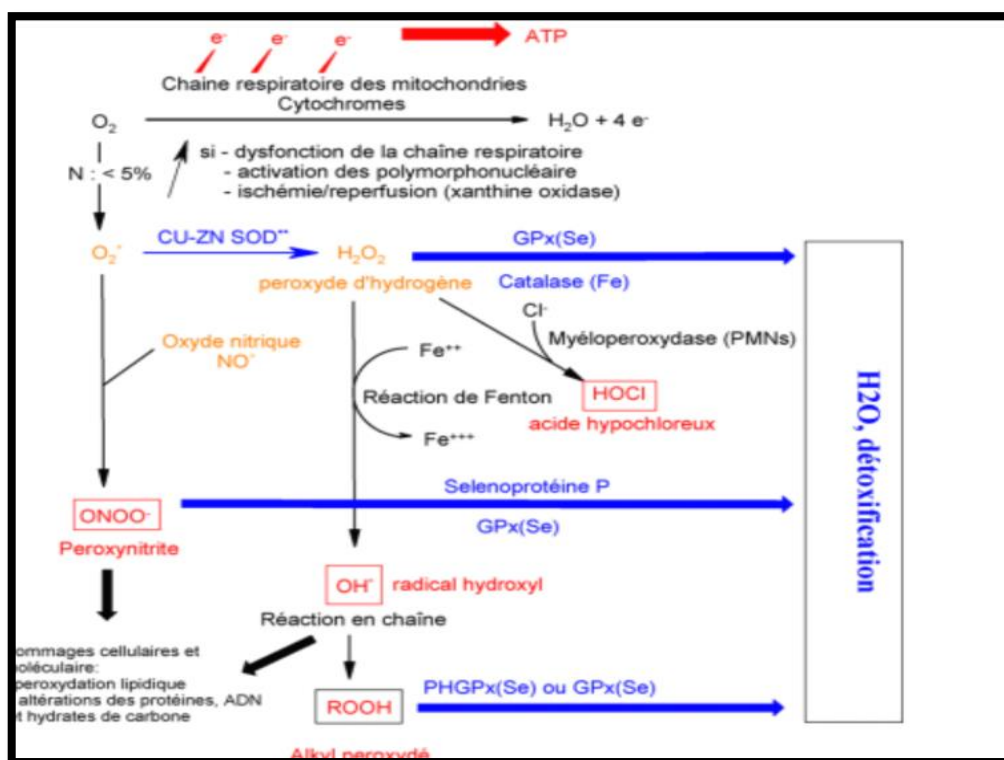


Figure 08 : Rôle des sélénoenzymes dans l'élimination de dérivés réactifs de l'oxygène (Forceville et Vitoux, 1999).

4. Toxicité du sélénium

Les cas de sélénose (excès de sélénium) sont moins répandus que ceux liés à une déficience en sélénium. La valeur précise de la dose nocive en sélénium pour les humains est encore certaine mais cependant, l'organisation mondiale de la santé (OMS) préconise un apport maximum de 400 µg/j par adulte (World Health Organization , 1996). Il a été proposé en France

que la dose limite de sécurité soit réduite à 150 µg/j (Martin, 2000). La toxicité du sélénium chez l'homme dépend de sa forme chimique. Mais il n'existe pas à ce jour de consensus sur le degré de toxicité des différentes formes de sélénium. Cependant, d'après l'OMS, les formes inorganiques seraient plus toxiques que les formes organiques. De plus, au sein des formes inorganiques, le sélénite serait plus néfaste que le séléniate (Dodig et Cepelak 2004). Lors d'une intoxication aiguë, la dose létale 50 (entraînant la létalité de 50 % de la population) est estimée entre 0,5 et 1 g sous forme de sélénite ou séléniate de sodium (Thérond et al., 1997).

II. Nanoparticule de Sélénium (SeNPs)

1. Définition de Nano particule

Une nanoparticule est de taille comprise entre 1 et 100 nm. Les matériaux de cette taille confèrent souvent des propriétés physiques et chimiques uniques. la diminution de taille provoque une augmentation du rapport surface / volume, dit l'amélioration de leurs propriétés. Dans le mot nano particule le terme nano veut dire (1×10^{-9}) mètre, les nano particules sont des atomes, leurs propriétés sont différentes à celles des mêmes atomes liés entre eux pour former des matériaux massifs. Ils sont généralement considérés comme un nombre d'atomes ou molécules reliées entre eux avec un rayon inférieur à 100nm (Clifs, C.E.A. (2005).

La plupart des matériaux à l'échelle du micromètre présentent les mêmes propriétés physiques du matériau massif ; par contre à l'échelle du nanomètre ils peuvent posséder des propriétés physiques distinctement différentes du matériau massif (Guoz hong cao , 2004)

2. Caractérisation des nanoparticules de sélénium

Caractéristiques pertinentes des nanoparticules de sélénium qui déterminent leur applicabilité en nanotechnologie sont la composition, la taille, la forme, la structure et l'arrangement atomique (Oremland et al., 2004). La structure des nanoparticules de sélénium est déterminée par une combinaison de techniques telles que la spectroscopie Raman, la transformée de Fourier spectroscopie infrarouge, spectroscopie UV-visible et diffraction des rayons X (Oremland et al., 2004 ; Wang et al., 2010).

3. Effet biologique de SeNPs

3.1.Effet antioxydant de SeNPs

Le nano-se possède une meilleure capacité antioxydant que les autres formes chimiques de sélénium tout en réduisant le risque de toxicité du sélénium. Une étude sur des animaux traités par une gamme de concentrations allant de 0,50 à 1,0 mg.kg⁻¹ de Se sous forme de Nano- avaient des activités significativement plus élevées de GPx par rapport au animaux traité par le forme Na₂SeO₃ de sélénium (Zhang et al., 2007).

3.2. Rôle dans la réduction de l'inflammation

De nombreuses études ont montré que le Nano-Se peut réduire l'inflammation. réponse dans l'organisme causée par des troubles auto-immuns ou les maladies inflammatoires. L'inflammation est la réponse normale du corps vivant à toute blessure entraînant l'accumulation de fluides corporels et de globules blancs ainsi que la libération de prostaglandines et de nombreux médiateurs inflammatoires (Ricciotti et al., 2011).

3.3. Effet des SeNPs sur le stress oxydatif

L'effet du Nano-Se sur les paramètres du stress oxydatif a été de par rapport à l'effet du sélénium lié organiquement dans une étude. Le Nano-Se s'est avéré avoir une efficacité comparable dans les domaines suivants augmentation de l'activité plasmatique GPx chez la souris comme Se-Met, mais a présenté une toxicité beaucoup plus faible évaluée sur la base de la DL50, de la toxicité aiguë, lésions hépatiques et toxicité à court terme. Les résultats de l'étude ont montré que le sélénium à l'échelle nanométrique peut être administré sous forme de un antioxydant qui réduit le risque de toxicité du sélénium (Wang et al., 2007, Zhang et al., 2005).

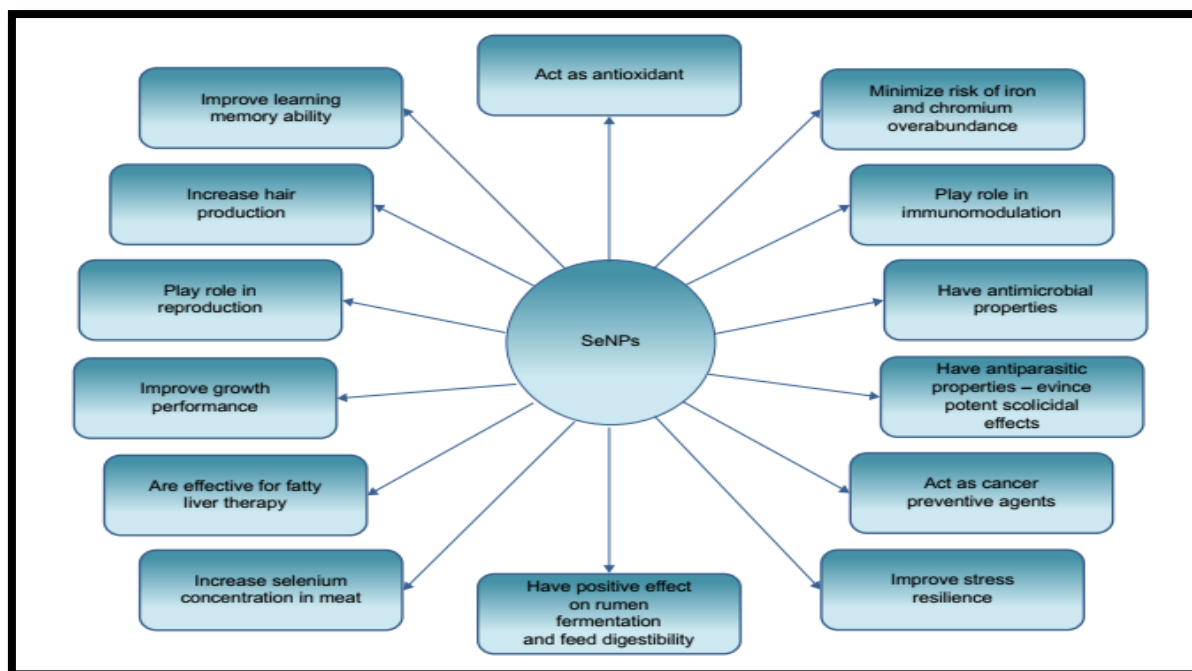


Figure 09: Diagramme montrant les applications de SeNPs (Kojouri et al., 2012).

4. Synthèse verte de nano sélénium

les SeNPs ont été synthétisés en utilisant les extraits de plantes suivants : extrait aqueux d'*Allium sativum* (Ezhuthupurakkal et al., 2017) , extrait de thé(Zhang et al., 2017) , feuille de plante *Clausena dentata* (Sowndarya et al., 2016) . La biosynthèse de nanomatériaux à l'aide d'extraits de plantes a permis de plus d'avantages que d'autres méthodes biologiques parce qu'il est bon marché et ne nécessite pas de conditions spéciales (Ramamurthy et al., 2013).

CHAPITRE III

AQUILARIA

MALACENSIS

1. Les plantes médicinales

Depuis des milliers d'années, l'homme utilisé les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (Sanago, 2006). L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS 2003), environ 65-80% de la population mondiale à recours au médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (Ma et al., 1997). Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (Sanago, 2006). Ils sont détenus comme la clé de la prise en charge thérapeutique de 150 maladies de natures diverses. Parmi celles-ci, on trouve les maladies bénignes, fréquentes et moins meurtrières et celles dites chroniques, incurables, par conséquent à vie, très meurtrières, telles que le cancer, la drépanocytose, l'asthme, le diabète, le SIDA, etc.. (Mozouloua, 2004).

2. *Aquilaria malaccensis*

2.1. Taxonomie et caractéristiques biologiques

✓ Taxonomie

Aquilaria malaccensis Lam. également appelé *Aquilaria agallocha*, *Aquilaria secundaria*, et le nom commercial Agallochum. Il s'agit d'une rapide croissance, arbre tropical connu localement comme la géluse (Tabin et al., 2014), comprend 15 espèces, dont *A. hirta*, *A. beccariana*, *A. rostrata*, *A. malaccensis* et *A. microcarpa* présents en Malaisie (Whitmore, 1972 ; Chang et al., 2001). De ces 5 espèces, *Aquilaria malaccensis* (Tableau 03) est considérée comme l'une des espèces les plus exploitées en Malaisie en raison de sa grande valeur économique.

Tableau 03 : Classification d'*Aquilaria malaccensis* (Iucn, 1998).

Kingdom	Plantae
Phylum	Tracheophyta
Class	Magnoliopsida
Order	Myrtales
Family	Thymelaeaceae
Genus	<i>Aquilaria</i> L.
Species	<i>Aquilaria malaccensis</i> L.

✓ caractéristiques biologiques

Aquilaria malaccensis est un arbre à feuillage persistant qui peut atteindre 40 m de hauteur avec un tronc de 60 cm de diamètre. Le bois de l'espèce est typiquement blanc, léger et de faible densité. (Oguyen et Nguyen, 1999). Une fois que la production de résine est stimulée, le bois riche en résine devient sombre, lourd et dur. Les arbres arrivent généralement à maturité après 6-7 ans, ce qui permet aux fleurs de commencer à fleurir. à la formation suivie de la production de semences (Oguyen et Nguyen, 1999 ; Chua et Sumatra, 2008). Les fleurs vert jaunâtre ou blanches proviennent généralement de branches plus jeunes (Adelina et al., 2004) et les fruits sont verts et de forme ovoïde (figure 10).

**Figure 10 :** *Aquilaria malaccensis* Lam. (Irnayuli et al., 2011).

2.2. Répartition et habitat

Aquilaria malaccensis est largement répandu et a été trouvé dans 10 pays d'Asie du Sud et du Sud-Est, à savoir le Bangladesh, le Bhoutan, l'Inde, l'Indonésie, la Malaisie, Myanmar, les Philippines, Singapour et la Thaïlande (Oldfield et Mackinven, 1998). Malgré cette large aire de répartition, les espèces d'*Aquilaria* se rencontrent souvent en faible densité et peuvent être trouvées dans les forêts primaires et secondaires à des altitudes comprises entre 0 et 1000 m au-dessus du niveau de la mer (Oguyen et Nguyen, 1999 ; Chua et Sumatra, 2008). Le taux de croissance d'*A. malaccensis* chez les espèces indigènes du en Malaisie est assez faible. La Frankie (1994) a signalé une augmentation moyenne du diamètre de troncs d'arbres de 0,33 cm par an, certains spécimens à croissance plus rapide atteignant 0,8-1,0 cm par an.

2.3. Composition chimique

Le produit chimique est constitué de bois de gélose provenant du genre *Aquilaria*, notamment des dérivés de 2-(2-phényléthyl)-4H-chromen-4-one, des terpénoïdes, des flavonoïdes, etc. dans lesquels les dérivés de 2-(2-phényléthyl)-4H-chromen-4-one et les sesquiterpènes sont les deux principaux constituants du bois de gélose. Il y a eu 154 nouveaux composés isolés à partir de bois d'agar et du genre *Aquilaria* depuis que 132 composés ont été résumés en juin 2010 (Chen et al., 2012).

2.3.1. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes sont des composés dérivés de l'acide mévalonique, dont la structure basique en carbone est caractérisée par la présence de deux ou plusieurs unités isoprène. Les terpénoïdes, y compris les sesquiterpènes et les diterpènes, sont les principaux composants du bois d'agar. L'extrait d'EtOH de l'agarwood a été isolé et, par conséquent, un total de 34 nouveaux sesquiterpènes, dans lesquels neuf ont été identifiés à partir du "Qi-Nan" (Yang et al., 2014, Yang et al., 2016). De plus, de nombreux nouveaux terpénoïdes ont également été trouvés dans d'autres parties du genre *Aquilaria*. (Peng et al., 2011) ont isolé un nouveau sesquiterpène dégradé, nommé aquilarine B à partir de l'extrait EtOH de la tige fraîche (*A. sinensis*) (Korinek et al., 2016, Wagh et al., 2017)

2.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont constitués d'un grand groupe de composés polyphénoliques à structure benzo- γ -pyrone, omniprésents dans les plantes, sans exception pour le genre *Aquilaria*. Deux nouvelles flavones ont été obtenues à partir de la fraction EtOAc de l'écorce

de la tige (*A. sinensis*) (Wang et al., 2015). Six autres nouveaux flavonoïdes ont été isolés des feuilles d'*A. sinensis* (Yang et al., 2012 , Qi et al., 2009).

3.Utilisation thérapeutique

Le bois d'agar a été utilisé à des fins médicinales depuis des milliers d'années dans ayurvédique, tibétaine, et la pleurésie (Persoon., 2007). Il est prescrit dans la médecine traditionnelle asiatique de promouvoir la circulation du qi , soulager la douleur, en particulier pris pendant la grossesse, après l'accouchement et pour les maladies des organes génitaux féminins, vomissements, arrestation par le réchauffement de l'estomac, et pour soulager l'asthme. Le bois d'agar en poudre est prescrit dans la médecine chinoise et est également utilisé dans la production de teintures pharmaceutiques (Adelina et al., 2004). La plante est utilisée comme stimulant, diurétique, pour traiter la variole, le rhumatisme, spasmes surtout dans les systèmes respiratoire et digestif, douleur abdominale, les coliques, la congestion thoracique, la diarrhée, des nausées, le hoquet, des nerfs et la régurgitation. Elle est aussi signalée à posséder une activité anticancéreuse remarquable. En Égypte, l'Arabie de Saoudite et tout au long de la partie nord-est du Bangladesh, du bois d'agar est décrit comme un stimulant, tonique cardiaque et carminatif (Tabin et al., 2014). Il est aussi brûlé pour produire un arôme agréable, et sont utilisés à des fins religieuses par les musulmans, les Bouddhistes et les Hindous (Tabin et al., 2014). Il est râpé en Malaisie a utilisé à des fins cosmétiques (Lumpur., 2006). L'utilisation de l'écorce du bois d'agar en tant qu'écriture matériau a également été largement documentés et du bois d'agar est utilisé pour chroniques des livres religieux importante et sacrée. Ce bois est généralement trop clair et fibreux à être convenable pour meubles, de la construction ou même la sculpture pour produire des statues et objets religieux à Taïwan. Poudre de bois d'agar est connu pour être saupoudré sur les vêtements et la peau en tant qu'insectifuge efficace contre les puces et les poux (Adelina et al., 2004).

DEUXIEME PARTIE

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I

MATÉRIELS ET MÉTHODES

L'objectif de ce travail est d'évaluer les effets toxiques du plomb chez des ratte gestantes de la souche Wistar et étudier l'efficacité de systèmes thérapeutiques basé sur un supplément de sélénium , Se nanoparticule synthétisé biologiquement et la phytothérapie par l'*Aquilaria malaccensis* pendant 20 jours dans laboratoire du recherche de faculté de science de nature et vie université El-chahid HAMMA LAKHDAR .Nous allons pour cela mis au point sur le dosage des paramètres biochimiques sanguins et hématologique ainsi que l'évaluation des paramètres du stress oxydant tissulaire.

I. Matériels

1. Matériels végétal

La plante utilisée dans ce travail est l'écorce de tronc d'*Aquilaria malaccensis* (figure 11), est largement répandu et a été trouvé dans 10 pays d'Asie du Sud et du Sud-Est , à savoir le Bangladesh, le Bhoutan, l'Inde, l'Indonésie, la Malaisie, Myanmar, les Philippines, Singapour et la Thaïlande (Oldfield et Mackinven, 1998). qui a été acheté du marché local, lavé plusieurs fois, séché à l'air pendant 48-92 h et broyer avec un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. La poudre d'*Aquilaria* est conservée à la température ambiante dans des contenants hermétiques à l'abri de la lumière vive jusqu'à le début de l'expérimentation.



Figure 11 : Ecorce de tronc de l'*Aquilaria malaccensis* Lam (photo originale).

