



République Algérienne Démocratique et Populaire

N série:.....

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمزة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

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

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

Effet protecteurs de rhizomes d'*Aristoloshia longa*, le zinc et le nanoparticule d'oxyde de zinc contre des altérations physiologiques induit par le nickel chez les rattes Wister

Présentés Par:

LAIB Ibtissam & ZERIBIT Wiame

Devant le jury composé de :

Président : Dr. DJAHRA ALI Boutlilis . M.C.A, Université d'El Oued.

Examineur : M^{me} . AOUMER Meriem. M.A.A, Université d'El Oued

Promoteur : Dr. DEROUICHE Samir. M.C.A, Université d'El Oued

Année universitaire 2018/2019

Dédicaces

*Une dédicace particulière et sincère à notre enseignant **Dr DEROUICHE SAMIR**,*

Je Dédie ce modeste travail

*À ma cher mère **BEGGASSE NACIRA** et l'esprit **mon cher père**, pour leur
endurance et leurs sacrifices sans limites*

*À mes frères : **BACHIR, ABDELMADJID, AYOUB, FAISSAL** et **BAHA
EDDINE**. Et ma sœur : **SOUMAJA** reconnaissance de leur affection toujours
constante*

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

Ibtissam

Je Dédie ce modeste travail

*À ma cher mère **FOUZIA MOUSTFOU** et mon cher père **SADAK**, pour leur endurance
et leurs sacrifices sans limites*

*À mes frères : **SOUFIANE, SAMEUL** et **ABD EL KARIM** et mes sœurs : **BESMA,
KHAWLA** et **MARIA**, en reconnaissance de leur affection toujours constante*

*À mon fiancé **AYMEN BEAKKARI***

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

Wiam

Remerciements

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

À notre président de mémoire, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette mémoire.

*Hommage respectueux À notre jury de mémoire **Dr DJAHRA ALI BOUTLILIS***

*À notre jury de mémoire **M^{me} AOUMEUR.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 **DR .DEROUICHE SAMIR**, Son aide et ses précieux conseils, nos ont permis d'avancer plus loin dans mes recherches. Il a suivi mes travaux avec intérêt tout en nous prodiguant des conseils toujours justes et il a su nous redonner courage et aider à traverser des moments difficiles et des instants de doute. Aussi pour son soutien, son attention, son qualités humaines. Pour tout cela, nous tiens à lui exprimer toute nos gratitude et tous particulièrement à le remercier profondément.*

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

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

Résumé

L'objectif de ce travail est l'étudié l'effet protecteur de l'*Aristolochia longa*, le zinc et les nanoparticules de zinc contre la variation des paramètres biochimiques et de stress oxydatif chez des rattes exposées de façon aiguë au nickel. Il s'agit d'une étude expérimentale menée au laboratoire sur 25 rattes femelles de la souche wistar répartis en cinq lots de cinq rattes chacun dont le premier lot sert de témoin, le second lot est contaminé par le nickel (20mg/kg), le troisième lot est contaminé par le nickel et traité par zinc nanoparticule, le quatrième lot est contaminé par le nickel et traité par l'*A. longa*, le cinquième lot est contaminé par le nickel et traité par le zinc pendant 20 jours. Des paramètres biochimiques et de stress oxydatif ont été analysé sur les rattes des différents groupes traités pour évaluer l'efficacité de différent systèmes thérapeutiques. À partir de l'analyse de nos résultats, on observe une diminution considérable de poids corporelle des rattes contaminées par le nickel et une augmentation de poids relatifs de certain organes prélevés (reins et poumon) chez le groupe contaminé par le Ni par rapport au témoin. Les résultats ont montré aussi des changements notables dans les paramètres biochimiques par une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique d'acide urique, urée, et cholestérol avec une augmentation important de taux de protéine totale. Cependant, l'activité sérique des transaminases (TGO et TGP) ont présenté une augmentation remarquable ($p < 0.05$) chez les rattes contaminées par le nickel en comparaison avec le témoin. Les résultats obtenus révèlent également une bioaccumulation de Ni et un stress oxydatif chez lot contaminée par le nickel, avec une augmentation de niveau de Ni hépatique, de l'MDA tissulaire (rein, cœur et poumon) et la synthèse des antioxydants total et une diminution de niveau de GSH et de l'activité de SOD et GST tissulaire. Le traitement par nanoparticule de l'oxyde de zinc, L'*A. longa* et zinc améliore les paramètres biochimiques et réduisant le taux du nickel tissulaire, avec protection des organes contre les attaques oxydatif radicalaires induit par le nickel. En conclusion, cette étude montre que les traitements par l'*A. longa*, le zinc et surtout la nouvelle molécule de nanoparticule d'oxyde de zinc synthétisé biologiquement à base de l'*A. longa* induit un effet bénéfique contre la toxicité de nickel au niveau moléculaire et tissulaire.

Mots clé : Nickel, Nanoparticule d'oxyde de zinc, *Aristolochia longa*, Zinc, Stress oxydant, rattes Wistar.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة التأثير الوقائي لنبات الزراوند الشائع بإسم (برستم) والزنك وللجسيمات النانوية للزنك ضد تباين المعايير البيولوجية والإجهاد التأكسدي في الفئران المعرضة بطريقة حادة للننكل. 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 بالننكل (20مغ/غ)، الثالثة ملوثة بالننكل ومعالجة بالجسيمات النانوية للزنك، الرابعة ملوثة بالننكل ومعالجة بالزراوند والمجموعة الخامسة ملوثة بالننكل ومعالجة بالزنك لمدة عشرين يوماً. وقد تم تحليل المعايير البيولوجية والإجهاد التأكسدي على مختلف فئران المجموعات المعالجة. لتقييم فعالية النظم العلاجية المختلفة. من خلال تحليل النتائج، نلاحظ انخفاضاً كبيراً في وزن جسم الفئران الملوثة بالننكل وزيادة الوزن النسبي لبعض الأعضاء المدروسة (الكلى والرئتين) في المجموعة الملوثة بالننكل مقارنةً بالشاهدة. أظهرت النتائج أيضاً تغييرات ملحوظة في المعايير البيولوجية بزيادة كبيرة ($p < 0.05$) في تركيز مصل حمض اليوريك واليوريا والكوليسترول مع زيادة كبيرة في مستويات البروتين الكلي. ومع ذلك، أظهرت أنشطة انزيمات نقل مجموعة الأمين في المصل زيادة ملحوظة ($p < 0.05$) في الفئران الملوثة بالننكل مقارنةً بالشاهدة. النتائج المتحصل عليها تكشف أيضاً على التراكم البيولوجي للننكل والإجهاد التأكسدي في المجموعة الملوثة بالننكل، مع زيادة مستويات الننكل الكبدية ومعدل بيروكسيد الدهون (الكلى والقلب والرئة) و تركيب مضادات الاكسدة الكلية و انخفاض مستوى الجلوتاثيون المختزل و نشاط انزيم ناقل الجلوتاثيون و فائق أوكسيد الديسموتاز في الانسجة. يحسن العلاج بالجسيمات النانوية لأكسيد الزنك والزراوند والزنك المعايير البيولوجية و يقلل من مستوى الننكل في الانسجة، مع حماية الأعضاء من هجمات الجذور الحرة المؤكسدة الناجمة على الننكل. في الختام ، تبين هذه الدراسة أن العلاج بالزراوند و الزنك و خاصة الجزئي الجديد للجسيمات النانوية للزنك التي تم تركيبها بيولوجياً بناء على الزراوند يحرض على تأثير مضاد لسمية الننكل على المستوى الجزيئي و النسيجي.

الكلمات المفتاحية: الننكل، أكسيد الزنك النانوية، زراوند، الإجهاد التأكسدي، فئران ويستار.

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Mécanisme d'action de nickel sur les cellules	6
Figure 2	Mécanisme de l'absorption du zinc	10
Figure 3	Différents mécanismes de pénétration des nanomatériaux dans la cellule	13
Figure 4	<i>Aristolochia longa</i>	15
Figure 5	Rhizomes <i>Aristolochia longa</i> (photo originale).	18
Figure 6	Schéma récapitulatif du protocole expérimental de l'étude	20
Figure 7	Méthode de préparation l'extrait aqueux de l'A.longa.	21
Figure 8	Méthode de préparation de nanoparticule d'oxyde de zinc	22
Figure 9	Les valeurs d'IC 50 de l'acide ascorbique, A.longa et ZnO	33
Figure 10	Spectroscopie infra rouge de zinc nanoparticule de zinc	34
Figure 11	Spectre d'absorption UV-Vis du mélange réactionnel d'extrait aqueux A. longa.	34
Figure 12	Activité antibactérienne de différentes concentrations de nanoparticule de zinc sur deux bactéries	35
Figure 13	Variation du Poids relatif de foie, reins, cœur et poumon chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	36
Figure 14	Variation des concentrations hépatique du nickel et de zinc chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	37
Figure 15	Répartition de NPs-ZnO entre les organes.	37
Figure 16	Concentrations sériques d'urée, créatinine, acide urique, triglycéride, cholestérol et protéine totaux chez les groupes témoin et les groupes expérimentaux.	39
Figure 17	Activité hépatique de TGO et TGP chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	39
Figure 18	La peroxydation lipidique (MDA) au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	41
Figure 19	Variation des concentrations tissulaire de glutathion (GSH) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	41
Figure 20	Variation de l'activité tissulaire de glutathion S-transférase (GSTs) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	42
Figure 21	Concentrations tissulaires de super oxyde dismutase (SOD) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	43
Figure 22	Evaluation de pouvoir antioxydant plasmatique chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	43

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Quelques caractéristiques physico-chimiques du nickel.	3
Tableau 2	Les principales caractéristiques physico-chimiques du zinc	9
Tableau 3	Classification d' <i>Aristolochia longa</i>	16
Tableau 4	Composition de régime standard	18
Tableau 5	Composants phytochimique de l'extrait aqueux d' <i>A. longa</i> .	32
Tableau 6	Quantité de polyphénols et flavonoïde de l'extrait aqueux d' <i>A. longa</i>	32
Tableau 7	Gain du poids et taux de mortalité chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.	36
Tableau 8	Corrélation entre la concentration NPs-ZnO et les paramètres de stress oxydatif.	44

SOMMAIRE

Dédicaces	
Remerciements	
Résumé	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
SOMMAIRE	
LISTE DES ABREVIATIONS	
Introduction	
PREMIÈRE PARTIE Synthèse bibliographique	
CHAPITRE I: NIKEL	
1. Définition	3
2. Propriétés physico-chimiques du nickel	3
3. Sources d'exposition	3
4. Métabolisme	4
4.1. Absorption	4
4.1.1. Absorption respiratoire	4
4.1.2. Absorption orale	4
4.1.3. Absorption cutanée	4
4.2. Distribution du nickel dans les tissus	5
4.3. Élimination du Nickel	5
5. Mécanisme d'action de nickel sur les cellules	5
6. Effets du Nickel sur l'organisme	6
6.1. Effets du nickel sur les reins	6
6.2. Effets du Nickel sur le système hépatique	6
6.3. Effets du Nickel sur l'appareil respiratoire	7
7. Nickel induit le stress oxydatif	7
7.1. Altération de l'ADN	7
7.2. Oxydation des protéines	7
7.3. Peroxydation lipidique	8
7.4. Défense antioxydants contre la toxicité du nickel	8

CHAPITRE II : Le zinc et nanoparticule d'oxyde de zinc	
I. Zinc	9
1. Définition	9
2. Métabolisme de zinc	9
2.1. Absorbation	9
2.2. Distribution du zinc dans l'organisme	10
2.3. Excrétion et élimination du zinc	10
3. Rôle biologique de zinc	11
4. Zinc et stress oxydatif	11
II. Nanoparticule d'oxyde de zinc	12
1. Définition	12
2. Propriété	12
2.1. Propriété physicochimique	12
2.2. Propriété biologique	13
3. Importance biomédicale	13
3.1. Activité antioxydant	14
3.2. Activité antibactérienne	14
CHAPITRE III: Aristolochia longa	
1. Définition d'Aristolochia longa	15
2. Description botanique	15
3. Classification	16
4. Localisation géographique	16
5. Utilisation thérapeutique	16
DEUXIEME PARTIE: PARTIE PRATIQUE	
CHAPITRE I: Matériel et méthodes	
I- Matériels	18
1. Matériel végétal	18
2. Les animaux	18
2.1. Condition d'élevage	18
2.2. Traitement des animaux	19
2.3. Sacrifice et prélèvement de sang et organes	19
3. Réactif et produits utilisés	20
II- Méthodes	21
1. Méthode d'Etude in-vitro	21

1. 1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux	21
1. 2. Méthode de préparation de nanoparticule d'oxyde de zinc	21
1. 3. L'analyse phytochimiques	22
1. 4. Méthode de dosage des polyphénols totaux	23
1.5. Méthode de dosage des Flavonoïdes	23
1.6. Méthode d'analyse de l'activité antioxydant (test DPPH)	24
1.7. Méthodes d'activité antibactérienne de NPs-ZnO	24
2. Méthode d'étude in-vivo	26
2.1. Méthode de dosage du nickel et du zinc tissulaire	26
2.2. Détermination des paramètres Biochimique	26
2.3. Dosage des paramètres de stress oxydatif.	27
CHAPITRE II: RUSLTATS	
I. Résultats de l'étude in-vitro	32
1. Analyse qualitative et quantitative des molécules phytochimiques	32
2. Teste antioxydant (DPPH)	33
3. Caractérisation de nanoparticule d'oxyde de zinc par Analyse spectroscopique	33
4. Activité antibactérienne de nanoparticule d'oxyde de zinc	34
II. Résultats de l'étude in-vivo	35
1. La croissance corporelle, le poids relatif des organes et le statut de nickel et zinc tissulaire chez les rattes contaminées par le nickel.	35
2. Étude des paramètres biochimiques	38
3. Étude des paramètres enzymatiques	39
4. Étude des paramètres de stress oxydatif	40
5. Corrélacion entre la concentration NPs-ZnO et les paramètres de stress oxydant	44
CHAPITRE III: DISCUSSION	
I. Discussion	45
1. Étude qualitative et quantitative des molécules phytochimiques	45
2. Étude d'activité antioxydant (DPPH)	45
3. Étude de la croissance corporelle et le poids relatif des organes	46
4. Étude de la concentration tissulaire du nickel et du zinc	47
5. Étude des paramètres biochimiques	49
6. Étude des paramètres enzymatiques	51
7. Étude des paramètres de stress oxydatif	53
CONCLUSION	57

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	59
ANNEXES	78

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
CAT	Catalase.
Cu/Zn-SOD	Superoxyde dismutase aux ions cuivre et zinc.
DPPH	Diphenyl picryl hydrazy
EDTA	Éthylène diamine tétraacétique
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power Assay
GPx	Glutathion peroxydase.
GRAS	Generally Recognized as Safe
GSH	Glutathion réduit
GST	Glutathion S-transférase.
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
HO [•]	Radical hydroxyl.
MDA	Malondialdéhyde.
LPO	Les peroxydes lipidiques.
MT	métallo-thionéine
NADPH	Nicotinamide dinucleotide phosphate
NAG	<i>N</i> -acétylglucosamine
NPs	Nanoparticules
NPs-ZnO	Nanoparticules des oxyde de zinc
O ₂ [•]	Radical superoxyde (anion superoxyde).
ROS	Espèces activées de l'oxygène.
SOD	Superoxyde dismutase.
TGO	Glutamate oxalo acétate-transaminase
TGP	Transaminase glutamique pyruvique

Introduction

Introduction

Le développement rapide des sciences technologiques, des industries (chimiques et métalliques), de la médecine et de l'agriculture a exposé l'homme et son environnement aux nombreux métaux lourds toxiques. Leurs présences dans l'eau, l'atmosphère et par conséquent, la chaîne alimentaire, est certainement le cas le plus intéressant parmi les problèmes majeurs de notre époque, notamment pour les pays en voie de développement (Das et *al.*, 2002).

Les métaux lourds tels que le nickel, le cadmium, le plomb et autres s'accumulent dans l'organisme et provoquent des effets toxiques à court et/ou à long terme. Ils peuvent affecter le système nerveux, les fonctions rénales, hépatiques et respiratoires (Harber et *al.*, 2000 ; Lauwerys, 2003). La nature de leur toxicité peut varier en fonction de la forme sous laquelle ils pénètrent dans l'organisme (métal lui-même, vapeur, dérivés inorganiques ou organiques, hydro-ou liposoluble, etc.). Le nickel se présente sous des formes chimiques différentes, mais il ne pénètre efficacement dans les cellules que sous la forme cationique bivalente (Ni^{2+}) ou sous forme de chlorure ou de sulfate de nickel. L'ion nickel peut provoquer des lésions directes sur tous les composants cellulaires : peroxydation des lipides, protéines et des acides nucléiques, due aux attaques des radicaux libres générées par le nickel (Audrey et *al.*, 2015). Avec ces radicaux ou indirectement en produisant des peptides comme les métallothionéines ou le glutathion (Lou et *al.*, 2013). De nombreuses études indiquent une production massive d'espèces oxydantes et l'inhibition des activités des principales enzymes antioxydantes due à la cytotoxicité du nickel dans une cellule peuvent favoriser une mort cellulaire excessive ou une évolution tumorale.

Les effets oxydatifs des métaux lourds peuvent être réduits par les antioxydants endogène et exogène puissants protègent le corps contre les attaques des radicaux libres (Hattiwale et *al.*, 2013).

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. *Aristolochia longa* L est une plante très utilisée dans la médecine traditionnelle dans le traitement de cancer et autre maladie chronique dans plusieurs régions de l'Algérie.

Le zinc fait partie de système biothérapie caractérisé par son haute pouvoir antioxydant qui joue un rôle dans la diminution de la production de ROS (Fernandez et *al.*, 2003). Il est vital pour le développement et les fonctions mammaires, joue un rôle important dans la régulation du glutathion cellulaire et il est vital pour la défense cellulaire surtout contre le stress oxydatif (Sameeh et *al.*, 2009).

Introduction

D'autre part, la forme nano d'oligoélément dont le zinc a diverses propriétés par rapport aux produits chimiques respectifs. Des effets toxicologiques de NP métalliques sur des organismes, ont été rapportés. De plus, le ZnO est classé comme une substance « GRAS » (généralement reconnue comme étant sans danger) par la US Food and Drug Administration (FDA) (Rasmussen et *al.*, 2010). Cependant, à notre connaissance, il n'existe encore aucun rapport sur l'effet des NPs, à cause application potentielle dans le domaine de la médecine comme la délivrance de médicaments, les activités biologiques telles que les antioxydants les antimicrobiens...etc.

À la lumière de ces données, notre objectif pour ce travail est d'évaluer les effets toxiques du nickel chez des rattes et étudier l'efficacité de systèmes thérapeutiques basé sur un supplément de zinc, de la phytothérapie par l'*Aristolochia longa* et par une nouvelle forme de zinc ; zinc nanoparticule (ZnNPs) synthétisé biologiquement à base de l'*Aristolochia longa* chez des rattes de la souche Wistar.

Nous allons pour cela mis au point sur le dosage des paramètres biochimiques sanguins ainsi que l'évaluation des paramètres du stress oxydant tissulaire.

PREMIÈRE PARTIE

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I

NIKEL

1. Définition

Le nickel est un métal lourd, blanc argenté. C'est un allergène puissant, ubiquitaire et un carcinogène prouvé (Stoltz et al., 2003) et polluant de l'environnement, agit comme un stress oxydant induisant une cytotoxicité (Forgacs, Z et al., 1998). Cette cytotoxicité démontrée en mesurant les produits de peroxydation lipidique.

2. Propriétés physico-chimiques du nickel

Le nickel (Ni) est un élément chimique métallique blanc argenté symbole Ni et numéro atomique 28. Il a la structure électronique [Ni] 4s² 3d⁸, et il fait partie des éléments de transition qui se trouvent dans bloc **d** du tableau périodique (Cotton et wilkinson 1988 ; Nieboer et al., 19988).

Tableau 01 : Quelques caractéristiques physico-chimiques du nickel. (Cotton et wilkinson 1988; Nieboer et al., 19988).

Symbole chimique	Ni
Numéro atomique	28
Masse atomique	58,71
Structure cristalline	Cubique à face centrée (a = 0,352 nm)
Densité (à 20°)	8,902 g/cm ³
Température de fusion	1452 °C
Température d'ébullition	2732°C
Résistivité électrique à 20 °C	6,9 μ ohm.cm
Conductibilité thermique à 0-100 °C	90,9W/ (m.K)
Configuration électronique	[2,8,6] 3d ⁸ 4s ²
Isotopes	de 56 à 66

3. Sources d'exposition

Le nickel est une substance ubiquitaire que l'on retrouve dans le milieu naturel dans le sol, l'air, eau plante (Harasim et Filipek., 2015) essentiellement dans les minerais sulfurés extraits des sous-sols et dans les minéraux silicates se trouvant en surface. Dans l'environnement, le nickel est surtout combiné à l'oxygène (oxydes) et au soufre (sulfures) (Tebani, 2013).

La présence de nickel dans la nourriture est due à deux facteurs principaux : l'absorption par les plantes (dont certaines concentrent jusqu'à 1000 fois le taux retrouvé habituellement dans le sol) et la contamination secondaire des aliments par l'utilisation

d'ustensiles en acier inoxydable, pour leur préparation, cuisson, conservation, transformation et ce d'autant plus que ces derniers sont plus acides. La viande et le poisson sont également relativement riches en nickel et ceci d'autant plus que l'âge des animaux augmente. Les produits laitiers et les boissons sont plutôt pauvres en nickel. Les margarines contiennent des quantités de nickel élevées, puisque celui-ci est utilisé comme catalyseur dans l'hydrogénation commerciale (Stoltz et *al.*, 2003; Brun., 1979).

4. Métabolisme

4.1. Absorption

L'absorption du nickel est directement corrélée avec la solubilité des composés, les plus solubles étant les mieux absorbés par les tractus pulmonaire et digestif, et moins par la peau (Ishimatsu et *al.*, 1995).

4.1.1. Absorption respiratoire

Le nickel et ses composés sont absorbés par les voies respiratoires. Environ 20 à 35 % du nickel inhalé sous forme de composés peu solubles sont absorbés dans le sang à partir des voies respiratoires. Les composés solubles du nickel tels que le chlorure, et le sulfate de Nickel sont plus facilement absorbés par le tractus respiratoire (Bennett, 1984; Grandjean, 1984; Sunderman et Oskarsson., 1991).

4.1.2. Absorption orale

Par voie orale, quarante fois plus de nickel sont absorbées par le tractus gastro-intestinal. Le sulfate de nickel administré dans l'eau de boisson est plus facilement absorbé que dans la nourriture (Sunderman et *al.*, 1989 ; Ishimatsu et *al.*, 1995). La biodisponibilité du nickel est diminuée lorsqu'il est administré dans du lait entier, du café, du thé ou du jus d'orange, et dans la nourriture (Christensen et Lagesson., 1981) ou quand l'acide Éthylène diamine tétraacétique (EDTA) est ajouté dans la nourriture. Par contre la biodisponibilité du nickel est augmentée quand il est administré dans des boissons gazeuses (Solomons et *al.*, 1982).

4.1.3. Absorption cutanée

L'absorption du nickel existe également par voie cutanée, cette voie est peu significative quantitativement mais importante cliniquement dans la pathogénie de la dermatite de contact (Ishimatsu et *al.*, 1995).

4.2. Distribution du nickel dans les tissus

La distribution du nickel varie selon la voie d'administration (Nielsen et *al.*, 1993). La distribution du nickel après l'exposition des rongeurs par voie orale s'effectue principalement dans les reins, mais aussi au niveau du foie, du cœur, des poumons, du tissu adipeux, du système nerveux périphérique, du cerveau et la moelle osseuse (Borg et Tjalve., 1988 ; Dieter et *al.*, 1988). De plus, chez l'homme le taux de Nickel dans le sérum augmente 2.5 -3 heures après l'ingestion des composés solubles de nickel (Christensen et Lagesson., 1981 ; Solomons et *al.*, 1982, Sunderman et *al.*, 1989).

4.3. Élimination du Nickel

Le nickel n'est pas un toxique cumulatif. En effet l'élimination du nickel absorbé se réalise majoritairement par les urines et le nickel non absorbé est excrété dans les fèces cependant, l'excrétion biliaire du nickel peut être quantitativement significative. (Ghezzi et *al.*, 1989 ; Angerer et Lehnert., 1990 ; Diamond et *al.*, 1998). Le Nickel peut être aussi éliminé par des voies mineures tels que la sueur, la salive, Les sécrétions gastriques, le lait maternel, les menstruations et le placenta (Grandjean et *al.*, 1989 ; Dostal et *al.*, 1989).

5. Mécanisme d'action de nickel sur les cellules

Une fois entré dans la cellule, les effets du nickel dépendent de sa solubilisation et des doses présentes d'ions Ni^{+2} . (Hansen et Stern., 1984). La capacité de captage par les cellules est directement corrélée à la capacité des dérivés du nickel à élever les taux intracellulaires. Les structures cristallines de Ni sont accumulées dans les vacuoles cytoplasmiques en périphérie du noyau où il se produit une acidification progressive avec dissolution puis relargage de Ni^{+2} à la périphérie du noyau où ont lieu des interactions préférentielles avec les régions hétérochromatiques. Il se forme alors des complexes ADN protéines et des cassures de brins (Costa et *al.*, 1981). Une autre interaction est l'inhibition de la transcription des gènes suppresseurs de tumeurs consécutive à la méthylation de l'ADN et aux modifications structurales de la chromatine (Lee et *al.*, 1995). (figure 01)

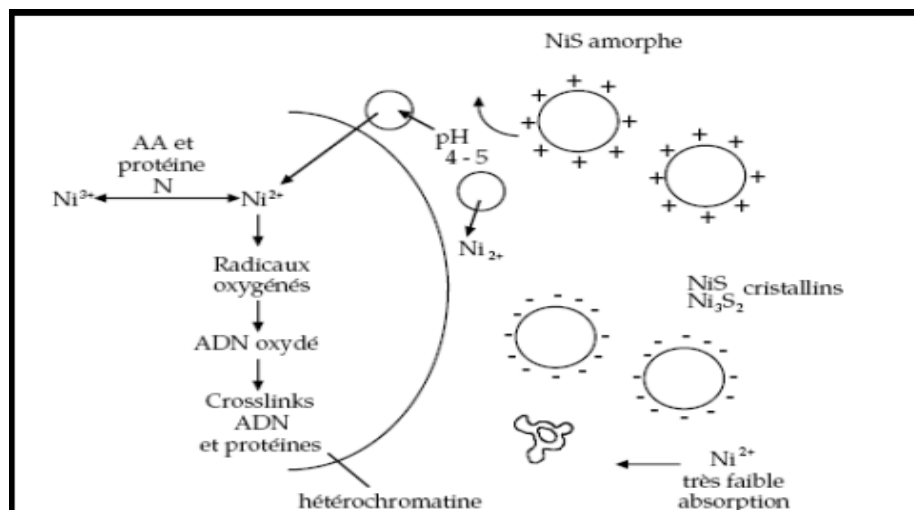


Figure 01 : Mécanisme d'action de nickel sur l'ADN (Snow et Costa., 1998).

6. Effets du Nickel sur l'organisme

L'exposition aux sels de nickel entraîne l'apparition d'effets systémiques sur les reins, le foie, les poumons, la mortalité néonatale et des effets sur le système immunitaire. Le rein et les poumons constituent les principaux organes cibles tant chez l'animal que chez l'homme (Ambrose et *al.*, 1976 ; Dieter et *al.*, 1988 ; Smith et *al.*, 1993).

6.1. Effets du nickel sur les reins

L'exposition au Nickel se traduit par le dysfonctionnement de la fonction rénale. Une augmentation des taux de la créatininémie et de l'urémie apparaît après le traitement avec le $NiCl_2$ dans l'eau de boisson, ce qui témoigne de l'installation d'une insuffisance rénale transitoire, confirmée par une altération structurale du rein, ce qui rendrait difficile les fonctions rénales de filtration et de sécrétion tubulaire. Le nickel induit par ailleurs, une baisse de l'expression de la protéine de stress (Hsp72) et de la synthèse des métallothionéines (MT) au niveau des tissus rénaux (Hfaïedh et *al.*, 2005). Chez les rates exposées au sulfate de Nickel dans l'eau de boisson montrent un changement du taux urinaire en albumine à la fois chez la femelle que chez le mâle, alors que la teneur en glucose diminue (Obone et *al.*, 1999), aucun changement n'a été rapporté concernant l'activité de γ -Glutamy transcriptase et de NAG ni les altérations histopathologiques. Par ailleurs, (Weisher et *al.*, 1980) ont observé une chute du poids du rein chez les rats exposés au chlorure de nickel administré dans l'eau de boisson.

