



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tebessi –Tebessa-
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée
Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
En : Science biologique
Option : Pharmacotoxicologie

Intitulée :

**Estimation de l'Effet protecteur de l'extrait
méthanolique de *Retama sphaerocarpa* L. chez les
souris intoxiqués par les nanoparticules d'oxyde de
Nickel**

Par :

Melle. DJEDID Aicha, Melle. JOUINI louiza

Devant le jury :

Mr. MENACEUR Fouad	MCA	Université de Tébessa	Président
Mr. DJABRI Belgacem	Prof	Université de Tébessa	Rapporteur
Mr. GASMI Salim	MCB	Université de Tébessa	Examineur

Date de soutenance : 25 / 06 / 2020

Remerciements

Louanges à Allah le tout puissant de nous avoir donné la force et la chance d'étudier et de nous avoir donné la volonté et le courage pour terminer ce travail

Nous aimerons exprimer notre profond remerciement à notre encadreur DJABRI Belgacem, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de diriger ce travail, Nous le remercions pour ses recommandations et ses discussions ainsi que pour ses conseils qui ont beaucoup enrichi notre travail

On exprime nos sincères remerciements à monsieur MENACER Fouad d'avoir accepté la présidence du jury et l'évaluation de ce travail ainsi que Mr GASMI Salim d'avoir accepté d'examiner et de jurer ce travail

Nous tenons à remercier exceptionnellement Mme SLIM Hanene, Doctorante à l'Université de Tébessa, pour son suivi et pour ses remarques constructives. Qu'elle trouve ici notre sincère reconnaissance.

Nous remercions l'ensemble des enseignants et techniciens ayant contribué de près ou de loin à notre formation qu'ils trouvent à travers ces lignes l'expression de notre plus grande considération

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes parents

Qui m'ont toujours soutenue, entouré et protégé et sans qui je ne serais rien

Avec tout mon amour à ma seule sœur Amina

A tous ceux qui me sont chers et à tous ceux qui ont cru en moi

Aicha

Dédicace

Je dédie cet humble travail à l'esprit de mon grand-père
AbdessalamDJAHDOU

A mes chères parents Abd-Elmadjid et Awatef pour leur sacrifices leur
amour, leur soutien et leur prière tout au long de mes études.

A ma chère tante Linda

A ma chère grand-mère Fella

A mes chères collègues Sara Yousra et Chaima

Résumé

Les Nanoparticules d'oxyde de nickel ont des dangers sanitaires sévères capables d'induire des effets cancérogènes qui peuvent être atténués par nombreux antioxydants. Cette étude a été réalisée pour déterminer les effets protecteurs de l'extrait méthanolique de *Rétama sphaerocarpa* (EMRs) contre l'intoxication par les Nps-NiO chez les souris mâles *Mus musculus* de la souche BALB/C.

L'EMRs a été obtenu par macération de 100 g dans 1000 ml de méthanol pendant 72 h suivie par l'évaporation du ce solvant. Les souris ont été réparties en quatre groupes de cinq souris chacun : un groupe a servi de témoin et les autres ont reçu respectivement: EMRs (250mg/kg), les Nps-NiO (10mg/kg) et la combinaison des Nps-NiO+EMRs. Tous les groupes ont été traités pour une durée de trente jours. Un dosage des paramètres biochimiques (glucides, protéines et lipides) et sanguins (FNS) ainsi qu'une panoplie de tests de comportement ont été effectués.

Le rendement de l'extraction en EMRs est remarquable (34,17%). Les résultats obtenus ont montré une diminution de gain de poids ainsi une augmentation de poids relatifs du foie chez les souris intoxiquées par les Nps-NiO. Le dosage des biomarqueurs biochimiques a montré l'augmentation significative de la concentration des glucides, protéines et des lipides totaux. L'effet toxique du Nps-NiO a été aussi indiqué par une perturbation significative des comportements des souris. De plus, les résultats hématologiques ont montré une augmentation du nombre des globules rouges, une réduction de l'hématocrite et une augmentation de nombre des globules blancs et plaquettes en comparaison avec les souris témoins. Tous ces paramètres ne sont pas significativement améliorés avec le traitement par l'EMRs. Ceci n'empêche pas de proposer l'EMRs dans quelconque schéma thérapeutique lors d'une intoxication par le NPs-NiO.

Mots clés: Nps-NiO nanoparticules d'oxyde de Nickel, EMRs extrait méthanolique de *Rétama sphaerocarpa*, Stress Oxydatif, Hématotoxicité, Hépatotoxicité, souris

Abstract

Nickel oxide nanoparticles have severe health hazards capable of inducing carcinogenic effects that can be mitigated by many antioxidants. This study was conducted to determine the protective effects of the methanolic extract of *Retama sphaerocarpa* (EMRs) against Nps-NiO intoxication in male BALB/C strain *Mus musculus* mice.

EMRs were obtained by macerating 100 g in 1000 ml of methanol for 72 h followed by evaporation of this solvent. The mice were divided into four groups of five mice each: one group served as a control and the others received EMRs (250mg/kg), Nps-NiO (10mg/kg) and Nps-NiO+EMRs in combination, respectively. All groups were treated for 30 days. Biochemical (carbohydrates, proteins and lipids) and blood parameters were measured, as well as a range of behavioural tests.

The extraction efficiency in E-Rs is remarkable (34.17%). The results obtained showed a decrease in weight gain as well as an increase in relative liver weight in mice intoxicated with Nps-NiO. The assay of biochemical biomarkers showed a significant increase in the concentration of carbohydrates, proteins and total lipids. The toxic effect of Nps-NiO was also indicated by a significant disturbance in the behaviour of mice. In addition, hematological results showed an increase in red blood cell count, a reduction in hematocrit and an increase in white blood cell and platelet counts compared to control mice. All of these parameters are not significantly improved with TRA treatment. This does not preclude the use of EMRs in any treatment regimen for NPs-NiO intoxication.

Key words: Nps-NiO nanoparticles of Nickel Oxide, EMRs methanolic extract of *Retama sphaerocarpa*, Oxidative Stress, Hematotoxicity, Hepatotoxicity, mouse

ملخص

تحتوي الجسيمات النانوية لأكسيد النيكل على مخاطر صحية شديدة قادرة على إحداث تأثيرات مسرطنة يمكن أن تضعفها العديد من مضادات الأكسدة. أجريت هذه الدراسة لتحديد الآثار الوقائية لمستخلص الميثانول من *Retama sphaerocarpa* (EMRs) ضد التسمم بواسطة Nps-NiO في ذكور الفئران *Mus Musculus* من سلالة BALB / C.

تم الحصول على EMRs بنقع 100 مغ في 1000 مل من الميثانول لمدة 72 ساعة متبوعًا بتبخير هذا المذيب. تم تقسيم الفئران إلى أربع مجموعات تتكون كل منها من خمسة فئران: عملت مجموعة واحدة كعنصر شاهد وتم تلقي المجموعات الأخرى على التوالي: (250 مغ/كغ) من EMRs (10 مغ/كغ) من Nps-NiO ومزيجًا من Nps-NiO + EMRs. تم علاج جميع المجموعات لمدة ثلاثين يومًا. تم إجراء اختبار للمعايير البيوكيميائية (الكربوهيدرات والبروتينات والدهون) والدم وكذلك مجموعة من الاختبارات السلوكية.

عائد الاستخراج في EMRs كان ملحوظًا (34.17%). أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها انخفاضًا في زيادة الوزن وزيادة في أوزان الكبد النسبية في الفئران التي تسممت بواسطة Nps-NiO. أظهر فحص المؤشرات الحيوية البيوكيميائية زيادة كبيرة في تركيز الكربوهيدرات والبروتينات والدهون الكلية. كما تم الإشارة إلى التأثير السام لـ Nps-NiO من خلال اضطراب كبير في سلوك الفئران. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت نتائج أمراض الدم زيادة في عدد خلايا الدم الحمراء وانخفاض في الدم وزيادة في عدد خلايا الدم البيضاء والصفائح الدموية بالمقارنة مع الفئران الشاهدة. لم يتم تحسين جميع هذه المعلمات بشكل ملحوظ مع العلاج بـ EMRs. هذا لا يمنع عرض EMRs في أي مخطط علاجي أثناء التسمم بواسطة NPs-NiO

Liste des abréviations

Ni	Nickel
NiO	Oxyde de Nickel
Nps	Nanoparticules
EMRs	éxtrait méthanolique de <i>Rétama sphaerocarpa</i>
5_Ht	5-Hydroxytryptamine
mGluRs	Metabotropie glutamate recepteur
NMDA	N méthyl D-aspartate
Hct	Hématocrite
RBC	globule rouge
WBC	globule blanc
PLT	Plaquette
GRA	granulocytes
LYM	ymphocytes
MID	autres types de globules blancs
HGB	hémoglobines
MCV	Volume globulaire moyen
MCH	teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine
MCHC	concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
FNS	Formule et numérotation sanguin
Nacl	chlorure de sodium
FNS	Formule et numérotation sanguin
Ni(COD)₂	Nickel Cyclooctadiène

Ni(NO₃)	Le nitrate de Nickel
Ni(Cp)₂	Nickelocene

Liste des tableaux

Numéro	Tableaux	Page
01	Proprietes physico-chimique de Nickel	16
02	Proprietephysico-chimique de NiO	22
03	composée contenus dans l'extrait méthanolique de Retama sphaerocarpa	31
04	Traitement administré avec dose	36
05	Variations des valeurs de FNS	36
06	Moyenne et écart-types des paramètres de la Formule de Numérotation Sanguine	55
07	Rendement de différente partie de Retama sphaerocarpa	62
08	la réalisation de la gamme d'étalonnages pour les glucides aux niveaux hépatopancréas.	84
09	Dosage des glucides : résultats des densités optiques de de la gamme d'étalonnages	84
10	La réalisation de la gamme d'étalonnage pour les lipides aux niveaux de l'hépatopancréas	85
11	dosage des lipides résultats des densités optiques de la gamme d'étalonnage	85
12	la réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines ou niveau hépatopancréas	86
13	Dosage des protéines : résultats des densités optiques de la gamme d'étalonnage.	86

Liste de figures

Numéro	Figure	Page
01	balance entre le système prooxydant et antioxydant	03
02	principale cible des ERO	08
03	Réseau des antioxydants	10
04	Lésions cutanées induites par une hypersensibilité au nickel	19
05	oxyde de nickel	20
06	Structure cristalline de l'oxyde de nickel	20
07	Mécanisme de toxicité des nanoparticules de nickel	25
08	Disposition géographique du genre de <i>Retama</i> en Algérie	26
09	Image réel de <i>Retama sphaerocarpa</i>	27
10	Image des souris pendant l'adaptation	33
11	Image <i>Retama sphaerocarpa</i>	34
12	Localisation géographique de <i>Retama sphaerocarpa</i>	34
13	Etape de l'extraction	35
14	Administration des différents traitements par gavage	37
15	Sacrifice des animaux	37
16	Dispositif de Test de piscine de Morris	39
17	Dispositif de Test de labyrinthe	40
18	Dispositif de test d'open field	41
19	Dispositif de Test de dark light	42
20	Extraction et dosage des métabolites chez les souris	44
21	Variations du gain de poids (g) chez les souris témoin et traités	47
22	Variation de poids relatif du foie % chez les souris témoin et traités	48
23	Variation de moyenne de temps dans l'espace sombre de test Dark/light chez les souris témoin et traités	48
24	Variation de moyenne de temps dans l'eau de test de piscine(s) Chez les souris témoins et traités	49
25	Variations de temps moyenne de test de labyrinthe chez les souris témoins et traités	50
26	variation de rearing de test d'open field	50
27	Variation du taux moyen des glucides hépatiques chez	51

	les souris traités et témoins (mg/l)	
28	Variation du taux moyen des protéines hépatiques chez ls souris traité et (mg/l)	52
29	Variation du taux moyen des lipides hépatiques chez les souris traité et témoins(mg/l)	52

Liste des tableaux

Numéro	Tableaux	Page
01	Propriétés physico-chimique de Nickel	16
02	Propriétés physico-chimique de NiO	21
03	Composée contenus dans l'extrait méthanolique de Retama sphaerocarpa	25
04	Traitement administré avec dose	30
05	Variations des valeurs de FNS	36
06	Rendement de différentes parties de Retama sphaerocarpa	55
07	La réalisation de la gamme d'étalonnages pour les glucides aux reins et au foie et au pancréas et au	62
	hépatopancréas.	

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
المخلص	
Sommaire	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01
Partie bibliographique	
Chapitre I : Le stress oxydant	03
I. Stress oxydant	03
I.1 Définition du stress oxydant	03
I.2 Stress oxydant physiologique et pathologique	04
I.3 Radicaux libres	04
I.3.1 Espèces réactif de l'oxygene ERO	05
I.3.2 Sources cellulaire des ERO-/ERN	07
I.3.3 Principal cible biologique de ERO	08
I.3.4 Conséquences du stress oxydant	09
I.4 Défenses antioxydantes	10
I.4.1.Système de défense enzymatique	11
I.4.2.Système antioxydant non enzymatique	12
I.4.3. Oligoéléments	14
Chapitre II : Le Nickel Et l'Oxyde de Nickel	
II. Nickel et Oxyde de Nickel	16
II.1. Nickel	16

II.1.1. Usage du Nickel	16
II.1.2. Sources d'exposition	17
II.1.2.1. Sources environnementaux	17
II.1.2.1 Sources industrielles	17
II.1.3. Evaluation toxicologique	17
II.1.3.1. Cancérogénicité	17
II.1.3.2. Toxicité hépatique	18
II.1.3.3. Toxicité pulmonaire	18
II.1.3.4. Hématotoxicité de Nickel	18
II.1.3.5. Hypersensibilité au Nickel	18
II.1.3.6. Toxicité aiguë	19
II.1.3.7. Toxicité chronique	19
II.2. Oxyde de nickel et ses nanoparticules	20
II.2.1. Synthèse de l'oxyde de Nickel	21
II.2.1. Propriété de Nio	21
II.2.1.1. Propriétés physique et chimique	21
II.2.1.2. Propriétés électriques et magnétique	22
II.2.1.3. Propriétés optiques	22
II.2.2. Applications de NiO	22
II.2.3. Informations toxicologiques de Nio	23
II.2.3.1 Toxicité aigue	23
II.2.3.2 Toxicité chronique	23
II.3. Généralité sur les nanoparticules	23
II.3.1. Définition	23
II.3.2. Origine des nanoparticules	24
II.4. Les nanoparticules doxyde de Nickel	24
Chapitre III : Rétama sphaerocarpa	
III. Retama Sphaerocarpa	26
III.1. Famille de fabaceae	26
III.2. Distribution géographique de genre Retama	26
III.3. Description de l'espèce de Retama sphaerocarpa	27
III.4. Systématique	28

III.5.Intérêt du genre Retama	28
III.5.1.Intérêt écologique	28
III.5.2.Intérêt et activité pharmacologique	28
III.5.3.Intérêt industriel et économique	29
III.6.Composition chimique	29
III.6.1. Les acides gras	30
III.6.2.Les alcaloïdes et les flavonoïdes et les isoflavones	30
III.6.3.Mono-glycérides	31
III.6.4. Les stérols	31
III.6.5.Alcools à longue chaînes	31
III.6.6.Cyclitols	31
III.7. Usage de Retama Sphaerocarpa	31
Partie pratique	
Matériel et méthode	33
I.1.Matériel	33
I.1.1.Matériel animal	33
I.1.2.Matériel végétal	34
I.2.Méthodes	34
I.2.1.Extraction d'extrait méthanolique de Retama spaerocarpa	34
I.2.1.1.Nettoyage et séchage	34
I.2.1.2.Broyage et tamisage	34
I.2.1.3.Stockage	34
I.2.1.4.Extraction	35
I.2.1.5.Calcul de rendement	35
I.2.1.6.Préparation des solutions	36
I.2.1.7.Calcul de rendement	36
I.2.2.Traitement	36
I.2.3.Sacrifice et prélèvement des foies	37
II. Testes comportementaux	38
II.1. Test de piscine de marris	38
II.2. Test d'Open field	40
II.3.Test de labyrinthe classique	41

II.4.chambre claire/obscur	42
I.5. Analyse statistique des résultats	43
III. Dosage des métabolites	43
III.1. Préparation de l'homogénat	43
III.2. Dosage de glucides	45
III.3. Dosage des protéines	45
III.4. Dosage de lipides	45
III.5. Formule de numérotation sanguine (FNS)	45
IV. Résultats Et Discussion	
IV.1. Effet sur les paramètres de croissance des souris	47
IV.1.1. Effet sur le gain de poids	47
IV.1.2. Effet sur le poid relatif du foie	47
IV.2. Effet desNps- NiO et EMRs sur le comportement des souris	47
IV.2.1 Effet sur le test de Clair/Obscur	48
IV.2.2.Effet sur le test de piscine de Morris	48
IV.2.3 Effet sur le test de labyrinthe	49
IV.2.4. Effet sur le test de Open –Field	50
IV.3. Effet sur les métabolites	51
IV.3.1. Effet sur les glucides	51
IV.3.2. Effet des protéines	51
IV.3.3. Effet des lipids	52
VI.4.4 Effet sur FNS	53
VI.4.4.1. Effet sur le taux de des plaquettes	53
VI.4.4.2.Effet sur le taux des globules blanc	53
VI.4.4.3. Effet sur le pourcentage des lymphocytes	53
VI.4.4.4.Effet sur le pourcentage des granulocytes	53
VI.4.4.5.Effet sur le pourcentage de l'Hématocrite(HCT)	54
VI.4.4.6.Effet sur le taux des globules rouges	54
V. Discussion	62
V.1. Rendement en extrait méthanolique	62
V.1.Effet sur le gain de poids	63

V.2. Effet sur le poids relatif du foie	63
V.3. Effets sur le comportement	63
V.3.1. Test de piscine de Morris	63
V.3.2. Test d'Open Field	64
V.3.3. Effet sur le test de labyrinthe	64
V.4. Effet sur le test de Clair/Obscur	65
V.5. Effet des Nps-NiO sur la FNS	65
V.6. Effet de Nps-NiO sur les métabolites	65
V.6.1. Effet sur les glucides	66
V.6.2. Effet sur le taux des protéines	66
V.6.3. Effet sur les lipides	66
V.7. Effet protecteur de l'extrait méthanolique de Retamasphaerocarpa	67
Conclusion	69
Références Bibliographie	70
Annexes	84

Introduction

INTRODUCTION

Depuis la préhistoire, l'être humain recherche dans son environnement (plantes, animaux, pierres) ce qui soulage ses maux et traiter ses blessures. Une tendance récente consiste à recherché dans les plantes de nouvelles molécules qui servent comme remède à certaines maladies cancer, paludisme (**Kurt, 2010**). Selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S), près de 6377 espèces de plante sont utilisée en Afrique, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui constituent 90% de la médecine traditionnelle(**Diallo, 2005**). Les espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. Nous pouvons citer comme exemple les alcaloïdes, les terpènes, les stéroïdes, les polyphénols, les huiles essentielle, les vitamines(**Benhamza, 2008**). Les polyphénols représentent l'un des groupes les plus importants du fait qu'ils aient une faible toxicité et de nombreux avantages biologiques pour l'organisme. En effet, on les attribue des prospérités antioxydantes, anti-inflammatoires et anti tumorales (**Seguin, 2012**).Le genre *Retama* appartenant à la famille des fabaceae se trouve en Afrique, aux îles canaries, dans l'Europe et l'Asie occidentale (**Buisson et al.,2014**).Le Genre *Retama* se divise en quatre espèces dont *Rétamasphaerocarpa* qui est un arbuste légumineux de 1 à 2 m de haut, à rameaux pubescents plus ou moins dressés portant un grand nombre de branches vertes de différentes longueurs et les fleurs sont jaunes et très petites(**Pugnaire et al., 1996 ; Boussahel, 2011**).Une large gamme de produits pharmaceutiques ayant des activités anti-inflammatoires, antioxydantes, hypoglycémiques, diurétique, hypotenseur et ocytocique ont été extraits à partir de *Retamasphaerocarpa*(**Touati et al.,2015**).