2. Matérielles biologiques

2.1. Condition d'élevage

Notre étude a été réalisée sur vingt-cinq (25) ratte de type Wistar Albinos en même âges avec bonnes états physiologiques, provenant de l'institut Pasteur d'Alger. Les animaux sont

élevés au niveau de l'animalerie de la faculté de sciences de la nature et de la vie à l'université Echahid Hamma Lakhdar El Oued. Ils ont été soumis à une période d'adaptation aux conditions de l'animalerie, un mois d'environ, à une température de 18 ± 0.18 °C et une photopériode de 12 h/24 h. Les rattes sont logées dans des cages en plastique.

Les animaux ont été nourris par un régime alimentaire dont nous avons préparé selon Southon et al, (1984) (tableau 4), et recevant l'eau distillée.

Tableau 04: Composition de régime standard (Southon *et al.*, 1984).

Matières premières	Quantité (g/kg)	Pourcentage (%)
Mais	326	32.6
Cellulose	326	32.6
Protéine (soja)	168	16.8
Saccharose	80	8
Minéraux	20	2
Vitamine	20	2
Huile	60	6

2.2. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes

Les rattes sont anesthésiées par chloroforme (94%) après 16h de jeûne et sont sacrifiées (par décapitation). Le prélèvement sanguin s'effectue le moment de sacrifice des rattes dans des tubes EDTA pour le FNS et tubes sec pour les analyses biochimiques. La glycémie est mesurée par le glucomètre pour chaque ratte. Après, centrifugation le sang à 3000 tours/minute pendant 15 minutes. Le sérum obtenu est conservé à une température de -20°C jusqu'au moment des analyses biochimiques (l'urée, acide urique, triglycéride, cholestérol, TGO, TGP). Le foie, reins et cœur sont soigneusement prélevés, rincés avec NaCl, ensuite pesés. Les homogénats des organes sont préparés pour le dosage des paramètres du stress oxydatif (Malondialdéhyde, glutathion, glutathion S-transférase et SOD) .

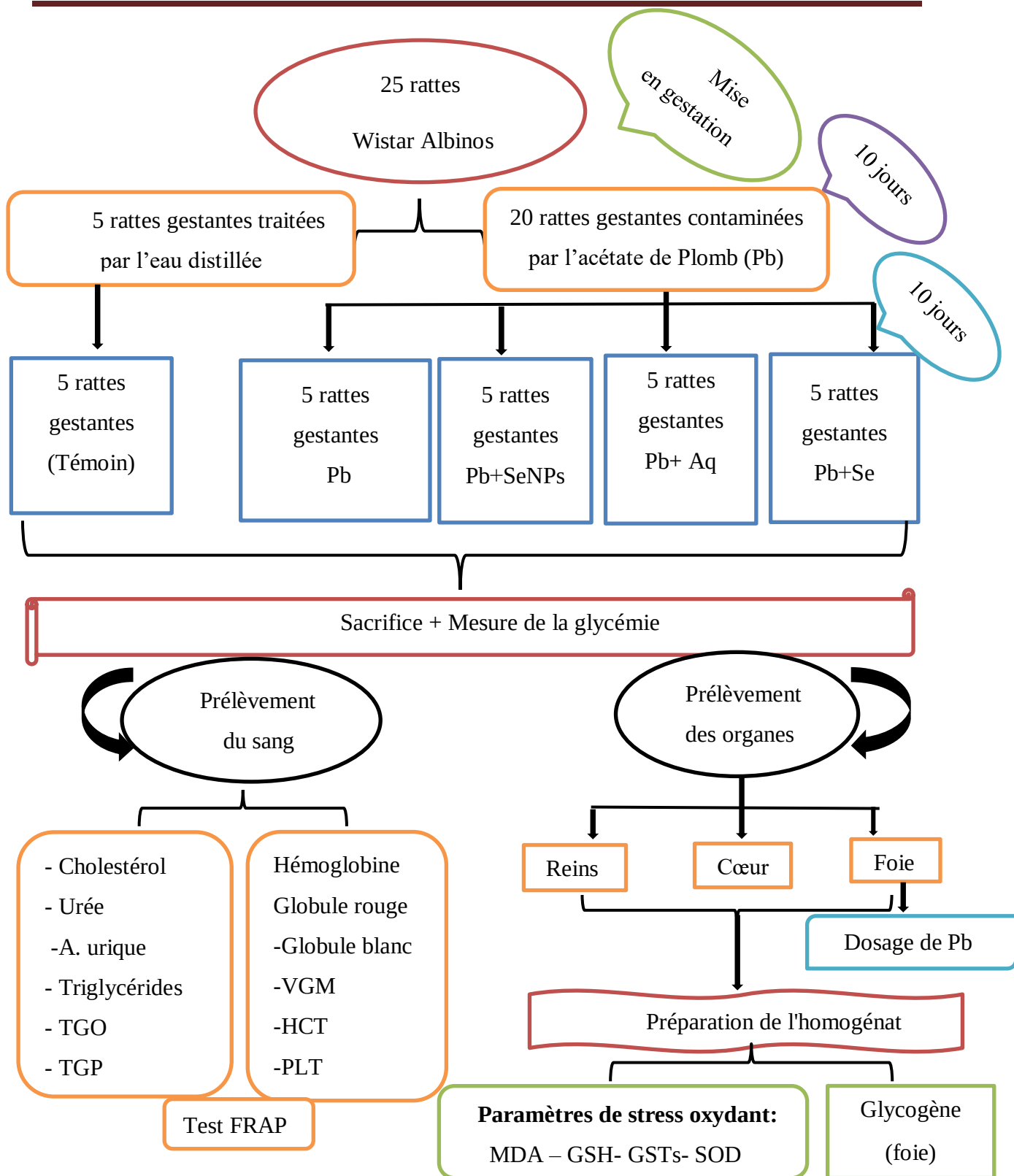


Figure :Schéma récapitulatif du protocole expérimental de l'étude.

3. Réactifs et produits utilisés

Chlorure d'hydrogène (HCl), méthanol, chloroforme, réactif de Mayer, réactif de Wagner, FeCl₃, acide sulfurique (H₂SO₄), liqueur de Fehling, Folin-Ciocalteu (FCR), carbonate de sodium (Na₂CO₃), acide gallique, Tris, chlorure de sodium (NaCl), ammoniac, acide nitrique (HNO₃) , acide salicylique, bleu de Coomassie, sérum bovin albumine (BSA), acide trichloroacétique (TCA), acide thiobarbiturique (TBA), Butylhydroxytoluène (BHT), peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), tampon phosphate (KH₂PO₄), acide salicylique, 5,5'-dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB), GSH, 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB).

II. Méthodes

1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux

Pour préparer un extrait on a utilisé 25g de la plante sèche d' *A. malaccensis* avec 250 ml d'eau distillée a été bouillit à feu doux pendant 2h dans plaque chauffante (50 °c) avec l'agitation. Après macérés à température ambiante pendant 24h, puis filtré, le filtrat a ensuite été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif dans la température 60 °c (Majhenic et al., 2007).

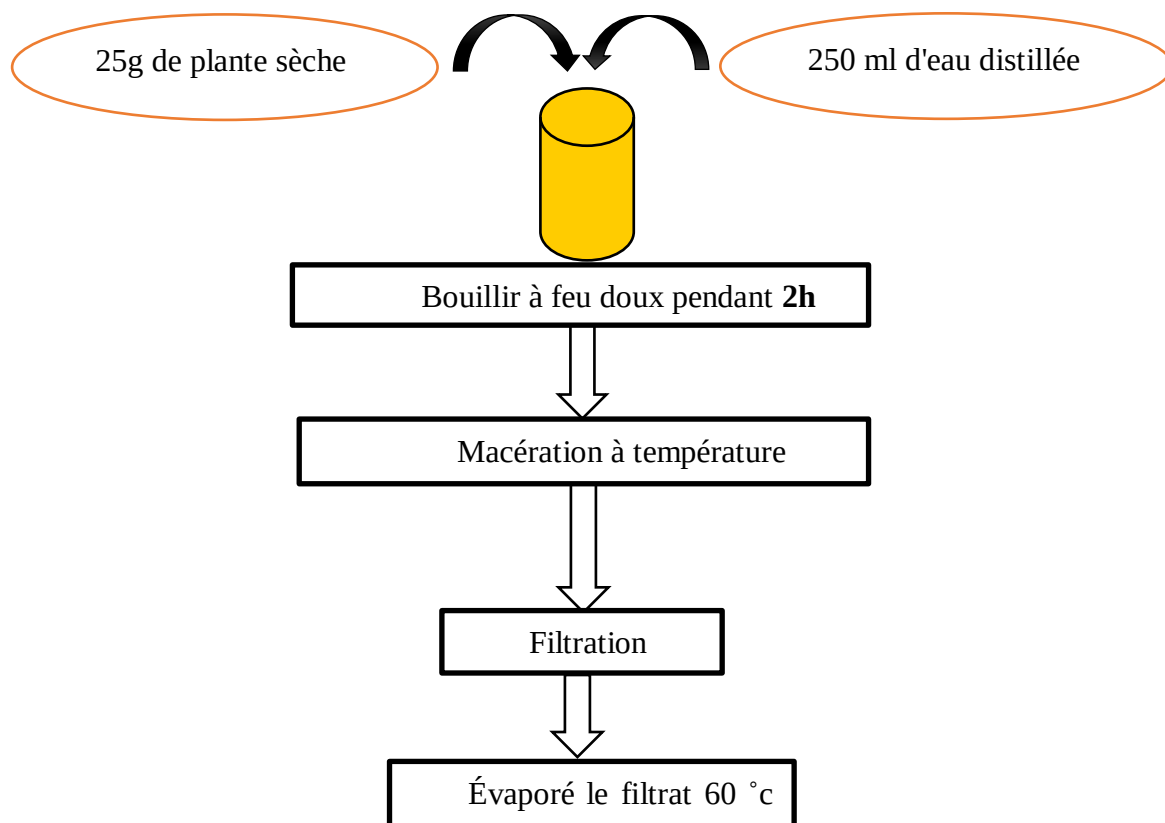


Figure : Protocole de préparation de l'extrait aqueux de la plante.

2. Traitement des animaux

Après la période d'adaptation, les rattes ont été réparties en cinq groupes (n=5) , les rattes ont été traités comme suit :

Groupe 1 (T): Rattes gestantes saines traitè par l'aeu distillè (témoin).

Groupe 2 (Pb): Rattes gestantes contaminées par l'acétate de plomb durant 20 jours.

Groupe 3 (Pb+SeNPs): Rattes gestantes contaminées par l'acétate de plomb durant 20 jours et traité par le nanoparticule de sélénium pendant 10 jours.

Groupe 4 (Pb+Aq): Rattes gestantes contaminées par l'acétate de plomb durant 20 jours et traité par *A.malaccensis* pendant 10 jours.

Groupe 5 (Pb+Se): Rattes gestantes contaminées par l'acétate de plomb durant 20 jours et traité par le sélénium pendant 10 jours.

L'acétate de plomb a été solubilisé dans l'eau de boisson à raison de 100 mg/Kg de poids corporel. Le traitement par la plante a été fait à raison de 1% du régime alimentaire (Derouiche et al., 2017). Mais pour le Se et le SeNPs a été fait selon notre étude expérimentale

3. L'analyse phytochimiques

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

♦ Alcaloïdes

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

♦ Les substances polyphénoliques

✓ Tannins

Dans un tube à essai, introduire 5ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 2%, la présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

✓ Flavonoïdes

Ajouter dans un tube à essai, 5ml d'extrait à tester, 5ml ammoniac dilué et 1ml H₂SO₄. L'apparition d'une coloration jaune prouve la présence des flavonoïdes.

♦ Saponines (Test de mousse)

Dans un tube à essai, introduire 5ml de l'extrait à analyser, mélangé avec 5 ml d'eau distillée dans un tube à essai et on a agité vigoureusement. La formation d'une mousse de sable a été prise comme une indication de la présence de saponine.

♦ Sucres réducteurs

Dans un tube à essai, ajouter liqueur de Fehling (1ml réactif A et 1ml réactif B), à l'extrait à analyser et incuber l'ensemble dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres réducteurs

♦ Terpénoïdes (Test de Slakowski)

Dans un tube à essai, ajouter à 5ml d'extrait de plante, 2ml de chloroforme et 3ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un couleur brun rougeâtre indique la présence des terpénoïdes.

4. Méthode de dosage des polyphénols totaux

L'analyse quantitative des phénols totaux des extraits phénoliques a été réalisée par le protocole de (Slinkard et al.,1974).. 200 µL d'extrait végétal dilué est mélangé, la solution a été introduite à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois dans l'eau distillée. Après 4 minutes, 800 µl de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à concentration de 7.5g/l ont été ajoutées, les solutions ainsi obtenues ont été secouées immédiatement et sont maintenues à l'obscurité pendant 2h à température ambiante. L'absorbance a été déterminée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS. Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des solutions d'acide gallique de différentes concentrations (50 - 100 - 150 - 200µg/ml), réalisée par la même procédure du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg d'EAG/g). Toutes les mesures sont répétées 3 fois .

5. Dosage de l'activité antioxydant in vitro

L'activité antioxydante in vitro a été évaluée en mesurant le pouvoir piégeur du radical DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle) selon la méthode décrite par Burits et Bucar (2000), où 3ml de différentes concentrations (1,2,5,10,15,25,35,50,60 et 70 µg/ml) d'échantillons d'*A. malaccensis* . ont été ajoutés à 75 µl de solution méthanolique de DPPH (1,3 mg / ml). Les mesures d'absorbance ont été lues à 517 nm après 30 min de temps d'incubation à température ambiante (A1). L'absorbance d'un échantillon blanc contenant la même quantité de méthanol et de solution de DPPH a servi de témoin négatif (A0). Le pourcentage d'inhibition $[(A0-A1 / A0) \times 100]$ a été porté en fonction de la teneur en phénol et la CI50 a été déterminée.

6. Méthode de synthèse vertes des nanoparticules de sélénium

Pour la synthèse des nanoparticules d'oxyde de sélénium, 50 ml de solution dihydratée acétate de sélénium (0,5 M) ont été préparés avec de l'eau distillée. 1 ml d'extrait aqueux de l'écorce de tronc de l'*A.malaccensis* a été introduit dans la solution ci-dessus après 10 minutes d'agitation. Pour maintenir le pH à 12, on a utilisé de l'hydroxyde de sodium 2,0 mol-dm⁻³, ce qui a donné une solution aqueuse blanc pâle (annexes). Celui-ci a ensuite été placé dans un agitateur magnétique pendant 2 heures (Dhuha et al., 2018). Le précipité blanc pâle a ensuite été enlevé et lavé encore avec de l'eau distillée suivie d'éthanol pour se débarrasser des impuretés. Puis une poudre blanc pâle de nanoparticules d'oxyde de sélénium a été obtenue après séchage au 60°C au four pendant la nuit (annexes). (Anand et Jayalakshmy 2015).

7. Méthode de dosage de plomb tissulaire

La calcination sèche de foie s'effectue dans un four à moufle en augmentant la température par palier successif jusqu'à 600°C pendant 6h dans le but d'éviter les inflammations brutales de l'échantillon et qui provoquerait des pertes.

Les cendres obtenues sont dissoutes par une attaque de 3ml d'acide nitrique pur (HNO₃) en chauffant légèrement sur une plaque chauffante. Le liquide obtenu est filtré sur du papier filtre dans une fiole de 20 ml et complété à son volume final avec l'eau déminéralisé. Pour le dosage de plomb en utilisant un spectrophotomètre d'absorption atomique (Shimadzu AA-6200; Somerset, New Jersey, USA) .

♦ Expression des résultats:

Les teneurs en Pb dans les tissus sont déterminés en µg/g selon l'équation suivante:

$$C(\mu g/g) = Cs * V/PE * (Fd)$$

C : concentration finale en Pb.

Cs : Concentration en Pb dans la solution en mg/l.

V: volume de l'acide nitrique utilisée dans chaque cendre.

Fd : facteur de dilution.

PE : Prise d'essai en g (poids frais) de l'échantillon

8. Dosage des paramètres hématologiques

Les paramètres hématologiques sont déterminés par la méthode de Coulter en utilisant l'autoanalyseur d'hématologies de type Medonic spécifique de l'FNS (formule de numération sanguine).

9. Dosage des paramètres Biochimique

Les taux d'urée, acide urique, triglycérides, cholestérol, activité de TGO et TGP dans le sérum ont été déterminés à l'aide du kit commercial de BIOLABO France (réf.: urée-92032, acide urique-80351, Triglycéride-80019, cholestérol-90206, TGO-80025, TGP-80027).

10. Dosage de glycogène et des paramètres de stress oxydatif

10.1. Préparation de l'homogénat des organes

Un gramme de tissu (foie, reins et cœur) de chaque ratte des différents groupes étudiés, a été utilisé. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (3000 tours/min, 15 min), puis le surnageant (homogénat) obtenu est conservé à -20°C en attendant d'effectuer les dosages de glycogène et des paramètres du stress oxydatif.

10.2. Dosage de glycogène hépatique

Le dosage de glycogène dans le foie est réalisé selon la méthode colorimétrique de l'anthrone-acide sulfurique. On ajoute 1 ml de réactif d'anthrone à 25 μ l de l'échantillon (homogénat de foie) puis le mélange est mis dans un bain-marie à 80°C pendant 10 min. Une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des glucides présente dans l'échantillon. Lecture de la densité optique à 620 nm contre un blanc réactif contenant de l'eau distillée. La valeur de l'absorbance est calculée puis convertie en équivalent de concentration des glucides à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie avec du glucose (0.01-0.1 mg/ml), dans les mêmes conditions expérimentales (Jean, M.V., et Marie, F. S. 1975).

10.3. Méthode de dosage des protéines tissulaires

◆ Principe

Les protéines tissulaires ont été déterminées suivant une méthode colorimétrique par un spectrophotomètre de type SHIMATZU en utilisant du bleu de Coomassie comme réactif qui réagit avec les groupements amines- NH_2 des protéines pour former un complexe de couleur bleu (l'apparition de la couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines) l'absorption est mesurée à 595 nm (Bradford; 1976).

10.4. 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 de couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique qui peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 532nm (Yagi., 1976).

♦ Réactif

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

♦ Mode opératoire

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

♦ Expression des résultats

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

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de prot}) = \frac{(\text{Do échantillon}) / (1,53 \times 10^5)}{\text{mg de prot}}$$

10.5. 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 5 minutes. Puis, prélever 0.5ml de surnageant, 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 :

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

10.6. Dosage de l'activité de glutathion-S-transférase (GSTs)

♦ Principe

L'activité de la GSTs a été mesurée par Spectrophotométrie en se basant sur la cinétique de formation d'un complexe entre un substrat des GST: le 1-chloro-2-4-dinitrobenzène (CDNB), et le glutathion (GSH). Le complexe formé peut être visualisé par une augmentation de la densité optique à une longueur d'onde de 340 nm.

♦ Mode opératoire

La méthode utilisée dans cette étude pour doser les GSTs est celle de (Habig et al., 1974).; celle-ci consiste à faire agir les GSTs contenues dans l'homogénat sur un mélange (GSH + CDBN) à une température de 37°C et à un pH de 6,5. La variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée pendant 1 minute durant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm.