6.2. Effets du Nickel sur le système hépatique

Chez le rat, l'intoxication par le Nickel témoigne d'une dégénérescence des hépatocytes. Ainsi, le sulfate de nickel administré par voie cutanée ou orale provoque chez le rat des effets hépatiques (Sunderman et *al.*, 1988; Pari et Prasath, 2008). De plus, chez les rats mâles et chez les souris, le sulfate de Nickel administré dans l'eau de boisson provoque une chute du

poids du foie (Obone et *al.*, 1999), alors que par gavage il ne provoque pas de chute du poids du foie chez les rats.

6.3. Effets du Nickel sur l'appareil respiratoire

Le système respiratoire est la cible principale de la toxicité du nickel qui parvient au niveau pulmonaire à cible principale de la toxicité du nickel qui parvient au niveau pulmonaire à tendance à persister au niveau des poumons. La rétention dépend notamment de la solubilité des composés et du captage cellulaire. La muqueuse nasale peut retenir du Ni pendant de nombreuses années (Torjussen et *al.*, 1978).

L'activité ciliaire des voies respiratoires supérieures a été réduite chez des hamsters et des souris exposés pendant 2 heures à du dichlorure de nickel en aérosol (Adalis et *al.*, 1978 ; Gardner., 1980). Parmi les effets observés dans les voies respiratoires, on compte une inflammation des poumons accompagnée d'une pneumonie nécrosante, d'une augmentation du nombre de macrophages alvéolaires chez les souris et une dégénérescence de l'épithélium respiratoire chez les rats et une augmentation du nombre des ganglions lymphatiques pulmonaires (Wehner et *al.*, 1981).

7. Nickel induit le stress oxydatif

La production cumulative d'espèces réactives oxygène /espèces réactives d'azote et d'azote par des insultes endogènes ou exogènes est qualifiée de stress oxydatif. Le stress oxydatif induit un déséquilibre rédox cellulaire qui s'est avéré présent dans diverses cellules cancéreuses par rapport aux cellules normales.

7.1. Altération de l'ADN

Les ROS générées pourraient endommager l'ADN de manière non sélective, ce qui pourrait entraîner des modifications génétiques dans les gènes actifs. La mutation de l'ADN est une étape critique de la carcinogenèse (Valko et *al.*, 2006). Le nickel peut se lier aux enzymes de réparation de l'ADN et générer des frées radicales oxygénées entraînant la dégradation des protéines. Ces dommages irréversibles aux protéines impliquées dans la réparation, la réplication, la recombinaison et la transcription de l'ADN pourraient être importants pour les effets toxiques du nickel (Lynn et *al.*, 1998).

7.2. Oxydation des protéines

Bien que le nickel en soi ne provoque pas une génération efficace de radicaux libres à partir d'oxygène, H₂O₂ hydroperoxydes lipidiques, la réactivité de Ni avec ces dérivés d'oxygène peut être modulée par chélation avec certains ligands contenant de l'histidine et de la cystéine (Shi et *al.*, 1993 ; Shi et *al.*, 1992). L'incubation de Ni avec de la cystéine en milieu aérobie génère le radical hydroxyle, qui réagit ensuite avec la cystéine pour générer un

radical alkyle carboné. Les radicaux libres peuvent également être générés à partir d'hydroperoxydes lipidiques par Ni en présence de plusieurs oligopeptides (Chen et *al.*, 2003). Entraînent des modifications structurales des protéines, facilitant de ce fait leur agrégation ou leur digestion par les protéases.

7.3. Peroxydation lipidique

Le nickel augmente la peroxydation lipidique dans le foie, les reins et le poumon, mesurée par la réaction de l'acide thiobarbiturique pour le Malondialdéhyde (MDA) dans des homogénats de tissu frais (Sudermann, et *al.*, 1985). La peroxydation lipidique est suivie d'un changement structural des membranes biologiques ou d'autres éléments contenant des lipides (Montagnier et *al.*, 1998).

7.4. Défense antioxydants contre la toxicité du nickel

Défense antioxydants contre la toxicité du nickel par des mécanismes appropriés sont présents dans le corps humain afin que la concentration constante de radicaux libres dérivés de l'oxygène potentiellement toxiques soit contrôlée dans des conditions physiologiques normales par le système de défense anti-oxydant intrinsèque de l'organisme. Mais une génération accrue de ces espèces réactives de l'oxygène (ROS) peut submerger les antioxydants intrinsèques des cellules et en résulter une condition connue sous le nom « oxydative stress » (Das et *al.*, 2006). Les antioxydants exogènes jouent un rôle essentiel dans la prévention des dommages cellulaires en interagissant avec les frées radicales et en mettant fin à la réaction en chaîne. une augmentation de la formation de peroxyde lipidique et une diminution des taux de glutathion, de SOD, de CAT, de GSH-Px et d'appauvrissement en acide ascorbique ont été observées dans les tissus les plus métaboliquement actifs de l'organisme, à savoir le foie et les reins (Das , et al., 2006 ; Das et *al.*, 1998).De plus, une diminution des enzymes antioxydants suggère une interaction avec les radicaux libres accumulés et les acides aminés actifs des enzymes, entraînant une altération fonctionnelle et des lésions tissulaires. (Rodriguez et *al.*, 1991).

CHAPITRE II

Le zinc et nanoparticule d'oxyde de zinc

I. Zinc

1. Définition

Le Zinc est un oligo-élément, après le fer, c'est le plus important quantitativement dans notre organisme (Burdin, 2014). Il présente des caractéristiques physicochimiques très particulières en tant qu'élément chimique (tableau 2). Il est essentiel de l'activité métabolique de nombreuses enzymes ainsi que de beaucoup d'autres protéines. Zn effectue une variété des fonctions importantes, y compris l'ADN et synthèse protéique, immunité, neurosensoriel, division cellulaire, métabolisme énergétique, plaie la guérison, la régulation de la transcription des gènes et minéralisation osseuse (Bhowmik et *al.*, 2010 ; Wood et *al.*, 2000). Le Zn agit en tant qu'antioxydant et sa carence entraîne une augmentation des lésions oxydatives des tissus (Oteiza et *al.*, 1995). Zn n'a jamais été montré pour interagir directement avec une espèce oxydante mais préfère plutôt exercer ses effets dans de manière indirecte (Powell et *al.*, 2000).

Tableau 02 : Les principales caractéristiques physico-chimiques du zinc (Loué., 1993).

Numéro atomique	30
Masse atomique	65.37 g/mol
Electronégativité de Pauling	1.6
Masse volumique	7.13g.cm-3à 20°C
Température de fusion	420°C
Température d'ébullition	907°C
Rayon atomique (Van der Waals)	0.138nm
Rayon ionique	0.074nm (+II)
Isotopes	5

2. Métabolisme de zinc

2.1. Absorption

Le zinc est un oligoélément essentiel pour la vie. Son absorption intestinale est une étape clé de son métabolisme car elle assure en grande partie la régulation de la teneur en ce métal dans le corps humain (Willis., 2005). De nombreux facteurs alimentaires et physiologiques modulent cette absorption et le transfert du zinc vers le compartiment sérique. L'absorption intestinale a lieu dans la seconde portion du duodénum ; le mécanisme de passage de la muqueuse intestinale implique la fixation du zinc sur une métallo-thionéine puis sur autre protéine dans les cellules intestinales. Le processus de transport est influencé par les

prostaglandines E2 F2 et le zinc chélaté par l'acide picolinique, dérivé du tryptophane ; une déficience en tryptophane diminue l'absorption du zinc (Goyer., 1995).

Le mode d'absorption est saturable : le zinc induit la synthèse de la métallo-thionéine, dans les cellules muqueuses intestinales. La saturation de ces dernières provoque la rétention du complexe zinc- métallo- thionine dans les cellules muqueuses qui tapissent le tractus gastro-intestinale son excrétion (figure 02) (Jakubovski., 2001).

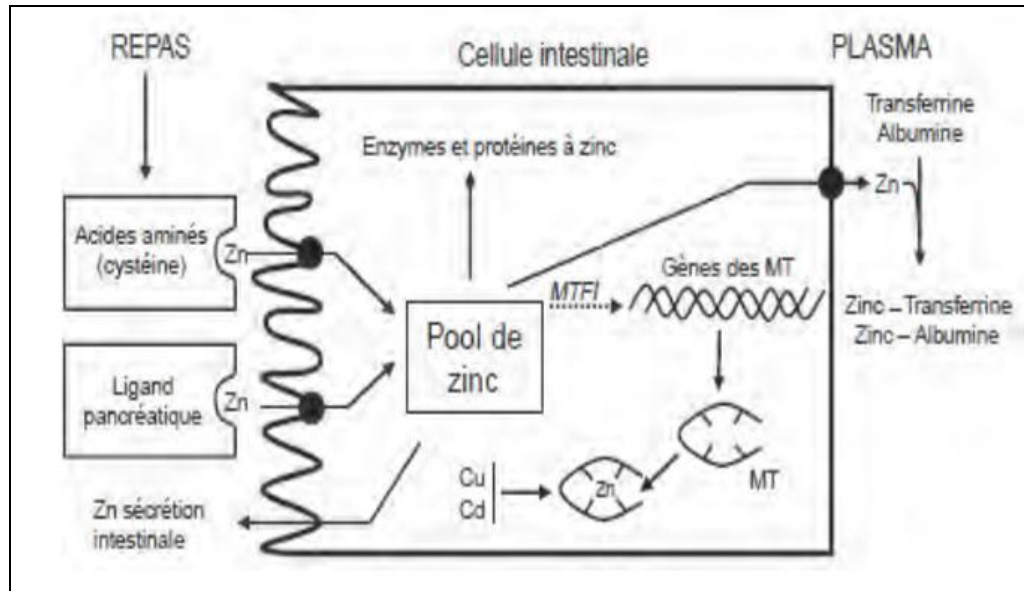


Figure 02 : Mécanisme de l'absorption du zinc (Burdin., 2014)

2.2. Distribution du zinc dans l'organisme

Le zinc est présent dans le plasma, les érythrocytes les leucocytes et les plaquettes. Dans le plasma, le zinc est fixé à des protéines principalement l'albumine (60%) et l'alpha 2 macroglobuline, et des aminoacides qui servent de transport. Initialement, le zinc est concentré dans le foie (60%) et les reins, fixé sur une métallo-thionine. La synthèse de cette protéine hépatique est stimulée quand la concentration plasmique en zinc est élevée. Puis le zinc est distribué dans tout l'organisme (Jakubovski., 2001). Le zinc traverse la muqueuse intestinale à partir de 0.4% dans la nourriture et passe dans le lait maternel (Landown., 1991). La majorité est répartie dans les muscles (60%), et dans les os (30%) ; le reste se distribue entre le foie la prostate, le tractus gastro-intestinale les reins, la peau, les poumons, le cerveau, le cœur et le pancréas.

2.3. Excrétion et élimination du zinc

L'excrétion du zinc se fait principalement par le tube digestif. Le zinc fécal (environ 10 mg/j) correspond au zinc non absorbé (67%) des aliments et à du zinc endogène (33%). Aussi, environ 0,5 mg de zinc peut être perdu chaque jour par la sueur de même que dans les urines.

Les autres fluides corporels sont également des voies importantes d'élimination du zinc (Lansdown, A.B., 1991 ; Goyer, R.A., 1995).

3. Rôle biologique de zinc

Le zinc est présent dans tous les organes, tissus et liquides du corps. La peau et les appendices sont riches en zinc : ils contiennent environ 20% du total corporel

Le zinc se lie à un certain nombre de molécules biologiques et influe sur leur conformation, leur stabilité et leur activité. Le zinc sert de catalyseur pour les enzymes responsables de la réplication de l'ADN, de la transcription génique et de la synthèse de l'ARN et des protéines. Au niveau cellulaire (Prasad et Oherleas., 1974). Il est essentiel à la survie des cellules et affecte la transduction, la transcription et la réplication du signal (Coleman., 1992 ; Vallée et Falchuk., 1993). Le zinc est important pour plusieurs fonctions humaines, notamment la croissance et le développement, le métabolisme osseux, les fonctions neuropsychiatriques et immunitaires, ainsi que la cicatrisation des plaies.1 et aussi diminue le risque relatif de cancer et de maladies cardiovasculaires et protège contre les rayons ultraviolets et des mécanismes de défense anti-oxydantes (Solomons et *al.*, 1989).

4. Zinc et stress oxydatif

Le Zn est considéré comme un antioxydant (Lansdown et *al.*, 2000). Il est un excellent antioxydant qui empêche la synthèse des radicaux libres d'oxygène qui sont responsables du stress oxydative (Fernandez et *al.*, 2003). Certaines études ont rapporté la capacité du Zn d'interagir avec les métaux tels que le cuivre et le fer et qui diminuent leurs concentrations dans différents tissus et inhibent les processus du stress oxydatif est impliqué dans la stabilisation de la membrane cellulaire, la synthèse de la métallo-thionéine (MT) et la structure de la super oxyde dismutase (SOD Cu/Zn) (Tandon et *al.*, 2001).

Le zinc a plusieurs effets antioxydants. Cofacteur de l'enzyme Cu/Zn-SOD, qui catalyse la dismutation du radical superoxyde (O_2^{\cdot}) en O_2 et H_2O_2 moins nocifs, qui sont alors détoxifiés par CAT et GPx. Il inhibe également les NADPH oxydases, entraînant une génération réduite de ROS. De plus, le zinc induit la production de MTS, d'excellents piègeurs de ROS en raison de la teneur élevée en cystéine (Prasad., 2014). La stabilisation des protéines sulfhydryliques contre l'oxydation par le zinc en est un autre. Mécanisme par lequel le zinc entrave les processus oxydatifs. Le zinc se lie directement au groupe thiol, crée un encombrement stérique en se liant près du groupe sulfhydryle de la protéine et se lie à d'autres sites conduisant à des changements de conformation de la protéine. Tout cela se traduit par une activité réduite de sulfhydryle (Gibbs et *al.*, 1985). De plus, le zinc est antagoniste des métaux de transition rédox-actifs tels que le cuivre et le fer qui catalysent la

formation de radicaux libres, principalement par des réactions de Fenton. Ces métaux de transition formée des complexes avec des composants cellulaires, tels que les nucléotides, le glucose et les citrates pour le fer et glucides, ADN et enzymes pour le cuivre. Lorsque le métal est complexé, il devient piégé et réagit avec H_2O_2 et forme un radical hydroxyle réactif (HO^\bullet). Cela conduit à la peroxydation lipidique, à l'ADN et des dommages aux protéines, et par conséquent des lésions tissulaires graves. Le zinc est capable de remplacer le cuivre et le fer et réduire les lésions oxydatives localisées (Powell., 2000).

II. Nanoparticule d'oxyde de zinc

1. Définition

Les oxydes de zinc (ZnO-NPs), qui sont l'un des nanoparticules d'oxyde métallique les plus importantes, sont couramment utilisés dans divers domaines (Newman *et al.*, 2009). Il est généralement reconnu que le zinc en tant qu'oligo-élément essentiel existe de manière extensive dans tous les tissus de l'organisme (Smijts et Pavel., 2011 ; Sahoo *et al.*, 2007). Le nano-ZnO, avec des particules de petite taille, facilite l'absorption du zinc par l'organisme (Jinhuan *et al.*, 2018). Il est couramment utilisé comme additif alimentaire. De plus, le ZnO est classé comme une substance « GRAS » (généralement reconnue comme étant sans danger) par la US Food and Drug Administration (FDA) (Rasmussen *et al.*, 2010). Grâce à ces propriétés, les NPs-ZnO ont fait l'objet d'une attention accrue dans les applications biomédicales (Jinhuan *et al.*, 2018).

2. Propriété

2.1. Propriété physicochimique

Les nanoparticules sont des matériaux dont les propriétés physiques, optiques, chimiques, électriques, magnétiques ou thermiques sont différentes de celles de la même substance à l'échelle macroscopique (Pujalté., 2011). Ces propriétés sont principalement dues à l'augmentation du rapport surface/volume et à la prédominance des effets de la mécanique quantique. Lorsque la taille d'une particule diminue. Le nombre de particules par gramme de matière croît considérablement. Ainsi, le nombre d'atomes en surface de chaque particule augmente. Les nanoparticules ont donc un rapport surface/volume et un rapport surface/masse beaucoup plus élevés que des particules plus grosses. De nombreuses réactions chimiques se déroulent en surface, la réactivité chimique est donc beaucoup plus élevée dans le cas des NPs comparativement à une masse équivalente de particules non nanométriques. au niveau de l'organisme (pour les organismes pluricellulaires (Buzea *et al.*, 2007).

2.2. Propriété biologique

La taille influence l'interaction avec les systèmes biologiques. Au niveau cellulaire, la petite taille des nanomatériaux favorise leur pénétration dans la cellule.

Les mécanismes qui gouvernent la pénétration des nanomatériaux sont cependant complexes et encore plusieurs éléments restent à élucider. Il est bien établi que les nanomatériaux de plus petite taille ont une plus grande capacité de pénétrer les cellules (Nabeshi et *al.* 2010 ; Sakai et *al.*, 2011). La capacité des NPs de certaines tailles à pénétrer plus facilement les cellules peut être liée à différents mécanismes d'entrée dans la cellule en fonction de la taille. Certains nanomatériaux sont pris en charge activement par la cellule, par voie d'endocytose, phagocytose ou pinocytose, alors que d'autres peuvent pénétrer de façon passive par diffusion au travers de la membrane (Krug et Wick, 2011)

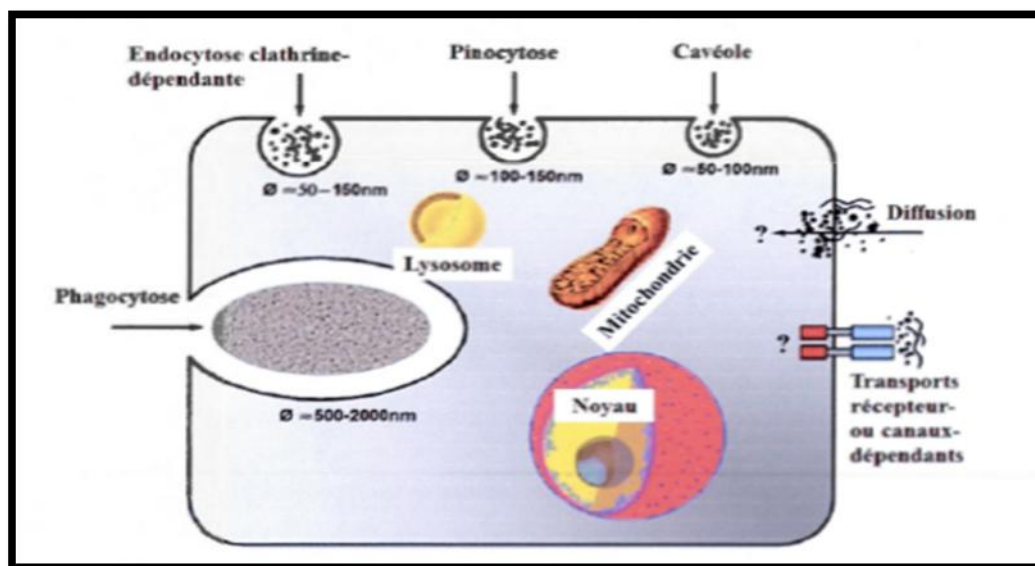


Figure 03 : Différents mécanisme de pénétration des nanomatériaux dans la cellule (Krug et Wick, 2011).

3. Importance biomédicale

Les NPs de ZnO inférieures à 100 nm sont considérés comme relativement biocompatibles, ce qui soutient leurs applications biomédicales et représente une propriété puissante dans la promotion de la recherche biomédicale (Jinhuan., 2018). Les NPs ZnO, en tant que nouveau type de nanomatériaux peu coûteux et à faible toxicité, ont des activités extra-interminables très diversifiées, y compris des applications anticancéreuses, antibactériennes, anti-oxydantes, antidiabétiques et anti-inflammatoires, ainsi que des applications de médicaments antitabac et anti-inflammatoire (Rasmussen et *al.*, 2010 ; Xiong.,2013).

3.1. Activité antioxydant

Ont suggéré que les nanoparticules d'oxyde de zinc pourraient être utilisées en tant qu'antioxydant puissant et en tant que traitement adjuvant efficace pour les médicaments chimio thérapeutiques responsables du dysfonctionnement de la reproduction chez l'homme. Cela reposait sur la capacité des nanoparticules d'oxyde de zinc à augmenter l'efficacité thérapeutique de la doxorubicine et à réduire les propriétés gonado-toxiques (Seok et *al.*, 2013).

Dans le même contexte (Dawei et *al.*, 2009). Ont indiqué que les nanoparticules d'oxyde de zinc avaient la capacité d'augmenter les niveaux d'enzymes antioxydantes et de réduire les niveaux de malondialdéhyde (MDA). Par conséquent, les nanoparticules d'oxyde de zinc pourraient protéger l'intégrité de la membrane cellulaire contre les dommages dus au stress oxydatif (Ko JW et *al.*, 2015). Ces particules pourraient améliorer l'activité antioxydant et diminuer les niveaux de radicaux libres.

3.2. Activité antibactérienne

Des rapports antérieurs avaient suggéré que les principaux mécanismes de toxicité antibactérienne des ZnO-NPs étaient fondés sur la possibilité d'induire un excès de génération de ROS, tel que l'anion superoxyde, les radicaux hydroxyles et la production de peroxyde d'hydrogène (Zhang et Xiong., 2015). L'activité antibactérienne peut impliquer l'accumulation de NP ZnO dans la membrane externe ou le cytoplasme de cellules bactériennes et déclencher la libération de Zn^{+2} , ce qui provoquerait une désintégration de la membrane cellulaire bactérienne, des dommages aux protéines membranaires et une instabilité génomique, entraînant la mort des cellules bactériennes (Shi et *al.*, 2014 ; Dutta et *al.*, 2013). Il a montré que les NPs de ZnO d'une taille moyenne d'environ 30 nm provoquaient la mort cellulaire par contact direct avec la bicouche phospholipidique de la membrane, détruisant ainsi l'intégrité membranaire (Jinhuan., 2018).

CHAPITRE III

Aristolochia longa

1. Définition d'*Aristolochia longa*

Aristolochia longa L, plante médicinale herbacée localement connue sous le nom de Barrastam. Elle est fortement utilisée actuellement en médecine populaire Algérienne pour son effet anti-cancérigène. Elle appartient à la famille des Aristolochiaceæ. Elle est localisée principalement au centre du pays. Actuellement, *Aristolochia longa* L. est connue plus particulièrement pour son principe actif, l'acide aristolochique ce dernier a la capacité d'augmenter le pouvoir phagocytaire des globules blancs, d'où les propriétés cicatrisantes de cette plante (Gadhi et al., 1999). Elles peuvent être mises à profit au cours du traitement des fistules, ulcère, furonculoses, acnés rebelles et bien d'autres maladies. Ce travail représente et pour la première fois en Algérie, la multiplication et la conservation de cette espèce. Nous présenterons une approche biotechnologique des différentes étapes de la micro propagation par voie indirecte (Saidi Fet al, 2009).

2. Description botanique

Aristolochia longa est une plante vivace presque glabre, verte claire, 20 à 50 cm de longueur, glabrescent, à racine oblongue en fuseau ou longuement cylindrique, tiges grêles, étalées, souvent rameuses; feuille large de 3 à 5 cm, ovales triangulaires en cœur, à sinus largement ouvert à la base, entières, lisses, à nervures faibles; pétioles égalant à peu près le pédoncule; fleurs d'un vert brunâtre, solitaire, égalant presque ou dépassant les feuilles; périanthe glabrescent, à languette lancéolée deux fois plus courte que le tube. Capsule ovale ou en poire pendante (James, 1746; Mutel, 1836). (figure 04)



Figure 04 : *Aristolochia longa* (Bonnet et al., 2011)

3. Classification

Tableau 03 : classification d'*Aristolochia longa* (Nardi., 2009)

Règne	Plantea
Division	Tracheophyta
Sub-division	Spermatopytina
Classe	Magnlianae
Super-ordre	Piperales
Ordre	Piperales
Famille	Aristolchiaceae
Genre	Aristolochia L
Espèce	<i>Aristolochia longa</i>

4 .Localisation géographique

C'est une famille de plantes dicotylédones, qui comprend 400 espèces réparties en 7 genres. Ce sont des arbustes, des lianes ou des plantes herbacées des régions tempérées chaudes à tropicales. Subtropicales, et méditerranée du monde (Benarba et Meddah, 2014).Elle croit dans Afrique Subtropicales (Afrique du nord), Asie tempérés (Asie Mineure), Europe méridionale et occidentales (Brisseau-Mirbel, 1804 ; lamarck, 1778).

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

5. Utilisation thérapeutique

L'utilisation thérapeutique des plantes médicinales sont l'une des principales ressources des agents thérapeutiques. Ils sont utilisés par 80% de la population mondiale dans les soins de santé (Oliveira et *al.*, 2012). Les espèces d'*Aristolochia* ont des effets bénéfiques bien connus. Les composés actifs produits au cours du métabolisme secondaire sont généralement responsables des propriétés biologiques (El Yahyaoui El idrissi et *al.*, 2018). Les études phytochimiques sur les plantes du ce genre ont donné divers types de composés ayant des activités antitumorales, d'agrégation antiplaquettaire, d'immun modulation et d'anti fertilité (Chen et *al.*, 2005). Les espèces d'*Aristolochia longa* sont cultivées comme plantes ornementales et communément utilisées comme sources de médicaments abortifs,

emménagogue, sédatifs, analgésiques, anti-inflammatoires, anti-alimentaires, relaxants musculaires, antihistaminiques et anti-allergiques (Benarba et Meddah., 2014). *Aristolochia longa* est utilisé comme antidote aux morsures de serpent, aux régimes amaigrissants et à la prévention de l'arthrite (Benarba et *al.*, 2016).

Ses racines sont utilisées dans le traitement du biimezoni (palpitations de l'aorte), de constipation et des affections intestinales. En plus de leurs effets thérapeutiques, les Acides arstorolochiques ont été rapportés avoir des effets antifongique, antibactérien, et même anti-tumoral. Utilisation avec soin et toujours pour de courtes périodes de traitement (Benchaabane et Abbad, 1997).

DEUXIEME PARTIE
PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I

Matériel et méthodes

I- Matériels

1. Matériel végétal

La plante utilisée dans ce travail est le rhizomes d'*Aristoloshia longa*, a été achetée du marché local, lavés plusieurs fois, séché à l'air pendant 48-92 h et pulvérisés avec un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. La poudre d'*Aristoloshia longa* est conservée à la température ambiante dans des contenants hermétique à l'abri de la lumière vive jusqu'à le début de l'expérimentation (figure 05).



Figure 05 : Rhizomes *Aristolochia longa* (photo originale).

2. Les animaux

2.1. Condition d'élevage

Notre étude a été réalisée sur vingt-cinq ratte femelles de type Wistar, provenant de l'institut Pasteur d'Alger, âgées de huit semaines avec un poids de $184,84 \pm 8,48$. Les animaux sont élevés à l'animalerie de la faculté de sciences de nature et de la vie, à l'université Echahid Hamma Lakhdar-El-Oued. Ils sont soumis à une période d'adaptation aux conditions de l'animalerie pendant un mois d'environ à une température de $18 \pm 0,18^\circ\text{C}$. Les ratte sont logées dans des cages en plastique et nourries par un régime alimentaire standard.

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

Matières premières	Quantité (g/Kg)	Pourcentage (%)
Mais	326	32.6
Cellulose	326	32.6
Protéine	168	16.8
Saccharose	60	6
Vitamine	40	4
Minéraux	40	4
Huile	40	4

2.2 Traitement des animaux

Après la période d'adaptation, les rattes ont été réparties en cinq groupes de cinq rattes chacun, les rattes sont traitées comme suit pendant 20 jours

Groupes 1 (T) : Rattes saines (témoin).

Groupes 2 (Ni) : Rattes exposées au nickel (20mg/kg poids des rattes) pendant 20 Jours.

Groupes 3 (Ni +ZnO) : Rattes exposées au nickel (20mg/kg poids des rattes) et traitées par des nanoparticules d'oxyde de zinc (100mg/kg d'aliment) pendant 20 Jours.

Groupes 4(Ni + Ar) : Rattes exposées au nickel et traitées par *Aristolochia Longa* (5%) pendant 20 Jours.

Groupes 5 (Ni +Zn) : Rattes exposées au nickel et traitées par le zinc (231mg/kg d'aliment).

Les doses 20mg/kg pour le nickel selon l'étude de Tebani (2013) mais la dose de zinc selon Derouiche (2016) et pour la dose d'*Aristolochia Longa* selon Derouiche et al (2017).