Les nanoparticules (NPs) ont suscité une attention exceptionnelle dans le monde entier en raison de leurs nombreuses applications et leurs effets négatifs. La fabrication et l'utilisation de produits à base de nanotechnologies entraîne leur rejet dans l'environnement, ce qui peut contaminer les aliments et l'eau entraînant finalement son entrée dans le corps humain (**Prabhakar et al., 2011**).Les nanoparticules d'oxyde de nickel (NPs-NiO) gagnent une importance particulière pour leurs avantages commerciaux bien connus. À l'échelle des nanodimensions, ces NPs-NiO offrent d'extraordinaires applications dans tous les domaines. Par exemple, les couches minces nanostructures de NiO sont éprouvées en tant que des biocapteurs pour la détection du cholestérol dans les échantillons de sérum (**Kaur et al.,2017**). Néanmoins,des préoccupations quant à leurs effets toxiques en cas d'exposition chronique ont été soulevées. L'exposition professionnelle aux NPs-NiO se produit lors de la

production d'alliages, la galvanoplastie, le raffinage et le soudage (**Denkhaus et Salnikow, 2002**). L'évaluation de la toxicité des NPs des oxydes métalliques a montré la génération de les espèces réactives d'oxygène (ERO) comme cause du stress oxydatif, qui est considéré comme le mécanisme d'appel pour les effets nocifs induits par les NPs (**Nel et al., 2009**).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'intoxication par les NPs-NiO en s'intéressant particulièrement aux altérations biochimiques et aux troubles comportementaux et sanguins liés à une exposition subchronique à ces molécules et d'apprécier l'effet protecteur de l'extrait méthanolique de *Rétama sphaerocarpa* chez les souris blanches. Afin d'atteindre cet objectif, ce mémoire traitera :

- Une partie bibliographique rapportant des informations de base qui servent à faciliter la compréhension du travail expérimental.
- Une partie expérimentale dans laquelle seront exposés : le matériel et les méthodes utilisés ainsi que les résultats et leur discussion

Partie bibliographique

Chapitre I

Le stress oxydant

I. Stress oxydant

L'oxygène est la molécule la plus abondante dans un système biologique bien que peu réactif en raison des restrictions de spin, il existe en tant que radical et réagit donc extrêmement rapide avec d'autres radicaux, l'oxygène lui-même est souvent la source de tels radicaux car des espèces partiellement réduites sont générées par des processus métaboliques normaux et certaines espèces réactives peuvent s'échapper. En conséquence, les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des intermédiaires toxicologiques importants et sont généralement impliquées dans le stress oxydant (Keher , 2000).

1.1.Définition du stress oxydant

Le stress oxydatif, dénommé également stress oxydant, résulte d'un déséquilibre de la balance « pro-oxydants – antioxydants » en faveur des oxydants, ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides avec une perturbation des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation (figure 1). Un stress oxydatif peut donc se développer suite à une surproduction des oxydants comme les espèces activées de l'oxygène et/ou à une diminution des systèmes de défense antioxydants (Sergent *et al.*, 2000).

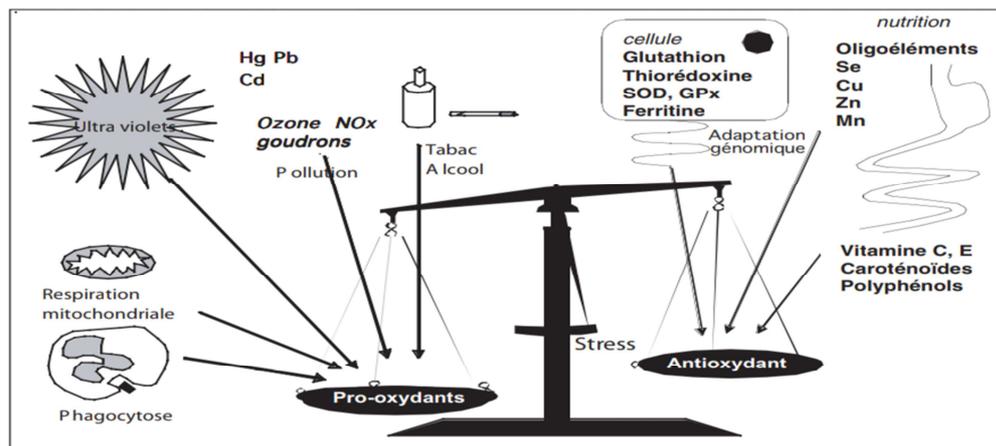


Figure 01: balance entre le système prooxydant et antioxydant (Favier , 2006).

I.2. Stress oxydant physiologique et pathologique

En 1991, la notion de stress oxydant est définie comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées, suite à un déséquilibre lié soit à une production accrue des ERO, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante. La pollution, le tabagisme, une consommation excessive d'alcool, la prise de pilule contraceptive, l'exposition immodérée au soleil ou à des radiations sans protection suffisante, la pratique du sport de haut niveau et l'inflammation chronique sont par exemple autant de sources de production des ERO. Une alimentation pauvre en fruits et légumes où se trouve la majeure partie des antioxydants nécessaires (vitamines C et E caroténoïdes, polyphénols) favorise une baisse de la capacité antioxydante. Si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi il constitue un terrain favorable au développement de pathologies diverses. Un stress oxydant «pathologique» est ainsi potentiellement impliqué dans de nombreuses affections ou dans le développement de complications associées à celles-ci (diabète). A titre d'exemple, l'oxydation des lipides est un facteur favorisant la survenue de maladies cardiovasculaires tandis que celle de l'ADN se retrouve dans diverses étapes qui conduisent au développement de cancers. Au cours du temps, la notion de stress oxydant a évolué notamment avec l'avènement de la biologie moléculaire qui a montré que les ERO ont aussi un rôle physiologique important. En effet, les ERO produites en permanence dans l'organisme sont impliquées dans le maintien de l'homéostasie cellulaire (prolifération cellulaire normale, métabolisme normal, état redox normal pour l'expression de gènes). Dans cette perspective, les antioxydants sont alors des régulateurs de la production des ERO, dont ils préviennent les effets délétères potentiels. La vraisemblable nécessité d'un stress oxydant «physiologique» régulateur explique sans doute en partie les échecs relatifs d'études interventionnelles basées sur des suppléments en antioxydants. (Defraigne et Pincemail, 2008).

I.3. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) occupant une orbitale externe (Halliwell, 1989). Des sources importantes de radicaux libres sont les mécanismes de cycles redox que produit dans l'organisme; l'oxydation de molécules comme les quinones. Ce cycle redox a lieu soit spontanément, soit surtout lors de l'oxydation de ces composés au niveau du cytochrome P450. Ce mécanisme est souvent incriminé pour expliquer la toxicité de l'alcool, des résidus de la fumée de cigarette, ou de nombreux médicaments; mais il se produit aussi avec

des composés endogènes comme l'acide lévulinique et surtout les catécholamines. Les métaux toxiques (chrome, cuivre,...), mais aussi le cuivre et le fer libres (existant lors de surcharges générales ou localisées) génèrent des radicaux hydroxyles, très réactifs, à partir de l'espèce peu réactive H_2O_2 , par une réaction appelée réaction de Fenton. Les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources de radicaux libres, d'une part parce qu'elles exacerbent la phagocytose, d'autre part parce que leur surface est tapissée de sels de fer. Les rayonnements sont capables de générer des radicaux libres, soit en scindant la molécule d'eau lorsqu'il s'agit des rayons ionisants X ou γ , soit en activant des molécules photosensibilisantes lorsqu'il s'agit des rayons ultraviolets qui vont par ce mécanisme produire des anions superoxydes et de l'oxygène singulet (**Favier , 2003**).

I.3.1. Espèces réactif de l'oxygene ERO

La chaîne respiratoire mitochondriale, dans laquelle les êtres aérobies puisent leur énergie, joue un rôle capital dans la cellule en couplant l'oxydation de coenzymes transporteurs d'hydrogène ou d'électrons avec la phosphorylation de ADP en ATP (AdenosineTriPhosphate). Les conséquences de cette activité mitochondriale sont doubles et paradoxales. D'une part, la mitochondrie fournit à la cellule une source d'énergie importante puisque 36 molécules d'ATP à haut potentiel énergétique sont générées lors de la réduction de l'oxygène. Par contre, dans les conditions physiologiques, environ 0,4 à 4 % d'électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme et donnent naissance à des ERO. (**Haleng *et al.* , 2007**)

A.L'Anion superoxyde

L'ion superoxyde ($O_2^{\circ-}$) est un dérivé très réactif de l'oxygène. Il est produit au cours du métabolisme mitochondrial à la suite de la réaction suivante.

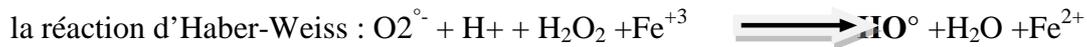


La durée de vie du radical $O_2^{\bullet-}$ ainsi créé est très courte du fait de sa forte réactivité. Il va ainsi interagir rapidement avec son environnement direct (molécules de solvant). L'anion superoxyde est un souvent désigné comme une des espèces permettant la production de nombreuses autres espèces réactives de l'oxygène. (**Desmier , 2016**).

B.Radical hydroxyle OH

Le radical libre hydroxyle (OH°) est très réactif. Son temps de demi-vie en milieu aqueux est de 10^{-6} secondes. Il peut réagir avec de nombreuses molécules comme l'ADN, les glucides, les nucléotides, les protéines et être à l'origine de lésions de nécrose. C'est un dérivé

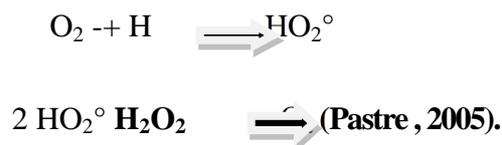
de l'ion superoxyde. Il peut être produit à la suite de diverses réactions. Nous en citerons deux à titre d'exemple, comme :



- la réaction de Fenton : $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O} + \text{HO}^\circ$ (Pastre, 2005).

C. Peroxyde d'hydrogène

Le radical peroxyde est considéré comme une espèce réactive dérivée de l'oxygène (ERO) même s'il n'a pas une structure radicalaire car il est capable d'initier ou de propager des dommages oxydatifs. Il peut être produit au cours des mécanismes illustrés par les équations suivantes :



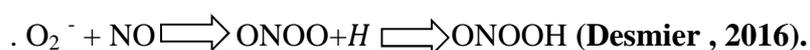
D. L'oxygène singulet

Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène, celui-ci passe à l'état singulet qui représente la forme activée. C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante :



E. Espèces réactives de l'azote

Les espèces réactives de l'azote proviennent de la réaction des ROS avec le monoxyde d'azote NO^\bullet . Ces réactions sont catalysées par la NO synthase dont il existe 3 types: neuronale, endothéliale ou inductible. Dans des conditions physiologiques, l'oxyde d'azote est faiblement réactif. C'est l'action de l'anion superoxyde sur l'oxyde d'azote qui entraîne la formation de réactifs ayant une réactivité élevée



Le rôle des ERO est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité et jouent un rôle de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription. Citons aussi le processus de fécondation, au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités des ERO pour percer la paroi membranaire de l'ovule (**Haleng *et al.*, 2007**).

I.3.2. Sources cellulaire des ERO-/ERN

Les ERO peuvent être produits à partir de substances endogènes et les substances exogènes. Sources endogènes potentielles comprennent les mitochondries, le métabolisme du cytochrome P450, peroxysomes, et l'activation des cellules inflammatoires. Les Mitochondries sont depuis longtemps connus pour générer des des quantités de peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène la molécule ne contient pas d'électron non apparié et n'est donc pas une espèce radicale. Dans des conditions physiologiques, la production de peroxyde d'hydrogène est estimée. Comme les mitochondries sont le principal site de production de radicaux libres génération, ils sont hautement enrichis en antioxydants y compris le GSH et les enzymes, comme la superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion peroxydase (GPx), qui sont présents des deux côtés de leur membrane afin pour minimiser le stress oxydatif dans l'organite. Superoxyde radicaux formés des deux côtés de la mitochondrie les membranes internes sont détoxifiées efficacement dans un premier temps pour peroxyde d'hydrogène, puis à l'eau par Cu, Zn-SOD (SOD1, localisé dans l'espace intermembranaire) et Mn- SOD (SOD2, localisé dans la matrice). Outre les mitochondries, il existe d'autres sources cellulaires du radical superoxyde, par exemple la xanthine oxydase (XO), une enzyme très polyvalente et largement distribuée entre les espèces (de la bactérie à l'homme) et au sein les différents tissus des mammifères xanthine oxydase est une source importante de radicaux libres d'oxygène. Il s'agit d'une membre d'un groupe d'enzymes connu sous le nom de molybdène hydroxylases fer-soufre flaviniques et catalyse la l'hydroxylation des purines. En particulier, le xo catalyse la réaction de l'hypoxanthine à la xanthine et de la xanthine à l'urique acide. Au cours de ces deux étapes, l'oxygène moléculaire est réduit, formant l'anion superoxyde dans la première étape et l'hydrogène peroxyde dans la seconde D'autres sources endogènes de réactifs cellulaires les espèces d'oxygène sont les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages. Les macrophages activés déclenchent une l'augmentation de l'absorption d'oxygène qui donne naissance à une variété d'espèces réactives de l'oxygène, dont l'anion superoxyde, l'oxyde nitrique et le

peroxyde d'hydrogène Cytochrome Le P450 a également été proposé comme source de réactifs des espèces d'oxygène.(**Valko et al., 2007**).

Le devenir des ERO-ERN ainsi formés par voie enzymatique est multiple. Le plus souvent, une transformation en une autre forme réactive a lieu. Ainsi, l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , peuvent interagir avec les métaux de transition (fer, cuivre) pour générer des radicaux OH , par une réaction de Fenton ou d'Haber-Weiss. De même, NO se combine aisément avec O_2 pour former le peroxy-nitrite ONOOT, oxydant et nitrosant. agent non radicalaire à la fois oxydant et nitrosant grâce à la présence d'antioxydants, il existe un équilibre physiologique subtil entre la production et l'élimination des ERO et ERN. Les cellules vasculaires sont dans un état redox basal. Cet équilibre peut être rompu sous l'effet de certains stimuli pathologiques endogènes (hyper-LDLémie hypertension, diabète...) ou exogènes (polluants environnementaux, tabagisme...) ,conduisant à un stress oxydant délétère pour les constituants moléculaires et cellulaires de la paroi artérielle et entraînant des dysfonctionnements. Ce stress peut être de courte durée et, par les systèmes antioxydants, limité, avec un retour rapide à un état redox physiologique, ou plus prolongé, avec finalement création d'un nouvel équilibre redox de niveau oxydant plus élevé et permanent, comme celui que l'on peut retrouver dans des pathologies chroniques (**Beauxdeux et al. , 2006**).

I.3.3.Principal cible biologique de ERO

Dans le cas où les systèmes de défense ont été dépassés, les radicaux s'attaquent aux macromolécules biologiques dans l'environnement direct de leur lieu de production. Les radicaux étant très réactifs et ayant donc une durée de vie courte, toutes les molécules biologiques possédant des doubles liaisons sont susceptibles d'être touchées et des produits de dégradation sont engendrés (bases oxydées et coupures de l'ADN nucléaire et mitochondrial, produits de peroxydations lipidiques, protéines oxydées, cholestérol oxydé...etc.) (**Laurent , 2005**).



Figure 02: principale cible des ERO (**Sergent et al. , 2000**).

I.3.4 Conséquences du stress oxydant

I.3.4.1.ERO et dommages à l'ADN

La présence de bases d'ADN oxydées est souvent utilisée comme marqueur de dommages à l'ADN induits par les ERO. La base de guanine est particulièrement sensible à l'oxydation, ce qui en fait un biomarqueur raisonnable pour les lésions oxydatives. Avec l'amélioration de la méthodologie analytique, il est devenu possible de détecter aussi peu que 25 fmoles de 8-hydroxy-déoxyguanosine. De plus, les problèmes initiaux d'oxydation parasite pendant la préparation des échantillons semblent avoir été résolus et les estimations actuelles des niveaux à l'état d'équilibre sont inférieures à 100-1000 résidus de 8-hydroxydéoxyguanosine dans les cellules normales. Il est important de se rappeler, cependant, que si les bases d'ADN oxydées altèrent la fonction de l'ADN, ces bases existent toujours à un certain niveau basal et les cellules ont de nombreux systèmes de réparation pour éliminer ces espèces. Cependant, si elles se produisent sur des sites critiques ou ne sont pas réparées rapidement, les purines ou pyrimidines oxydées peuvent causer des problèmes fonctionnels. En conséquence, l'oxydation des bases d'ADN est considérée comme un événement important dans la cancérogenèse chimique. En général, l'ADN oxydé présente une propension accrue aux mutations génétiques et aux altérations de la transcription. Il existe plusieurs mécanismes par lesquels ces effets peuvent se produire. Celles-ci incluent des effets sur la liaison hydrogène, une fidélité ADN et / ou ARN polymérase, et changements de conformation dans la matrice d'ADN. En endommageant l'ADN directement, en interférant avec la réparation de l'ADN, en affectant la division cellulaire ou le processus de promotion, ou en médiant l'activation des cancérogènes, les ERO ont le potentiel de moduler le développement du cancer à plusieurs niveaux ainsi que de perturber les fonctions cellulaires pendant les événements de toxicité cancérogène. L'extrême réactivité du radical hydroxyle en fait un acteur particulièrement important dans les processus toxiques induits par les radicaux libres, (Keher, 2000).

I.3.4.2. ERO et dommages aux protéines

A cause de leur abondance dans l'organisme, les protéines sont une cible importante d'oxydation des ERO. Cette oxydation provoque l'entrée d'un groupe carbonyle dans la protéine. Ces réactions d'oxydation, fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Cu^{2+} et le Fe^{2+} , peuvent être classées en deux catégories :

- celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne protéique,

- les modifications des peptides par l'addition de produits issus de la peroxydation lipidique.

Ces changements conduisent à une modification structurale des protéines dont les conséquences sont majeures: perte de fonction catalytique, augmentation de la sensibilité aux protéases (Favier , 2003).

I.3.4.3. ERO et dommages lipidiques

Les premières cibles des ERO sont les lipides, spécialement ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires et notamment les acides gras mono et polyinsaturés des phospholipides membranaires. Ils sont à l'origine de réaction de peroxydation Il s'agit d'une succession de réactions radicalaires à l'origine de la libération de molécules réactives. En l'absence d'antioxydants, la réaction s'auto-entretient car les espèces produites peuvent à nouveau réagir entre elles (Chaudhary *et al.* , 1996).

I.4.Défenses antioxydantes

Les antioxydants sont des substances qui inhibent ou ralentissent l'oxydation d'un substrat. Ils sont présents sous de nombreuses formes et peuvent intervenir en prévention de la formation des radicaux libres, aussi bien que pour participer à leur élimination (antioxydants primaires et secondaires Il existe deux classes d'antioxydants : les endogènes et les exogènes. Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase dont les mécanismes sont développés plus haut. La deuxième partie permet d'appréhender les antioxydants exogènes qui sont, par définition, apportés de l'extérieur par exemple par l'alimentation. (Guillouty , 2016)..

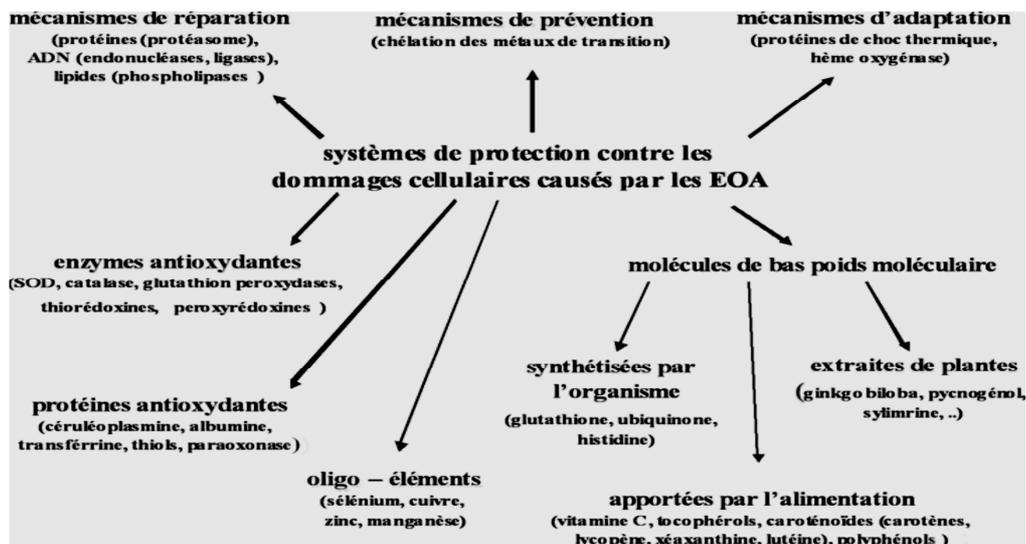


Figure03 : Réseau des antioxydants (Defraigne et pincemailn , 2008)

I.4.1.Système de défense enzymatique

I.4.1.1.Superoxyde dismutases (SOD)

La puissante enzyme antioxydante naturelle superoxyde dismutase (SOD) agit à la source même de la réaction en chaîne qui produit des types réactifs d'oxygène et constitue donc le premier et le principal maillon du processus de défense contre les radicaux libres. Malheureusement, en raison de la fragilité de sa structure moléculaire, la SOD non protégée est inactivée dans le tube digestif. Grâce à un processus de couplage avec la gliadine, une protéine extraite du blé, une SOD d'origine végétale (extrait de melon riche en SOD) est maintenant disponible par voie orale. Plusieurs études *in vivo* sur des animaux ainsi qu'un essai clinique sur des volontaires sains ont confirmé la préservation de l'activité antioxydante de l'enzyme SOD après administration orale ; une action par ailleurs associée à des propriétés anti-inflammatoires et immunomodulatrices . (**Menveille , 2005**).