Réactifs	Blanc(μl)	Essai(μl)
Tampon phosphate(0.1M) ph 6.5	850	830
CDNB(0.02M)	50	50
GSH(0.1M)	100	100
Homogenate	-	20

♦ Expression des résultats

L'activité de la GSTs exprimée en nano-moles de CDNB par minute par milligramme de protéines (nmol CDNB/min/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{GSTs(nM/min/mg de prot)} = \frac{\text{DO échant/min} - \text{DO blanc/min}}{9.6 \times \text{mg de prot}}$$

GSTs: glutathion S-transférase.

Do échant/min: Densité optique de l'échantillon /min.

Do blanc /min: Densité optique du blanc /min.

9.6 : Coefficient d'extinction du GSH-CDNB exprimé en mM-1. Cm-1

10.7. Dosage de l'activité de superoxyde dismutase (SOD)

♦ Principe

La méthode de dosage de l'activité SOD à l'aide de NBT par l'anion superoxyde est utilisé comme base de détection de la présence de SOD selon la méthode de (Beauchampet Fridovich,1978).

♦ Mode opératoire

Prélever dans des tubes	Blanc (à l'obscurité)	Échantillon (tube 40 llumine)	Concentration dans le milieu réactionnel
EDTA-MET(μl)	1000	1000	0.1mM EDTA
Tampon phosphate (μl)	892.2	-	13 mM Met
Echantillon (μl)	0	50	-
Tampon phosphate (μl)	1000	1800	50 mM
NBT (μl)	85.2	85.2	75
Riboflavine (μl)	22.6	50	0.5 mM

10.8. Activité antioxydant totale (Test FRAP)

On ajoute 500 μl de l'échantillon (sérum) à 1.25ml de solution tampon phosphate (0.2M) pH 6.6 puis 1.25ml de potassium ferricyanure et Incuber 20 min dans un Bain marie à 50°C. Puis on ajout 1.25ml de la solution aqueuse TCA(10%) pour stopper la réaction. Puis centrifuger à 3000 rpm/10min, en prend 1.25ml de surnageant et 1.25 ml de l'eau distillée et

250 µl FeCl_3 (0.1%) puis ajouté pour faire colorer Fe^{2+} (fer ferreux) par bleu-vert . On a fait la lecture à par spectrophotomètre uv-vis à 700nm contre l'eau distillé (Oyaizu, M. (1986)).

$$\text{Le pouvoir réducteur (\%)} = [(A_0 - A_1 / A_0) \times 100]$$

-A1: densité optique de l'échantillon

-A0: semblablement préparer ,en remplaçant l'échantillon par l'eau distillé

11. Méthode d'analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne $\pm$ Ecartype moyen. L'analyse des données a été effectuée par application du test T de Student, qui est basé sur la comparaison entre deux moyennes, en utilisant le logiciel MINITAB (Version 18Fr) et EXCEL (Version 2016) qui nous aide pour faire les histogrammes.

CHAPITRE II

RÉSULTATS

1. Etude phytochimique et dosage de polyphénol

Tableau 05: Tests phytochimiques de l'extrait aqueux d'*A. malaccensis*

Composés	Réactifs	<i>A. malaccensis</i>
Flavonoïdes	H ₂ SO ₄	+
Tannins	FeCl ₃	-
Alcaloïdes	Mayer	+
Saponines	Test de mousse	+
Terpénoïdes	Test de Slakowski	+
Sucres réducteurs	Liqueur de Fehling	+

- :absent ,+ :présent.

Tableau 06 : Contenu en polyphénols de l'extrait aqueux d'*A. malaccensis*

Plante	Polyphénols mg EAG g ⁻¹
<i>A. malaccensis</i>	540.0±10.8

2. Activité antioxydant (Test DPPH)

Les résultats de l'activité de balayage radicalaire des extraits et de l'étalon (Vit C) ont été présentés dans (Figure 12) nous avons observé la valeur de la IC 50 de Vit C (IC 50=18.40 mg/ml) est inférieure que la valeur IC 50 d'extrait aqueux d'*Aquilaria malaccensis* (IC 50 = 39.17mg/ml). les résultats indiquent que l'extraits d'*Aquilaria malaccensis* a un potentiel réduit avec une activité de balayage radicalaire.

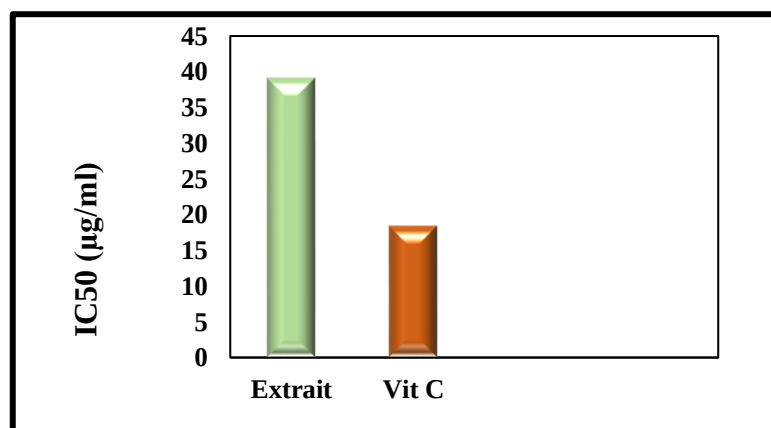


Figure 12 : Les valeurs IC 50 (test DPPH) d'extrait aqueux d'*Aquilaria malaccensis* et Vit C.

3. Analyse chromatographique (HPLC)

3.1. HPLC de polyphénols

Le chromatogramme de l'analyse HPLC (Figure 13) montre que l'extrait aqueux d'*Aquilaria malaccensis* est riche en polyphénols en différentes quantités et que l'Apigénine, l'Epicatéchine et la Naringénine ont la substance principale parmi ces constituants d' *A. malaccensis*.

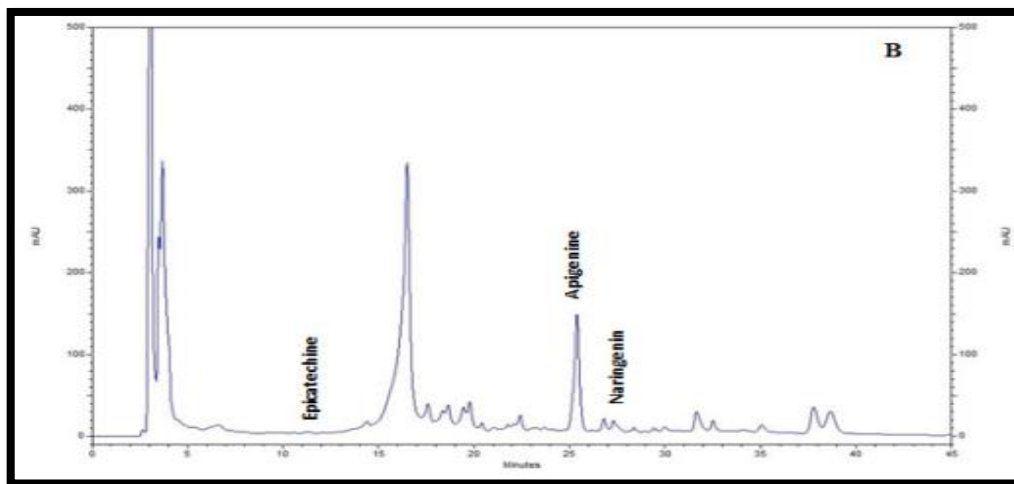


Figure 13: Chromatogramme du polyphénol pour l'extrait aqueux d'*Aquilaria malaccensis*

3.2. HPLC des flavonoïdes

Les résultats de l'analyse chromatographique par HPLC montrent que l'extrait aqueux d'*Aquilaria malaccensis* est riche en flavonoïdes en différentes quantités et que Quercetin, Kampferol et Rutin constituent la substance majoritaire pour *A. malaccensis* (Figure 14).

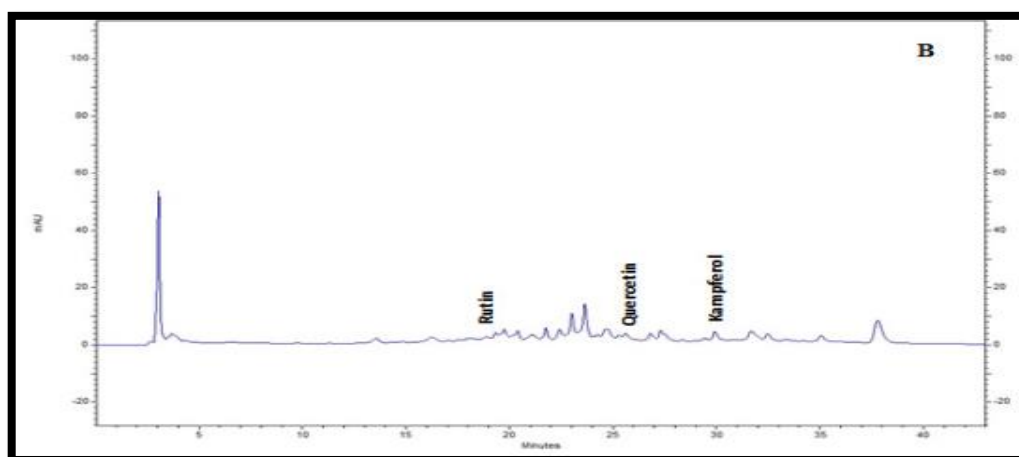


Figure 14 : Chromatogramme des flavonoïdes pour l'extrait aqueux d'*Aquilaria malaccensis* .

4. Etude de poids relative des organes et le statut de plomb tissulaire

✓ Étude du poids relatif des organes

Les figure 15 montre aucun variation de poids relative au niveau de foie, cœur ,rein chez le groupe contaminé par le plomb comparé au groupe témoin.

En revanche le traitement par SeNPs en remarque une diminution au niveau de rein mais aucune variation au niveau de foie ,cœur chez les rattes comparé au Pb . Le traitement par *A. malaccensis* on remarque une diminution au niveau de cœur, rein mais aucune variation au niveau foie comparé au groupe Pb .le traitement par le sélénium induit une diminution au niveau de rein mais aucune variation au niveau de foie et rein comparé au groupe Pb.

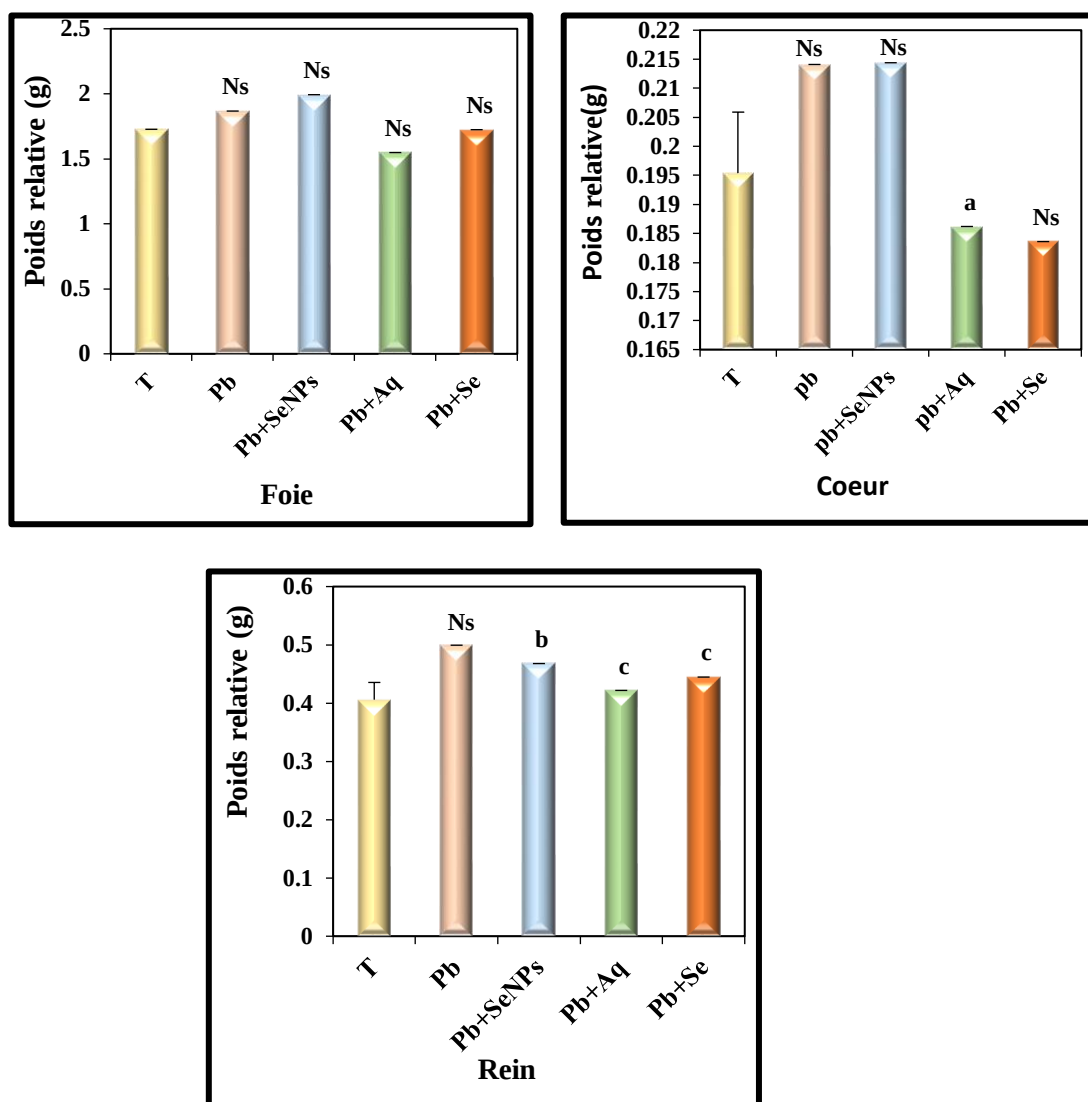


Figure 15 : Variation du Poids relatif de foie, reins et cœur chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin (T): * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, avec groupe traités par pb : a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$, n= 5 rattes.

✓ Étude de la Concentration tissulaire du plomb

la figure 16 montre aucune augmentation significative de la concentration de plomb dans le foie ($p < 0.05$) chez les ratte contaminée par plomb par rapport les ratte témoins . le traitement par le SeNPs et Se on n'a signalé aucune effet de la concentration de plomb dans le foie chez les ratte comparé au groupe Pb. En revanche le traitement par *A. malaccensis* on remarque une diminution significative de concentration de plomb de foie ($p < 0.05$) chez les ratte comparé au groupe Pb .

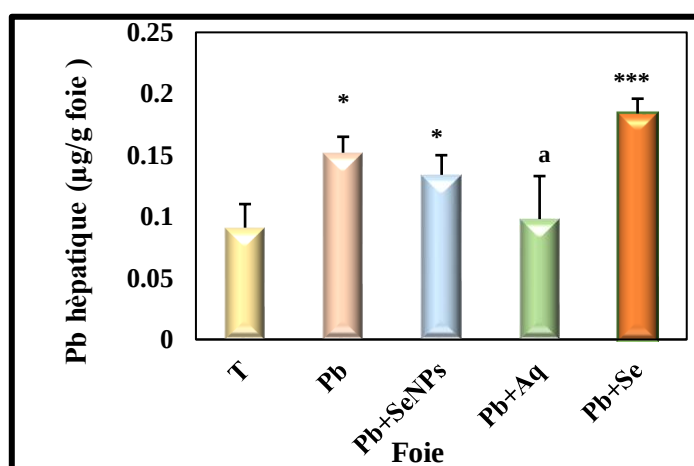


Figure 16: Variation de la concentration hépatique du plomb chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec lot témoin (T) : ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, Comparaison avec lot Pb : a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$. n= 5 ratte.

5 . Etude des paramètres hématologique et biochimique

✓ Étude des paramètres hématologiques

Dans les figures 16 montrent que la contamination par l'acétate de plomb entraine une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de taux de nombres de HGB, globules rouges et globules blancs lorsque en comparent aux rats témoin. Mais on n'a signalé aucune effet significative de nombres de PLT ,VGM et HCT .

le traitement par le SeNPs induit une diminution significative de nombre de VGM ($p < 0.01$) , PLT($p < 0.001$) et une augmentation significative de nombre de HGB ($p < 0.001$), globules blancs ($p < 0.01$) , globules rouges ($p < 0.05$) en comparent avec les rats exposés par le plomb . Mais on n'a signalé aucune variation de nombre de HCT.

En revanche le traitement *A. malaccensis* on remarque une diminution significative de nombre de PLT ($p < 0.001$) , nombre de VGM ($p < 0.01$) et une augmentation significative de nombre de HGB, globule rouges ,HCT ($p < 0.001$) et le nombre de globules blancs ($p < 0.01$) en comparent avec les ratte exposés par le plomb .

Le traitement par le Se induit une diminution de façon très hautement significative de nombre de VGM, PLT ($p < 0.001$) et on remarque une augmentation significative de nombre de HGB, globules blancs et rouges ($p < 0.001$), HCT ($p < 0.01$) en comparant avec les ratte exposés par le plomb.

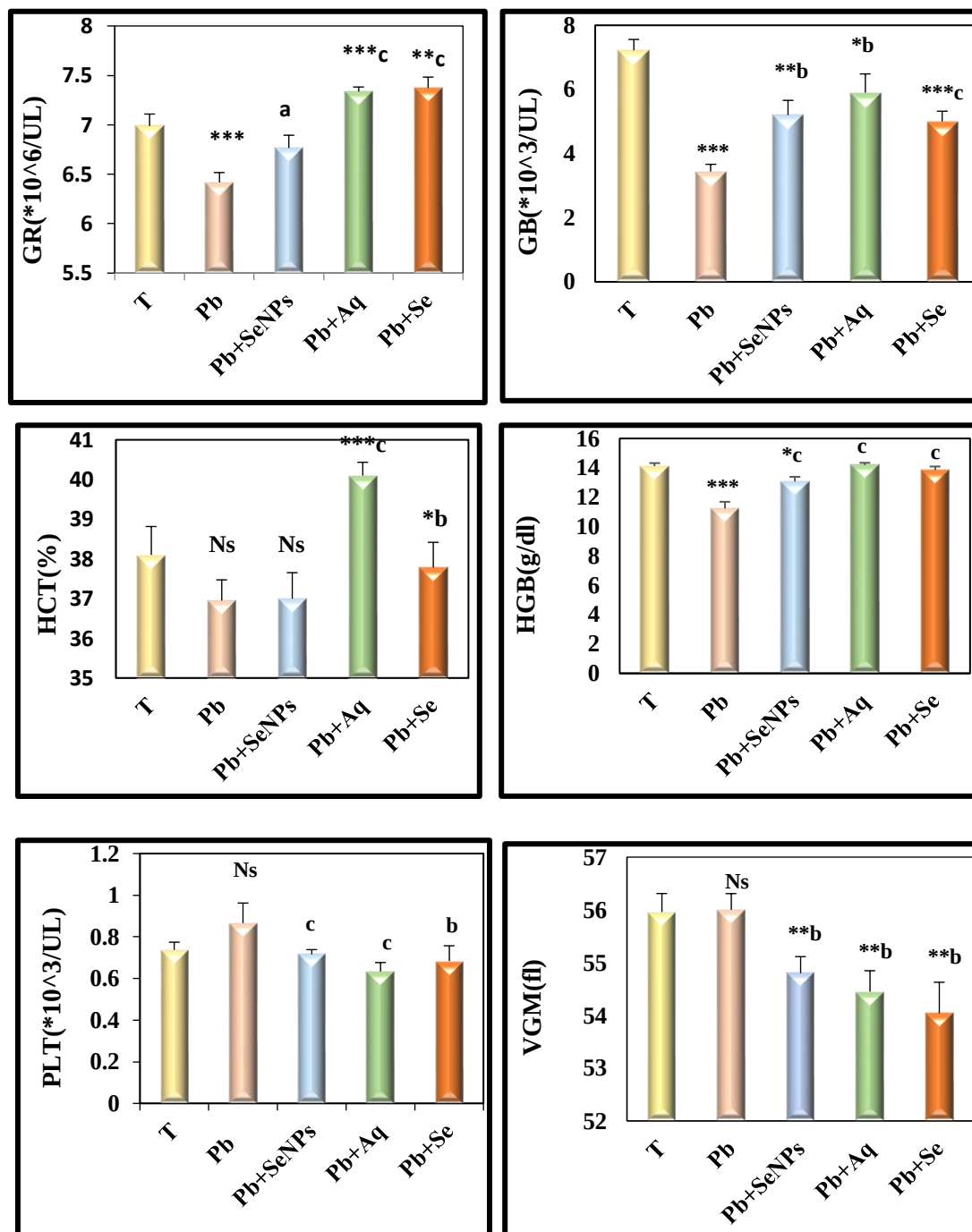


Figure 17 : variation de taux de hémoglobine ,de nombre de globule rouges , globules blancs , VGM , HCT, PLT chez le groupe témoins et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, avec groupe pb : a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$, n= 5 ratte.