2.3. Sacrifice et prélèvement de sang et organes

Les rattes sont anesthésiées par chloroforme (94%) après 16h de jeûne et sont sacrifiées (part de décapitation). Le prélèvement sanguin s'effectue au moment du sacrifice des rattes récupérées dans des tubes secs préalablement étiquetés et numérotés pour chaque ratte puis séparés par centrifugeuse à 3000 tours/ min pendant 15 minutes, le sérum obtenu est conservé dans un congélateur jusqu'au moment des analyses biochimiques (urée, créatinine, acide urique, cholestérol, protéines totales, triglycérides, TGO, TGP). La glycémie est mesurée pendant la période de sacrifice par un glucomètre. Le foie, reins, cœur, et poumon sont soigneusement prélevés, rincés avec NaCl, puis pesés mais pour le groupe trois on a pris l'estomac et l'intestin en plus des autres organes pour évaluer le niveau de NPs-ZnO.

Les homogénats des organes sont préparés pour le dosage des paramètres de stress oxydatif (Malondialdéhyde (MDA), super oxyde dismutase (SOD), glutathion S transférase (GST) et glutathion réduit (GSH).

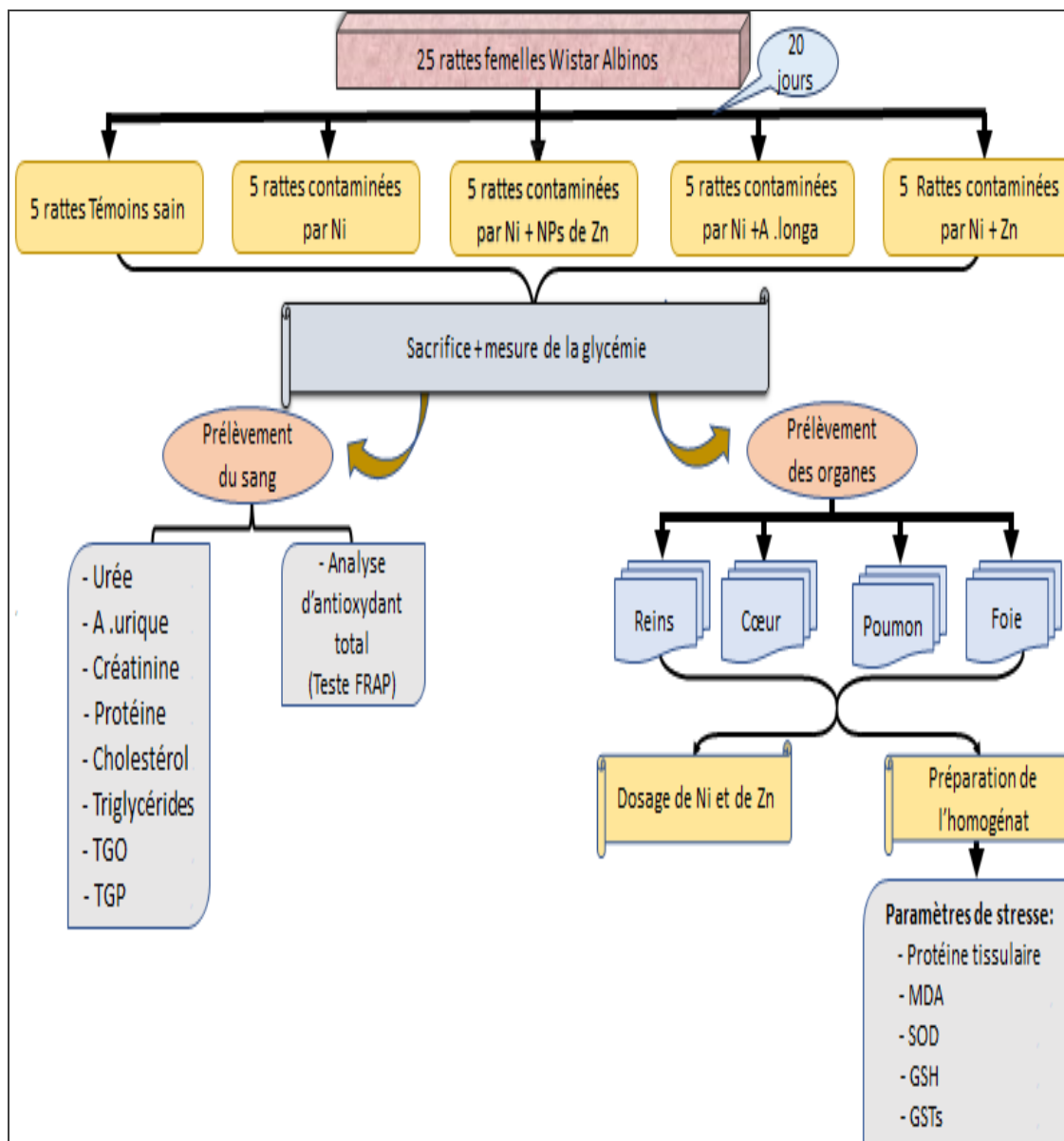


Figure 06 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental de l'étude

3. Réactif et produits utilisés

Chlorure d'hydrogène (HCl), méthanol, chloroforme, réactif de Mayer, réactif de Wagner, acide sulfurique, laqueur de Fehling, folin-Ciocalteu (FCR), carbonate de sodium (Na_2CO_3), acide gallique, tris chlorure de sodium (NaCl), ammoniac, acide nitrique (HNO_3), acide salicylique, bleu de coomassie, acide trichloracétique (TCA), acide thiobarbiturique (TBA), Buthydrxytoluène (BHT), tampon phosphate (KH_2PO_4), 5,5dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB), GSH, 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB), NaOH, EDTA, DNTP, Riboflavine, TCA, acétate de zinc, éthanol, solution de ferricyanure de potassium (K_3Fe), acide de trichloracétique (TCA), chlorure ferrique (FeCl_3).

II- Méthodes

1. Méthode d'Etude in-vitro

1. 1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux

25 g de la plante sèche de *A. longa* avec 250 ml d'eau distillée en mis dessus de plaque chauffante avec agitation et température 50°C pendant 2h, Après macérés a condition ambiante pendant 24h, puis filtrés par papier Jusuf, ensuit a été évaporés à l'aide de l'étuve (Majhenic et al., 2007) (figure 07).

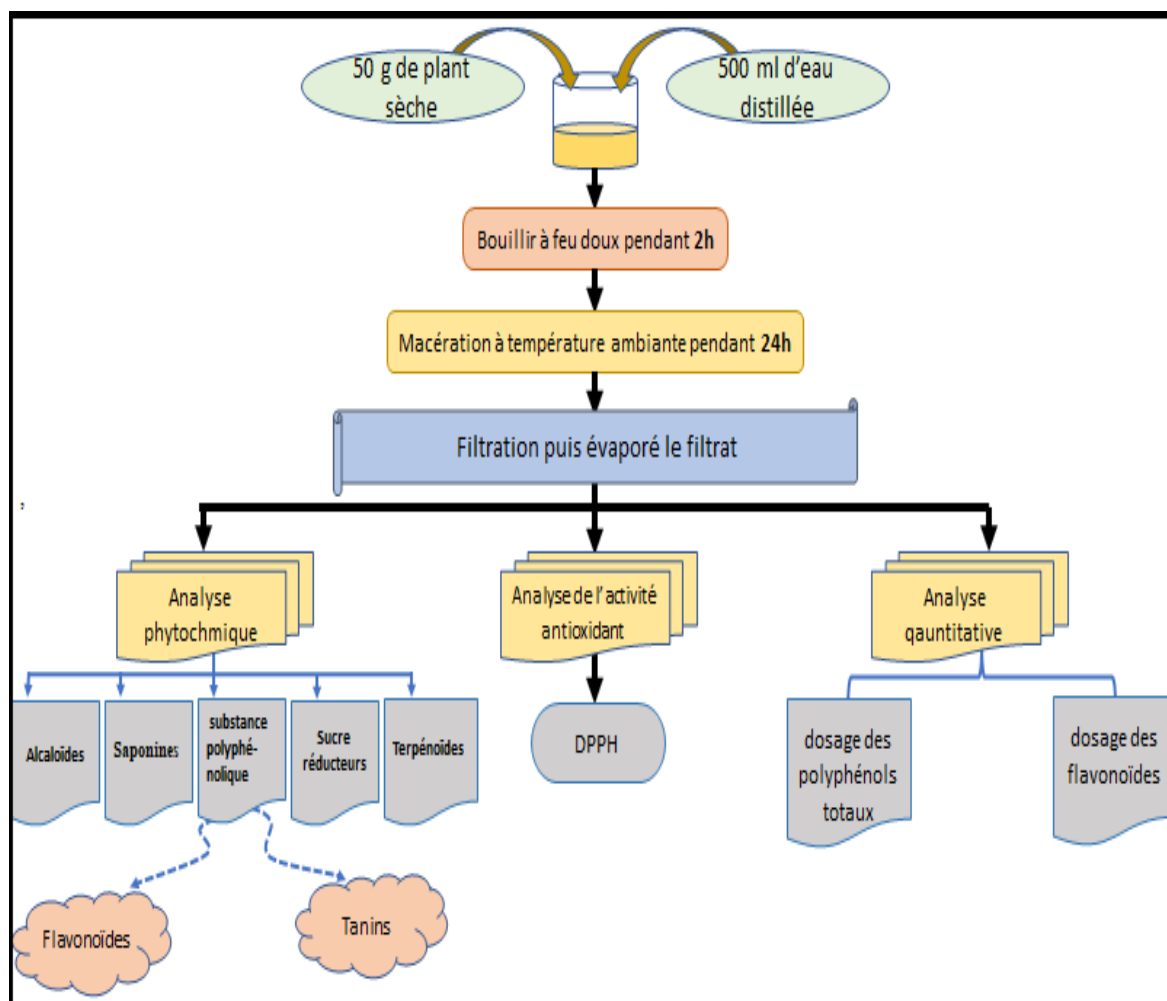


Figure 07 : Méthode de préparation de l'extrait aqueux de l'*A. longa*.

1. 2. Méthode de préparation de nanoparticule d'oxyde de zinc

Pour la synthèse de nanoparticules d'oxyde de zinc, 50 ml d'une solution d'acétate de zinc dihydrate (0,5M) ont été préparés en utilisant de l'eau distillée puis en ajoute 1 ml d'extrait aqueux de l'*Aristolochia longa* sous agitation pendant 10 minutes. Afin de maintenir le pH 12, on a utilisé de NaOH, utilisé (2,0 mol • dm⁻³) jus qu'a l'obtenir une solution aqueuse blanc pâle. Celui-ci a été ensuite placé dans un agitateur magnétique pendant 2 heures. Le précipité blanc pâle a été retiré et lavé encore avec de l'eau distillée puis avec de

l'éthanol pour éliminer les impuretés. Ensuite, une poudre blanche pâle de nanoparticules d'oxyde de zinc a été obtenue après séchage à 60 °C à l'étuve pendant une nuit (Anand Raj L.F.A. et Jayalakshmy, E.2015 ; Dhuha, K.S et *al* 2015).(figure 08).

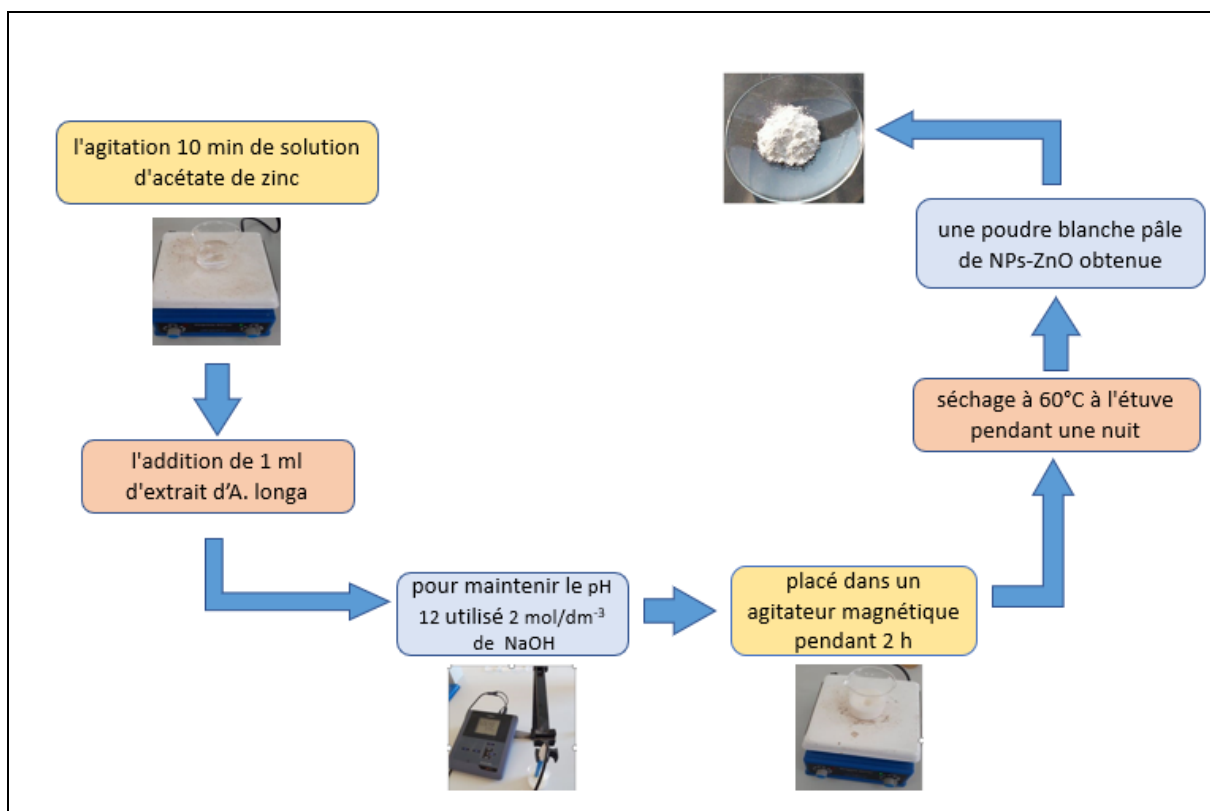


Figure 08 : Méthode de préparation de nanoparticule d'oxyde de zinc

1. 3. L'analyse phytochimiques

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

➤ La substance polyphénolique

✓ Alcaloïdes

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

✓ Tannins

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

✓ Flavonoïdes

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

➤ Saponines : test de mousse

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

➤ Sucre réducteurs

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

➤ Terpénoïdes

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

1. 4. Méthode de dosage des polyphénols totaux

L'analyse quantitative de phénols totaux des extraits phénoliques a été réalisé par le protocole suivant, pour 125 µL de l'extrait végétal ajouter 500 µL d'eau distillée, la solution a été introduite à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de addition de 125 µL du réactif de Folin- Ciocalteu (FCR) agressent forte .Après 5min ,1250 µL de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à concentration de 7 ,5 g /l sont ajoutés pour favoriser un milieu pour déclencher la réaction d'oxydo-réduction ensuite complété par l'eau distillée jusqu'un 03ml ensuite le mélange réactionnel agité est maintenu à l'obscurité et incubé pendant 2h à température ambiante. L'absorbance de chaque solution est déterminée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS. (Slinkard, K. et Singleton, V. L.1977).

Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des solutions d'acide gallique de différentes concentrations (50 -100 – 150 -200µg/ ml), réalisée par même procédure du dosage, toutes les mesures sont répétées 03 fois.

1.5. Méthode de dosage des Flavonoïdes

Une quantité de 1 ml de chaque échantillon et de standard (préparée dans le méthanol) est ajoutée à 1 ml de la solution d'AlCl₃ (2 % dissous au méthanol). Après 10 minutes, l'absorbance a été mesurée par rapport au blanc préparé de réactif au $\lambda_{max} = 430$

nanomètres (Ahn, M-R., et *al* 2007). Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la gamme de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine (0,01 – 0,03 – 0,05 – 0,07 – 0,09 mg/ml). Réalisée par même procédure du dosage, toutes les mesures sont répétées 03 fois. , les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine / g d'extrait.

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

La solution de 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl est préparée en solubilisant 2,4 mg de DPPH^{*} dans 100 ml de méthanol. 1 ml de chaque extrait phénolique (ou acide ascorbique en tant que standard) (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 mg / l) est ajouté à 1 ml de la solution de DPPH^{*} préparée précédemment. Le mélange réactionnel est immédiatement secoué, puis maintenu dans le noir pendant 30 min à température ambiante pour que la réaction soit accomplie. L'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à 517 nm contre le contrôle (méthanol-eau distillé) (Mansouri et *al.*, 2005). Pourcentage d'inhibition (IP) = [(Un contrôle - Un échantillon) × 100] / Un contrôle où Un contrôle est l'absorbance du contrôle (contenant tout le réactif sauf l'échantillon) et Un échantillon est l'absorbance de l'échantillon, les deux étant mesurés at517 nm.

- **Détermination de l'IC50 pour l'activité DPPH**

La valeur IC50 (DPPH), qui représente la concentration d'extrait donnant une réduction de 50% de l'absorbance du DPPH (taux de radicaux libres), a été déterminée par analyse de régression linéaire du pourcentage d'inhibition par rapport à la concentration.

1.7. Méthodes d'activité antibactérienne de NPs-ZnO

- **Détermination de DI (diamètre d'inhibition)**

Evaluation l'activité antibactérienne des différents concentrations (0.5 mg/ml; 1 2.5mg/ml; 5mg/ml) de l'extrait de nanoparticule de l'oxyde de zinc selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme). Cette technique repose sur l'apparition d'une zone d'inhibition dans le milieu de culture Autour du disque contenant l'extrait de nanoparticule d'oxyde de Zinc.

- **Conservation des souches**

Les souches bactériennes identifiées précédemment et qui font l'objet de notre étude sont conservées dans des boites contenant de la gélose nutritive à 4°C.

- **Le repiquage**

Le repiquage des souches bactériennes a pour objectif l'obtention d'une culture pure et jeune. Elle est réalisée par la méthode des stries. Les souches sont alors repiquées à partir des boîtes de conservation sur un nouveau milieu gélose nutritive. Les cultures sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 h.

- **Préparation des dilutions des extraits (concentration)**

Différentes concentrations (1mg/ml; 2.5 mg/ml; 5mg/ml, 10mg/ml) d'extrait de nanoparticule d'oxyde de zinc ont été préparé par DMSO.

- **Préparation des disques**

Le principe de cette méthode est d'utiliser des disques de papier Whatman n°3 de 6 mm de diamètre. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation.

- **Préparation le milieu de la culture**

On met la stérilisation et la surfusion de milieu de culture (Muller Hinton et milieu Saboroud pour la levure) à l'aide d'autoclave pendant 15 min à 121°C, puis on le verse dans les boîtes de Petri à 4 mm de hauteur et on laisse quelques minutes jusqu'à la solidification.

- **Préparation de l'inoculum**

- A partir d'une culture pure de 18 h des bactéries à tester sur milieu d'isolement, racler par une anse de platine, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %, bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 MacFarland ou à une D.O de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm.
- L'ensemencement doit se faire en moins en quelques min après la préparation de l'inoculum.

- **Ensemencement**

- La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse).
- L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas.

- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétrie de 60°C à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

- **Application des disques d'antibiogramme**

En effet de chaque dilution on prélève 10 µl et on la met dans les disques. (Dans chaque boîte quatre 4 disques ont été réalisées à différentes concentrations des extraits, les disques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre. La boîte de contrôle, réalisée pour l'expérience, est une boîte ensemencée contenu 3 disques, deux contrôle positif ipm10/cip5 et l'autre de contrôle négatif DMSO.

Il faut Presser chaque disque à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

- **Incubation et Lecture**

Après incubation 18-24 heures à 37°C pour les souches bactériennes et 48h pour la levure dans l'étuve, Les résultats sont observés, en mesurant les diamètres d'inhibition.

2. Méthode d'étude in-vivo

2.1. Méthode de dosage du nickel et du zinc tissulaire

La calcination sèche des organes (1g) s'effectue dans un four à moufle en augmentation la température par palier successif jusqu'à 450°C pendant 4h dans le but d'éviter les inflammations brutales de l'échantillon et qui provoquerait des pertes Les cendres obtenues sont dissoutes par une attaque de 03 ml d'acide nitrique pur (HNO₃) en chauffant légèrement sur une plaque chauffante. Le liquide obtenu est filtré sur du papier filtre dans une fiole de 15 ml et complété à son volume final avec l'eau déminéralisé. Pour le zinc et le nickel en utilisant un spectrophotomètre d'absorption atomique (Shimadzu AA-6200; Somerset, New Jersey, USA).

2.2. Détermination des paramètres Biochimique

Les taux d'urée sérique, acide urique, créatinine, de protéines sériques et lipide dans le sérum ont été déterminés à l'aide du kit commercial de Spinreact, Espagne (réf : urée-20141, acide urique-20091, créatinine-20151, protéines totales-1001291 et cholestérol-20111, triglycéride-20131,). Et pour les enzymes sont aussi mesuré par l'utilisation de kits commercial (Spinreat, ref: GOT-20042, GPT-20046).

2.3. Dosage des paramètres de stress oxydatif.

2.3.1. Préparation de l'homogénats des organes

Un gramme de tissus (foie, cœur, rein, poumon) de chaque organe de différents groupes étudiés a été utilisé. Après broyages et homogénéisation des tissus dans TBS (tris 50Mm, NaCl 150m M, pH 7,4) et par centrifugeuse de la suspension tissulaire (3900tour /min ,20min), puis le surnageant obtenu est conservés à -20°C en attendant d'effectuer les dosages des paramètres des stress oxydatif.

2.3.2. Dosage des protéines tissulaires

- **Principe**

Les protéines tissulaires a été déterminés suivant une méthode colorimétrique par un spectrophotomètre de type SHIMATZU en utilisant le bleu de Comassie comme réactif qui est réagi avec le groupement amines (NH₂) des protéines 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 595 nm (Bradford., 1976).

- **Préparation de réactif de Bradford**

- Dissoudre 100 mg de bleu de Comassie dans 50 ml d'éthanol (95 %).
- Agiter le mélange pendant 2 heures avec un agitateur à l'abri de la lumière.
- Ajouter 100 ml de l'acide orthophosphorique (H₃PO₄) (85 %).
- Compléter le volume jusqu'à 1 litre avec l'eau distillée.
- Filtrer la solution obtenue avec un papier filtre.

Ce réactif est stable pendant 2 semaines à 4°C.

- **Mode d'opérateur**

1. Prélever 01 ml de l'homogénat.
2. Ajouter 5 ml du bleu de Comassie
3. Agiter et laisser reposer 5 minutes
4. Lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc.
5. Comparer la concentration des protéines dans les tissus étudiés

La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (0.1-0.2-0.4-0.6-0.8-1mg/ml) préalablement réalisée dans les mêmes conditions.

2.3.3. Méthode de dosage du Malondialdhyde (MDA)

- **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**

375mg de TBA, 20g de TCA, 0.01g de BHT, 25 ml de HCL 1 N 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 100ml et le volume complété à l'eau distillé jusqu'au de jauge.

- **Mode opératoire**

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 200µl d'échantillon, 800 µl de réactif TBA 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 formes lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm 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 ($\epsilon = 1,53 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en µmol/l. $\text{MDA} (\mu\text{mol}/\text{mg de prot}) = (\text{Do échantillon}/1.53 \times 10^5) / \text{mg de prot}$

2.3.4. Méthode de dosage de 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**

A 800µL d'homogénat sont ajoutés 200 µL de l'acide salicylique (0.25 %). Mélanger avec l'agitateur et laisser 15 minutes dans le réfrigérateur puis centrifuger à 1000 t/min pendant 5 minutes. 500 µL de surnageant sont ensuite mélangés avec 1000 µL de tampon tris

(tris 0.4mol, NaCl 0.02mol, PH=8.9) et 25µL de DTNB (0.01 mol.L⁻¹). Après 5min d'incubation, la lecture de l'absorbance s'effectue λ=412 nm.

- **Expression des résultats**

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

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

2.3.5. Dosage de l'activité de superoxyde dismutase (SOD) :

- **Principe**

La méthode de dosage de l'activité SOD à l'aide le NBT par l'anion superoxyde (O₂'⁻), est utilisée comme base de détection de la présence de SOD (Beauchamp,C., et Fridovich, I.,1971).

-Protocole

Prélever dans des tubes	Blanc (À l'obscurité)	Echantillon (Tube illuminée)	Concentration dans le milieu réactionnel
EDTA-Met	1000µL	1000µL	0,1mM EDTA
Tampon phosphate	892,2µL	892,2µL	13mM Met
Echantillon	0	50	/
Tampon phosphate	1000µL	950µl	50Mm
NBT	85,2µL	85,2µL	75µM
Riboflavine	22,6µL	22,6µL	2µM

- **Expression des résultats**

$$\% \text{ d'inhibition de la réduction de NBT par la SOD} = \frac{DO\ blanc - DO\ Echantion}{DO\ blanc} \times 100$$

L'inhibition à 50% est égale à 1 unité d'enzyme.

50% d'inhibition = 1 unité de SOD, Donc l'activité antioxydant de l'enzyme égale unités SOD / mg de pro.

SOD : superoxydes dismutases.

Do blanc : Densité optique du blanc.

Do échant : Densité optique de l'échantillon.

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

- **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 (0,1 M)	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 :

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

2. 3.7. Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay)

- **Principe**

Les antioxydants sont déterminés par colorimétrie. Le complexe ferrique-tripyridyltriazine est réduit en la forme ferreux-tripyridyltriazine en présence d'antioxydants ; le complexe perd sa couleur jaune pour un bleu foncé. Cette coloration mesurée à 595 nm est proportionnelle à la concentration en antioxydants présents dans les échantillons. La méthode est standardisée par rapport au Trolox (Oyaizu, M. 1986).

- **Mode opératoire**

1. Prélever 500µl de sérum.
2. Ajouter 1.25ml de la solution tampon (0.2 M, PH= 6.6).
3. Incubation 20 min dans Ban Marie à une température de 50°C.
4. Ajouter 1.25ml de la solution aqueuse TCA (10%) pour stopper la réaction.
5. Centrifugation à 3000 t/min pendant 5 minutes.
6. 1.25 ml de surnageant sont ensuite mélangés avec 1.25 ml l'eau distillée et 250 µl FeCl₃ (0.1%).

7. la lecture à 700 nm contre un blanc.

3. Méthode d'analyse statistique

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

CHAPITRE II

RUSLTATS

I. Résultats de l'étude in-vitro

1. Analyse qualitative et quantitative des molécules phytochimiques

Selon les résultats illustrés dans le tableau (05), le criblage phytochimique de l'extrait aqueux d'*A. longa* a révélé la présence des constituants phytochimiques, tels que les flavonoïdes, les tannins, les alcaloïdes, les saponines, les terpénoïdes et les sucres réducteurs. Le tableau (06) a présenté la teneur en polyphénols totaux d'*A. longa*, qui est calculé par l'équation $y = 0,0046x + 0,0891$ avec $R^2 = 0,9954$, obtenue par une courbe d'étalonnage basé sur l'acide gallique comme étalon. De même, la teneur en flavonoïdes dans cette plante est calculé par l'équation $y = 0,0096x + 0,0521$ avec $R^2 = 0,9938$, obtenue par une courbe d'étalonnage basé sur la quercétine comme étalon.

Tableau 05 : Composants phytochimique de l'extrait aqueux d'*A. longa*.

Composés	Réactifs	Extrait de plante
Flavonoïde	H ₂ SO ₄	+
Tannins	FeCl ₃	+
Alcaloïdes	Mayer	+
Saponines	Test de mousse	+
Terpénoïdes	Test de slakowski	+
Sucre réducteurs	Liqueur de Fehling	+

+: présent

Tableau 06 : Quantité de polyphénols et flavonoïde de d'extrait aqueux d'*A. longa*.

Paramètres	Moyenne
Polyphénols totaux (Mg d'EAG/g d'extrait sec)	9,2± 0,0498
Flavonoïde (Mg d'EQC/g d'extrait sec)	2,17± 0,0498

2. Teste antioxydant (DPPH)

La Figure 09 a présenté les résultats du pouvoir antioxydant des extraits testés montrent que le pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux d'*A. longa* à de concentration de 12.23 mg/ml, qui est calculé par l'équation $y = 1,6181x + 30,757$ avec $R^2 = 0,9882$, obtenue par une courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait d'*A. longa*. Et aussi présenté le pourcentage d'inhibition des nanoparticules de zinc à de concentration 27.847 mg/ml, qui est calculé par l'équation $y = -2,0811x + 107,94$ avec $R^2=0.9838$, obtenue par une courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des NPs-ZnO. De même, le pourcentage d'inhibition d'acide ascorbique à de concentration de 2,89 mg/ml, qui est calculé par l'équation $y = 0, 0,6232x + 48,111$ avec $R^2=0,9607$, obtenue par une courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations d'acide ascorbique.