I.4.1.2 Catalase

La catalase est une enzyme intracellulaire, localisée principalement dans les peroxysomes. Elle catalyse la réaction de détoxification du H₂O₂ (généralement produit par la SOD). Elle est surtout présente au niveau des globules rouges et du foie (**Soulère *et al.* , 2002**).

I.4.1.3. Glutathion peroxydases (GPxs)

La glutathion peroxydase (GPx) est une importante enzyme intracellulaire qui décompose les peroxydes d'hydrogène (H₂O₂) en eau; et les peroxydes de lipides en leurs alcools correspondants, principalement dans la mitochondries et parfois dans le cytosol. La plupart du temps, son activité dépend d'un cofacteur de micronutriments connu sous le nom de sélénium. Cette enzyme joue un rôle plus crucial dans l'inhibition du processus de peroxydation des lipides et protège donc les cellules du stress oxydatif. L'enzyme possède également une isoforme mitochondriale qui sert de médiateur la réponse apoptotique au stress oxydatif. Les GPx1 ont également été impliqués dans le développement et la prévention de nombreuses maladies communes et complexes, notamment le cancer et les maladies cardiovasculaires (**Ighodaro et Akinloye , 2018**).

I.4.1.4.Système thiorédoxine

.Le rôle physiologique joué par le système thiorédoxine/thiorédoxine réductase dans la protection antioxydante

A.une participation direct: métabolisation des espèces oxydantes et recyclage d'équivalents réducteurs réagissant directement avec ces espèces oxydantes

B.une participation indirecte: via un contrôle redox (par simple échange thiol-disulfure) des divers réponses cellulaires au statut redox cellulaire induit par le stress oxydatif (**Vamecq et al. , 2004**).

I.4.2.Système antioxydant non enzymatique

I.4.2.1. Glutathion et les protéines-thiols

Le GSH constitue l'antioxydant principal de l'organisme d'autant qu'il est aussi le co-facteur de toute une série d'enzymes antioxydantes (glutathion peroxydases, glutathion réductase, thiorédoxines et peroxyrédoxines) (**Defraigne et pincemail , 2008**). Le glutathion est un tripeptide (gamma-Glutamyl-Cystéine-Glycine) omniprésent dans les cellules,est considéré comme un véritable tampon redox qui va influencer l'état d'oxydation de nombreuses autres molécules. Il peut réduire directement certains composés, et occupe une place prépondérante dans le cycle de l'ascorbate-glutathion Il sert aussi d'élément de base à la synthèse des phytochélatines, qui sont des polymères de GSH impliqués notamment dans la séquestration des métaux lourds dans les cellules végétales Enfin, au-delà de ces rôles dans les défenses antioxydantes. le GSH est aussi impliqué dans la régulation du métabolisme et notamment du développement cellulaire le GSH est utilisé comme réducteur par diverses protéines, que sont les glutarédoxines (Grx), les glutathion-transférases (GST), dans certains cas les glutathion peroxydases (Gpx), ainsi que certaines peroxyrédoxines (Prx)., (**Navrot , 2018**).

I.4.2.2. Vitamine C

.La vitamine C est, avant tout, un excellent piègeur des ERO (HO' ou O").(Haleng et al 2007). cette molécule peut exister sur plusieurs états réversibles et dépendants Le rôle antioxydant de l'ascorbate est fondamentale L'effet antioxydant de l'ascorbate inhibition des radicaux libres ,inhibe la peroxydation lipidique il est utilisé dans la prévention des maladies qui pourraient apparaître la production des radicaux libres(prévention de cancer) il est aussi proposé dans le traitement des maladies liées au vieillissement, cicatrisation (**Thierry et al. , 1999**).

I.4.2.3.La vitamine E

La vitamine E est peut être l'antioxydant naturel le plus connu. De plus , son rôle métabolique ou physiologique dans l'animal semble lié à une fonction antioxydante.. La vitamine E est aussi appelée tocopherol et il existe au moins sept types différents appelés constituants de la vitamine E (alpha, gamma et delta tocopherol, ...). Les huiles végétales contiennent un certain nombre de constituants différents de la vitamine E. Quant à leur

activité on signale que les formes delta et gamma de la molécule de tocopherol sont plus efficaces que l'alpha-tocopherol comme antioxydants (**Hillton , 1989**).

I.4.2.4 Vitamine A

La vitamine A est une vitamine liposoluble que l'on retrouve en grande quantité dans l'organisme surtout au niveau du foie, son lieu de stockage principal. On distingue deux groupes, à savoir les rétinoïdes (rétinol, trétinoïne...) et les provitamines A (principalement les α - et β - carotènes). Les rétinoïdes vont se retrouver dans les aliments d'origine animale (œufs, lait, viande...). Les provitamines A sont essentiellement contenues dans les végétaux et plus particulièrement la carotte, la citrouille et la patate douce. Même en l'absence de liaison OH, le β - carotène est un bon antioxydant naturel. Son activité s'explique en partie par ses propriétés lipophiles lui permettant de traverser les membranes cellulaires et en partie par son système π -conjugué permettant d'interagir avec les radicaux libres pour former des adduits. Le β - carotène peut agir comme un inhibiteur de la peroxydation lipidique uniquement à une faible pression partielle en O₂. Il peut être oxydé tout comme un acide gras et ainsi avoir un effet pro-oxydant (**Dismer , 2016**).

I.4.2.5. Caroténoïdes

Les caroténoïdes dont le bêta-carotène qui est le plus connu sont des précurseurs de la vitamine A. Ils jouent le rôle de pigments colorés jaunes à rouge dans beaucoup de fruits et de légumes. Il existe principalement deux groupes de caroténoïdes qui sont des puissants neutraliseurs des ERO : ceux porteurs de substituants oxygénés (lutéine, zéaxanthine et la cryptoxanthine) et ceux qui n'ont pas d'oxygène (α -carotène, β -carotène et lycopène). Ils sont présents dans les compartiments lipidiques car ils sont plutôt lipophiles. Ils sont apportés par l'alimentation, les aliments les plus riches sont la carotte (α -carotène, β -carotène), la tomate et le melon (lycopène), les agrumes (β -cryptoxanthine), les épinards et endives (β -carotène et lutéine) et le maïs (zéaxanthine). On en retrouve aussi dans le foie et les huiles de foie de poisson, le lait entier et les oeufs. (**Guillouty , 2016**).

I.4.2.6. L'acide urique

L'acide urique est un puissant réducteur des radicaux libres : il réduit les radicaux peroxydes, hydroxydes et neutralise aussi l'anion superoxyde. (**Esterbauer *et al.* , 1992**). Produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, il est à pH physiologique majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piège puissant des radicaux (OH, ROO, NOO'...). Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leur tour réduites (notamment

par la vitamine C). Les propriétés antioxydantes de l'urate *in vivo* peuvent être appréciées indirectement par le fait qu'un produit de réaction de l'urate avec les ERO, l'allantoïne, est présent à des taux élevés lors d'un stress oxydant. (Haleng *et al.* , 2007).

I.4.2.8. Bilirubine

La bilirubine est un pigment jaune issu de la dégradation de l'hème de l'hémoglobine produit de catabolisme de la myoglobine et des cytochrome (Revu futura santé) La Bilirubine est l'un de des plus puissant antioxydant de l'organisme capable d'inactiver de nombreuses especes radicalaires derivees de l'oxygene ou de l'oxyde nitrique La bilirubine est capable également de moduler directement la production cellulaire d'anion superoxyde sur des preparations acellulaires en inhibant l'activation de la NAD(P)H oxydase *In vivo*, cet effet antioxydant se traduit par un effet protecteur dans des modeles animaux d'ischemie cerebrale de fibrose pulmonaire induite par la bleomycine, d'ischemie-reperfusion cardiaque ou de transplantation hepatiche (Taillé , 2003).

I.4.2.9. Polyphénols

Les polyphénols représentent un ensemble de plusieurs milliers de dérivés que l'on retrouve en quantités assez importantes dans les plantes supérieures où elles exerceraient un rôle de défense contre le rayonnement ultraviolet et les agressions pathogène, notamment en vertu de propriétés antioxydantes. Ils abondent dans de nombreux fruits et légumes et dans certaines boissons telles le thé, le vin et la bière. (Roberfroid , 2008).

I.4.3. Oligoéléments

I.4.3.1. Sélénium

Le sélénium n'est pas un antioxydant en tant que tel, car il ne peut piéger les radicaux libres, mais il joue un rôle primordial comme cofacteur de la GPx. Dans l'alimentation, on retrouvera essentiellement du sélénium organique, lié à un acide aminé, la cystéine. Le sélénium organique est mieux absorbé, il subit une métabolisation hépatique qui conduit à des intermédiaires nécessaires à la synthèse de dérivés physiologiquement actifs comme la GPx. La dose journalière recommandée est de 50- 70 ug/jour. Les aliments riches en sélénium sont, notamment, les noix de Brésil, les brocolis, l'ail.. (Haleng *et al.* , 2007).

I.4.3.2. Cuivre

A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD, la cytochrome C oxydase, la dopamine B-hydroxylase .Cependant, en tant que métal de transition,

il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production d'ERO (réactions de Fenton) et peut, lorsque sa concentration est élevée devenir prooxydant. Les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 2,5 mg. Il est présent dans le son, l'avoine, le seigle, le foie de veau. (**Haleng et al. , 2007**).

I.4.3.3. Zinc

Le zinc est un autre oligoélément essentiel il possède des propriétés antioxydantes documentées dans divers modèles, mais les mécanismes responsables de cette activité restent peu clairs. Du point de vue antioxydant, il semble protéger les fonctions thiol des protéines contre l'oxydation. Il ne possède pas directement de propriétés rédox mais c'est un élément important dans de nombreuses protéines, à la fois au plan fonctionnel (il constitue le centre actif de plus de 200 enzymes) et structurel (notamment par l'intermédiaire de la constitution avec la cystéine et l'histidine des fameux « doigts à zinc »). Le zinc contribue à surexprimer les métallothionéines à activité antioxydante (**Roberfroid , 2008**).

ChapitreII

Le Nickel Et l'Oxyde de Nickel

II. Nickel et Oxyde de Nickel

II.1. Nickel

Le Nickel c'est un élément métallique abondant (**Hopking ,2003**) a été découvert et nommé par Cronsted en 1751 ,est le 24 éme élément en ordre d'abondance naturelle (**kaspirzak , 2003**).

Tableau 01:propriété physicochimique de Nickel (**Lauwerys , 2000**).

Symbole	Ni
Masse atomique	58,71g/mol
Masse volumique	8,9g,cm3
Temperature de fusion	20 °C
Temperature d' ébullition	2732°C

II.1.1. Usage du Nickel

La production mondiale annuelle est estimée à environ 1.10^6 tonnes à partir du minerai sulfuré et du minerai oxydé. La majorité du nickel produit est utilisée pour la production d'alliages (aciers inoxydables et réfractaires, résistant à l'oxydation et à la corrosion.). La qualité de résister à la corrosion de l'acier inoxydable est liée à la présence de chrome. Ils sont notamment utilisés dans les industries chimiques, Des poudres fines de Ni sont utilisées dans le secteur de la métallurgie de pièces moulées frittées. Le Nickel est utilisé également dans la fabrication des utiles d'ustensiles de cuisine et de pièces de monnaie, avec 20 à 30 % de nickel, ces alliages offrent la malléabilité nécessaire à une impression profonde dans la pièce, tout en restant suffisamment résistants et en conservant leur lustre et leur brillance pendant des années (**Lauwerrys , 2000**). Le nickel et les composés de nickel ont de nombreux usages industriels et commerciaux. Le nickel est largement utilisé dans l'industrie du placage, parfois en combinaison avec d'autres métaux. Le nickel et les composés de nickel sont également utilisés dans la fabrication de divers matériaux, notamment, les bijoux et les piles (**Haber et al., 2000**).

II.1.2. Sources d'exposition

II.1.2.1. Sources environnementaux

L'apport mondial de nickel dans l'environnement humain est d'environ 150 000 tonnes (**kaspirzak , 2003**). L'Homme peut être exposé aux composés de Nickel à travers la consommation d'eau et de la nourriture contaminés par les produits métalliques contenant de Nickel même à des faibles concentrations (**Haber *et al.* , 2000**). Le Nickel atmosphérique peut être venir de la poussière dérivée de la désintégration des roches et des sols, les émissions volcaniques et les feux des forêts. (**kaspirzak , 2003**). Mais généralement les concentrations les plus élevés de Nickel dans l'air sont remarquées dans les pays industrialisés.

II.1.2.1 Sources industrielles

Le tabagisme et les implants dentaires ou orthopédiques présentent des niveaux faibles d'exposition au nickel (**Lauwerys , 2000**). Les émissions dues à la consommation de combustibles fossiles. L'exposition professionnelle, se produit principalement dans l'exploitation minière, le raffinage, la production d'alliages, la galvanoplastie et le soudage. L'exposition humaine au nickel se produit principalement par inhalation et par ingestion et est particulièrement élevée chez les travailleurs de la métallurgie du nickel (**kaspirzak , 2003**).

II.1.3. Evaluation toxicologique

II.1.3.1. Cancérogénicité

La cancérogénicité de Nickel a été confirmée et corroborée par des nombreuses études épidémiologiques et des essais biologiques de cancérogénicité chez les animaux. Les études épidémiologiques ont démontré une augmentation de la mortalité due à des tumeurs malignes de poumons et des fosses nasales chez les travailleurs des raffineries de nickel qui ont été exposés de façon chronique à l'inhalation de poussière et de fumées contenant du nickel provenant de grillage et de fusion. Le soudage des alliages de Nickel (exemple: acier inoxydable) peut également être une source de ces fumées. Les données épidémiologiques indiquent clairement que les aérosols de composés de nickel solubles dans l'eau, générés dans les usines d'électroraffinage du nickel (par exemple, à partir du sulfate de Ni^{+2}), sont également cancérogènes pour les voies respiratoires humaines, avec un effet clairement lié à la dose. Le tabagisme a été considéré comme un facteur de confusion faible à modéré (**kaspirzak , 2003**).

II.1.3.2. Toxicité hépatique

L'hépatotoxicité du nickel chez les modèles animales se traduit généralement par diminution significative du foie avec un changement non significatif dans l'indice hépatosomatique. La diminution du poids absolu du foie peut être indicatif à l'effet dégénératif du sulfate de nickel sur le tissu hépatique, car il s'agit d'un site important du métabolisme (**Tikare et al., 2012**).

II.1.3.3. Toxicité pulmonaire

L'exposition répétée aux dérivés organiques du nickel produit une irritation des voies respiratoire (thinite, ulcération de la cloison nasale, bronchite chronique). L'inhalation prolongée ou répétée de certains composés du nickel entraîne essentiellement des signes nasaux et pulmonaire. Il s'agit de réactions inflammatoires, interstitielles, de l'hyperthermie avec une évolution possible vers un emphysème ou une fibrose. L'allergie respiratoire est rare. Des cas d'asthme et de rhinite associés à l'inhalation de sels de Nickel sont cependant rapportés. Une allergie croisée avec le chrome a été évoquée : cas d'asthme aux fumées de nickel et chrome sont décrites dans le secteur de l'électroplaquage. L'exposition à des concentration élevée de ses sels métallique pourrait causer un asthme irritatif (**Lauwerys , 2000**).

II.1.3.4. Hématotoxicité de Nickel

Les études sur les animaux ont montré qu'une alimentation riche en nickel peut avoir des effets négatifs affectant l'hématopoïèse. Les rats implantés ont montré une diminution des globules rouges, de l'hémoglobine et l'hématocrite au moment de la morbidité, y compris une éventuelle anémie induite par le nickel. Le Nickel a induit une lésion directe de l'hématopoïétique les cellules souches entraînant une diminution du nombre d'érythrocyte leucocyte et de plaquettes (**Tikare et al., 2012**).

II.1.3.5. Hypersensibilité au Nickel

Une autre voie d'exposition fréquente au nickel est la voie cutanée. Effectivement, ce métal entre dans la composition de différents alliages utilisés pour la confection de certaines pièces de vêtements ou de joaillerie. Cette omniprésence du nickel en fait l'allergène de contact le plus fréquent la dermatite de contact allergique est le type d'allergie au nickel le plus retrouvé. Elle fait suite à une hypersensibilité nommée hypersensibilité retardée ou réaction cellulaire. Les manifestations cutanées n'apparaissent que 24 à 48h après contact. Les personnes très sensibilisées au nickel sont susceptibles de déclarer un eczéma de contact ou de voir leurs lésions s'étendre lorsqu'elles ingèrent du nickel. (**Bellriado , 2018**)



Figure 04: Lésions cutanés induites par une hypersensibilité au nickel(Bellriado, 2018)

II.1.3.6.Toxicité aiguë

Chez les rats exposés à l'acétate de nickel à la concentration de 500 ou 1000 mg/kg d'aliment, durant six semaines ont montré une réduction de gain du poids corporel, une diminution du taux d'hémoglobine. Cependant, les rats exposés à 100 mg/kg d'acétate de nickel dans l'alimentation ne présentent pas des effets toxiques. D'autres études ont montré que les souris traitées par le chlorure de nickel hexahydraté à raison de 108 à 150 mg/kg de poids corporel, par voie orale pendant huit semaines présentant un oedème des principaux organes, des altérations glomérulaires et une nécrose tubulaire (Haber *et al.*, 2000). Un cas mortel à été signalé; celui d'un enfant ayant ingéré environ 200 mg/kg de nickel (sous forme de sulfate). L'emploi des sels de nickel dans l'industrie peut produire une dermatite, cette lésion appelée eczéma du nickel apparaît surtout chez les travailleurs occupés aux opérations de nickelage. Il s'agit d'un eczéma allergique, (Lauwerys , 2000).

II.1.3.7.Toxicité chronique

On retrouve, quelle que soit la voie d'exposition, une altération de la fonction rénale qui se traduit par une décroissance de la fonction glomérulaire et une hyper albuminurie . D'autres études mettent en évidence une hépatotoxicité avec une modification du poids du foie, une hypertrophie cellulaire, une congestion vasculaire, une dégénérescence des hépatocytes révélée par une augmentation des enzymes hépatiques. En effet, une exposition à long terme par voie

inhalée peut induire un cancer des poumons, des fosses nasales. Certains composés sont incriminés avec force de preuve, notamment les chlorures et sulfates de nickel, et plus généralement les composés solubles mais aussi les oxydes et les sulfides de nickel (**Bellriado , 2018**).

II.2. Oxyde de nickel et ses nanoparticules

Les oxydes de métaux de transition de la première rangée font partie des séries de matériaux les plus intéressantes, présentant de grandes variations dans les propriétés physiques liées à la structure électronique .Tels que l'oxyde de nickel l'un des semi-conducteurs antiferromagnétiques les plus favorisés et constitue la base de la vaste gamme d'applications .En conséquence, il a fait l'objet de nombreuses rechre experimental et theoriques au cours des anné .(**Ghalmi , 2019**).



Figure 05: oxyde de nickel (solostock).

L'oxyde de nickel NiO cristallise dans la structure cubique type NaCl, les ions Ni^{2+} et O^{2-} occupant des sites octaédriques (**Mlouki , 2013**).

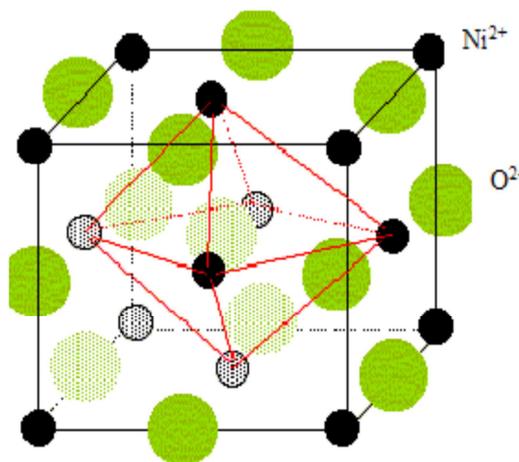


Figure 06: Structure cristalline de l'oxyde de l'oxyde de nickel (**Mlouki , 2013**).

