



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

N série:.....

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

L'effet de l'*Aquilaria malaccensis* et l'*Aristolochia longa*
sur la toxicité de plomb chez les rattes Wistar

Présenté Par :

GHARBI Safa & ZEGHIB Khaoula

Devant le jury composé de :

Président:	M. LAICHE A.T.	M.A.A, Université d'El Oued.
Examinatrice:	M ^{elle} . AOUIMEUR M.	M.A.A, Université d'El Oued.
Promoteur:	M. KHELEF Y.	M.A.B, Université d'El Oued.
Co-promoteur:	M. DEROUCHE S.	M.A.A, Université d'El Oued.

- Année universitaire 2015/2016 -

Dedicaces

Une dédicace particulière et sincère à notre enseignant M^R DEROUICHE SAMIR

Je Dédie ce modeste travail

*À ma cher mère DRISS MASSIKA et mon cher père MAAMAR, pour leur endurance et
leurs sacrifices sans limites*

*À mes frères: ALI, EL-HOUCINE, BELEL et ABDELBAKI et mes sœurs: DALAL et
YAMINA, en reconnaissance de leur affection toujours constante*

À mon fiancé ALLOUCHE TAHA SALEH

À tous mes proches, mes amis, mes camarades de promotion

Safa

Je Dédie ce modeste travail

*À mon père ZEGHIB AROUSSI ; ma mère HOUGUI BECHERA, pour leur endurance et
leurs sacrifices sans limites*

*À mes frères et mes sœurs MAYMOUNA, FATMA, ABDELMALEK, MOUHAMED,
SARA, ZINEB, en reconnaissance de leur affection toujours constante*

À mon oncle ALI, ma voisin HAYAT; mes amis CHAHRA, SAMIRA.

Khaoula

Remerciements

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

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

À notre jury de mémoire M^{lle} AOUIMEUR MERJEM, 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 KHELEF YAHIA, 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.

À notre co-encadreur Mr DEROUCHE SAMIR, de nous avoir accordé sa confiance en nous acceptant pour travailler sur ce sujet avec lui. Il a suivi mes travaux avec intérêt tout en nous prodiguant des conseils toujours justes et il a su nous redonner courage et aider à traverser des moments difficiles et des instants de doute. Aussi pour son soutien, son attention, ses qualités humaines. Pour tout cela, nous tenons à lui exprimer toute notre gratitude et nous le remercions particulièrement.

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

Nos respects et reconnaissance sont adressés à Mr LOUAJ MED SALEH et M^{lle} CHETEHOUNA SOUAD, techniciens au laboratoire de l'urgence médicale d'El-oued, BESR MOUARAGE.

À M^{me} GOUASSMIA SOULEF, technicienne au laboratoire d'ÉTABLISSEMENT PUBLIQUE DE SANTÉ DE PROXIMITÉ d'El-oued.

À et M^{lle} KHALOUATI NADIAH, technicienne au laboratoire de BEN NACER BACHIR d'El-oued.

Nous remercions également à tous les membres de CONTRÔLE DE QUALITÉ d'El-oued.

Nous adressons nos remerciements à tous les membres du laboratoire de l'agronomie de l'université de MED KHIDHER,

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier les effets d'*Aquilaria malaccensis* et *Aristolochia longa* combinés sur certains paramètres biochimiques, hématologiques d'une part, et d'autre part sur le stress oxydant et structure tissulaire des reins, chez des rattes exposées de façon sub-chroniques d'acétate de plomb (100 mg/kg), pendant 75 jours. Il s'agit d'une étude expérimentale menée au laboratoire sur 25 rattes femelle de la souche Wistar réparties en cinq lots de cinq rattes chacun dont le premier lot sert de témoin, le second est un lot contaminé par le plomb, le troisième est un lot contaminé par le plomb et traité par *Aquilaria malaccensis*, le quatrième est un lot contaminé par le plomb et traité par *Aristolochia longa* et le cinquième lot est un lot contaminé par le plomb et co-traité par *Aquilaria malaccensis* et *Aristolochia longa*. À partir de l'analyse de nos résultats, on observe une diminution considérable de poids corporel des rattes contaminées au plomb et une augmentation du poids relatif des organes prélevés (foie, rein et cœur). Les résultats ont montré aussi des changements notables dans les paramètres biochimiques caractérisés surtout, par une augmentation significative de la concentration sérique du glucose, de l'urée et activité de PAL avec une légère augmentation sérique de la créatinine, de l'acide urique, TGO et TGP. Alors que, la concentration de calcium a été diminuée. Cependant, les activités des transaminases (TGO, TGP), de PAL sérique ont présenté une augmentation et les transaminases tissulaires (TGO et TGP hépatique) et TGO myocardique ont présenté une diminution important chez les rattes contaminées. Les résultats obtenus révèlent également une toxicité hématologique et stress oxydatif chez les lots contaminés au plomb, avec une diminution du taux des globules rouges, d'hémoglobine, des granulocytes, GSH et activité des GST et une augmentation du taux de MDA et activité de la CAT dans les tissus (foie, reins, cœur et cerveau). Aussi, les résultats ont montré clairement des altérations de structures de tissus étudiés en comparaison avec les témoins, avec hémorragie, inflammation et dégénérescences tubulaires avec nécrose des reins. Le traitement par l'A. *malaccensis* et l'A. *longa* à presque normaliser les paramètres biochimiques et hématologiques en réduisant le plomb tissulaire, avec protection et régénération du tissu rénale contre les attaques radicalaires provoquées par le plomb. En conclusion, cette étude montre que le traitement par A. *malaccensis* et A. *longa* induit un effet bénéfique contre la toxicité de plomb au niveau moléculaire et tissulaire avec dominance de l'effet d'*Aristolochia longa*. Ainsi, notre plantes avoir un effet protecteur vis-à-vis des pathologies associées au stress oxydatif.

Mots clés: plomb, toxicité, *Aquilaria malaccensis*, *Aristolochia longa*, stress oxydant, rattes Wistar.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير المعالجة المشتركة لنباتي العود (*Aquilaria malaccensis*) والزراوند (*Aristolochia longa*) على بعض المعايير البيولوجية من جهة، وعلى الإجهاد التأكسدي البنية النسيجية من جهة أخرى، عند الفئران المعرضة بطريقة شبه مزمنة لخلات الرصاص (100 ملغ/كغ) لمدة 75 يوما. الدراسة التجريبية أجريت في المختبر على 25 فأرة من سلالة وستار مقسمة إلى خمس مجموعات، خمسة فئران في كل منها حيث المجموعة الأولى شاهدة، الثانية ملوثة بالرصاص الثالثة ملوثة بالرصاص ومعالجة بالعود، الرابعة ملوثة بالرصاص ومعالجة بالزراوند والمجموعة الخامسة ملوثة بالرصاص ومعالجة بالعود وزراوند معا. من خلال تحليل النتائج، نلاحظ انخفاض كبير في وزن جسم الفئران الملوثة بالرصاص وزيادة الوزن النسبي للأعضاء المدروسة (الكبد، الكلى والقلب). أظهرت النتائج أيضا تغييرات ملحوظة في المعايير البيولوجية التي تتميز أساسا بزيادة كبيرة في تركيز السكر في الدم، اليوريا، نشاط الفسفاتاز القلوي مع زيادة طفيفة للكرياتينين في مصل الدم، حمض اليوريك وانزيمات نقل مجموعة الأمين. في حين أن تركيز الكالسيوم قد انخفض. ومع ذلك، فإن نشاط انزيمات نقل مجموعة الأمين، الفسفاتاز القلوي اظهر زيادة في مصل الدم وانزيمات نقل مجموعة الأمين في النسيج الكبدي وعضلة القلب أظهرت انخفاض ملحوظ في الفئران الملوثة. النتائج المتحصل عليها تكشف أيضا عن سمية دموية واجهاد تأكسدي خاصة عند المجموعات الملوثة بالرصاص، مع انخفاض في خلايا الدم الحمراء، الهيموغلوبين، الخلايا المحببة، الجلوتاثيون المختزل ونشاط انزيم ناقل جلوتاثيون وزيادة معدل بيروكسيد الدهون ونشاط الكتلز في الأنسجة (الكبد والكلى والقلب والدماغ). أيضا، النتائج أظهرت بوضوح تغييرات في هيكل نسيج الكلية بالمقارنة مع الشاهد، مع نزيف، التهاب، نخر كبدي وتشوه أنبوبي مع نخر في الكلى. المعالجة بالعود وزراوند يعيد الى الحالة الطبيعية تقريبا المعايير البيولوجية والدموية عن طريق خفض الرصاص في الأنسجة، مع حماية النسيج الكلوي من هجمات الجنور الحرة الناجمة عن الرصاص. في الختام، هذه الدراسة تبين أن العلاج بالعود وزراوند يحرض على تأثير مضاد لسمية الرصاص على المستوى الجزيئي والنسيجي مع أفضلية لنبات الزراوند. وبالتالي، النباتين لهما تأثير وقائي مع الأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: الرصاص، السمية، العود، زراوند، الإجهاد التأكسدي، فئران ويستار.

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Métabolisme du plomb chez l'être humain	4
Figure 2	Effets du plomb sur la synthèse de l'hème	7
Figure 3	Activation de la NADPH oxydase du polynucléaire neutrophile	12
Figure 4	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés	15
Figure 5	Rôle central des enzymes antioxydantes dans la cascade oxydante	16
Figure 6	<i>Aquilaria malaccensis</i> Lam	20
Figure 7	<i>Aristolochia longa</i> L	23
Figure 8	Structure d'acide aristolochique	24
Figure 9	(A): <i>Aquilaria malaccensis</i> Lam, (B): <i>Aristolochia longa</i> L	26
Figure 10	Schéma récapitulatif du protocole expérimental	29
Figure 11	Protocole de préparation de l'extrait aqueux des plantes.	31
Figure 12	Variation du Poids relatif de foie, reins et cœur chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	43
Figure 13	Variation du taux d'hémoglobine, nombre des globules rouges et granulocytes chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	45
Figure 14	Variation de la concentration sérique de glucose, l'urée, créatinine, acide urique, protides et calcium chez le groupes témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	47
Figure15	Variation de l'activité sérique de TGO, TGP et PAL chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	48
Figure 16	Activité hépatique et myocardique de TGO et TGP chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	49
Figure 17	Variation de la peroxydation lipidique au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	51
Figure 18	Variation de la Concentrations tissulaires de glutathion (GSH) chez le groupe témoins et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	51
Figure 19	Variation de l'activité de catalase chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	53
Figure 20	Variation de l'activité tissulaire de glutathion S-transférase (GSTs) chez le groupe témoins et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	54

Figure 21	Coupes histologiques du rein d'une ratte témoin	55
Figure 22	Coupes histologiques du rein d'une ratte contaminée par le plomb pendant 75 jours	55
Figure 23	Coupes histologiques du rein d'une ratte traitée par <i>Aquilaria malaccensis</i> pendant 15 jours	55
Figure 24	Coupes histologiques du rein d'une ratte traitée par <i>Aristolochia longa</i> pendant 15 jours	56
Figure 25	Coupes histologiques du rein d'une ratte co-traitée par <i>Aquilaria malaccensis</i> et <i>Aristolochia longa</i> pendant 15 jours	56

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Propriétés physiques et chimiques du plomb	3
Tableau 2	Composition de régime standard	27
Tableau 3	Tests phytochimiques de l'extrait aqueux d' <i>A. malaccensis</i> et <i>A. longa</i> .	42
Tableau 4	Contenu en polyphénols de l'extrait aqueux d' <i>A. malaccensis</i> et <i>A. longa</i>	42
Tableau 5	Poids initiale, Gain du poids et poids relative des organes chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux	43
Tableau 6	Taux d'hémoglobine, nombre des globules rouges et des granulocytes chez les groupes témoins et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	44
Tableau 7	Teneurs sériques en glucose, urée, créatinine, acide urique, protide, calcémie chez les groupes témoins et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	46
Tableau 8	Activité du TGO, TGP, PAL sérique et tissulaire chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	48
Tableau 9	Concentrations tissulaires de Malondialdéhyde (MDA) et glutathion réduit (GSH) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	50
Tableau 10	Activité de catalase et glutathion S Transférase (GST) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours	52

LISTE DES ABRÉVIATIONS

8-OHG	8-hydroxy-guanine
AA	Acide aristolochique
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
CAT	Catalase
CaNa ₂ EDTA	Calcium disodium EDTA
DMSA	Acide dimercaptosuccinique
EDTA	Éthylène Diamine Tétra-Acétique
Fe ²⁺	Fer ferreux
Fe ³⁺	Fer ferrique
FNS	Formule de numération sanguine
FRO	Forme Réactive de l'Oxygène
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion réduit
GSSG	Disulfure de glutathion
GST	Glutathion s-transférase
H ₂ O	Eau
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
HDL-C	Cholestérol de haute densité
HOCl	Acide hypochloreux
LDL	Lipoprotéines de densité légère
LPO	Peroxydation lipidique
MDA	Maondialdéhyde
NADPH	Nicotinamide adénine di-nucléotide phosphate
NO	Oxydes nitrique
NO [•]	Monoxyde d'azote
NO [•]	Monoxyde d'azote
O ₂ ^{•-}	Radical superoxyde
OH [•]	Radical hydroxyle

ONOO ⁻	Ion peroxyinitrite
PAL	Phosphatase alcalin
Pb	Plomb
PN	Polynucléaires neutrophiles
R [•]	Radical lipidique
ROO [•]	Radical peroxyde
ROOH	Hydroperoxyde lipidique
ROS	Reactive oxygen species
S.E.M	Ecartype moyenne
SOD	Superoxyde dismutase
TGO	Glutamate oxalo acétate-transaminase
TGP	Transaminase glutamique pyruvique

SOMMAIRE

Introduction	
PREMIÈRE PARTIE: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I: Plomb	
1. Définition.....	3
2. Propriétés chimique.....	3
3. Métabolisme.....	3
3.1. Absorption.....	4
3.2. Distribution.....	5
3.3. Élimination.....	6
4. Toxicité.....	6
4.1. Effets hématologiques.....	6
4.2. Effets neurologiques.....	7
4.3. Action rénaux.....	8
4.4. Effets sur la reproduction.....	8
4.5. Génotoxicité.....	9
4.6. Effets cardiovasculaires.....	9
CHAPITRE II: Stress oxydatif	
1. Définition du stress oxydatif.....	10
2. Les radicaux libres.....	10
2.1. Définition des radicaux libres.....	10
2.2. Nature et sources d'espèces réactives de l'oxygène.....	11
2.2.1. Source endogène.....	11
2.2.2. Source exogène.....	13
2.3. Dommages des radicaux libres.....	13
2.3.1. Effets sur les lipides.....	14
2.3.2. Effets sur les protéines.....	15
2.3.3. Effets sur les acides nucléiques.....	16
3. Défenses physiologiques contre le stress oxydatif	16
3.1. Antioxydants enzymatiques.....	16
3.2. Antioxydants non enzymatiques.....	18
3.3. Antioxydants d'origine végétale.....	19
CHAPITRE III: <i>Aquilaria malaccensis</i> et <i>Aristolochia longa</i>	
1. Les plantes médicinales et la médecine traditionnelle.....	20

2. <i>Aquilaria malaccensis</i>	20
2.1. Description botanique.....	20
2.2. Localisation géographique.....	21
2.3. Classification.....	21
2.4. Composition chimique.....	21
2.5. Formation de bois d'agar.....	21
2.6. Utilisation thérapeutique.....	22
3. <i>Aristolochia longa</i>	23
3.1. Description botanique.....	23
3.2. Localisation géographique.....	23
3.3. Classification.....	24
3.4. Composition chimique.....	24
3.5. Utilisation thérapeutique.....	25
DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE	
CHAPITRE I: Matériel et méthodes	
1. Matériel.....	26
1.1. Matériel végétal.....	26
1.2. Les animaux.....	26
1.2.1. Condition d'élevage.....	26
1.2.2. Traitement des animaux.....	27
1.2.3. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes.....	27
1.3. Réactifs et produits utilisés.....	29
1.4. Matériel de laboratoire.....	30
2. Méthodes.....	31
2.1. Préparation de l'extrait aqueux.....	31
2.2. L'analyse phytochimiques.....	31
2.3. Méthode de dosage des polyphénols totaux.....	32
2.4. Dosage des paramètres hématologiques.....	33
2.5. Dosage des paramètres biochimiques sériques.....	33
2.5.1. Dosage l'urée sérique.....	33
2.5.2. Dosage de la créatinine sérique.....	33
2.5.3. Dosage de l'acide urique sérique.....	33
2.5.4. Dosage du protide sérique.....	34
2.5.5. Dosage de la calcémie sérique.....	34

2.5.6. Dosage de l'activité des transaminases sériques et tissulaires (foie et cœur).....	34
2.5.7. Dosage de l'activité des phosphatases alcalines.....	35
2.6. Dosage des paramètres de stress oxydatif.....	36
2.6.1. Préparation de l'homogénats des organes.....	36
2.6.2. Dosage des protéines tissulaire.....	36
2.6.3. Dosage des malondialdéhyde (MDA) tissulaires.....	36
2.6.4. Dosage de l'activité enzymatique du catalase.....	37
2.6.5. Dosage des glutathion réduit (GSH).....	39
2.6.6. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase (GSTs).....	39
2.7. Technique histologique.....	39
2.7.1. Fixation des échantillons.....	39
2.7.2. Déshydratation.....	40
2.7.3. Inclusion	40
2.7.4. Confection des coupes histologiques.....	40
2.7.5. Coloration	40
2.8. Méthode d'analyse statistique.....	41
CHAPITRE II: Résultats	
1. Étude phytochimique et dosage de polyphénols.....	42
2. Effet de traitement par <i>A. longa</i> et <i>A. malaccensis</i> sur la croissance corporelle, le poids relative des organes et le statut de plomb tissulaire chez les rattes contaminées par le plomb.....	42
3. Effet de traitement par <i>A. longa</i> et <i>A. malaccensis</i> sur des paramètres hématologiques, biochimiques et enzymatique chez les rats contaminées par le plomb...	44
4. Effet de traitement par <i>A. longa</i> et <i>A. malaccensis</i> sur des paramètres de stress oxydant chez les rattes contaminées par le plomb.....	49
5. Étude histologique.....	54
CHAPITRE III: Discussion	
Discussion.....	57
Conclusion	68
Références bibliographiques.....	70
Annexes.....	88

INTRODUCTION

Le plomb est l'un des métaux lourds les plus abondants et a été détecté dans toutes les parties de l'environnement et dans les systèmes biologiques. Il est reconnu comme l'un des métaux lourds les plus toxiques et nocif, même en petites quantités (Mishra *et al.*, 2013; Aziza *et al.*, 2009). Ce métal est connu pour induire une large gamme de dysfonctionnements physiologiques, biochimiques et comportementaux chez les animaux de laboratoire et les humains, y compris le comportement respiratoire, neurologique, hématologiques, hépatiques, rénales, et les systèmes reproducteurs mâle et femelle (Ponce-Canchihumán *et al.*, 2010; Aziz, 2012).

L'un des principaux mécanismes qui expliquent la toxicité du plomb a été attribuée au stress oxydatif, en raison de leur capacité dans la perturbation d'équilibre entre la production de radicaux libres et de la défense antioxydante cellulaire. Les macromolécules sont les cibles principales des ROS. En ces derniers causent la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et les altérations de l'ADN, provoquant ainsi le développement du cancer, du diabète, des maladies neuro-dégénératives et des maladies cardio-vasculaires (Wang *et al.*, 2012).

Considérant que la toxicité du plomb est actuellement l'un des sérieux monde problème à l'échelle, il n'y a toujours pas de traitement spécifique, fiable et sûr. Plusieurs chélateurs de métaux (CaNa₂EDTA et DMSA) ont été utilisés pour gérer la toxicité du plomb dans le cas de l'exposition, mais aucun ne convient pour réduire la charge corporelle de plomb. En outre, ces chélateurs à leur tour sont potentiellement toxiques et ne parviennent pas souvent à éliminer le plomb fardeau de tous les tissus du corps. par conséquent, un intérêt accru des chercheurs de phytothérapie à utiliser les plantes médicinales avec activité anti-oxydante pour la protection contre le métal, en particulier du plomb (Kansal *et al.*, 2011).

La phytothérapie est l'art de se soigner par les plantes. C'est une médecine très ancienne. Actuellement, de nombreux médicaments tirent leur origine des plantes médicinales. Cette forme de médecine ne s'oppose pas aux autres thérapies, elle augmente l'efficacité d'un traitement ou atténue ses effets secondaires (OMS, 2000). *Aquilaria malaccensis* Lam. et *Aristolochia longa* L. sont des plantes très utilisées en combinaison dans la médecine traditionnelle dans le traitement de cancer dans plusieurs région dans l'Algérie. Aussi d'une part, *Aquilaria malaccensis* possède également de nombreux activités biologiques, y compris l'activité, anti-microbienne, anti-tumorale, anti-allergiques, anti-

oxydantes (Chena *et al.*, 2012). D'autre part, *Aristolochia longa* a de multiples applications et vertus, entre-autres: recommandait pour les insuffisances ovariennes, cicatrisante, diurétique (Cherif *et al.*, 2014), analgésique, anti-inflammatoire, anti-hyperglycémiant (Benarba et Meddah, 2014). Il est utilisée plus largement par les populations dans le traitement du cancer (Benzakour *et al.*, 2012; Benzakour, *et al.*, 2011). Cette pratique est validée in vitro par l'étude de Benarba *et al.* (2014). L'effet anti-tumorale in vivo de cette plante n'a jamais été étudié auparavant (Benzakour *et al.*, 2012). En revanche, les recherches scientifiques à base de cette plante sont limitées principalement à des études sur leur toxicité et non à l'utilisation clinique. Il y avait plusieurs rapports ont été déterminé que l'ingestion de remèdes à base *Aristolochia longa* est associée au une insuffisance rénale chronique, et le cancer urothélial (Benzakour, *et al.*, 2011).

A la lumière de ces données, l'idée originale de notre travail était d'étudier et d'évaluer, chez des ratte de la souche Wistar intoxiquées par le plomb, l'effet de la phytothérapie à base de traitement par *Aquilaria malaccensis* et *Aristolochia longa* sur la perturbation métabolique et physiologique et sur la prévention de la cytotoxicité et des complications du plomb.

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 tissulaires et pour compléter notre étude nous avons réalisé aussi une étude histologique sur les reins.

PREMIÈRE PARTIE

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

PLOMB

1. Définition

Le plomb est un métal lourd d'origine naturelle (NIH, 2013; OPPTBP, 2015) qui ressemble de couleur gris bleuâtre. Il n'a pas vraiment d'avoir une odeur ou un goût. Il est une substance hautement toxique, qui n'a pas de rôle physiologique dans l'organisme (Almeras *et al.*, 2013), l'exposition à laquelle peut produire une vaste gamme d'effets indésirables sur la santé (INR, 2008).

Le plomb peut être combiné pour former des molécules inorganiques et organiques (Benedetti *et al.*, 1998). Il est présent dans de nombreux minéraux et ne se rencontre que rarement à l'état natif. Les principaux minéraux porteurs de plomb, sont des sulfates, des carbonates, des oxydes, des hydroxydes, des sulfures ou encore des phosphates (Laperche *et al.*, 2004). Toutefois, plomb organique peut être plus toxique que le plomb inorganique parce que le corps absorbe plus facilement (CSEM, 2010).

2. Propriétés chimique

Le plomb (Pb), appartient au groupe IV B de la classification périodique. Il fait partie de la famille du carbone et du silicium (Laperche *et al.*, 2004), est d'une teinte bleuâtre ou métal gris-argenté. Il a quatre isotopes naturels avec poids atomique 208, 206, 207 et 204 (WHO, 2001) (tableau 1).

Tableau 1: 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

3. 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).

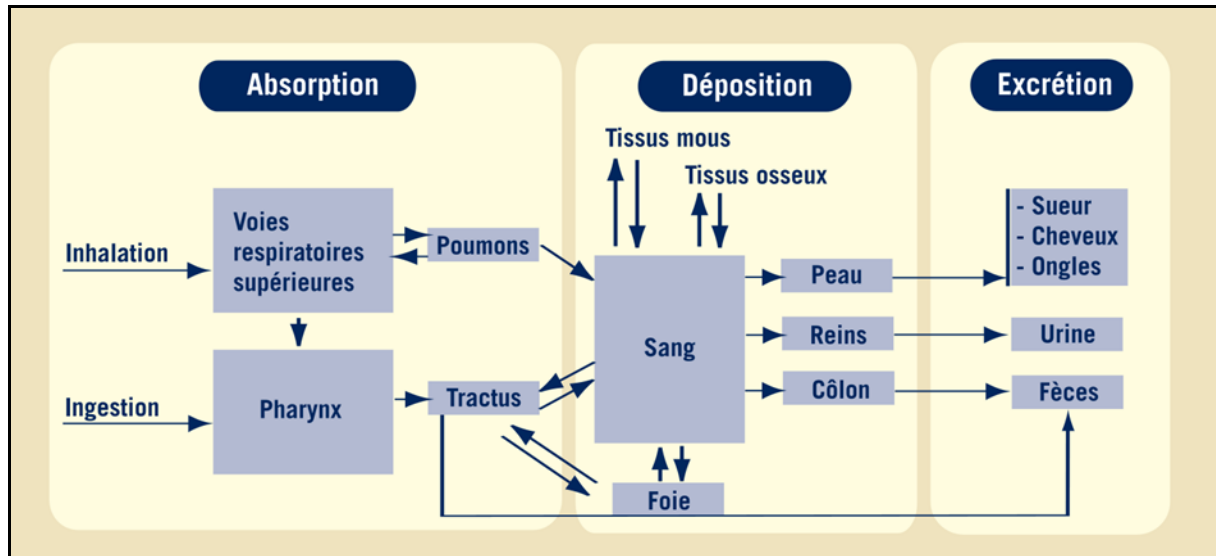


Figure 1: Métabolisme du plomb chez l'être humain (Turcot *et al.*, 2003).

3.1. Absorption

3.1.1. 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 est 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 hydrosolubles ou acidosolubles (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).

3.1.2. 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).

3.1.3. 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).

3.2. 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, bien que les valeurs de demi-vie plus longue ont été signalés en dirigeant les travailleurs et peut dépendre de la charge corporelle de plomb (WHO, 2001).

La fraction non-excrétée du plomb absorbé est distribuée et se répartit dans les cellules de divers organes que l'on peut diviser en trois groupes (Haguenoer *et al.*, 2004):

- ✓ La masse sanguine et quelques tissus à échange rapide; la demi-vie du plomb y est d'environ un mois, La concentration sanguine est modulée par des variations individuelles d'origine nutritionnelle (Bonnard *et al.*, 2006);
- ✓ Le système nerveux central et périphérique ainsi que tissus mous (le foie, les reins, les muscles) (Haguenoer *et al.*, 2004); la demi-vie du plomb y est d'environ 40 à 60 jours (Bonnard *et al.*, 2006);
- ✓ Le squelette, compartiment le plus chargé et pour lequel la cinétique de renouvellement est la plus lente (Bonnard *et al.*, 2006); il contient environ 90% (Yazbecka *et al.*, 2006) du plomb total et la demi-vie est d'environ 20-30 ans chez l'homme et 60-100 jours chez le rat (Bonnard *et al.*, 2006). 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).

3.3. 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), en raison de sa similarité avec le calcium le corps ne fait pas de distinction entre eux, est excrété dans le lait. Le plomb est également excrété dans la salive, les phanères (environ 8 %), dans la sueur, dans les ongles, dans les cheveux... (Laperche *et al.*, 2004; Truchon *et al.*, 2012).