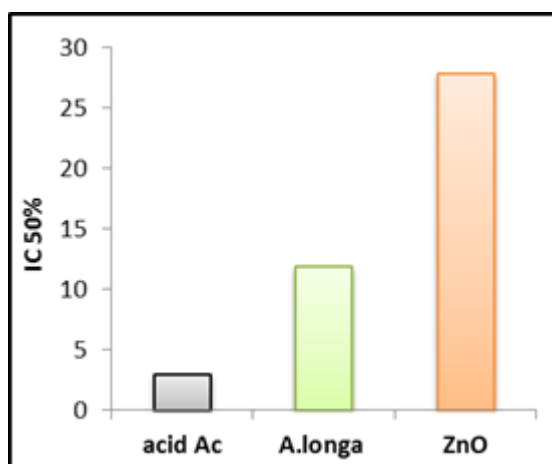


Figure 09 : Variation de valeurs d'IC 50 d'acide ascorbique, *A. longa* et ZnO

3. Caractérisation de nanoparticule d'oxyde de zinc par Analyse spectroscopique

Selon la figure (10), les vibrations spécifiques aux substances des molécules conduisent aux signaux spécifiques obtenus par spectroscopie IR. Le groupe fonctionnel impliqué dans la synthèse de ZnO-NPs a illustré dans le pic 1016,42 qui a représenté la vibration de valence de la liaison Zn-O qu'identifie la présence de nanoparticule de ZnO.

De plus, l'absorption optique du spectre UV-Vis enregistrée dans la présente étude a révélé que les nanoparticules d'oxyde de zinc dispersées dans le mélange réactionnel aqueux de racines de l'*Aristolochia longa* étaient réalisées par spectrophotomètre. Les résultats ont montré que l'extrait aqueux présentait d'une bande d'absorbance UV nettes significatives à 370 nm caractéristique de ZnO obtenu par l'extrait de racine d'*A. longa* (Figure 11) mis à réagir avec une solution d'acétate de zinc.

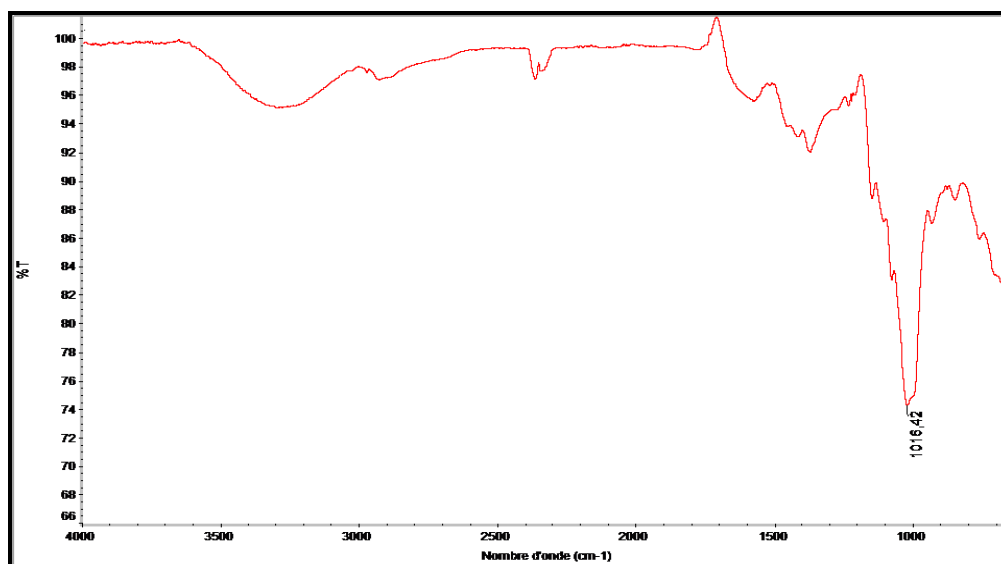


Figure 10 : spectroscopie infra rouge de nanoparticule de zinc.

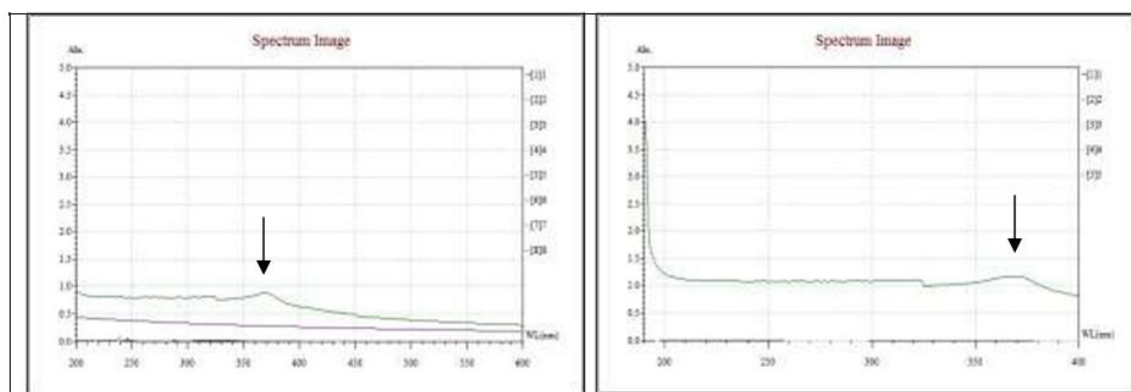


Figure 11 : Pic d'absorption spectrale UV-Vis du mélange réactionnel d'extrait aqueux *A.longa*

4. Activité antibactérienne de nanoparticule d'oxyde de zinc

D'après nos résultats de l'activité antibactérienne de nanoparticule d'oxyde de zinc illustrés dans les figures (12), nous remarquons que aucune activité antibactérienne de NPs-ZnO pour les différents quatre concentrations (1mg/ml; 2.5 mg/ml; 5mg/ml, 10mg/ml) sur la souche bactérienne *Listeria sp.* Ces résultats ont été comparés à des témoins négatifs pour la même souche utilisée.

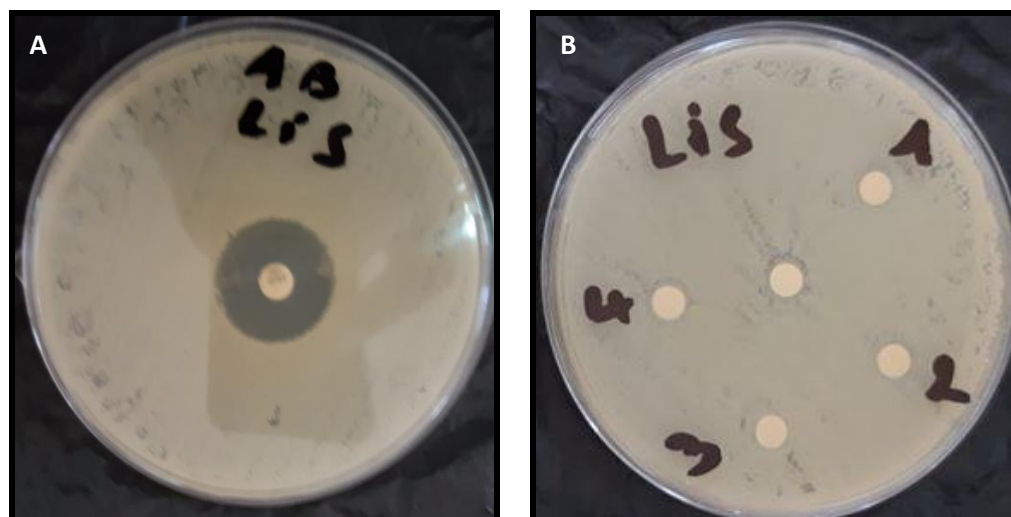


Figure 12 : Activité antibactérienne de différentes concentrations de nanoparticule de zinc sur la souche bactérienne *Listeria sp* , A: control *Listeria sp*. B: *Listeria sp*

II. Résultats de l'étude in-vivo

1. La croissance corporelle, le poids relatif des organes et le statut de nickel et zinc tissulaire chez les rattes contaminées par le nickel.

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

D'après nos résultats illustrés dans le tableau 07 et les figures 13, le poids corporel des rattes a été affecté par le nickel, en effet, nous remarquons que la contamination par le nickel diminue le gain du poids des rattes de façon significative et il y a un cas de mortalité comparé aux rattes témoins. D'autre part, les résultats indiquent une augmentation significative de gain de poids chez les lots ; ZnO, *A.longa* et Zn comparativement aux lot Ni. Par ailleurs, les résultats obtenus montrent qu'il y a une augmentation importante du poids relatif de Rein ($p < 0.05$) et de Cœur ($p < 0.05$), en revanche une diminution du poids relatif de Foie ($p < 0.01$) et pas de variation significative pour de Poumon chez le groupe contaminé par le nickel comparé au groupe témoin. D'autre part, les comparaisons dès notre résultat des trois groupes de traitement par rapport au lot Ni nous avons enregistré ; chez les rattes exposées au nickel et traités par ZnO nous remarquons une augmentation significative de poids relative de rein ($p < 0.01$) et de poumon ($p < 0.05$) et qu'il n'y a aucune variation significative de poids relative de foie, notons que diminution significative dans le cœur ($p < 0.001$).

Les résultats obtenus présentés chez les rattes exposées au nickel et traités par le plant *A. longa* nous observons une augmentation de poids relative de poumon ($p < 0.01$) et foie des façons significative et non significative respectivement, en tandis qu'il y' a une diminution hautement significative de poids relative de rein ($p < 0.01$) et de cœur ($p < 0.05$).

Tandis que, chez les rattes exposées au nickel et traités par Zn nous remarquons une diminution hautement significative de poids relative de rein ($p < 0.001$) et de cœur ($p < 0.05$), et une augmentation non significative de poids relative de foie et de poumon.

Tableau 07 : Gain du poids et taux de mortalité chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux

Paramètres	T	Ni	Ni + ZnO	Ni + Ar	Ni + Zn
Poids initial (g)	194.80±6.26	167.8±16.4	193.40±4.62	185,60 ±8.01	192.60±7.12
Gains du poids (g/j/rat)	0.05±0.0845	-1.035±0.30*	-0.01±0.001 ^a	-0.16±00 ^a	-0.27±0.890 ^a
Taux de mortalité (%)	0	25	0	0	0

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

** p < 0.05 comparaison avec le lot témoin.

^a p < 0.05 comparaison avec le lot nickel.

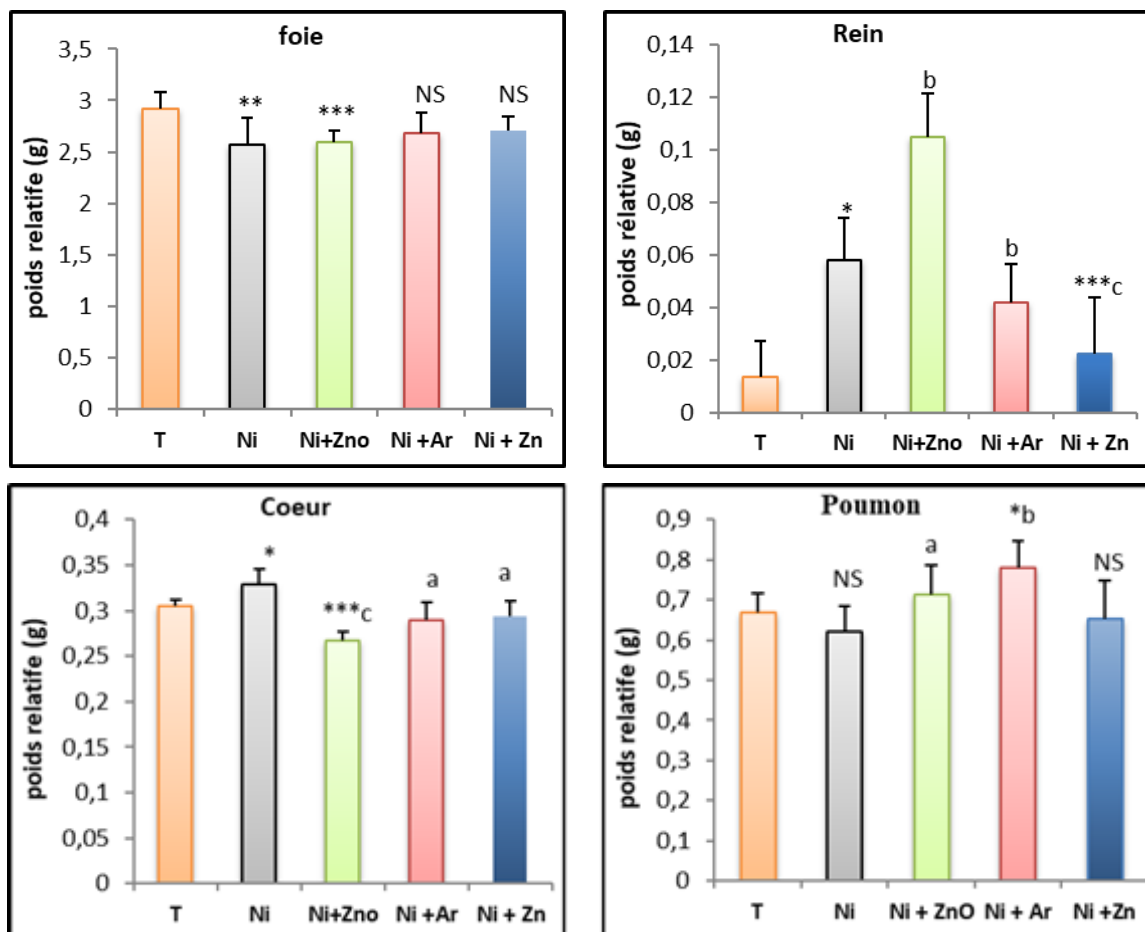


Figure 13 : Poids relatif de foie, reins, cœur et poumon chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin (T) : * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001, Comparaison avec groupe traités par nickel (Ni) : ^a p < 0.05; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001, (n = 5 rattes).

✓ Étude de la concentration tissulaire du nickel et du zinc

La figure 14 présente une augmentation significative de la concentration du nickel dans le foie chez les rattes contaminées par le nickel, mais par contre il y'a une diminution significative de la concentration du zinc dans cet organe par rapport aux rattes témoin. D'autre Part, nous remarquons une diminution hautement significative de concentrations de nickel et augmentation de concentration de zinc pour le groupe traité par ZnO, *A.longa* et Zn en comparaison avec le lot Ni.

Concernant la répartition de NPs-ZnO entre les organes étudiés nous observons que la concentration le plus élevé de NPs-ZnO dans le cœur puis dans le foie, le rein et le poumon successivement (fig15).

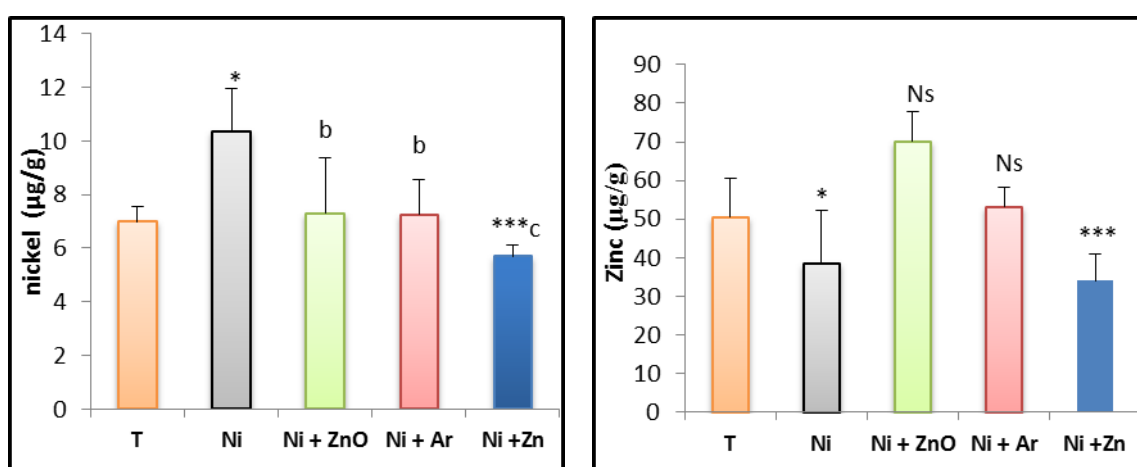


Figure 14 : concentrations hépatique du nickel et zinc chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$, Comparaison avec groupe traités par nickel (Ni) : ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, (n=5 rattes).

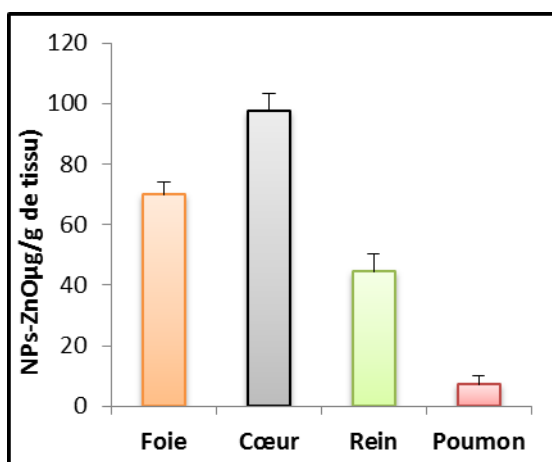
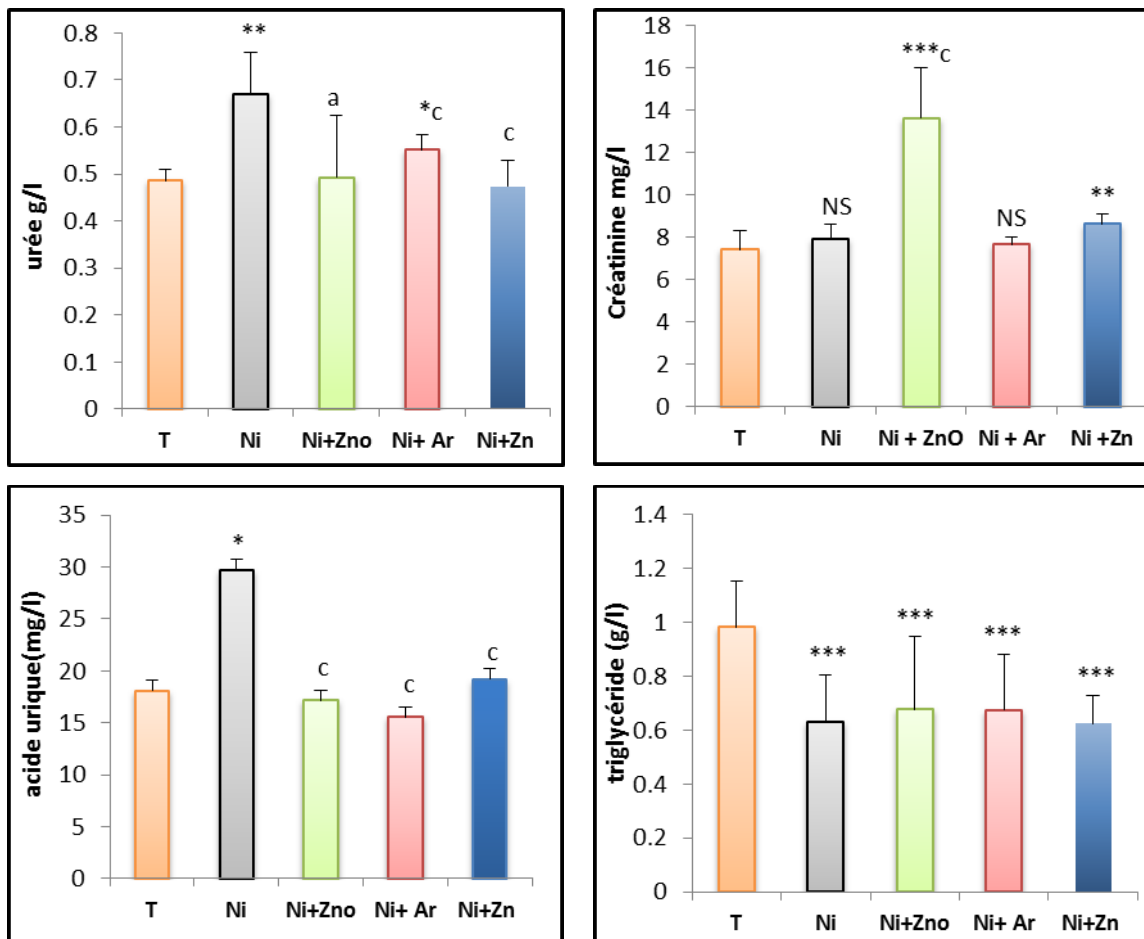


Figure 15 : Répartition de NPs-ZnO entre les organes.

2. Étude des paramètres biochimiques

Nos résultats montrent une augmentation significative de l'urée ($p < 0.05$), l'acide urique ($p < 0.01$), protéine totaux ($p < 0.001$) et cholestérol ($p < 0.05$) par contre une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du triglycéride chez le lot Ni par rapport au témoin. Mais on n'a signalé aucune variation de concentration sérique de créatinine. Par contre chez les lots traités par ZnO, *A. Longa* et Zn nous remarquons une diminution hautement significative d'urée et acide urique en comparaison avec le lot nickel, par contre il y a une augmentation de façon significative de taux protéine totaux de façon significative, hautement significative et très hautement significative chez les rattes traitées par *A. longa*, Zn et ZnO successivement. Par ailleurs nos résultats indiquent la plante et Zn étudiées n'ont aucun effet significatif sur les concentrations de cholestérol, triglycéride et créatinine. (Fig16)



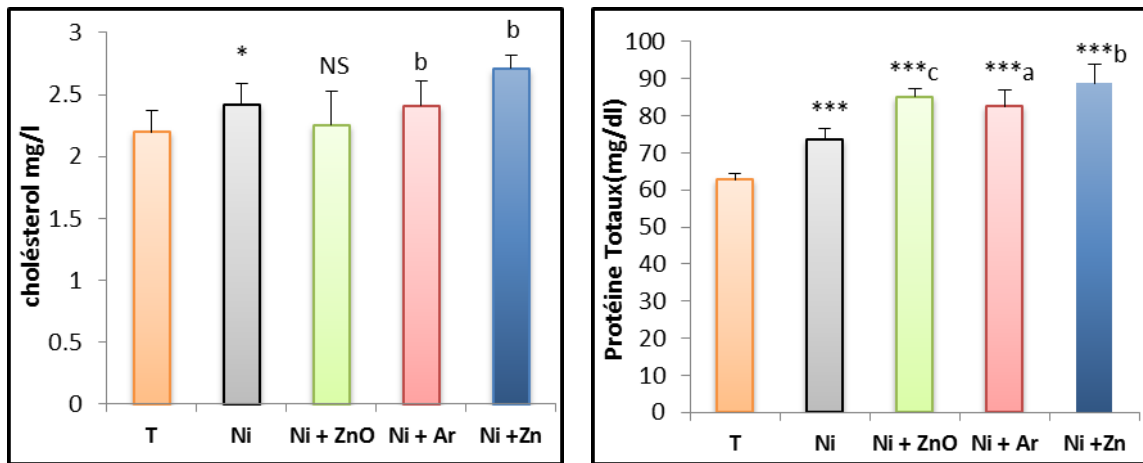


Figure 16: concentrations sériques d'urée, créatinine, acide urique, triglycéride, cholestérol et protéine totaux chez les groupes témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin (T) : * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001, Comparaison avec groupe traités par nickel (Ni) : ^a p < 0.05; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001, (n=5 rattes).

3. Étude des paramètres enzymatiques

Nos résultats obtenus présentés dans les figures 17 révèlent une augmentation très hautement significative (p < 0.001) et hautement significative (p < 0.01) de l'activité des transaminases (TGO, TGP) chez le lot contaminé par le nickel comparé aux témoins. En revanche nos résultats montrent aussi une diminution très hautement significative (p < 0.001) de l'activité de transaminase (TGO, TGP) hépatique chez les lots traités par l'extrait de la plante. Nous avons aussi remarqué une diminution très hautement significative de l'activité de TGO de groupe traité par de ZnO et l'activité de TGP de groupe traité par de Zn comparé au lot nickel.

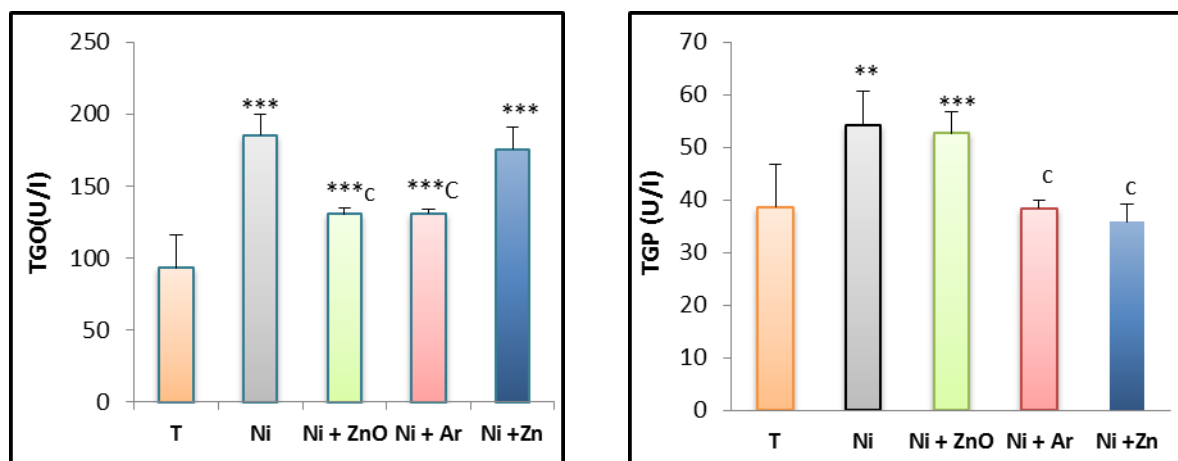


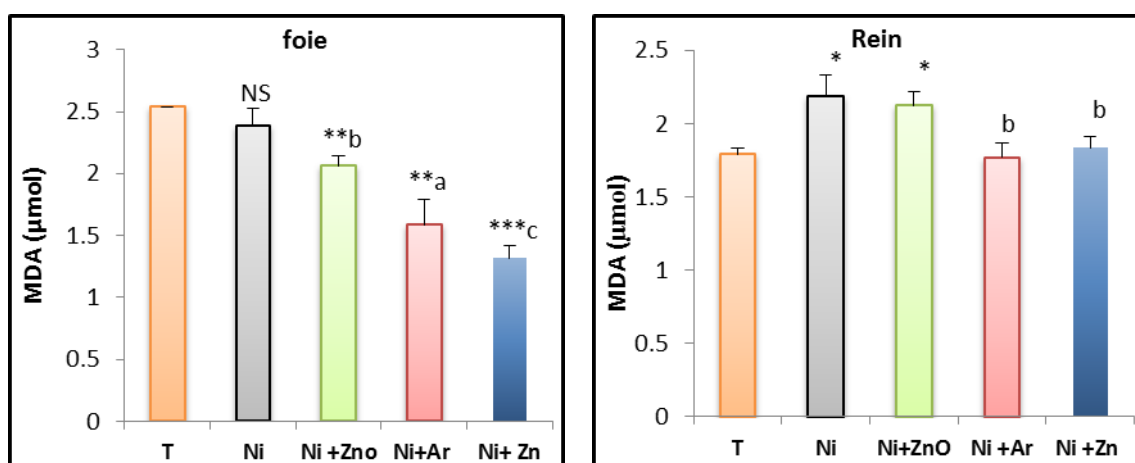
Figure 17 : Activité hépatique de TGO et TGP chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin (T) : ** p < 0.01; *** p < 0.001, Comparaison avec groupe traités par nickel (Ni) : ^c p < 0.001, n=5 rattes.

4. Étude des paramètres de stress oxydatif

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

Notre résultat illustré dans les figures 18 et 19 montrent une importante augmentation de la peroxydation lipidique au niveau de rein, poumon et cœur chez le lot contaminé par le Ni comparé au lot témoin. Par contre la contamination par le nickel induit une diminution très hautement significative de la concentration de GSH dans le cœur ($p < 0.001$) et faible variation dans le foie. D'autre part, chez le lot traité par la nanoparticule de zinc comparé au lot Ni ; Notre résultat montre une diminution de façon hautement significative ($p < 0.01$) de la peroxydation lipidique au niveau hépatique et pulmonaire, mais faible diminution au niveau rénale et cardiaque, par ailleurs, il y'a une amélioration de la concentration de GSH hépatique et rénal et une augmentation remarquable de la concentration de GSH myocardique.