✓ Étude des paramètres biochimiques

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique du TGP et de l'urée, augmente de façon significative de ($P < 0.01$) de cholestérol et une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'acide urique, activité de TGO chez le lot Pb par rapport au témoin. Mais on n'a signalé aucune variation de la concentration sérique de triglycérides et de la glycémie.

Par contre chez les lots traité par SeNPs nous remarquons une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration de cholestérol et TGO et nous remarquons une diminution significative ($p < 0.01$) de l'acide urique. n'ont aucun effet significative sur la concentration de la triglycérides, TGP, urée et de la glycémie

chez les lots traité par *A. malaccensis* nous remarquons une augmentation significative ($p < 0.05$) de la glycémie, diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration de cholestérol, urée, triglycérides, acide urique, TGO et TGP en comparaison avec le lot plomb respectivement.

Chez les lots traité par Se nous remarquons une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration de cholestérol, triglycérides, urée et TGO en comparaison avec le lot plomb respectivement. Mais on n'a signalé aucune variation de la glycémie, de concentration de acide urique et activité de TGP.

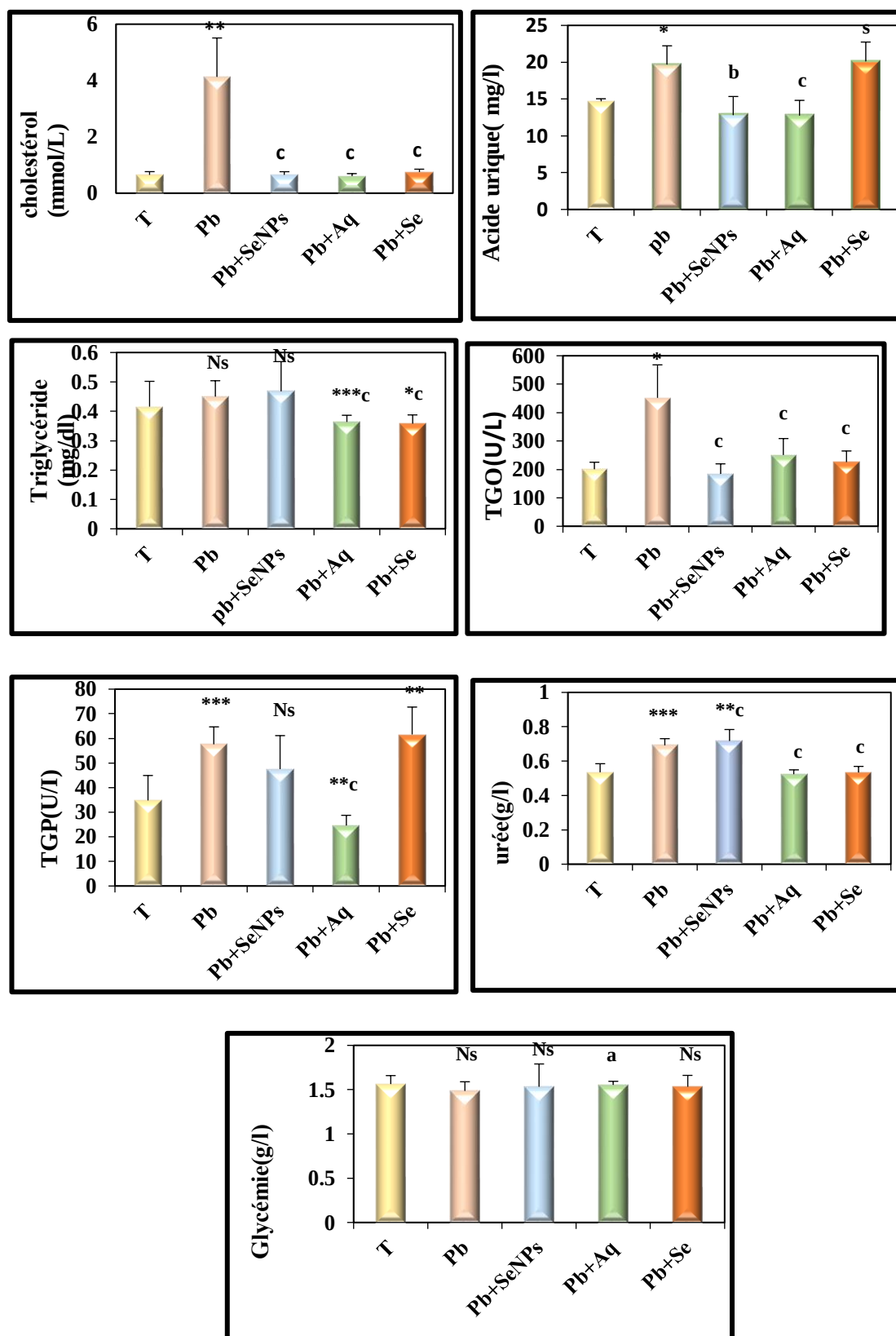


Figure 18: Variation de la glycémie, concentration sérique d'urée, acide urique, triglycérides, cholestérol, activité de TGO et TGP chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec le groupe témoin: * $p < 0.05$. Comparaison avec groupe exposé au pb: a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$. $n = 5$ rattes.

6. Etude du glycogène hépatique

Les résultats de figure 19 montrent que la quantité de glycogène est augmenté de façon significative chez le groupe exposé au plomb par rapport au groupe témoin.

.le traitement des rattes par *A.malaccenis* et le Se diminue la quantité de glycogène hépatique de façon significative ($p < 0.01$ et $p < 0.001$) respectivement.

Mais le traitement par le SeNPs n'a aucun effet sur le quantité de glycogène hépatique.

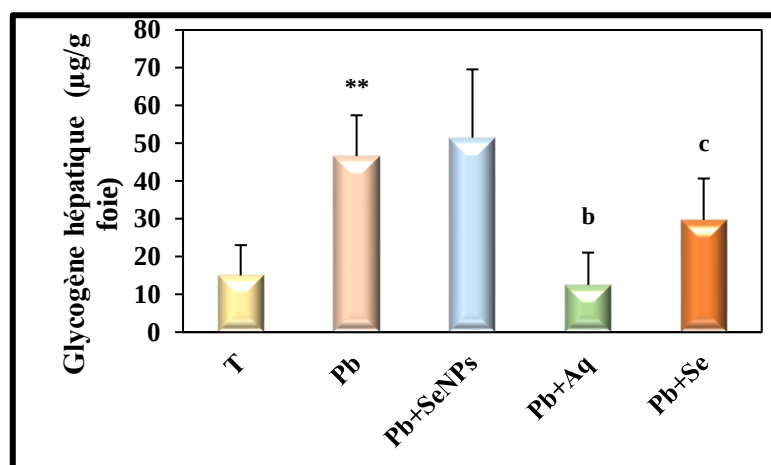


Figure19 : variation de la teneur en glycogène hépatique chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. Comparaison avec groupe pb: a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$, n= 5 ratte.

7. Etude des paramètres de stress oxydant

✓ Etude de la peroxydation lipidique (MDA) et le glutathion réduit (GSH)

Notre résultats illustrés dans les figure 20 et 21 montrent une diminution importante de la peroxydation lipidique au niveau de foie ($p < 0.001$) et une augmentation importante au niveau de cœur ($p < 0.01$) chez le lot contaminé par le Pb comparé au lot témoin. Mais aucun effet au niveau de reins.

Par contre la contamination par le plomb induit une diminution importante de la concentration de GSH dans foie , cœur ($p < 0.001$) et reins ($p < 0.01$) par rapport au témoin.

Notre résultat montre aussi que SeNPs induit une diminution significative de la peroxydation lipidique au niveau rénale et cardiaque ($p < 0.05$) .Mais aucun effet au niveau hépatique et une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration de GSH rénale. Mais

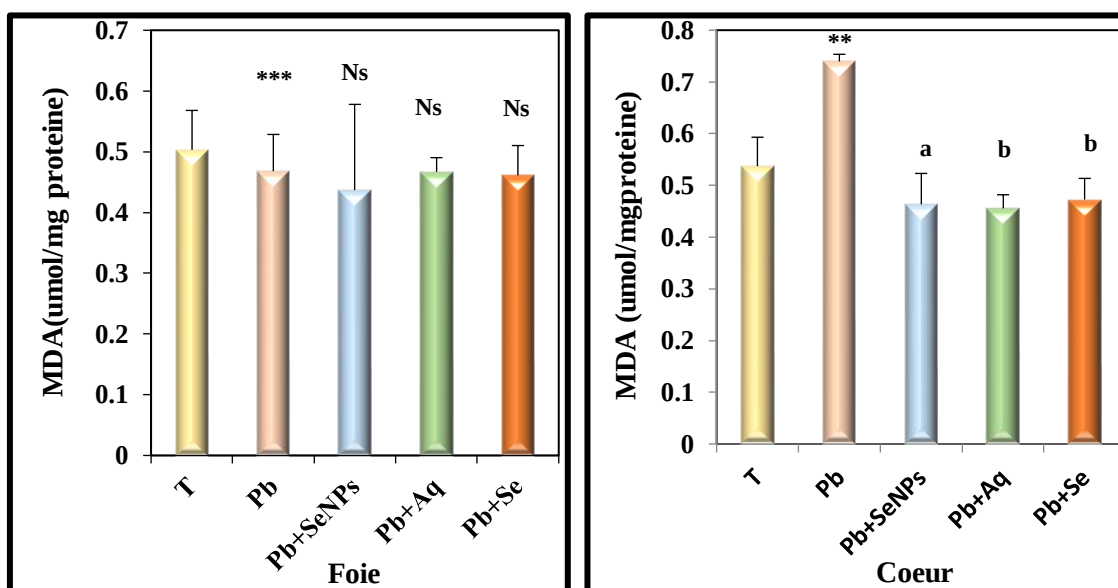
ne présente aucune variation sur la concentration de GSH au niveau hépatique et cardiaque comparés au groupe Pb.

Tandis que, le traitement par *A.malaccensis* provoque une diminution significative de la peroxydation lipidique au niveau cardiaque ($p<0.05$). Mais cette plante ne présente aucune variation de MDA au niveau de foie et reins par rapport au rattes exposé seulement au Plomb.

Tandis que, le traitement par *A. malaccensis* provoque une augmentation très hautement significative ($p<0.001$) de la concentration de GSH rénale et diminution significative de la concentration de GSH hépatique ($p<0.05$), cardiaque ($p<0.001$) comparés au groupe Pb.

Le traitement par le Se induit diminution significative de la peroxydation lipidique au niveau cardiaque ($p<0.01$), reins ($p<0.05$). Mais ce traitement ne présente aucune variation de MDA au niveau hépatique en comparaison avec le lot Pb.

Tandis que, le traitement par Se provoque une augmentation significative ($p<0.05$) de la concentration de GSH rénale et une diminution significative au niveau hépatique ($p<0.05$). Mais ne présente aucune variation de concentration de GSH au niveau cardiaque en comparaison avec le lot Pb.



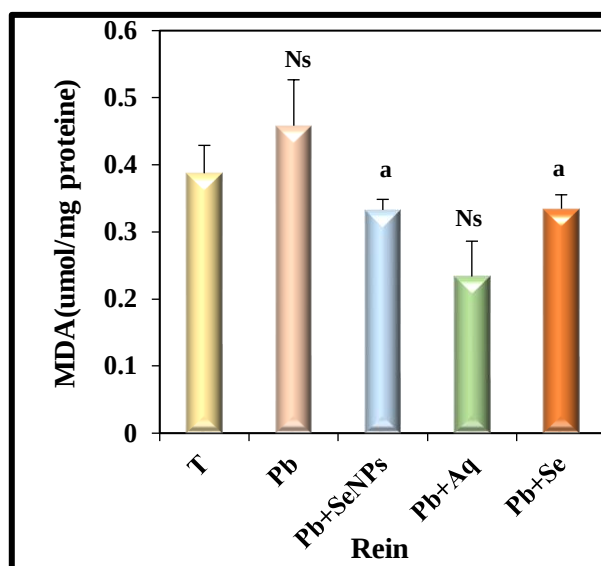


Figure 20 : Variation de la peroxydation lipidique au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. Comparaison avec groupe pb: a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$, $n = 5$ ratte.

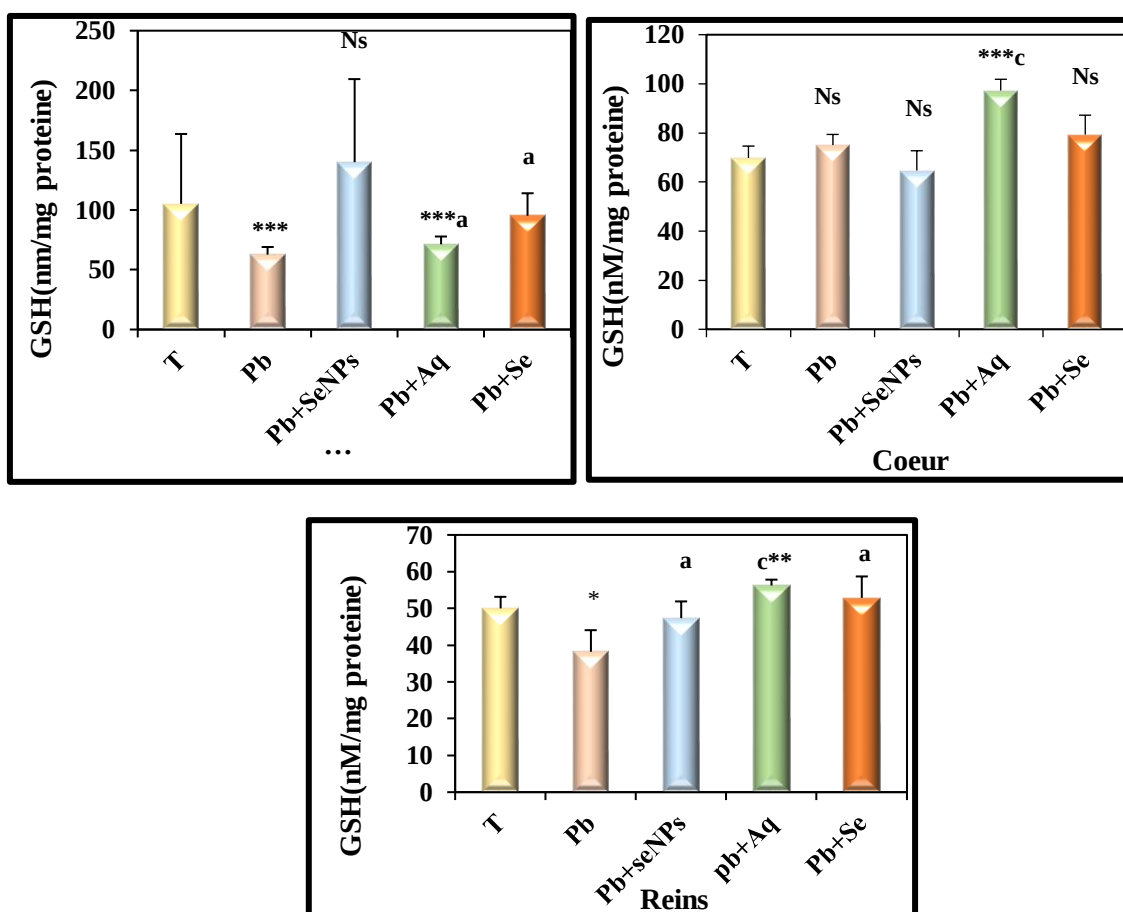


Figure 21 : Variation de la glutathion réduit (GSH) au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. Comparaison avec groupe pb: a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$, $n = 5$ ratte.

✓ Etude de l'activité de Glutathion S Transférase (GST)

Notre résultats obtenus dans la figure 22 montre une augmentation très hautement significative au niveau de rein et foie ($p < 0.001$) chez le groupe exposé au plomb comparé au groupe témoins.

Notre résultat montre aussi que le traitement par SeNPs induit une diminution très hautement significative au niveau de foie ($p < 0.001$), et une augmentation significative au niveau de reins ($p < 0.05$) comparé au groupe exposé au plomb.

Tandis que le traitement par *A. malaccensis* provoque une diminution significative au niveau de foie et reins en parallèles ($p < 0.001$, $p < 0.05$) comparé au groupe exposé au plomb.

Le traitement au groupe Se montre une diminution très hautement significative au niveau de foie et reins ($p < 0.001$) comparé au groupe exposé au plomb.

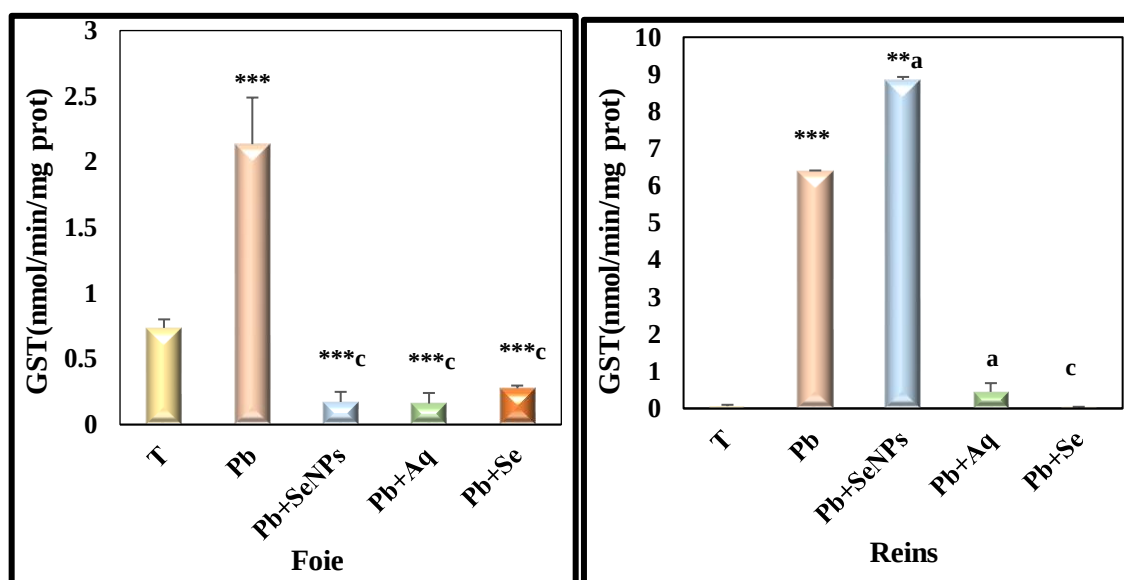


Figure 22: Variation de l'activité tissulaire de glutathion S-transférase (GSTs) chez le groupe témoins et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin (T): * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. Comparaison avec le groupe témoin traités par pb (P): a $p < 0.05$; b $p < 0.01$, n = 5 ratte.