Le plomb inhalé non absorbé est éliminées en 24 heures par voie lymphatique (OPPTBP, 2015). Il est éliminé aussi par action mucociliaire trachéo-bronchique vers le tractus gastro-intestinal puis, comme le plomb ingéré, est absorbé ou directement éliminé dans les fèces (Bonnard *et al.*, 2006).

4. Toxicité

4.1. Effets hématologiques

Le plomb intervient à plusieurs points du métabolisme de l'hémoglobine (Figure 2). Il inhibe trois enzymes: l'acide 6-aminolévulinique deshydratase (ALA-D), la coproporphyrinogène décarboxylase et la ferrochélatase (Garnier *et al.*, 2005). Il en résulte respectivement une accumulation d'acide 6-aminolévulinique (ALA), une augmentation des coproporphyrines et une diminution de la quantité d'hème formé accompagnée d'une augmentation du taux de protoporphyrine. La protoporphyrine en excès prend la place de l'hème dans l'hémoglobine et fixe du zinc sur le site occupé habituellement par le fer. Le plomb affecte aussi, par rétrocontrôle négatif via l'hème, l'activité de l'ALA synthétase et la synthèse de la partie globinique (Bonnard *et al.*, 2006). En conséquence, l'excrétion urinaire d'ALA et de coproporphyrine est augmentée;

les protoporphyrines et le coproporphyrinogène s'accumulent dans les érythrocytes, l'acide aminolévulinique, dans le sang, le plasma et l'urine (WHO, 2001).

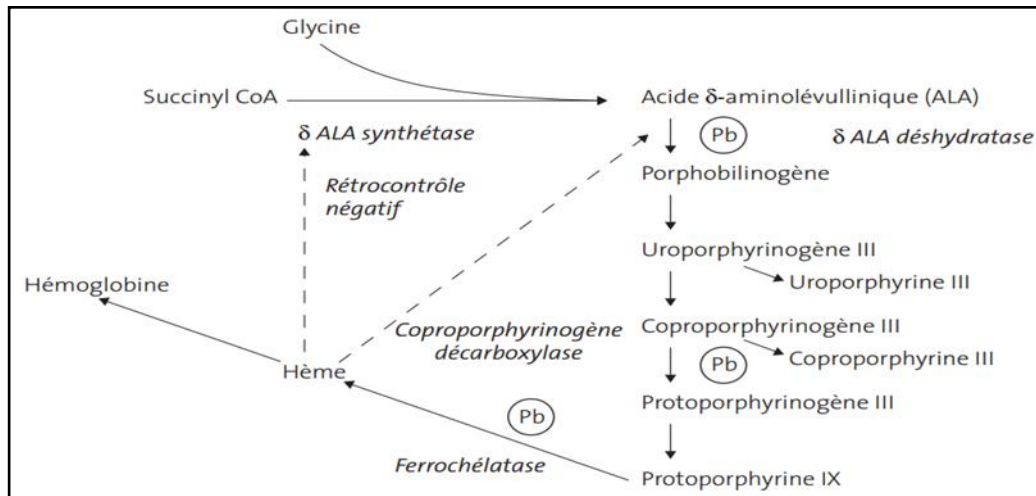


Figure 2: Effets du plomb sur la synthèse de l'hème (Bonnard *et al.*, 2006).

Cette inhibition de la synthèse de l'hème peut influencer la concentration sanguine d'hémoglobine (Frery *et al.*, 2011) et conduire à une anémie hypochrome de type microcytaire avec une augmentation du nombre de réticulocytes à granulations basophiles, résultant de l'inhibition de la pyrimidine-5'-nucléotidase (Bonnard *et al.*, 2006).

Le plomb diminue également la durée de vie des hématies et modifie le métabolisme du fer (Bailly *et al.*, 2001) par diminution de sa capacité de fixation et entraîne des troubles de maturation des réticulocytes responsables de la présence d'hématies à granulations basophiles (Titton *et al.*, 2010).

4.2. Effets neurologiques

Les systèmes nerveux central et périphérique sont particulièrement affectés par le plomb. L'action sur le système nerveux se traduit par une encéphalopathie et une neuropathie périphérique (Bonnard *et al.*, 2006) avec hypertension intracrânienne se traduisant par une apathie, des céphalées, des vomissements, puis une confusion, une somnolence, des troubles de l'équilibre, suivies d'un coma et de convulsions pouvant conduire à la mort (Bailly *et al.*, 2001).

Le plomb y exerce des effets (Bonnard *et al.*, 2006):

- ✓ **Morphologiques:** il diminue les connections inter-cellules, d'où une modification des circuits neuronaux, et il induit une différenciation précoce des cellules gliales,

gênant la migration des cellules nerveuses pendant la structuration du cerveau (Bonnard *et al.*, 2006);

✓ **Pharmacologiques:** il diminue la libération des neurotransmetteurs (acétylcholine, noradrénaline, acide gamma-amino-butyrique et dopamine), probablement par interférence avec le calcium et le zinc au niveau de la synapse (Bonnard *et al.*, 2006; Tilton *et al.*, 2010).

4.3. Action rénaux

Deux types de néphropathie sont induits par l'exposition au plomb (Garnier *et al.*, 2005):

✓ **Néphropathie subaiguë**, qui survient précocement après le début de l'exposition au plomb. Elle est histologiquement caractérisée par une atteinte des cellules tubulaires proximales qui sont hyperplasiques avec une atteinte mitochondriale et des inclusions intranucléaires. Biologiquement, dans sa forme typique et complète (Garnier *et al.*, 2005), elle réalise un syndrome de Toni-Debré-Fanconi, avec une fuite urinaire de protéines de faibles poids moléculaires (b2-microglobuline, a1-microglobuline, retinol-binding protein), une enzymurie, une glycosurie, une aminoacidurie, une hypercalciurie et une hyperphosphaturie (Bailly *et al.*, 2001).

✓ **Néphropathie tardive**, qui s'observe après 10 à 30 ans d'exposition au plomb. L'atteinte est, cette fois, tubulo-interstitielle et glomérulaire. Elle est définitive, peut être transitoirement améliorée par l'arrêt de l'exposition et/ou un traitement chélateur mais à moyen terme, elle continue de s'aggraver, même après l'éviction du risque (Garnier *et al.*, 2005).

4.4. Effets sur la reproduction

Chez le rat male, le plomb induit une hypofertilité masculine (Bailly *et al.*, 2001), stérilité et des anomalies fonctionnelles et morphologiques du sperme, une dégénérescence testiculaire, une hyperplasie prostatique (Bonnard *et al.*, 2006) et modification des taux de testostérone, LH, FSH (Bailly *et al.*, 2001).

Chez le rat femelle, il entraîne un retard d'ouverture vaginale, une atrophie ovarienne, avec diminution de la sécrétion de progestérone et altérations endométriales au moment de l'implantation. De plus, une atteinte des récepteurs œstrogéniques utérins peut influencer le maintien de la gestation (Bonnard *et al.*, 2006).

4.5. Génotoxicité

In vitro, le plomb altère l'ADN: sous forme d'ion divalent, il réagit rapidement avec les groupements phosphates et les bases de l'ADN donnant naissance à des complexes stables (Bonnard *et al.*, 2006), il est peu probable que des composés de plomb sont directement génotoxique. Toutefois, il existe plusieurs mécanismes par lesquels les composés au plomb pourraient modifier indirectement la réplication de l'ADN, de la fidélité et la réparation, résultant dans la génotoxicité (TPMC, 2003). Aucune fracture simple brin de l'ADN ou liaison croisée ADN-protéine n'a pu être mise en évidence (Bonnard *et al.*, 2006).

In vivo, les résultats rapportés sont ambigus. Il n'y a pas d'induction de micronoyaux dans les cellules de la moelle osseuse de souris. Chez le singe Cynomégalus, on observe l'apparition de lacunes et de fragments chromosomiques. Des aberrations chromosomiques sévères sont induites, dans des conditions particulières (régime pauvre en calcium par exemple) chez le singe et la souris (Bonnard *et al.*, 2006).

4.6. Effets cardiovasculaires

Le plomb a un effet arythmogène sur le myocarde et peut produire des modifications dégénératives au niveau cardiaque. Cet effet serait dû à sa capacité à former des complexes avec les macromolécules intracellulaires et à s'opposer au calcium. Au niveau vasculaire, le plomb provoque des lésions dans les cellules endothéliales avec pour conséquence une modification de l'élasticité artérielle et une sclérose des vaisseaux rénaux (Bonnard *et al.*, 2006).

Il peut également avoir un impact sur le métabolisme des lipides, causant une diminution du taux sérique de cholestérol de haute densité (HDL-C). Par conséquent, diminution de HDL peut être responsable, au moins partiellement, des perturbations au système cardiovasculaire. Les lipoprotéines sanguines, surtout les lipoprotéines de haute densité (HDL), exercent un effet vasodilatateur sur les vaisseaux sanguins (Skoczynska *et al.*, 2014).

CHAPITRE II

STRESS OXYDATIF

1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydant, qui est défini comme un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants, en faveur des premières (Thorin-Trescases *et al.*, 2010). Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants, la diminution de la défense antioxydant ou une combinaison de ces deux facteurs (Ece *et al.*, 2007; Sergent *et al.*, 2001) ce qui conduit à des dégâts cellulaires importants via le déclenchement de cassures et de mutations au sein de l'ADN, l'inactivation de diverses enzymes, la modification des structures protéiques, l'oxydation des sucres et l'induction de peroxydation lipidique (Foret *et al.*, 2009). Si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il constitue un terrain favorable au développement de pathologies diverses (Defraigne et Pincemail, 2008).

2. Les radicaux libres

2.1. Définition des radicaux libres

Un radical libre est une entité chimique (atome, molécule ou fragment de molécule) capable d'exister sous forme indépendante, contenant au moins un électron célibataire sur sa couche électronique externe, ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (Finaud *et al.*, 2006; Sergent *et al.*, 2001). Ils apparaissent soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente (fission homolytique) pendant laquelle chaque atome conserve son électron soit au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'un électron à partir d'un composé non radical (Kocchilin-Ramonatxo, 2006). En révisant la littérature, on remarque souvent un point symbolique à côté d'une abréviation chimique telle que (OH[•]), ce point signifie un radical libre (Scheibmeir *et al.*, 2005).

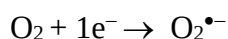
Les radicaux libres les plus courants sont le radical superoxyde (O₂^{•-}), le radical hydroxyle (OH[•]) et le monoxyde d'azote (NO[•]). D'autres molécules, comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et l'ion peroxynitrite (ONOO⁻), sont des substances oxygénées réactives non radicalaires, ce ne sont pas des radicaux libres mais des dérivés de radicaux libres et ils peuvent en générer par différentes réactions chimiques. On regroupe les radicaux libres et leurs dérivés activés sous le terme d'espèces réactives de l'oxygène (en anglais : ROS pour *reactive oxygen species*) (Ré *et al.*, 2005).

2.2. Nature et sources d'espèces réactives de l'oxygène

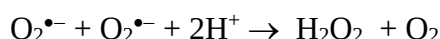
2.2.1. Source endogène

2.2.1.1. ROS d'origine mitochondriale

La majeure partie de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente conduisant à la production d'eau (Gardès-Albert *et al.*, 2003). Une proportion significative de l'oxygène (2% à 6%) échappe à la réduction complète en H₂O et subit une réduction mono-électronique au niveau des complexes I et III de la chaîne respiratoire, pour donner naissance à l'ion superoxyde (O₂^{•-}) (Carrière *et al.*, 2006) selon la réaction:



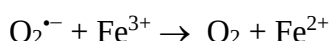
Le radical superoxyde est peu réactif, il ne traverse pas les membranes cellulaires et il est rapidement dismuté en peroxyde d'hydrogène lors de la réaction suivante, catalysée par un des membres de la famille des superoxydes dismutases (SOD) (Ré *et al.*, 2005):



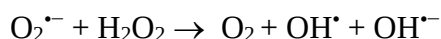
Le peroxyde d'hydrogène est également peu réactif mais il a la capacité de traverser les membranes cellulaires (Cash *et al.*, 2007; Rees *et al.*, 2004), en présence de métaux de transition tel que le Fe²⁺, de se transformer en un puissant oxydant, le radical hydroxyle, selon la réaction suivante (ou réaction de Fenton) (Ré *et al.*, 2005; Hanukoglu, 2006):



Le radical superoxyde peut réduire le Fe³⁺ et régénérer le Fe²⁺, selon la réaction :



Le bilan de ces deux dernières réactions (ou réaction d'Haber Weiss) est donc (Hanukoglu, 2006):



Le radical hydroxyle est le plus réactif et le plus agressif de tous les radicaux libres (durée de vie limitée à quelques nanosecondes). Il réagit quasiment sur le lieu de sa production (ou à quelques dizaines de nanomètres de distance) (Delattre *et al.*, 2005).

2.2.1.2. Autres sources de ROS

Des ROS (anion superoxyde, peroxyde d'hydrogène) peuvent être également produits suite à diverses réactions d'oxydation (lors du métabolisme des purines par la xanthine oxydase, lors de l'auto-oxydation des catécholamines ou suite à leur métabolisme par la monoamine oxydase, lors du métabolisme de l'acide arachidonique par les cyclo- et plus particulièrement par les lipo-oxygénases...) (Ré *et al.*, 2005). Par ailleurs, lors de réactions inflammatoires, les cellules phagocytaires activées peuvent produire une grande quantité de ROS (flambée oxydative ou *oxidative burst*) consistant en l'activation d'une enzyme membranaire, la NADPH oxydase, permet de catalyser la production d'anions superoxyde qui est dismutée en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En présence de chlorure et de myéloperoxydase (libérée par les PN), le peroxyde d'hydrogène peut être utilisé pour générer un oxydant puissant l'acide hypochloreux (HOCl) (De Moffarts *et al.*, 2005; Favier, 2003). Les cellules phagocytaires répondent en effet d'une stimulation par la plupart des médiateurs de l'inflammation et en particulier par des cytokines telles que le $\text{TNF-}\alpha$, l'interleukine-1 (IL-1), l'IL-8, l'endotoxine ou lipopolysaccharie (LPS), l'histamine, les prostaglandines, la thrombine etc. L'adhérence des polynucléaires neutrophiles (PN) et des macrophages à l'endothélium vasculaire est une étape indispensable à l'évolution normale du processus inflammatoire; cette adhérence précède l'explosion oxydative des PN, qui a lieu dans les tissus et qui est donc postérieure à l'initiation de l'inflammation (figure 3) (Pasquier, 1995).

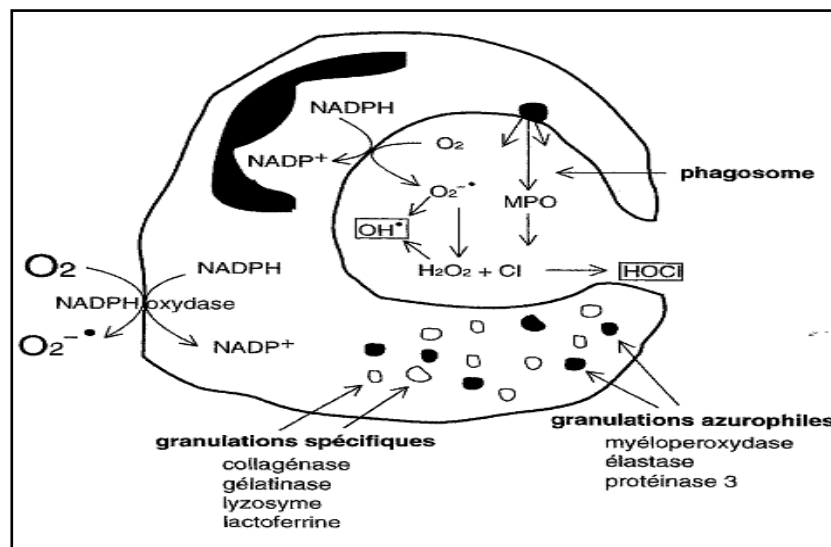
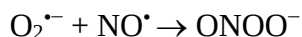


Figure 3: Activation de la NADPH oxydase du polynucléaire neutrophile (Pasquier, 1995).

Certaines cellules peuvent aussi produire le radical NO[•]. Il est synthétisé lors de l'oxydation de l'arginine en citrulline, réaction catalysée par les NO synthétases (NOS ou *nitric oxide synthases*) en présence de NADPH et d'oxygène (Sorg, 2004).



Le monoxyde d'azote C'est une molécule labile très diffusible, dont les effets régulateurs s'exercent sur la plupart des fonctions physiologiques de l'organisme (maintien du tonus vasculaire, neurotransmission, fonctionnement rénal,...) (Favier, 2003; Haleng *et al.*, 2007). Une production trop importante de NO peut avoir des effets toxiques car le NO peut alors se combiner avec le radical superoxyde pour donner l'anion peroxynitrite (Ré *et al.*, 2005), selon la réaction:



L'anion peroxynitrite est un puissant oxydant et agent de nitration, notamment des résidus tyrosine. Ses effets peuvent être soit directs, soit médiés par des radicaux libres secondaires dont il est à l'origine (OH[•], NO₂[•], CO₃^{•-}) (Deby-Dupont *et al.*, 2002).

2.2.2. Source exogène

D'autres sources ou modes de génération exogène des FRO existent de part les interactions avec leur milieu environnant (l'exposition à l'ozone, les rayonnements ionisants, les métaux lourds) (Birben *et al.*, 2013) et aussi de notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense) (Favier, 2003).

Les métaux toxiques (chrome, cuivre, vanadium), mais aussi le cuivre et le fer libres (existant lors de surcharges générales ou localisées) génèrent des radicaux hydroxyles, très réactifs, à partir de l'espèce peu réactive H₂O₂, par une réaction appelée réaction de Fenton (Favier, 2003). Le plomb augmente la peroxydation lipidique. Une diminution significative de l'activité de la SOD et GPx de tissu cérébral ont été rapportés après l'exposition au plomb. Le zinc, joue le rôle de cofacteur de nombreuses enzymes, l'exposition au plomb peut remplacer le zinc dans le site actif ce qui conduit à l'inactivation de ces enzymes. L'exposition au plomb peut provoquer une inhibition de la GST en affectant thiols de tissus (Birben *et al.*, 2013).

2.3. Dommages des radicaux libres

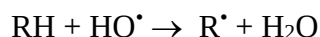
Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions

énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (Favier, 2003). Le danger est accentué par la multiplicité des sources de formation des radicaux libres. Qui provoque des lésions directes sur les molécules biologiques (Favier, 2003; Ohare, 2007).

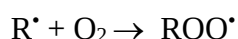
2.3.1. Effets sur les lipides

Les lipides, et notamment les acides gras polyinsaturés des phospholipides membranaires, sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle ($\text{HO}^\bullet$). Cette attaque est appelée peroxydation lipidique (Favier 2003).

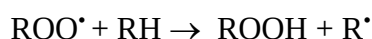
Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras poly-insaturés (AGPI) (Haleng *et al.*, 2007).



Le radical lipidique ($\text{R}^\bullet$) réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxy ($\text{ROO}^\bullet$).



Le radical peroxy est suffisamment réactif pour arracher un H^+ à un AGPI voisin et former un hydroperoxyde lipidique (ROOH). Dans ces conditions, une réaction en chaîne s'installe, propagée par les radicaux $\text{R}^\bullet$ et $\text{ROO}^\bullet$ (Delattre *et al.*, 2005).



Par ailleurs, il peut aussi se transformer en endoperoxyde, qui, en présence d'oxygène, va conduire à la formation de divers produits, dont notamment des aldéhydes hautement cytotoxiques et mutagènes, (4- hydroxynonéanal, malondialdéhyde) (Favier, 2003). La réaction de peroxydation se termine lorsque deux radicaux lipidiques se rencontrent ou lorsque le radical lipidique interagit avec un antioxydant liposoluble tel que la vitamine E (Delattre *et al.*, 2005).

La figure 4 montre la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique avec la formation de produits terminaux.

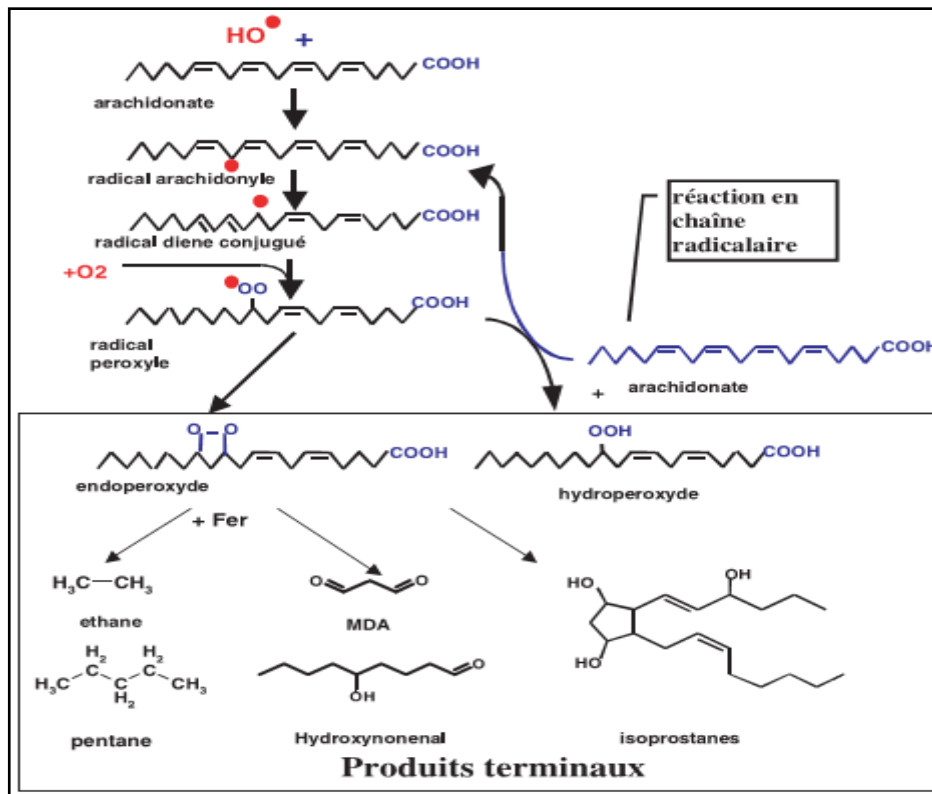


Figure 4: Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003).

Cette attaque des lipides peut concerner aussi bien les phospholipides membranaires que les lipoprotéines circulantes, avec des conséquences différentes. En effet, l'atteinte des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux. L'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires (Haleng *et al.*, 2007).

2.3.2. Effets sur les protéines

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des ROS. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (Haleng *et al.*, 2007; Pasquier, 1995). La plupart des dommages sont irréparables. Des facteurs de

transcription, des enzymes antioxydantes, des protéines impliquées dans l'homéostasie calcique, différents canaux ioniques, des cytokines... (Ré *et al.*, 2005).

2.3.3. Effets sur les acides nucléiques

L'acide désoxyribonucléique (ADN), constituant l'essentiel du génome, est aussi très sensible à l'attaque du radical OH, celui-ci oxyde des constituants de ADN conduisant ainsi à la mutagénèse, la carcinogénèse et la morte cellulaire (Pasquier C, 1995). Il peut y avoir jusqu'à 70 modifications oxydatives différentes des acides nucléiques, certaines affectant les bases d'autres induisant des cassures dans les brins. L'un des marqueurs d'une attaque oxydative des acides nucléiques est la présence de 8-hydroxy-guanine (8-OHG) (Ré *et al.*, 2005).

3. Défenses physiologiques contre le stress oxydatif

L'ensemble des dommages radicalaires semble pouvoir être limité, tout au moins en partie, par l'action de molécules dites antioxydantes. Celles-ci ont pour rôle d'empêcher les ROS d'atteindre leurs cibles biologiques, d'où leur fonction de protecteur chimique (Gardès-Albert *et al.*, 2003). Les défenses antioxydantes peuvent se diviser en systèmes enzymatiques, systèmes non enzymatiques et d'origine végétale (figure 5).

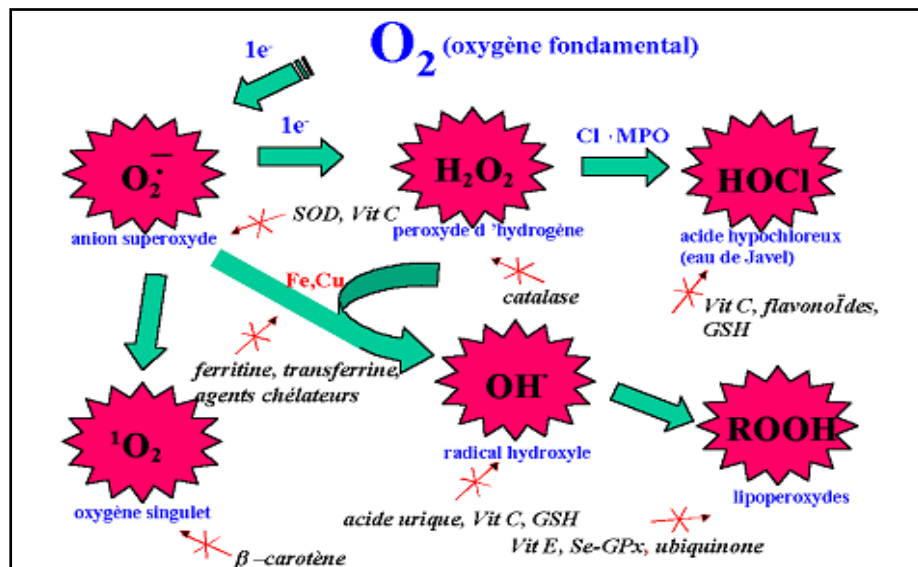


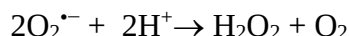
Figure 5: Rôle central des enzymes antioxydantes dans la cascade oxydante (Pincemail *et al.*, 1999).

3.1. Antioxydants enzymatiques

3.1.1. Superoxydes dismutases (SOD)

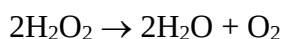
Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant. Chez l'homme, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD ont été

caractérisées de façon biochimique et moléculaire. La Cu/Zn-SOD ou SOD₁ cytosolique, et la ECSOD ou SOD₃ extracellulaire, utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique, alors que la SOD₂, mitochondriale, utilise le manganèse. La SOD catalyse la dismutation de l'O₂ en dioxygène et H₂O₂ selon la formule (Birben *et al.*, 2012; Jose *et al.*, 1999; Valéry *et al.*, 2007):



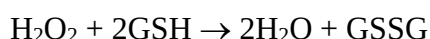
3.1.2. Catalase

La catalase est composée de quatre sous-unités protéiques, chacune contenant un groupement héminique avec Fe³⁺ lié au site actif, on trouve principalement dans les peroxysomes, La réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Wassmann *et al.*, 2004).



3.1.3. Glutathions peroxydases

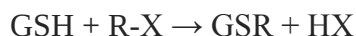
Est une métalloenzyme à sélénium, sont localisées dans le cytosol et les mitochondries. Elles réduisent les hydroperoxydes lipidiques ROOH et non lipidiques H₂O₂, en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme réducteur. La réaction transforme le glutathion en glutathion oxydé (GSSG), dans deux molécules sont unies par un pont disulfure (Jose *et al.*, 1999).