Concernant l'effet d' *A. longa* on a remarqué une diminution hautement significative de la peroxydation lipidique au niveau rénale ($p < 0.01$), pulmonaire ($p < 0.01$) et hépatique ($p < 0.05$) et une augmentation significative de la peroxydation lipidique myocardique ($p < 0.05$), en revanche il y'a une légère diminution de la concentration de GSH au niveau de rein et cœur, mais il y'a une augmentation remarquable de la concentration de ce marqueur au niveau de foie par rapport au rattes exposé seulement au nickel. Le traitement par le zinc présent un effet bien plus important que l'effet des deux autres types de traitement sur la peroxydation lipidique et présente aussi un effet similaire sur le taux de glutathion réduit (GSH) en comparaison avec le lot nickel.



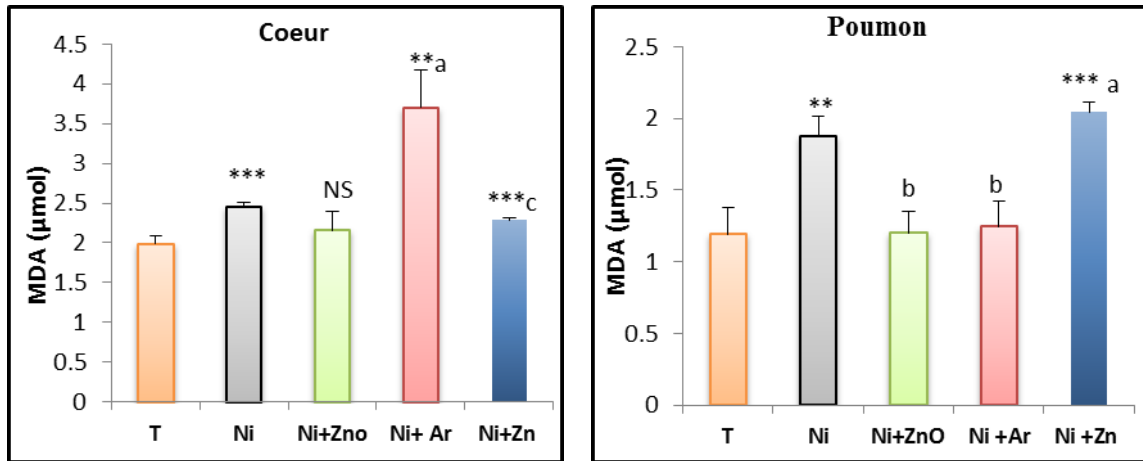


Figure 18 : concentration de peroxydation lipidique au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin (T) : * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001, Comparaison avec groupe traités par nickel (Ni) : ^a p < 0.05; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001, (n=5 rattes).

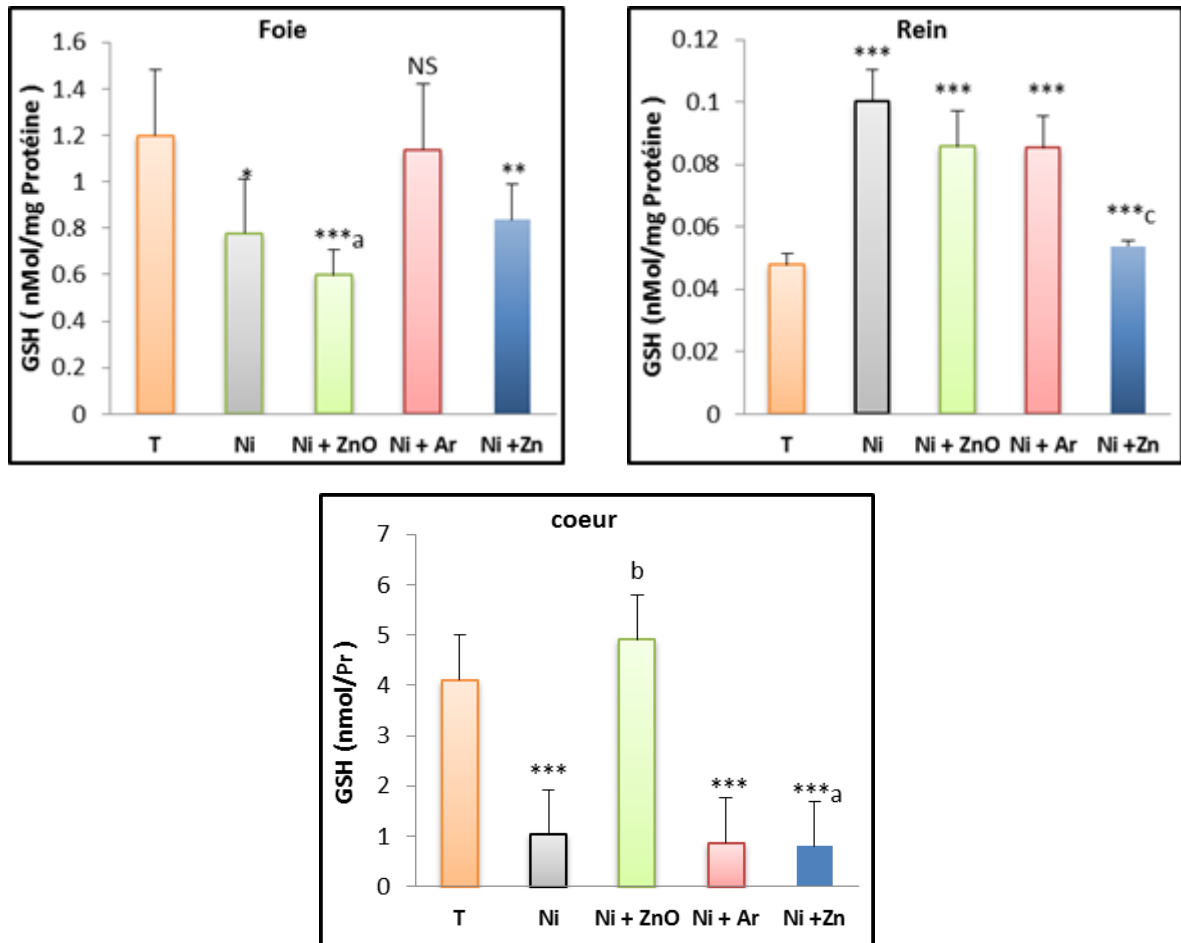


Figure 19 : concentrations tissulaire de glutathion (GSH) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin (T) : * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001, Comparaison avec groupe traités par nickel (Ni) : ^a p < 0.05; ^c p < 0.001, (n=5 rattes)

✓ **Etude de l'activité de Glutathion S Transférase (GST), superoxyde dismutase (SOD) et le pouvoir antioxydant totale (FRAP)**

Les résultats obtenus (figure 20 et 21) montrent une augmentation très hautement significative de l'activité de GST dans le foie ($p < 0.001$) et diminution significative de l'activité de SOD dans le foie ($p < 0.001$), poumon ($p < 0.001$), cœur ($p < 0.01$), et rein ($p < 0.05$) successivement chez les groupes exposés au nickel comparé au groupe témoins. Tandis que, on a observé une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité de GST au niveau de foie dans différents trois groupe thérapeutique par rapport au lot exposé au nickel, aussi les résultats montrent une augmentation hautement significative et très hautement significative de l'activité de SOD au niveau le cœur chez le groupe traité par le ZnO, *A.longa* et Zn respectivement et aussi une augmentation significative très hautement de l'activité de SOD au niveau le rein chez le groupe traité par l' *A.longa* et ZnO. Tandis que il n'y a pas effet signalé sur l'activité de SOD au niveau hépatique, et pulmonaire induit par le ZnO, *A.longa* et Zn par rapport au lot Ni.

Concernant le test de FRAP nos résultats montrent qu'une augmentation hautement significative de pouvoir antioxydant plasmatique chez le lot Ni par rapport au lot témoin. Par contre, et en comparaison avec le lot nickel, nous remarquons une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de pouvoir antioxydant plasmatique chez le groupe traité par d'*A. longa* et de zinc, et une diminution significative chez le groupe traité par ZnO (fig 22).

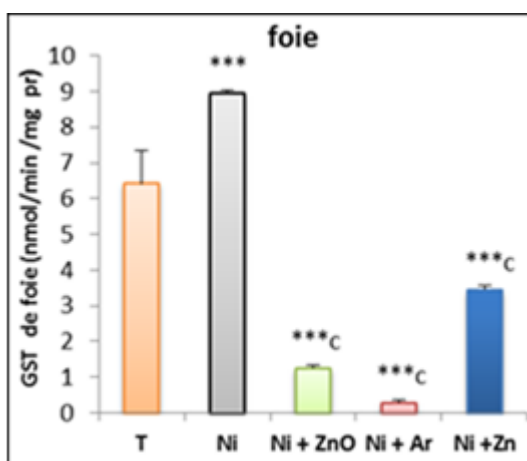


Figure 20 : Variation de l'activité tissulaire de glutathion S-transférase (GSTs) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, Comparaison avec groupe traités par nickel (Ni) : ^a $p < 0.05$; ^c $p < 0.001$, (n=5 ratte)..

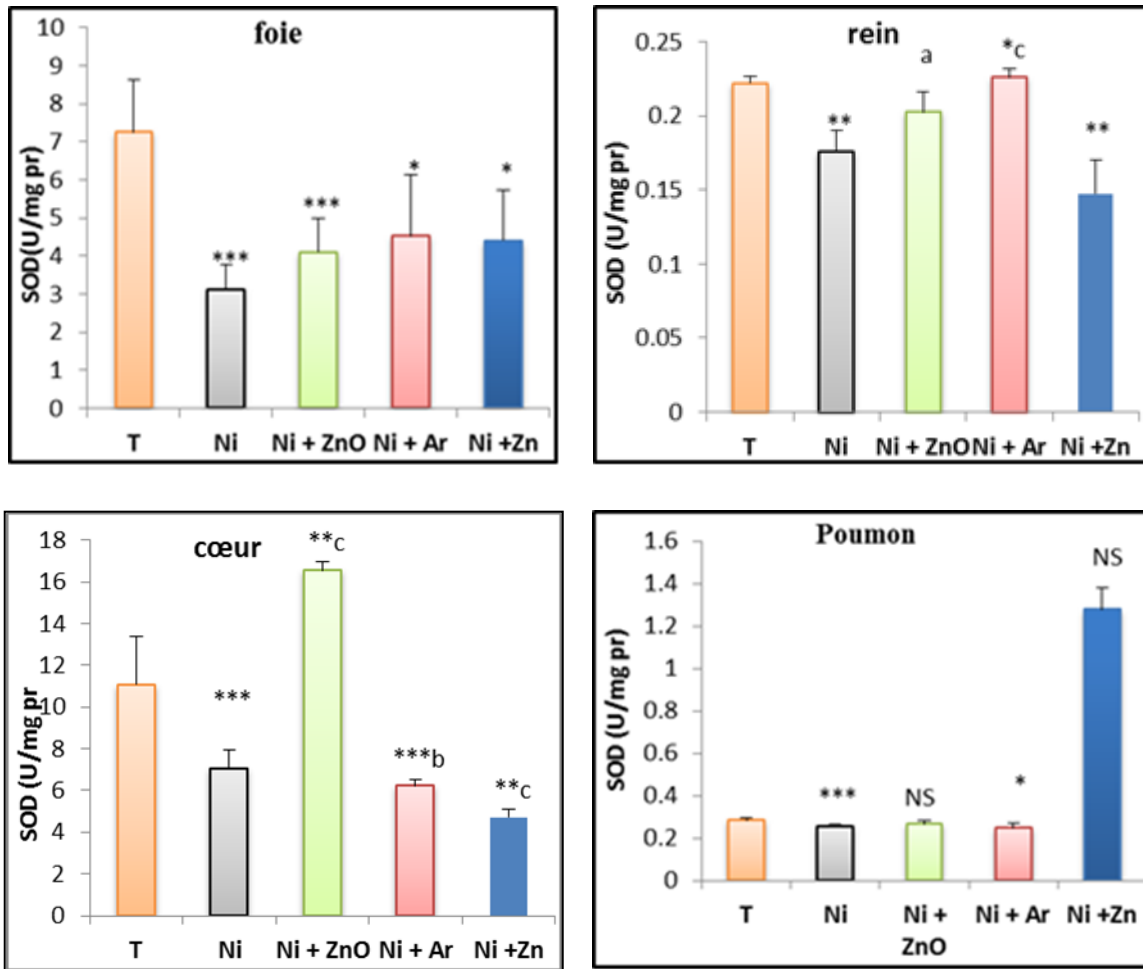


Figure 21 : Concentrations tissulaire de super oxyde dismutase (SOD) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin (T) : * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001, Comparaison avec groupe traités par nickel (Ni) : ^a p < 0.05; ^c p < 0.001, (n=5 rattes).

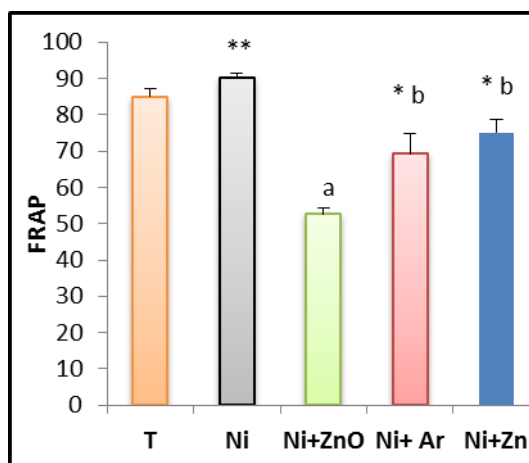


Figure 22 : Evaluation de pouvoir antioxydant plasmatique totale chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin (T) : * p < 0.05; ** p < 0.01, Comparaison avec groupe traités par nickel (Ni) : ^b p < 0.001, (n=5 rattes).

5. Corrélation entre la concentration NPs-ZnO et les paramètres de stress oxydant

Les résultats obtenus dans le tableau 08 montrent une forte corrélation entre les nanoparticules d'oxyde de zinc et les paramètres de stress oxydatif. Il y a une corrélation très significative ($P < 0,01$, $p < 0,05$) entre NPs-ZnO et MDA, aussi entre NPs-ZnO et GSH. En plus de ça la présence de corrélation hautement significative ($P < 0,01$) entre NPs-ZnO et l'antioxydant enzymatique (SOD).

Tableau 08 : la Corrélation entre la concentration NPs-ZnO avec les paramètres de stress oxydatif

Paramètres	P	R ²
NPs-ZnO / MDA	0.013	0.8949
NPs-ZnO / GSH	0.01	0.7567
NPs-ZnO / SOD	0.002	0.7049

CHAPITRE III
DISCUSSION

I. Discussion

1. Étude qualitative et quantitative des molécules phytochimiques

A la recherche de nouvelle composée biologique actifs, de nouveaux agents phytothérapie et biothérapie, pourrait être utilisés pour améliorer l'antioxydant du traitement médicamenteux standard. Pour cette étude nous évaluons les effets *Aristoloshia longa*, nanoparticules d'oxyde de zinc et zinc contre perturbation et dommage induit par le nickel.

L'analyse phytochimique de l'extrait aqueux de l'*Aristoloshia longa* a montré l'existence des plusieurs principes actifs : Les flavonoïdes, les terpénoïdes, les saponines, les alcaloïdes, les sucre réducteurs et tanins. De plus, l'existence des tenures importantes des polyphénols totaux et flavonoïdes. On peut dire que la plante étudiée est sources importantes des phénols totaux.

Les métabolismes secondaires produits par cette plante possèdent plusieurs activités biologiques intéressantes, et sources des principes pharmacologies actifs contre plusieurs pathologies. Les composés phénoliques comme les phénols, les flavonoïdes et tanins considérés comme des contributeurs majeurs à la capacité antioxydant des plantes. Ces composés ont l'intégrité pour la prévention et le traitement de différentes maladies dont les cancers, les maladies inflammatoires, antibactériens. Les polyphénols quant à eux sont impliqués dans la santé cardiovasculaire par leurs effets vasodilatateurs, et les maladies cardiovasculaires (Kerrthi et al, 2014). La principale caractéristique des polyphénols est qu'ils sont des agents antioxydants très puissants (Higdon, et Frei 2003 ; Oszmianski et al, 2005). En effet, ils sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants présents dans le corps. Les alcaloïdes peuvent être utilisés comme antibactériens, Antitumoraux, Antalgiques, Ils sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer (Oszmianski et al, 2005). Les terpénoïdes forment une partie essentielle des systèmes de défense directs et indirects contre les herbivores et les pathogènes ((Bohlmann et Keeling., 2008).). Les glycosides et flavonoïde peuvent inhiber la croissance tumorale. Les tanins ont des propriétés antioxydants ou encore cicatrisantes, ils ont le pouvoir chélateurs les métaux (Desmier, 2016). La saponine possède de nombreuses activités biologiques caractérisées par leurs propriétés tensioactives et hémolytiques (Bruneton, 1993).

2. Étude d'activité antioxydant (DPPH)

Concernant le teste antioxydant DPPH, selon les résultats enregistrés, les extraits aqueux d'*A. longa* et nanoparticules d'oxyde de zinc sont dotés d'un pouvoir antioxydant modéré, leur IC50 respective est de 12,23 et 27,847, mais relativement faible que celle d'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de 2,89 mg/ml. Les polyphénols contenus dans l'extrait de cette plante sont probablement responsables de l'activité antioxydant

présentent des activités anti radicalaires de ces extraits. en plus de ça même de ces composés responsable de activité anti radicalaire pour le ZnO parce que cette composés phytochimiques responsables de la synthèse des nanoparticules de zinc à base de plante (Gnanasangeetha et Thambavani, 2013). Qui agissent efficacement comme agents réducteurs qui réduisent peut-être l'acétate de zinc en nanoparticules d'oxyde zinc par le processus de bio réduction, elles peuvent être mis au point pour les utiliser comme antioxydants.

3.Étude de la croissance corporelle et le poids relatif des organes

La réduction de poids corporel est utilisée comme indicateur de la détérioration de l'état de santé générale de ratte. Notre étude montre l'exposition de nickel à dose (20mg/Kg) chez les rattes a provoqué une diminution du poids corporel.

Cet effet peut être aussi expliqué par l'action des polluants sur le transport des éléments nutritifs (les acides aminés, le glucose et les minéraux essentiels comme le zinc, le magnésium, le fer...) par le sang et par conséquence, ils peuvent induire une mauvaise assimilation des aliments par le corps (Pardeep, 2004) ont signalé que la baisse du gain de poids corporel peut-être dû à la dégradation augmentée de lipides et de protéines par suite de toxicité du nickel. Notre étude est concomitante à celle de (Mandava et al, 2009 ; Pardeep, 2004).

Tandis que, le traitement des rats par l'*Aristoloshia longa*, ZnO et Zn entraîné une amélioration des poids corporels par rapport aux rattes exposées au nickel.

Le traitement par l'*A. longa* et Zn a engendré une augmentation de poids corporel par rapport au lot exposé au Ni. Ceci expliqué par relation est attribuée aux puissantes activités anti-oxydantes des flavonoïdes et d'autres polyphénols associées à leurs propriétés redox permettant d'éliminer les effets d'espèces réactives de l'oxygène (Gulcin, I., et Cesur al 2005). ainsi que de chélateur les différents métaux de transition (Gulcin et al., 2010).Qui permettre diminué ou limite des effet toxique de nickel.

Le traitement par le zinc améliore le poids corporel. Des effets protecteurs similaires du Zn sur l'amélioration du gain de poids corporel des rattes ont également été observés cet effets pourraient être attribués à sa capacité de réduire l'accumulation de nickel dans les organes (Pardeep, 2005) et à son rôle physiologique critique dans la régulation de la structure et du fonctionnement des cellules notre étude est compatible avec l'étude (Pardeep ,2004) qui montrée l'effet bénéfique de zinc contre le perturbation des organes induit par le nickel.

Tandis qui les NP-ZnO sont capables de protéger l'intégrité de la membrane cellulaire contre les dommages du stress oxydatif induire par nickel d'augmenter les niveaux d'enzyme antioxydants (Dawei et al., 2009).

Concernant les poids relatifs des organes, nous remarquons néphromégalie, hypotrophie hépatique et hypertrophie cardiaque Ceci est explicable, d'une part, par l'hypertrophie tissulaire et d'autre part, par l'accumulation intense de ce métal dans ces organes cibles (Vyskocil et al, 2003 ; Permenter et al, 2011 ; Li et al., 2015). Cette augmentation de poids relatif des organes peut être due à la nécrose et l'apoptose induit par le nickel (Ibrahim et al,2011).

Le traitement par l'extrait aqueux d'*A. longa* a montré une amélioration de poids relatif des organes notamment le rein et le cœur. Ce résultat est en accord avec l'étude de Derouiche et al 2017. Qui a montré l'effet bénéfique de l'*A. longa* contre l'hypertrophie tissulaire induit par le plomb. L'amélioration par l'*A. longa* est due probablement par les trois composés phytochimiques identifiés dans cette plante comme flavonoïdes (folavonol, flavones et / ou flavonoïdes glycosides) exerçant un effet chélateur de nickel ce qui diminue leur effet toxique sur ces organes et donc diminue les poids relatif. Il est bien établi que les activités biologiques des plantes médicinales sont étroitement liées à leurs composés chimiques (Miguel,2010).

Nos résultats illustres aussi un effet protecteur du Zn contre l'augmentation de poids relative des organes étudié. Notre étude est compatible avec l'étude de Pardeep, 2005, qui a montré un effet protecteur similaire du zinc en améliorant les poids relatifs des animaux. Le zinc pourrait être attribué à son rôle physiologique critique dans la régulation de la structure et du fonctionnement des cellules. Rôles Physiologiques du zinc est encore longue (croissance, multiplication et différenciation cellulaires - apoptose...) (Favier,1995) . Ce qui confirme le développement des organes de façon proche à l'état normale.

Pour l'effet thérapeutique des nanoparticules de l'oxyde de zinc. En Remarquant une amélioration des poids relative cela dû leur taille, de leur morphologie et porosité qui permettra de pouvoir multifonctionnelles avec son application dans différents domaines. Les nanoparticules de métal sont considérées comme sûres pour les applications car elles sont plus stables et possèdent des propriétés essentielles (Zhao et Castranova, 2011). car il peut servir de catalyseur utile pour la réduction ou l'élimination de produits chimiques toxiques (Hassan A et al.,2016) ce qui élimine l'effet de nickel responsable de l'hypertrophie tissulaire.

4.Étude de la concentration tissulaire du nickel et du zinc

Concernant l'analyse métallique au niveau tissulaire, les résultats obtenus montrent une augmentation très importante de la quantité de Ni au niveau du foie, ce qui reflète sur l'accumulation (ou une fixation à) de ce métal sur ce tissu cible. Le foie est principal organe du métabolisme des substances endogènes et exogènes (Deborah et al., 2010)

La concentration de nickel dans les tissus du foie a augmenté suite à l'administration de nickel à des rattes normales. Parce que le foie est la principale cible de toxicité

environnementale et professionnelle et le principal site de détoxification (Das *et al.*, 2001). Le nickel pénètre dans tous les organes et s'accumule principalement dans le foie (Das, 2004). Ils peuvent provoquer certaines transformations morphologiques dans de nombreux systèmes cellulaires (Coen *et al.*, 2001). Parce qu'il possède une grande affinité pour le groupement thiols protéique des membranes cellulaires hépatiques (Mathur *et al.*, 1997) par la capacité des composés de nickel solubles dans l'eau à traverser la membrane cellulaire et à interagir avec la protéine cytoplasmique ((Das, 2004).

De nombreux effets nocifs du nickel sont dus à une interférence avec le métabolisme de métaux essentiels, tels que Fe^{+2} , Zn^{+2} et Cu^{+2} (Cempel et Nickel., 2005). Les domaines à doigts de zinc sont des cibles potentielles pour la toxicité des métaux. Plusieurs mécanismes ont été proposés impliquant une attaque directe (par échange de métaux, formation de complexes métalliques mixtes) et une attaque indirecte (par exemple, par oxydation) d'espèces métalliques fortuites. La capacité de Ni (II) à se coordonner avec la soufre cystéine et à invoquer des processus oxydants est bien établie (Bal *et al.*, 2002). L'augmentation de concentration de nickel corrobore l'hypothèse de l'existence d'un antagonisme biologique entre Ni^{2+} et Zn^{2+} . La fonction toxique du Ni résulte principalement de sa capacité à compétition et à remplacer d'autres ions métalliques dans les enzymes et les protéines, ainsi qu'à se lier à des composants cellulaires contenant des atomes de O, S ou N, tels que des enzymes et des acides nucléiques Les ligands peuvent former une liaison de coordination avec un ion métallique avec le zinc, qui sont ensuite inhibés (Cempel et nickel., 2005 ; Šulinskienė *et al.*, 2015 ; Akitsu, 2018).

Nous avons observé une diminution de la concentration de zinc dans le foie suite à la toxicité du nickel ce résultat est compatible avec l'étude Cempel et Janicka 2002, ce qui peut être dû au fait que le nickel se mobilise et favorise l'excrétion du zinc des organes (Schroeder *et al.*, 1974). Les résultats de notre étude sur les concentrations réduites de zinc pourraient s'expliquer par le fait qu'il est excessivement utilisé pour fournir un mécanisme de défense antioxydant ou qu'il existe un défaut dans l'absorption / le métabolisme du zinc dans des conditions toxiques créées par le nickel (Pardeep *et al.*, 2004). Les anomalies du métabolisme du zinc entraînant sa carence sont généralement attribuées à divers facteurs tels que la mal absorption, une diminution des facteurs de liaison au zinc dans l'intestin ou une augmentation de l'excrétion du zinc par le tractus gastro-intestinal ou par l'urine dans les affections hépatiques chroniques (Pardeep *et al.*, 2004). Le zinc fait partie intégrante de nombreuses métalloenzymes telles que l'alcool déshydrogénase, notamment l'ADN et l'ARN polymérase, la collagénase, la carboxypeptidase, la superoxyde dismutase et le déplacement

du zinc par le nickel semble être associé à la désactivation des enzymes critiques ((Nieboer et *al.*,1984).

En revanche, l'administration d'*A.longa* et ZnO a permis de la réduire le niveau du nickel dans les tissus hépatiques ceci en faveur d'un processus détoxification. En effet, cette réduction de nickel signifié que cette plante favorise une bonne élimination des ces métal grâce des composés phénoliques, par l'effet protecteurs contre l'accumulation de nickel dans l'organisme notamment diminué l'accumulation de ces métaux lourds dans le foie des animaux d'une manière significative ce expliquer par l'action antioxydants des composés phénoliques est due à leur forte tendance à chélateur les métaux par les flavonoïdes et tanins (Michalak,2006;Biaye,2002). En raison de leur structure chimique spécifique, les flavonoïdes peuvent chélater des ions métalliques et former des complexes (Keilig et Ludwig-müller,2009). La chélation des métaux peut être cruciale dans la prévention de la génération de radicaux, qui endommage les biomolécules cibles (Jamieson et *al.*,2006 ; Marzena, S., et Mateusz, K. 2012) et entraîne une action régulatrice sur les fonctions hépatique . Ces effets de plante sont expliqués aussi peut être par la réduction de l'absorption du nickel au niveau gastro-intestinal.

Concernant le ZnO possède une capacité d'interaction avec les systèmes biologiques au niveau cellulaire car petite taille des nanomatériaux favorise leur pénétration dans la cellule. Les mécanismes qui gouvernent la pénétration des nanomatériaux sont cependant complexes et encore plusieurs éléments restent à élucider. Il est bien établi que les nanomatériaux ont une plus grande capacité de pénétrer les cellules (Nabeshi et al. 2010 ; Sakai et *al.*, 2011) qui donne d'effet protecteur pour diminuer la concentration de ce nickel.

L'administration de zinc a ramené les niveaux de nickel à cause l'effet protecteurs du zinc peut être imputable à l'absorption de nickel dans la paroi intestinale, qui est supprimée par une perfusion concomitante avec des niveaux élevés de zinc (foulkes et Mullen,1986). Montrant ainsi les effets antagonistes du zinc sur la toxicité du nickel (Pardeep et *al.*, 2004). Le zinc pourrait avoir augmenté les niveaux de métallo-thionine ainsi qu'amélioré l'histoarchitecture des hépatocytes chez ces rattes, ce dernière détoxifier les métaux lourds et améliorant ainsi la rétention de Zn après la supplémentation en Zn des rattes. Le zinc associé à la métallothionine au cours de cette étape reflète les modifications physiologiques de la demande de Zn nécessaire au métabolisme des acides nucléiques et des protéines (Panemangalore et *al.*,1983 ; Pardeep et *al.*, 2004).