✓ Etude de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)

Notre résultat montre dans la figure 23 une diminution très hautement significative d'activité de SOD au niveau de rein ($p < 0.001$), Mais on n'a signalé aucune variation au niveau de foie et coeur chez le lot contaminé par le plomb comparé au lot témoin.

Notre résultat montre aussi que le traitement par SeNPs une augmentation significative d'activité de SOD au niveau de cœur ($p < 0.05$). Mais on n'a signalé aucune effet aux niveaux des tissus hépatiques et rénales en comparaison avec le lot Pb.

Le traitement par *A. malaccensis* on n'a signalé aucune effet aux niveaux des tissus hépatiques , cardiaque et rénales en comparaison avec le lot Pb.

Le traitement au groupe Se montre une augmentation significative d'activité de SOD au niveau de cœur et reins ($p < 0.05$) . Mais on n'a signalé aucune effet aux niveaux des tissus hépatiques comparé au groupe exposé au plomb.

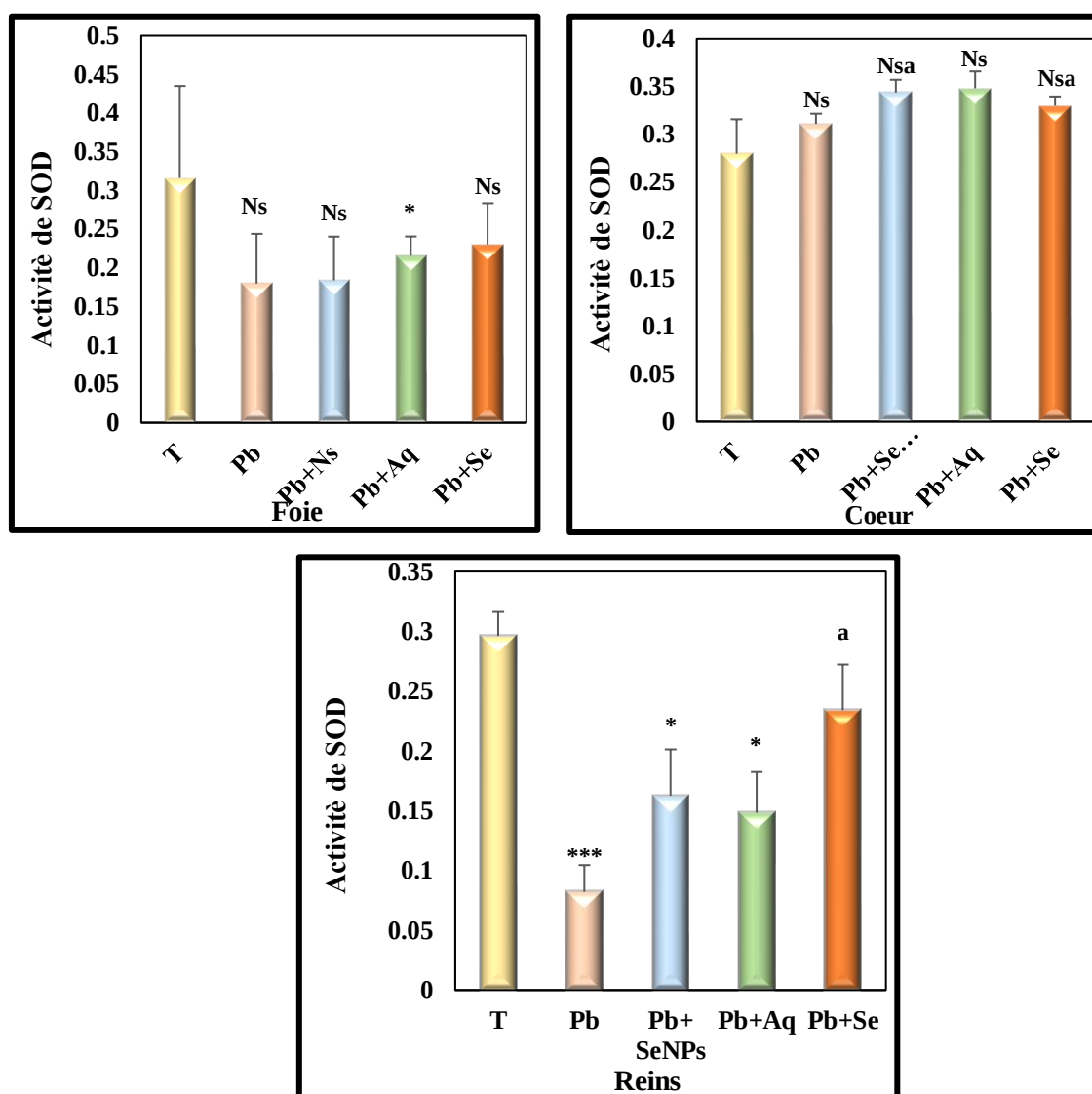


Figure 23 : Variation de la superoxyde dismutase (SOD) au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. comparaison avec groupe pb: a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$, $n = 5$ rats.

✓ Etude de l'activité antioxydant totale (test FRAP)

Notre résultats obtenus dans la figure 24 montre une augmentation significative de FRAP ($p < 0.05$) chez le groupe contaminé par plomb comparé au groupe témoins.

Les résultats montre que chez le groupe traité par SeNPs on n'a signalé aucun effet comparé au groupe exposé au plomb.

Tandis que, le traitement par *A.malaccensis* provoque une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) comparé au groupe exposé au plomb. Le traitement par Se montre aucun effet comparé au groupe exposé au plomb.

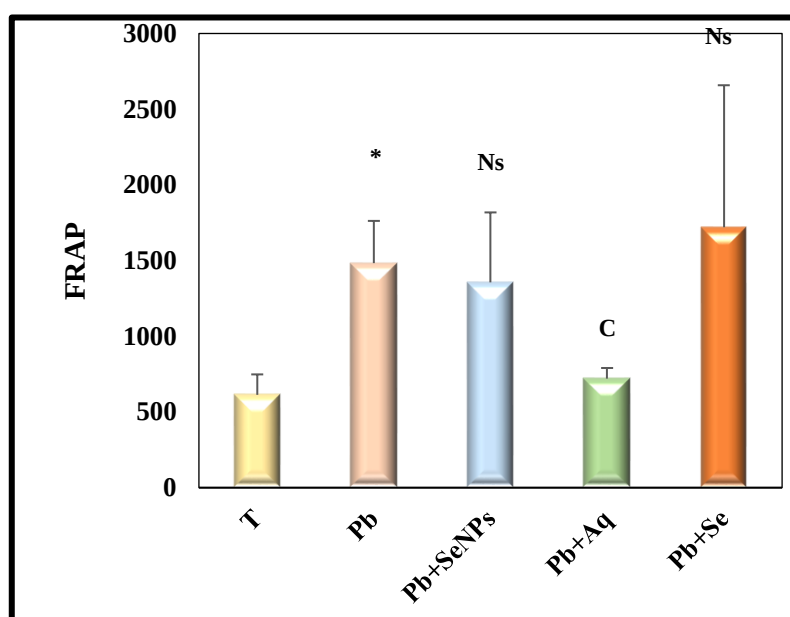


Figure24 : Variation de l'activité antioxydante totale (FRAP) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Comparaison avec groupe pb: a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$, n= 5 rattes

CHAPITRE III

DISCUSSION

Discussion

L'objectif de la présente travail est d'étudier l'efficacité de la phytothérapie à base de *Aquilaria malaccensis* et de la biothérapie à base de supplément de Sélénium et son forme nano SeNPs contre des perturbation métabolique et physiologique induit par le plomb au cours de gestation chez les rattes Wistar. Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments décroît avec le temps ce qui oriente les chercheurs scientifiques à faire des études approfondies sur la composition chimique de la plante en métabolites secondaires et leurs actions thérapeutiques (Laight et al., 2010). Pour cela on a choisi *Aquilaria malaccensis* comme modèle de phytothérapie qui est largement utilisé dans la médecine traditionnelle Algérienne. d'autre part, des études récentes montrent que les nano-composés pourraient avoir une meilleure efficacité que celle des composés parents (Kundu et al., 2012). De plus, les composés nanométriques présentent divers avantages thérapeutiques, notamment de faibles effets secondaire. pour cela on a choisi le sélénium et son forme nano (SeNPs) comme base de biothérapie contre la toxicité de plomb.

✓ Analyse quantitative et qualitative sur l'*Aquilaria malaccensis*

A partir de notre étude in-vitro, l'analyse quantitative des composé phytochimique de la plante, Les résultats montrent que notre plante est riche en polyphénols totaux sur le plan quantitative, ce résultats est en accord avec le résultats de test antioxydant (DPPH) montrant une activité antioxydant très importante de *Aquilaria malaccensis* contre les radicaux libres. les composés phénoliques sont bien connus comme antioxydants et agents piégeurs des radicaux libres due à la présence de nombreux groupes hydroxyles, qui peuvent réagissent avec les ERO associés aux dommages oxydatifs (Javanmardi et al 2003) . L'analyse qualitative de l'extraits aqueux d'*Aquilaria malaccensis* de la plante à partir de testes phytochimique a révélé la présence des flavonoïdes, terpénoïdes, saponines, alcaloïdes et des sucres. De plus l'analyse de HPLC des composé phénoliques montre que l'extrait aqueux de *Aquilaria malaccensis* est riche en polyphénols de type Apigénine, Epicatéchine et la Naringénine. et contiennent des flavonoïdes de type Quercetin, Kampferol et Rutinhas. Les métabolites secondaires produits par cette plante possède plusieurs activités biologiques intéressantes, et de source de principe pharmacologique actif contre de plusieurs pathologies (Benarba et Meddah, 2014). L'Epicatéchine et l'Apigénine, pourraient inverser les modifications épigénétiques de la prévention des maladies et réguler un certain nombre de processus biologiques (Li et al., 2016 ; Shankar et al., 2016 ; Zhou, Yang et Kong, 2017). D'autre part, la Rutinhas aurait démontré

des propriétés biologiques bénéfiques, notamment des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancérigènes (Rawson et Li, 2014).

✓ Paramètres de croissances

Concernant le poids relatif des organes, au cours de gestation nous remarquons une importance hépatomégalie et néphromégalie chez les rattes exposé au plomb. ce résultat est en accord avec les travaux des Hammond et al., 1980 en remarquant un rapports hépato-corporel et réno-corporel sont largement augmentés chez des rats gavés d'acétate de plomb, Ces organes sont des tissus cibles à l'intoxication au plomb, ce qui augmente leur taille (Mestek et al., 1998).

En revanche, le traitement des rattes par *A. malaccensis*, le sélénium et par le SeNPs a entrainé une amélioration de poids relatif de rein et de foie après l'exposition du plomb chez des rattes. Nos résultats sont en accord avec l'étude de Aposhian et al., (2000) qui ont montré que l'administration des antioxydants a augmenté l'excrétion biliaire et réduit les concentrations rénales des métaux lourds, ce qui conduit à la réduction des effets toxiques de ces substances toxiques. Les SeNP se sont révélés être un agent prometteur pour vérifier l'efficacité de la toxicité chronique causée par l'exposition aux métaux lourds. (Prasad et Selvaraj 2014) .

Aussi, l'effet protecteur de *A. malaccensis* pourrait être dû aux présences des composés anti-inflammatoires comme les flavonoïdes, les acides phénoliques et les terpénoides qui peut réduire la toxicité sur ces organes cible par le plomb (Keerthi, 2014) (Miguel, 2010).

✓Analyse de plomb tissulaire

Les résultats de l'analyse tissulaire de la bioaccumulation métallique, les résultats obtenus montrent une augmentation très importante du niveau de Pb dans le foie au cours de gestation ce qui refléter sur la fixation de ce métal sur ces tissus cibles. Le foie constitue un cible important du plomb. Ce dernier possède une grande affinité pour les groupements thiols protéiques des membranes cellulaires hépatiques, ce qui conduit à des lyses et nécroses hépatiques . Par contre, le traitement par l'*A. malaccensis* a permis de réduire le taux du plomb dans le foie. Ce résultats est en accord avec l'étude de Derouiche et al., (2019) en montrant un effet chélateur de l'*A. malaccensis* contre le plomb au niveau hépatique chez les rattes. En effet, cette réduction de plomb ça signifie que cette plante possède des effets protecteurs et un agent bénéfique contre la bioaccumulation du plomb même au cours de l'état de gestation des rattes et donc peut considérer comme un agents chélateurs de Pb. Mais d'autre part notre résultats

n'indique aucun effet de sélénium ou nano sélénium sur le taux de Pb ce qui conclut que d'après les résultats ci-dessus que ces éléments agissent contre les dégâts tissulaires induits par le Pb mais pas sur le niveau de plomb elle-même.

✓ Paramètres hématologiques

Nos résultats montrent des modifications importantes des paramètres hématologiques chez des ratte gestantes exposées à l'acétate de plomb. Globalement, il semble que l'effet de plomb a entraîné une diminution de la HB, globules rouges et HCT ce qui signifie une hématotoxicité révélée par une anémie due à la toxicité des cellules sanguines et. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Alain et al., (2015) Ces changements pourraient être attribués à l'effet toxique du plomb sur les cellules du sang ou il fait une interaction avec certaines réactions où le calcium est un médiateur secondaire, ce qui provoque l'inhibition d'un certain nombre d'enzyme comme l'acide aminolévulinique déshydratase, joue un rôle clé dans la biosynthèse de l'hème nécessaire pour la formation de l'hémoglobine (Klaassen CD. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 6th edn. , New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2001. pp. 812–41.) d'autre part, la réduction des valeurs hématologiques pourrait être attribuée aussi à la fixation du plomb aux GR, qui augmentent la fragilité des membranes et donc la destruction des GR (Rous et al., 2000) En revanche, la carence en fer induite par le plomb par inhibition compétitive est une cause avérée d'anémie (Ra Goyer 1993). Par ailleurs, le traitement des ratte gestantes exposées au plomb par les différents systèmes thérapeutiques (A. malaccensis, Se et SeNPs) a amélioré significativement les paramètres hématologiques. En effet, dans notre étude, un effet protecteur de A. malaccensis a été signalé contre l'hématotoxicité ce qui indique que cette plante peut être protégée contre l'anémie au cours de la gestation induite par le plomb chez les ratte, ce qui est en accord avec l'étude de Derouiche et al., 2018 le sélénium protège contre l'hémolyse des érythrocytes et peut donc être pertinent pour le taux d'hémoglobine (Rotruck et al., 1972) Cependant, nos constatations n'appuient pas le rôle du sélénium dans le maintien des concentrations d'hémoglobine et dans la prévention de l'anémie. Le SeNPs est un agent chimio-préventif à effet mobile et de petite taille (Peng et al., 2007). Ces résultats montrent l'importance d'utiliser des nano particules de nano-Se de taille inférieure à 100 nm pour l'obtention d'une meilleure valeur hématologique (John Wiley and Sons).

Concernant les globules blancs et les plaquettes au cours de la gestation des ratte, on remarque une diminution significative de GB et une augmentation significative de PLT cette étude est en accord avec l'étude de Orji et al. 2016. Les cellules leucocytaires défensives de l'organisme,

globules blancs (GB), qui protègent l'organisme contre le stress environnemental. Le nombre total de leucocytes par millimètre cube (TLC) est une caractéristique diagnostique de nombreuses maladies. La numération leucocytaire totale a diminué de façon significative dans tous les groupes auxquels on a administré de l'acétate de plomb par rapport au le contrôle. Ceci peut être le résultat de l'inactivation du système immunitaire en présence d'acétate de plomb (Akah et al 2009) Ces faibles valeurs de WBC sont liées à l'action toxique du plomb qui peut induire une leucopénie et une thrombocytopénie (Neuwinger, H.D., 2000.). En revanche le traitement par le sélénium et le SeNPs nano sélénium a augmenté de façon significative le nombre de lymphocytes, Les résultats concordent avec ceux de Fu-xiang et ses collaborateurs (2008) qui ont rapporté que lorsque les lymphocytes enrichis en nano-suppléments augmentent, cela peut être dû à une immunité cellulaire accrue (Mohapatra et al., 2014). Le sélénium augmente l'immunité et a un rôle à jouer dans inflammation, le sélénium a un effet en augmentant la production d'anticorps amplifiant ainsi l'effet leur synthèse ceci en réponse à une stimulation antigénique (Desowits et Barnwell 1980). Concernant *A. malaccensis*, la présence de l'Epicatechine et l'Apigénine, en abondance dans l'extrait, pourraient inverser les modifications épigénétiques de la prévention des maladies et réguler un certain nombre de processus biologiques dont le système immunitaire (Li et al., 2016 ; Shankar et al., 2016 ; Zhou, Yang et Kong, 2017). D'autre part, la Rutinhas aurait démontré des propriétés biologiques bénéfiques, notamment des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anti cancérogènes ce qui peut protéger les cellules immunitaire contre l'attaque radicalaire induit par le plomb (Rawson et Li, 2014).