3.1.4. Glutathion-S-transférases

Glutathion S-transférase (GST, EC2.5.1.18) est une famille des enzymes multifactorielles présentes chez tous les organismes. Ils catalysent la conjugaison du glutathion à des substrats électrophiles (Pemble *et al.*, 1994). Ces enzymes sont impliquées dans la détoxification des d'une grande variété de composés xénobiotiques (par exemple des agents cancérigènes, des médicaments anti-tumoraux, les polluants environnementaux) et de composés endogène (par exemple, des peroxydes, des sous-produits de l'activité des espèces d'oxygène réactif). De plus, Quelques GST sont également impliquées dans la synthèse des eicosanoides, leukotrienes et les prostaglandines (Sherratt et Hayes, 2001).

L'activité de conjugaison du GSH avec les composés électrophiles est présentée comme suit (Waxman, 1990):



3.2. Antioxydants non enzymatiques

3.2.1. Oligo-éléments

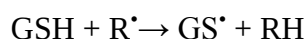
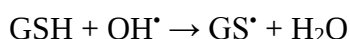
Les oligoéléments (sélénium, cuivre et zinc) qui sont les cofacteurs de divers enzymes à activité antioxydant (Defraigne et Pincemail, 2008).

3.2.2. Vitamine E

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

3.2.3. Glutathion

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intra-cellulaire. Le glutathion (GSH) joue un rôle essentiel dans la préservation des formes actives de divers antioxydants de faible taille (vitamines C, E, ubiquinone, polyphénols). Il est aussi le cofacteur de toute une série d'enzymes antioxydantes (Defraigne et Pincemail, 2008). La fonction thiol confère au glutathion un rôle d'antioxydant, c'est-à-dire de réducteur (donneur d'électron ou d'atome H), qu'il exerce vis-à-vis de nombreuses espèces oxydées, et en particulier vis-à-vis de l'eau oxygénée et des radicaux hydroxyles. Toutefois, le rôle protecteur de GSH semble provenir de sa capacité à réagir avec les radicaux centrés sur le carbone $\text{R}\cdot$.



Le rapport glutathion réduit (GSH)/glutathion oxydé (GSSG) est un excellent marqueur du stress oxydant et de son importance (Birben *et al.*, 2012); plus la valeur de ce rapport est basse, plus le stress oxydant est élevé (Haleng *et al.*, 2007).

3.2.4. Vitamine C

La vitamine C ou ascorbate est un piègeur de ROS à spectre large, efficace contre les radicaux peroxydes, hydroxyle et superoxyde ainsi que contre le peroxynitrite. Bien que l'ascorbate soit hydrosoluble, il est capable de régénérer la vitamine E, ce qui permet de déplacer les ROS de la membrane vers le cytosol et de prévenir la peroxydation lipidique. L'ascorbate est également capable de réduire les métaux de transition et donc d'avoir des effets prooxydants. (Ré *et al.*, 2005).

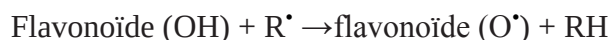
3.3. Antioxydants d'origine végétale

3.3.1. Polyphénols

Les polyphénols constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. Ils regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes (Delattre *et al.*, 2005). L'activité antioxydante des composés phénoliques est principalement attribuable à leurs propriétés redox, qui leur permettent d'agir comme agents réducteurs, des donneurs d'hydrogène et extincteurs (quenchers) de l'oxygène singulet (Gülçin *et al.*, 2010). Globalement, ce sont d'excellents piégeurs des EOA et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (Haleng *et al.*, 2007).

3.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances phénoliques formés dans les plantes des acides aminés phénylalanine, tyrosine et malonate. La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ($\text{OH}^\bullet$), anions superoxydes ($\text{O}_2^{\bullet-}$) et radicaux peroxylipidiques, par la donation directe d'atome d'hydrogène selon la réaction suivante (Finaud *et al.*, 2006):



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) qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production des radicaux hydroxyles ($\text{OH}^\bullet$). En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Ils inhibent en plus l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales (Ghedira K, 2005).

En outre, les flavonoïdes sont capables d'inhiber une large gamme d'enzymes génératrices du $\text{O}_2^{\bullet-}$ et d'autres ROS, comme la xanthine oxydase, la protéine kinase C, la cyclooxygénase, lipooxygénase, monooxygénase microsomal (Densiov et Afanas'ev, 2005).

CHAPITRE III

AQUILARIA MALACCENSIS

&

ARISTOLOCHIA LONGA

1. Les plantes médicinales et la médecine traditionnelle

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal, voire l'unique recours de la médecine de nos grands-parents. Aujourd'hui, l'usage des plantes en médecine reste très répandu dans les pays en voie de développement et celui de la médecine complémentaire et parallèle se fait de plus en plus courant dans les pays développés (OMS, 2002). Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps comme remèdes contre plusieurs maladies, grâce à leur richesse en métabolites secondaires (Wallace, 2004). Ils sont détenu 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, incurable, par conséquent à vie, très meurtrières, telles que le cancer, la drépanocytose, l'asthme, le diabète, le SIDA, etc... (Mozouloua, 2004).

2. *Aquilaria malaccensis* Lam

2.1. Description botanique

Aquilaria malaccensis est un grand arbre atteint jusqu'à 20-40 m de hauteur et 60 cm de diamètre. Jeune écorce est brun clair avec poils fins, plus âgés l'écorce est lisse et de couleur blanchâtre. Sans résine, bois est blanche, légère et douce, mais il est difficile de bois résineux, sombres et lourdes (Irnayuli *et al.*, 2011). Les feuilles sont caractérisées par d'autres, elliptiques ou lancéolées, 3-3,5 cm de large et de 6 à 8 cm de long avec 12-16 paires de nervures (Adelina *et al.*, 2004). Fleurs hermaphrodites, jusqu'à 5 mm de long, parfumée et vert jaunâtre ou blanches. Fruit est de couleur verte, capsule ovoïde, 4 cm de long et 2,5 cm de large. Il y a deux graines par fruit. Graine est brun noirâtre, ovoïdes, et densément couvertes avec des cheveux roux. À l'âge de 5-6 ans, l'arbre commence la floraison et la fructification (Irnayuli *et al.*, 2011) (figure 6).



Figure 6: *Aquilaria malaccensis* Lam. (Irnayuli *et al.*, 2011).

2.2. Localisation géographique

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 gélose (Tabin *et al.*, 2014). Il est l'une des 25 espèces d'*Aquilaria* se trouvent dans le monde (Mat *et al.*, 2012). La région phytogéographique pour *Aquilaria malaccensis* comprend: Inde, Bangladesh, Bhoutan, Indonésie, Iran, Myanmar, Philippines, Singapour, Thaïlande, Sud de la Chine, Cambodge, Laos, Vietnam, jusqu'à Papouasie Nouvelle Guinée (Khalil., 2013).

2.3. Classification

Règne: Plantae

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Myrtales

Famille: Thymelaeaceae

Genre: *Aquilaria* Lam

Espèce: *Aquilaria malaccensis* Lam. (Anton., 2007).

2.4. Composition chimique

Les constituants principaux étant des dérivés de 2-(2-phényléthyl) chromone, les composés aromatiques, les sesquiterpènes, les monoterpènes, les composés de stérol et d'ester méthylique d'acide gras. Outre chromone, les composés étaient dominants 4-phényl-2-butanone, palustre, benzaldéhyde et l'ester méthylique de l'acide benzènepropanoïque. (Lee Jong *et al.*, 2014).

Des études chimiques sur les huiles gaharu des espèces *Aquilaria* y compris *Aquilaria malaccensis* ont signalé la présence de plusieurs sesquiterpènes, alcools sesquiterpéniques, composés oxygénés, des hydrocarbures et des acides. Certains des composés qui ont été identifiés à partir gaharu inclus α -agarofuran, β -agarofuran, 10 épi- γ -eudesmol, agarospirol, jinkohol, jinkohol II et valerianol (Ma *et al.*, 2013 ; Chena *et al.*, 2012).

2.5. Formation de bois d'agar

Dans la nature, l'arbre ne produit de l'oud ou bois d'Agar que lorsqu'il est affecté par certains facteurs externes, tels que la foudre, le pâturage des animaux, des attaques d'insectes ou des invasions microbienne au niveau du tronc et les racines des arbres (Akter *et al.*, 2013). Le champignon impliqué dans la formation de bois d'agar dans *Aquilaria malaccensis* est *Melantos Cytosphaera mangiferae* (Anton., 2007). D'autres champignons pathogènes qui

trouvent dans le bois d'agar sont *Fusarium bulbiferum*, *F. Lateriu m*, *F. Oxysporum*, *F. solani*, *Penicillium spp*, *Trichoderma sp*, *Aspergillus spp*, *Botryodyplodia spp*, *Diplodia spp*, et *Pythium spp* (Persoon., 2007). L'arbre crée alors une barrière dense de bois riche en résine pour arrêter la propagation du champignon. Ce processus est appelé tylosis: le cœur de l'arbre devient noir (Affre., 2004). Cette résine est appelé agarwood, Malayan eaglewood, Malayan aloewood (Eng.); calambac, calambour (Fr.); gaharu (Indonésie); karas (Sundanese); kekeras and kepeng (Malaisie) (Adelina *et al.*, 2004).

2.6. 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 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).

3. *Aristolochia longa* L

3.1. Description botanique

Plante vivace de 20-50 cm, glabrescente, à racine oblongue en fuseau ou longuement cylindrique; tiges grêles, étalées, souvent rameuses; feuilles larges de 3-5 cm, ovales triangulaires en cœur, à sinus largement ouvert à la base, entières, lisses, à nervures faibles; pétiole égalant à peu près le pédoncule; fleurs d'un vert brunâtre, solitaires, égalant presque ou dépassant les feuilles; périanthe glabrescent, à languette lancéolée 2 fois plus courte que le tube. capsule ovale ou en poire pendante (James, 1746; Mutel, 1836) (Figure 7).



Figure 7: *Aristolochia longa* L (Bonnet *et al.*, 2011).

3.2. localisation géographique

Aristolochia longa appartient au genre *Aristolochia* (Aristolochiaceae) constitué d'environ 500 espèces principalement répartis le long des régions tropicales, subtropicale, et Méditerranée du monde (Benarba et Meddah, 2014). Elle croit dans Afrique subtropicale (Afrique du nord), Asie tempérée (Asie Mineure), Europe méridionale et occidentale (Brisseau-Mirbel, 1804; Lamarck, 1778).

En Algérie, *Aristolochia longa* est surtout rencontrée dans la région centre. On rapporte sa présence, entre autre, à l'ouest au niveau des monts de Tlemcen (Mesli-bestaoui *et al.*, 2007), aux monts de Chérea de Wilaya de Blida (Cherif *et al.*, 2009), en kabylie, au niveau de forêt de Mizrana de la Wilaya de Tizi Ouzou (Bekdouche *et al.*, 2008).

3.3. Classification

Règne: Plantae

Division: Tracheophyta

Sub-division: Spermatophytina

Classe: Magnoliopsida

Super-ordre: Magnolianaes

Ordre: Piperales

Famille: Aristolochiaceae

Genre: Aristolochia L

Espèce: *Aristolochia longa* linn (Nardi, 2009).

3.4. Composition chimique

Sur le plan chimique, cette famille se caractérise par la présence assez générale d'acide aristolochique. Les acides aristolochiques I ($R = OCH_3$) et II ($R = H$) sont des dérivés structurellement apparentés aux acides carboxyliques du nitro phénanthrène (figure 8) (Debelle *et al.*, 2009). Ce phénanthrène nitré a fait l'objet de nombreuses études pour ses propriétés antitumorales. Les recherches menées dans cette voie ont été abandonnées en raison de sa trop forte toxicité (Grenand *et al.*, 1987), ces principes toxiques de ces plantes, induisent des néphrotoxicités, des mutagénécités, de fibrose tubulointerstitial, et cancer urothélial. entraînant l'interdiction d'utilisation de tout remède naturel contenant cet acide dans plusieurs pays (Cherif *et al.*, 2014).

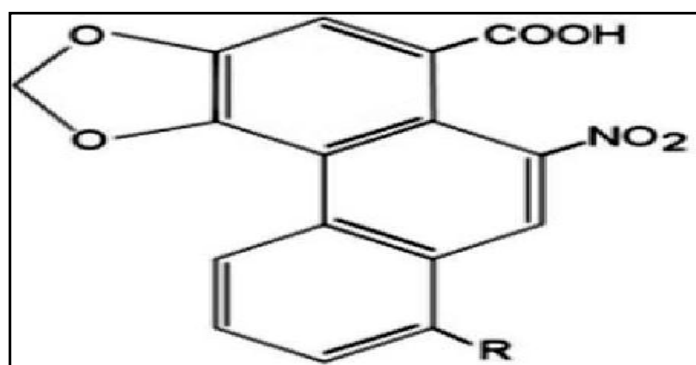


Figure 8: Structure d'acide aristolochique (Debelle *et al.*, 2009).

Toutes les ARISTOLOCHIACÉES sont plus ou moins aromatiques et toutes les espèces appartenant au genre *Aristolochia* renferment des huiles essentielles. Ces dernières sont composées de dérivés phénylpropanes (asarone, élémicine, safrol, méthyleugénol, eugénol), de monoterpènes dont les plus fréquents sont le pinène, le bornéol et de sesquiterpènes (Grenand, *et al.*, 1987).

3.5. Utilisation thérapeutique

Aristolochia longa L. (Aristolochiaceae) est une espèce couramment utilisées en médecine traditionnelle algérienne (Cherif *et al.*, 2014). Les racines broyées sont couramment utilisés (89%) mélangés avec du miel, du lait, de l'eau ou d'autres plantes médicinales pour traiter plusieurs maladies mais surtout dans le traitement du cancer (Benarba et Meddah, 2014). Il est utilisé par les patients marocains atteints de cancer au cours de leur traitement spécifique. Cette pratique est restée jusqu'à ce jour sans validation scientifique (Benzakour *et al.*, 2011).

Aristolochia longa est également recommandé pour l'insuffisance ovarienne, la guérison, diurétique, analgésique, anti-inflammatoire, anti-mitotique (Cherif *et al.*, 2014), les infections de la peau, et le diabète et pour le traitement de biimezoni (palpitations de l'aorte). Les racines sont aussi utilisées comme émeto-catharique et comme alexitére (antidote des morsures de serpents) (Bammi et Douira, 2002).

Les racines, en décoction, sont utilisées contre les affections intestinales, les intoxications aiguës, et pour provoquer l'avortement chez les femmes (Lahsissene *et al.*, 2009).

DEUXIEME PARTIE

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Les plantes utilisées dans ce travail sont l'écorce de tronc d'*Aquilaria malaccensis* et les rhizomes d'*Aristolochia longa*, ont été achetés du marché local, lavés plusieurs fois, séchés à l'air pendant 48-92 h et pulvérisés avec un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Les poudres d'*Aristolochia* et *Aquilaria* sont conservée à la température ambiante dans des contenants hermétiques à l'abri de la lumière vive jusqu'à le début de l'expérimentation (figure 9).

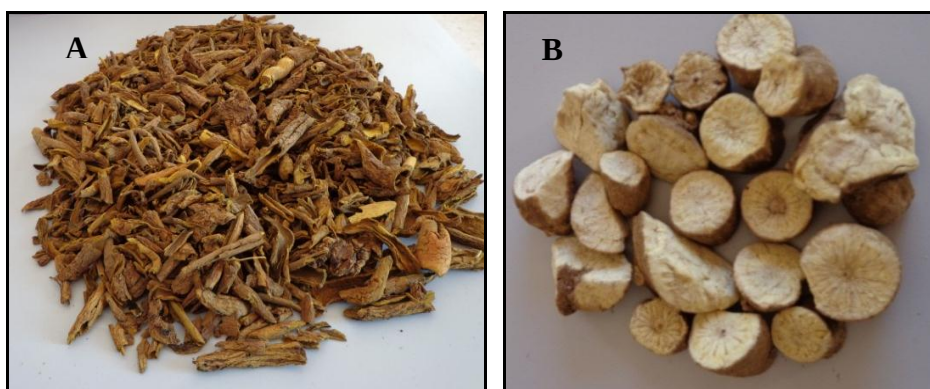


Figure 9: (A): *Aquilaria malaccensis* Lam, (B): *Aristolochia longa* L (photo originale).

1.2. Les animaux

1.2.1. Condition d'élevage

Notre étude a été réalisée sur vingt-cinq (25) rattes femelles de type Wistar Albinos, provenant de l'institut Pasteur d'Alger, âgés de huit semaines avec un poids de 217 ± 3 g. Les animaux sont élevés à l'animalerie au niveau de la faculté de sciences de la nature et de la vie, à l'université Echahid Hamma Lakhdar. 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, une humidité de $64 \pm 0.3\%$ et une photopériode de 12 h/12 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 2), et recevant l'eau distillée

Tableau 2: Composition de régime standard (Southon *et al.*, 1984).

Matières premières	Quantité (g/kg)	Pourcentage (%)
Mais	326	32.6
Saccharose	326	32.6
Protéine	168	16.8
Cellulose	40	4
Minéraux	20	2
Vitamine	20	2
Huile	40	4

1.2.2. Traitement des animaux

Après la période d'adaptation, les rattes ont été réparties en cinq groupes de cinq rattes chacun, les rattes ont été traités comme suit :

Groupe 1 (T): rattes sain (témoin).

Groupe 2 (P): rattes contaminé par l'acétate de plomb durant 75 jours.

Groupe 3 (P+Aq): rattes contaminé par l'acétate de plomb et traité par *A. malaccensis* (Aq) pendant le dernier 15 jours.

Groupe 4 (P+Ar): rattes contaminé par l'acétate de plomb et traité par *A. longa* (Ar) pendant le dernier 15 jours.

Groupe 5 (P+Aq+Ar): rattes contaminé par l'acétate de plomb et co-traité par *A. malaccensis* et *A. longa* pendant le dernier 15 jours.

L'acétate de plomb a été solubilisé dans l'eau de boisson à raison de 100 mg/Kg de poids corporel durant 75 jours. Le traitement par les plantes a été fait à raison de 1% du régime alimentaire.

1.2.3. 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 la FNS et des tubes secs 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, créatinine, calcémie, protide, phosphatase alcalin, TGO, TGP).

Le foie, reins, cœur, cerveau et l'os sont soigneusement prélevés, rincés avec NaCl, ensuite pesés.

Les homogénats des organes sont préparés pour le dosage des paramètres du stress oxydatif (Malondialdéhyde, catalase, glutathion, glutathion S-transférase) et le dosage de transaminase tissulaire (cœur et foie). Une partie des reins est fixée dans le formol (10%) afin de réaliser l'étude histologique.

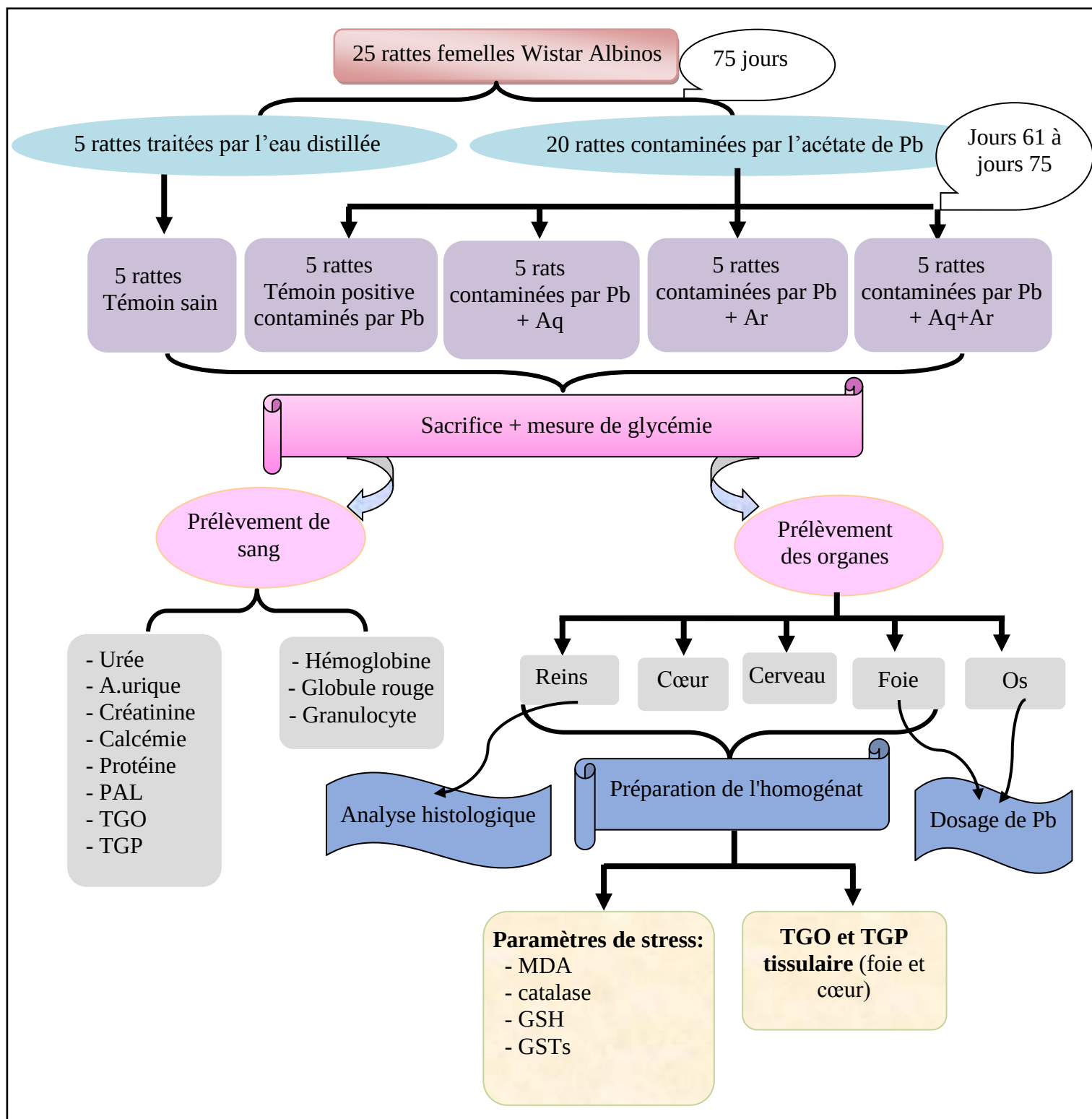


Figure 10: Schéma récapitulatif du protocole expérimental de l'étude.

1.3. 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 (Na_2CO_3), acide gallique, Tris, chlorure de sodium (NaCl), ammoniac, nitrate de plomb ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$), acide salicylique, bleu de Coomassie, sérum bovin albumine (BSA), acide trichloroacétique (TCA), acide thiobarbiturique (TBA), Butylhydroxytoluène (BHT), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), tampon phosphate (KH_2PO_4), acide salicylique, 5,5'-dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB), GSH, 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB).

Kit de réactif de l'urée, Kit de réactif de créatinine, Kit de réactif l'acide urique, Kit de réactif de protide, Kit de réactif de calcium, Kit de réactif de l'aspartate aminotransférase, Kit de réactif de l'alanine aminotransférase sont achetés du SPINREACT (Espagne).

1.4. Matériel de laboratoire

- Évaporateur rotatif de type Büchi Rotavapor R-200.
- Centrifugeuse horizontale de type SIGMA.
- Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS -1240.
- Glycomètre de type Contour Ts.
- Bain-marie de type MEMMERT.
- Étuve de type MEMMERT.
- Balance électrique de type KERN EMB 2200-O.
- Balance analytique de type KERN ABJ/ABS.
- Agitateurs magnétiques à plaque chauffante.
- Analyseur clinique automatisé de type BIOLIS 24I.
- Analyseurs d'hématologie de type Medonic.
- Four à moufle de type Nabertherm.
- Microscope optique de type OPTIKA lié à un appareil photo.
- Micropipette.
- Hown.
- Verreries (bucher, erlenmeyer, éprouvette, tubes à essai, Pipette graduée...).

2. Méthodes

2.1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux

10 g de la plante sèche que ce soit *A. malaccensis* ou *A. longa* avec 100 ml d'eau distillée ont été bouillit à feu doux pendant 2h. Après macérés à température ambiante pendant 24h, puis filtrés, les filtrats ont ensuite été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif (Majhenic *et al.*, 2007).

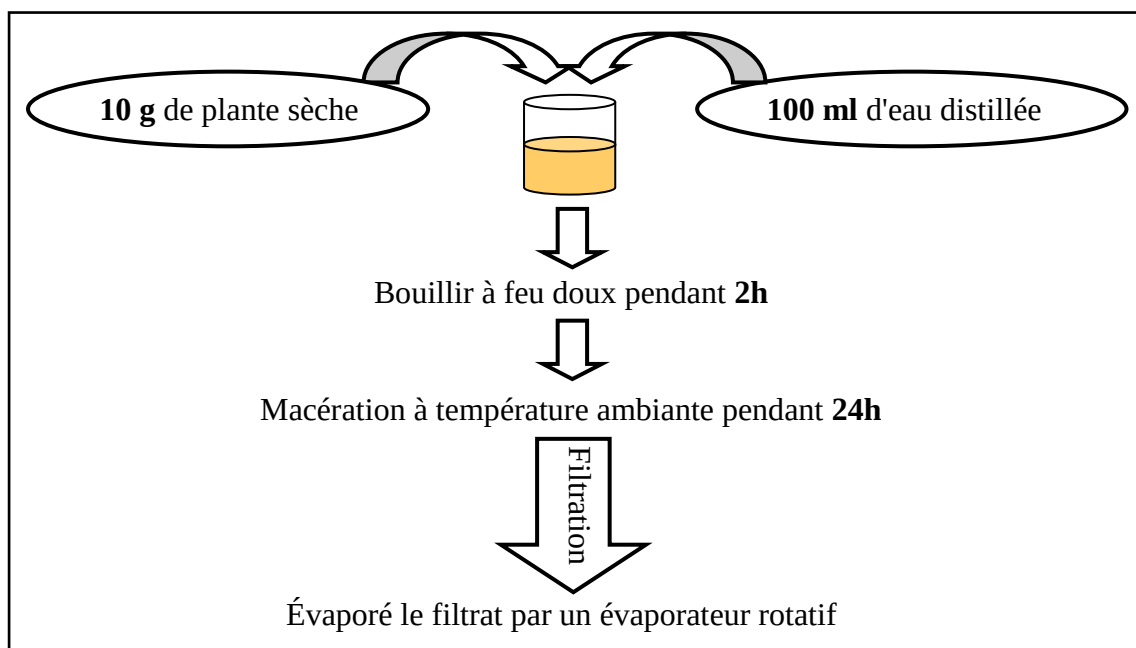


Figure 11: Protocole de préparation de l'extrait aqueux des plantes.

2.2. 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 FeCl_3 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 H_2SO_4 . 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 terpénoides.

2.3. Méthode de dosage des polyphénols totaux

L'analyse quantitative des phénols totaux des extraits phénoliques a été réalisée par le protocole de Li *et al.*,(2007). 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 - 200 $\mu\text{g/ml}$), 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.

2.4. Dosage des paramètres hématologiques

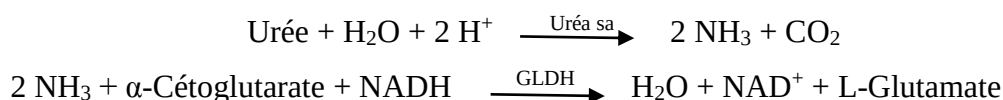
Les paramètres hématologiques (hémoglobine, globules rouges, Granulocyte,) sont déterminés par la méthode de Coulter en utilisant l'autoanalyseur d'hématologies de type Medonic spécifique de l'FNS (formule de numération sanguine).