5.Étude des paramètres biochimiques

Le résultat de l'effet du nickel sur le profile lipidique a montré une augmentation significative de la concentration sérique des composés lipidiques qui est principalement le

cholestérol. Notre étude est concomitante à celle de Hfaiedh et *al*, 2008 ils ont trouvé que le traitement par le nickel a entraîné des perturbations du métabolisme lipidique. Cette augmentation peut être expliquée par les dégradations intenses des lipides aux niveaux des tissus adipeux dans l'organisme (Cempel et Janicka, 2002). Par conséquent, un taux élevé de cholestérol sérique peut être hépatique. Due à un dysfonctionnement hépatique (Das et *al*, 2006), qui est associée à l'augmentation en triglycérides et aussi peut indiquer une possible peroxydation lipidique de la membrane cellulaire due aux effets oxydatifs des radicaux libres due à une nécrose du foie. De plus, peut augmenter encore les dommages oxydatifs. La LPO constitue un processus d'oxydation radicalaire dans lequel les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire se décomposent pour donner, entre autres, des hydroperoxydes lipidiques hautement réactifs H₂O₂ hydroxyle (Misra et *al.*, 1990 ; Hfaiedh et *al*, 2008.).

Nos résultats ont démontré aussi une amélioration significative de la concentration de cholestérols et triglycéride chez les rattes traité par *A. longa* et Zn, cette amélioration expliquer premièrement La richesse des plantes en composés phénoliques, stéroïdes et flavonoïdes est probablement à l'origine de cette amélioration et autre activités pharmacologiques parmi eux un potentiel antioxydant, Antiathérosclérotique (Tapas et *al*, 2008) et antihyperlipidémiant (Atique et *al.*, 2017). Concernant le zinc, est impliqué dans des fonctions vitales telles que la croissance et la division cellulaire (Zalewski, et *al.*, 1991 ; Craig et *al.*, 2006). En plus, Zn est aussi un composant important dans la membrane cellulaire et la fonction, comme un antioxydant et protège contre la peroxydation des lipides (Prasad, A.S.2014).

Une carence en zinc dans le régime alimentaire aurait provoqué une augmentation de la peroxydation des lipides (Hendricks D et Mahoney A , 1972).

Notre étude sur la fonction rénale a montré une augmentation des taux sériques en l'urée et en acide urique chez les rats traités par le nickel, qui sont considérées comme des biomarqueurs du dysfonction rénale et les dommages rénaux provoqué par le nickel (Prasad et *al*, 2006 ; Iscan et *al.*, 1994). La concentration sérique élevée de l'urée peut être expliqué par le catabolisme des composés protéiques du corps sous l'action des hormones glucocorticoïdes qui jouent un rôle important dans ce processus, où les protéines peuvent être dégradées en acides aminés puis en urée. Le nickel s'accumule au niveau des reins, où il induit des lésions au niveau des glomérules et une protéinurie, ce qui témoigne de l'installation d'une insuffisance rénale transitoire, avec baisse de la filtration glomérulaire (Tikare et *al.*, 2013). La néphrotoxicité des composés du nickel induit une néphropathie toxique avec protéinurie, aminoacidurie et réduction de la clairance rénale. (Gitlitz et *al*, 1975). Comme peut être

expliqué la diminution d'activité des systèmes anti-oxydants pourrait, chez l'insuffisant rénal, expliquer en partie la perte de fonction endothéliale (Aznar-Salati et coll., 1995).

Tandis que, le traitement des rattes avec l'A. *longa*, Zn et ZnO montré une diminution significative de concentration de l'urée et acide urique par rapport aux rattes exposé aux nickel. Premièrement pour le zinc, des études chez l'animal ont montré que la fonction antioxydante du zinc empêchait la toxicité des tissus rénaux. Le zinc est capable de neutraliser les dommages oxydatifs .comme pourrait être attribuée à son rôle dans l'induction de la métallothionéine (protéine liant le zinc), régulant ainsi les précurseurs des acides aminés pour la synthèse des protéines (Pardeep et al., 2004). Concernant les effets protecteurs de la plante. Nous remarquons une amélioration de paramètre rénal par composés doués d'activité antioxydante tels que les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent leurs actions anti-inflammatoires, en plus leurs actions antioxydantes en inhibant la production de l'anion superoxyde. Notre étude Contrairement à l'étude de (Benarba et al.,2014) sur la toxicité d'A. *longa* que montrent les lésions rénales graves. La diminution de taux de paramètres rénale après l'administration de Nanoparticule de oxyde zinc ceci expliqué par leur effet protecteur. Le ZnO-NPS est un élément non toxique il possède une capacité antioxydant qui empêche ou ralentit l'oxydation en neutralisant des radicaux libres , donc d'améliorer la puissance de fonctionnement du tissu pour arrêter la perturbation de la membrane cellulaire (Santhoshkumar,J ., Venkat Kumar ,S et Rajeshkumar,S., al., 2017).

A lumière se nos résultats, la toxicité par nickel provoqué augmentation très hautement significative du niveau de protéines sérique a été enregistrée chez les rattes traité par ce métal. Peut-être expliqué par le transporté de nickel dans le sang par liaison avec de l'albumine sérique et, à un degré moindre, de l'histidine. L'ion nickel peut également se lier aux protéines corporelles pour former une métalloprotéine riche en nickel (Kusal, 2010) par ce qui l'albumine joue également un rôle important dans le transport d'une très grande variété de substances endogènes et exogènes, dont certaines peuvent être toxiques pour l'organisme lorsqu'elles sont à l'état libre comme cette cas (Carter.1994) et qui permet d'augmenté de niveau de protéine totaux. L'albumine peut lier également des métaux toxiques comme le cuivre, le nickel et le mercure; associés à l'albumine, dans ce cas, ils ne passent plus à travers les filtres rénaux.

6.Étude des paramètres enzymatiques

Dans la présente étude, l'intoxication au nickel a entraîné une augmentation significative des activités du TGP, du TGO. Le foie constitue une cible importante du nickel ce qui conduit à des nécroses hépatiques et la sortie des aminotransférases (TGO et TGP) dans le sérum (Saad et al., 2011) ce qui s'explique clairement l'effet hépatotoxique du nickel qui est

pénétré dans les cellules et à traversé la membrane nucléaire (Patierno et al,1987). Ce qui est capable d'induire la mort cellulaire des hépatocytes par nécrose due aux effets du production accrue des radicaux libres conduisant à la lyse cellulaire accompagnée par libération des constituants hépatiques et cellulaire notamment les transaminases vers le milieu extracellulaire (Pari et Amudha, 2011; He et *al.*, 2013) en raison de lésions des membranes des hépatocytes, entraînant une libération accrue et la fuite de ces enzymes du cytosol du foie nécessaire pour la libération de ces enzymes à partir au tissu dans le plasma (Pardeep et al, 2004; Leelavinothan et Kasinathan, 2011; Pari et Amudha, 2011; El-Elaimy et El-Nabi, 1990) .

Dans nos conditions expérimentales, les traitements des rattes par ZnO, *Aristoloshia longa* et Zn a engendré une diminution de l'activité enzymatique de TGO et TGP par rapport aux rattes exposées de nickel ceci peut expliquer par le rôle important de ZnO qui possède un effet hépato protecteur par piégeage des radicaux libres ou par augmentation de l'activité des antioxydants, qui détoxifient ensuite les radicaux libres par effet antihépatotoxique (Hambidge et Krebs, 2007). Ces facteurs protègent les cellules hépatiques des effets néfastes de ce métal, qui pourraient se transformer en hépatocarcinome traduit probablement par des NP-ZnO à faible concentration, qui maintiennent la régulation des enzymes et de la synthèse des protéines essentielles à l'intégrité des membranes Cellulaires (Hambidge et Krebs, 2007).

L'*A. longa* inhibe des dommages hépatiques causés par le Nickel. Ce fait par les composées phénoliques qui possède une effet hépato protecteurs et antioxydants primaires, par inactivent les radicaux libres qui donne une lésion hépatique (wiart , 2006).ceci pourrait être dû à la réduction de l'accumulation des radicaux libres et la protection contre le stress oxydatif par l'*aristoloshia longa*. La propriété anti-inflammatoire des espèces est probablement le résultat d'une intraction directe entre l'acide aristoloshique et les dérivés de la phospholipases A2 aristoloshique constituent principale d'*Aristoloshia longa*. De plus, phospholipase A2 est une enzyme catalyse l'hydrolyse de l'acide aristoloshique membranaire ce qui conduit à la formation des médiateurs anti-inflammatoire locaux tels que les Prostaglandines (PG) .L'acide arachidonique est un intermédiaire clé biologique qui est converti en un grand nombre d'eicosanoides possédant une activité biologique puissante (wiart , 2006).

Le traitement par le zinc entraîne une correction de l'activité enzymatique de TGO et TGP plasmatique, ce qui pourrait être attribué à l'efficacité antiradicalaire / anti-oxydante et chélatante des métaux de cet élément. (Djemli et and Kechrid,2013) et stabilisation de la membrane cellulaire. Par conséquence le zinc ayant protégéait la fonction hépatique de l'intoxication au nickel, par leur effet hépatoprotecteur dans différentes conditions toxiques.

Ces résultats sont en bon accord avec ceux obtenus par d'autres études qui ont postulé le rôle bénéfique du zinc sur les modifications histologiques et enzymatiques chez les rattes (Djemli et al, 2012).

7.Étude des paramètres de stress oxydatif

Concernant les paramètres de stress oxydatif, le traitement par le nickel a montré une altération remarquable des systèmes de défense antioxydants (enzymatiques et non enzymatiques) et la peroxydation lipidique (lipoperoxydation) . Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants, la diminution de la défense antioxydante ou une combinaison de ces deux facteurs (Ece et al., 2007). Parallèlement, des recherches antérieures avaient indiqué l'implication du stress oxydant dans les mécanismes de toxicité induits par le nickel (Cavallo et al., 2003). En fait, le stress oxydant est le résultat des processus de multi-étape.

Dans notre étude, l'intoxication au nickel induire la stresse oxydative par l'augmentation peroxydation lipidiques et diminution de niveaux systèmes de défense antioxydants GSH, GST et SOD au niveau des organes étudiés. Ce résultat est en accord avec l'étude de Djemli et Kechrid 2013 et l'étude de Mahmoud 2012 qui ont montré l'augmentation des niveaux du MDA dans la toxicité du nickel et l'étude la réduction des niveaux de GSH dans la toxicité du nickel.

Dans notre résultats on à montrer l'augmentation des niveaux du MDA rénal, cardiaque et pulmonaire après exposition de nickel. Ce qui expliqué par des effets néfastes de l'action du nickel dans le corps et l'induction de la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et l'augmentation de la peroxydation des lipides dans les cellules.LPO constitue un processus d'oxydation radicalaire dans lequel les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire (Pardeep et al,2004) décomposent pour donner, entre autres, des hydroperoxydes lipidiques hautement réactifs (H₂O₂), un radical hydroxyle (OH[·]) et du malondialdéhyde. Il a été démontré que le malondialdéhyde provoque la réticulation et la polymérisation des composants de la membrane et peut contribuer aux effets mutagènes, génotoxiques qui est provoqué par l'altération des mécanismes de défense antioxydant; y compris la détoxification et les enzymes de balayage, ou bien par l'augmentation de la peroxydation lipidique suite à l'interaction entre les Espèces Réactives à l'Oxygène (ERO) et les membranes cellulaires (Attig et al., 2010 ; Misra et al., 1990).

Dans notre étude expérimentale, les résultats montrent une diminution significative du niveau glutathion au niveau le foie, et le cœur chez les rattes contaminé par le nickel. Ceci peut être expliqué par le groupe sulfhydryle de la fraction cystéine du glutathion à une haute affinité pour les métaux, formant des complexes de mercaptides thermodynamiquement stables avec plusieurs métaux (Djemli et Kechrid,2013). Autrement, le GSH peut être oxydé

en raison de l'interaction avec les radicaux libres induits par le nickel. Ces complexes sont inertes et peuvent être excrétés via la bile. Par conséquent, le niveau de GSH peut être consommé pendant la détoxification du nickel (Manna et *al.*, 2008; Mohandas, 2010). Ces composés entrent dans les réactions d'oxydoréduction ou les réactions de conjugaison nécessitant du glutathion réduit, entraînant sa forte consommation, et donc sa diminution dans les cellules vivantes (Aouacheri et *al.*, 2009) ce qu'il explique clairement le rôle critique du glutathion réduit dans la biotransformation de substances exogènes y compris les métaux lourds (San Miguel et *al.*, 2013).

Notre résultats ont montré une diminution de l'activité de SOD au niveau le foie, rein, cœur et poumon et augmentation de GST hépatique chez le groupe exposé au nickel par rapport au témoin, ceci peut être due au fait que les intermédiaires toxiques produits dans le foie lors du métabolisme des contaminants peuvent inactiver l'enzyme, entraînant une réduction de l'activité de la GST (Mahmoud, et *al.*, 1995). Parallèlement la diminution de l'activité de la SOD peut être due à son inhibition par la production excessive de ROS, comme en témoigne la LPO dans la présente étude. Une production excessive de ROS peut entraîner des modifications de l'activité biologique des macromolécules cellulaires. Par conséquent, la réduction de l'activité de la SOD peut entraîner un certain nombre d'effets délétères dus à l'accumulation de radicaux superoxydes. L'administration de nickel chez les rattes dans la présente étude peut conduire à la génération d'un radical peroxy, O_2^- , associé à l'inactivation de la SOD.

Notre résultats a montré une restauration du taux de MDA et une amélioration de systèmes antioxydant grâce à l'efficacité de notre système thérapeutique (ZnO, *A. longa* et Zn) contre l'altération oxydative induit par le nickel.

Le Zn est un excellent antioxydant qui empêche la synthèse des radicaux libres d'oxygène qui sont responsables du stress oxydative (Fernandez et *al.*, 2003). Il peut exercer cet effet antioxydant protecteur en stabilisant les membranes lipidiques et en empêchant la peroxydation lipidique (Pardeep et *al.*, 2004). Le mécanisme d'action des effets antioxydants du zinc par la compétition avec les ions métallique pour se lier au membranes cellulaires et protéines, déplaçant ces métaux actifs redox, qui catalysent la production de OH^\bullet à partir de H_2O_2 et peut donc diminuer la production de radicaux libres au niveau du site de liaison au ligand (Bray et Bettger, 1989). De plus, le zinc est également connu pour induire la synthèse de méthallothionéine (MT), une protéine capable de se lier aux métaux lourds et de piéger les radicaux hydroxyles qui ayant un rôle dans la détoxification des métaux lourds, comme agent anti-radicalaire (Rostan et *al.*, 2002). Le Zn capable de neutraliser les dommages oxydatifs induits par le Ni. En conséquence le zinc augmente l'activation des protéines antioxydants,

des molécules et des enzymes glutathion (GSH), GST et la SOD et réduit également les activités des enzymes favorisant l'oxydation telles que l'acide nitrique synthase inductible, NADPH oxydase et inhibe la production de produits de peroxydation lipidique.

L'amélioration remarquable des paramètres de stress oxydatif après le traitement par l'*A. longa* au niveau des organes étudiés peut expliquer comme suite : la plante possède une activité antioxydant basé sur l'élimination des radicaux libre et la restauration de la présence de la balance oxydants/ antioxydants durant la toxicité induite par ce métal. La présence des polyphénols et des flavonoïdes dans l'*A. longa* pourrait être responsable de l'activité antioxydante (Keilig et Ludwig-müller,2009 ; Leopoldini et *al.*,2011).les flavonoïdes sont des composés de métabolisme secondaires le plus important de la plante modulant la peroxydation lipidique .les groupes phénoliques de polyphénols peuvent accepter un électron pour former les radicaux phénoxyles relativement stable ,ce qui perturber les réaction d'oxydation en chaine des composants cellulaire (Mohan et *al.*,2014). Ils ont été montrés que les diterpenes phénolique à agir comme antioxydants primaires en faisant dont d'hydrogène aux radicaux lipidiques et ralentissant ainsi la peroxydation lipidique (Grassmann, 2005). Selon l'étude d'Arora et *al.*, 2000. Les composés phénoliques (en particulier les flavonoïdes) sont capables de modifier la cinétique de la peroxydation en modifiant l'ordre de remplissage des lipides. Ils stabilisent les membranes en diminuant leur fluidité (en fonction de la concentration), entravent la diffusion des radicaux libres et limitent la réaction de peroxydation. Peut servir de mécanisme de composé antioxydants ces composés phénoliques expriment les propriétés anti oxydantes par ; le piégeage directe des espèces réactives de l'oxygène, la suppression de la formation des ROS par l'inhibitions de quelques enzymes ou chélation des ions métallique impliqués dans leur production (Nikwil et *al.*, 2014), ce qui explique la diminution des concentrations de l'MDA. En conséquence, l'augmentation du taux de GSH et l'activité de SOD.

Notre résultat montre aussi une amélioration des paramètres des stress oxydatif par traitement de nanoparticule d'oxyde de zinc. Nos résultats sont en accord avec Sharma et al. (2012) qui ont déclaré que les NPs-ZnO peuvent améliorer l'activité antioxydant par augmentation de l'activité des antioxydants et réduire les niveaux de radicaux libres. Ceci expliqué par la présence de corrélation entre les concentrations tissulaires de NPs-ZnO et paramètres de stresse oxydatif (MDA, GSH et SOD) remarquons de notre résultats preuve de la capacité protecteur de NPs-ZnO en éliminant les radicaux libres, ou en renforçant l'activité des antioxydants, qui détoxifient ensuite les radicaux libres. Comme en témoigne la diminution significative de la peroxydation des lipides (LPO) et l'augmentation du niveau d'enzymes antioxydantes (GSH, SOD), ces facteurs protègent les cellules contre l'effet

néfaste des ROS induit par le nickel. Le ZnO a des caractéristiques spécifiques telles que la taille, la distribution et la morphologie, aussi Le rapport surface / volume des NP est très élevé, ce qui augmente leur réactivité par rapport aux parties plus grandes du même composé et aussi une plus grande capacité de pénétrer les cellules (Nabeshi et *al.* 2010; Sakai et *al.*, 2011).

Le test FRAP, un test simple et automatisé mesurant la capacité de réduction ferrique du plasma, est présenté comme une nouvelle méthode permettant d'évaluer le «pouvoir antioxydant». La réduction des ions ferriques en ions ferreux et mesurant les dommages tissulaires induits par le stress ferrique réducteur-oxydant l'augmentation de activité de FRAP explique par l'augmentation de La capacité antioxydante du plasma est la principale mesure et le principal marqueur pour évaluer l'état et le potentiel du stress oxydatif dans le corps. Le plasma contient de nombreux composés qui agissent contre les stress oxydatifs de l'organisme, protégeant ainsi la cellule et les biomolécules cellulaires des dommages. L'action combinée de toutes les molécules antioxydantes dans le plasma représente la capacité antioxydante du plasma (Pandey et Rizvi 2010 ; Tiwari et *al.*, 2013).

la diminution de l'activité de FRAP de trois groupe thérapeutique ZnO , *A.longa* et Zn. explique par excellent antioxydant de plante et Zn qui empêche la synthèse des radicaux libres d'oxygène qui sont responsables du stress oxydative (Fernandez et *al.*, 2003 ; Bakchiche et Gherib., 2014).La propriété la mieux décrite des composés phénoliques est la capacité antioxydante vis-à-vis des radicaux libres normalement produits par le métabolisme des cellules ou en réponse à des facteurs externes. Les polyphénols éliminent les radicaux libres et les espèces d'oxygène réactives (ROS), rendus inactifs (Leopoldini et *al.*, 2011) et leur pouvoir de chélation des ions de fer ferreux. Les nanoparticules d'oxyde métallique ont des applications car il peut servir de catalyseur utile pour la réduction ou l'élimination de produits chimiques piégeage des radicaux libres ou par augmentation de l'activité des antioxydants, qui détoxifient ensuite les radicaux libres et diminution de leur taux.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'utilisation des plantes médicinales, oligoélément et nanoparticule sont encore Aujourd'hui la forme de médecine le plus répandue à travers le monde, qui permet de remédier à des problèmes du quotidien de manière naturelle. Notre travail a été pour l'objective d'évaluer l'effet de nanoparticules d'oxyde de zinc, l'*Aristolochia longa* et le zinc sur des rattes Wistar Albinos contaminé par le nickel. A la lumière des résultats obtenus, en peut conclure que :

- L'analyse phytochimique montre que l'*Aristolochia longa* est très riche en polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, saponines, terpenoïdes et sucres réducteurs. Ce qui nous permet de découvrir une nouvelle source des molécules bioactives ont un important effet thérapeutique contre plusieurs pathologies.

- L'étude de l'activité biologique in-vitro de l'extraits aqueux d'*Aristolochia longa* et nanoparticule d'oxyde de zinc a montré que les deux molécules possèdent une remarquable pouvoir antioxydant. Ces composants pourraient donc constituer comme de composé à réduire les agents pro-oxydants.

- L'étude physiologique a montré que le traitement par NPs-ZnO, *A. longa* et Zinc augmente le poids corporel des rattes et améliore le poids relatif des organes notamment le rein, le cœur et poumon. Ce qui montre clairement l'efficacité de ces différentes formes thérapeutiques contre des altérations tissulaires de ces organes et que l'absence de l'effet secondaire toxique sur ces organes cible.

- Nos résultats ont montré aussi que l'*A. longa*, le NPs-ZnO et le Zinc baissent la teneur de Nickel au niveau le foie ce qui montrer l'effet chélateur de ces types thérapeutiques en diminuant leur concentration dans l'organisme et réduisant donc leur toxicité tissulaire.

- Le traitement par NPs-ZnO, *Aristolochia longa* et Zinc induit une importante restauration de certains paramètres biochimique ce qui montre l'effet protecteur de ces types thérapeutiques contre des altérations métaboliques et physiologiques de plusieurs systèmes biologiques en relation avec les paramètres étudiés.

- Le traitement par NPs-ZnO, *A. longa* et Zinc diminue l'état de stress oxydant induit par l'exposition au nickel par une limitation des phénomènes radicalaires et une réparation des dommages oxydantes en diminuant la peroxydation lipidique au niveau rénale ,cardiaque et pulmonaire 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 types des traitements contre les pathologie associée au stress oxydant dont l'inflammation, le canceretc.

Conclusion

- La corrélation entre les concentrations tissulaires de NPs-ZnO et paramètres de stress oxydatif que montré l'excellente capacité d'antioxydant de nanoparticules d'oxyde de zinc contre l'attaque radicalaire et l'effet cytotoxiques de nickel. Spécifique dans les organes cibles par NPs-ZnO.

A la lumière de cette étude, nous avons enregistré que l'utilisation de nanoparticule d'oxyde zinc, l'*Aristolochia longa* et le zinc n'a aucun effet perturbateur sur les organes étudié ce qui nous permet de confirmer l'effet bénéfique de types thérapeutiques sur l'état de santé des utilisateurs.

Perspective

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

- Étudie l'effet thérapeutique de nanoparticule de l'oxyde de zinc contre des maladies aigue et chronique notamment les maladies cardiovasculaire.
- Étudier l'effet de zinc nanoparticule au niveau d'ADN génomique
- Étudie l'effet protecteur possible de la nanoparticule de l'oxyde de zinc synthétisé à base des autres plantes
- Réaliser une étude des mécanismes d'action au niveau moléculaire et cellulaire des types des traitements étudiés.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographies

- 1) Adalis, D., Gardner, D.E. & Miller, F.J. (1978). Cytotoxic Effects of Nickel on Ciliated Epithelium. *The American review of respiratory disease*, 118(2), 347-354.
- 2) AHN, M., KUMAZAWA, S., USUI, Y., NAKAMURA, J., MATSUKA, M., ZHU, F., & NAKAYAMA, T. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*, 101(4), 1383–1392. doi : 10.1016/j.foodchem.2006.03.045
- 3) Akitsu, T. (2018). *Basic concepts viewed from frontier in inorganic coordination chemistry : Vol. 7. Mechanism of interactions of zinc(ii) and copper(ii) complexes with small biomolecules*. London : International Standard Book Number.
- 4) Ambrose, A.M., Larson, P.S., Borzelleca, J.F. & Hennigar, G.R. (1976). Long term toxicologic assessment of nickel in rats and dogs. *Journal of Food Science and Technology*, 13, 181-187.
- 5) Aneb, M., Talbaoui, A., Bouyahya, A., EL Boury; H., Amzazi, S., Benjouad, A., Dakka N & ., Bakri, Y. (2016). In vitro Cytotoxic Effects and Antibacterial Activity of Moroccan Medicinal Plants Aristolochia longa and Lavandula multifida. *European Journal of Medicinal Plants* 16 (2), 1-13.
- 6) Angerer, J., & Lehnert, G. (1990). Occupational chronic exposure to metals. II: Nickel exposure of Stainless steel elders-biological monitoring. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 62(1), 7-10.
- 7) Aouacheri, W., Saka, S., & Djafer, R (2009). L'effet toxique d'un insecticide (alphaméthrine) sur l'activité du système enzymatique de détoxification du glutathion. *Annales de Toxicologie Analytique*. 21(3), 125-129.
- 8) Arora, A., Byrem, T. M., Nair, M. G., & Strasburg, G. M. (2000). Modulation of Liposomal Membrane Fluidity by Flavonoids and Isoflavonoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 373(1), 102–109. doi : 10.1006/abbi.1999.1525.
- 9) Atique, I., Ahmed, D., Maqsood, M., & Malik, W. (2017). Solvents for Extraction of Antidiabetic, Iron Chelating, and Antioxidative Properties from Bottle Gourd Fruit. *International Journal of Vegetable Science*, 24(3), 212–226. Doi : 10.1080/19315260.2017.1409304
- 10) Attig, H., Dagnino, A., Negri, A., Jebali, J., Boussetta, H., Viarengo, A., Dondero, F., & Banni, M (2010). Uptake and biochemical responses of mussels *Mytilus galloprovincialis* exposed to sublethal nickel concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(7), 1712–1719.

Références bibliographiques

- 11) Audrey, F., Dumax-Vorzet, M., Tate, R.W., Rhod, H., Elder, A., & Povey, C (2015). Cytotoxicity and genotoxicity of urban particulate matter in mammalian cells. *Mutagenesis* 30(5), 621–633.
- 12) Bahadoran, Z., Mirmiran, P., & Azzi, F. (2013). Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. *Journal of Diabetes & Metabolic*, 12(1), 1-9. doi: 10.1186/2251-6581-12-43.
- 13) Bakchiche, B., & Gherib, A. (2014). Activités antioxydantes des polyphenols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 9(1), 167-172.
- 14) Bal, W., Schwerdtle, T., & Hartwig, A. (2003). Mechanism of nickel assault on the zinc finger of dna repair protein xpa. *Chemical Research in Toxicology*, 16(2), 242–248. doi:10.1021/tx025639q
- 15) Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*. Volume 44(1), 276-287.
- 16) Bekdouche, F., Derridj, A., & Krouchi, F. (2008). Evolution apres feu de la composition floristique de la SUBERAIE de Mizrana (TIZI- OUZOU, ALGERIE). *Sciences et Technologie*, 28,19- 29.
- 17) Benarba, B. (2016). Anticancer activity, phytochemical screening and acute toxicity evaluation of an aqueous extract of Aristolochia longa L. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 6(1), 20-26. doi : 10.24896/eijppr.2016614
- 18) Benarba, B., Meddah, B., & Tir Touil, A. (2014). Response of bone resorption markers to aristolochia longaintake by algerian breast cancer postmenopausal women. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2014, 1–4. doi:10.1155/2014/820589
- 19) Bennett BG (1984). Environmental nickel pathways to man. In: Nickel in the human environment. *Proceedings Of A Joint Symposium Held at IARC Lyon France International Agency For Research on Cancer* 487-495.
- 20) Bhowmik, D., Chiranjib, K.P., & Kumar, S.(2010). A potential medicinal importance of zinc in human health and chronic disease. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 1(1), 05-11.
- 21) Biaye, M. (2002). *Action Pharmacologique des Tannins*. Thèse de doctorat en Pharmacie non publié, Université de Cheikh Anta Diop de Dakar. Dakar-la- Sénégal.
- 22) Bohlmann, J., & Keeling, C.I. (2008). Terpenoid biomaterials. *The Plant Journal*, 54(4), 656–669. doi : 10.1111/j.1365-313x.2008.03449.x

Références bibliographiques

- 23) **Boorman, G. A., Dieter, M. P., Jameson, C. W., Tucker, A. N., Luster, M. I., French, J. E., & Hong, H. L., (1988).** Evaluation of tissue disposition, myelopoietic, and immunologic responses in mice after long-term exposure to nickel sulfate in the drinking water. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 24(3), 357–372. doi:10.1080/15287398809531167
- 24) **Borg, K., & Tjälve, H. (1988).** Effect of thiram and dithiocarbamate pesticides on the gastrointestinal absorption and distribution of nickel in mice. *Toxicology Letters*, 42(1), 87–98. doi : 10.1016/0378-4274(88)90106-3
- 25) **Bounet, C., Legens, F. & Zissler, J. (2011).** Aristoloshia paucinrvies pomel.
- 26) **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](http://hoffman.cm.utexas.edu/courses/bradford%20assay.pdf).
- 27) **Bray, T. M., & Bettger, W. J. (1990).** The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(3), 281–291. doi : 10.1016/0891-5849(90)90076-u
- 28) **Brun, R. (1979).** Nickel dans les aliments et eczéma de contact. *Dermatologica*, 159(5), 365-70.
- 29) **Bruneton, J., (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, Plantes medicinales (2e edition). Tec et Doc., Lavoisier, Paris, 915.
- 30) **Burdin, L. (2014).** *Oligotherapie et personne âgée : interet du chrome, du selenium, du zinc et du cuivre?*. Thèse de doctorat en sciences pharmaceutiques non publiée, Université Toulouse III Paul Sabatier, Toulouse-la- France.
- 31) **Carter, D. C., & Ho, J. X. (1994).** Structure of Serum Albumin. *Advances in Protein Chemistry*, 45, 153–203. doi:10.1016/s0065-3233(08)60640-3
- 32) **Cempel, M., & Janicka, K. (2002).** Distribution of nickel, zinc, and copper in rat organs after oral administration of nickel (ii) chloride. *Biological Trace Element Research*, 90(1-3), 215–226. doi:10.1385/bter:90:1-3:215
- 33) **Cempel, M., & Nikel, G. (2005).** Nickel: A review of its sources and environmental toxicology. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(3), 375-382.
- 34) **Chen, C.Y., Huang, Y.F., Lin, Y.H., & Yen, S.F. (2003).** Nickel-induced oxidative stress and effect of antioxidants in human lymphocytes. *Archives of Toxicology* 2003(77) ,123-30.