II.2.1. Synthèse de l'oxyde de Nickel

Le NiO il est obtenu par la pyrolyse de composés nickel divalent comme par exemple Ni(OH)₂, Ni(NO₃)₂ ou NiCO₃ (Mlouki , 2013). La préparation des nanoparticule NiO se fait par la décomposition spontanée de Ni(COD)₂ dans CH₂Cl₂ dans la présence de polyvinylpyrrolidone ou par des méthodes de réduction ou évaporation des métaux cependant, les précurseurs organométallique tels que Ni(CO)₄ et Ni(Cp)₂ ont été utilisés (synthetic influence,...). La préparation des nanoparticules de NiO d'un diamètre de 10-15 nm par calcination à l'air de Ni (OH)₂ -NiCO₃ xH₂O. Préparation des nanoparticules NiO bien dispersées, mais la moyenne un diamètre de particule de 30 nm en utilisant polyvinylpyrrolidone Récemment, plusieurs méthodes ont été développé pour synthétiser des nanoparticules d'oxyde de nickel , y compris la pyrolyse par pulvérisation à basse pression , agent de surface - méthode par médiation liquide simple processus par phases et autres techniques (Rahdard *et al.*, 2015).

La Syrthèse de NiO par chauffage de nickel au dessus de 400° C, la poudre de nickel réagit avec loxygène pour coner de Nio. Dans certains procédés industiels, l'oxyde de nickel est réalisé par chauffage du mélange de poudre de nickel et de leau à 1000 C, la vitesse de cette réaction peut être augmentée par l'ajout de NiO. La Synthèse de l'oxyde de nickel par chauffage le métal (Ni) aux présences de l'oxygène (peut produire une poudre gris/noire qui indique la non-stæchiométrie) (Ghalmi , 2019).

II.2.1. Propriété de Nio

L'oxyde de nickel possède un ensemble des propriétés (magnétiques, optiques, électriques et chimiques) qui permettent d'utiliser dans divers application.

II.2.1.1. Propriétés physique et chimique

Quelque carctéristique physic-chimique

Tableau 02:caractéristique physico-chimique de NiO . (CERADEL)

Caractère physico-chimique	Données bibliographique
Poids moléculaire	74,71
Point de fusion(°C)	1984
Température d'ébullition(°C)	Non applicable
Masse volumique apparente	1500-1700 kg/m ³
Limite d'explosivité	non explosif

II.2.1.2. Propriétés électriques et magnétique

Les oxydes de métaux de transition sont caractérisés les valeurs des bandes interdites l'oxyde présenter un caractère isolant ou semi-conducteur. le monoxyde de nickel Ni est un semi-conducteur de type p avec une large bande interdite s'étendant de 3.6 à 4 eV. Ayant une faible conductivité, il n'est pas possible de faire les cristaux stœchiométriques de NiO; ils sont toujours déficients en métal (excès d'oxygène) par rapport à la composition stœchiométrique. Par sa structure de bande, selon le déficit en ions Ni^{+2} est compensé par la présence d'ions Ni^{+3} pour maintenir la neutralité électrique. En outre un électron peut sauter d'un ion Ni^{2+} et ainsi de proche en proche ce qui explique le caractère semi-conducteur du composé non stœchiométrique. La seule conduction possible de NiO doit faire intervenir les défauts de la structure et intervenir par saut. L'oxyde de nickel parmi les métaux de transition qui forme une famille importante par leur application. Leur propriété magnétique est due à la présence d'une bande d'énergie (Chalmi, 2019).

II.2.1.3. Propriétés optiques

Le composé NiO est un semi-conducteur transparent au rayonnement ultraviolet (UV), visible et proche infrarouge. La bande interdite optique a été estimée à environ 4 eV, et l'indice de réfraction à 2.33 à des photons d'énergie 2 eV ont été constatés que les couches minces de NiO qui déposées par voies électrochromiques et dopées avec Cu elles présentent de bonnes propriétés électrochromiques par rapport à la couche NiO non dopée; une variation de la transmittance entre l'état décoloré et l'état coloré est notée à environ 80% dans la gamme de longueur d'onde de 350-600 nm. (Chalmi, 2019).

II.2.2. Applications de NiO

Les perspectives d'utilisation des nanomatériaux en nombre de est aujourd'hui largement étudiée à travers de multiples domaines tels que la biologie, la physique (microsupercondensateur, dispositif électrochromiques) la chimie, cosmétiques, composants optiques, médicaments, la science des polymères, le génie mécanique et la toxicologie. Ces dernières années, les nanoparticules d'oxyde de nickel, ont fait l'objet d'une attention croissante en raison de leurs propriétés (optiques, magnétiques, électriques et catalytiques) associées à des caractéristiques générales telles que la dureté, la stabilité thermique ou la passivité chimique (Garba *et al.*, 2019).

II.2.3. Informations toxicologiques de Nio

II.2.3.1 Toxicité aiguë

A. Inhalation

- NiO sup 10 mg/m³ peut provoquer le cancer par inalation.
- selon l'Union européenne(1991):NiO cancérogène.
- Peut entrainer une sensibilisation par inhalation:Asthme,peut provoquer une atteinte des poumons.
- Peut causer une irritation des voies respiratoires: essoufflement,nausé.

B.Cutanée

- NiO une exposition répétée au produit peut provoquer une sensibilisations:
- Réaction allergique de la peau.
- Peut provoquer une irritation de la peau,dermatite.rougeur. douleur;démangéason.

C-Oculaire

irritation des yeux,rougeur,douleur.

D-Ingestion

NiO est un composé inorganique:cancérogène,les symptômes comprennent douleur abdominale ,nausé il est également toxique en cas d'ingestion,dangereux pour la santé si ingéré en grande quantité:réduction de la production d'erythrocyte (**CERADEL**).

II.2.3.2 Toxicité chronique

Le risque de toxicité grave pour la santé en cas d'exposition prolongée par ingestion (goitre) L'exposition prolongée avec la peau provoque une (dermatite). La superexposition à long terme provoque des effets sur les reins,cœur, poumons, les personnes qui ont des antécédants de sensibilisation cutanée,d'ashme, d'allegie, des difficultés respiratoires Le NiO ou ses emissions peuvent aggraver des affections oculaires préexistant (**CERADEL**).

II.3..Généralite sur les nanoparticules

II.3.1..Définition

Les nanoparticules sont très étudiées actuellement. L'évaluation de leurs risques et de leurs bénéfices s'avère être nécessaire. Le préfix (nano)est utilisé pour un milliardième (un nanometer correspond à 10⁻⁹ mètre). Les nanotechnologies regroupent l'ensemble des savoir-faire permettant d'observer, de manipuler,de fabriquer, de modifier, de façonner la matière

jusqu'à des dimensions voisines du nanomètre leur conférant des propriétés fort différentes des matériaux usuels (**Prosie et al., 2008**).

II.3.2. Origine des nanoparticules

Les NPs sont produites par des procédés naturels tels que des éruptions volcaniques, les tempêtes de sables sahariennes, des feux de forêts ou simplement l'érosion des sols. La proportion de ces particules naturelles avoisine 90%. La présence de NPs dans l'environnement est également imputée à l'homme qui en produit des milliards avec notamment les rejets industriels. Les moteurs des automobiles, en particulier diesel, sont par ailleurs la première source de particules atmosphériques en milieux urbains. Les moteurs d'avion, les pneus, les cigarettes, la destruction des bâtiments sont également des générateurs de NPs (**Buzea et al. , 2007**).

II.4. Les nanoparticules d'oxyde de Nickel

L'étude de la toxicité de Nps de NiO en utilisant plusieurs types de lignées cellulaires a fait l'objet de nombreuses publications. Les effets observés sont divers: la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans les cellules est toujours rapportée. Dans la cellule, les ERO sont naturellement fabriquées lors des processus métaboliques, cependant leur présence en quantités anormalement élevées peut entraîner des dommages parfois irréversibles. Les Nps sont capables d'induire une peroxydation des membranes phospholipidiques. La présence de Nps dans les cellules peut pareillement causer des dommages de l'ADN en altérant les fonctions cellulaires (**Figure 07**). La mort cellulaire, des ralentissements de prolifération et également des modifications dans les cycles cellulaires sont aussi des conséquences rapportées (**Khiari et al., 2018**).

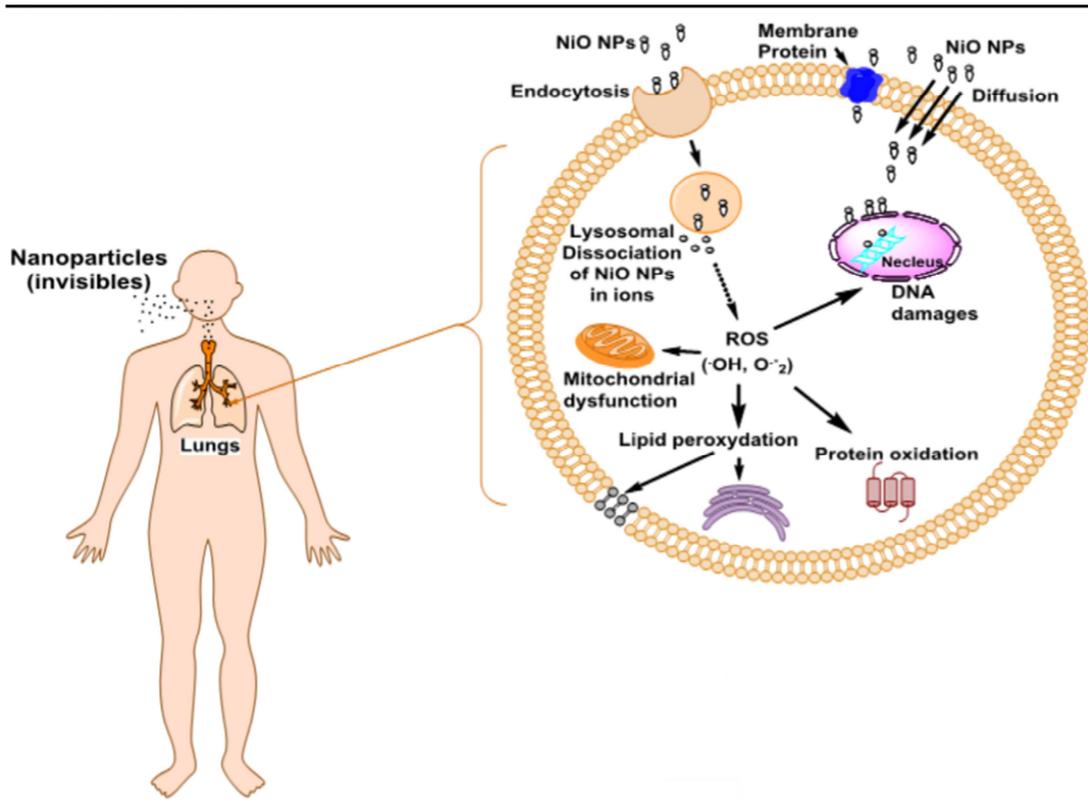


Figure 07: Mécanisme de toxicité des nanoparticules de nickel (Khiari *et al.*, 2018).

Chapitre III

Retama

sphaerocarpa

III. *Retama Sphaerocarpa*

III.1. Famille de *fabaceae*

Les *fabaceae* sont l'une des plus grandes familles d'importance ethnopharmacologie se dégagent d'importants constituants chimiques qui agissent dans le traitement et/ou la guérison de divers systèmes corporels (Macédo *et al.*, 2018). C'est une large famille formée de plantes à fleurs très répandues, ligneuses (zones tropicales) et herbacées (zones tempérées) réparties en trois sous-familles : *Faboideae*, *Mimosoideae*, et *Caesalpinioideae* (Gonzalez *et al.*, 2018) avec certains arbres et arbrisseaux qui collectionnent environ 12 000 espèces distribuées en 400 à 500 genres. Elle se fractionne en plusieurs tribus dans lesquelles les genres sont groupés selon le port de la plante. En Algérie, les fabacées ligneuses occupent une place nécessaire et jouent un rôle important dans l'équilibre du milieu naturel et la combat contre la désertification (Boussehla, 2011).

III.2. Distribution géographique de genre *Retama*

Le genre *Retama* appartenant au genre *Retama* et à la tribu *Genisteae* de la famille des légumineuses *Fabaceae* et de la sous-famille *Faboideae* (Touati *et al.*, 2016). Ce genre est composé en quatre espèces qui ont une aire de répartition géographique allant de la Macronésie et du Sud de l'Europe à l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie) et au Moyen-Orient comme l'Arabie Saoudite et le Yémen (Cullen *et al.*, 2013). Le genre de *Retama* est localisé également dans la région de l'Atlas et du Sahara (Figure 08) où est représenté par trois espèces *Retama monosperma*, *Retama retam*, et *Retama sphaerocarpa* (Akkal *et al.*, 2010).

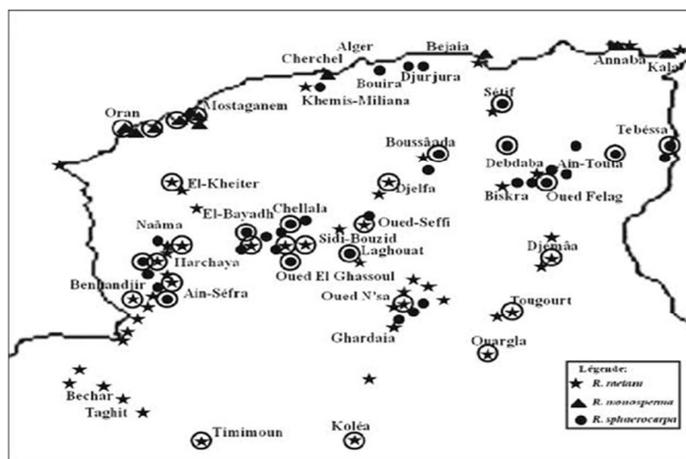


Figure 08 : Distribution géographique du genre de *Retama* en Algérie (Benmiloud *et al.*, 2011).

★ *R. Retam* ▲ *R. monosperma* ● *R. Sphaerocarpa*.

III.3.Description de l'espèce de *Retama sphaerocarpa*

Retama sphaerocarpa est un buisson de 1 à 3 m de haut et qui peut exceptionnellement accéder à 4 m. Son écorce est lisse et débarrassée d'épines, de couleur grise ou gris verdâtre. Les jeunes branches sont quadrangulaires et striées, avec 8 à 10 côtes en forme V (dont quatre plus développés) jonciformes et très flexibles, la tige jouant le rôle d'assimilateur. Au début, ils sont sérico-argenté, puis crouté, avec des vêtements simples faits de poils courts et a postulé. Les branches terminales les plus jeunes agissent comme unités de croissance modulaire, pouvant produire de nouvelles branches à partir des bourgeons axillaires latéraux (Salvador *et al.*, 2013). Les feuilles sont généralement quelque peu déformées et arquées vers le bas, le calice Ob-conique ou sub-globuleux et semblants légèrement gonflé glabre, bilabié avec deux grandes dents supérieures aigues et trois dents inférieures plus petites avec un réceptacle bien développé à la base de 2 à 3.2 mm de long jusqu'à l'extrémité des dents supérieures (Cullen *et al.*, 2013). Son système racinaire est dimorphe, avec à la fois des racines latérales étendues et une racine pivotante principale les racines latérales sont finement ramifiée et pouvant atteindre 15m de long, tandis que la racine pivot est généralement dépourvue de fines ramifications et peut dépasser 30m de profondeurs (Prieto *et al.*, 2010). La *Retama sphaerocarpa* présente des fleurs hermaphrodites, jaunes, jaunâtres, disposées en grappes latérales répartie sur courts racèmes, (EL fennoun, 2012). Elle fleurit d'avril à juin, selon la localité et l'altitude. La pollinisation est entomophile, principalement par les abeilles et les fourmis. Le fruit est une légumineuse ovoïde d'environ 5-8 mm, de couleur jaune paille, contient presque toujours une seule graine qui est vert foncé. (Salvador *et al.*, 2013).



Figure09 : Image de *Retama sphaerocarpa* (Salvador *et al.*, 2013).

III.4.Systématique

Selon Quezel et santa (1962), les rétames sont classés dans le taxon suivant:

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotylédones

Ordre :Fabales

Super famille : Légumineuses

Famille : Fabacées

Sous-famille : papilionacées

Genre : Rétama

Espèces : *Rétama shpaerocarpa*

III.5.Intérêtdu genre *Retama*

III.5.1.Intérêt écologique

Les arbrisseaux de *Retames* créent les barrières naturelles qui empêchent l'affaiblissement des écosystèmes et la désertification. Ils sont impliqués dans les programmes de végétation consacrés à la zone méditerranéenne semi-aride afin d'améliorer la fixation et la fertilisation des sols(**Benmiloude, 2011**).Les *Retames* s'adaptent aux conditions les plus extrêmes de sécheresse et de salinité grâce à leur morphologie et leur structure exomorphique(**Mahnane, 2010**).*Retama sphaerocarpa* est un élément clé pour prévenir les processus d'érosion et la désertification en zone semi-aride et aride .Elle a la capacité de fixer l'azote en raison de sa symbiose au niveau de ses racines avec les rhizobiums qui sont des bactéries du sol qui peuvent fixer le N² dans les nodules formés avec la plante. L'arbrisseau *Retama sphaerocarpa* a des conséquences bénéfique (édaphique et physique) sur la végétation sous étagée .D'autre part, il y a une relation de mutualisme entre *Retama sphaerocarpa* et les herbes sous étagées, elle leur fournit un microenvironnement favorable et les herbes lui assurent une matière organique labile (**Boussahel, 2011**).

III.5.2.Intérêt et activité pharmacologique

Divers activités biologiques ont attribuées à *Retama sphaerocarpa*, les flavonoïdes tels que rhamanazine extraits des parties aériennes de cette plante ont montré une activité cytotoxique et ont produit une inhibition de la croissance cellulaire proportionnelle à la dose (**Lpoez-Lazaro et al., 2000**).Les *Retames* possèdent plusieurs vertus thérapeutiques, grâce

aux alcaloïdes et flavonoïdes qu'elles renferment dans ces organes (tige feuille et rameaux)(Selmi,2015).Les rétames renferment une large gamme de produits pharmaceutiques qui ont des activités ocytocique, utéro-tonique, anti-arythmique, diurétique, hypoglycémique, antipyrétique, hypotenseur, stimulant respiratoire et dépressif avec des propriétés hallucinogènes. Ces activités sont associées à la présence notamment dequinoliadine alcaloïdes. Au niveau des molécules, la quinolizidine affectent l'acétylcholine nicotinique et muscarinique et les récepteurs Na^+ /les chaîne K^+ en outre, l'anagryne et l'ammodendeine sont mutagènes et provoquent la maladie du veau travers si les animaux gestion se nourrissent des plantes riches en ces alcaloïdes, Ces activités pharmacologiques sont des conditions importantes pour le rôle de la quinolizidine alcaloïdes comme composés de défense chimique contre les herbivores et dans une moindre mesure, contre les micro-organisme et des plantes concurrentes(El-shazly *et al.*, 1996).Les alcaloïdes identifiés dans le *Retama Sphaerocarpa* sont connus pour leur application thérapeutique. En plus des anti-inflammatoires et des propriétés hypoglycémiques, la cytosine a été proposée pour prévenir la mort des cellules neuronales dans les maladies neurodégénératives, telles que la maladie de Parkinson et les maladies d'Alzheimer. De la rétamine a également été signalée d'avoir de l'anticholinestérase (une enzyme liée à la maladie d'Alzheimer) tandis que la spartéine présente une large gamme des propriétés pharmacologiques, telles qu'antihypertenseur, ocytocique, diurétique, anesthésie locale. (Touati *et al.*, 2015).

III.5.3.Intérêt industriel et économique

Les rétames sont considérés comme un excellent fourrage et leur bois est utilisé en chauffage. Ils sont riches en fibre, dont la longueur moyenne atteint 1,93mm, ils pourraient donc être valorisés dans l'industrie papetière.Les *Retames* sont aussi des plantes ornementales en raison de leurs multiples fleurs odorantes. Les graines des *Retames* possèdent des léctines, protéines allergènes, utilisées par la plante dans les mécanismes de défense contre les insectes, ce qui pourrait donc être valorisé dans l'industrie des bioinsecticides(Mahnane, 2010). Les espèces de *Retama* sont également utilisées dans les pâturages pour fournir de l'ombre et un abri aux animaux, en particulier lors des journées chaudes et sèches(Gonzalez *et al.*,2018).

III.6.Composition chimique

La composition chimique des différents extraits des tiges, fleurs et des graines de l'arbuste *Retama Sphaerocarpa* a montré qu'elles renferment :

III.6.1. Les acides gras

Ce sont la principal famille de composés dans les différents parties de la plante, représentant entre 37,1 et 85,1% du total des composé détectés, suivi des stérols dans les tiges et des mono-glycérides dans les graines. Les acides gras saturés libreobservéssont :les acides Hexadécaniqueet l'octadécaniquesont les principaux acides gras saturés libre trouvés dans *Retama sphaerocarpa*à côté .des acides gras dodécanoiques(C12), tétracosanoiques(14) qui ont essentiellement concentré dans les tiges, etDes petites quantités d'acides gras insaturés libres ont été détectées dans les tiges et les graines de *Retama sphaerocarpa* comme hexadéc-9-énoïque (Touati *et al.*, 2015).