✓ Marqueur biochimiques

Les résultats obtenus d'après notre étude montrent une perturbation métabolique caractérisé par une augmentation significative de cholestérol sérique et de glycogène hépatique avec une, légère modification de la glycémie et des triglycérides chez des rattes gestantes intoxiqué par le plomb. Le taux élevé du cholestérol pourraient être dus soit à une augmentation de la synthèse, soit à une diminution de l'élimination des lipoprotéines. La diminution de l'élimination peut résulter de l'altération des récepteurs cellulaires de surface des lipoprotéines (Tarugi et al., 1982) ou de l'inhibition de l'activité lipoprotéique lipasique hépatique (Chajet et al., 1989). De plus, il a été démontré que le plomb diminue l'activité du cytochrome P-450 (Alvares et al., 1975), ce qui peut limiter la biosynthèse des acides biliaires, qui est la voie d'élimination importante du cholestérol dans le corps. Concernant la glycogène hépatique, de nombreuses études ont examiné les effets de l'exposition au plomb sur la fonction du système

endocrinien dont le pancreas. (Chen et al., 2009).Donc l'exposition au plomb fait altérer la fonction des îlots de Langerhans ce qui perturbe la sécrétion de glucagon, un hormone clé de métabolisme de glycogène ce qui est responsable probablement de l'augmentation de glycogène hépatique observé dans notre étude. Le traitement par l'*A. malaccensis*, Se et SeNPs, a amélioré le niveau du cholestérol et de glycogène chez les rattes. *A. malaccensis* contient, des métabolites secondaires possède plusieurs activités biologiques intéressantes et sont de source de principe pharmacologique actif contre de plusieurs pathologies (Benarba et Meddah, 2014). De plus *A. malaccensis* a un effet chélateur de plomb contre son bioaccumulation au niveau hépatique (Derouiche et al., 2019) ce qui peut influencé sur le niveau de plomb en diminuant leur effet néfaste sur le foie ce qui permet aussi d'amélioration de système métabolique de cholestérol et d'autre part, le Se et nano-Se influencé de manière significative sur le cholestérol . Ces résultats pourraient être attribués à la lipolyse, qui était élevée sous l'effet de Se (Oppenheimer et al., 1991). la supplémentation en particules de Se-nano augmente les niveaux de 15-deoxy- Δ -12, 14-prostaglandin J2 (Touyz et Schiffrin, 2006 ; Vunta et al., 2007), un récepteur activé par proliférateur- γ ligand. L'activation de ce récepteur va diminuer le niveau de la protéine 2 de liaison aux éléments régulateurs des stérols, ce qui entraîne une dépression du cholestérol (Klopotek et al., 2006). Pour le Se qui est un oligo-élément essentiel, s'est avéré protecteur contre les maladies cardiovasculaires (Rayman 2000). L'amélioration de niveau de glycogène par un supplément de sélénium cela pourrait être dû à l'accélération du métabolisme du glucose et à l'inhibition de la synthèse du glucose dans le foie, suggérant une diminution d'une source d'approvisionnement en précurseurs pour la néoglucogénèse, une diminution du passage du foie au sang et aux muscles (Lisuka et al 1993).

✓ Marqueurs de la fonction rénale

Concernant l'effet du plomb sur la fonction rénale les résultats de notre étude montrent que, en période de gestation l'intoxication de l'acétate de plomb aux rattes a provoqué une néphrotoxicité. qui révélée par' augmentation, de manière significatif des niveaux d'urée et acide urique sanguin. . Ces résultats sont en accord avec les travaux de Thylambal et Saroja . qui ont montré que les cellules rénales ne sont plus capables de contrôler le processus d'excrétion urinaire, car les reins sont parmi les plus sensibles au plomb (Bonsignore et al 1965) Les protéines peuvent être dégradées en acides aminés puis en urée et créatinine. Ainsi ces acides aminés formés peuvent se transformer sous l'action des aminotransférases sériques en composés carboxyliques tel que l'acide pyruvique (Hammond et al 1980) L'augmentation est due à l'effet direct du plomb sur le métabolisme de l'acide urique. Selon la seconde, elle est

la résultante des troubles morphologiques au niveau des néphrons. Organes les plus sensibles au plomb. (Bonsignore et al 1965) . En revanche le résultat de la phytothérapie montre que le traitement par *A. malaccensis* a restauré la fonction rénale. L'effet protecteur d'*A. malaccensis* a été reflété par la diminution des concentrations sériques de l'urée et l'acide urique chez les rattes gestantes traitées par ces plantes par rapport aux rattes exposées au plomb, ceci montrent la capacité de ce plante à protéger contre les dommages rénaux induits par le Pb au cours de la gestation ce qui protège la rattes et son fœtus au moment de gestation. Par ailleurs, le traitement par SeNPs qui est un agent chimiopréventeur à effet mobile et de petite taille (Peng et al., 2007). Ces résultats montrent l'importance d'utiliser des nano-séparticules de nano-Se de taille inférieure à 100 nm contre des altération de plomb chez les rattes au cours de la période de gestation. Un supplément de sélénium améliore la fonction rénale. Ceci pourrait être attribué au rôle efficace dans la rupture de la chaîne des réactions radicalaires, car il permet aux radicaux libres d'extraire un atome d'hydrogène de la molécule antioxydante plutôt que des acides gras polyinsaturés, ce qui entraîne la formation d'espèces radicalaires relativement peu réactives pour protéger le tissu rénal des dommages per-oxydants (Ozkan et al., 2013 , Al-Attar AM 2011).

✓ Marqueurs de la fonction hépatique

Concernant les résultats de l'effet de plomb sur la physiologie hépatique, on a illustré une augmentation significative de l'activité de TGO et TGP chez les rattes gestantes exposées au plomb. Le foie est le principale organe vulnérable de l'effet de plomb, qui présente une grande affinité avec les liaisons thiols trouvées sur les membranes cellulaires, les enzymes et les hormones ce qui induit des changements sur les membranes hépatiques provoquant la sortie de la TGO dans le sérum (Brady et al., 1991; Patra et al., 2001; Yu et al., 2008). La fuite des transaminases dans la circulation sanguine peut être le résultat d'une dysfonction hépatique. Une augmentation de ces enzymes sériques due au dysfonctionnement hépatique après exposition à plusieurs métaux toxiques ((Vaglio et Landriscina (1999) , Ulusoy et Simsek (2005)). Nos résultats indiquent que l'utilisation de *A. malaccensis* a restauré de façon significative l'activité de transaminases comparativement aux rattes gestantes exposés au plomb, ce qui signifie que ces plantes inhibent les dommages hépatiques causés par le Pb. Ceci est dû à la réduction de l'accumulation de radicaux libres et à la protection contre le stress oxydatif et par les constituants phytochimiques anti-inflammatoires comme les Rutinhas(Rawson, et Li, 2014). capable de réduire les dégât inflammatoire de foie et donc améliorer l'aspect générale de foie des rattes. Les résultats ont montré aussi, une amélioration du taux de

transaminases sériques hépatiques par un supplément de Se. Cela pourrait être dû au niveau maintenu d'enzymes liées à la membrane et à l'activité des enzymes antioxydantes près des niveaux normaux, ce qui souligne leurs effets en tant qu'antioxydants et empêche la fuite d'enzymes dans la circulation (Talas et al 2008). De plus, les SeNPs possèdent une puissante capacité anti-inflammatoire. Ceci explique la capacité des SeNP à d'abroger potentiellement les médiateurs hépatiques pro-inflammatoires et d'éliminer le risque d'infection par le récupérer l'organisation structurelle du foie des rats traités (Wang et al., 2014).

✓ Paramètre de stress oxydatif

Les résultats de l'analyse de l'effet de plomb sur des marqueurs de stress oxydatif montrent que le plomb affecte ces marqueurs en augmentant le taux de l'MDA tissulaire, FRAP sérique et l'activité de GST hépatique et rénale et en diminuant le GSH et le SOD tissulaire chez des ratte gestantes. Le stress oxydatif a été suggéré comme un des principaux mécanismes de toxicité de Pb. 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. Le plomb peut induire des dommages oxydatif pourrait être due à l'inhibition de l'acide 5-aminolévulinique (ALA) déshydratase conduisant à l'accumulation de l'ALA, une source endogène potentiel de radicaux libres ou due à l'interaction directe de Pb avec les membranes biologiques, induisant la peroxydation lipidique (Moreira et al., 2001). Par ailleurs au cours la période de gestation des ratte, le traitement par *A. malaccensis* a amélioré l'état de stress oxydatif par la restauration des paramètres spécifique de cette état. Nos résultats suggèrent que la plante étudiée possède une activité antioxydante basé sur l'élimination des radicaux libres et la restauration de la balance oxydants/antioxydants durant la toxicité induite par ce métal. La présence des polyphénols et des flavonoïdes dans *A. malaccensis* pourrait être responsable de l'activité antioxydante et sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques. De plus, l'activité des acides phénoliques dépend du nombre et de la position du groupe (-OH) et groupes (-OCH₃) (Chusri et al., 2015), et les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C3-OH) fortement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) (Ghedira, 2005). De plus l'effet antioxydant de la plante peut être dû à la présence de nombreux composés antioxydants comme les dérivés phénoliques, les terpénoides et les flavonoïdes dans *A. malaccensis*. Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires le plus importants des plantes modulant la peroxydation lipidique impliqué dans l'athérogenèse, la thrombose et la cancérogenèse (Mbaebie et al., 2012). Les groupes phénoliques de polyphénols

peuvent accepter un électron pour former des radicaux phénoxyles relativement stables, ce qui perturbe les réactions d'oxydation en chaîne des composants cellulaires (Mohan et al., 2014). Les diterpènes phénoliques ont été montrés à agir comme " antioxydants primaires " en faisant don d'hydrogène aux radicaux lipidiques et ralentissant ainsi la peroxydation lipidique (Grassmann, 2005). Par contre le traitement des rattes gestantes exposé au plomb par le Se ou par SeNPs a amélioré les niveaux de stress oxydatif tissulaire. Nos résultats suggèrent que le Se étudiée possède L'effet protecteur dans l'empoisonnement au Pb en réduisant le stress oxydatif grâce aux propriétés antioxydantes (Nataliapawlas et al 2015) Le SeNPs pourrait empêcher l'altération induite par le plomb, et jouent ainsi un rôle important dans la prévention des maladies résultant de la peroxydation lipidique. Cette défense efficace peut retarder l'oxydation des lipides ou d'autres macromolécules, en neutralisant les radicaux libres, réduisant ainsi les espèces réactives de l'oxygène ou chélatant les ions métalliques (Cook et Samman, 1996). D'autre part, La sélénio-méthionine conduit à la formation de la Se-cystéine à partir du précurseur par la Se-cystathionine. La Se-cystéine est un constituant pour la formation de la Se-glutathion. Le Se-glutathion joue un rôle actif dans le processus de la neutralisation des ROS et de l'H₂O₂ en association avec le glutathion peroxydase. Le nano-sélénium induit l'expression du glutathion dépendant du sélénium peroxydase par la formation de sélénophosphate qui fait partie intégrante du sélénio-cystéyle d'ARNt. La glutathion peroxydase dépendante du glutathion joue un rôle central dans le traitement en diminuant le niveau de ROS à l'intérieur de la cellule (Sarkar et al.2014). De plus le sélénium augmente l'activité des enzymes antioxydantes dépendantes du sélénium telles que GPx et TrxR. Ceci peut donc diminuer la peroxydation des lipides par les radicaux libres, et régénérer le GSH (Gan et al., 2002).

CONCLUSION

Conclusion

Notre travail a été réalisé pour l'objectif d'évaluer les effets toxiques du plomb chez des ratte gestantes de la souche Wistar et d'étudier l'efficacité de la phytothérapie, la biothérapie et la nano-thérapie contre cette toxicité. À la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que:

- L'analyse qualitative et quantitative montre que *Aquilaria malaccensis* est une plante riche en polyphénols et d'autres molécules bioactives, en leur donnant un effet positif contre plusieurs pathologies.
- Notre résultats montre que la plante et le SeNPs ont des activité antioxydant ce qui permet d'utiliser ces deux systèmes thérapeutiques contre l'attaque radicalaire des EOA
- Nos résultats ont montré aussi *Aquilaria malaccensis* baissent la teneur de Plomb au niveau de foie ce qui illustre l'effet chélateur de cette plante en diminuant le taux de plomb et limitation son toxicité tissulaire.
- Le traitement par SeNPs , *Aquilaria malaccensis* et Se induit une importante Amélioration de certains paramètres ce qui montre l'effet agent chimio-préventeur de SeNPs et leur effet dans immunité et l'effet protecteur , l'effet deSe dans les paramètres et l'effet plantes contre ladysfonction physiologique de plusieurs systèmes biologiques en relation avec les paramètres étudiés
- Le traitement par SeNPs, *Aquilaria malaccensis* et Sélénium induit une importante restauration des paramètres biochimique et hématologique, ce qui montre l'effet bénéfique de ces systèmes thérapeutiques contre la dysfonction métabolique et physiologique notamment dans les reins et le foie associe au toxicité du plomb.
- Le traitement par SeNPs, *A. malaccensis* et Se diminue l'état de stress oxydant induit par l'exposition au plomb par une réparation des dommages oxydantes en améliorant le système antioxydant et en diminuant la peroxydation lipidiques au niveau hépatique, rénale et cardiaque , ce qui permet d'utiliser ces système contre les maladies développer et associe au stress oxydant .

Perspective

Nos résultats sont pour nous remarquables car ils ouvrent dans le future des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre:

- D'étudier l'effet thérapeutique de sélénium nanoparticule contre des autres anomalies physiologiques et métabolique .
- D'étudier l'effet de sélénium nanoparticule synthétisé à partir des autres plantes
- D'identification et d'extraction des molécules bioactifs responsable de l'effet thérapeutique de *l'Aquilaria malaccensis* .
- D'amélioration de l'effet thérapeutique de sélénium et SeNPs en modifiant la dose et la voie d'administration.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Adelina, N., Harum, F., Schmidt, L. H. et Jøker, D. (2004).** *Aquilaria malaccensis* Lam.Seed Leaflet, (Eds) PP. (103).

2. **Adriano, D.C. (2001),** Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of metals. 2nd (Ed) ,*Springer.verlag: New York, USA.* 867.

3. **Ahamed, Siddiqui .M.K. (2007).** Low level lead exposure and oxidative stress: current opinions. *Clin Chim Acta* 383 (1-2): 57–64.

4. **Akah, P. A., J.a. Alemji, O.a. Salawu, T.c. Okoye and N.v. offiah.(2009)** .Effects of *Vernonia amygdalina* on Biochemical and Hematological parameters in Diabetic rats. *Asian Journal of Medical.* 1(3): 108-113.

5. **Alain, K., Aïssi, L., Jean robert klotoé, Patient guédénou, ALimba chibuisi, Evelyne lozès, Patrick, A., Edorh and Frédéric, Loko(july 20, 2015)** Haematological and Ponderal Changes Connected to Administration of Lead Acetate and Efavirenz in Wistar Rats *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 6(3): 50-55.

6. **Alexander, J., Benford, D., Boobis, A., Ceccatelli, S., Cravedi, J.P., Didomenico, A ., Doerge, D., Dogliotti, E., Edler, L., Farmer, P., Filipic, M., Fink-gremmels, J., Fürst, P., guerin, T., knutsen, H.K., machala, M., mutti, A., schlatter, J., et leeuwen, R. (2013).** scientific Opinion on Lead in Food. European Food Safety Authority (EFSA), *European Food Safety Authority journal*, 8(4), 1-151.

7. **Anand Raj, L.F.A., et Jayalakshmy, E. (2015) .** Biosynthesis and Characterization of Zinc Oxide Nanoparticles using Root Extract of *Zingiber officinale*. *Oriental journal of chemistry.* 31, (1): 51-56.

8. **Alvares, A.P., Kapelner, S., Sassa, S., Kappas et a(1975),** Drug metabolism in normal children, lead-poisoned children, and normal adults. *Clin Pharmacol Ther* ,17(2):179–183.

9. **Avissar , N., Whitin , J.C., Allen , P.Z., et al. (1989).** Plasma selenium-dependent Glutathione Peroxidase. *The journal of biological chemistry* .264(27):15850-15856.

10. **Bailly, C., Declercq, C., Fabres, B., Frery, N., Girard, I., Ledrans, M., Peignier, P., Rouge, M., Roussel, C., et Schmitt, M. (2001).** Dépistage du saturnisme infantile autour des sources industrielles de plomb. *Ministère de l'emploi et de la solidarité. (Ed.). 2002 , 70.*
11. **Baranger , P., Laperche ,V., Dictor, M.C., Clozel-Leloup, P .(2004).** Guide méthodologique du plomb appliqué à la gestion des sites et des sols pollués. Rapport final, *BRGM/RP-52881-FR.138.*
12. **Baunot, N., Bretin, P., Budowski, M., Carmes, J., Delour, M., Doummar, D., Fontaine, A., Garnier, R., George-guiton, A., Ginot, L., Grandguillot, G., Guillotin, L., Lefeuvre, B., Kremp, O., Richard, G., et Squinazi, F. (2006).** L'intoxication par le plomb de l'enfant et de la femme enceinte: Dépistage, Prise en charge. *Ministère de l'emploi et de la solidarité. (Ed.). 2008 ,300.*
13. **Beauchamp, C., and Fridovich, I. (1971).** Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry. 44(1): 276-287.*
14. **Behne, D., et Kyriakopoulos, A. (2001).** Mammalian selenium-containing proteins. *AnnuRev. Nutr. 21: 453-473.*
15. **Benarba, B., et Meddah, B. (2014).** Ethnobotanical study, antifungal activity, phytochemical screening and total phenolic content of Algerian *Aristolochia longa* - *Journal of Intercultural Ethnopharmacology - ScopeMed.org - Online Journal Management System J Intercult Ethnopharmacol. 3(4): 150-154.*
16. **Bonnard, N., Falcy, M., Hesbert, A., Jargot, D., Pillière, F., Schneider, O., et Serre, P. (2006).** Plomb et composés minéraux. *Institut national de recherche et de sécurité. (Ed.). 2006. Vol. (2). 12.*
17. **Bonsignore, D., Calissanon, P., et Cartasegna, C. (1965).** Un saggio metodico per la determinazione della α -amino-levulinicoideidrataasi nel sangue: comportamento dell'enzima nell'intossicazione saturnina. *Med Lavoro. 56: 199-205.*

18. **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.
19. **Burits, M., et Bucar, F. (2000)** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Res.* ; 14: 323-328.
20. **Burroughs peña, M.S., Rollins,A.(2017).** Environmental Exposures and Cardiovascular Disease: A Challenge for Health and Development in Low- and Middle-Income Countries. *Cardiol Clin* ,35(1): 71–86.
21. **Caia ,C., luob, Q., Sunc, M., et Corkea, H.(2004)** .Antioxidant activity and phenolic compounds of 112traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences* , 74: 2157–2184.
22. **Chang, Y.S., Nor azah, M.A., et Abu said, A. (2001)** .Gaharu: a prized incense from Malaysia. *Malaysian Oil, Science and Technology*, 9 (2): 26-27.
23. **Chen, Y.N., Yang, C.Y., Huang, C.F., Hung, D.Z., Leung, Y.M., et Liu, S.H., (2009).** Heavy metals, islet function and diabetes development. 1: 169–176 .
24. **Chua ,L.S., et Sumatra, P.M. (2008)** .Agarwood (*Aquilaria malaccensis*) in Malaysia. *Forest Research Institute Malaysia*.
25. **Chusri, S., Singthong, P. et Kaewmanee, T. (2015).** Antioxidant, anticancer, and cytotoxic effects of thai traditional herbal preparations consumed as rejuvenators. *Journal of food*, 13:(1), 40-48.
26. **Cichoż-lach, H., et Michalak A. (2014).** Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World J Gastroenterol* , 20(25): 8082–8091.
27. **Costa, C.A., Trivelato , J.C., Pinto , A.M.P., et Bechara, E.J.H . (1997).** Correlation between plasma O-aminolevulinic acid concentrations and indicators of oxidative stress in lead exposed workers. *Clin Chem* , 43 : 1196-1202.