2.5. Dosage des paramètres biochimiques sériques

2.5.1. Dosage l'urée sérique

♦ Principe

Dans notre étude, l'urée sérique a été déterminée suivant une méthode colorimétrique par un Autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de l'urée sérique (Kaplan., 1984). L'uréase catalyse l'hémolysé de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH_3) et en anhydride carbonique (CO_2). L'ammoniac formé est incorporé à l' α -cétoglutarate par l'action du glutamate déshydrogénase (GLDH) avec oxydation parallèle de la NADH à la NAD^+ :



La diminution de la concentration de NAD^+ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé. L'absorption est mesurée à 340 nm.

2.5.2. Dosage de la créatinine sérique

♦ Principe

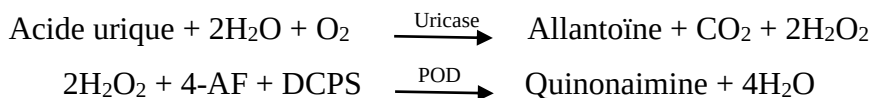
Dans notre étude, la créatinine a été déterminée suivant une méthode cinétique par un Autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de créatinine sérique. Le test de la créatinine est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate sodium décrit par Jaffé. La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe de couleur rouge. L'intervalle de temps choisi pour les lectures permet d'éliminer une grande partie des interférences connue pour la méthode. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé. L'absorption est mesurée à 490 nm (Murray *et al.*, 1984c).

2.5.3. Dosage de l'acide urique sérique

♦ Principe

Dans notre étude, l'urée sérique a été déterminée suivant une méthode enzymatique colorimétrique par un Autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de

l'acide urique sérique (Schultz., 1984). L'acide urique est oxydé par l'uricase à l'allantoïne et le peroxyde d'hydrogène ($2H_2O_2$) qui, en présence de la peroxydase (POD), 4-aminophénazone (4-AF) et du 2-4 Diclorophénol sulphonate (DCPS) forme un composé rosacé:



L'intensité de quinonaimine rouge formée est proportionnelle à la concentration d'acide urique présente dans l'échantillon testé, l'absorption est mesurée à 520 nm.

2.5.4. Dosage du protide sérique

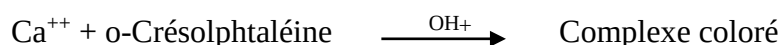
♦ Principe

Dans notre étude, le protide a été déterminé suivant une méthode colorimétrique par un Autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de protide sérique (Koller., 1984). En milieu alcalin, les protéines donnent une couleur violette/bleue en présence de sels de cuivre; ces sels contiennent du iode qui agit comme un antioxydant. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon testé, l'absorption est mesurée à 540 nm.

2.5.5. Dosage de la calcémie sérique

♦ Principe

Dans notre étude, le calcium a été déterminée suivant une méthode colorimétrique par un Autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de calcium (Farell., 1984). La mesure du calcium est fondée sur la formation d'un complexe coloré entre le calcium de l'échantillon et l'o-crésolphtaléine, en milieu alcalin :



L'intensité de la couleur formée est directement proportionnelle à la concentration de calcium présente dans l'échantillon testé, l'absorption est mesurée à 570 nm.

2.5.6. Dosage de l'activité des transaminases sériques et tissulaires (foie et cœur)

2.5.6.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

♦ Principe

Dans notre étude, l'Aspartate aminotransférase ont été déterminés suivant une méthode cinétique par un autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de l'Aspartate

aminotransférase (Murray., 1984 b). L'Aspartate aminotransférase (ASAT) initialement appelée glutamate oxalo acétate-transaminase (GOT) catalyse le transfert d'un groupe aminé d'aspartate vers l' α -cétoglutarate pour donner du glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au Malate par Malate déshydrogénase (MDH):

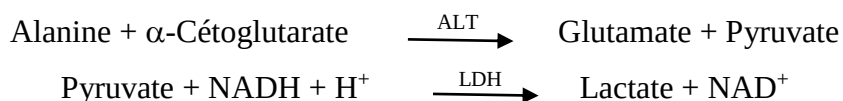


Le taux de diminution de NADH, mesurée photométriquement. Elle est proportionnelle avec la concentration de ASAT catalysée dans l'échantillon, l'absorption est mesurée à 340 nm. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=340$ nm.

2.5.6.2. Dosage d'Alanine amino transférase (ALAT)

♦ Principe

Dans notre étude, l'Alanine amino transférase a été déterminée suivant une méthode cinétique par un Autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de l'Alanine amino transférase sérique (Murray., 1984). L'alanine amino transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé d'alanine vers l' α -cétoglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et NADH:

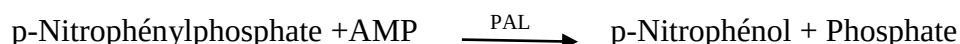


La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon, l'absorption est mesurée à 340 nm.

2.5.7. Dosage de l'activité des phosphatases alcalines

♦ Principe

Dans notre étude, la phosphatase alcaline a été déterminée suivant une méthode cinétique par un Autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de phosphatase alcaline (Wenger., 1984). La phosphatase alcaline (PAL) catalyse le transfert du groupe phosphate depuis le p-nitrophénylphosphate (pNPP) vers le 2-amino-méthyle-1-propanol en libérant du p-nitrophénol et du phosphate, selon la réaction suivante:



La vitesse de formation du p-Nitrophénol, déterminé de manière photométrique est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé.

2.6. Dosage des paramètres de stress oxydatif

2.6.1. Préparation de l'homogénats des organes

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

2.6.2. Dosage des protéines tissulaire

◆ Principe

Le dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976) permet de déterminer des concentrations tissulaires de protéines. C'est une méthode colorimétrique, qui utilise le bleu de Coomassie comme réactif qui s'associe au groupement amine (-NH₂) des résidus protéiques pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines). L'absorption est mesurée à 595nm.

2.6.3. 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 acide trichloroacétique (TCA); 375 mg de acide thiobarbiturique (TBA); 0,01g de Butylhydroxytoluène (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 $\mu\text{mol/l}$.

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

2.6.4. Dosage de l'activité enzymatique du catalase**♦ Principe**

L'activité de catalase consiste à mesurer la disparition de H_2O_2 induite par la catalase contenue dans l'échantillon en mesurant l'absorbance de H_2O_2 à 560nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible.

♦ Mode opératoire

Dans des tubes à essais en mélanger 1ml de tampon phosphate (KH_2PO_4 , 0.1 M, pH 7.2), 0.975 ml de H_2O_2 fraîchement préparé (0.091 M) et de 0.025 ml de la source d'enzyme (homogénat). L'absorbance est lue à 560nm chaque minute pendant 2 minutes (Aebi, 1984).

♦ Expression des résultats

L'activité enzymatique est calculée en termes d'unité internationale par minute et par gramme de protéine (UI/min/g de protéine), selon la formule:

$$\text{UI/g} = (2.3033/T) \times (\log A_1/A_2) / \text{g de protéine.}$$

A1 : Absorbance à la première minute.

A2 : Absorbance à la deuxième minute.

T : Intervalle de temps en minute.

2.6.5. 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 surnagent, ajouter le 1ml de solution tampon tris avec NaCl solution 1 avec 0.025ml de DTNB (0.01mol) méthanol solution 3. Laisser le mélange 5min de température de chambre puis lire l'absorbance avec spectrophotomètre d'absorption moléculaire à 412 nm contre le blanc (eau distillé).

♦ Expression des résultats

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

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

GSH: concentration de glutathion.

DO: la lecture d'absorbance par le spectrophotomètre.

1: volume de mélange de protéine.

1.525ml: volume total de mélange.

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

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

0.5ml: volume de solution surnagent.

d: facteur de dilution.

2.6.6. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase (GSTs)

♦ Principe

L'activité de la GSTs a été mesurée par spectrophotometrie 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 + CDNB) 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
Homogénat	-	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.

2.7. Technique histologique

L'analyse histologique a été réalisée à clinique privé de Gafsa, tunisie. La technique utilisée est celle décrite par (Houlot ,1984) qui comporte les étapes suivantes:

2.7.1. Fixation des échantillons

Après sacrifice des ratte les reins est immédiatement introduite pendant 12 heures dans le formol à 10% permettant l'immobilisation et la fixation des structures et constituants cellulaires puis mise de ces échantillons tissulaires dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage du Bouin alcoolique (26ml Formol, 7ml Acide acétique, 45ml Acide picrique 1% dans l'éthanol à 95% et 22ml eau distillée) et sont coupés à l'aide de couteaux tranchant à fin de réaliser des prélèvements pour l'étude histologique avec une surface de 1 à 2 cm² et une épaisseur de 1.5 mm.

2.7.2. Déshydratation

Les échantillons sont ensuite déshydratés à l'aide d'un appareil automatique pendant 12 heures au minimum pour éliminer l'eau des tissus et cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 80%, 90% et 100%). La déshydratation peut être accélérée par l'agitation rapide grâce à des automates spéciaux.

2.7.3. Inclusion

Les tissus sont alors plongés dans des bains de paraffine liquide (sous l'effet de la chaleur). Les tissus étant maintenus et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. Cette opération fait appel à des appareils « dits à inclusion »

2.7.4. Confection des coupes histologiques

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés avant de subir des coupes au microtome de 4 à 5 µm. Les rubans de paraffine obtenus sont étalés sur des lames porte-objet, puis dépliés et fixés par une eau gélative chauffée à 40 °C. Les lames sont ensuite séchées dans une étuve à 100 °C pendant 1 heure.

2.7.5. Coloration

Pour la coloration, on a utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine (ou Hématoéine Eosine) qui nécessite la présence de l'alcool acide (100ml d'alcool éthylique à 70% + 50ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100ml d'eau distillée + 2ml d'ammoniaque) et solution d'Eosine (100ml Eosine solution aqueuse à 3%, 125ml alcool éthylique à 95%, 375ml eau distillée et 2 gouttes d'acide acétiques) selon les étapes suivantes :

- Déparaffiner par l'utilisation de réactif le toluène. Les coupes sont passées dans 4 bains de toluène pendant 5 à 10 min chacun. Le toluène du dernier bain doit être pur.
- Hydrater les lames pour retirer le toluène du tissu et le remplacer par l'eau. Les pièces sont passées dans l'éthanol l'un à 96° et l'autre à 70° d'une durée de 3 à 5 min chacun puis sont enfin lavées à l'eau courante pendant 5 min environ avant coloration.
- Coloration au hématoxyline-éosine (15 minutes) pour mettre en évidence les éléments cellulaires et tissulaires, le noyau apparaît coloré en bleu, le cytoplasme et le tissu conjonctif extracellulaire en rose.
- Les lames sont mises dans l'Hémalun acide de Mayer pendant 6 min, rincer à l'eau. Puis dans l

HCL 0.5% en faisant plonger les lames 2 fois et dans lithinée 2 min avant de rincer, les faire passer dans l'éosine pendant 5 min, puis rincé 3 fois pendant 5 min.

- Déshydrater les lames colorées successivement pendant quelques secondes dans l'alcool à 70°, l'alcool à 96° et enfin dans deux bains d'alcool absolu, le premier pendant quelques secondes et le second pendant 5 min, toluène 5 min.
- Le montage et l'opération qui consiste à fixer, à l'aide d'une goutte de l'Eukitt, une lamelle de verre sur l'échantillon histologique, qui permette l'adhérence entre la lame et la lamelle. Une légère pression sur la lamelle permet de chasser les bulles d'air. Après montage, les lames sont séchées sur papier absorbant, nettoyées au toluène puis observées par un microscope optique.

Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau du robinet. Les préparations ont ensuite été séchées puis observées au microscope optique lié à appareil photo.

8. Méthode d'analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne $\pm$ écartype moyen. L'analyse des données a été effectuée par application du **test T de Student**, qui est basé sur la comparaison entre deux moyennes, en utilisant le logiciel MINITAB (Version 13Fr) et EXCEL (Version 2013) qui nous aide pour faire les tests et les courbes.

CHAPITRE II

RÉSULTATS

1. Étude phytochimique et dosage de polyphénols

Tableau 3: Tests phytochimiques de l'extrait aqueux d'*A. malaccensis* et *A. longa*.

Composés	Réactifs	<i>A. malaccensis</i>	<i>A. longa</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 4: Contenu en polyphénols de l'extrait aqueux d'*A. malaccensis* et *A. longa*.

Polyphénols mg EAG g ⁻¹	Moyenne ± S.E.M
<i>A. malaccensis</i> (mg d'EAG/g d'extrait sec)	11.767±0.05
<i>A. longa</i> (mg d'EAG/g d'extrait sec)	4.223±0.207

2. Effet de traitement par *A. longa* et *A. malaccensis* sur la croissance corporelle, le poids relative des organes

✓ Étude de la croissance corporelle et le poids relatif des organes

Tableau 5: Poids initiale, Gain du poids et poids relative des organes chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

Paramètres		T	P	P +Aq	P +Ar	P +Aq+Ar
Poids initial (g)		235±5.06	225.2±5.69	216.60±23.71	221±8.76	225.2±3.51
Gain du poids (g/j/rat)		4.4±3.07	-1.8±2.32*	-2.0±5.00*	-0.40±1.15**	0.4±1.61*
Poids relative (%)	Foie	2.519±0.057	3.206±0.246*	2.578±0.056 ^c	2.529±0.046 ^c	2.491±0.023 ^c
	Reins	0.568±0.014	0.730±0.048**	0.653±0.027* ^a	0.669±0.012*** ^b	0.592±0.012 ^c
	Cœur	0.367±0.007	0.339±0.024 ^{NS}	0.311±0.007*** ^b	0.318±0.024 ^{NS}	0.437±0.015*** ^c

Moy ± S.E.M. de 05 rattes de chaque group.

* p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.

^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001 comparaison avec le lot plomb.

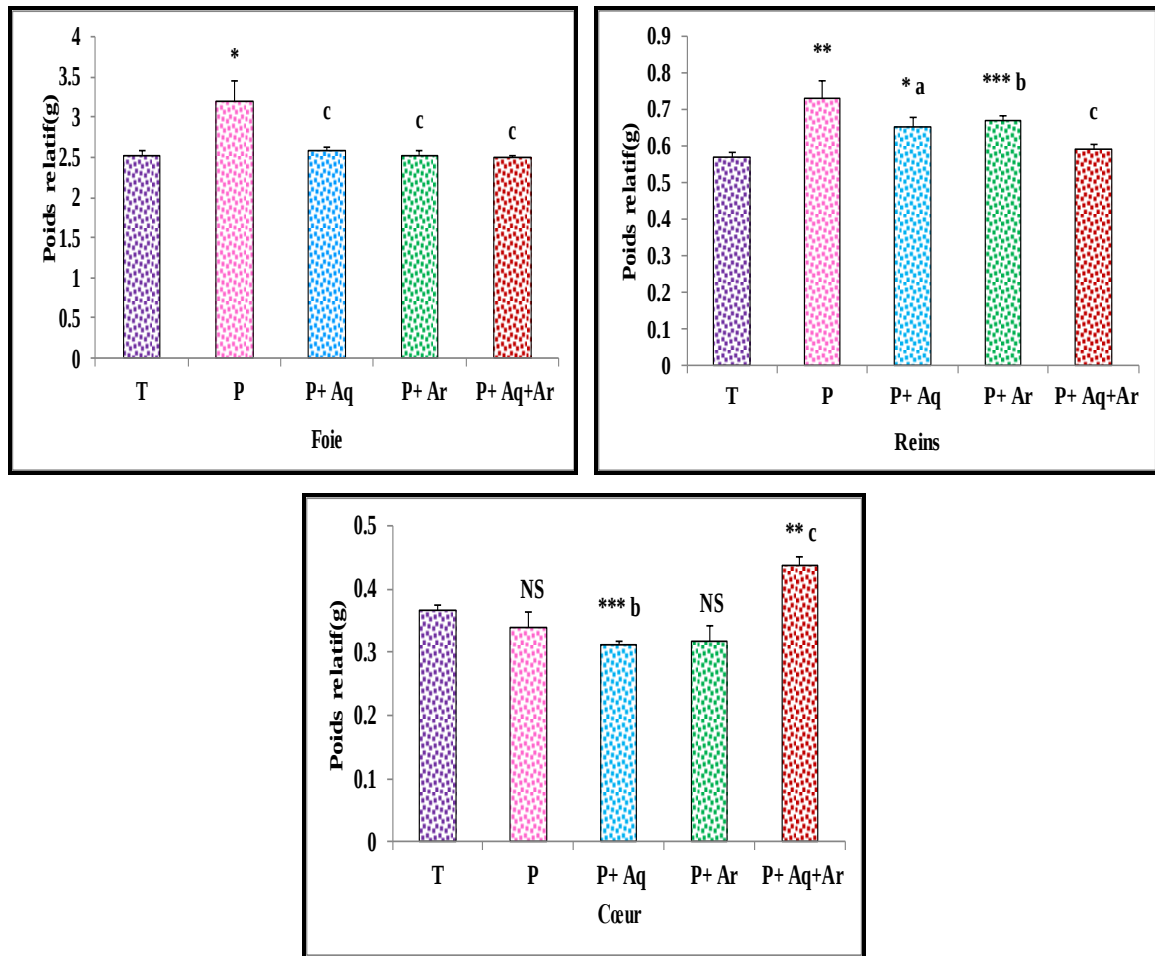


Figure 12: Variation du Poids relatif de foie, reins et cœur chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours. Comparaison avec groupe témoin (T): * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, avec groupe traités par Pb (P): a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$, n= 5 rats.

3. Effet de traitement par *A. longa* et *A. malaccensis* sur des paramètres hématologiques, biochimiques et enzymatique chez les rats contaminées par le plomb

✓ Étude des paramètres hématologiques

Tableau 6: Taux d'hémoglobine, nombre des globules rouges et des granulocytes chez les groupes témoins et les groupes expérimentaux pendant 15 jours.

Paramètres	T	P	P+Aq	P+Ar	P+Aq+Ar
Hémoglobine (g/dl)	13.0±0.141	11.35±0.184***	11.825 ±0.165*** b	11.80±0.168*** b	11.375±0.225***
Globules rouges ($10^{12}/l$)	7.362±0.042	6.87±0.02***	7.362±0.047 ^c	7.458±0.12 ^c	7.173±0.14 ^a
Granulocytes ($10^9/l$)	0.825±0.094	0.80±0***	1.375±0.126*** b	0.975±0.0726 ^a	0.725 ±0.031 ^{* a}

Moy ± S.E.M. de 05 rattes de chaque group.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin

^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001 comparaison avec le lot plomb

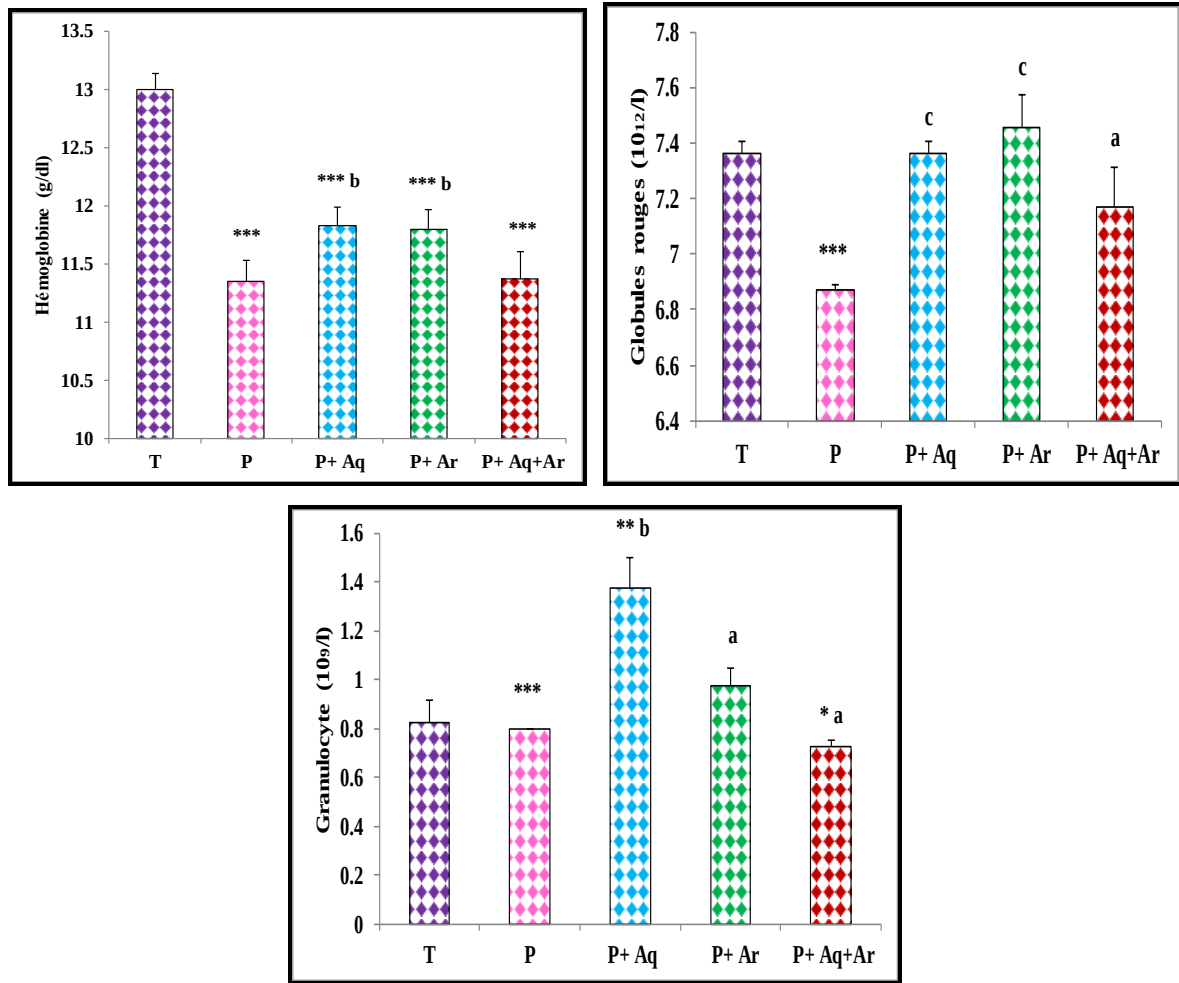


Figure 13: Variation du taux d'hémoglobine , nombre des globules rouges et granulocytes chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours. Comparaison avec groupe témoin: * p< 0.05 ; ** p< 0.01; *** p< 0.001, avec groupe pb : a p<0.05; b p < 0.01; c p< 0.001, n= 5 rats.

✓ Étude des paramètres biochimiques

Tableau 7: Teneurs sériques en glucose, urée, créatinine, acide urique, protide, calcémie chez les groupes témoins et les groupes expérimentaux pendant 15 jours.

Paramètres	T	P	P+Aq	P+Ar	P+Aq+Ar
Glycémie (g/l)	0.752±0.051	0.905±0.107*	0.805±0.053 ^b	0.805±0.067 ^a	0.775±0.027 ^c
Urée (g/l)	0.64±0.067	0.81±0.085*	0.60±0.037 ^c	0.67±0.030 ^c	0.67±0.033 ^b
Créatinine (mg/l)	4.40±0.40	4.55±0.320 ^{NS}	4.40±0.245 ^{NS}	3.80±0.200* ^a	4.00±0.00 ^{NS}
Acide urique (mg/l)	17.60±1.94	18±2.00 ^{NS}	18.8±1.32 ^{NS}	17.6±1.60 ^{NS}	18.6±1.36 ^{NS}
Protide (g/l)	50.6±1.40	48.33±1.76 ^{NS}	47.60±2.60 ^{NS}	48.2±1.12 ^{NS}	47.4±1.53 ^{NS}

Calcémie (mg/l)	122.5±0.95	105.67±0.44***	105±0.97***	105.6±0.62***	106.2±0.61***
------------------------	------------	----------------	-------------	---------------	---------------

Moy ± S.E.M. de 05 rattes de chaque group.

* p < 0.05 ; ** p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.

^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001 comparaison avec le lot plomb.

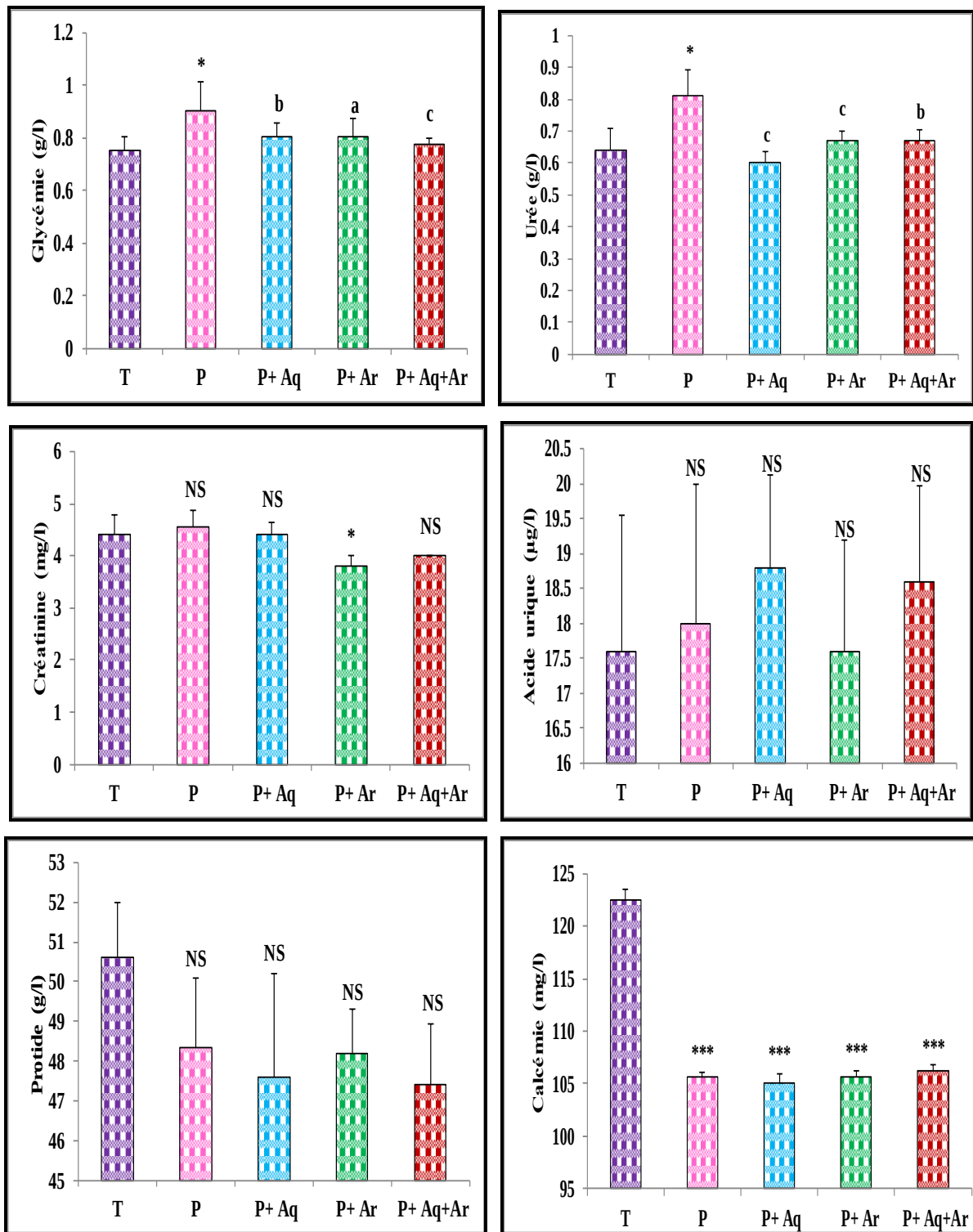


Figure 14: Variation de la concentration sérique de glucose, l'urée, créatinine, acide urique, protides et calcium chez le groupes témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours.