III.6.2.Les alcaloïdes et les flavonoïdes et les isoflavones

L'extrait méthanolique de *Retama sphaerocarpa* a permet d'identifier une large série de substances naturelles dont la plus importance est les isoflavones et de leurs dérivés le composé qui présent le pourcentage le plus élevé est le dérivé de diadézine (Boussahel, 2010). D'autre étude indique la présence de plusieurs flavonoïdes principalement les flavones. (Louaar *et al.*, 2005,2007) ainsi que d'autre flavonoïdes comme : flavonol rutin (Hamouche *et al.*, 2017).

Tableau 3 : composée contenus dans l'extrait méthanolique de *Retama sphaerocarpa*(Louaar *et al.*, 2005, 2007)(Hamouche *et al.*, 2017).

Isoflavones	Flavonoïdes
Daidzéine	Flavone
Génistéine	Flavonol rutin
Glycitéine	Lutéoline
Ephedroidine	L'apigénine
Daidzéine-glucosylmalonate	Rutin
Génistéine8-C-glycoside	Daidzin

Au total 31 alcaloïdes ont été enregistrés dans les extraits de différentes parties de plantes (tige, feuille, et grain) des trois espèces de *Retama*, (El-Shazly *et al.*, 1996).des alcaloïdes de type quinolizidin, ainsi que cytosine, retamine, spartéine, ammondendrine, 5-6

déshydrolupanine, lupanine, anagrine, La sphaerocarpine, Les quinolizidiniques. (Boussahel, 2016).

III.6.3. Mono-glycérides

Les mono-glycérides constituent la deuxième grande famille de composés lipophile dans les grains de *Retama sphaerocarpa*. Le profil des mono-glycérides des grains est composé principalement deux mono-glycérides saturés (1-mono-hexadécanoïne et 1-mono-octadécanoïne) et deux insaturés (1-mono-octadécinoïne et 1-mono-octadécénoïne) (Touati *et al.*, 2015).

III.6.4. Les stérols

Ils représentent la deuxième classe la plus importantes des composés présents dans les tiges de *Retama Sphaerocarpa* comme : Campesterol, Stigmasterol, β -sitosterol (Touati *et al.*, 2015).

III.6.5. Alcools à longue chaînes

Des quantités mineures d'alcools à longues chaînes (LCAA), ont été aperçues dans les deux parties morphologiques de *Retama Sphaerocarpa* comme : Hexadecan-1-ol, Octadec-9-en-1-ol, Octadecan-1-ol, Eicosan-1-ol, Docosan-1-ol, Octacosan-1-ol (Touati *et al.*, 2015).

III.6.6. Cyclitols

Le pinitol a été isolé de cladodes et quantifié dans *Retama sphaerocarpa* à 1,9% (González *et al.*, 2018).

III.7. Usage de *Retama Sphaerocarpa*

- Les plantes du genre *Retama* sont utilisées en médecine traditionnelle du bassin méditerranéen comme émétique, purgatif et vermifuge.
- Des cladodes en poudre de *Retama Sphaerocarpa* fusionnés à du miel, sont administrés par voie orale comme émétique, et une décoction de cladodes constitue un lavement utile utilisé comme purgatif et vermifuge.
- Une décoction de racine de *Retama sphaerocarpa* est utilisée pour traiter le diabète, tandis que les racines sont employées comme remède contre la diphtérie.
- On utilise la curiethérapie dans la partie occidentale de la province de Grenade (Andalousie, Sud de l'Espagne), une infusion ou décoction de cladodes et de fleurs est appliquée en cataplasme pour soulager les douleurs articulaires, les contusions et les luxations, aussi pour soigner les blessures et verrues cutanées.

- De plus, en administration orale, une décoction de cladodes et de fleur est utilisée dans le traitement du diabète et de la fièvre
- L'ingestion de fruits frais et employer pour enrayer la diarrhée ; et une infusion de fleurs pour traiter les maladies du foie (*Gonzalez et al .2018*).
- Une décoction s'emploi, en frictions, contre le prurit et la gale humaine et animale.
- Les racines de cette espèce sont très utilisées, comme abortif, en fumigations ou en lavements vaginaux.
- La poudre des feuilles et des fleurs séchées de l'espèce est utilisée comme cicatrisant dans les circoncisions, comme vulnéraire, antiseptique et sédatif dans les soins locaux des plaies, blessures, ulcérations de la peau et boutons purulents. (*Boussahela, 2011*).

Partie pratique

Matériel et méthode

Matériel et méthode

Les expérimentations effectuées dans cette étude ont été accomplies dans le laboratoire de recherche sur les applications et molécules bioactive est le laboratoire de toxicologie de département de biologie.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel animal

Les souris (*Mus musculus*) C'est un mammifère de l'ordre des rongeurs, le plus utilisé dans la recherches sur les maladies et les tests de toxicité (Gourari *et al.*, 2017). Des souris males provenant du centre d'élevage de l'institut de Pasteur d'Alger ayant un poids compris entre 27 et 37 g. Une partie des expérimentations (élevage, traitement et tests comportementaux) a été réalisée au niveau de l'animalerie de la faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie. Pour respecter leur cycle biologique, les souris ont été mis sous des conditions de température et d'hygrométrie ambiante. Les cages ont été nettoyés et la litière changée un jour sur deux. Les souris ont été soumis à une période d'adaptation d'un mois. Ils étaient répartis en 4 lots de 05 souris chacun et nourris avec du pain et avaient un accès libre à l'eau (biberons remplies d'eau de robinet).

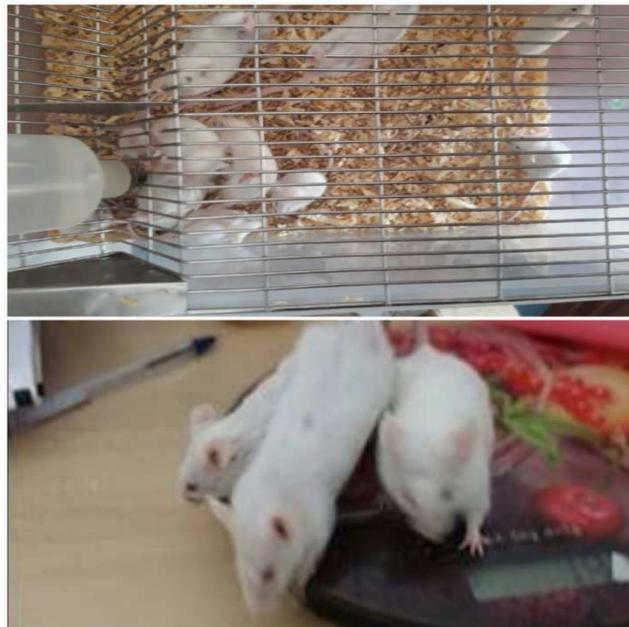


Figure 10 : souris *mus musculus*

I.1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué par les feuilles de *Retama sphaerocarpa*. Les feuilles ont été séchées à l'air libre jusqu'au poids constant et rendue sous forme de poudre à l'aide d'un broyeur de laboratoire. *Retama sphaerocarpa* utilisé dans cette étude provenait de la région de SERDIES au sud-ouest de la wilaya de Tebessa. L'identification du genre et de l'espèce a été faite par Mme Hioun (Enseignante de Botanique à l'Université de Tébessa) sur la base de la Clé de QUEZEL et SANTA 1963.



Figure 11 : *Retama sphaerocarpa*



Figure12 : localisation géographique du *Retama sphaerocarpa*

I.2.Méthodes

I.2.1.Extraction d'extrait méthanolique de *Retama spaerocarpa*

Après la récolte les échantillons ont été préparés pour l'extraction .

I.2.1.1.Nettoyage et séchage

Les feuilles ont été débarrassés des débris puis soigneusement nettoyées avec de l'eau du robinet puis séchée dans un endroit bien aéré et a l'abri de lumière.

I.2.1.2.Broyage et tamisage

Dans un broyeur électrique le matériel végétal a été broyé puis tamisé jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène cette texture fine permet d'augmenter la surface de contact entre le solvant et la matière végétal et supposé donner un rendement d'extraction très importante.

I.2.1.3.Stockage

La poudre obtenu a été stockée dans une boite opaque fermée hermétiquement afin d'éviter d'éventuel dégradation par l'humidité ou la lumière.

I.2.1.4.Extraction

Afin d'extraire les principes actifs de la plant testé une extraction solide/liquide (macération) a été réalisée le meilleur rapport d'extraction est de 1/10 (p/v) ainsi le protocole adapté et le suivant :

- 100g de poudre a été macéré dans 1000ml du méthanol.
- Le mélange et soumis a une agitation mécanique a température du laboratoire pendant 72h.
- La macération a répétée 3 fois avec renouvellement du solvant.
- L'extrait a été récupéré après filtration du mélange a l'aide d'un papier filtre.
- le méthanol est éliminer du filtre par évaporation rotative dans un rotavapor (BUCHI).
- L'extrait a été conservé pour utilisation ultérieur.



Retama sp en poudre



Maceration



Filtration



Evaporation du solvant

Figure13: Etape de l'extraction

I.2.1.5 La dose létal DL_{50} *Retama sphaerocarpa*

D'après les résultats des recherches précédentes de **Boussahel** (2011,2016) la DL_{50} obtenu était de $(3479,05 \pm 228,78 \text{ mg/kg})$ avec un intervalle de confiance de 95% de $(3250,27-3707,84 \text{ mg/kg})$ selon la classification de **Diezi**(1989), qui considère comme légèrement toxique les substances dont la DL_{50} se situe entre 500 et 5000 mg/kg de poids corporel, et donc la DL_{50} de *Retama sphaerocarpa* se situe dans cette fourchette, étant légèrement toxique en cas d'ingestion aigue

I.2.1.6. Préparation des solutions

- NiO NPS une dose de 10 mg/kg : la solution préparée 20 mg dissoute dans 1 ml d'eau physiologique.
- *Retama sphaerocarpa* une dose de 250mg/kg : la solution préparée 100g de l'extrait de *Retama* dissoute dans 1 ml de l'eau physiologique.

I.2.1.7. Calcul de rendement

Le rendement de la plante en extraits est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter. (Kadi *et al.*, 2016)Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante ;

$$R = \frac{\text{poids de l'extrait en (g)}}{\text{le poids de la matière végétal utilisé en (g)}} \times 100$$

R= rendement de la matière essentielle de *Retama sp* en pourcentage

I.2.2. Traitement

Un effectif total de 20 souris a été utilisé au cours de ce protocole. Les souris ont été réparties en 4 lots de 5 souris chacun. Les différents traitements (Np-NiO, EM-Rs et mélange) ont été administrés par voie orale en fonction de poids à l'aide d'une micropipette comme le résume le tableau suivant :

Tableau 4: Traitement administré avec dose

N° du lot	Nature de lot	Produit administré	Dose administrée
1	Témoin	Eau physiologique	0.5ml
2	Traité par les Np-NiO	Np-NiO en solution	10mg/Kg (Dumala et al.2017,2018))
3	Traité par EMRs	<i>Retama sphaerocarpa</i> en solution	250mg/Kg (Boussahel. et al 2018)et(Algandaby et al 2010).
l.	EMRs+Np-NiO	EMRs+Np-Nio en solution	250mg/kg+10mg/kg



Figure 14 : Administration des différents traitements par gavage

I.2.3.Sacrifice et prélèvement des foies

Après 30 jours de traitement, les souris des 4 groupes ont été sacrifiées par décapitation. Après dissection, les foies ont été récupérés et conservés dans un papier aluminium au congélateur a -45°C jusqu'à l'analyse.

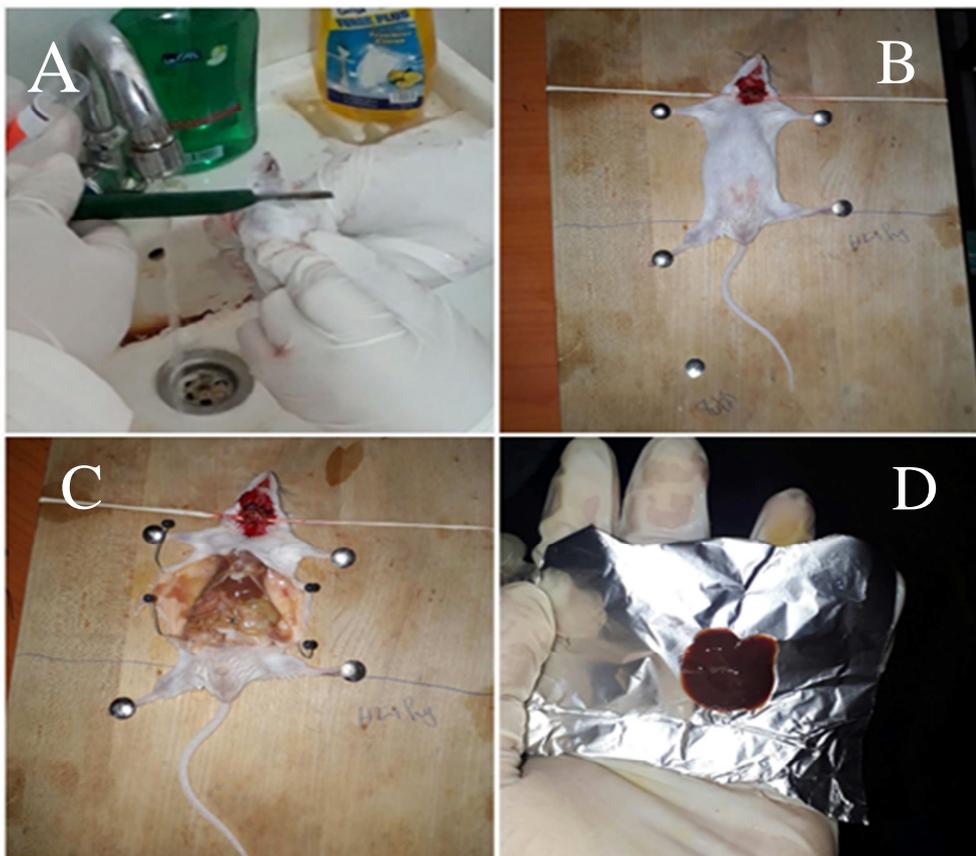


Figure15 : Sacrifice des souris

A/ Décapitation, B/ Préparation de la souris, C/Dissection, D/Prélèvement de foie

II. Testes comportementaux

Par l'utilisation de testes comportementaux sur des souris témoins et ceux soumis aux apparentes traitements par les nanoparticules de Nickel et l'extrait méthanolique de *Retama sphaerocarpa* on peut déterminer l'état de vigilance ou les capacités psychomotrices, d'autre permettant d'évaluer l'état de stress, l'état psychique de la souris. Dans notre étude l'utilisation des souris males est justifiée par le fait que, contrairement aux femelles, ils ne sont pas soumis à des cycles hormonaux qui pourraient induire des variations de comportement (**Rammal, 2018**). Ces tests comportementaux ont été effectués après les 30 jours du traitement. Selon les moyens disponibles dans notre faculté on a effectué une série de tests :

- Piscine de Morris (PM).
- Open-Field (OF).
- Labyrinthe Classique (LC).
- Dark-Light (D-L).

Les tests sont effectués durant les derniers 05 jours du traitement. Tous les tests ont été réalisés pendant la journée. Est les résultats sont prise dans un cailler.

II.1. Test de piscine de marris

- **Principe du test**

Le but de ce test est d'évaluer la capacité des souris à mémoriser et à gérer l'information spatiale pour échapper a une situation aversive (l'eau d'un bassin) en atteignant un refuge le plus rapidement possible.

- **Dispositif du test**

Le dispositif expérimental est constitué d'un bassin circulaire en plastique (50 cm de diamètre, et 30 cm de profondeur) rempli d'eau à une hauteur de 15 cm. La température de l'eau est relativement basse (20°C) conférant à ce test un caractère aversif pour l'animal. Une plateforme de 15 cm de diamètre et de couleur ultra-transparente est disposée à l'intérieur de l'enceinte. Cette plateforme est située en relief de la surface de l'eau pour être visible à l'animal. Des repères : plus, moins, carré rose et carré blanc sont répartis aux quatre coins de la piscine, pour permettre à l'animal de se diriger facilement vers la plateforme (Figure 16). La position de la plateforme reste inchangée (**Daubié, 2011**).



Figure 16: Dispositif du test de piscine de Morris

- **Procédure du test**

Le test a été réalisé sur 4 jours consécutifs d'entraînement suivis d'un test de mémorisation le 5ème jour. Du 1er au 4ème jour, les entraînements se déroulent durant une période de 1 à 03 min (la durée de résistance dans l'eau des souris). La plateforme située en relief est visible et l'eau est limpide. Ces 4 jours sont reversés uniquement à initier les animaux à ce test sans prendre de mesures. Le protocole consiste à localiser la plateforme dont la position reste inchangée (ici dans le quadrant ouest). Chaque souris subit une séance quotidienne dans laquelle l'animal est déposé dans l'eau face à la paroi depuis un point de départ déterminé. L'essai se termine lorsque la souris atteint la plateforme ou après l'écoulement des 3 min. Une fois la plateforme trouvée, les souris y restent pendant 20 secondes. Le 5ème jour, les souris subissent un test de rétention dans le bassin de 60 secondes. Le protocole consiste à rendre la plateforme invisible (par l'ajout du lait en poudre pour opacifier l'eau) et de mesurer principalement le temps passé dans le quadrant qui contenait la plateforme au cours (le quadrant ouest) ainsi que le nombre de passages au-dessus de l'emplacement exact où se trouvait la plateforme le plus rapidement possible.

- **Variable mesure** : le temps parcouru par les souris pour atteindre la plateforme.

II.2. Test d'Open field

- **Principe du test**

L'Open field a souvent été utilisé pour mesurer les déplacements de la souris et déterminée le comportement moteur ainsi que les capacités psychomotrices (Houari,2015).

- **Dispositif du test**

L'open field est constitué d'une enceinte carrée (50 ×50× 40 cm) qui se divise en 8 zones de surface égales.



Figure 17 : Dispositif expérimental du test d'open field

Procédure du test

Toutes les souris traitées par les différents traitements sont testés, en une seule séance de 3 à 5 minutes. L'essai commence après la mise en place de souris dans un des quatre coins (coin gauche de l'enceinte : Carré n°1) (Figure 17), la tête orientée vers le angle Une souris troublée évite le centre du terrain, et reste à la périphérie et ses déplacements sont observé pendant 5 minutes pour mesurer l'espace traversée, après chaque essai l'enceinte et nettoyée avec l'éthanol 10%.

- **Variable mesure**

Les variables mesurés sont les suivantes :

Le nombre de cases traversé (locomotion).

Le nombre de redressements.

Le temps de latence.

II.3. Test de labyrinthe classique

- **Principe du test**

Pour éclaircir le comportement mémorique et de dressage en cas de l'animal stressé, nous avons procédé à la réalisation d'une expérimentation d'anxiété (test de labyrinthe classique) (Movits *et al.*, 2005).

- **Dispositif du test**

Ce test est réalisé dans une enceinte d'aspect carré (60×60×35 cm) en bois comportant nombreuses couloirs en labyrinthe de taille identique (25×35 cm) de grandeur changeante selon le croisement, comportant pareillement une zone de démarrage et une autre d'arrivée. Ce labyrinthe est laissé sur une table d'hauteur de 90 cm (Movits *et al.*, 2005).



Figure 18: Dispositif expérimental de test de labyrinthe classique

Procédure

Les souris montrent généralement un passage de brève durée dans le labyrinthe entre le point de démarrage et celui d'arrivée. Le comportement d'exploration se traduit par un temps supérieur passé dans les centres de voies de couloirs, qui seront considérés comme anxiogènes pour la souris stressée ; alors que le comportement de fuites s'observe lorsque la souris passe plus de temps dans le point de démarrage ou les angles (Movits *et al.*, 2005).

- **Variable mesure**

Pour estimer le degré d'anxiété des souris on mesure le temps passé dans les différentes parties du dispositif. De ce fait, le principe du test repose sur le fait qu'une souris qui traverse plus de temps

dans les angles ou les places de départ primitif est considéré comme anxieux. La durée du test est de 5 à 15 min et entre chaque essai le labyrinthe est nettoyé avec de l'éthanol 10%

II.4.chambre claire/obscur

- **Principe de test**

Le test lumière/obscurité est basé sur l'aversion innée de souris vers des zones fortement éclairées et sur le comportement exploratoire des souris en réponse à des facteurs de stress légers, c'est-à-dire un environnement lumineux. Il est destiné à évaluer le niveau d'anxiété chez l'animal (Bourin, 2002).