Références bibliographies

- 35) **Chen, YG., Yu, LL., Huang, R., Liu, JC., Lv, YP., & Zhao, Y. (2005).** 3"-Hydroxyamentoflavone and its 7-O-methyl ether, two new biflavonoids from *Aristolochia contorta*. *Archives of Pharmacal Research*, 28(11), 1233-5.
- 36) **Choi, Y. M., Noh, D. O., Cho, S. Y., Suh, H. J., Kim, K. M., & Kim, J. M. (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT - Food Science and Technology*, 39(7), 756–761. doi : 10.1016/j.lwt.2005.05.015
- 37) **Christensen, O.B & Lagesson, V. (1981)'** Nickel concentration of blood and urine after oral administration'. *Ann Clin Lab Sci* 11(2), 119-125.
- 38) **Coen, N., Mothersill, C., Kadhim, M., & Wright, E. G. (2001).** Heavy metals of relevance to human health induce genomic instability. *The Journal of Pathology*, 195(3), 293–299. doi : 10.1002/path.950.
- 39) **Costa, M., Simmons-Hansen, J., Bedrossian, Cwm., Bonura, J. & Caprioli, Rm. (1981).** Phagocytosis, cellular distribution and carcinogenic activity of particulate nickel compounds in tissue culture. *Cancer Research*, 41(7), 2868-2876.
- 40) **Cotton, FA & Wilkinson, G (1988)** 'Advanced Inorganic Chemistry' A Comprehensive Text Wiley-Interscience New York NY John Wiley and Sons 783-798.
- 41) **Das, K. K. (2010).** *Antioxidant (l-ascorbic acid and alpha-tocopherol) on nickel toxicities: role of vitamin c and e on nickel toxicities*. Germany: Lambert Academic Publishing.
- 42) **Das, K. K., & Das, S. N. (2004).** Studies on the role of ascorbic acid in nickel induced hepatic nucleic acid concentrations in rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 15(3-4), 185-195. doi : 10.1515/jbcpp.2004.15.3-4.185
- 43) **Das, K. K., Gupta, A. D., Dhundasi, S. A., Patil, A. M., Das, S. N., & Ambekar, J. G. (2006).** Effect of l-ascorbic acid on nickel-induced alterations in serum lipid profiles and liver histopathology in rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 17(1), 29-44. doi : 10.1515/jbcpp.2006.17.1.29
- 44) **Das, K. K, Das, S. N., & Gupta, S. D. (2001).** Influence of ascorbic acid against nickel-induced hepatic lipid peroxidation in rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 12(3), 187-195. doi : 10.1515/jbcpp.2001.12.3.187
- 45) **Das, K.K & Dasgupta, S. (2002).** Effect of nickel sulfate on testicular steroidogenesis in rats during protein restriction. *Environ. Health Perspect.* 110(9), 923-6.

Références bibliographiques

- 46) **Das, K.K., & Dasgupta, S. (2006).** Studies on the role of nickel in the metabolism of ascorbic acid and cholesterol in experimental animals. *Indian Journal of Physiology and Allied Sciences* , 1998 (52) , 58-62.
- 47) **Dawei, A.I., Zhisheng, W., & Angu. Z.(2009).** Protective effects of Nano-ZnO on the primary culture mice intestinal epithelial cells in in vitro against oxidative injury. *Journal of Animal And Veterinary Advances*, 8(10), 1964-1967.
- 48) **Deborah Heath & Anne Meneley (2010).** The Nature cultures of Foie Gras, Food, Culture & Society, 13(3), 421-452.
- 49) **Derouiche, S. (2016).** *Effet de la Supplémentation en Zinc sur le Statut du Zinc et des aspects biochimiques chez des rats sains et diabétiques nourris avec un régime alimentaire riche en cuivre et calcium.* Thèse de Doctorat en sciences Biochimie non publiée, Université Badji Mokhtar Annaba, Annaba-la-Algérie.
- 50) **Derouiche, S., Zeghib, K., Gharbi, S., Khelef, Y. & Feriani, A.(2017).** Protective effects of *Aristolochia longa* and *Aquilaria malaccensis* against lead induced acute liver injury in rats. *Journal of Acute Disease*. (6), 193-197. doi : 10.4103/2221-6189.219611.
- 51) **Desmier, T. (2016).** *Les antioxydants de nos jours : définition et applications.* Thèse de doctorat en pharmacie non publiée, Université de Limoges, Limoges-la- France.
- 52) **Dhuha, K.S., Raghad Dhyea A.J. & Ahmed, N. A.(2018).** Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by hot aqueous extract of *Allium sativum* plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(6), 1590-1596.
- 53) **Diamond, G.L, Goodrum, P.E, Felter, S.P & Ruoff, W.L. (1998)** gastrointestinal absorption of metals. *Drug and Chemical Toxicology*. 21(2), 223-251.
- 54) **Diamond, G.L, Goodrum, P.E, Felter, S.P & Ruoff, W.L. (1998)** gastrointestinal absorption of metals. *Drug and Chemical Toxicology*. 21(2), 223-251.
- 55) **Djelloul-Daouadji. S. (2010).** *Détection de Biofilm à Staphylocoques sur Cathéters Veineux.* Thèse de Magister en Biologie Moléculaire et Cellulaire non publié. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.-la-Algérie.
- 56) **Djemli, S., Kechrid, Z., & Mohamed R. D. (2012).** Combined protective effect of zinc and vitamin C on nickel-induced oxidative liver injury in rats. *Annals of Biological Research*, 3(7), 3410-3418.
- 57) **Djemli, S., & Kechrid Z. (2013).** Preventive effect of zinc on nickel-induced oxidative liver injury in rats. *African Journal of Biotechnology*, 12(51), 7112-7119.
- 58) **Dostal, L. A., Hopfer, S. M., Lin, S.-M., & Sunderman, F. W. (1989).** Effects of nickel chloride on lactating rats and their suckling pups, and the transfer of nickel

Références bibliographiques

- through rat milk. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 101(2), 220–231. Doi :10.1016/0041-008x(89)90271-8
- 59) **Dutta, R.K., Nenavathu, B.P., Gangishetty, M.K., & Reddy, A.V. (2013).** Antibacterial effect of chronic exposure of low concentration ZnO nanoparticles on *E. coli*. *Journal of Environmental Science and Health: Part A Toxic/Hazardous Substances Environmental Engineering*, 48(8), 871–878. doi: 10.1080/10934529.2013.761489
- 60) **Ece, A., Gurkan, F., Celik, F., Boşnak, M., Yel, S., Balik, H. & Erel, O. (2007).** Paraoxonase, total antioxidant activity and peroxide levels in marasmic children: relationships with leptin. *Clinical Biochemistry Journal*, 40(9-10), 634-639.
- 61) **El Yahyaoui El idrissi1, A., Talbaoui, A., Bouyahya, A., Khouchlaa, A., Bakril, Y., & Tijane, M. (2018).** Ethnobotanical study on the Bereztem Plant (*Aristolochia longa*) used in the treatment of some diseases in the cities of Rabat, Sale and Temara (Morocco). *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 9(6), 1914-1921. doi : 10.26872/jmes.2018.9.6.2
- 62) **El-Elaimy, A., & El-Nabi, S.E.H. (1990).** Influence of thiola on pesticide induced intoxication. II-preventive effect of liver damage. *Journal of Environmental Sciences*. 1, 67-82.
- 63) **Evans, W.C. (2009).** *Trease and Evans' Pharmacognosy (16e)*. Saunders Elsevier (Ed.), London.
- 64) **Favier, A.(1995).** Zinc-ligand interactions and oxygen free radicals formation in Handbook on metalligand interactions in biological fluids. In G Berthon ed. *Bioinorganic chemistry*; New York: Marcel Dekker. 876-87..
- 65) **Fernandez, E., Gustafson, A., Anderson, M., Hellman, B., & Dencker L. (2003).** Cadmium-Induced Changes in Apoptotic Gene Expression Levels and DNA Damage in Mouse Embryos Are Blocked by Zinc. *Toxicological Sciences*, 76(1), 162–170. doi:10.1093/toxsci/kfg208
- 66) **Forgacs, Z., Paksy, K., Lazam. P., & Tatrai, E. (1998).** Effect of Ni²⁺ on the testosterone production of mouse primary Leydig cell culture. *Journal Toxicol Environ Health A55*,(3), 213-224.
- 67) **Foulkes, E. C., & McMullen, D. M. (1986).** On the mechanism of nickel absorption in the rat jejunum. *Toxicology*, 38(1), 35–42. doi : 10.1016/0300-483x(86)90170-8
- 68) **Gardner, D.E. (1980).** 'Dysfunction of Host Defenses Following Nickel Inhalation Nickel Toxicology, S.S. Brown et F.W. Sunderman F W Jr (éd.), Academic Press, Londres (Angleterre).

Références bibliographies

- 69) **Ghezzi, I., Baldasseroni, A., & Sesana G (1989).** Behaviour of urinary nickel in low-level occupational exposure. *Med Lav*8, (3), 244-250.
- 70) **Gibbs, P.N.; Gore, M.G., & Jordan, P.M. (1985).** Investigation of the effect of metal ions on the reactivity of thiol groups in human 5-aminolaevulinate dehydratase. *Biochemical Journal*, 225(3), 573–580. doi:10.1042/bj2250573
- 71) **Gitlitz, P. H., Sunderman, F. W., & Goldblatt, P. J. (1975).** Aminoaciduria and proteinuria in rats after a single intraperitoneal injection of Ni(II). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 34(3), 430–440. doi : 10.1016/0041-008x(75)90136-2
- 72) **Gnanasangeetha, D., & Thambavani, S.D. (2013).** One pot synthesis of zinc oxide nanoparticles via chemical and green method. *Research Journal of Material Sciences*, 1(7), 1-8.
- 73) **Goyer, R.a.(1995).**toxic effects of metals .In :Casarett & Doull s toxicologie , 5 ed . New –york , Mc graw-Hill,1995 : 720-721.
- 74) **Grandjean, P (1984)** Human exposure to nickel. *IARC Scientific Publications*, 53, 469-485.
- 75) **Grandjean, P., Nielsen, G.D., & Andersen, O. (1989).** 'Human nickel exposure and chemobiokinetics'. Nickel and the skin: immunology and toxicology 9–35.
- 76) **Grassmann J.(2005).** Terpenoids as plant antioxydant. *Vitamins and hormones*, 72, 505-535 .doi: 10.1016/S0083-6729(05)72015-X.
- 77) **Gulcin, I., Alici , H. A., & Cesur, M. (2005).** Determination of in vitro antioxidant and radicalscavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(3), 281-285.
- 78) **Gulcin, I., Huyut, Z., Elmastas, M., & Aboul-Enein, H .Y. (2010).** Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3, 43-53.
- 79) **Habig, W.H., Pabst, M.J., & Jakoby, W.B., (1974).** Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130-7139.0
- 80) **Hambidge, K. M., & Krebs, N. F. (2007):** Zinc deficiency: a special challenge. *The Journal of Nutrition* . 137 (4),1101 –1105.
- 81) **Hansen, K., & Stern, R.M. (1984).** 'Toxicity and transformation of nickel compounds in vitro'.In Nickel in the human environment. Sunderman F W Jr Fw, Ed. IARC Scientific Publication 193-200.

Références bibliographiques

- 82) Harber, L.T., Diamond, G.L., Zhao, Q., Erdreich, L., & Dourson, M.L. (2000). Hazard identification and dose response of ingested nickel-soluble salts. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 31(2 Pt 1) : 231-41.
- 83) Harborne, J.B. (1998). *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman and Hall (Ed.), London.
- 84) Harrar, A.E.N., (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister en science Biochimie et physiologie expérimentale non publiée, Université Ferhat Abbas, Sétif –la-Algérie.
- 85) Hassan, A., Atef Howayda, M., El-Shafei, & Mahmoud, H.H.(2013). Effect of zinc oxid nanoparticles on the growth of some mycotoxigenic moulds j. studies in chemical process technology (SCPT), *American Society of Science and Engineering*, 1(3), 16-25.
- 86) Hattiwale, S.H., Saha S, Yendigeri, S.M., Jargar. J.G., Dhundasi, S.A., & Das K.K (2013). Protective effect of L-ascorbic acid on nickel induced pulmonary nitrosative stress in male albino rats. *Biometals*. 26: 329–336.
- 87) He, M.D., Xu, S.C., Zhang, X., Wang, Y., Xiong, J.C., Zhang, X., Lu, X.L., Zhang, L., Yu, Z.P., & Zhou, Z. (2013). Disturbance of aerobic metabolism accompanies neurobehavioral changes induced by nickel in mice. *NeuroToxicology*, 38, 9–16.
- 88) Hendel ,RC., & Sunderman, F.W.J.r (1972). Species variations in the proportions of ultrafiltrable and proteinbound serum nickel. *Research communications in chemical pathology and pharmacology* 4, 141-146.
- 89) Hendricks, D. G., & Mahoney, A. W. (1972). Glucose Tolerance in Zinc-deficient Rats. *The Journal of Nutrition*, 102(8), 1079–1084. doi : 10.1093/jn/102.8.1079
- 90) Hfaïedh, N., Allaqui, M.S., Croute, F., Soleilhavoup, J.P., Jammoussi, K., Makni Ayadi, F., Kammoun, A. & El Feki, A. (2005). Interaction du jeûne intermittent sur les effets cytotoxiques rénaux du nickel chez le rat pubère. *Comptes Rendus Biologies*, 328(7), 648–660. doi : 10.1016/j.crv.2005.03.001
- 91) Higdon. & Balz, Frei. (2003). Tea Catechins and Polyphenols: Health Effects, Metabolism, and Antioxidant Functions, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(1), 89-143, doi: 10.1080/10408690390826464.
- 92) Ibrahim, N.M., Eweis, E.A., EI-beltagi, H.S & Abdel-Mobody , Y.E. (2011). The Effect of Lead Acetate Toxicity on Experimental Male Abino Rat. *Biological Trace Element Research*, 144, 1120-1132. doi: 10.1007/s12011 -011-9149-z.

Références bibliographies

- 93) **Iscan, M., Coban, T. & Eke, B. C. (1994).** Differential combined effect of cadmium and nickel on hepatic and renal glutathione S-transferases of the guinea pig. *Environmental Health Perspectives*, 102(7), 69-72.
- 94) **Ishimatsu S, Kawamoto T, Matsuno K & Kodama Y (1995)** ' Distribution of various nickel compounds in rat organs after oral administration' . *Biological Trace Element Researche*, 49 (1), 43-52.
- 95) **Jakubovski, M. (2001).**Zinc and cadmium . Patty s'toxicologie 5ed . .New York, 2001, 253-325.
- 96) **Jamieron, J.A., Taylor , C.G., Wieiler , H.A., Jamieron, J., Wieler , H & Taylor , C.(2006)**.Maginal 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.
- 97) **Jegadeeswari, P., Nishanthini, A., Muthukumarasamy, S., & Mohan, V.R. (2014).** Evaluation of antioxidant activity of aristolochia krysagathra (aristolochiaceae)- an important medicinal herb. *International Journal of Pharmaceutics*, 4(1), 410-416. En ligne
<https://pdfs.semanticscholar.org/f4ca/4905bee0f98e6c51fe9fa68a68b4341c7338.pdf>
- 98) **Kandaswami, C. & Middleton, E., Jr (1994).** Free radical scavenging and antioxidant activity of plant favonoids. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 366, 351-376.
- 99) **Kasprzak S, & Sunderman FWJR.** Mechanisms of dissolution of nickel subsulfide in rats serum. *Research communications in chemical pathology and pharmacology* 1977, 16(1), 95-108.
- 100) **Keerthi, M., Prasanna, J., Aruna, M., & Rao, N (2014).**Review on polyphenols as nayurs's gift world. *Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 3 (4), 445-455. En ling <http://www.wjpps.com/downoad/article/1397787686.pdf>.
- 101) **Keilig, K & Ludwig-Müller,j.(2009).** Effect of flavonoids on heavy metal tolerance in Arabidopsis thaliana seedlings. *Botanical Studies*, 50,311-318.En ligne : <https://ejournal.sinica.edu.tw/bbas/content/2009/3/Bot503-05.pdf>.
- 102) **Keilig, K., & Ludwig-Müller, J. (2009).** Effect of flavonoids on heavy metal tolerance in Arabidopsis thaliana seedlings. *Botanical Studies*, 50(3), 311-318. En ligne <https://ejournal.sinica.edu.tw/bbas/content/2009/3/Bot503-05.pdf>.
- 103) **Ko, J.-W., Hong, E.-T., Lee, I.-C., Park, S.-H., Park, J.-I., Seong, N.-W., Kim, J.-C. (2015).** Evaluation of 2-week repeated oral dose toxicity of 100 nm zinc

Références bibliographiques

- oxide nanoparticles in rats. *Laboratory Animal Research*, 31(3), 139. doi:10.5625/lar.2015.31.3.139
- 104) **Krug, H.F., & Wick, P. (2011).** Nanotoxicology: An Interdisciplinary Challenge. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 50(6), 1260-1278. doi : 10.1002/anie.201001037.
- 105) **Kulkarni, N. & Muddapur, U.,Biosynthesis(2014).** Of metal nanoparticles: A review. *Journal of Nanotechnology*, 323(5), 314-325. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/510246>.
- 106) **Lamarck, M. (1778).** Flore Francoise ou description succiante de toutes les plantes.Paris :l'Imprimerie Royale. Doi : <http://dx.doi.org//10.5962/bhl.title.9461>.
- 107) **Landown, A.B.(1991).** Interspecies variations in response to topical application of selected zinc compound. *Food & chimicale toxicology*, 29- (1), 57-64.
- 108) **Lee, Y., Klein, C. & Kargalin, B. (1995).** Carcinogenic nickel silences gene expression by chromatin condensation and DNA methylation: a new model for epigenetic carcinogens. *Molecular and Cellular Biology*, 15(5), 2547–2557. doi:10.1128/mcb.15.5.2547
- 109) **Leelavinothan, P. & Kasinathan, A. (2011).** Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male Wistar rats. *European Journal of Pharmacology*, 650(1), 364–370. doi:10.1016/j.ejphar.2010.09.068
- 110) **Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011).** The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288–306. doi : 10.1016/j.foodchem.2010.08.012.
- 111) **Li, Q., Liu, H., Alattar, M., Jiang, S., Han, J., Ma, Y., & Jiang, C (2015).** The preferential accumulation of heavy metals in different tissues following frequent respiratory exposure to PM2.5 in rats. *Scientific Reports*, 5(1). doi:10.1038/srep16936
- 112) **Lloyd, GK. (1980).** 'Dermal absorption and conjugation of nickel in relation to the Induction of allergic contact dermatitis Preliminary results'. Brown SS Sunderman FW Jr Nickel toxicology London UK Academic Press 145-148.
- 113) **Lou, J., Jin, L., Wu, N., Tan, Y., Song, Y., Gao, M., Liu, K., & Zhang., He, J (2013).** DNA damage and oxidative stress in human B lymphoblastoid cells after combined exposure to hexavalent chromium and nickel compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 533–540. doi:10.1016/j.fct.2013.01.053
- 114) **Loué A.(1993).** Oligo-éléments en agriculture (vols.1-3)- (2è éd). Paris : Agri-Nathan International.

Références bibliographiques

- 115) Lutz ,A.(1985). L'expression de la variabilité morphologique après régénération dans les cultures de tissus et de cellules, Bulletin Scientifique Botanique 132, France, pp.35-50. 7. 117. Margara J ., 1989. Bases de la multiplication végétative, Les méristèmes et l'organogenèse » INRA, Paris, p 260.
- 116) Lynn, S., Yew, F.H., Chen, K.S.& Jan, K.Y.(1998) Reactive oxygen species are involved in nickel inhibition of DNA repair. *Environ Mol Mutagen* 1998; 29 : 208-16.
- 117) Mahmoud, K., Shalahmetova, T. & Deraz, S.(1995). Investigation Of Antioxidant System Activity In Rats Live Exposed To Ammonium Metavanadate And/ Or Nickel Sulfate. *Journal of Toxicology and Environmental*, 6(1): 24-32.
- 118) Majhenič, L., Škerget, M., & Knez, Ž. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104(3), 1258–1268. Doi : 10.1016/j.foodchem.2007.01.074.
- 119) Mandava, V.R., Sunita, L.C. & Seema, R.S. (2009). Protective role of vitamin E on nickel and/or chromium induced oxidative stress in the mouse ovary. *Food and Chemical Toxicology*. 47: 1368-1371. DOI: 10.1016/j.fct.2009.03.018.
- 120) Manna, P., Sinha, M., & Sil, P. C. (2008). Arsenic-induced oxidative myocardial injury: protective role of arjunolic acid. *Archives of Toxicology*, 82(3), 137–149.doi:10.1007/s00204-007-0272-8.
- 121) Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., & Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 89(3), 411–420.doi:10.1016/j.foodchem.2004.02.051.
- 122) Marzena, S., Mateusz, K. (2012). Flavonoids and their properties to form chelate complexes. *Biotechnol Food Sci*, 2012, 76 (1), 35-41. <http://www.bfs.p.lodz.pl>.
- 123) Mathur, A.K, Datta, K.K, Tandon, S.K & Dikshith, T.S. (1977). Effect of nickel sulphate on male rats. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 17(2), 241–248. doi : 10.1007/bf01685557
- 124) Meddour, A., Yahia, M., Benkiki, N., Ayachi, A. (2013). Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis Spinosa L.* *Lebanese Science Journal*. (14), 49-60.
- 125) Mesli-Bestaoui, k., Bouazza, M. & Godron, M. (2007).Etude des groupements vegetaux des mots de Tlemcen et de leurs facies de dégradation par deux approche : les profiles écologiques et les liaisons interspécifiques (ORANIE-ALGERIE).*Sciences et Technologie*,(25),71- 78.

Références bibliographiques

- 126) Michalak, A. (2006) Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2006, 15(4), 523–530.
- 127) Misra, M., Rodriguez, R. E., & Kasprzak, K. S. (1990). Nickel induced lipid peroxidation in the rat: correlation with nickel effect on antioxidant defense systems. *Toxicology*, 64(1), 1–17. doi : 10.1016/0300-483x(90)90095-x
- 128) Mohandas, J., Marshall, J. J., Duggin, G. G., Horvath, J. S., & Tiller, D. J. (1984). Differential distribution of glutathione and glutathione-related enzymes in rabbit kidney. *Biochemical Pharmacology*, 33(11), 1801–1807. doi : 10.1016/0006-2952(84)90353-8.
- 129) 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.
- 130) Nabeshi, H., Yoshikawa, T., Matsuyama, K., Nakazato, Y., Matsuo, K., Arimori, A., Isobe, M., Tochig, S., Kondoh, S., Hirai, T., Akas, T., Yamashita, T., Nagano, K., Abe, Y., Yoshioka, Y., Kamada, H., & , Tsutsumi, Y. (2010). Systemic distribution, nuclear entry and cytotoxicity of amorphous nanosilica following topical application. doi : 10.1016/j.biomaterials.2010.12.042.
- 131) Nabeshi, H.T., Yoshikawa, K., Matsuyama, Y., Nakazato, A., Arimori, M., Isobe, S., Tochigi, S., Kondoh, T., Hirai, T., Akase, T., Yamashita, K., Yamashita, T., Yoshida, K., Nagano, Y., Abe, Y., Yoshioka, H., Kamada, T., Imazawa, N. Itoh, S., Tsunoda, I., & Tsutsumi, Y. (2010). Size-dependent cytotoxic effects of amorphous silica nanoparticles on Langerhans cells". *An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65(3), 199-201. doi : 10.1691/ph.2010.9268
- 132) Nadri, E.(2009). Aristolochiaceae. In : Euro+Med Plantbase- the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity.
- 133) Nakayama, T.(2007). Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of Korea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(24), 7286–7292. doi:10.1021/jf048726s
- 134) Newman, M.D., Stotland, M., & Ellis, J.I. (2009). The safety of nanosized particles in titanium dioxide- and zinc oxide-based sunscreens. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 61(4), 685–692. doi : 10.1016/j.jaad.2009.02.051.
- 135) Nieboer, E., Stafford, A.R., Evans, S.L., & Dolovich, J. (1984). Cellular binding and/or uptake of nickel(II) ions. *International Agency for Research on Cancer Scientific Publications*, (53), 321-331.

Références bibliographies

- 136) Nieboer, E., Tom, R T.,& Sanford WE. (1988). 'Nickel Metabolism in Man and Animals' metal Ions in Biological Systems (Vols 1-4)-(3è éd). New York.
- 137) Nielsen, N.H & Menne, T. (1993). Nickel sensitization and ear piercing in an unselected Danish population. *Contact Dermatitis*, 29(1), 16–21. doi:10.1111/j.1600-0536.1993.tb04530.x
- 138) Nik, N., Nik, WillA., Nor, A., Mhd, O., Awang, N.h & Tajuddin, S.N. (2014). In vitro antioxidant activity and phytochemical screening of *Aquilaria malaccensis* leaf extracts. *Journal of Chemical and Phamaceutical Resarch*, 6(12): 688-693. En ling: <http://jocpr.com/vol6-iss12-2014/JCPR-12-688-693.pdf>.
- 139) Obone, E., Chakrabarti, S.K., Bai, C. & Kalick, M.A. (1999). Toxicity And Bioaccumulation Of Nickel Sulfate In Sprague-Dawley Rats Following 13 Weeks Of Subchronic Exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 57(6), 379–401. doi:10.1080/009841099157593
- 140) Oliveira, SG., Moura, F.R., Demarco, F.F., Nascente Pda, S., Pino, F.A., & Lund, R.G. (2012). An ethnomedicinal survey on phytotherapy with professionals and patients from basic care units in the Brazilian Unified Health System. *Journal of Ethnopharmacol*, 140(2), 428-37. doi : 10.1016/j.jep.2012.01.054.
- 141) Oszmian´ski, J., & Wojdyło, A. (2005). Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, 221(6), 809–813. doi:10.1007/s00217-005-0002-5
- 142) Oteiza, P.I., Olin, K.L., Fraga, C.G. & Keen, C.L. (1995). Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. *Journal of Nutrition*, 1995; ;25: 823-829.
- 143) Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.
- 144) Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2010). Markers of Oxidative Stress in Erythrocytes and Plasma During Aging in Humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(1), 2–12. doi : 10.4161/oxim.3.1.10476
- 145) Panemangalore, M., Banerjee, D., Onosaka, S., & Cherian, M. G. (1983). Changes in the intracellular accumulation and distribution of metallothionein in rat liver and kidney during postnatal development. *Developmental Biology*, 97(1), 95–102. doi : 10.1016/0012-1606(83)90067-2.