Comparaison avec groupe témoin: * p < 0.05, Comparaison avec groupe exposé au pb: a p < 0.05; b p < 0.01; c

p < 0.001, n = 10 rattes.

- ✓ Étude des enzymes sériques
- ✓ Étude des enzymes tissulaires

Tableau 8: Activité du TGO, TGP, PAL sérique et tissulaire chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours.

Paramètre (U/l)	T	P	P+Aq	P+Ar	P+Aq+Ar
TGO sérique	205.8±10.3	218.7±20.7	211.67±4.16	208.0±4.62	220.0±8.08
TGP sérique	89.5±4.33	90.5±7.79	80.50±7.08	86.25±5.73	86.67±7.8
PAL sérique	40.16±6.07	74.1±4.25**	58.48±9.35 ^{NS}	76.6±14.9 ^{NS}	76.93±4.23**
TGO hépatique	55.8±2.90	40.75±6.37*	42.40±5.88*	83.40±9.22* ^b	75.6 ±10.5 ^b
TGO myocardique	37.8±4.96	8.80±1.06***	17.8±0.929*** ^c	21.60±2.05 *** ^c	20.40±1.71*** ^c
TGP hépatique	1140.2±30.74	890.52±40.79**	1120.9±190 ^{NS}	139.0±100.9 ^b	2280.2±350.8* ^b

Moy ± S.E.M. de 05 rattes de chaque group.

* p < 0.05 ; ** p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin

^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001 comparaison avec le lot plomb

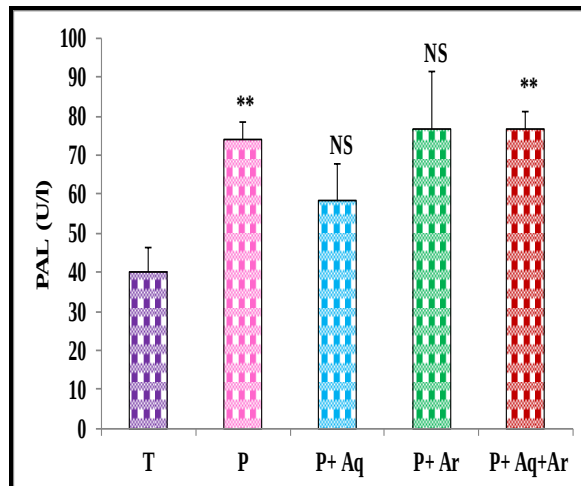
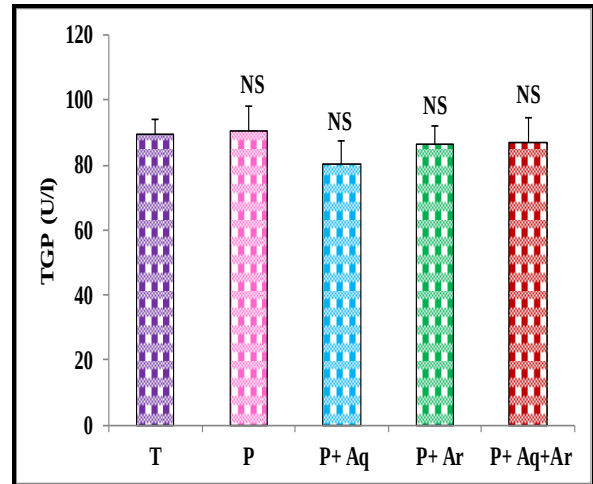
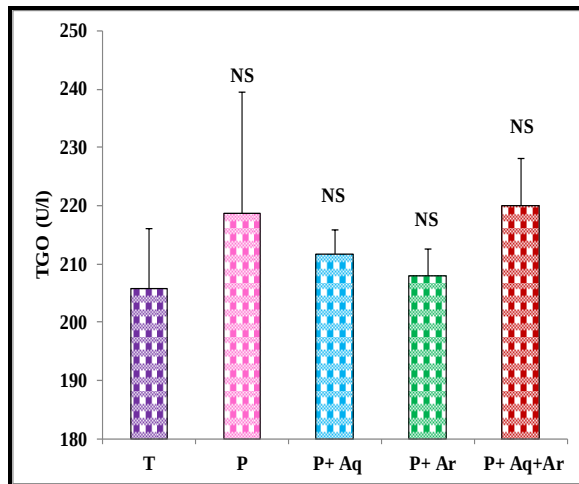


Figure 15: Variation de l'activité sérique de TGO, TGP et PAL chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours. Comparaison avec groupe témoin: ** p<0.01).

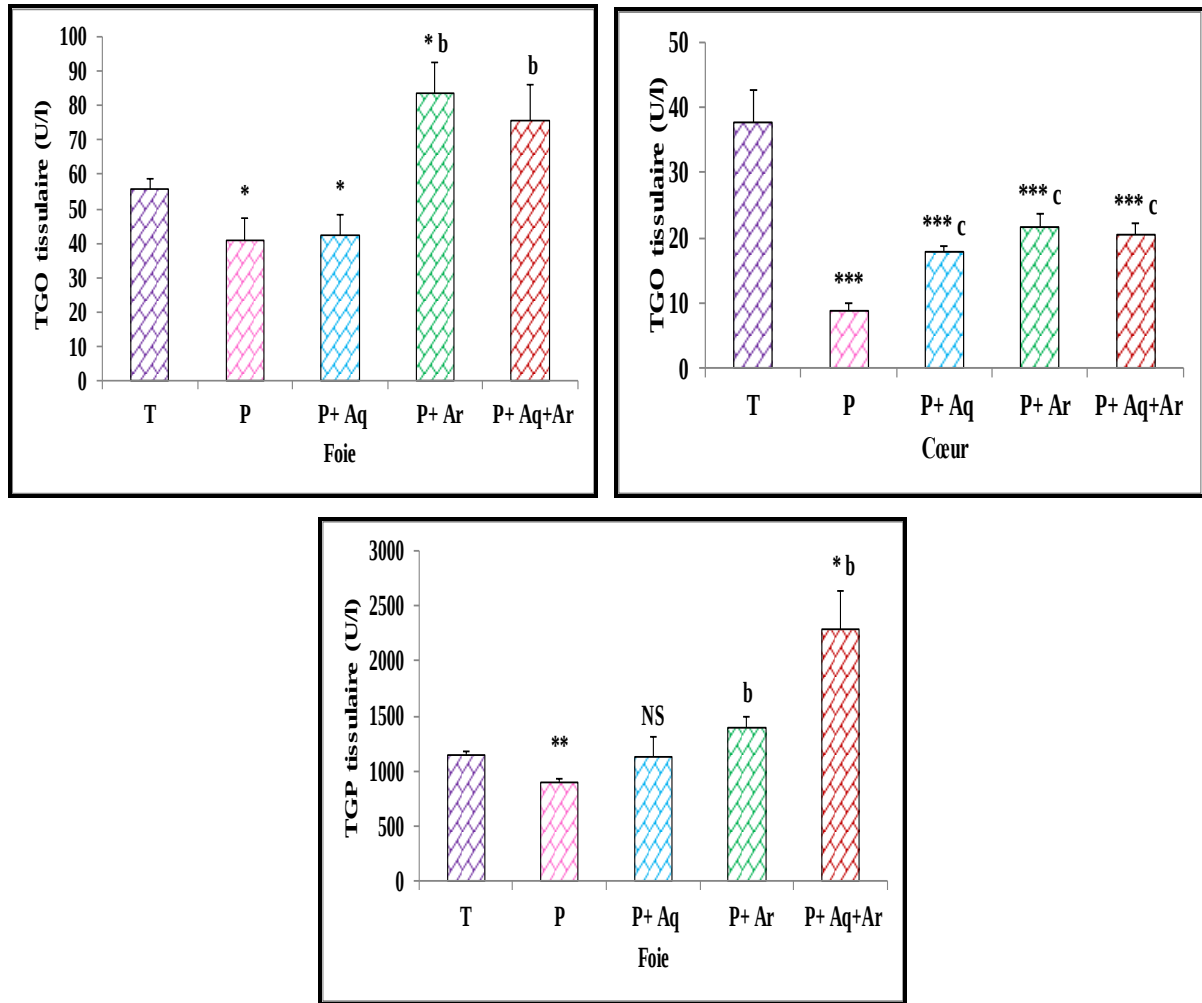


Figure 16: Activité hépatique et myocardique de TGO et TGP chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours. Comparaison avec groupe témoin: ** p < 0.01. Comparaison avec groupe Pb: ^b p < 0.01; ^c p < 0.001

4. Effet de traitement par *A. longa* et *A. malaccensis* sur des paramètres de stress oxydant chez les rattes contaminées par le plomb

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

Tableau 9: Concentrations tissulaires de Malondialdéhyde (MDA) et glutathion réduit (GSH) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours.

Paramètres		T	P	P+Aq	P+Ar	P+Aq+Ar
MDA ($\mu\text{mol/mg}$ prot)	Foie	1.837 $\pm$ 0.372	2.263 $\pm$ 0.398 ^{NS}	1.306 $\pm$ 0.416 ^{NS a}	1.662 $\pm$ 0.258 ^{NS a}	1.115 $\pm$ 0.232 ^{NS c}
	Reins	3.159 $\pm$ 0.410	4.377 $\pm$ 0.465**	2.128 $\pm$ 0.319** ^c	2.111 $\pm$ 0.137*** ^c	1.717 $\pm$ 0.097*** ^c
	Cœur	4.071 $\pm$ 0.712	4.673 $\pm$ 0.478 ^{NS}	1.436 $\pm$ 0.181*** ^c	4.450 $\pm$ 1.07 ^{NS}	2.353 $\pm$ 0.199*** ^c
	Cerveau	0.253 $\pm$ 0.046	0.384 $\pm$ 0.040*	0.3124 $\pm$ 0.080 ^{NS}	0.314 $\pm$ 0.070 ^{NS}	1.012 $\pm$ 0.152** ^b

GSH (nM/mg prot)	Foie	0.220±0.017	0.098±0.006 ^{***}	0.190±0.021 ^b	0.305±0.029 ^{*c}	0.238±0.037 ^{NS b}
	Reins	0.485±0.097	0.248±0.017 ^{***}	0.212±0.029 ^{***}	0.384±0.040 ^{*b}	0.227±0.009 ^{***}
	Cœur	0.1856±0.007	0.117±0.010 ^{***}	0.152±0.006 ^{**b}	0.170±0.006 ^{NS c}	0.153±0.004 ^{***c}
	Cerveau	0.105±0.010	0.087±0.005 ^{**}	0.091±0.008 [*]	0.110±0.007 ^{NS b}	0.089±0.003 ^{***}

Moy ± S.E.M. de 05 rattes de chaque group.

* p < 0.05 ; ** p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.

^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001 comparaison avec le lot plomb.

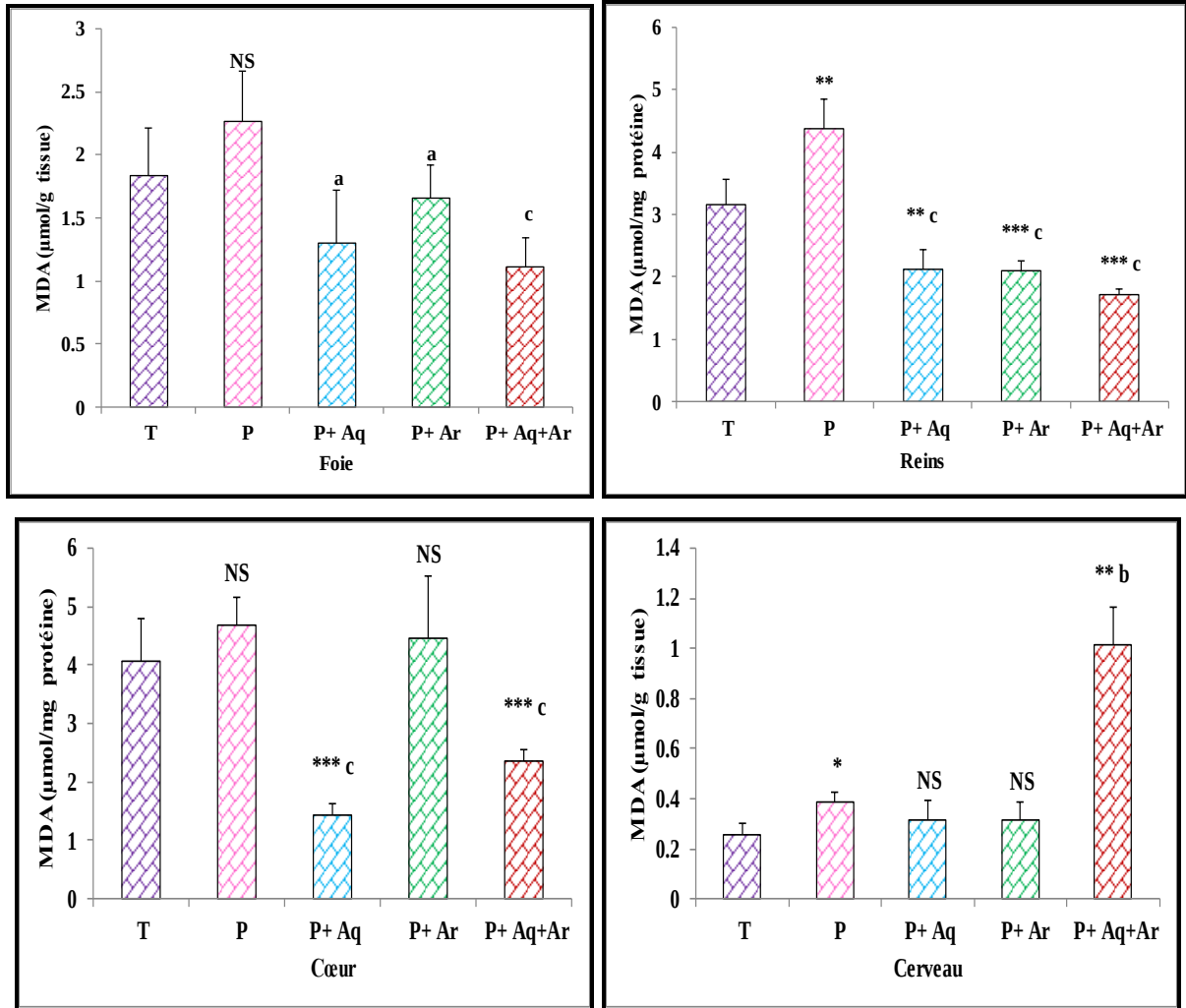


Figure 17: Variation de la peroxydation lipidique au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours. Comparaison avec groupe témoin: * p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001, comparaison avec groupe pb: a p < 0.05; b p < 0.01; c p < 0.001, n= 5 rats.

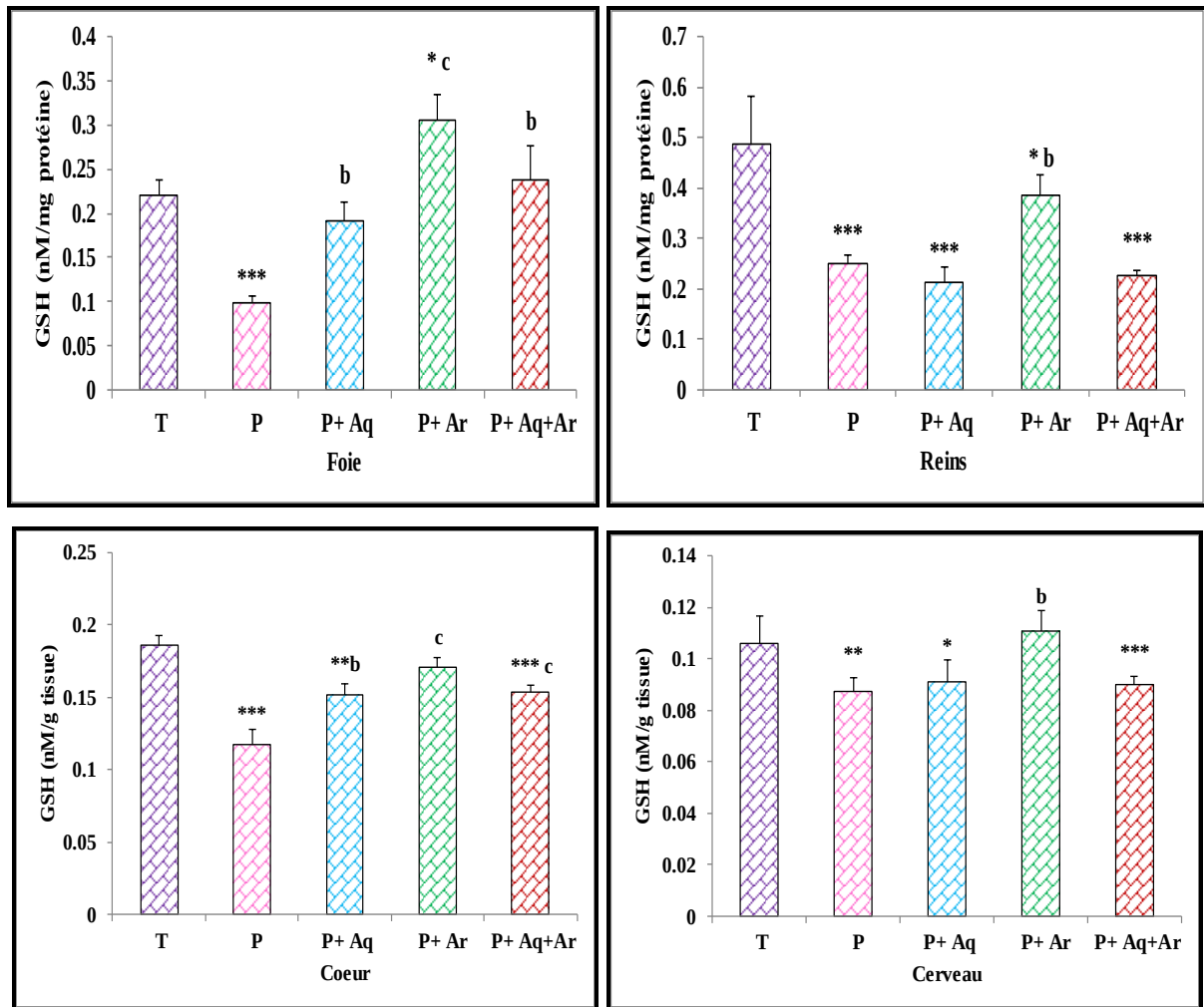


Figure 18: Variation de la Concentrations tissulaires de glutathion (GSH) chez le groupe témoins et les groupes expérimentaux pendant 15 jours. Comparaison avec groupe témoin: * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001, Comparaison avec groupe témoin pb: ^b p < 0.01; ^c p < 0.001, n= 5 ratte.

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

Tableau 10: Activité de catalase et glutathion S Transférase (GST) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours.

Paramètres		T	P	P+Aq	P+Ar	P+Aq+Ar
Catalase (UI/mg prot)	Foie	140.3±36.9	176.51±4.93**	123.3±40.7 ^{NS}	68.24±4.37*** c	113.1±22.7 ^{NS} a
	Reins	86.1±8.25	187.5±22.7**	142.19±8.88*** b	117.88±7.71** c	115.1±18 ^{NS} b
	Cœur	36.51 ±1.07	79.4± 10.9***	66.9± 29.1 ^{NS}	40.84± 2.99 ^{NS} c	42.48± 3.43* c
	Cerveau	54.5±2.12	73.82±2.78***	58.11±2.49 ^{NS} c	57.02± 6.15 ^{NS} a	73.23±5.87*
GST (nmol/ min/mg prot)	Foie	14.3±1.28	6.27±0.57***	9.21±1.67*	13.03±1.96 ^{NS} b	10.84±0.87** b
	Reins	3.75±0.78	2.48±0.02***	2.44±0.17**	3.01±0.14** a	2.62±0.53 ^{NS}
	Cœur	1.19±0.48	0.27±0.13***	0.46±0.19***	1.10±0.50 ^{NS} a	0.45±0.21**
	Cerveau	2.98±0.43	2.20±0.09***	2.28±0.38 ^{NS}	3.03±0.68 ^{NS}	2.41±0.19*

Moy ± S.E.M. de 05 ratte de chaque group.

* p < 0.05 ; ** p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.

^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$ comparaison avec le lot plomb.

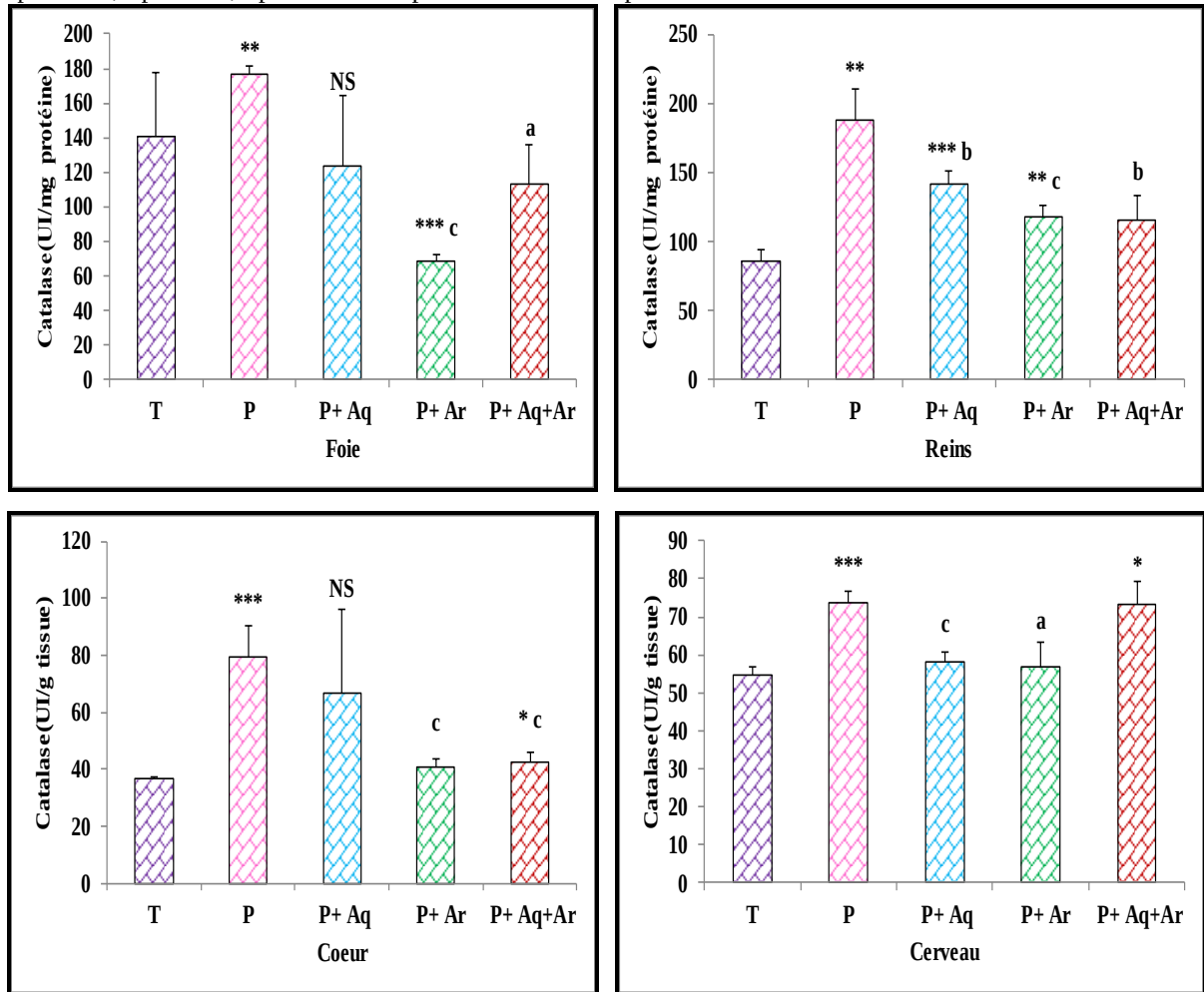
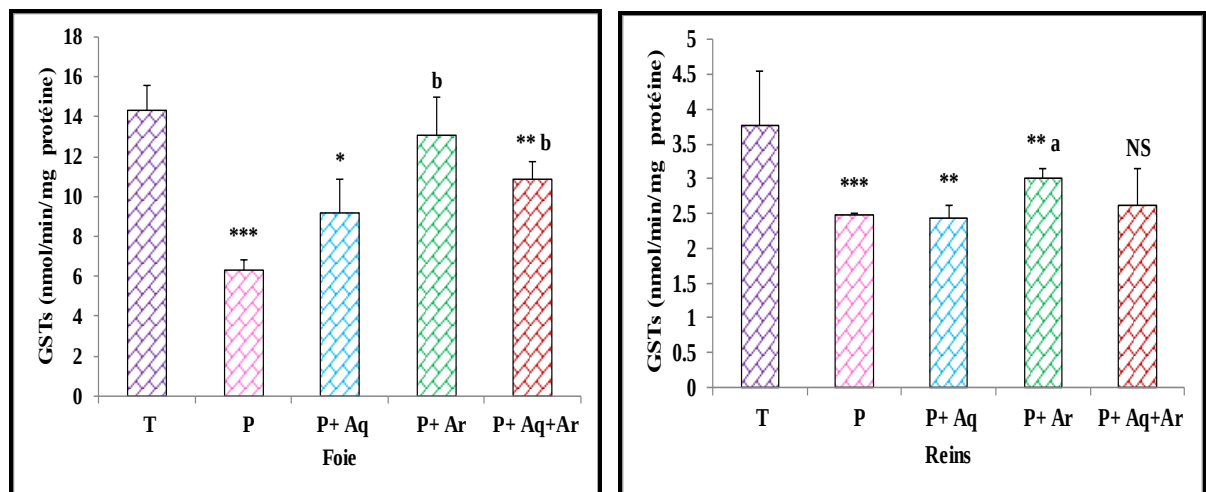


Figure 19: Variation de l'activité de catalase chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours. Comparaison avec groupe témoin: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, Comparaison avec groupe pb: a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$, n= 5 ratte.



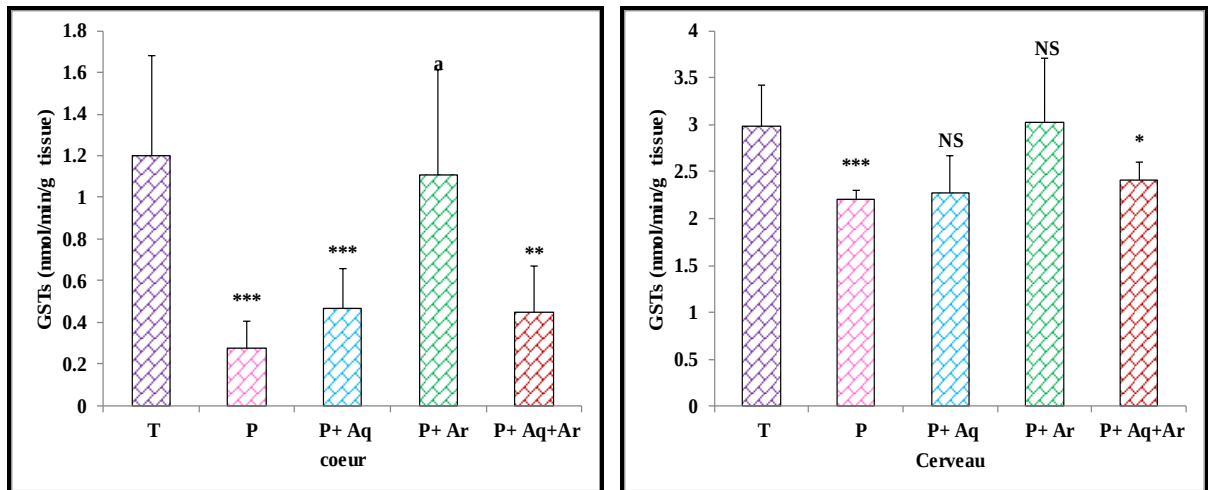


Figure 20: Variation de l'activité tissulaire de glutathion S-transférase (GSTs) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 14 jours. Comparaison avec groupe témoin (T): * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, avec groupe témoin traités par pb (P): a $p < 0.05$; b $p < 0.01$, $n = 5$ ratte.