28. **Delphine d. (2001).** Intoxication par le plomb chez les bovins : Données bibliographiques et présentation des résultats du laboratoire de toxicologie de Lyon de 1998 à 2001Thèsedoctortat., *Université Claude Bernard- Lyon I* 87.
29. **Demasi , D., Costa, C.A., Pascual , C., Llesuy , S.S., et Bechara E.J.H.(1997).** Oxidative tissue response promoted by O-aminolevulinic acid promptly induces the increase of plasma antioxidant capacity. *Free Rad Res* ,26: 235-243.
30. **Derouiche ,Samir., Zeghib, khaoula., Gharbi, saf., and Khelef yahia.(2018).** Beneficial Effects of Aristolochia Longa and Aquilaria Malaccensis on Lead-Induced Hematological Alterations and Heart Oxidative Stress in Rats. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 10(9): 8-15.
31. **Desowitz, R.S., et Barnwell C.W.(1980),** Effect of selenium and dimethyl dioctadecyl ammonium bromide on the vaccine induced immunity of Swiss-Webster mice against malaria (*Plasmodium berghei*). *Infect Immun* ; 27: 87-89.
32. **Dhuha Kadhém Slman, Raghad Dhyea Abdul Jalill, Ahmed N. Abd. (2018).** Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by hot aqueous extract of *Allium sativum* plants. *J. Pharm. Sci. & Res.* 10(6): 1590-1596.
33. **Dodig,S., et Cepelak, I. (2004).**The facts and contreverses about selenium. *Acta Pharmaceutica* 54:261-276.
34. **Ducros, V., et Favier, A. (2004).** Selenium metabolism. EMC-endocrinologie , 1: 19-enzymatic characterization of human. *J. Biol. Chem.* 274: 2866-2871.
35. **Epa (Environmental Protection Agency) .(2004).** Aquatic Life Water Quality Criteria for Selenium -Freshwater. (Ed.) 2016. *Office of Water Office of Science and Technology Washington, D.C* .
36. **Eustice , Daved .C., Fredrick , J. Kull., , D.,Fredrick, J., et Alex, Shrift. (1981).** Selenium toxicity:Aminoacylation and peptide bond formation with selenomethionine.*J Plant. Physiol* ,67(5): 1054-1058.

37. **Evans,W.C. (2009).** Trease and Evans' Pharmacognosy (16e). *Saunders Elsevier (Ed.)*, London, 616p.
38. **Ezhuthupurakkal, P.B., Polaki, L.R., Suyavaran, A., Subastri, A., Sujatha V., et Thirunavukkarasu, C. (2017)** .Selenium nanoparticles synthesized in aqueousextract of *Allium sativum* perturbs the structural integrity of calf thymus DNA through intercalation and groove binding. *Mater Sci Eng C MaterBiol Appl* ,74:597–608.
39. **Forceville, X., et Vitoux, D. (1999).** Selenium et sepsis. *Nutr. Clin. Metab.* 13: 177-186.
40. **Fu-xiang, W.R., Huiying, Z., Fenghua, S., Jinquan, Jianyang., L. Wenli. (2008).** Effects of Nano-Selenium on the Immune Functions and Antioxidant Abilities of Broiler Chickens. *Chin. Agric. Sci. Bull.*, 2:11.
41. **Forstrom JW, Zakowski IJ, Ta pel AL.** Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocysteine. *13iochemistry* 1978 ; 17: 2639-44.
42. **Garnier, R. (2005).** Toxicité du plomb et de ses dérivés, toxicity of lead and lead compounds. *EMC-ToxicologiePathologie* 2: 67–88.
43. **Haguenoer, J.M., et Declercq, C. (2004).** Les explorations complémentaires selon le seuil. *Santé publique. (16):*51-61.
44. **Ghedira, k. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie. 4(1):* 162-169.
45. **Graham ,T.W. (1991).** Trace element deficiencies in Cattle. *Vet. Clin. North. Am food anim pract . 7(1):* 153-197.
46. **Grassmann ,J. (2005).** Terpenoids as plant antioxidants. Vitamins and hormones, *Vitam Horm.*72:505-35 .
47. **Guédénon, Alimba., Chibuisi, Levelyne .lozès. , Patrick .A. , Edorh et Frédéric Loko .(2015).** Haematological and Ponderal Changes Connected to Administration of Lead Acetate and Efavirenz in Wistar Rats . *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 6(3): 50-55.
48. **Gurer, H., Zgunes, H.O., Saygin, E., et Ercal, N. (2001).** Antioxidant effect of taurine against lead-induced oxidative stress. *Environmental Contamination and Toxicology*, 41: 397–402.

49. **Gurer, H., Ozgunes, H., Neal, R., Spitz, D.R., et Erca, N(198).** (1998). Antioxidant effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood cells from lead-exposed rats. *Toxicology* . 128: 181-189.

50. **Habig, W.H., Pabst, M.J. et Jakoby, W.B. (1974).** Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem* 249: 7130-7139.

51. **Hammond, P.B., Lerner, S.I., Gartside ,P.S., Hanenson ,I.B., Roda,S.B., et Foulkes E.C. (1980),**The relationship of biological indices of lead exposure to the health status of workers in a secondary leadsmelter. *J Occup Med.* ; 22(7): 475–484.

52. **Harborne, J.B. (1998).** Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. *Published in the USA by Chapman and Hall in association with Methuen, Inc..*

53. **Hatfield, D.L., et Gladyshev, V.N. (2002).** How selenium has altered our understanding of the genetic code. *Mol Cell Biol.* 22: 3565-357.

54. **Hermes-lima, M., Castilho, R.F., Valle,V.G.R., Bechara,E.J.H., et Vercesi.(1992).** Calciumdependent mitochondrial oxidative damage promoted by O-aminolevulinic acid. *Biochim Biophys Acta* , 1180: 201-206.

55. **Howard, J.K.(1947).** Human erythrocyte glutathione reductase and glucose 6-phosphate dehydrogenase activities in normal subjects and in persons exposed to lead .*Clin Sei Mol Med* . 47 : 515-520.

56. **Inserm. (1999).** Plomb dans l'environnement - Quels risques pour la santé Expertise Collective. (Eds) ISBN 2 85598-745-8. *Intercultural Ethnopharmacology*, 3:150-154.

57. **Irnayuli, R., Sitepu, E.S., Sulisty, A., et Turjaman, M. (2011).** *Fragrant wood gaharu: when the wild can no longer provide*. Forestry Research and Development Agency (FORDA). Indonesia: *Indonesia's work programme*.

58. **Jacob, C., Giles, G.I., Giles, N.M., et Sies, H. (2003).** Sulfur and selenium : the role of oxidation state in protein structure and function. *Angew ChemInt (Ed) Engl*, 42: 4742- 4758.

59. **Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., et Vivanco, J.M.(2003)** ,Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. *Food Chemistry*, 83(4): 547-550.

60. **Jean, Marie .Vernier., et Marie, France.Sire .(1975).** Dosage du glycogène hépatique sur coupes a l'epon evaluation quantitative du glycogène h payique par histphotometrie, sur coupes semi-fines de tissu inclus dans l'epon. *Acta histochem.* 9(1):11.

61. **John wiley and Sons .** Chapitre entier - Publication du *CUEN* : Physiologie et physiopathologie rénales physiologique.

62. **Keerthi, M., Prasanna, J., Aruna, M., et Rao, N. (2014).**Rreview on polyphenols as nature's gift world. *Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 3 (4): 445-455.

63. **Khalil, A.S., Rahim, A.A., Raha, K.K., et Abdallah, K.B. (2013).** Characterization of methanolic extracts of agarwood leaves. *Journal of Applied and Industrial Sciences*, 1(3): 7888.

64. **Klaassen, C.D. (2001),** Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 6th edn. , *New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division* . 812–41.

65. **Klopotek, A., Hirche, F., et Eder, k. (2006).** PPAR gamma ligand troglitazone lowers cholesterol synthesis in HepG2 and Caco-2 cells via a reduced concentration of nuclear SREBP-2. *Exp Biol Med (Maywood)*. 231(8):1365-72.

66. **Kojouri ,G.A. , Jahanabadi, S, Shakibaie ,M., Ahadi, A.M., et Shahverdi. A.R. (2012).**Effect of selenium supplementation with sodium selenite and selenium nanoparticles on iron homeostasis and transferrin gene expression in sheep: a preliminary study. *Res Vet Sci.* 93(1):275–278.

67. **Korinek, M.,Wagh,V.D., Lo, I.W.,Hsu, Y.M., Hsu, H.Y., Hwang, T.L.,Wu, Y.C.,Cheng, Y.B., et Chen, B.H.(2016),** Chang, F.R. Antiallergic phorbol ester from the seeds of *Aquilaria malaccensis*. *Int. J. Mol. Sci* , 17: 398.

68. **Kundu, S., Ghosh,P., et Datta, S. (2012).**Oxidative stress as a potential biomarker for determining disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Free Radic Res* ,46:1482–1489.

69. **La frankie, J. (1994).** Population dynamics of some tropical trees that yield non-timber forest products . *Springer on behalf of New York Botanical Garden Press*, 48 (3): 301-309.

70. **Lebreton, P. ,Salat ,O., et Nicol, J.M. (1998).** Un point sur le sélénium. *Bull. Tech. GTV* , 5: 47-35.

71. **Leena, K., Veena, S., Arti, S., Shweta, L., et Sharma SH. (2011).**protective role of coriandrum sativum (coriander) extracts against lead nitrate induced oxidative stress and tissue damage in the liver and kidney in male mice. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* , 2(3): 65-83.

72. **Mestek, O., Deyl, Z., Miksik I., Novatna, J., Pfeifer I, Herget , J..** Accumulation of lead in tissues after its administration in drinking water laboratory rats. *Physiol Res.* 47: 197– 202.

73. **Lisuka, Y. ,Sakurai, E. ,Maeda, K.; et Hikichi, N. (1993)** ,Effects of Selenium on the Glycolysis and Gluconeogenesis System in Rat Liver. *Yakugaku Zasshi*, 113: 525-531.

74. **Lumpur,k.(2006).** Experts Group Meeting on Agarwood: Capacity-building Workshop for Improving Implementation and Enforcement of the CITES listing of *Aquilaria malaccensis* and other Agarwood-producing species. *Malaysia: TRAFFIC Southeast Asia(Eds). (2007). Malaysia.*

75. **Majhenic, L., Kerget, M.S., et Knez, Z. (2007).** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104(3): 1258-1268.

76. **Mbaebie, B.O. ,Edeoga, H.O., et Afolayan, A.J. (2012).** Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2): 118–124.

77. **Mckenzie, R.C. , Arthur, J.R. ,et Beckett, G.J. (2002).** Selenium and the regulation of cell signaling, growth, and survival: *Molecular and mechanistic aspects. Antioxid. Redox Signal.* 4 (2): 339-351.

78. **Meschy, F. (2010).** Nutrition minérale des ruminants, Éditions Quæ c/o Inra, RD 10, 78026 Versailles Cedex © Éditions Quæ, 2010. 292 .
79. **Miguel, M.G. (2010).** Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Molecules*, 15: 9252-9287.
80. **Meschy F. (2010).** Nutrition minérale des ruminants, Éditions Quæ c/o Inra, RD 10, 78026 Versailles Cedex © Éditions Quæ.2010.17.
81. **Miguel, M.G. (2010).** Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Molecules*, 15: 9252-9287.
82. **.Mohan, V.R.,Jegadeeswari, P .,Nishanthini, A ., & Muthukumarasamy, S. (2014).** Evaluation of antioxidant activity of aristolochia krysagathra (Aristolochiaceae) an important medicinal herb. *International Journal of Pharmacy*, 4(1): 410-416.
83. **Mohapatra, P ., Swain, S.K., Mishra, T., Behera, P ., Swain,S.S .,Mishra, N.C .,Behura, S.C., Sabat, K .,Sethy,K.,& Dhama and P, Jayasankar.(2014).** Effects ofDietary Nano-Selenium on Tissue SeleniumDeposition,Antioxidant .*Status and Immune Functionsin Layer chick,. Int. J. Pharmacol*, 10: 160-167.
84. **Monteiro HP., Abdalla DS ., Arcuri AS., &Bechara EJ.(1985)** .Oxygen toxicity related to exposure to lead. *Clin Chem* , 31: 1673-1676.
85. **Moreira, E.G.,Jordao, G.,Magalhaes, R.,Barros, S.B.M.,Vera, S. V., &Vassillieff,I.(2001).** Antioxidant defense in rat brain regions after development *allead exposure Toxicology*, 169: 145–151.
86. **Mortureux, M. (2013).** *Expositions au plomb: effets sur la santé associés à des plombémies inférieures à 100 µg/ Janvier. Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation, environnement, travail. (Ed) .2013.(9).*

87. **Navarro-alarcon M., & Cabrera-vique C. (2008).**Selenium in food and the human body:A review. *Science of the total environment*. 400: 115-141.
88. **Neal R., Yang P.,Fiechtl J.,Vildiz D., Gurer H ., & Ercal N.(1997).** Pro-oxidant effects of deltaaminolevulinic acid (delta-ALA) on Chinese hamster ovary (CHO) cells. *Toxicol Lett* 91 : 169-178.
89. **Neuwinger, H.D.(2000).** African traditional medicine: a dictionary of plant use and applications. Medpharm Reaction Rate and on , Stuttgart, Germany, pp: 589.
90. **No, Y.,Nilya, Y.,Kurita, H., Shima, S., &Sarai, S.(1985).** Serum lipid peroxide level and blood superoxide dismutase activity in workers with occupational exposure to lead. *Int Arch Occup Environ Health* , 56 : 119-127.
91. **Nuyts GD, Daelemans RA, Jorens P, Elseviers MM, Van de Vyver FL, De Broe ME. 1991.** Does Lead Play a Role in the Development of Chronic Renal Disease? *Nephrology Dialysis Transplantation* 6: 307-315.
92. **O.m.s.(1978).**Plomb, critères d'hygiène de l'environnement. Rapp. P.N.U.E., 172 .
93. **Oguyen, L.P.A ., & and Nguyen, X.D. (editors) .(1999).** plant resources of south-east asia no. 19. Essential oil plants. Backhuis Publication, Leiden, the Netherlands,. 64-67.
94. **Oldfield, S.,Lusty, C ., &and Mackinven, A. (1998).***The Word List of Threatened Trees*. In: Barden, A Noorainie Awang Anak, T. Mulliken, and M. Song. (2000). *Heart of the matter: Agarwood use andtrade and Cites implementation for Aquilaria malaccensis*. Traffic International.50.
95. **Onuk,J., Medeiros, MHG.,Bechara, EJHDI ., &Mascio, P.(1994),** o-Aminolevulinic acid induces single-strand breaks in plasmid pBR322DNA in the presence of Fé + ions. *BiochimBiophys Acta* 1 , 1225 : 259-263.
- 92.**Opptbp. (2015).** Traitement des peintures au plomb. (978). (Ed).janvier 2015.60.

96. **Oremland, R.S., Herbe, M.J., Blum, J.S., Langley, S., Beveridge, T.J., Ajayan, P.M., Sutto, T., Ellis, A. V., & Vurran, S. (2004).** Structural and spectral features of selenium nanospheres produced by Se-respiring bacteria. *Appl. Environ Microbiol* , 70: 52–60.

97. **Orji, U.A ., Ibiam, P.M., Aja, O.D., Obasi, N ., Ezeani, C., Alope, S., & Anayo and O.R. Inya-agma. (2016).** Effect of Ethanol Extract of *Ruspolia hypocrateriformis* Leaf on Haematological Parameters in Lead Poisoned Albino Rats *Toxicol Int.* 19(1): 63–67.
98. **Oteiza, P., & Bechara, E.JH. (1993).** o-Aminolevulinic acid induces lipid peroxidation in cardiolipin-rich liposomes. *Arch Biochem Biophys* , 305 : 282-287.

99. **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44 : 307–315.

100. **Ozkanyilmaz, F ., Ozluer-hunt, A., Gunduz, SG., Berkoz, M ., & Yalin, S. (2013).** Effects of dietary selenium of organic form against lead toxicity on the antioxidant system in *Cyprinus carpio*. *Fish Physiol Biochem* 40:355-363 Al-Attar AM (2011) Antioxidant effect of vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. *Saudi J Biol Sci* 18:63-72.

101. **Patra, RC ., Swarup, D., & Dwivedi, SK. (2001).** Antioxidant effects of alpha tocopherol, ascorbic acid, and L-methionine on lead-induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicology* ;162:81-88.

102. **Pedrero, Z., & Madrid, Y. (2009).** Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: A review. *Analytica. Chimica. Acta.* 634: 135-152.

103. **Pelletier, S., Taillefer, M., & Tremblay, A. (1997).** Intoxication au plomb chez le bovin. mémoire. Notes de toxicologie clinique vétérinaire. MEV 2030. Univ. Montréal. Fac. med. vet.

104. **Prasad, KS ., & Selvaraj, K. (2014).** Biogenic synthesis of selenium nanoparticles and their effect on As (III)-induced toxicity on human lymphocytes. *Biol Trace Elem Res.* 157(3):275–283 .

105. **Peng,D.J ., Zhang,Q ., &Liu and E.W. Taylor .(2007).**Size effect of elemental selenium nanoparticles nanoseat supranutritional levels on seleniumaccumulation and glutathione S-transferase activity. *J. Inorg. Biochem.*, 101: 1457-1463.
106. **Ponce-canchihuamán, JC., Pérez-méndez ,O ., Hernández-muñoz, R ., Torres-durán1, PV., &Juárez-oropeza ,MA.(2010).** Protective effects of *Spirulina maxima* on hyperlipidemia and oxidative-stress induced by lead acetate in the liver and kidney. *Lipids in Health and Disease* , 9(35): 2-7.
107. **Ra goyer.(1993).** Lead toxicity: current concerns ,*Environ Health Perspect.*100:177 187.
108. **Rakotoarivelo, NH., Rakotoarivony, F.Ramarosandratana ,A.V., Jeannoda, V.H., Kuhlman, A.R., Randrianasolo, A ., & Bussmann ,R.W. (2015).**Medicinal plants used to treat the most frequent diseases encountered in Ambalabe rural community, Eastern Madagascar. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 11(1), 68.
109. **Rakotovao, A. (2009).** Sélénium et cardiopathies ischémiques: effets d'une supplémentation nutritionnelle chez le rat. Thèse de doctorat, Chimie et Sciences du Vivant. Grenoble I .
110. **Rayman Margaret.(2000).**The importance of selenium to human health. *Lancet.* , 15(356) 233-41.
111. **Rhainds, M et Levalois, P. (1997)** .Effects ofmaternai cigarette smoking and alcohol consumption on blood levels of newborns. *Am Epidemiol*, 145 : 250-256.
112. **Ricciotti,E ., & Fitzgerald, GA. (2011).** Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb .Vasc Biol* 31: 986-1000.
113. **Richy, B. (1996).**Le sélénium en élevage. Th. : Med. Vet. : Lyon : 1978-022. World HealthOrganization, Food and Agriculture Organisation of the United Nations and International AtomicEnergy Agency expert group Selenium. In:WHO (ed) Trace elements in

human nutrition and health. Geneva, 105-122.

114. Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., & Hoekstra, W.G.(1972). Prevention of oxidative damage to rat erythrocytes by dietary selenium. *J Nutr.* ;102:689–696.

115. Rous, P., & Jelinek, P.(2000). [The effect of heavy metals boundary contaminated soil on haematological and selected biochemical parameters in blood plasma of rabbits. *Acta Univ Agric Silvic Mendel Brun.* ;48:93.