- **Dispositif du test**

la boîte claire/obscur est constituée de deux enceintes de forme carrée de dimensions (25×25×25 cm) l'une peinte en noire et fermée, l'autre ouverte sur le dessus et éclairée par une peinture blanche, les deux enceintes communiquent entre eux par une ouverture



Figure 19: Dispositif expérimental du test

- **Procédure du test**

Les souris ont été indépendamment placées dans le compartiment sombre. Leur comportement est enregistré pendant 5 minutes en prenant en considération le nombre d'entrées dans le compartiment lumineux et le temps passé dans ce dernier (Rammal, 2018). L'animal est observé durant 10 minutes, afin de mesurer le temps passé dans chacun des compartiments. Généralement, les animaux passent plus de temps dans le compartiment sombre que dans le compartiment clair considéré comme un milieu aversif (Kilfoil *et al.*, 1989).

- **Variable mesures**

- Temps total passé dans compartiment lumineux.

I.5. Analyse statistique des résultats

Les quantités des métabolites (protéines, glucides et lipides) sont déterminées à partir des courbes d'étalonnage en utilisant Excel.

L'analyse statistique des données est effectuée par le test ANOVA à un seul facteur suivi par le test de Tukey pour la comparaison entre les différents lots entre eux. Cette analyse a été faite grâce au logiciel Minitab (Version 16).

Les différences sont considérées comme:

- Significative lorsque ($P < 0,05$).
- Hautement significative lorsque ($P < 0,01$).
- Très hautement significative lorsque ($P < 0,001$).
- Avec p : seuil de signification.

III. Dosage des métabolites

III.1. Préparation de l'homogénat

Le dosage des différents paramètres biochimiques (protéines, glucides et lipides) a été réalisé selon le procédé de Shibko *et al.* (1966) tel que c'est présenté dans la (**Figure23**) Après homogénéisation aux ultrasons du tissu hépatique conservés dans du TCA, une centrifugation (5000 tours/min pendant 10 min) permet d'obtenir un premier surnageant qui servira pour le dosage des glucides. Ce premier culot est récupéré dans 1 ml d'un mélange éther/ chloroforme (V/V) et une deuxième centrifugation (5000 tours/min pendant 10 min) permettra de récupérer le surnageant II qui servira au dosage des lipides. Le culot II servira ensuite pour le dosage des protéines après addition de 1 ml de NaOH (0,1 M).

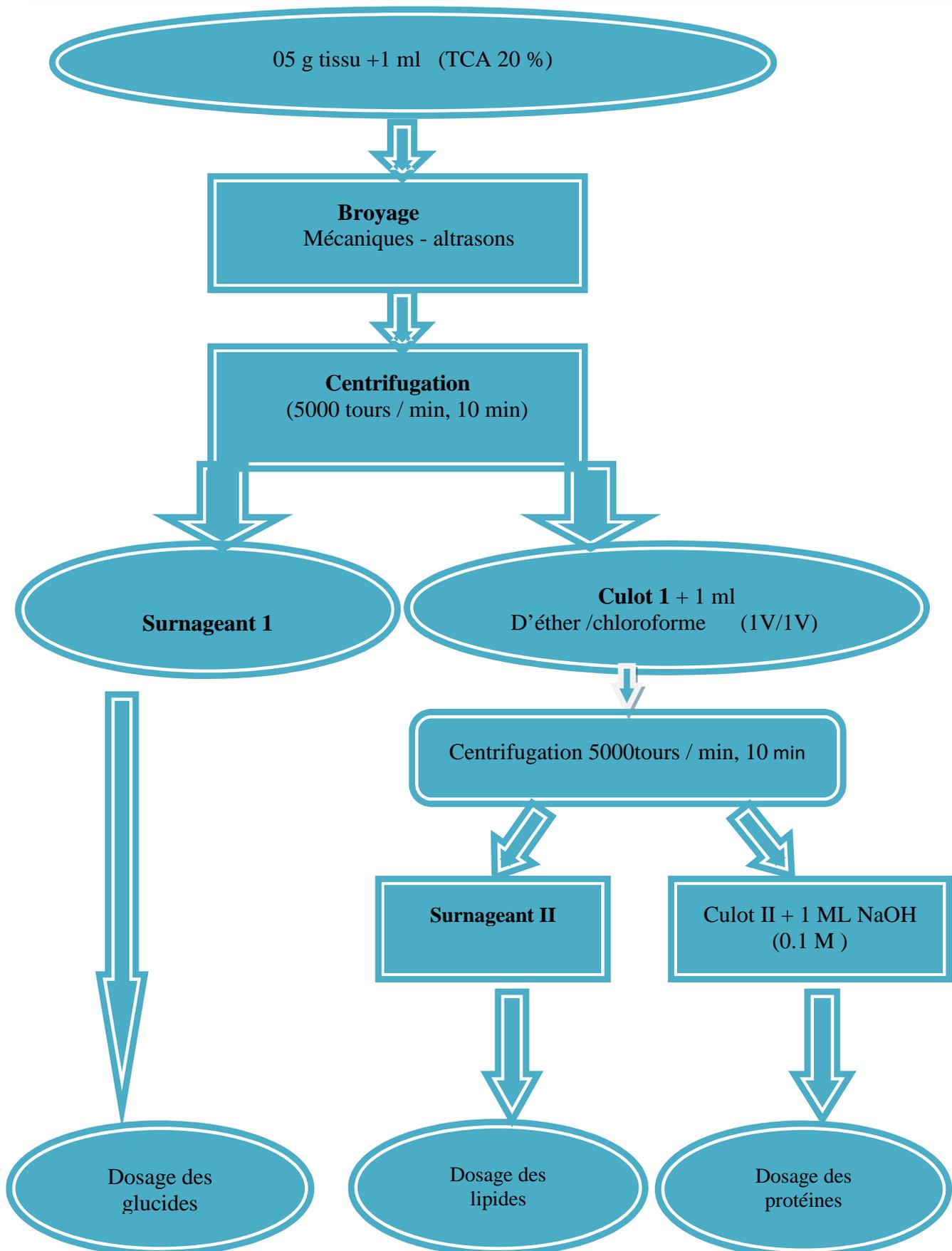


Figure 20 : Extraction et dosage des métabolites chez les souris.

III.2. Dosage de glucides

Le dosage des glucides a été effectué selon Duchateau et Florkin (1959). Cette méthode utilise l'anthrone comme réactif (150 mg d'anthrone, 75 ml d'acide sulfurique et 25 ml d'eau distillée) et une solution mère de glucose (1g/l) comme standard. La méthode consiste à additionner à une fraction aliquote de 100 µl de surnageant des différents échantillons, 4 ml de réactif d'anthrone. Après chauffage du mélange dans un bain marie (80°C pendant 10 min) une coloration verte se développe. L'intensité de la coloration mesurée à une longueur d'onde de 620 nm est proportionnelle à la concentration des glucides présente dans l'échantillon. (**Annexe 01**)

III.3. Dosage des protéines

Les protéines ont été quantifiées selon les méthodes de Bradford (1976) qui utilise le bleu brillant de coomassie G 250 (BBC) comme réactif et l'albumine de sérum de bœuf (B.S.A) comme standard. La gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution mère de B.S.A (1 mg/l) et le B.B.C (100 mg de BBC + 50ml d'éthanol). Agitation pendant 2 heures. 100 ml d'acide orthophosphorique sont alors ajoutés et le tout est complété à 1000 ml avec de l'eau distillée. Le dosage des protéines a été effectué dans une fraction aliquote (100 µl). Les absorbances ont été obtenues grâce à un spectrophotomètre et la lecture est réalisée à une longueur d'onde de 595 nm. (**Annexe 02**).

III.4. Dosage de lipides

Le dosage des lipides a été effectué selon la méthode de Goldsworthy *et al.*, (1972). Cette méthode utilise la Vanilline comme réactif (0,38 g de Vanilline, 195 ml d'acide orthophosphorique à 85% et 55 ml d'eau distillée) et une solution mère de lipides (2,5mg/ml) comme standard. Un millilitre (1 ml) d'acide sulfurique (98%) a été additionné aux échantillons est additionné. Après agitation, les tubes ont été chauffés dans un bain marie (100° C pendant 10 min). 200 µl sont ensuite prélevés de chaque tube et 2,5 ml de réactif a été ajouté. Les absorbances sont lues après 30 min d'obscurité à une longueur d'onde de 530 nm (**Annexe 03**).

III.5. Formule de numération sanguine (FNS)

L'hémogramme ou numération de la formule sanguine (FNS) permet de comptabiliser tous les éléments du sang : globules rouges (hématies), globules blancs (leucocytes) et les plaquettes. Cet examen permettant d'apprécier des paramètres qualitatifs du sang, est l'un des examens biologiques les plus courants prescrits dans le cadre d'un bilan sanguin. Il permet d'évaluer l'état de santé général du patient. Il est également prescrit en cas de suspicion

d'anémie ou d'infection, ou pour vérifier l'état nutritionnel et l'exposition à des substances toxiques.

L'hémogramme automate est réalisé par l'appareil électro médical (compteur coulteur); il ne demande aucune intervention manuelle pour l'aspiration de l'échantillon. Les dilutions, les mesures ; les calculs, l'affichage et la sortie des résultats. La dilution se fait automatiquement à partir d'un sang total prélevé sur EDTA dans un liquide isotonique et tamponné, dépourvu de particules.

Résultats et discussion

IV. Résultats

IV.1. Effet sur les paramètres de croissance des souris

IV.1.1. Effet sur le gain de poids

Les valeurs moyennes du gain du poids (mesuré entre le dernier et le premier jour du traitement) chez les souris témoins est traités par le Nps-NiO et les EMRs sont représentées dans la (**Figure21**). Nos résultats montrent que l'administration des Nps-NiO diminue de façon significative ($p < 0,05$) le taux moyen de gain de poids (g) en comparaison avec les souris témoins (2,1 g vs 8,2 g). L'administration de l'EMRs ajuste légèrement les moyennes du gain du poids comparées aux témoins (8,2 g vs 3,9 g). En revanche La combinaison des EMR et des Nps-NiO est associée à une diminution significative du gain de poids des souris en comparaison avec les témoins: 2,5 g vs 8,2 g).

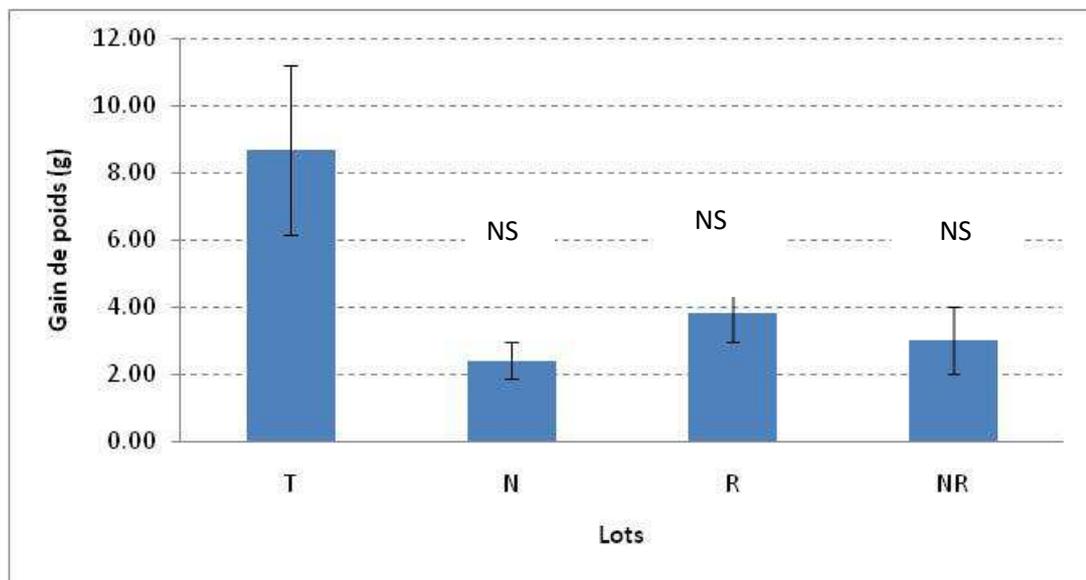


Figure 21: Variations du gain de poids (g) chez les souris témoin et traités

NS : non significatif S : significatif T : témoin N : nano particule R : Retama

IV.1.2. Effet sur le poids relatif du foie

La (**figure 22**) présente la moyenne du poids relative du foie enregistré chez les souris témoins est traités par le Nps-NiO et l'EMRs. Nos résultats montrent que l'administration de Nps-NiO augmente significativement le poids relative du foie comparée aux témoins (5,80 g vs 3,50 g). L'administration de l'EMRs augmente également de façon significative le poids relative du foie en comparaison avec les souris témoins (5,10 g vs 3,50 g). La combinaison de l'EMRs et des Nps-NiO est associée à un poids relative du foie identique à celui du lot traité par les EMRs seul (5,10 g).

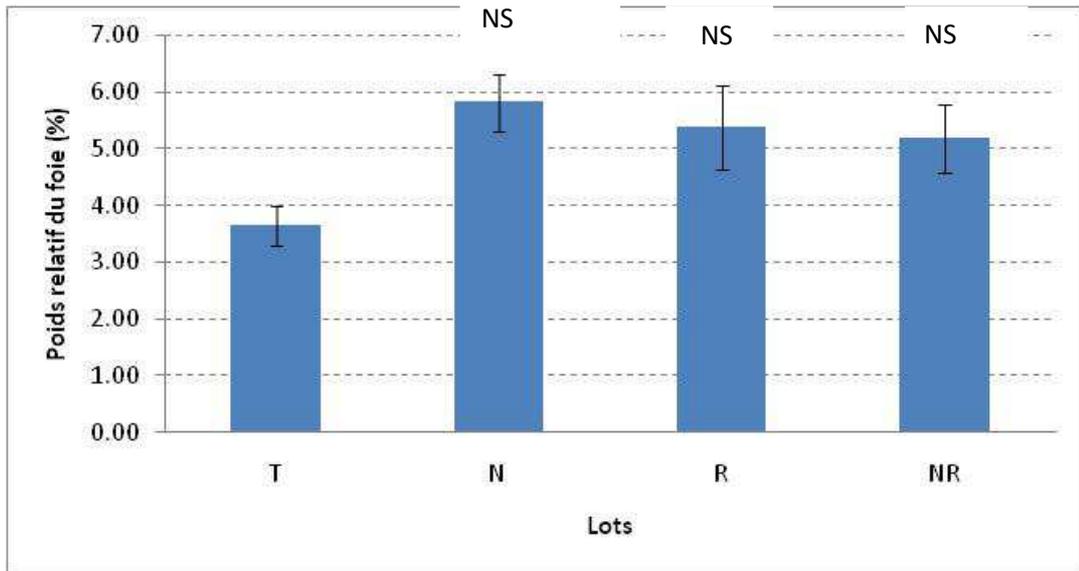


Figure 22: Variation de poids relatif du foie % chez les souris témoin et traités

IV.2. Effet des Nps- NiO et EMRs sur le comportement des souris

IV.2.1 Effet sur le test de Clair/Obscur

La (Figure 23) présente le moyen de temps dans l'espace sombre chez les souris témoins et les souris traité par les Nps-NiO .Les résultats montrent l'administration des Nps-NiO diminue le temps moyene($p < 0,05$).dans l'espace sombre par rapport aux témoins (300s vs 400s) La combinaison EMRs+Nps-NiO n'exerce aucune modulation de moyenne de temps dans l'espace sombre (300s).Le groupe traité par le EMRs seulement reste (360s) presque identique aux témoins.

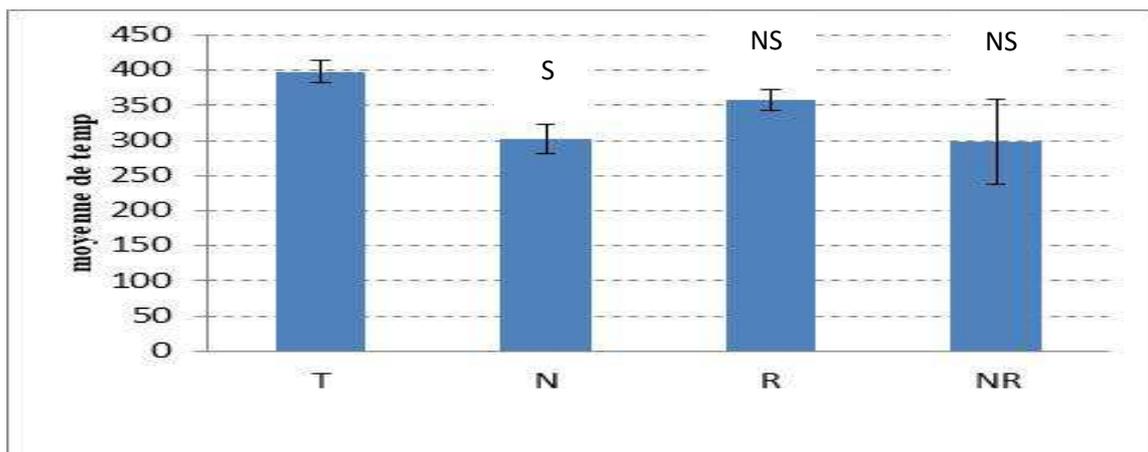


Figure 23: Variation de moyenne de temps dans l'espace sombre de test Dark/light chez les souris témoin et traités

IV.2.2.Effet sur le test de piscine de Morris

Les variations du taux moyen de temps écoulé (s) pour atteindre la plateforme dans la piscine de Morris chez les souris témoins est traités sont présentées dans la (**Figure 24**). Nos résultat montrent que l'administration des Nps-NiO provoque une augmentation significative ($p < 0,05$). du temps moyen de la nage par rapport aux souris témoins((60 s vs 15 s).Par ailleurs,chez le lot traité par l'EMRs,nous avons enregistré une modification notable du temps de la nage en comparaison avec le témoin (30s vs 15,s). L'administration concomitante des Nps-NiO etde l'EMRs provoque une augmentation dutemps moyen passé dans la piscine mais elle reste non significative comparée aux témoins (41 s vs 15 s)

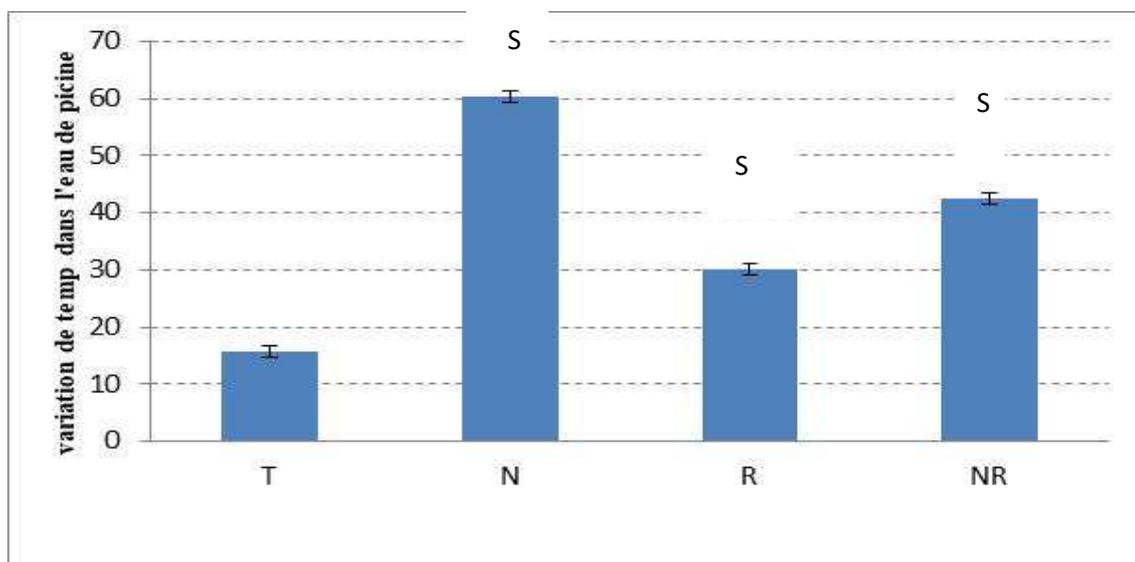


Figure 24: Variation de moyenne de temps dans l'eau de test de piscine(s)

Chez les souris témoins et traités

IV.2.3 Effet sur le test de labyrinthe

Les variations du temps moyen écoulé entre le point de départ et celui d'arrivée chez les souris témoins et traité par les Nps-NiO ont présenté dans la (**Figure 25**).Nos résultats signalent une augmentation non significative du temps moyen chez le lot traités par les Nps-NiO comparée aux témoins (100s vs 39s s).L'administration de l'EMRs est associée à une augmentation non significative du temps moyen aux témoins (61 s vs 39 s). La combinaison de l'EMRs et des Nps-NiO améliore le temps moyenne (42 s) mais cette valeurs rest non significatif par rapport aux témoins.