5. Étude histologique

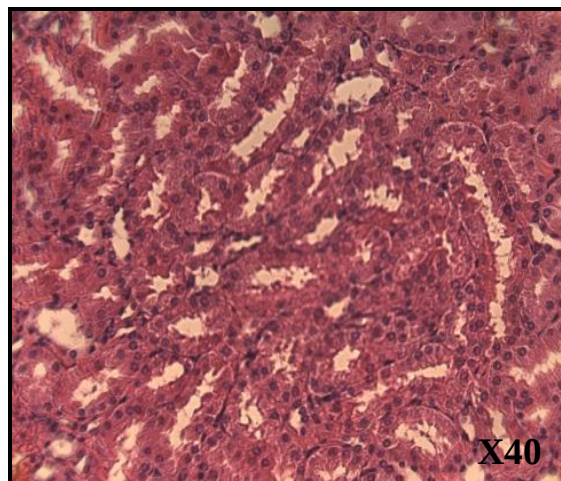


Figure 21: Coupes histologiques du reins d'une ratte témoin. (TN: tubule normale).

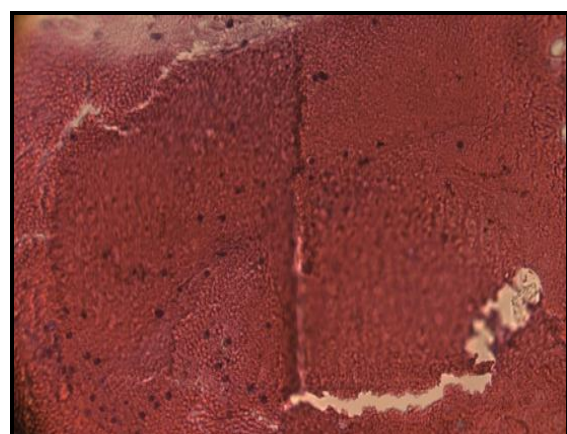
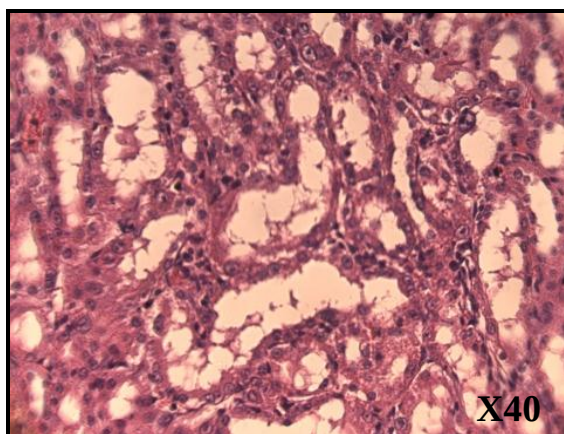


Figure 22: Coupes histologiques du reins d'une ratte contaminée par le plomb pendant 75 jours. (NT: nécrose tubulaire; DT: dilatation tubulaire; H: hémorragie).

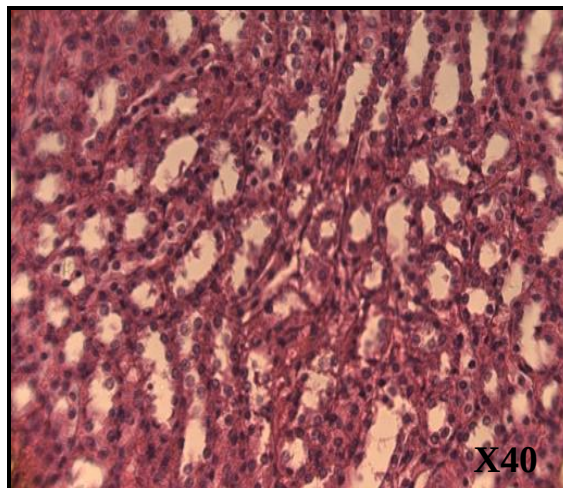


Figure 23: Coupes histologiques du reins d'une ratte traitée par *Aquilaria malaccensis* pendant 15 jours. (TN: tubule normale).

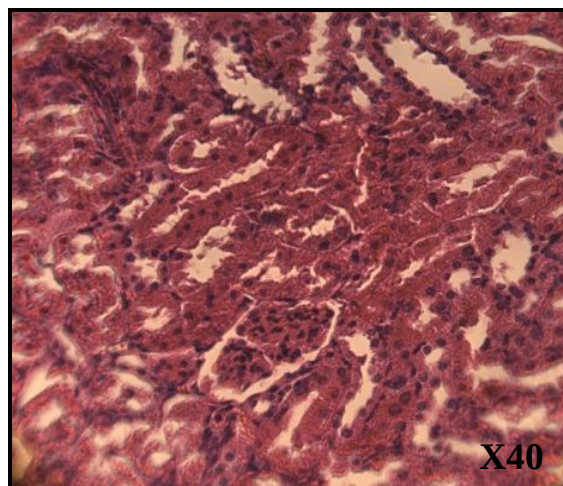


Figure 24: Coupes histologiques du reins d'une ratte traitée par *Aristolochia longa* pendant 15 jours. (TN: tubule normale).

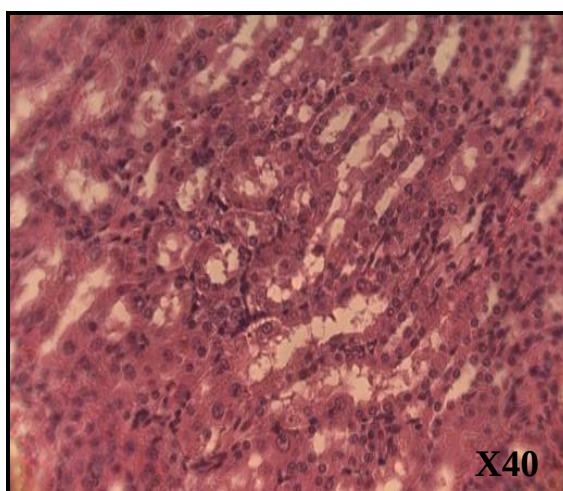


Figure 25: Coupes histologiques du reins d'une ratte co-traitée par *Aquilaria malaccensis* et *Aristolochia longa* pendant 15 jours. (TN: tubule normale).

CHAPITRE III

DISCUSSION

Discussion

A la recherche de nouveaux composés biologiquement actifs, de nouveaux agents chimio-thérapeutiques d'origine végétale, pourraient être utilisées pour améliorer l'anti-cancérogénicité du traitement médicamenteux standard. L'*Aquilaria malaccensis* et l'*Aristolochia longa* sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle Algérienne.

Dans la présente étude nous évaluons les effets d'*A. malaccensis* et d'*A. longa* contre la cytotoxicité et les dommages induits par le plomb.

L'analyse phytochimique des extraits aqueux d'*Aquilaria malaccensis* et d'*Aristolochia longa* a révélé l'existence des plusieurs principes actifs. Les flavonoïdes, les terpénoïdes, les saponines, les alcaloïdes, les sucres réducteurs ont été trouvés dans les extraits de deux plantes, sauf les tanins étaient détectés seulement dans l'*A. malaccensis*. De plus, les teneurs des polyphénols totaux étaient estimés à 11.6 mg/g chez l'*A. malaccensis* et 4.2 mg/g chez l'*A. longa*. Ces composés ont l'intérêt pour la prévention et le traitement de différentes maladies dont les cancers, les maladies inflammatoires, le diabète, l'ostéoporose, les maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives (Keerthi *et al.*, 2014). Les terpénoïdes ont été largement connus pour leurs effets contre des cellules tumorales qui présentent la capacité d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses (Hidayat et Fatmawati, 2016). Les alcaloïdes peuvent être utilisés comme antipaludéens, antalgiques, antispasmodiques, bactéricides et stimulants, ces molécules entraînent très souvent une toxicité aiguë lorsque elles sont présentes en forte concentration (Rujjanawate *et al.*, 2003). Les glycosides et les flavonoïdes peuvent inhiber la croissance tumorale et la protection contre les infections gastro-intestinales. La saponine est des substances caractérisées par leurs propriétés tensioactives et des propriétés de liaison de cholestérol (Khalil, 2013).

L'exposition de l'acétate de plomb à dose (100mg/kg) chez les rats a provoqué une diminution du poids corporel. Ce résultat est en accord avec plusieurs études (Berrahal *et al.*, 2007; Reckziegel *et al.*, 2016) qui ont suggéré que la réduction de la croissance est due à la réduction de la consommation alimentaire par des effets de plomb sur les centres nerveux responsables de la régulation de la satiété et de la faim. L'effet anorexigène exercé par ce métal toxique a été utilisé pour justifier son implication dans la transmission du système nerveux (catécholaminergiques, glutamatergiques et de la sérotonine) (Missoun *et al.*, 2010).

Dans nos conditions expérimentales, l'addition de l'*A. malaccensis* et/ou l'*A. longa* aux rats contaminés par l'acétate de plomb a engendré une diminution de poids corporel par

rapport aux ratte témoins, et aucun différence significatif lors de comparaison aux animaux exposés au Pb. Ceci pourrait être dû à la présence des composés des polyphénols qui agissent comme agent anti-obésité (Keerthi *et al.*, 2014). La culture cellulaire et les études sur l'être humain et sur des animaux suggèrent que la consommation d'aliments contenant certains polyphénols ou leurs suppléments changent le métabolisme énergétique et lipidique ce qui peut faciliter la perte de poids et prévenir le gain de poids (Bahadoran, 2013).

Concernant le poids relatif des organes, nous remarquons une hépatomégalie et une néphromégalie chez les ratte exposées au plomb. Ceci est expliqué par une néphro- et hépatotoxicité causée par l'accumulation de plomb dans ces organes cibles. Cette augmentation de poids relatif des organes peut être due à la nécrose et l'apoptose induit par le plomb sur ces organes (Ibrahim *et al.*, 2011).

En revanche, le traitement par *A. malaccensis* et/ou *A. longa* au groupe exposé de l'acétate de plomb a entraîné une amélioration de poids relatif des organes notamment le foie et les reins. Cette amélioration est due probablement par l'effet inhibiteur de ces plantes contre l'accumulation de plomb dans ces organes ce qui diminue leur effet néfaste sur ces organes et donc diminue leur poids relatifs. Aussi, l'effet protecteur de ces plantes pourrait être dû aux présences des composés anti-inflammatoires comme les flavonoïdes, les acides phénoliques (Keerthi, 2014) et les terpénoides (Miguel, 2010).

A la lumière de nos résultats, la toxicité induite par l'acétate de plomb provoque des modifications importantes des paramètres hématologiques. Globalement, il semble que l'effet de plomb a entraîné une baisse du taux de l'hémoglobine, de nombre globules rouges et des granulocytes. Cela peut signifier une hématotoxicité révéler par une anémie dues à la toxicité des cellules sanguines et la moelle osseuse par le Pb. Ces résultats sont en accord avec les études des (Abdou et Hassan, 2014; Reckziegel *et al.*, 2016) qui ont montré la diminution de taux d'hémoglobine et des nombres des globules rouges après la contamination des ratte par ce métal. Deux mécanismes biochimiques permettent d'expliquer cette anémie saturnine: l'inhibition de la synthèse d'hème, et donc de l'hémoglobine, et la durée de vie raccourcie des érythrocytes. Le plomb interfère avec la synthèse de l'hème en raison de son affinité pour les groupes-SH, principalement en inhibant l'enzyme cytoplasmique, l'acide d-aminolévulinique déshydratase (ALAD) qui catalyse la condensation de deux molécules de l'acide delta-aminolévulinique (ALA) pour donner le porphobilinogène (PBG), et l'enzyme mitochondriale la ferrochélatase (ou hème-synthétase). Cette inhibition entraîne une accumulation de l'ALA

dans le sang et les urines (ALA-U) et des protoporphyrines-zinc dans les hématies (PPZ), peut être à l'origine d'une toxicité cellulaire (Landrigan, 1989). Plus de 99% du plomb présent dans le sang accumule dans les globules rouges (Ahamed et Siddiqui, 2007). Le plomb peut conduire à un effet hémolytique par sa fixation sur la membrane des globules rouges. L'hémolyse peut être expliquée par une peroxydation des lipides de la membrane et l'inhibition de la pompe Na^+/K^+ ATPase membranaire qui entraîne une accumulation de K^+ intracellulaire (Kaminsky *et al.*, 1993).

Les hématies à granulations basophiles (ou hématies immatures) sont des marqueurs important pour confirmer l'effet toxique de plomb (Garnier, 2005), leur diminution peut être expliquée par l'accumulation du plomb dans le tissu hématopoïétique (moelle osseuse), afin de compenser la diminution de l'efficacité de l'érythropoïèse (Naimi *et al.*, 2011). Cette proposition confirmée par les résultats de dosage de plomb osseuse. En outre, peut être due à une déficience dans la production d'érythropoïétine, cette glycoprotéine stimule les cellules progénitrices érythroïdes dans la moelle osseuse pour produire des globules rouges (Emokpae *et al.*, 2010).

Ainsi, les résultats obtenus montrent que le traitement par *A. malaccensis* ou *A. longa* aux rattes intoxiquées par le plomb a induit une augmentation du taux de l'hémoglobine, de nombre globules rouges et des granulocytes. En effet, On a révélé un effet protecteur d'*A. malaccensis* et d'*A. longa* contre l'hématotoxicité, et indique que ces plantes peuvent protéger contre l'anémie saturnine. Ceci corrélée avec leur capacité de chélation de plomb au niveau de tissu hématopoïétique qui est montré dans le résultat de dosage de plomb osseux. *A. malaccensis* et *A. longa* contenant des composés polyphénoliques, qui ont une grande activité antioxydante, qui peut expliquer la diminution de la peroxydation lipidique et de l'hémolyse érythrocytaire.

Pour la glycémie, les résultats obtenus montrent une augmentation significative de la concentration du glucose sérique chez les rattes contaminées par l'acétate de plomb par rapport aux rattes témoins. Ce résultat est en accord avec les travaux d'Ibrahim *et al.* (2011) qui ont montrés que l'exposition du Pb a provoqué une augmentation significative de glucose par rapport au témoin. Les changements observés sous l'effet du plomb sont secondaires aux modifications du métabolisme énergétique direct ou du métabolisme calcique. Le plomb entre en compétition avec les processus métaboliques dépendants du calcium et plus exactement sur l'excrétion d'insuline par plusieurs actions: action inhibitrice

sur les canaux calciques voltage-dépendants, diminution de l'activité de adrényle cyclase (Kaminsky *et al.*, 1993), baisse la libération de certains neurotransmetteurs comme le sérotonine (Paulmann *et al.*, 2009). Les travaux de Saka *et al.* (2011) ont interprétés que le plomb provoque des effets néfastes sur le pancréas et plus exactement sur l'excrétion d'insuline par les îlots de Langerhans.

Les résultats obtenus montrent clairement que ce métal affecte la fonction excrétrice de néphrons, l'unité structurale et fonctionnelle des reins, qui révélée par l'augmentation significatif des niveaux d'urée sanguin, mais de manière non significatif de créatinine et d'acide urique. L'urée est un déchet azoté qui provient de la dégradation des protéines (Wang *et al.*, 2012). En effet, El-Nekeety *et al.* (2009) ont montré que l'augmentation des taux d'urée dans le sang avec la diminution des taux de protéines sanguines peut indiquer par l'augmentation de catabolisme des protéines et/ou d'un dysfonctionnement rénal. Notre étude présente une absence d'une variation de concentration des protéines totale. Ceci confirme la présence d'une néphropathie caractérisée par une réduction de la filtration glomérulaire.

Dans notre étude, le traitement des rats avec l'*A. malaccensis* et/ou l'*A. longa* a restauré la fonction rénale. L'effet protecteur d'*A. malaccensis* et d'*A. longa* a été reflété par la diminution des concentrations sériques de l'urée chez les rattes traitées par ces plantes par rapport aux rattes exposées au plomb, et diminution des concentrations sériques de créatinine chez les rattes traitées par *A. longa* par rapport aux témoins, qui montrent la capacité de ces plantes à protéger contre les dommages rénaux induits par le Pb.

Les études sur la toxicité d'*A. longa* sur les reins sont controversée. Les recherches antérieures ont montré que la consommation des certains phytomédicaments, y compris le genre d'*Aristolochia* peut entraîner des lésions rénales graves. Benarba *et al.* (2014) ont démontré que l'ingestion de 1 g d'*A. longa* a induit une augmentation significatif des taux sérique de créatinine, d'urée et d'acide urique. En outre, Benzakour *et al.* (2012) ont démontré que l'application topique gingivale pour étudier l'action in vivo d'extrait aqueux d'*A. longa* à la dose limite (10%) sur l'évolution de l'hyperplasie, a induit des réactions pro-inflammatoires particulièrement dans les reins. Par contre, Cherif *et al.* (2014) sont classés l'extrait aqueux d'*Aristolochia longa* L. comme non ou très peu toxique à une dose unique, après l'étude de la toxicité aiguë par cet extrait (de 1 g/kg à 5 g/kg par voie orale chez les souris). Un résultat similaire a été rapporté par Benzakour *et al.* (2011) qui ont testé une dose de 2,5 g/kg d'extrait aqueux, administré par voie orale à des souris et cette dose n'a provoqué aucun signe de

morbidité. D'après Bruneton (2005), il ne semble pas exister des cas d'intoxication humaine aiguë par des espèces du genre *Aristolochia* et les intoxications animales ne sont pas fréquentes. Néanmoins, ces plantes se révèlent particulièrement dangereuses lorsqu'elles sont ingérées sur une longue période, car elles occasionnent surtout une néphropathie dite « Néphropathie aux herbes chinoises » ou « Néphropathie à AA » (Cherif *et al.*, 2014).

Comparant au témoin, les résultats concernant le taux sérique du calcium montrent une diminution remarquable chez les rattes plombées. Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par Missoun *et al.* (2010), qui ont démontré une diminution significative du taux du calcium sanguine chez les rats exposés aux 1000 ppm de l'acétate de plomb pendant 90 jours. Nos résultats peuvent être dus à la compétition entre le plomb et le calcium pour les mêmes sites dans le corps par plusieurs mécanismes; il inhibe l'absorption gastro-intestinale du Ca^{+2} , augmente l'excrétion du Ca^{+2} par les reins, aussi Pb^{+2} et Ca^{+2} interagissent pour le stockage dans l'os, ce qui conduit à l'altération de l'homéostasie calcique (Kathryn et Mahaffey, 1974).

Dans la présente étude, l'exposition sub-chronique de plomb entraîne une diminution significative des niveaux ALAT, ASAT tissulaire et augmentation significative du niveau PAL sérique. Nos résultats concordent avec les résultats publiés par Kilikdar *et al.* (2011); Attia *et al.*, (2013); El-Ashmawyet *al.* (2005). Le changement de l'activité de ces enzymes peuvent résulter de nombreuses affections, y compris une nécrose cellulaire, une fuite cellulaire et une perte de l'intégrité fonctionnelle de l'architecture de la membrane des tissus (Wang *et al.*, 2012). Aussi, Ces effets sont dus selon Okeke *et al.* (2014), à la génération des ROS par le Pb, évoquent la peroxydation des lipides et des altérations de la membrane cellulaire provoquant la fuite d'enzymes dans le sang.

Alors, nos résultats montrent que le traitement des rattes par l'*A. longa* ou la combinaison *A. malaccensis* et *A. longa* a restaurée significativement l'activité enzymatique des transaminases par rapport aux rattes exposées de l'acétate de plomb, ce qui signifie que l'*A. longa* inhibe les dommages hépatiques causés par le Pb. Ceci pourrait être dû à la réduction de l'accumulation des radicaux libres et la protection contre le stress oxydant par l'*Aristolochia*. Cette consultation est confirmée par le résultat de taux de plomb hépatique qui indique l'effet chélateur de cette plante. La propriété anti-inflammatoire des espèces *Aristolochia* est probablement le résultat d'une interaction directe entre l'acide aristolochique et les dérivés de la phospholipase A2. L'acide aristolochique est le constituant principal de *Aristolochia longa*. De plus, la phospholipase A2 est une enzyme catalyse l'hydrolyse du

acide arachidonique membranaire ce qui conduit à la formation des médiateurs inflammatoires locaux tels que les Prostaglandines (PG), les leucotriènes et les thromboxanes. L'acide arachidonique est un intermédiaire clé biologique qui est converti en un grand nombre d'eicosanoïdes possédant une activité biologique puissante (Wiert, 2006).

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: (1) l'inhibition de l'acide 5-aminolévulinique (ALA) déshydratase conduisant à l'accumulation de l'ALA, une source endogène potentiel de radicaux libres; (2) l'interaction directe de Pb avec les membranes biologiques, induisant la peroxydation lipidique; (3) augmentation des niveaux intracellulaires de calcium, altérer les fonctions mitochondriales; (4) diminution des enzymes de piégeage des radicaux libres et de glutathion (Moreira *et al.*, 2001).

Dans notre étude expérimentale, les résultats montrent une diminution significative des niveaux de glutathion dans les différents organes, foie, reins et cerveau et dans le cœur chez les ratte contaminées par l'acétate de plomb. Wang *et al.* (2012) ont montré une diminution de l'activité de GSH (hépatique et rénale) chez les rats intoxiqués au plomb. Cette baisse de GSH est expliquée par l'augmentation du taux des radicaux libres, qui peut due à l'accumulation d'ALA sous l'effet de plomb (Ahamed et Siddiqui, 2007). Selon Frank *et al.* (2000), l'exposition 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 MDA. De plus, cette réduction peut due à la conjugaison du GSH avec le Pb^{+2} car le GSH joue un rôle important dans la détoxification des xénobiotiques en tant que cofacteur pour la famille des GST et en tant qu'antioxydant important pour l'élimination des ROS (Sharma *et al.*, 2010).

Dans la présente étude, nous avons signalé une augmentation des niveaux du MDA rénal et cérébral après l'exposition de l'acétate de plomb. mêmes résultats ont été obtenus par Alya *et al.* (2015); Ponce-Canchihuamán *et al.* (2010). Ils suggèrent que le traitement des rats par le Pb induit une augmentation du taux du MDA au niveau de tissu rénal. Ce résultat est expliqué par l'accumulation des radicaux libres. Ceci montre bien que le plomb est capable de promouvoir la génération des ROS, qui se traduit par la peroxydation lipidique dans les tissus rénaux et cérébraux, suggérant leurs effets délétères dans ces tissus. Ainsi, un autre

mécanisme, le plomb peut avoir une activité de peroxydation directe, il a une grande affinité de fixation sur la membrane cellulaire (Ahamed et Siddiqui, 2007). Yiin et Lin (1995) ont montré une amélioration marquée de la concentration de MDA après incubation de l'acide linoléique, arachidonique et linoléique avec le plomb. D'après Apaydin et al. (2015), la stimulation de la LPO observée dans leurs études en raison d'un traitement de plomb pourrait être due à la formation des radicaux libres.

Nos résultats montrent que le traitement avec *A. malaccensis* et/ou *A. longa* pourrait empêcher l'altération induite par le plomb, et jouent ainsi un rôle important dans la prévention des maladies résultant de la peroxydation lipidique. Cela peut être dû à la présence de nombreux composés antioxydants comme les dérivés phénoliques, les terpénoides et les flavonoïdes dans *A. malaccensis* et *A. longa*.

Les enzymes antioxydantes limitent les effets des molécules oxydantes dans les tissus et jouent un rôle dans la défense contre les dommages oxydatifs cellulaires étant piègeurs de radicaux libres (Ghosh et al., 2012). Nos résultats ont montré une augmentation de l'activité de catalase dans tous les organes chez les ratte contaminées par le Pb. Étant donné que cette enzyme a un rôle protecteur contre les dommages induits par les radicaux libres, leur induction pourrait être comprise comme une réponse adaptative au stress oxydant (Ercal et al., 1996). L'activité de la CAT accrue chez les travailleurs exposés au plomb peut être expliqué comme un mécanisme de défense des tissus contre l'augmentation des flux de H_2O_2 lors d'un stress oxydatif induit par le Pb (Gurer-Orhan et al., 2004). Ces résultats sont confirmés par Gurer et al. (2011); Apaydin et al. (2015), qui ont montré une augmentation de l'activité de catalase induit par le plomb.

Ce système enzymatique contient également la glutathion S-transférase qui catalyse la réaction entre le glutathion réduit et les substances étrangères (comme les xénobiotiques, y compris les métaux lourds...) avec la formation des métabolites glutathion-conjugués (GSSG) (Saka et al., 2011). D'après nos résultats, on observe une diminution très hautement significative de GST dans les tissus étudiés (foie, reins et cœur) chez le lot (P) par rapport aux autres lots de traitement, ce résultat est confirmé par l'étude de Jackie et al. (2011).

Nous avons observé une restauration des activités des enzymes antioxydantes chez les ratte intoxiquées par le plomb après l'administration d'*A. malaccensis* et/ou *A. longa*, ce qui suggère l'effet protecteur de ces plantes contre les dommages oxydatifs induits par les métaux lourds. L'augmentation de l'activité de ces enzymes antioxydantes peut servir de mécanisme

de compensation supplémentaire pour maintenir l'intégrité de la cellule et la protection contre les dommages des radicaux libres.