Références bibliographiques

- 146) Pardeep Sidhu, M. L. Garg & D. K. Dhawan.(2005). Zinc Protects Rat Liver Histo-architecture from Detrimental Effects of Nickel. *BioMetals*, 19(3), 301–313. doi:10.1007/s10534-005-0857-8
- 147) Pardeep, S., Garg, M. L., & Dhawan, D. K. (2004). Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 150(2), 199–209. doi : 10.1016/j.cbi.2004.09.012.
- 148) Pardeep, S., Garg, M.L., & Dhawan D.K. (2004). Effect of Zinc on Biological Half-Lives of ⁶⁵Zn in Whole Body and Liver and on Distribution of ⁶⁵Zn in Different Organs of Rats Following Nickel Toxicity. *Biological Trace Element Research*, 102(1-3), 173–188. doi :10.1385/bter:102:1-3:173.
- 149) Pari, L. & Prasath, A. (2008). 'Efficacy of caffeic acid in preventing nickel induced oxidative damage in liver of rats ' *Chemico-Biological Interactions* 10:1016
- 150) Pari, L., & Amudha, K. (2011). Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male Wistar rats. *European Journal of Pharmacology*, 650(1), 364–370. doi:10.1016/j.ejphar.2010.09.068
- 151) Patierno, S. R., Sugiyama, M., & Costa, M. (1987). Effect of nickel(II) on DNA-protein binding, thymidine incorporation, and sedimentation pattern of chromatin fractions from intact mammalian cells. *Journal of Biochemical Toxicology*, 2(1), 13–23. doi:10.1002/jbt.2570020103
- 152) Powell, S.R.(2000). The Antioxidant Properties of Zinc. *The Journal of Nutrition*, 130(5), 1447S–1454S. doi:10.1093/jn/130.5.1447s
- 153) Prasad, A.S.(2014) . Zinc: an antioxidant and anti-inflammatory agent: role of zinc in degenerative disorders of aging. *Journal Trace Elem Med Bio.* 28(4):370-71 .doi: 10.1016/j.jtemb.2014.07.019.
- 154) Prasad, AS & Oherleas, D.(1974).The midline kinase :activity ami incorporation or thymidine in DNA in zinc-dd orient tissue . I .ab G in M ed 1974; 83(634), 6-9.
- 155) Prasad, L., Husain Khan, T., Jahangir, T., & Sultana, S. (2006). Chemomodulatory effects of Terminalia chebula against nickel chloride induced oxidative stress and tumor promotion response in male Wistar rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20(4), 233–239. doi:10.1016/j.jtemb.2006.07.003
- 156) Pujalté, I. (2011). *Étude in vitro de la toxicité de nanoparticules métalliques (TiO₂, ZnO, CdS) sur la cible rénale*. Thèse de doctorat en sciences épidémiologie et santé publique non publiée, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux-la-France..

Références bibliographiques

- 157) **Raj, L. F. A., & E, J. (2015).** Biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using root extract of zingiber officinale. *Oriental Journal of Chemistry*, 31(1), 51–56. doi : 10.13005/ojc/310105
- 158) **Rasmussen, J.W., Martinez, E., Louka, P., & Wingett, D.G. (2010).** Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7(9), 1063–1077. doi:10.1517/17425247.2010.502560
- 159) **Rodriguez, R.E., Misra, M., North, S.L. & Kasprzak K.S.(1991).** Nickel-induced lipid peroxidation in the liver of different strains of mice and its relation to nickel effects on antioxidant systems. *Toxicology Letters*, 57(3), 269-281. doi:10.1016/0378-4274(91)90201-g
- 160) **Rostan, E. F., DeBuys, H. V., Madey, D. L., & Pinnell, S. R. (2002).** Evidence supporting zinc as an important antioxidant for skin. *International Journal of Dermatology*, 41(9), 606–611. doi:10.1046/j.1365-4362.2002.01567.x
- 161) **Sahoo, S., Maiti, M., Ganguly, A., George, J.J., & Bhowmick, A.K. (2007).** Effect of zinc oxide nanoparticles as cure activator on the properties of natural rubber and nitrile rubber. *Journal of Applied Polymer Science*, 105(4), 2407–2415. Doi :10.1002/app.26296.
- 162) **Saidi, F., H.S. Cherif, H. Metidji, C. Chaouia, Rouibi A., R. Mohamed, Said, M.S. Hamaidi, M.S.& Adulhussain.(2009).** Essais De Multiplication In Vitro Par Organogenese Indirecte D'une Plante Medicinale Aristolochia Longa L. *Agricultura – Știință și practică*, 76(4), (71-72).
- 163) **Sakai, N., Matsui, Y., Nakayama, A., Tsuda A., & Yoneda. M. (2011).** Functional-dependent and size-dependent uptake of nanoparticles in PC 12. *Journal of Physics Conference Series 304(1)*, 1-10. doi : 10.1088/1742-6596/304/1/012049.
- 164) **Sanmiguel, S.M., Opperman, L.A., Allen, E.P., Zielinski, J.E., & Svoboda, KK.H (2013).** Antioxidant combinations protect oral fibroblasts against metal-induced toxicity. *Arch. Oral. Biol.* **58**: 299 – 310.
- 165) **Santhoshkumar, S., Rajeshkumar & Venkat Kumar, S .(2017).**Phyto-assisted synthesis, characterization and applications of nanoparticles – A review, *Biochemistry and Biophysics Reports*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.06.004>.
- 166) **Sarkar, B. (1984)** 'Nickel metabolism'. Nickel in the human environment 367–384.
- 167) **Schroeder, H. A., Mitchener, M., & Nason, A. P. (1974).** Life-term effects of nickel in rats: survival, tumors, interactions with trace elements and tissue levels. *The Journal of Nutrition*, 104(2), 239–243. doi : 10.1093/jn/104.2.239.

Références bibliographies

- 168) Seok, S.H., Cho, W.S., Park, J.S, & al.(2013). Rat pancreatitis produced by 13-week administration of zinc oxide nanoparticles : Biopersistence of nanoparticles and possible solutions. *Journal Appl Toxicol* 2013; 33(10): 1089-96. doi.org/10.1002/jat.2862.
- 169) Sharma, V., Singh, P., Pandey, A. K., & Dhawan, A. (2012). Induction of oxidative stress, DNA damage and apoptosis in mouse liver after sub-acute oral exposure to zinc oxide nanoparticles. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 745(1-2), 84–91. Doi :10.1016/ j.mrgentox .2011.12.009.
- 170) Shi, L.E., Li, Z.H., Zheng, W., Zhao, Y.F., Jin, Y.F., & Tang, Z.X. (2014). Synthesis, antibacterial activity, antibacterial mechanism and food applications of ZnO nanoparticles: areview. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 31(2), 173–186. doi: 10.1080/19440049.2013.865147.
- 171) Shi, X., Dalal, N.S. & Kasprzak, K.S.(1993). Generation of free radicals in reactions of Ni (II)-thiol complexes with molecular oxygen and model lipid hydro-peroxides. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 50(3), 211-25.
- 172) Shi, X., Dalal., N.S.& Kasprzak, K.S.(1992). Generation of free radicals from lipid hydroperoxides by Ni²⁺ in the presence of oligopeptides. *Arch Biochem Biophys* 1992; 299 : 154-62.
- 173) Smijs T.G., & Pavel, S. (2011). Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness Nanotechnology, *Science and Applications*, 4, 95–112. doi: 10.2147/NSA.S19419.
- 174) Smith, M.K., George ,E.L., Stober, J.A., Feng ,H.A . & Kimmel, G.L. (1993). Prenatal Toxicity Associated with Nickel Chloride Exposure. *Environmental Research*, 61(2), 200–211. doi:10.1006/enrs.1993.1064
- 175) Soldatović, T. (2018). Mechanism of interactions of zinc(ii) and copper(ii) complexes with small biomolecules.
- 176) Solomons, N.W., Viteri, F., Shuler,T.R & Nielsen, F.H. (1982). Absorption and Retention of Nickel from Drinking Water in Relation to Food Intake and Nickel Sensitivity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 154(1), 67–75. doi:10.1006/taap.1998.8577
- 177) Southon, S., Gee, J. M., & Johnson, I. T. (1984). Hexose transport and mucosal morphology in the small intestine of the zinc-deficient rat. *British Journal of Nutrition*, 52(02), 371. doi:10.1079/bjn19840103

Références bibliographiques

- 178) Stoltz, A., Sauvage, C., Lamblin, C., Bolard, F., & Wallaert, B. (2003). Urticaire chronique par allergie alimentaire au nickel. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 43, 492–496. doi : 10.1016/S0335-7457(03)00277-6
- 179) Sulinskiene, J., Baranauskienė, D., Naginiene, R., & Ivanov, L. (2015). Protective effect of zinc ions against lead and nickel induced inhibition of δ -aminolevulinic acid dehydratase activity in mice liver. *Trace Elements and Electrolytes*, 32(04), 91-96. doi : 10.5414/TEX01372
- 180) Sunderman F W, Jr & Oskarsson , A (1988) 'Nickel '. Metals and their Compounds in the Environment E. Merian (éd.), VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim (R.F.A.) 1-19.
- 181) Sunderman, F. Jr., Hopfer SM., Sweeney, K.R, Marcus, A.H., Most, B.M., & Creason, J. (1989) . Nickel Absorption and Kinetics in Human Volunteers. *Experimental Biology and Medicine*, 191(1), 5–11. doi:10.3181/00379727-191-42881
- 182) Sunderman, F.W., Jr, Marzouk, A., Hopfer, S.M., Zaharia, O.& Reid, M.C.(1985). Increased lipid peroxidation in tissues of nickel chloride-treated rats. *Ann Clin Lab Sci* 1985, 15(3), 229-3.
- 183) Symonowicz, M., & Kolanek, M. (2012). Flavonoids and their properties to form chelate complexes. *Biotechnology and Food Sciences*, 76 (1), 35-41. En ligne <https://pdfs.semanticscholar.org/f74b/d1337a409cdb0246f4ffc768f7a50f7d2645.pdf>
- 184) Tandon, S.K., Singh. S., Prasad, S. & Mathur, N.(2001). Hepatic and renal metallothionein induction by an oral equimolar dose of zinc, cadmium or mercury in mice. *Food Chem Toxicol*, 39, 571–577.
- 185) Tapas, T.S., Sakarkar, D.M., & Kakde, R.B.(2008). Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (3), 089-1099. doi: 10.4314/tjpr.v7i3.14693.
- 186) Tebani, M. (2013). *L'apport du sélénium et de la vitamine E dans la toxicité du nickel chez le rat Wistar Albinos*. Thèse de doctorat en sciences biochimie appliquée non publiée, Université Badji Mokhtar Annaba, Annaba-la-Algérie.
- 187) Tikare, S., Yendigeri, S., Das, G.A., Salim, A.D., Das, K.K (2013). Protective effect of α -tocopherol against hematotoxicity, hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by nickel sulfate in male albino rats. *Indian Journal. Physiol. Pharmacol.* 57(3): 280–292.

Références bibliographies

- 188) Tiwari, B. K., Pandey, K. B., Abidi, A. B., & Rizvi, S. I. (2013). Markers of Oxidative Stress during Diabetes Mellitus. *Journal of Biomarkers*, 2013, 1–8. doi : 10.1155/2013/378790.
- 189) Torjussen, W., Haug, F.& Andersen, I. (1978). 'Concentration and distribution of heavy metals in nasal mucosa of nickel exposed workers and of controls, studied with atomic metals in nasal mucosa of nickel exposed workers and of controls, studied with atomic absorption spectrometry and with Timms'.sulphide silver method. *Acta Otolaryngol*, 86 : 449-463.
- 190) Torjussen, W., Solberg, L.A .& Hogetveit, A.C. (1979b). 'Histopathological Changes of the Nasal Mucosa in Active and Retired Nickel Workers' *Br J Cancer* 40: 568-579.
- 191) Torjussen, W., Solberg, L.A. & Hogetveit, A.C. (1979a). 'Histopathologic Changes of Nasal Mucosa Nickel Workers: A Pilot Study *Cancer* 44: 963-974.
- 192) Treki, A.S., Merghem, R., Dehimat, L. (2009). Etude phytochimique et Évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée : *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie*. Vol. (29) : 25-29.
- 193) Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M.& Mazur, M.(2010).Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160 : 1-40.
- 194) Wadood, A., Ghufran, M., Babar Jamal, S., Naeem M., Khan A., Ghaffar R. & Asnad. (2013). Phytochemical analysis of medicinal plants occurring in local area of mardan. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*, 2, 1-4. doi.org/10.4172/2161-1009.1000144.
- 195) Weckbecker, G., & Cory, J. G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters*, 40(3), 257–264. Doi : 10.1016/0304-3835(88)90084-5..
- 196) Wiart , C. (2006). Anti-inflammatory plants ethnopharmacology of medicinal plants: asia and the pacific.USA: Tolowa.
- 197) Willis, MS., Monaghan, SA., ML Miller, McKenna, R.W., Perkins, W.D ., Levinson, B.S., & al.(2005). Levinson, B.S., & al.(2005). Carence en cuivre zinc-induite: un rapport de trois cas initialement comptabilisés à l'examen de la moelle osseuse. *American Journal of Clinical Pathology*, 123(5), 125-31.
- 198) Wood, R.J (2000). Assessment of marginal zinc status in humans. *J Nutr*. 2000; ;30 (Supp);: 1350S-1354S.

Références bibliographies

- 199) Xiong, H.M . (2013). ZnO nanoparticles applied to bioimaging and drug delivery. *Advanced Materials*, 25(37), 5329–5335. doi : 10.1002/adma.201301732.
- 200) Yagi, K. (1976). A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochemical Medicine*, 15(2), 212–216. doi : 10.1016/0006-2944(76)90049-1.
- 201) Zalewski, P. D., Forbes, I. J. & Giannakis, C. (1991) Physiological role for zinc in prevention of apoptosis (gene-directed death). *Biochem. Int.* 24: 1093–1101.
- 202) Zhang, Z.Y., & Xiong, H.M. (2015). Photoluminescent ZnO nanoparticles and their biological applications. *Materials*, 8(6), 3101–3127. doi : 10.3390/ma8063101.
- 203) Zhao, J., & Castranova, V., (2011): Toxicology of nanomaterials used in nanomedicine. *Journal. Toxicol. Environ. Health B* 14, 593–632. doi 10.1080/10937404.2011.615113.
- 204) Zhishen, J., Mengcheng, T. & Jianming, W. (1999). "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals" *Journal of Food Chemistry and Nutrition*, 12(1), 43–57.

ANNEXES

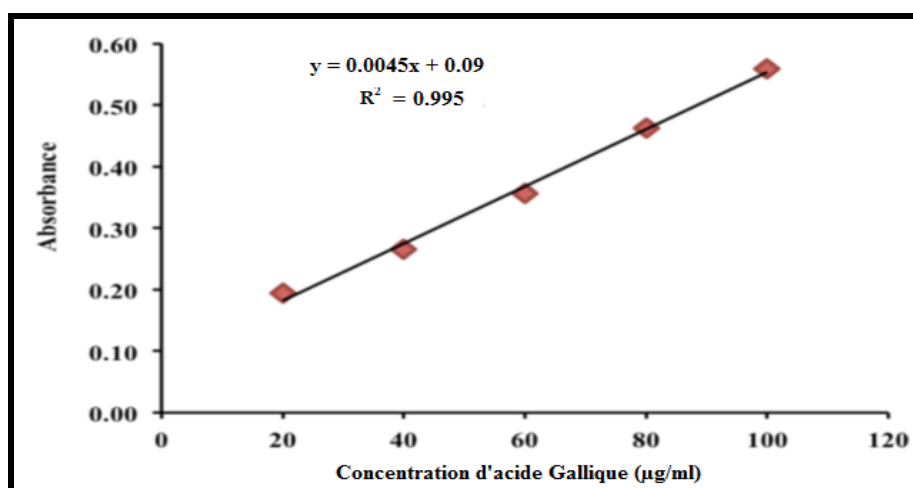


Figure : courbe d'étalonnage d'acide Gallique pour le dosage des polyphénols

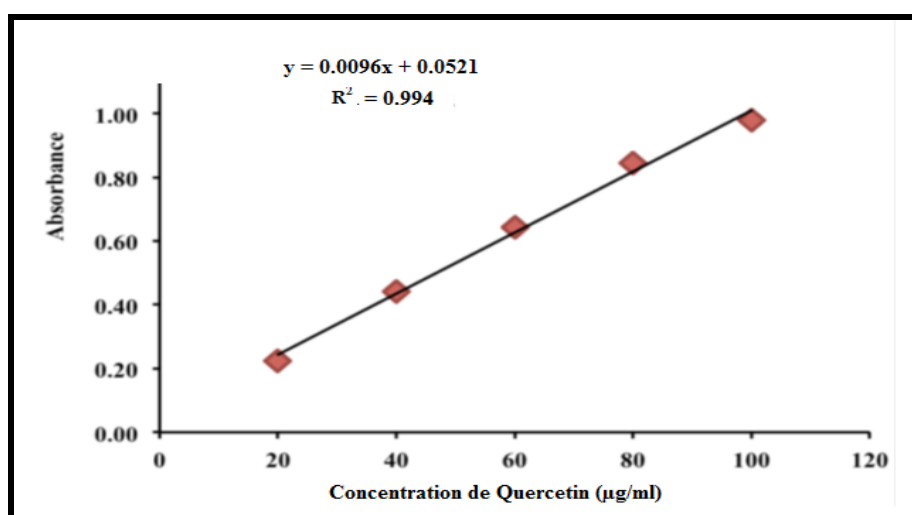


Figure : courbe d'étalonnage de Quercetin pour de dosages des flavonoïdes

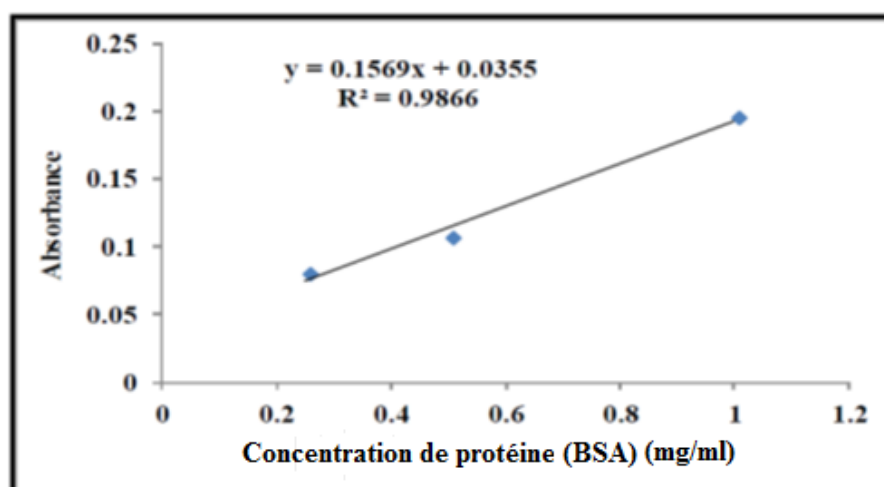


Figure : Courbe d'étalonnage de BSA pour le dosage des protéines.

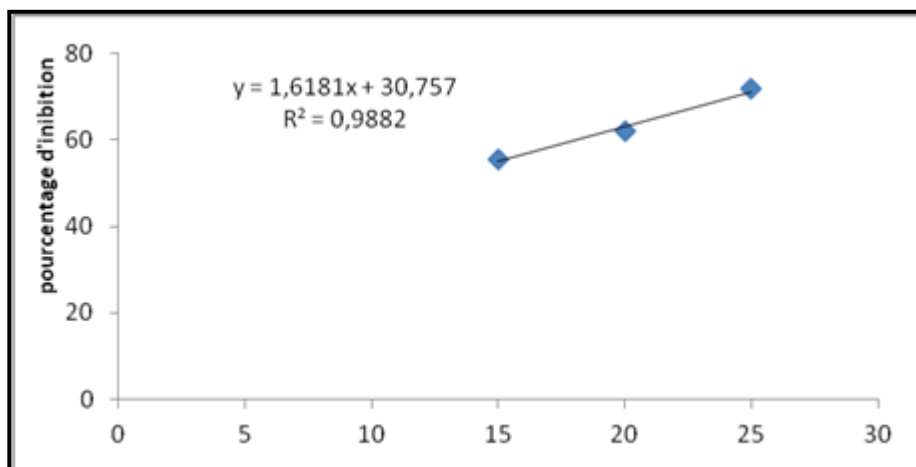


Figure : courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait de *A. longa* en (mg/ml).

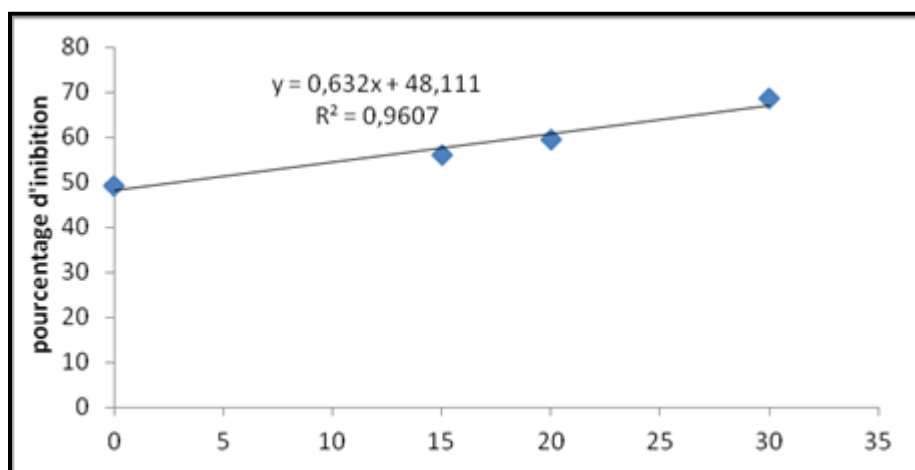


Figure : courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'acide ascorbique en (mg/ml).

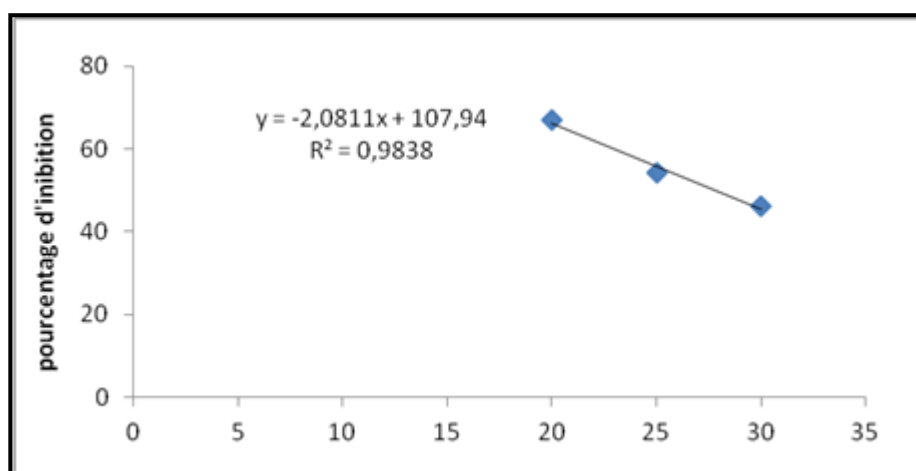


Figure : courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de ZnO en (mg/ml).

Résumé

L'objectif de ce travail est l'étudié l'effet protecteur de l'*Aristolochia longa*, le zinc et les nanoparticules de zinc contre la variation des paramètres biochimiques et de stress oxydatif chez des rattes exposées de façon aigue au nickel. Il s'agit d'une étude expérimentale menée au laboratoire sur 25 rattes femelles de la souche wistar répartis en cinq lots de cinq rattes chacun dont le premier lot sert de témoin, le second lot est contaminé par le nickel (20mg/kg), le troisième lot est contaminé par le nickel et traité par zinc nanoparticule, le quatrième lot est contaminé par le nickel et traité par l'*A. longa*, le cinquième lot est contaminé par le nickel et traité par le zinc pendant 20 jours. Des paramètres biochimiques et de stress oxydatif ont été analysé sur les rattes des différents groupes traités pour évaluer l'efficacité de différent systèmes thérapeutiques. À partir de l'analyse de nos résultats, on observe une diminution considérable de poids corporelle des rattes contaminées par le nickel et une augmentation de poids relatifs de certain organes prélevés (reins et poumon) chez le groupe contaminé par le Ni par rapport au témoin. Les résultats ont montré aussi des changements notables dans les paramètres biochimiques par une augmentation significative ($p<0.05$) de la concentration sérique d'acide urique, urée, et cholestérol avec une augmentation important de taux de protéine totale. Cependant, l'activités sérique des transaminases (TGO et TGP) ont présenté une augmentation remarquable ($p<0.05$) chez les rattes contaminées par le nickel en comparaison avec le témoin. Les résultats obtenus révèlent également une bioaccumulation de Ni et un stress oxydatif chez lot contaminée par le nickel, avec une augmentation de niveau de Ni hépatique, de l'MDA tissulaire (rein, cœur et poumon) et la synthèse des antioxydants total et une diminution de niveau de GSH et de l'activité de SOD et GST tissulaire. Le traitement par nanoparticule de l'oxyde de zinc, L'*A. longa* et zinc améliore les paramètres biochimiques et réduisant le taux du nickel tissulaire, avec protection des organes contre les attaques oxydatif radicalaires induit par le nickel. En conclusion, cette étude montre que les traitements par l'*A. longa*, le zinc et surtout la nouvelle molécule de nanoparticule d'oxyde de zinc synthétisé biologiquement à base de l'*A. longa* induit un effet bénéfique contre la toxicité de nickel au niveau moléculaire et tissulaire.

Mots clé : Nickel, Nanoparticule d'oxyde de zinc, *Aristolochia longa*, Zinc, Stress oxydant, rattes Wistar.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة التأثير الوقائي لنبات الزراوند الشائع بإسم (برستم) والزنك وللجسيمات النانوية للزنك ضد تباين المعايير البيولوجية والإجهاد التأكسدي في الفئران المعرضة بطريقة حادة للنikkel. 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 بالنikkel (20مغ/غ)، الثالثة ملوثة بالنikkel ومعالجة بالجسيمات النانوية للزنك، الرابعة ملوثة بالنikkel ومعالجة بالزراوند والمجموعة الخامسة ملوثة بالنikkel ومعالجة بالزنك لمدة عشرين يوماً. وقد تم تحليل المعايير البيولوجية والإجهاد التأكسدي على مختلف فئران المجموعات المعالجة. لتقييم فعالية النظم العلاجية المختلفة. من خلال تحليل النتائج، نلاحظ انخفاضاً كبيراً في وزن جسم الفئران الملوثة بالنikkel وزيادة الوزن النسبي لبعض الأعضاء المدروسة (الكلى والرئتين) في المجموعة الملوثة بالنikkel مقارنةً بالشاهدة. أظهرت النتائج أيضاً تغييرات ملحوظة في المعايير البيولوجية بزيادة كبيرة ($p<0.05$) في تركيز مصل حمض اليوريك واليوريا والكوليسترول مع زيادة كبيرة في مستويات البروتين الكلي. ومع ذلك، أظهرت أنشطة انزيمات نقل مجموعة الأمين في المصل زيادة ملحوظة ($p<0.05$) في الفئران الملوثة بالنikkel مقارنةً بالشاهدة. النتائج المتحصل عليها تكشف أيضاً على التراكم البيولوجي للنikkel والإجهاد التأكسدي في المجموعة الملوثة بالنikkel، مع زيادة مستويات النikkel الكبدي ومعدل بيبيروكسيد الدهون (الكلى والقلب والرئة) و تركيب مضادات الاكسدة الكلية و انخفاض مستوى الجلوتاثيون المختزل و نشاط انزيم ناقل الجلوتاثيون و فائق أوكسيد الديسموتاز في الانسجة. يحسن العلاج بالجسيمات النانوية لأكسيد الزنك والزراوند والزنك المعايير البيولوجية و يقلل من مستوى النikkel في الانسجة، مع حماية الأعضاء من هجمات الجذور الحرة المؤكسدة الناجمة على النikkel. في الختام ، تبين هذه الدراسة أن العلاج بالزراوند و الزنك و خاصة الجزئي الجديد للجسيمات النانوية للزنك التي تم تركيبها بيولوجيا بناء على الزراوند يحرض على تأثير مضاد لسمية النikkel على المستوى الجزيئي و النسيجي.

الكلمات المفتاحية: النikkel، أكسيد الزنك النانوية، زراوند، الإجهاد التأكسدي، فئران ويستار.