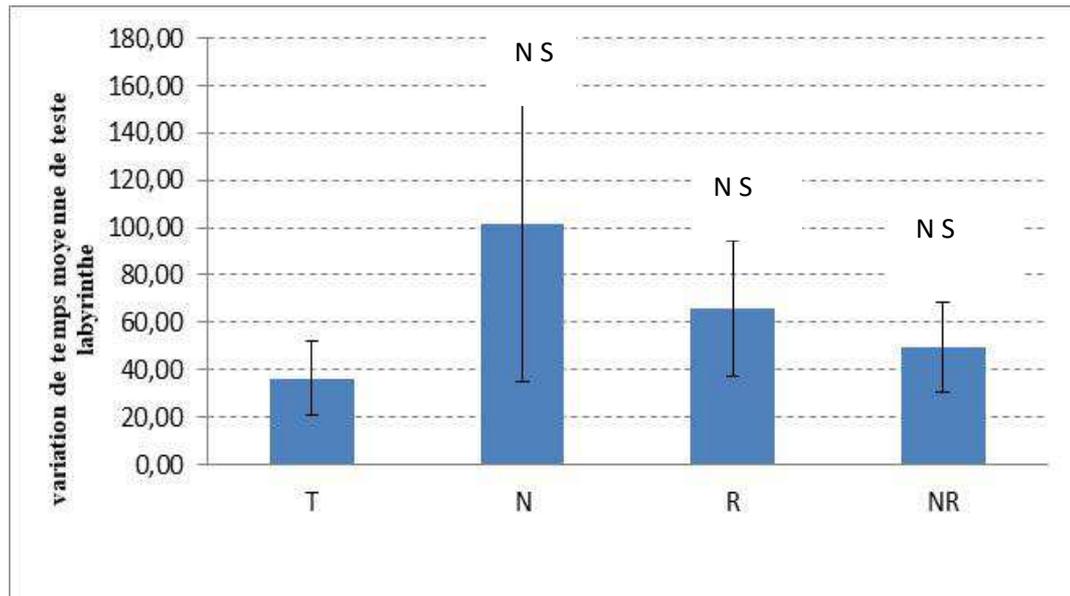


Figure 25: Variations de temps moyenne de test de labyrinthe chez les souris témoins et traités

IV.2.4. Effet sur le test de Open –Field

Les variations du taux moyennes rearing time (s) chez les souris témoins est traités sont présentées dans la (**Figure 26**). Nos résultat montrent que l’administration des Nps-NiO chez les souris provoque une augmentation non significative du taux moyennes rearing time (s) par rapport aux souris témoins ((39 s vs 27.67 s). Par ailleurs, Chez le lot traité par le EMRs enregistré une augmentation non significative du taux moyennes rearing time (s) en comparaison avec le témoin (38 s vs 27.67 s). L’administration du Nps-NiO avec EMRs provoque une diminution plus accentuée du taux moyen des rearing time(s) mais elle reste non significative comparée aux témoins (32 s vs 27.67 s).

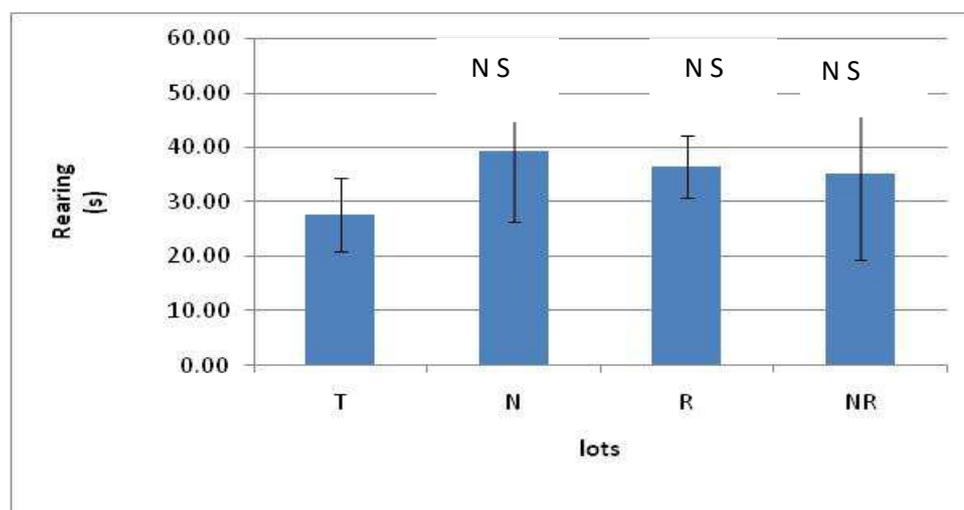


Figure 26: variation de rearing de test d’open field

IV.3. Effet sur les métabolites

IV.3.1. Effet sur les glucides

Les variations du taux des glucides au niveau du foie chez les souris témoins et traités par l'extrait méthanolique de *Retama sphaerocarpa* (EMRs) et aux nanoparticules de l'oxyde de Nickel (Nps-NiO) et leur combinaison sont présentés dans la (figure 27). Nos résultats montrent que le traitement par l'EMRs augmente significativement ($p < 0,05$) le taux moyen des glucides comparé aux témoins (880 mg/L vs 480 mg/L). Les Nps-NiO quant-à-eux augmentent également significativement le taux de glucides hépatiques mais à des niveaux plus élevés (1100 mg/l). La combinaison des Nps-NiO et l'EMRs diminue le taux des glucides hépatique en comparaison avec le lot traité par Nps-NiO mais cette valeur reste quand-même significativement supérieure à celle des témoins (890 mg/L).

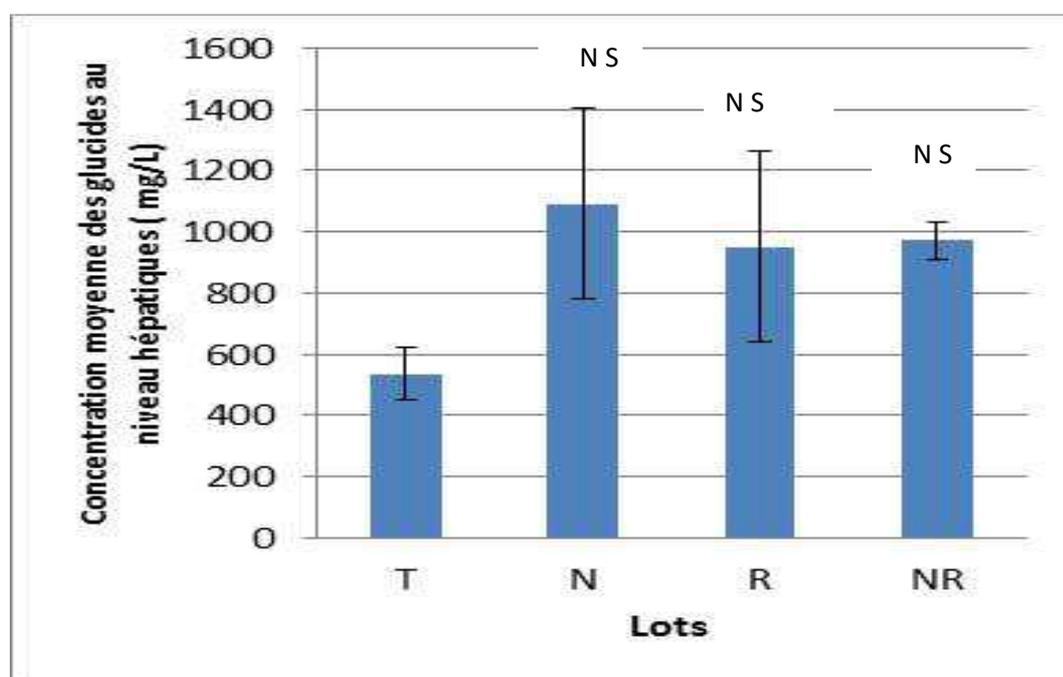


Figure 27 : Variation du taux moyen des glucides hépatiques chez les souris traités et témoins (mg/l)

IV.3.2. Effet des protéines

Nos résultats montrent que le taux des protéines hépatiques a augmenté significativement chez le groupe traité par les NPs-NiO par rapport aux témoins. En effet, nous constatons que le taux de protéines passe de 1,30 mg/l chez les témoins à 1,7 mg/l chez le lot traité par les NPs-NiO. Cependant, les souris traitées par l'EMRs n'enregistrent pas une augmentation significative du taux des protéines hépatique en comparaison avec les témoins (1,3 mg/L). Le co-traitement des NPs-NiO et l'EMRs est à l'origine d'une diminution du taux des protéines hépatiques en comparaison avec le

lot traité uniquement par les NPs-NiO à une valeur qui n'est pas significativement différente à celle enregistrée chez le lot témoin (1,4 mg/L).

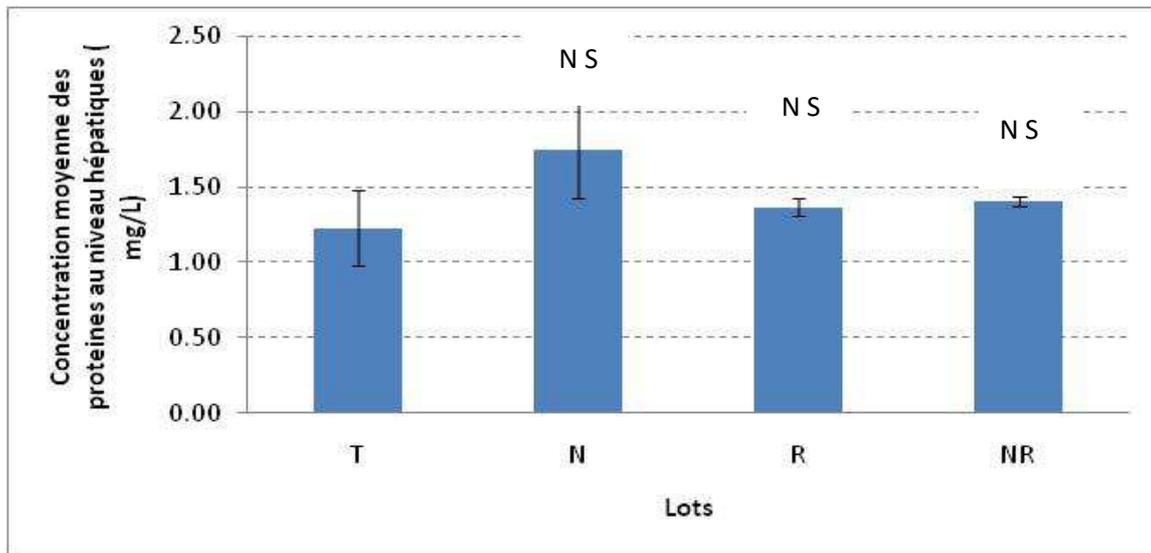


Figure 28: Variation du taux moyen des protéines hépatiques chez les souris traitées et témoins (mg/l)

IV.3.3. Effet des lipides

La (**Figure 29**) présente la variation du taux moyen des lipides hépatiques chez les souris témoins et traitées par les Nps-NiOet EMRs. Nos résultats signalent une augmentation significative du taux des lipides au niveau du lot traité par le Nps-NiO comparé au lot témoin (1,10 mg/L vs. 0,40 mg/L). Le Co-traitement Nps-NiO et EMRs diminue le taux des lipides à (850 mg/L). Notons que le lot traité par les EMRs seul montre aussi une augmentation du taux de lipides par rapport aux témoins (0,90 mg/L).

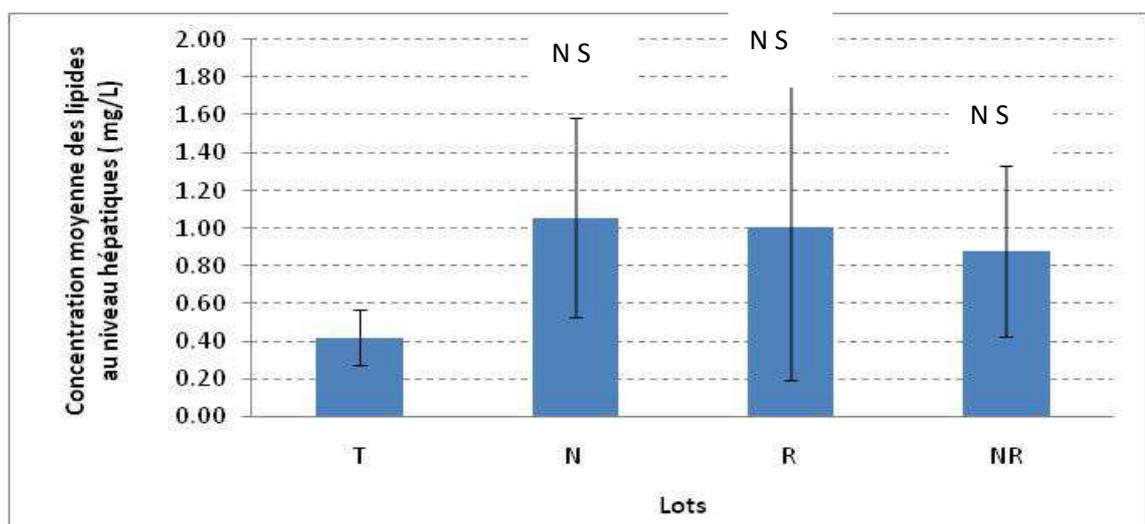


Figure 29: Variation du taux moyen des lipides hépatiques chez les souris traitées et témoins (mg/l)

VI.4.4 Effet sur FNS

VI.4.4.1. Effet sur le taux de des plaquettes

Le taux moyen des plaquettes a significativement augmenté ($p < 0,05$). chez lot traités par le Nps-NiO comparée aux témoins (887×10^9 vs 479×10^9 plaquettes/ml respectivement) alors que l'administration de l'EMRs ne provoque aucun changement significatif du taux des plaquettes (510×10^9 plaquettes/ml). La combinaison de l'EMRs avec les Nps-NiO diminue le taux des plaquettes en comparaison avec le lot des souris traitées par les Nps-NiO (720×10^9 plaquettes/ml) cependant, cette valeur reste quand-même significativement supérieure à celle enregistrée chez les témoins.

VI.4.4.2. Effet sur le taux des globules blanc

Les variations du taux sanguin moyen des globules blanc (WBC) chez les souris témoins et traitées par les Nps-NiO et de l'EMRs sont représentées dans le (**Tableau 05**). Les résultats montrent que l'administration des Nps-NiO induit une augmentation du taux moyen des globules blanc comparé aux témoins ($13,05 \times 10^9$ vs $6,5 \times 10^9$ cellules/ml). L'administration de l'EMRs quant-à-elle diminue le taux du moyen des globules blanc ($5,95 \times 10^9$ cellules/ml) alors que la combinaison des Nps-NiO et de l'EMRs augmente les taux des globules blanc à ($8,20 \times 10^9$ cellules/ml).

VI.4.4.3. Effet sur le pourcentage des lymphocytes

Le (**Tableau 05**) représente les variations du pourcentage des lymphocytes dans le sang des souris témoins et traitées par les Nps-NiO et de l'EMRs. Les résultats de cette étude indiquent que l'administration des Nps-NiO est associée à une augmentation du pourcentage des lymphocytes comparé aux témoins ($91,65\%$ vs $75,60\%$). L'administration de l'EMRs augmente le pourcentage des lymphocytes par rapport à celui des témoins ($82,90\%$ vs $75,60\%$). L'administration de l'EMRs en association avec les Nps-NiO n'améliore pas le pourcentage des lymphocytes en comparaison avec les souris traitées uniquement par les nano-NiO ($88,50\%$ vs $91,65\%$).

VI.4.4.4. Effet sur le pourcentage des granulocytes

Les résultats montrent que l'administration des Nps-NiO est associée à une augmentation significative ($p < 0,05$) du pourcentage des granulocytes comparé aux témoins ($15,70\%$ vs $8,50\%$). L'administration de l'EMRs seul ou en association avec les Nps-NiO quant-à-elle ne modifie pas significativement le pourcentage des granulocytes par rapport aux témoins ($14,30\%$ et $8,95\%$ respectivement).

VI.4.4.5.Effet sur le pourcentage de l'Hématocrite(HCT)

Nos résultats montrent que la moyenne du pourcentage l'HCT a diminuée chez les souris traités par rapport aux témoins (**Tableau 05**) surtout pour le lot traité par la combinaison de l'EMRs et du Nps-NiO(45,6% vs 46,64% respectivement).

VI.4.4.6.Effet sur le taux des globules rouges

Les résultats indiquent que l'administration des Nps-NiO est associée à une augmentation significative ($p < 0,05$). du taux du moyen des globules rouges (RBC) comparé aux témoins ($9,50 \times 10^{12}$ vs $7,37 \times 10^{12}$ cellules/ml). L'administration de l'EMRs ne modifie pas significativement le taux du moyen des globules rouges ($8,91 \times 10^{12}$ cellules/ml) alors qu'en cas de traitement combiné par les Nps-NiO et l'EMRs, le taux des globules rouges reste significativement augmenté par rapport aux témoins ($9,30 \times 10^{12}$ cellules/ml).

Tableau 06: Moyenne et écart-types des paramètres de la Formule de Numérotation Sanguine des souris les souris témoins et traités après 30j de traitements

	WBC (x 10⁹)	Lym (%)	GRA (%)	Mid (%)	RBC (x 10¹²)	HGB (g/dl)	HCT (%)	PLT (x 10⁹)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/l)
T	6,58±0,20	75,60±3,39	8,50±0,61	6,87 ± 0,95	7,37 ± 1,12	13,9 ± 21,50	46,65 ± 8,74	479 ± 48,27	48,83 ± 5,63	18,93 ± 1,65	301 ± 25,53
N	13,05 ± 0,25	91,65±1,85	15,70±2,90	10,4 ± 2,20	9,50 ± 0,12	14,45 ± 0,25	45,4 ± 0,20	887 ± 19,00	47,95 ± 0,75	15,17 ± 0,45	318 ± 4,00
R	5,95±0,25	82,90±0,40	8,95±0,25	5,30±0,20	8,91±0,41	15,10±20	43,10±2	510±12	48,05±0,75	16,30±0,40	337,33±7,51
NR	8,20±2	88,50±2	14,30±2	7,80±2	9,30±2	7,80±2	45,60±2	720±2	49,50±2	16,20±2	331±2

Les moyennes affectées de lettres différentes dans la même colonne sont statistiquement différentes (p<0,05).

WBC : white blood cells = globules blanc ; **LYM** : lymphocytes ; **GRA** : granulocytes ; **MID** : autres types de globules blancs ; **RBC** : red blood cells = globules rouges ; **HGB** : hémoglobines ; **HCT** : hématocrites ; **PLT** : plaquettes ; **MCV** : mean corpuscular volume = volume globulaire moyen ; **MCH** : mean corpuscular hemoglobin = teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine ; **MCHC** : mean corpuscular hemoglobin concentration = concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

V. Discussion

Le but de notre travail est basé sur l'estimation de l'intoxication par les nanoparticules d'oxyde de nickel sur un modèle biologique qui est les souris *Mus musculus* et à évaluer l'effet protecteur de l'extrait méthanolique de *Retama sphaerocarpa*. Dans la littérature, les travaux sur les nanoparticules d'oxyde de nickel sont très rares. D'autre part, on a remarqué une rareté d'études sur l'effet protecteur de genre *Retama sphaerocarpa*. La comparaison de nos résultats avec ceux de littérature va se faire, si possible, avec les travaux qui se ressemblent le plus à notre travail.

V.1. Rendement en extrait méthanolique

Les résultats de la présente étude indiquent qu'à partir de 100g de poudre de feuille de *Retama sphaerocarpa*, le rendement en EMRs était de 34,17%. Ce rendement paraît plus important que celui rapporté dans la littérature. En général, le rendement en extraits méthanolique de *Retama sphaerocarpa* varie selon la partie de plante qui a servi pour l'extraction. Les résultats de rendement dans différentes études sont présentés dans le tableau suivant (**Tableau07**)

Tableau 7 : Rendement de différente partie de *Retama sphaerocarpa*

Solvant	Partie de la plante	Rendement (%)	Référence
Méthanol	Tige	13,15	Boussehl (2016)
		17,1	Guenfissi et Laifaoui (2012)
	Grain	12,86	Guenfissi et Laifaoui (2012)
	Rameaux	15,86	Bousshel (2011)
	Fruit	9,24	Boussahel (2016)

Les résultats de rendements sont variable entre 13,15% dans les tiges (**Boussahle,2016**) et 17,1% chez (**Guenfissi et Laifaoui , 2012**) et entre 12,86% dans les graine(**Guenfissi et Laifaoui , 2012**) et 9,25% dans les fruit(**Boussahel, 2016**). Ces variations en rendement peuvent être dues certainement à la variabilité de la partie végétale utilisé dans

l'extraction mais aussi elles peuvent être dues à la méthode et la durée de séchage, à la région et la saison de récolte et à la méthode d'extraction (**Dai et al., 2010**).