Le rein est le principal organe d'excrétion des médicaments et est également l'un des organes cible au cours de la toxicité du plomb (Adikwu *et al.*, 2013). D'après les résultats de la présente étude, l'exposition au plomb produit des dommages histologiques dans les reins inclure une nécrose, dilatation et vacuolisation tubulaire, atrophie glomérulaire, nécrose glomérulaire, hémorragie, cellules inflammatoires et dilatation d'espace de Bowman. Des changements similaires chez les ratte ont été rapportés par des recherches antérieures d'El-Nekeety *et al.* (2009) et Kansal *et al.* (2011). ce qui pourrait être dû à la production excessive des radicaux libres et à la suite de la peroxydation lipidique induite par l'acétate de plomb (Aziz *et al.*, 2012). Aussi, les altérations tubulaires pourraient être le résultat d'un changement hydraulique dans le tissu rénal et suggèrent que l'intoxication par le Pb cède à une défaillance partiel des pompes de transport ionique dans les cellules tubulaires, qui à son tour produit un gonflement tubulaire et provoque une nécrose et une vacuolisation des tubules (Sharma et Singh, 2014). Ces résultats de l'étude histologique confirment les observations biochimiques et les résultats de stress oxydative constatées au niveau des reins.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'utilisation des plantes médicinales est encore aujourd'hui la forme de médecine la plus répandue à travers le monde, qui permet de remédier à des problèmes du quotidien de manière naturelle. Notre travail a été pour l'objectif d'évaluer l'effet de l'*Aquilaria malaccensis* et l'*Aristolochia longa* sur des rattes Wistar Albinos contaminé par le plomb. À la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que:

- L'analyse phytochimique montre que l'*Aquilaria malaccensis* et *Aristolochia longa* sont très riche en polyphénols, flavonoïdes, terpénoïdes, saponines et sucres réducteurs, sauf que les tanins étaient détectés seulement dans *Aquilaria malaccensis*. Ce qui nous permet de découvrir une nouvelle source des molécules bioactives ont un important effet thérapeutique contre plusieurs pathologies.
- L'étude physiologique a montré que le traitement par ces plantes augmente le poids corporel des rattes et améliore le poids relatif des organes notamment le foie et les reins ce qui montré clairement l'absence de l'effet secondaire toxique sur ces deux organes cibles.
- Le traitement par *Aquilaria malaccensis* et *Aristolochia longa* induit une importante restauration de certains paramètres hématologique et biochimique ce qui montre l'effet protecteur de ces deux plantes contre la dysrégulation physiologique de plusieurs systèmes biologiques en relation avec les paramètres étudiés.
- Le traitement par *A. malaccensis* et *A. longa* diminue l'état de stress oxydant induit par l'exposition au plomb par une limitation des phénomènes radicalaires et une réparation des dommages oxydantes en diminuant la peroxydation lipidique au niveau hépatique, rénale et cardiaque; et en améliorant la mobilité de la défense antioxydant dans les organes étudiées ce qui montre aussi d'une autre façon l'effet protecteur de ces deux plantes contre les pathologie associe au stress oxydant dont l'inflammation, le canceretc.
- L'analyse tissulaire réalisée au niveau des reins a permis de montrer que notre plantes provoque une protection et une régénération remarquable de tissu rénale avec dominance préférentielle de l'*Aristolochia longa*.

À la lumière de cette étude, nous avons enregistré que l'utilisation d'*Aquilaria malaccensis* et *Aristolochia longa* n'a aucun effet perturbateur sur les organes étudiée ce qui nous permet de confirmer l'effet bénéfique de ces deux plantes sur l'état de santé des utilisateurs.

Perspective

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

- L'effet thérapeutique de l'extrait aqueux dans l'organisme.
- Les molécules impliquées dans ces effets thérapeutiques.
- Les mécanismes d'action au niveau moléculaire et cellulaire des plantes étudiées.
- L'interaction entre les plantes et l'ADN.
- L'effet anticancéreux de l'*Aristolochia longa* in vivo.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abdoun, H.M. et Hassan, M.A. (2014).** Protective role of omega-3 polyunsaturated fatty acid against lead acetate-induced toxicity in liver and kidney of female rats. *BioMed Research International*, 1-11.
2. **Adelina, N., Harum, F., Schmidt, L. H. et Jøker, D. (Eds.) (2004).** *Aquilaria malaccensis* Lam.Seed Leaflet, (103).
3. **Adikwu, E., Deo, O., Geoffrey, O.P. et Enimeya, D. A. (2013).** Lead Organ and Tissue Toxicity: Roles of Mitigating Agents. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 4(6): 232-240. En ligne: <http://maxwellsci.com/print/bjpt/v4-232-240.pdf>
4. **Aebi. 1984.** Catalase. In L. Pacher (ED). *Méthod in enzymology* académie press. Oelamode, 105: 121-126.
5. **Affre, A., Kathe, W. et Raymakers, C. (2004).** *Implementation manual on eu timber trade control: focus on cites-listed trees. Service contract with the European commission.* Brussels.
6. **Ahamed, M. et Siddiqui, M.K.J. (2007).** Low-level lead exposure and oxidative stress: current opinions. *CLINICA CHIMICA ACTA*, 383: 57–64. doi: 10.1016/j.cca.2007.04.024.
7. **Akter, S., Tanvir, I., Mohd, Z. et Sirajul, I-K. (2013).** Agarwood production- à multidisciplinary field to be explored in Bangladesh. *International journal of pharmaceutical and life sciences*, Vol. (2), 22-32.
8. **Alain, A.K., Akpovi, C.D., Sègbo, J., Senou, M., Anago, E., Ahoyo, T.A., Klotoé, J.R., Edorh, P.A. et Loko, F. (2016).** Attenuation effect of *Moringa oleifera* leaves powder on blood biochemical disturbance induced in lead-exposed rats. *International Research Journal of Biological Sciences*, 5(1): 14-21. En ligne: <http://www.isca.in/IJBS/Archive/v5/i1/2.ISCA-IRJBS-2015-168.pdf>.
9. **Alexander, J., Benford, D., Boobis, A., Ceccatelli, S., Cravedi, J-P., Di Domenico, 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. doi:10.2903/j.efsa.2010.1570.

- 10. Almeras, C., Bringer-Guerin, C., Clinard, F., Daniau, C., Denys, S., Dor, F., Epelboin, A., Erouart, S., Etchevers, A., Grard, O., Hulot, C., Jehannin, P., Leger, T., Piantone, P. et Salvio, C. (2013).** *Sites potentiellement pollués par le plomb: retours d'expérience et recommandations*. Ministère des affaires sociale et de la santé. (Ed.).
- 11. Al-Naimi, R.A., Abdul-Hadi, D., Zahroon, O.S. et Al- Taae, E.H. (2011).** Toxicopathological study of lead acetate poisoning in growing rats and the protective effect of cysteine or calcium. *Proceedings of First Medical Conference of Medical Colleges*, 4, 26-39.
- 12. Alya, A., Bini Ines, D., Montassar, L., Najoua, G. et Saloua, E. (2015).** Oxidative stress, biochemical alterations, and hyperlipidemia in female rats induced by lead chronic toxicity during puberty and post puberty periods. *18*:1034-1043.
- 13. Anton, L. (2007).** *Investigation of seed longevity and viability and cutting propagation for Aquilaria crassna*. Postgraduate Diploma of Research Methods, James Cook University, Cairns.
- 14. Apaydin, F.G, Kalender, S., Bas, H., Demir , F. et Kalender, Y. (2015).** Lead nitrate induced testicular toxicity in diabetic and non-diabetic rats: protective role of sodium selenite. *Brazilian Archives of Biology And Technology*, 58(1): 68-74.
- 15. Arti, S., Veena, S. et Leena, K. (2010).** Amelioration of lead-induced hepatotoxicity by Allium sativum extracts in Swiss albino mice. *Citation: Libyan J Med*, 5. doi: 10.4176/091107.
- 16. Attia, A., Ibrahim, F., Nabil, G. et Aziz, S. (2013).** Antioxidant effects of whole ginger (Zingiber officinale Roscoe) against lead acetate induced hematotoxicity in rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(17):1108-1113. doi: 10.5897/JMPR13.2585.
- 17. Attia, A., Ibrahim, F., Nabil, G. et Aziz, S. (2013).** Antioxidant effects of ginger (Zingiber officinale Roscoe) against lead acetate-induced hepatotoxicity in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacolog*, 7(20):1213-1219. doi 10.5897/AJPP2013.3465.
- 18. Aziz, F.M. (2012).** Protective Effects of Latex of Ficus carica L. against Lead Acetate-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 5 (3) : 175 –182.
- 19. Aziz, F.M., Maulood, I.M. et Chawsheen, M. A.H. (2012).** Effects of melatonin, vitamin Cand E alone or in combination on lead-induced injury in liver and kidney organs of

- 20. Bahadoran, Z., Mirmiran, P. et Azizi, F. (2013).** Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. *Journal of Diabetes & Metabolic*, 1-9. doi: 10.1186/2251-6581-12-43.
- 21. 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.).
- 22. Bammi, J. et Douira, A. (2002).** Les plantes medicinales dans le foret de l'achach (plateau central, Maroc). *Acta Botanica Malacitana*, 27, 131-145. En ligne: http://www.biolveg.uma.es/abm/Volumenes/vol27/27_Bammi.pdf.
- 23. 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.).
- 24. Bekdouche, F., Derridj, A. et Krouchi, F. (2008).** Evolution apres feu de la composition floristique de la SUBERAIE de Mizrana (TIZI-OUZOU, ALGERIE). *Sciences et Technologie*, 28, 19-29.
- 25. Benarba, B. et Meddah, B. (2014).** Ethnobotanical study, antifungal activity, phytochemical screening and total phenolic content of Algerian *Aristolochia longa*. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 3, 150-154. doi: 10.5455/jice.20140826030222.
- 26. Benarba, B., Meddah, B. et Touil, A.T. (2014).** Response of Bone Resorption Markers to *Aristolochia longa* Intake by Algerian Breast Cancer Postmenopausal Women. *Pharmacological Sciences*, 4.
- 27. Benedetti, J-L., Plante, R., Carrier, G., Deshaies, P., Gaudreault, P., Kosatsky, T., Levallois, P., Senecal, P-É. et Viau, C. (1998).** *Définition nosologique d'une maladie à déclaration obligatoire ou d'une intoxication et d'une exposition significative: le plomb*. Institut national de santé publique du Québec (Ed.). (2003). Vol. (2).
- 28. Benzakour, G., Amrani, M. et Oudghiri, M. (2012).** A histopathological analysis of in

vivo anti-tumor effect of an aqueous extract of *Aristolochia longa* used in cancer treatment in traditional medicine in morocco. *International Journal of Plant Research*, 2(2): 31-35. doi: 10.5923/j.plant.20120202.06.

29. Benzakour, G., Benkirane, N., Amrani, M. et Oudghiri, M. (2011). Immunostimulatory potential of *Aristolochia longa* L. induced toxicity on liver, intestine and kidney in mice. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*, 3(8), 214-222.

30. Berrahal, A., Nehdi, A., Hajjaji, N., Gharbi, N. et El-Fazâa S. (2007). Antioxidant enzymes activities and bilirubin level in adult rat treated with lead. *Pharmacology, toxicology*, 330: 581–588. doi:10.1016/j.crvi.2007.05.007.

31. Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S. et Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization*, 5(1), 9-19. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.

32. Birben, E., Sahinerm U.M., Sackesenm C., Erzurum, S. et Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *WAO Journal*, 5, 9–19. En ligne: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3488923/pdf/waoj-5-9.pdf>.

33. 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.). Vol. (2). En ligne: http://www.inrs.fr/dms/ficheTox/FicheFicheTox/FICHETOX_59-2/FicheTox_59.pdf

34. Bonnet, C., Legens, F. et Zissler, J. (2011). *Aristolochia paucinervis* Pomel.

35. Bradford, M.M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Academic Press*, 72 (57), 248-254. En ligne http://hoffman.cm.utexas.edu/courses/bradford_assay.pdf.

36. Brisseau-Mirbel, F.C. (1804). *Histoire naturelle, générale et particulière, des plantes*. Paris: Dufart, f.

37. Bruneton, J. (2005). *Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux*. (3ème éd): Tec & Doc, Lavoisier.

38. Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. et Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life*

- 39. Carrière, A., Galinier, A., Fernandez, Y., Carmona, M.C., Pénicaud, L. et Casteilla, L. (2006).** Les espèces actives de l'oxygène: le yin et le yang de la mitochondrie. *Médecine sciences*, 22(1), 47-53. En ligne: <http://www.erudit.org/revue/ms/2006/v22/n1/012231ar.pdf>.
- 40. Case Studies in Environmental Medicine (CSEM). (2010).** *Lead Toxicity*. (Ed.). Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- 41. Cash, T.P., Pan Y. et Simon C.M. (2007).** Reactive Oxygen Species and Cellular Oxygen Sensing. *Free Radical Biology & Medicine*, 43(9), 1219-1225. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.07.001.
- 42. Chena, H-Q., Wei, J-H., Yanga, J-S., Zhanga, Z., Yangb, Y., Gaoa, Z-H., Suia, C. et Bao, G. (2012).** Chemical constituents of Agarwood originating from the Endemic Genus *Aquilaria* Plants, *chemistry & biodiversity*, vol. (9), 236-250. En ligne <http://agarwit.com/UploadFiles/201463094718360.pdf>.
- 43. Cherif, H.S., Saidi, F., Lazouri, H., Aid, K., Rouibi, A., Bele, C. et Matea, C. (2009).** Determination of the lipid compounds of *Aristolochia longa* L. from Algeria. *Journal Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Agriculture*, 66(1), 17-23.
- 44. Cherif H.S. Saidi, F. Guedioura, A. (2014).** Toxicological evaluation of *Aristolochia longa* L. extract in mice. *Indian journal of applied research*, 4 (5), 26-30. En ligne: http://www.worldwidejournals.com/ijar/file.php?val=May_2014_1400503978_eab79_08.pdf.
- 45. 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. doi: 10.1080/19476337.2014.909885.
- 46. CTA (Centre technique de coopération agricole et rurale), (2007).** Les plantes médicinales. *Fiche technique*. En ligne: <http://www.doc-developpement-durable.org/file/Plantes-Medicinales-Aromatiques/generalites%20sur%20les%20plantes%20medicinales.pdf>.
- 47. De Moffarts B., Kirschvink, N., Pincemail, J. et Lekeux P. (2005).** Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Annales De Medecine*

Veterinaire, 149, 1-9. En ligne: http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2005_149_1_01.pdf.

48. Debelle, F., Vanherweghem, J.L. et nortier, J. (2009). Néphropathie aux acides aristolochiques: de l'observation clinique au modèle expérimental. *Flammarion Médecine-Sciences –Actualités Néphrologiques*. 188-200.

49. Deby-Dupont, G., Deby, C. et Lamy M. (2002). Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène. *Réanimation*, 11, 28-39. En ligne: http://www.srlf.org/wp-content/uploads/2015/11/0201-Reanimation-Vol11-N1-p028_039.pdf.

50. Defraigne, J.O. et Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63(1), 10-19. En ligne: <https://orbi.ulg.ac.be/bitstream/2268/20796/1/292.pdf>.

51. Delattre J., Beaudeux J.L. et Bonnefont-Rousselot D. (2005). *Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques*. Paris: Lavoisier.

52. Denis Rochette, M.D. (2001). La combinaison des traitements médicamenteux et des produits naturels. 87-97. En ligne: <http://www.stacommunications.com/journals/leclinicien/images/clinicienpdf/may01/rochetteproduitsnat.pdf>.

53. Densiov, E.T. et Afanas'ev, I.B. (2005). *Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology*. (U.S.A): Taylor & Francis Group.

54. Ece, A., Gürkan, F., Celik, F., Boşnak, M., Yel, S., Balik, H. et Erel, O. (2007). Paraoxonase, total antioxidant activity and peroxide levels in marasmic children: relationships with leptin. *Clinical Biochemistry*, 40(9-10), 634-9. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2007.03.001.

55. El-Ashmawy, I., El-Nahas, A.F. et Salama, O. (2005). Protective effect of volatile oil, alcoholic and aqueous extracts of *Origanum majorana* on lead acetate toxicity in mice. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 97: 238–243.

56. El-Masry, T.A., Emara, A.M. et El-Shitany, A.N. (2010). Possible protective effect of propolis against lead induced neurotoxicity in animal model. *Journal of Evolutionary Biology Research*, 3(1): 4-11. En ligne: http://www.academicjournals.org/article/article1379504869_El-Masry%20et%20al%20pdf.pdf.

57. **El-Nekeety, A.A., El-Kady, A.A., Soliman, M.S., Hassan, N.S. et Abdel-Wahhab, M.A. (2009).** Protective effect of *Aquilegia vulgaris* (L.) against lead acetate-induced oxidative stress in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9). doi: 10.1016/j.fct.2009.06.019.
58. **Emokpae, M.A., Uadia, P.O. et Gadzama, A.A. (2010).** Correlation of oxidative stress and inflammatory markers with the severity of sickle cell nephropathy. *Annals of African Medicine*, 9: 141-146. doi: 10.4103/1596-3519.68363.
59. **Ercal, N., Treeratphana, P., Lutz, P., Hammond, T.C., Richard, H. et Matthews, C. (1996).** IV-acetylcysteine protects Chinese hamster ovary (CHO) cells from lead-induced oxidative stress. *Toxicology*, 108(162): 57-64. doi:10.1016/S0300-483X(95)03273-I.
60. **Evans, W.C. (2009).** *Trease and Evans' Pharmacognosy (16e)*. Saunders Elsevier (Ed.), London.
61. **Farell, E C. (1984).** Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. 1051-1255 and 418. Cite par fiche technique SPINREACT. Réf. 1002120 et 1002210.
62. **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115. En ligne: <http://www.andrecontrelasla.be/IMG/pdf/Favier.pdf>.
63. **Finaud, J., Lac, G., Filaire, E. (2006).** Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. *Sports Medicine*, 36(4), 327-358. doi: 10.1112-1642/06/0004-0327/\$39.95/0.
64. **Foret, R., Brack, M., Garrel, C. (2009).** Evaluation et correction du stress oxydatif du porcelet en post-sevrage. *Journées Recherche Porcine*, 41(1),173-178. En ligne <http://journees-recherche-porcine.com/texte/2009/sante/s02.pdf>.
65. **Gardès-Alber, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z. et Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique?. *L'actualité chimique*, 91-96. En ligne: http://www.helioxplongee.fr/cariboost_files/Radicaux_20Libres.pdf.
66. **Garnier, R. (2005).** Toxicité du plomb et de ses dérivés, toxicity of lead and lead compounds. *EMC-Toxicologie Pathologie 2*: 67–88. doi: 10.1016/j.emctp.2004.10.004.
67. **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle

prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. 4(1): 162-169. doi: 10.1007/s10298-005-0096-8.

68. Ghosh, D., Benazir, S., Mitra, E., Dey, M. et Bandyopadhyay, D. (2012). Protective effect of aqueous leaf extract of *Murraya Koenigi* Against lead induced oxidative stress in Rat liver, heart and kidney: a dose response study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(4): 54-58. En ligne: <http://www.ajpcr.com/Vol5Suppl4/1307.pdf>.

69. Grassmann J. (2005). Terpenoids as plant antioxidants. *Vitamins and hormones*, 72. doi: 10.1016/S0083-6729(05)72015-X.

70. Grenand, P., Moretti, C. et Jacquemin, H. (1987). Pharmacopée traditionnelle en Guyane. Paris: OKSTOM.

71. Gülçin, I., Huyutb, Z., Elmastaşç, M.Y. et Aboul-Enein, H. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(1), 43-53. doi:10.1016/j.arabjc.2009.12.008.

72. 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. doi: 10.1007/s002440010265.

73. Gurer-Orhan, H., Handan, U.S. et Özgüne, H. (2004). Correlation between clinical indicators of lead poisoning and oxidative stress parameters in controls and lead-exposed workers. *Toxicology*, 195: 147–154. doi:10.1016/j.tox.2003.09.009.

74. Haguenoer, J.M. et Declercq, C. (2004). Les explorations complémentaires selon le seuil. *Santé publique*. Vol. (16), 51-61. En ligne http://orsnpdc.gapi.fr/articlespublies/132306_1santepub.pdf.

75. Haleng, J., Pincemail, J., Defraignem J.O. et Chapelle, J.P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62(10): 628-638. En ligne: <http://orbi.ulg.ac.be/bitstream/2268/8914/1/Stress%20oxydant,%20RMLg,%202007.pdf>.

76. Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H. et Poutanen, K. (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International Journal of Molecular Sciences* 11, 1365-1402. doi:10.3390/ijms11041365.

77. **Hanukoglu, I. (2006).** Antioxidant protective mechanisms against reactive oxygen species (ros) generated by mitochondrial p450 systems in steroidogenic cells. *Drug Metabolism Reviews*, 38, 171-196. doi: 10.1080/03602530600570040.
78. **Harborne, J.B. (1998).** *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman and Hall (Ed.), London.
79. **Hidayat, R., et Fatmawati. (2016).** Anti-cancer activity of *Aquilaria malacensis* leaves on human cervical cancer cells. *European Journal Of Pharmaceutical And Medical Research*, 3(1), 46-49. En ligne: http://www.ejpmr.com/admin/assets/article_issue/1451540607.pdf.
80. **Hmoud, F., Balawi, A., Ahmad, Z., Al-Akel, A.S., Al-Misned, F., El-Amin, M.S. et Al-Ghanim, K.A. (2011).** Toxicity bioassay of lead acetate and effects of its sublethal exposure on growth, Haematological parameters and reproduction in *Clarias gariepinus*. *African Journal of Biotechnology*, 10(53): 11039-11047. En ligne: http://www.academicjournals.org/article/article1380899303_AlkahemalBalawi%20et%20al.df.
81. **Houlot R. (1984).** Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. Ed. Maloine. 19-21, 225-227.
82. **Ibrahim, N.M., Eweis, E.A., El-Beltagi, H.S. et Abdel-Mobdy, Y.E. (2011).** The Effect of Lead Acetate Toxicity on Experimental Male Albino Rat. *Biological Trace Element Research*, 144: 1120-1132. doi: 10.1007/s12011-011-9149-z.
83. **INRS. (2008).** Cancer du poumon et exposition professionnelle aux métaux: Une revue des études épidémiologiques. *INSERM, ERI [EP]2R, Évaluation et prévention des risques professionnels et environnementaux, Vandœuvre-les-Nancy*. 201-219. En ligne <http://www.inrs.fr/dms/inrs/CataloguePapier/DMT/TI-TC-120/tc120.pdf>.
84. **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.
85. **Jackie, T., Haleagrahara, N., Chakravarthi, S., (2011).** Antioxidant effects of Etlingera elatior flower extract against lead acetate – induced perturbations in free radical scavenging enzymes and lipid peroxidation in rats. *BMC Research Notes*, 4(67): 8.
86. **James, R., (1746).** *Dictionnaire universel de médecine, de chirurgie, de chimie, de*

botanique, d'anatomie, de pharmacie, d'histoire naturelle. Paris: rue Saint Jacques.

- 87. Jamieson, J.A., Taylor, C.G., Weiler, H.A., Jamieson, J., Weiler, H. et Taylor, C. (2006).** Marginal zinc deficiency exacerbates bone lead accumulation and high dietary zinc attenuates lead accumulation at the expense of bone density in growing rats. *Toxicological sciences*, 92(1): 286–294. doi:10.1093/toxsci/kfj201.
- 88. Jose, M., Mate, S., Cristina, P., Rez-go, M. et Ignacio, N. (1999).** Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry*, 32(8), 595–603. doi: 10.1016/S0009-9120(99)00075-2.
- 89. JSO. (1994).** Qualité de l'eau: Dosage du cadmium, plomb, fer, manganèse, cuivre, zinc, cobalt nickel par spectrométrie d'absorption atomique. Suis: JSO5961.
- 90. Kaminsky, P., Klein M. et Duc, M. (1993).** Physiopathologie de l'intoxication par le plomb inorganique. *La revue de médecine interne*. 14 (3): 163-170. doi:10.1016/S0248-8663(05)81163-4.
- 91. Kansal, L., Sharma, V., Sharma, A., Lodi, S. et Sharma, S.H. (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: 65-82. En ligne <http://www.ijabpt.org/applied-biology/protective-role-of-coriandrum-sativum-coriander-extracts-against-lead-nitrate-induced-oxidative-stress-and-tissue-damage-in-the-liver-and-kidney-in-male-mice.pdf>.
- 92. Kaplan, A. et Urea. (1984).** Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. 1257-1260 and 437 and 418. Cite par fiche technique SPINREACT. Ref: 1001331.
- 93. Kathryn, R. (1974).** Nutritional factors and susceptibility to lead toxicity. Environmental health perspectives. *Environ Health Perspect*, 7: 107-112. En ligne: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1475135/pdf/envhper00497-0105.pdf>.
- 94. Keerthi, M., Prasanna, J., Aruna, M., Rao, N. (2014).** Review on polyphenols as nature's gift world. *Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 3 (4): 445-455. En ligne: <http://www.wjpps.com/download/article/1397787686.pdf>.
- 95. Khalil, A.S., Rahim, A.A., Taha, K.K. et Abdallah, K.B. (2013).** Characterization of methanolic extracts of agarwood leaves. *Journal of Applied and Industrial Sciences*, 1(3): 78-

88. En ligne: <http://researchpub.org/journal/jais/number/vol1-no3/vol1-no3-9.pdf>.

96. Kilikdar, D., Mukherjee, D., Mitra, E., Ghosh, A.K., Basu, A., Chandra, M.A. et Bandyopadhyay, D. (2011). Protective effect of aqueous galic extract against lead-induced hepatic injury in rats. *Indien journal of experimental biology*, 49: 498-510.

97. Kocchilin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*, 20, 165-177. doi: 10.1016/j.nupar.2006.10.178.

98. Koller, A. (1984). Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. 1316-1324 and 418. Cite par fiche technique SPINREACT. Ref: 1001290, 1001291 et 1001292.

99. Lahsissene, H., Kahouadji, A., Tijane, M. et Hseini, S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de zaër (Maroc occidental). *Revue de botanique*, 186(2). En ligne: <http://www.ethnopharmacologia.org/prelude/pdf/biblio-l2-nord-lahsissene.pdf>.

100. Lamarck, M. (1778). *Flore française ou description succinée de toutes les plantes*. Paris : l'Imprimerie Royale. doi: <http://dx.doi.org/10.5962/bhl.title.9461>.

101. Landrigan, P.J., Br Ind, J.M. (1989). Editorial toxicity of lead at low dose. *British journal of industrial medicine*, 46(9): 593-596. En ligne: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1009833/pdf/brjindmed00137-0001.pdf>.

102. Laperche, V., Dictor, M.C., Clozel-Leloup, B. et Baranger, Ph. (2004). *Guide méthodologique du plomb, appliqué à la gestion des sites et sols pollués*. BRGM/RP-52881-FR. (Ed.).

103. Lee, Jong P., Tsan, P. et Rozi, M. (2014). Gas chromatography-mass spectrometry analysis of agarwood extracts from mature and juvenile *Aquilaria malaccensis*. *International journal of agriculture & biology*. Vol. (16), 644-648. En ligne http://www.fspublishers.org/published_papers/2825_.pdf.

104. Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F. et Jiang, Y. (2007). *Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae*. Food chemistry. Vol.102: 771-776.

105. 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.

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

107. Masunda, T.A., Mbala, M.B., Kayembe, S.J., Longoma, B.F., Ngbolua, K.N., Tshibangu, D.S.T. et Mpiana, P.T. (2014). Activité anti-hyperglycémique et antiradicalaire des extraits des fruits de *Raphia gentiliana* De Wild. (Arecaceae). *International formulae group*, 8(6): 2441-2451. doi : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v8i6.7>.

108. Mat, N., Shamsiah, A-R., Ngah, N., Khairil, M., Nurrul, A-R. et Khairuddin, A-R. (2012). Growth and mineral nutrition of *Aquilaria Malaccensis* (Karas) in two habitats as affected by different cultural practices. Vol. (9), *Journal of nuclear and related technologies*, 6-16. En ligne http://www.nuklearmalaysia.org/nuklearmalaysia_org/media/File/JNRT2012/JNRT2012-9-1-02.pdf.

109. 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. doi: 10.1016/S2221-1691(11)60204-9.

110. Mesli-Bestaoui, K., Bouazza, M. et Godron, M. (2007). Etude des groupements végétaux des monts de Tlemcen et de leurs faciès de dégradation par deux approches : les profils écologiques et les liaisons interspécifiques (ORANIE-ALGERIE). *Sciences et Technologie*, (25), 71-78.

111. Meyer, M. (2003). Sources d'expositions au plomb, aspects toxicologiques et thérapeutiques.

112. Miguel, M.G. (2010). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Molecules*, 15: 9252-9287. doi:10.3390/molecules15129252

113. Mishra, S., Ghosh, D., Dutta, M., Chattopadhyay, A. et Bandyopadhyay, D. (2013). Melatonin protects against lead-induced oxidative stress in stomach, duodenum and spleen of male Wistar rats. *Journal of Pharmacy Research*, 1(11): 997-1004.