116. Roussel, A.M., & Hininger-favier, I.(2009) .Éléments-trace essentiels en nutrition humaine :chrome, sélénium, zinc et fer. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), *Endocrinologie-Nutrition*, 10-359-B-10.

117. Saikia, P., & Khan, M.L. (2014). Ecological Features of Cultivated Stands of *Aquilaria malaccensis* La Thymelaeaceae . a Vulnerable Tropical Tree Species in Assamese Homegardens. *Int. J. For. Res* , Article ID 140926, 16.

118. Saito, Y., Hayashi, T., & Tanaka, A. et al. (1999). Selenoprotein P in human plasma as an extracellular phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *JBiolChem*, 29., 274(5):2866-71.

119. Slinkard, K., & Singleton, V. L.(1977).. Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Viticult* .28:49-55.

120. Solliway, B.M., Schaffer, A., Pratt, H., & Yannai, S.(1996). Effects of exposure to lead on selected biochemical and haematological variables. *Pharmacol Toxicol* , 78: 18-22.

121. 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.* Vol. 52(5): 371.

122. Sowndarya, P., Ramkumar, G., & Shivakumar, M. (2016). Green synthesis of selenium nanoparticles conjugated *Clausena dentata* plant leaf extract and their insecticidal potential against mosquito vectors. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* , 45(8):1490–1495.

123. Sugawara, E ., Nakamura, K ., Mikaye, T ., Fukumura, A., & Seki ,Y.(1991). Lipid peroxidation and concentration of glutathione in erythrocytes from workers exposed to lead. *Br Ind Med* , 48 : 239-242.
124. Swarup ,D., &Maitis,K.(1991) . Changes in some biochemical constituents in blood and cerebrospinal fluid of lead intoxicated calves. *Indian journal of Animal Sciences* 61(9): 942-945.
125. Tabin, T., & Shrivastava, K. (2014). Distribution and population status of critically endangered *Aquilaria Malaccensis* Lamk. In the forests of Arunachal Pradesh and Assam, India. *International Journal of Innovative Research in Science*. (3), 17595-7604.
126. Talas, Z.S., Orun,I., Ozdemir, I., Erdogan, K., & Alkan a, et al. (2008) .Antioxidative role of selenium against the toxic effect of heavy metals (Cd²⁺, Cr³⁺) on liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol Biochem* 34:217-222.
127. Théron, P., & Malvy, D Favier ,A. (1997). Toxicité du sélénium à doses pharmacologiques par voie orale. *Nutrition clinique et métabolisme* 11:91-101.
128. Thylambal,R., & Saroja, P.M.(2004). Therapeutic efficacy of lipoic acid in combination with dimercaptosuccinic acid against lead induced renal tubular defects and on isolated brush-border enzyme activities. *Chem Biol*. 147: 259–271.
129. Titton, M., Thos, A., Albouy, J.S., égovia-kueny, S., Coly, J., & Nicolas, C., Harry,P., Lagarce, F., Jeannel, D., Devin, E., Delhommelle, A.Motti, G., Precausta, D.Pechard, F ., & Chatelin, S. (2010). *le saturnisme intoxication par le plomb*. agence régionale de santé du Centre. (Ed).
130. Ulusoy,U., & Simsek,S .(2005). Lead removal by polyacrylamide-bentonite and zeolite composites: effect of phytic acid immobilization. *J Hazard Mater* 127:163-171.
131. Underwood,E.J ., & Suttle,N.F. (2004). The mineral nutrition of livestock. 3rd ed Cambridge : *CABI Publishing*. 614:608.

132. **Vaglio, A ., &Landriscina, c. (1999).** Changes in liver enzyme activity in the teleost *Sparusaurata* in response to cadmium intoxication. *Ecotoxicol EnvironSaf* 43:111-116.
133. **Vunta, H., Davis, F., Palempalli, U.D., Bhat, D., Arner, R.J ., & Thompson, J.T. (2007).** The anti-inflammatory effects of selenium are mediated through 15-deoxy-Delta12, 14-prostaglandin J2 in macrophages. *J. Biol. Chem.* 282, 17964-17973.
131. **Wadood, A., Ghufraan, MB., Abar Jamal, S., Naeem, M., Khan, A., Ghaffar, R ., & Asnad. (2013).** Phytochemical Analysis of Medicinal Plants Occurring in Local Area of Mardan. *Biochem Anal Biochem.* 2: 1-4.
134. **Wagh, V.D., Korinek, M. lo, I.W., Hsu, Y.M., Chen, S.L., Hsu, H.Y., Hwang, T.L., Wu, Y.C., Chen, B.H., &Cheng, Y.B et al. (2017) ,** Inflammation modulatory phorbol esters from the seeds of *Aquilaria malaccensis*. *J. Nat. Prod*, 80: 1421–1427.
135. **Wang,H ., Zhang, J ., &Yu ,H. (15May 2007).**Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzymes: comparison with selenomethionine in mice. *Free Radic Biol Med* , 42(10):1524-33.
136. **Wang ,J., Zhang, Y, ., Yuan, Y ., &Yue,T . (2014).**Immunomodulatory of selenium nano-particles decorated by sulfated *Ganoderma lucidum* polysaccharides. *Food Chem Toxicol*, 68: 183-189.
137. **Wang,Y ., Yan, X., & Fu, l.(2013).** Effect of selenium nanoparticles with different sizes in primary cultured intestinal epithelial cells of crucian carp, *Carassius auratus gibelio*. *Int J Nanomedicine*, 8: 4007–4013.
138. **Wang, S.L., Hwang, T.L., Chung, M.I., Sung, P.J ., Shu, C.W.Cheng, M.J., &Chen, J.J. (2015).**New flavones, a 2-(2-phenylethyl)-4*H*-chromen-4-one derivative, and anti-inflammatory constituents from the stem barks of *Aquilaria sinensis*. *Molecules* , 20:20912–20925.
139. **Wang, T., Yang, L., Zhang, B., &liu, J.(2010).** Extracellular biosynthesis and transformation of selenium nanoparticles and application in H₂O₂ biosensor *Colloids Surf. B. Biointerfaces* ,80: 94–102.

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

141. **Whitin, J.C.,Bhamre, S., Tham ,D.M. ., & Cohen, H.J. (2002).** Extracellular glutathioneperoxidase is secreted basolaterally by human renal proximal tubule cells. *Am. JPhysiol. Renal. Physiol.* 281: F20–F28.

142. **Whitmore ,T. C ., & Thymelaeaceae. (1972).**In Tree flora of Malaya, Forest Research Institute, Malaysia, 2(26): 383–391.

143. **Who. (2001).** *Air Quality Guidelines (Second Edition)*. Chapter 6.7: Lead. *Regional Office for Europe, Denmark.*288.

144. **Yagi,K. (1976).** Simple fluorimetric essay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med. (15) :* 212-216

145. **Yang, D.L ., Li, W., Dong, W.H., Wang, J ., &Mei, W.L. (2016) ,Dai, H.F.** Five new 5,11-epoxyguaiane sesquiterpenes in agarwood “qi-nan” from *Aquilaria sinensis*. *Fitoterapia*2 , 112:191–196.

146. **Yang, D.L., Wang, H., Guo, Z.K., Li, W.Me, W.L.(2014), Dai, H.F.** Fragrant agarofuran and eremophilane sesquiterpenes in agarwood ‘qi-nan’ from *Aquilaria sinensis*. *Phytochem. Lett.* 8:121–125.

147. **Yang, X.B., Feng, J., &Yang, X.W., &Zhao, B.(2012), Liu, J.X.** Aquisiflavoside, a new nitric oxide production inhibitorfrom the leaves of *Aquilaria sinensis*. *J. Asian Nat. Prod. Res,* 14: 867–872.

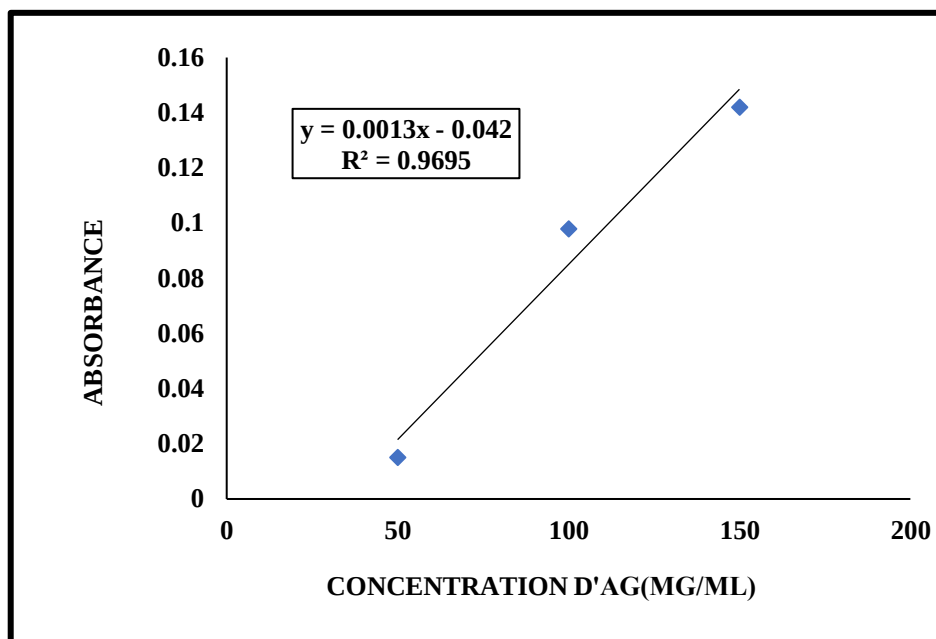
148. **Zeng ,H., Gerald, F ., & Combs ,JR. (2008).** Selenium as an anticancer nutrient: roles in cellproliferation and tumor cell invasion. *Journal of Nutritional Biochemistry.* 19: 1-7.

149. Zhang, H ., &Xia, M ., &Hu, C. (2007). Effect of nano-selenium on the activities of glutathione peroxidase and type-I deiodinase in the liver of weanling pigs. Article in Chinese *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi* ,24(1):153-6.

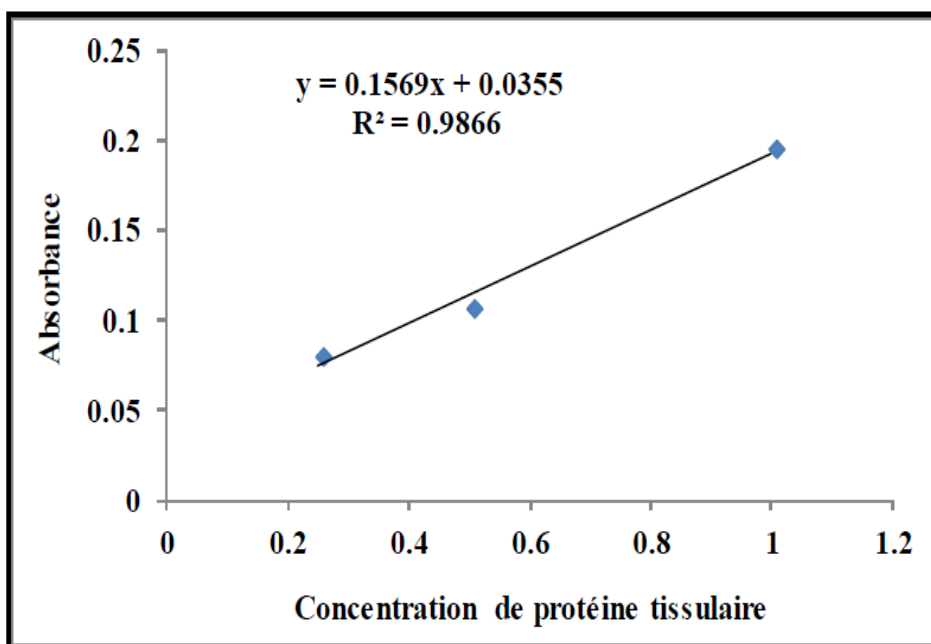
150. Zhang, J ., Wang,H ., Yan, X ., &Zhang, L.(2005). Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and selenite in mice. *Life Sci.* ;76(10): 1099–1109.

151. Zhang, W., Zhang, J ., &Ding ,D et al .(2017). Synthesis and antioxidant propertiesof Lycium barbarum polysaccharides capped selenium nanoparticles using tea extract. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* , 46(7) :1463-1740.

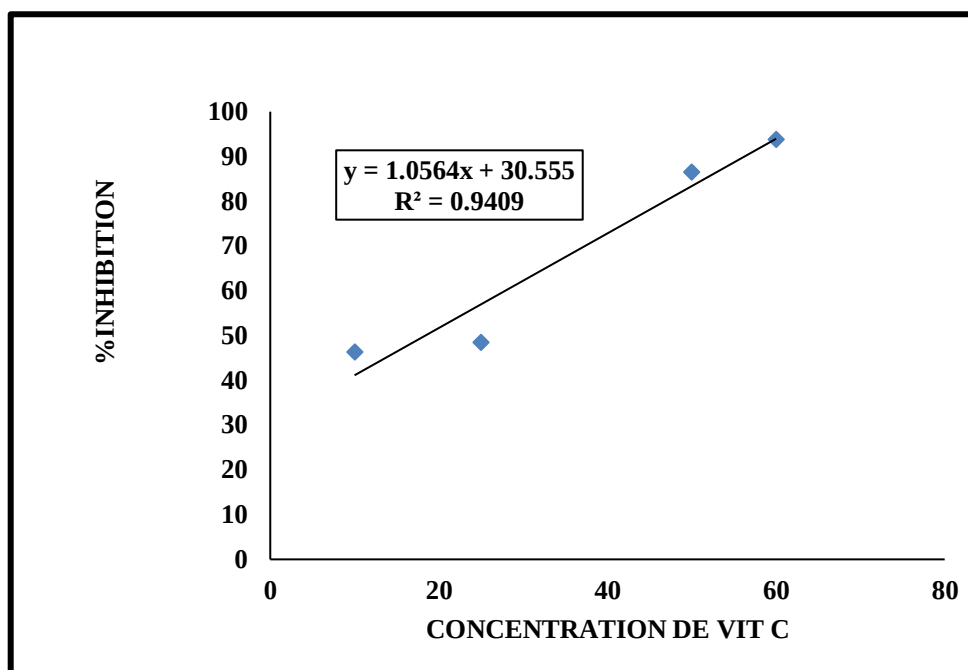
ANNEXES



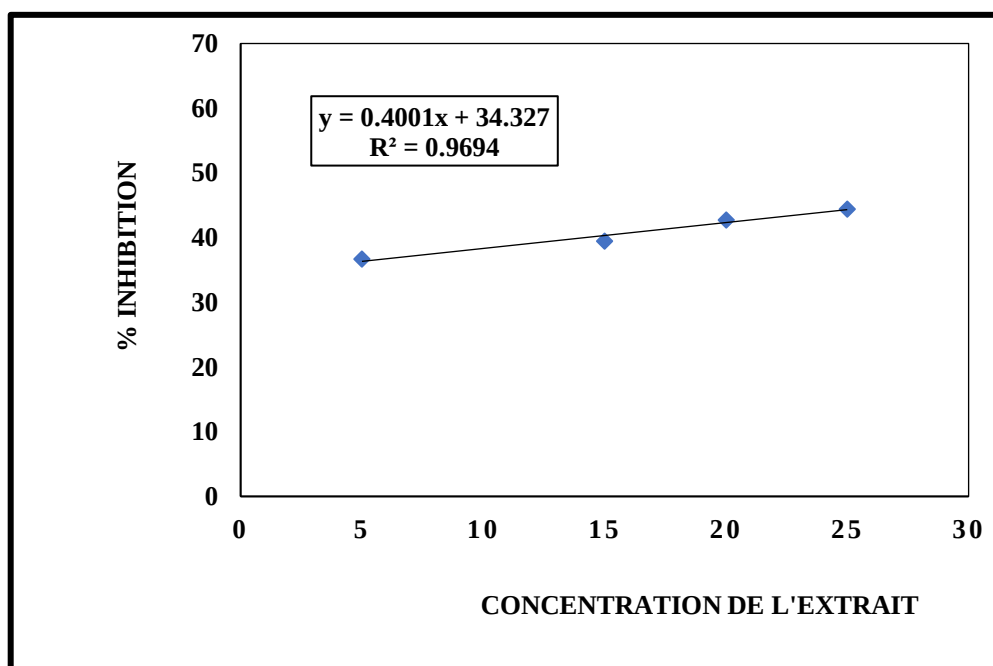
Annexe 01: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.



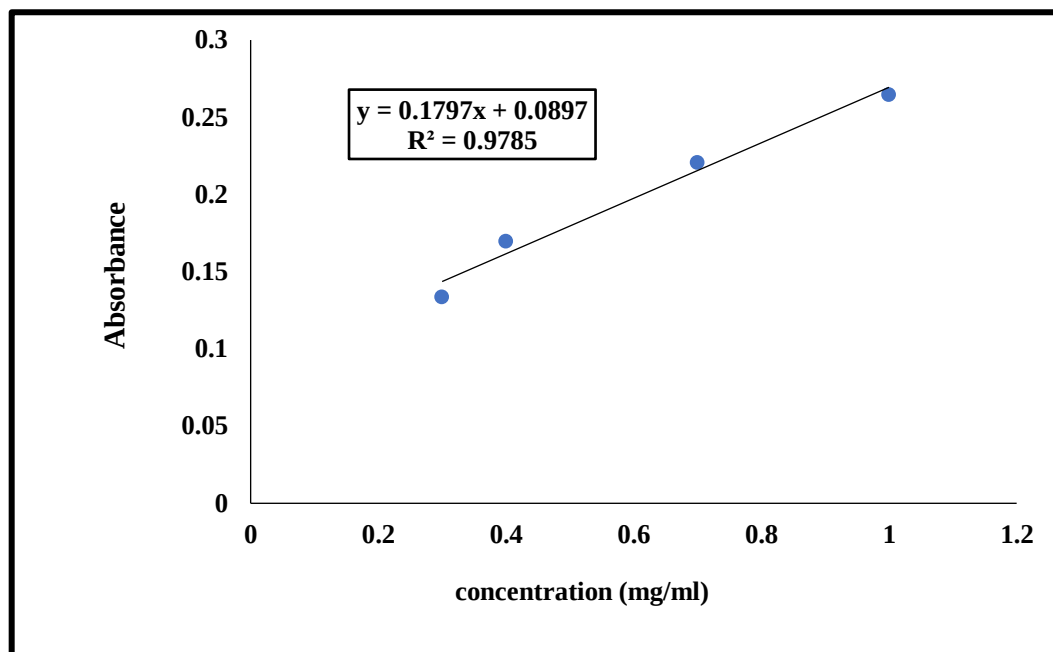
Annexe 02: Courbe d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines tissulaire.



Annexe 03: Courbe d'étalonnage de vit C (µg/ml) pour le dosage de dpvh.



Annexe 04: Courbe d'étalonnage d'extrait aqueux d'*Aquilaria malaccensis* (µg/ml) pour le dosage de dpvh.



Annexe 05: Courbe d'étalonnage de glucose (0.1mg/ml) pour le dosage des glycogène.



Annexe 06: Synthèse verte de SeNPs à partir d'*Aquilaria malaccensis*.