114. **Missoun, F., Slimani, M. et Aoues, A. (2010).** Toxic effect of lead on kidney function in rat Wistar. *African Journal of Biochemistry Research*, 4(2): 21-27.
115. **Mohan, V.R., Jegadeeswari, P., Nishanthini, A. et Muthukumarasamy, S. (2014).** Evaluation of antioxidant activity of aristolochia krysagathra (Aristolochiaceae)- an important medicinal herb. *International Journal of Pharmacy*, 4(1): 410-416. En ligne: http://pharmascholars.com/pharma/upload/pharmacy_530710c1441de.pdf.
116. **Moreira, E.G., Jordao, G., Magalhaes, R., Barros, S. B. M., Vera, S. V. et Vassillieff, I. (2001).** Antioxidant defense in rat brain regions after developmental lead exposure. *Toxicology*, 169: 145–151. doi: 10.1016/S0300-483X(01)00497-8.
117. **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.) Vol. (9).
118. **Mozouloua, D. (2004).** Traitement traditionnels de 150 maladies a base des plantes. experience de lokondo. *Unité de Recherche en Sciences Appliquées au Développement (URSAD*, (13), 111-116. En ligne: <http://greenstone.lecames.org/collect/revueph1/index/assoc/HASH011a.dir/13-111-116.pdf>.
119. **Murray, R. (1984).** Créatinine. In Kaplan A et al. Clin Chem the C.V. mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. 1261-1266 and 437 and 418. Cite par fiche technique SPINREACT.
120. **Murray, R. (1984 a).** Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. Clin chem the C.V. Mosby Co. St louis. Toronto. Princeton:1088-1090. Cité par fiche technique SPINREACT. Ref: 1001170.
121. **Murray, R. (1984 b).** Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin chem the C.V. Mosby Co. St louis. toronto. Princeto:1112-116. Cité par fiche technique SPINREACT. Ref: 1001160.
122. **Mutel, A., (1836).** *Flore Française destinée aux Herborisations ou description des plantes croissant naturellement en France, ou cultivées pour l'usage de l'homme et des animaux*. Paris: F.G Levrault.
123. **Nardi, E. (2009).** Aristolochiaceae. In: Euro+Med Plantbase - the information resource

for Euro-Mediterranean plant diversity.

124. National Institutes of Environmental Health Sciences (NIH). (2013). Lead and Your Health. U.S. Department of Health and Human Services. *Research Triangle Park*. 1-4. En ligne https://www.niehs.nih.gov/health/materials/lead_and_your_health_508.pdf.

125. Nik, N., Nik, Wil1A., Nor, A., Mhd, O., Awang, N.h. et Tajuddin, S.N. (2014). In vitro antioxidant activity and phytochemical screening of *Aquilaria malaccensis* leaf extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(12): 688-693. En ligne: <http://jocpr.com/vol6-iss12-2014/JCPR-2014-6-12-688-693.pdf>.

126. Ohare, C.A. (2010). La famille des radicaux libres. *Journal de la nutrition*, 2.

127. Okeke, N., Emeka, A. et Johntel, C. (2014). Biochemical Taurine alleviated modification in male Wistar rats co-exposed to chlorpyrifos and lead. *International Journal of Environmental Science and Toxicology*, 2(9): 104-115.

128. Olchowik G., Widomska, J., Tomaszewski M., Gospodarek M., Tomaszewska M. et Jagiello-Wójtowicz E. (2014). The influence of lead on the biomechanical properties of bone tissue in rats. *Annals of agricultural and environmental medicine*, 21: 278–281. doi: 10.5604/1232-1966.11085914.

129. Organisation mondiale de la Santé (OMS). (2002). *Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002–2005*. Genève. En ligne: <http://apps.who.int/medicine/docs/pdf/s2298f/s2298f.pdf>.

130. OPPTBP. (2015). Traitement des peintures au plomb. Vol. (978). O.P.P.B.T.P (Ed.).

131. Organisation mondiale de la Santé. (2000). Principes méthodologique généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. Genève. 87 p. En ligne: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s4929f/s4929f.pdf>.

132. Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires*, 27,: 87-92. doi:10.1016/S0338-9898(95)80364-5.

133. Paulmann, N., Grohmann, M., Voigt, J.P., Bert, B., Vowincke, J., Michael, B., Skelin, M., Jevs, M., Fink, H., Rupnik, M., Diego, J. et Walther. (2009). Intracellular serotonin modulates insulin secretion from pancreatic b-cells by protein serotonylation. *Plos Biology*, 7(10): 1-10. doi:10.1371/journal.pbio.

134. **Pemble, S., Schroeder, K.R., Spencer, S.R., Meyer, D.J., Hallier, E., Bolt, H.M., Ketterer, B. et Taylor J.B. (1994).** Human glutathione S-transferase Theta (GSTT1): DNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochemical Journal*, 300(1), 271-276. En ligne: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1138152/pdf/biochemj00087-0262.pdf>.
135. **Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R. et Defraigne, J.O. (1999).** L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, 4(5). En ligne: http://www.probiox.com/uk/pdf/realite_generaliste46.pdf.
136. **Ponce-Canchihuamán, J.C., Pérez-Méndez, O., Hernández-Muñoz, R., Patricia, V, M.A Juárez-Oropeza. (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).
137. **Ré, D.B., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian, L., Had-Aissouni, L., (2005).** Cerebral oxidative stress: are astrocytes vulnerable to low intracellular glutamate concentrations? Consequences for neuronal viability. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 24, 502–509. doi: 10.1016/j.annfar.2005.03.004.
138. **Reckziegel, P., Dias, V.T., Benvegnú, D.M., Boufleur, N., Barcelos, R.C., Segat, H.J., Pase C.S., Santos, C.M. et Bürger, M.E. (2016).** Antioxidant protection of gallic acid against toxicity induced by Pb in blood, liver and kidney of rats, *Toxicology reports*.
139. **Rees, J.F., Zalm F. et Thome, J.P. (2004).** Enfer et paradis: la toxicité de l'oxygène chez les organismes abyssaux. *Océanis*, 30(3), 277-291.
140. **Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D, et Panthong, A. (2003).** Pharmacological effect and toxicity of alkaloids from *Gelsemium elegans* Benth. *Journal of Ethnopharmacology*, 89 (1): 91-95. doi:10.1016/S0378-8741(03)00267-8.
141. **Saka, S., Bahi, A., Aouacheri, W. (2011).** L'effet du stress oxydant induit par l'acétate de plomb sur le système enzymatique du glutathion chez les rats the effect of oxidative stress induced by lead acetate on the glutathione enzymatic system in rats. *Annales de Toxicologie Analytique*, 23(3): 139-145. doi: 10.1051/ata/2011123.
142. **Scheibmeir, H.D., Christensen, K., Whitaker, S.H., Jegaethesan, J., Clancy, R., Pierce, J.D., (2005).** A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses.

Intensive and Critical Care Nursing, 21(1), 24-28. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.iccn.2004.07.007>Login

143. Schultz, A. (1984). Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. 1261-1266 and 418. Cite par fiche technique SPINREACT. Réf. 1002120 et 1002210.

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

145. Sharma, A., Sharma, V. et Kansal, L. (2010). Amelioration of lead-induced hepatotoxicity by Allium sativum extracts in Swiss albino mice. *Libyan Journal Med*, 5: 1-10. doi: 10.4176/091107.

146. Sharma, S. et Singh, B. (2014). Lead acetate induced histopathological alterations in renal tissue of BALB-C mice (MUS MUSCULUS). *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 5(3): 23-28.

147. Sherratt, P.J et Hayes J. (2001). *Glutathione-S-transferases: Enzyme systems that Metabolise Drugs and Other Xenobiotics*. Ioannides, C: Wiley & sons. doi: 10.1002/0470846305.ch9.

148. Skoczynska, A., Skórka, T., Wojakowska, A., Nowacki, D., Turczyn, B., Poręba, R., Tyrankiewicz, U., Byk, K. et Szuba, A. (2014). Heart function in magnetic resonance imaging and the mesenteric artery reactivity in rats receiving lead-contaminated drinking water. *Human and Experimental Toxicology*. 33(5). 455–465. doi: 10.1177/0960327113491507.

149. Sorg, O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. *Biologies*, 30(3), 277-291. doi:10.1016/j.crv.2004.05.007.

150. Southon, S., Gee, J. et 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.

151. Tabin, T. et 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*. Vol. (3), 17595-7604. En ligne http://www.ijirset.com/upload/2014/november/70_DISTRIBUTION_.pdf.

152. **Thorin-Trescases, N., Voghel, G., Farhat, N., Drouin, A., Gendron, M., et Thorin É. (2010).** Âge et stress oxydant: Vers un déséquilibre irréversible de l'homéostasie endothéliale. *Med Sci*, 26(10), 875–880. doi:10.1051/medsci/20102610875.
153. **Titton, M., Thos, A-L., Albouy, J., Ségovia-Kueny, S., Coly, J., Nicolas, C., Harry, P., Lagarce, F., Jeannel, D., Devin, E., Delhommelle, A., Motti, G., Precausta, D., Pechard, F. et Chatelin, S. (2010).** *Le saturnisme intoxication par le plomb*. Agence Régionale de Santé du Centre. (Ed.).
154. **Truchon, G., Tardif, R., Lavoué, J., Drolet, D., Lévesque, M. et Boucher, J. (2012).** *Guide de surveillance biologique de l'exposition Stratégie de prélèvement et interprétation des résultats (7^e édition)*. Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail. (Ed.).
155. **Turcot, J., Deshaies, P., Letourneau, G., Ostiguy, C. et Pham, Q-B. (2003).** *L'exposition au plomb (2^e édition)*. Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec. (Ed.). Vol. (2).
156. **Valéry, A., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P. et Lomri, A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74(7), 636-643. doi:10.1016/j.rhum.2006.12.009.
157. **Wadood, A., Ghufuran, M., Babar Jamal, S., Naeem M., Khan A., Ghaffar R. et Asnad. (2013).** Phytochemical Analysis of Medicinal Plants Occurring in Local Area of Mardan. *Biochem Anal Biochem*. Vol. 2, 1-4. doi.org/10.4172/2161-1009.1000144.
158. **Wallace, R.J. (2004).** Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of Nutrition Society*. 63: 621–629. En ligne <http://www.formatex.info/microbiology2/396-406.pdf>.
159. **Wang, J., Yang, Z., Lin, L., Zhao, Z., Liu, Z. et Liu X. (2012).** Protective effect of Naringenin against lead-induced oxidative stress in rats. *Biological Trace Element Research*, 146:354–359. doi: 10.1007/s12011-011-9268-6.
160. **Wassmann, S., Wassmann, K. et Nickenig, G. (2004).** Modulation of Oxidant and Antioxidant Enzyme Expression and Function in Vascular Cells. *American Heart Association*, 44(4), 381-386. doi: 10.1161/01.HYP.0000142232.29764.a7.

161. **Waxman, D.J. (1990).** Glutathione 5-Transferases: Role in Alkylating Agent Resistance and Possible Target for Modulation Chemotherapy. *CANCER RESEARCH*. Vol.(50): 6449-6454. En ligne: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/50/20/6449.full.pdf>.
162. **Weckbercker, G. et Cory, J.G. (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters*. Vol. 40(3): 257-264.
163. **Wenger C. et al., (1984).** Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem the C.V. Mosby Co. St Louis.1094-1098. Cite par fiche technique SPINREACT. Ref: 41245 et 41246.
164. **WHO. (2001).** *Air Quality Guidelines (Second Edition)*. Chapter 6.7: Lead. Regional Office for Europe, Denmark.
165. **Wiert, C. (2006).** Anti-inflammatory plants ethnopharmacology of medicinal plants: asia and the pacific. USA: Totowa.
166. **Xu, J., Lian, L-j., Wu, C., Wang, X-f., Fu, W-Y. et Xu, L-H. (2008).** Lead induces oxidative stress, DNA damage and alteration of Bax and Bcl-2 expressions in mice. *Food and chemical toxicology*, 46: 1488–1494. doi:10.1016/j.fct.2007.12.016.
167. **Yagi, K. (1976).** Simple fluorimetric essay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.* Vol. (15), 212-216. En ligne <https://www.bioassaysys.com/Datasheet/DTBA.pdf>.
168. **Yazbecka, C., Cheymol, J., Dandres, A.-M. et Barbercy-Courcoux, A.-L. (2006).** Intoxication au plomb chez la femme enceinte et le nouveau-né: bilan d’une enquête de dépistage. *Archives de pédiatrie*, Vol. (10), 1-5. doi:10.1016/j.arcped.2006.09.016.
169. **Yiin, S.J. et Lin, T.H. (1995).** Lead-catalyzed peroxidation of essential unsaturated fatty acid. *Biological Trace Element Reseach*, 50(2):167-72. En ligne: <http://link.springer.com/article/10.1007/BF02789419#page-1>.
170. **Zaki, M.d. et Asyikin, N. (2015).** Microwave drying characteristics and antidiabetic properties of *Aquilaria subintegra* and *Aquilaria malaccensis* leaves. *Advanced Materials Research*, 1113: 352-357. doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.1113.352.
171. **Zulkif, N.L., Omar, N.A., Tajudin, S.N. et Shaari, M.R. (2013).** Antidiabetic activities of malaysian agarwood (*Aquilaria Spp*) leaves extract. *Biotochnologiy*, 13: 5-7. En

ligne: <http://umpir.ump.edu.my/5602/1/scan0001.pdf>.

ANNEXES

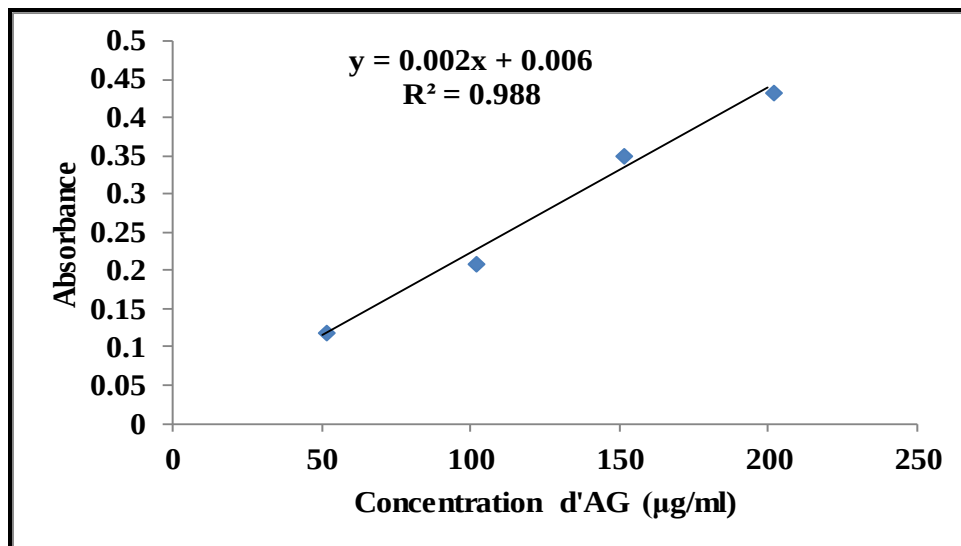


Figure: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénolstotaux.

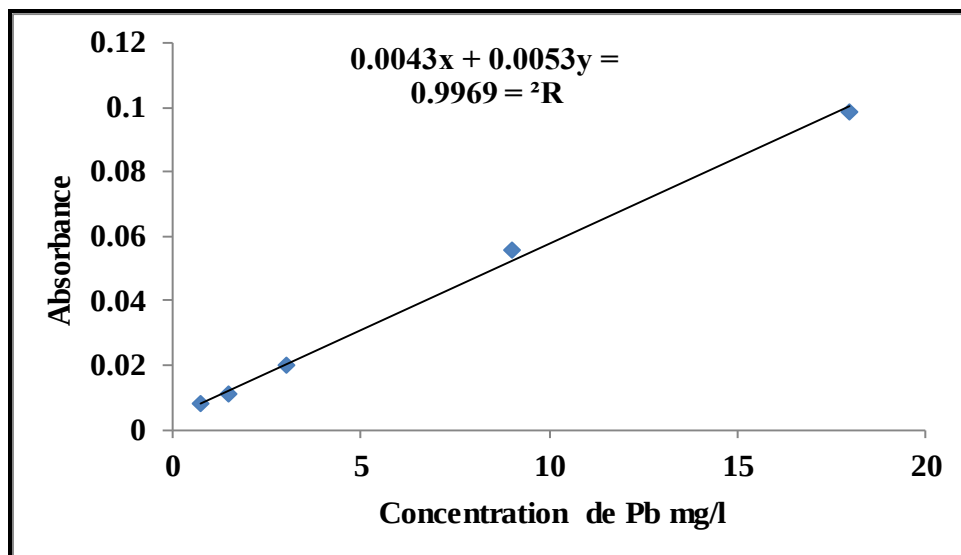


Figure: Courbe d'étalonnage de plomb.

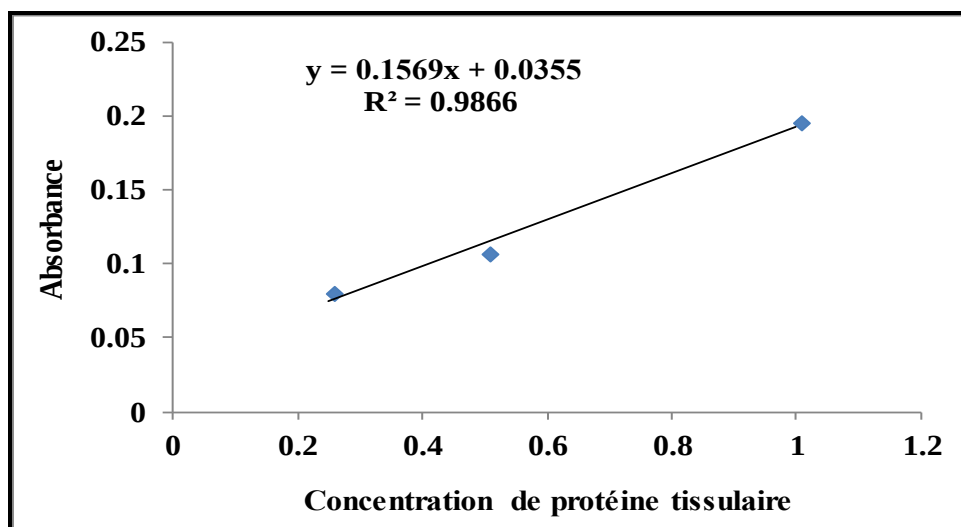


Figure: Courbe d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines tissulaire.



Figure: Analyseur clinique automatisé de type BIOLIS 24I (photo originale).



Figure: Analyseurs d'hématologie de type Medonic (photo originale).



Figure: Bain-marie de type MEMMERT (photo originale).



Figure: Centrifugeuse horizontale de type SIGMA (photo originale).



Figure: Étuve de type MEMMERT (photo originale).



Figure: Évaporateur rotatif de type Büchi Rotavapor R-200 (photo originale).

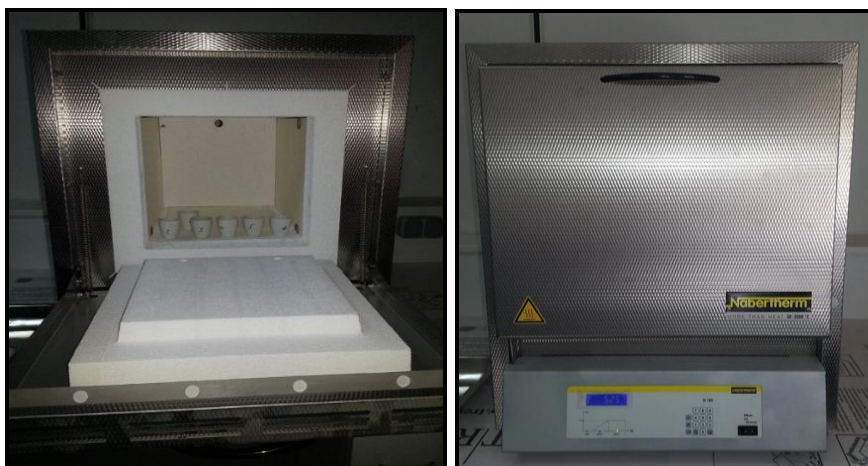


Figure: Four à moufle de type Nabertherm (photo originale).

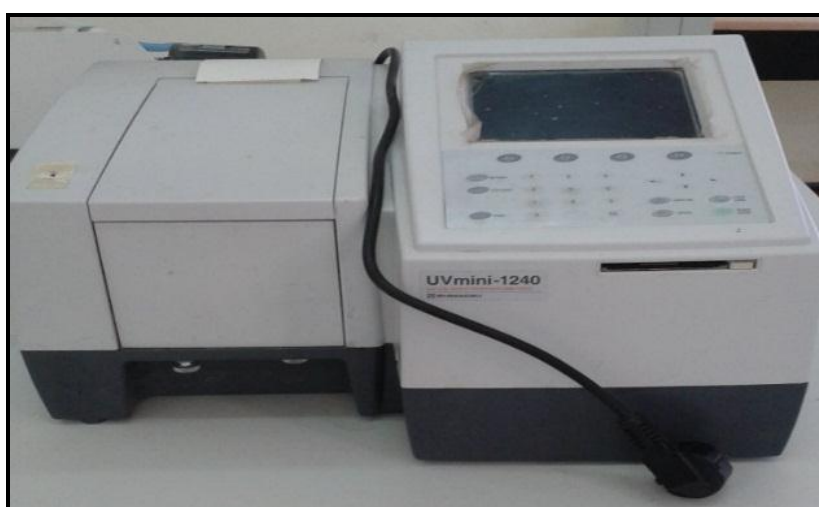


Figure: Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS -1240 (photo originale).



Figure: Microscope optique de type OPTIKA lié à un appareil photo (photo originale).

Résumé

L'objectif de ce travail est étudié les effets d'*Aquilaria malaccensis* et *Aristolochia longa* combinés sur certains paramètres biochimiques, hématologiques d'une part, et d'autre part sur le stress oxydant et structure tissulaire des reins, chez des rattes exposées de façon sub-chroniques d'acétate de plomb (100 mg/kg), pendant 75 jours. Il s'agit d'une étude expérimentale menée au laboratoire sur 25 rattes femelle de la souche Wistar répartis en cinq lots de cinq rattes chacun dont le premier lot sert de témoin, le second est un lot contaminé par le plomb, le troisième est un lot contaminé par le plomb et traité par *A. malaccensis*, le quatrième est un lot contaminé par le plomb et traité par *A. longa* et le cinquième lot est un lot contaminé par le plomb et co-traité par *A. malaccensis* et *A. longa*. À partir de l'analyse de nos résultats, on observe une diminution considérable de poids corporel des rattes contaminées au plomb et une augmentation du poids relatif des organes prélevés (foie, rein et cœur). Les résultats ont montré aussi des changements notables dans les paramètres biochimiques caractérisés surtout, par une augmentation significative de la concentration sérique du glucose, de l'urée et activité de PAL avec une légère augmentation sérique de la créatinine, de l'acide urique, TGO et TGP. Alors que, la concentration de calcium a été diminuée. Cependant, les activités des transaminases (TGO, TGP), de PAL sérique ont présenté une augmentation et les transaminases tissulaires (TGO et TGP hépatique) et TGO myocardique ont présenté une diminution important chez les rattes contaminées. Les résultats obtenus révèlent également une toxicité hématologique et stress oxydatif chez les lots contaminés au plomb, avec une diminution du taux des globules rouges, d'hémoglobine, des granulocytes, GSH et activité des GST et une augmentation du taux de MDA et activité de la CAT dans les tissus (foie, reins, cœur et cerveau). Aussi, les résultats ont montré clairement des altérations de structures de tissus étudiés en comparaison avec les témoins, avec hémorragie, inflammation et dégénérescences tubulaires avec nécrose des reins. Le traitement par l'*A. malaccensis* et l'*A. longa* à presque normaliser les paramètres biochimiques et hématologiques en réduisant le plomb tissulaire, avec protection et régénération du tissu rénale contre les attaques radicalaires provoquées par le plomb. En conclusion, cette étude montre que le traitement par *A. malaccensis* et *A. longa* induit un effet bénéfique contre la toxicité de plomb au niveau moléculaire et tissulaire avec dominance de l'effet d'*Aristolochia longa*. Ainsi, notre plantes avoir un effet protecteur vis-à-vis des pathologies associées au stress oxydatif.

Mots clés: plomb, toxicité, *Aquilaria malaccensis*, *Aristolochia longa*, stress oxydant, rattes Wistar.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير المعالجة المشتركة لنباتات العود (*Aquilaria malaccensis*) والزراوند (*Aristolochia longa*) على بعض المعايير البيولوجية من جهة، وعلى الإجهاد التأكسدي البنية النسيجية من جهة أخرى، عند الفئران المعرضة بطريقة شبه مزمنة لخلات الرصاص (100 ملغ/كغ) لمدة 75 يوما. الدراسة التجريبية أجريت في المختبر على 25 فأرة من سلالة وستار مقسمة إلى خمس مجموعات، خمسة فئران في كل منها حيث المجموعة الأولى شاهدة، الثانية ملوثة بالرصاص الثالثة ملوثة بالرصاص ومعالجة بالعود، الرابعة ملوثة بالرصاص ومعالجة بالزراوند والمجموعة الخامسة ملوثة بالرصاص ومعالجة بالعود وزراوند معا. من خلال تحليل النتائج، نلاحظ انخفاض كبير في وزن جسم الفئران الملوثة بالرصاص وزيادة الوزن النسبي للأعضاء المدروسة (الكبد، الكلى والقلب). أظهرت النتائج أيضا تغييرات ملحوظة في المعايير البيولوجية التي تتميز أساسا بزيادة كبيرة في تركيز السكر في الدم، اليوريا، نشاط الفسفاتاز القلوي مع زيادة طفيفة للكرياتينين في مصل الدم، حمض اليوريك وانزيمات نقل مجموعة الأمين. في حين أن تركيز الكالسيوم قد انخفض. ومع ذلك، فإن نشاط انزيمات نقل مجموعة الأمين، الفسفاتاز القلوي أظهر زيادة في مصل الدم وانزيمات نقل مجموعة الأمين في النسيج الكبدي وعضلة القلب أظهرت انخفاض ملحوظ في الفئران الملوثة. النتائج المتحصل عليها تكشف أيضا عن سمية دموية وإجهاد تأكسدي خاصة عند المجموعات الملوثة بالرصاص، مع انخفاض في خلايا الدم الحمراء، الهيموغلوبين، الخلايا المحببة، الجلوتاثيون المختزل ونشاط انزيم ناقل جلوتاثيون وزيادة معدل بيروكسيد الدهون ونشاط الكتلز في الأنسجة (الكبد والكلى والقلب والدماغ). أيضا، النتائج أظهرت بوضوح تغييرات في هياكل نسيج الكلية بالمقارنة مع الشاهد، مع نزيف، التهاب، نخر كبدي وتشوه أنبوبي مع نخر في الكلى. المعالجة بالعود وزراوند يعيد إلى الحالة الطبيعية تقريبا المعايير البيولوجية والدموية عن طريق خفض الرصاص في الأنسجة، مع حماية النسيج الكلوي من هجمات الجذور الحرة الناجمة عن الرصاص. في الختام، هذه الدراسة تبين أن العلاج بالعود وزراوند يحرض على تأثير مضاد لسمية الرصاص على المستوى الجزيئي والنسجي مع أفضلية لنبات الزراوند. وبالتالي، النباتين لهما تأثير وقائي مع الأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: الرصاص، السمية، العود، زراوند، الإجهاد التأكسدي، فئران ويستار.