V.1.Effet sur le gain de poids

Le traitement des souris aux Nps-NiO(10mg/Kg) a induit une diminution sévère dans le gain de poids ($p < 0,05$). Cet effet peut être expliqué par la capacité de Nickel d'induire des perturbations physiologiques et métaboliques chez l'animal, en influençant sur l'absorption et le transport des éléments nutritifs et par conséquent ils peuvent induire une mauvaise assimilation des aliments par l'organisme (**Hattiwale et al., 2013**). La baisse gain de poids peut-être également due à la dégradation augmentée de lipides et de protéines suite à la toxicité par le Nickel (**Mandava et al., 2009 ; Pardeep, 2004 ; Sidhu et al., 2004**). Contrairement à nos résultats, **Dumala et al. (2019)** a démontré que lorsque les animaux étaient traités avec des doses moyennes et élevées de Nps-NiO, ils ont montré une augmentation de gain en poids et des irrégularités dans les habitudes alimentaires. Par conséquent, les NPs-NiO peuvent être classées comme des particules qui ne présentent des effets toxiques qu'à des doses plus élevées lorsqu'ils sont exposés pendant une longue période (**Dumala et al., 2019**).

V.2. Effet sur le poids relatif du foie

Nos résultats montrent une augmentation significative du poids relatif du foie ($p < 0,05$). La littérature explique que cette augmentation peut être due à l'accumulation de Nickel dans le foie (**Das, 2004**). Parce qu'il possède une grande affinité pour le groupement thiols protéique des membranes cellulaires hépatiques (**Mathur et al., 1997**). Il peut provoquer certaines transformations morphologiques dans de nombreux systèmes cellulaires (**Coen et al., 2001**). D'autres études montrent un changement morphologique dans le foie car les parties nécrosées de l'architecture du foie ont révélé que ces NPs pourraient induire l'apoptose. Une étude sur la lignée cellulaire du cancer du foie avec les Nps-NiO, a induit une cytotoxicité par apoptose aux concentrations exposées (**Ahamed et al., 2013**). Une étude histologique des coupes de tissus du foie des rats traités par les Nps-NiO a montré des altérations légères à sévères par rapport aux témoins. Les tissus présentaient des parties nécrosées et des dépôts granulomateux (**Dumala et al., 2017**). De même, une étude récente a montré que le dosage répété de NPs-NiO conduit à l'endommagement des hépatocytes, les infiltrations de lymphocytes et les cellules graisseuses (**Saquib et al., 2017**).

V.3. Effets sur le comportement

V.3.1. Test de piscine de Morris

Le traitement aux Nps-NiO a induit une augmentation significative ($p < 0,05$) de temps nécessaire pour atteindre la plate-forme par rapport aux témoins. Cela peut être dû aux troubles

visuels et aux changements dans les tissus du cerveau, tels que la fibrose dans le tissu cérébral et l'inflammation (**Dumala et al 2019**). Des études portant sur d'autres oxydes métalliques NP ont également démontré des altérations similaires (**Sharma et al., 2012 ; Singh et al., 2013**). En effet, ces auteurs rapportent des résultats qui sont en accord avec les nôtres avec un temps passé pour atteindre la plateforme significativement supérieure à celui des témoins. Ces résultats sont également corrélés avec ceux de **Kang et al. (2000)** qui suggèrent que l'exposition au Ni affecte le fonctionnement de plusieurs canaux ioniques neuronaux différents de type N-méthyl-D aspartate (NMDA) dépendants du calcium. De plus, certains auteurs indiquent que ce métal lourd module l'activité des récepteurs NMDA. D'autres études suggèrent que le Ni induit l'apoptose des neurones olfactifs du cortex sensoriel et cérébral (**Khaled et al., 2014**).

V.3.2. Test d'Open Field

Le traitement par les NPs-NiO a induit une augmentation significative de nombre des redressements on comparaison avec les témoins. La littérature montre que l'exposition des souris au Ni entraîne une augmentation significative dans le nombre de redressements ($p < 0,01$) ce qui révèle une hyperactivité locomotrice des animaux expliquée par l'action du Ni sur le système dopaminergique qui se traduit par une augmentation de la synthèse, de la libération du neurotransmetteur et l'hyperfonctionnement des récepteurs post-synaptiques (**Khaled et al. , 2014**). Contrairement avec certains auteurs qui démontrent que l'administration intra-péritonéale de chlorure de Nickel a provoqué une diminution de la dopamine dans le cortex cérébral et les noyaux gris centraux (**Fatehyab et al. , 1980**) De plus, l'exposition au Nickel induit une perturbation de la neurotransmission chez le rats En effet, ce métal produit des changements de l'expression des gènes liés à la dopamine (**Jamson et al. , 2006**) De plus, autre étude, indiquent que les déterminations précises des données comportementales sont difficiles à identifier suite à une exposition au Nickel. (**Khaled et al. , 2014**).

V.3.3. Effet sur le test de labyrinthe

Le test de labyrinthe a montré que exposition aux NPs-NiO a induit une augmentation de temps entre le point de départ et le point d'arrive. Ce comportement anxieux des souris pourrait être traduit par une interaction de Nps-NiO avec les neurones sérotoninergiques et dopaminergiques del'hippocampe. Une augmentation de niveaux de 5-HT dans l'hippocampe est à l'origine d'un effet d'anxiogène (**Leret et al., 2003**). L'élaboration de l'état anxieux correspond à ces perturbations qui sont associées au système dopaminergique et cholinergique (**Bear et al., 2016**). Etant donné que tout comportement dépend d'une

commande cérébrale, les désordres comportementaux observés chez l'animal anxieux orientent la réflexion vers l'existence d'un dysfonctionnement dans la circulation ou le traitement de l'information au sein du système nerveux central (**Slimani et al., 1997**). Une autre explication avancée par (**Guilarte et McGlothan , 2003**) qui consiste que cet effet peut être expliqué par le fait que les NPs-NiO interagissent avec les systèmes de transmission catécholaminergique et glutamatergique au niveau des récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate).

V.4. Effet sur le test de Clair/Obscur

Les souris traitées avec le Nps_NiO, comparativement aux souris témoins, avaient tendance à passer plus de temps ($p < 0.05$) dans la chambre claire. Ces résultats suggèrent que les souris traitées avec le Nps-NiO sont moins craintives et donc que le Nps_NiO possède un effet anxiolytique. Cet effet, peut être dû à cause d'une inhibition des récepteurs mGluRs impliqué dans la régulation des comportements anxieux. (**Lemieux , 2019**) Une autre étude a permis de conclure que l'inhibition du récepteur mGluRs cause dans plus de 85% des cas un effet anxiolytique chez les modèles animaux (**Swan et al., 2005**). Cette anxiété peut être liée à un hypofonctionnement de la transmission synaptique inhibitrice GABAergique dans certaines régions de l'encéphale. (**Schlichter , 2008**).

V.5. Effet des Nps-NiO sur la FNS

L'effet du traitement par les NPs-NiO sur les paramètres sanguins a révélé une augmentation du taux des globules rouges, des globules blancs, des lymphocytes, des granulocytes et des plaquettes associées à une réduction de l'HCT. Cette augmentation des taux cellulaires des (RBC) pourrait être due à l'interférence des NPs-NiO dans le processus de l'érythropoïèse (**Morsy et al., 2016**). L'augmentation du nombre de globules blancs a indiqué que la défense innée a été activée dans l'organisme (**Gui et al., 2011**). Par contre, une étude hématologique suite à un traitement par les Nps chez les animaux a montré une réduction significative des niveaux de globules rouges et de HCT et amélioration des Plaquette et des globules blancs à des doses plus élevées (**Grissa et al., 2015**). Contrairement à nos résultats, d'autres études sont rapportées que les NPs-NiO inhibaient significativement le taux globule rouge (**Dumala et al., 2017**), la numération plaquettaire et le taux d'HGB (**Abass et al., 2017**).

V.6. Effet de Nps-NiO sur les métabolites

Dans la présente étude, nous avons constaté que le taux des métabolites (protéines, glucides et lipides) a été significativement perturbé chez les souris traitées par les Nps-NiO comparé aux témoins. Cette perturbation pourrait être due à l'accumulation des Nps aux

niveau du foie(**Cherukuri et al., 2006, Yang et al., 2008**) liée à la filtration et la présence de cellules phagocytaires mononucléaires au niveau hépatique tels que les macrophages. Cette accumulation, pourrait induire une toxicité hépatique chez les animaux(**Johnston et al., 2010 ; Hirst et al., 2013**).

V.6.1. Effet sur les glucides

L'analyse des paramètres biochimiques a montré une augmentation remarquable de la concentration des glucides au niveau hépatique chez les souris traitées par les NPs-NiO. Cette augmentation peut être expliquée par plusieurs hypothèses notamment l'augmentation des réserves énergétiques(**Carpy et al., 2000**) en supposant que les groupes traités pourraient affecter directement la synthèse, le stockage et la décomposition du glycogène dans le foie (**Massin et Erginay, 2010**). En revanche, nos résultats sont en désaccord avec ceux de **Jumel et Lagadic(2000)** dont les résultats suggèrent un épuisement du taux de glycogène dans le tissu hépatique lors d'un traitement par les NPs-NiO. Cet effet, serait dû à l'utilisation directe du glycogène pour la régénération d'énergie ou suite à une l'hypoxie. Les glucides sont les sources d'énergie primaires et immédiates, en état d'effort des réserves glucidiques sont épuisées pour satisfaire des demandes énergétiques accrues.

V.6.2. Effet sur le taux des protéines

L'effet des NPs-NiO sur la fonction hépatique a montré une augmentation significative de la concentration des protéines hépatiques chez les souris traitées aux Nps-NiO en comparaison avec les témoins. Cette augmentation pourrait être due à l'induction de la synthèse d'enzymes de détoxification et de métabolisation sous l'effet du stress oxydatif (**Nahid et al., 2015**). Le Nickel peut modifier le métabolisme des protéines et les acides aminés et leurs synthèses au niveau du foie (**Pari et Amudha, 2011**). Contrairement à nos résultats, certaines études montrent une diminution de taux des protéines due à l'intervention des groupements thiol et hydroxyle (SH, OH) des protéines dans la diminution des effets oxydatifs des radicaux libres produite. Par conséquent, ces protéines peuvent se dénaturer et se fragmenter, ou perdre leurs structures (**Harris et al., 2011**). La diminution des taux des protéines après l'injection de nickel peut être également due à une diminution de la consommation alimentaire d'apport protéique (**Pari and Amudha, 2011**).

V.6.3. Effet sur les lipides

L'effet des Nps-NiO sur le profile lipidique a montré une augmentation significative de la concentration des lipides hépatiques. Nos résultats concordent avec ceux de **Hfaiedh et al. (2008)** qui ont trouvé des perturbations du métabolisme lipidique. Par conséquent, un taux élevé de lipides peut être due à un dysfonctionnement hépatique (**Das et al., 2007**) ou à la

peroxydation suit aux effets oxydatifs des radicaux libres due à une nécrose du foie (**Misra et al., 1990 ; Hfaiedh et al., 2008**). Contrairement aux autres études montrent une diminution des taux des lipides totaux après l'injection de Ni(II) peut être explicable par l'utilisation des lipides dans la production d'énergie aux fonctions vitales de l'organisme sous la toxicité du nickel (**Sidhu et al., 2004**). ou le résultat des dégradations intenses des lipides des tissus adipeux de l'organisme (**Cempel et Janicka, 2002**).

V.7. Effet protecteur de l'extrait méthanolique de *Retamasphaerocarpa*

Dans la présente étude, l'administration de l'extrait méthanolique de *Retamasphaerocarpa* en association avec les nanoparticules d'oxyde de nickel a légèrement ajusté les désordres biochimiques (lipides, glucides et protéines) et a légèrement amélioré le comportement des souris. Ce faible effet protecteur peut être dû soit au choix de la dose de l'EMRs administré au souris, soit à la durée du traitement, à la concentration de composé chimique localisé dans les différentes parties de la plante (tige, grain, feuille, rameaux..) extraite ou soit au choix de l'extrait. Cet effet protecteur probable est dû à l'activité antioxydante des l'EMRs. En effet, **Boussehl et al., (2017)** ont rapporté des propriétés antioxydantes et antiglycation des extraits méthanolique et aqueux de fruit de *Retamasphaerocarpa*. L'extrait de méthanol présentait une teneur plus élevée en flavonoïdes. Ces extraits ont montré une activité antioxydante remarquable. L'extrait de méthanol a également induit une diminution importante de la formation de produits finaux de glycation avancée qui sont liée au stress oxydatif, à l'inflammation et à la résistance à l'insuline, ce qui suggère que cet extrait riche en flavonoïdes est capable de prévenir les réactions entre les sucres réducteurs et les protéines qui conduisent à une glycation non enzymatique. De même, **Javanoci et al.,(1994)** ont trouvé que les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène. L'effet scavenger des flavonoïdes est attribué à leur faible potentiel redox qui les rend thermodynamiquement capable de réduire les radicaux libres. D'autre part, des études ont déterminé expérimentalement que l'extrait méthanolique aqueux de graines de *Retama retam* est également actif comme agent hépato-protecteur pour réduire les altérations histopathologiques induites par la CCL4. Cet extrait pourrait également inverser l'augmentation des taux sériques pathologiques d'aspartate et d'alanine aminotransférase et de phosphatase alcaline (**Ganzalez et al.,2018**). De même, **Koriem et al.,(2010)** a trouvé des résultats similaires pour la toxicité hépatique, sanguine, et rénale induite par le formol, la capacité de différents extraits de *Retama retam* a diminuée le cholestérol sérique ainsi que sa capacité à restaurer les niveaux sériques

des enzymes hépatique et à inverser les altération histopathologique. Une autre étude considérant l'extrait aqueux de *Retama retam* a rapporté des effets antihypertenseurs et diurétiques sur les rat hypertendus, en augmentant l'excrétion de sodium, de potassium et de chlorure, ainsi qu'en agissent comme une amélioration du taux de filtration glomérulaire(Eddouks *et al.*,2007).D'après la littérature, l'extrait aqueux a aussi un effet hypoglycémique. En effet, l'administration orale d'une dose de 20mg/kg de l'extrait aqueux de *Retama retam* réduisait de façon significative le taux de glucose dans le sang des rats normaux ainsi que des rats diabétiques, cette hypoglycémie peut être expliqué par la stimulation de la libération d'insuline par le pancréas et la réduction de l'absorption intestinal du glucose.(El fennouni, 2012).

Conclusion

Conclusion

L'objectif de la présente étude était d'estimer l'intoxication par les nanoparticules de l'oxyde de Nickel chez les souris mâles *Mus musculus* de la souche BALB/C, et d'évaluer l'éventuel effet protecteur de l'extrait méthanolique de *Retama sphaerocarpa*. Les résultats obtenus permettent de conclure que:

- Les taux des métabolites biochimiques au niveau hépatique ont été perturbés par les NPs-NiO notamment une augmentation des taux de glucides et une augmentation des taux de protéines et lipides par rapport aux témoins.
- Les NPs-NiO a perturbé le comportement des souris en induisant une anxiété, une hyperactivité locomotrice, perturbation de concentration et de mémorisation.
- Les nanoparticules d'oxyde de Nickel induisent une hématotoxicité.
- Nos résultats montrent que l'extrait méthanolique de *Retama sphaerocarpa* a légèrement ajusté les désordres biochimiques (lipides, glucides et protéines) et a légèrement amélioré le comportement des souris intoxiquées par les NPs-NiO.

Malgré que *Retama sphaerocarpa* possède un effet antioxydant très connu, les résultats de cette étude ne semblent pas concluants quant à leur effet protecteur vis-à-vis l'intoxication par les nanoparticules d'oxyde de Nickel. Ce faible effet protecteur peut être dû soit à la dose administrée, à la durée du traitement ou à la partie de la plante utilisée. Ceci n'empêche pas de proposer l'EMR dans quelconque schéma thérapeutique lors d'une intoxication par les NPs-NiO.

Afin d'approfondir les résultats dans la présente étude, il semble approprié de conduire des recherches futures axées notamment sur :

- Évaluer les effets d'une exposition chronique aux NPs-NiO sur une période plus longue avec d'autres doses afin de mettre en évidence leurs effets toxiques.
- Conduire cette recherche sur d'autres modèles biologiques et d'autres parties de la plante.
- Approfondir l'étude par des techniques plus complètes au niveau subcellulaire et moléculaire.

Références

Bibliographiques

Référence bibliographique

-A-

- **Abass, M. A., Selim, S. A., Selim, A. O., El-Shal, A. S., & Gouda, Z. A. (2017).** Effect of orally administered zinc oxide nanoparticles on albino rat thymus and spleen. *IUBMB Life*, 69(7), 528–539.
- **Aitfella Radia(2012).**étude de l'activité anticoccidente des extraits de *peganumharmila*, *Retama sphaerocarpa* et grains de pollen.2012.Mémoire de magister en Biochimie et physiologie expérimental. Université de Ferhat Abbas.Setif.p 56-57.
- **AkkaSalahl, LouaarSouheila, MerzougBenhamed, Hocine Laouer, and Helmut Duuddeck (2010.)** a new isoflavone glycoside from the aerialpartsof*Retama sphaerocarpa* *chemistry of naturel compounds*, Vol 46,No.5.
- **Algandaby M, Alghamdi H.A, Ashour O.M, Abdel-Naim A.B, Gharieb S.A, Abdel-Sattr E.A and HajarA.S.(2010).** Mechanisme of the antihyperglycemic activity of *Retama raetamin* sterpozotocin induced diabetic rats food and chemical toxicology 48(8-9).2448-2453.
- **Amadou Diallo(2005).**étude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygiumguineebsewilld*(Myrtaceae). Thèse pour obtenir cadre de docteur en pharmacie. Université du Mali.p. 1-2.
- **Ahamed, M., Ali, D., Alhadlaq, H.A. & Akhtar, M.J., 2013.** Nickel oxide nanoparticles exert cytotoxicity viaoxidative stress and induce apoptotic response in human liver cells (HepG2). *Chemosphere*, 93,2514-2522

-B-

- **Benmiloud-Mahieddine Radia, Mona Abirached-Darmency, SpencerC, Brown, MeriemKaid-Harche, Sonja Siljak-Yakovlev(2011).** Genome size and cytogenetic characterizationof three Algerian *Retama* species.*Tree Genetics and Genomes*7:987-989.
- **Beaudeux J.-L.,Delattre J. Therond, , P. Bonnefont-Rousselot D., Legrand A., PeynetJ (2006)** .Laboratoire de biochimie métabolique et clinique, stress oxydant et atteintes vasculaires faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques Paris-, FranceReçu le 25 novembre 2005 ; accepté le 17 février 2006

- **Bear M.F Connor B.W and Paradios M.A(2016)**. Neuroscience a la decouverte de cerveau 3eme edition pp539
 - **Belliardo catherthine (2018)**. etude comparéede la cytogénotoxicité du Cadmium, du Nickel ,de L'aluminium sur le fibroblastecutanéehumaine These de doctorat specialete environnement et santé universitéfaculté de pharmacie Marseille p93
 - **BenhamzaLouiza(2008)**.effets biologique de la petite centauree *Erythraeacentaurium* thèse pour obtenir le diplôme de doctorat d'état en science vétérinaires. Université de Mentourie de Constantine.p.55-56.
 - **Boussahel Soulef(2010)** etude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plates toxiques dans la regionnde setif. Mémoir de magister en biologie et physiologie végétal université Farhat Abbes Setif.p.9-11.
 - **Boussahel Soulef(2016)**study of the phytochemical composition and biologicalactivities of *Rhamnus alaternus* and *Retama sohaerocarpa*.doctorat of sciences in biologyplant biology. FerhatAbbes.Setif.p.5-8.
 - **Boussahel.S, F.cacciola, S.Dahmana, L.Mondello, A.Saija, F.Cimino, A.SzialM.Cristani (2018)**flavinoide profile, antioxidant and antiglycationpropeties of Retama sphaerocapa fruits extraits. *Natural product research*, 32 (16), 1911-1919
 - **Boussahel.S, cacciola.F, Dahmana.S.,Mondello.L, Saija.A, Cimino.F, SzialM.Cristani(2017)**flavinoide profile, antioxidant and antiglycationpropeties of Retama sphaerocapa fruits extraits.*Naturel Product Research* Vol. 32, No. 16, 1911-1919.
 - **Bouisson Elise et Brigitte Talon** :international journal of mediterraneanecology, mediterraneaninstitute of biodeversity and ecology. Vol. 40(1)-20114
 - **Buzeaa Cristina ,Pachecob Ivan I. Robbiec Kevin .(2007)**. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity Queen's University, Kingston Ontario K7L 3N6, Canada Biointerphases journal biomaterial and biological interphase
 - **Bourin Michel Martine Hascoert(2002)**. The mouse light/dark box test Faculty of Medicine, EA 3256 Neurobiologie de l'Anxiete´ et de la Depression, Facultede Medecine BP 53508, 44035 *Nantes Cedex* 1, France Accepted 10 December 2002
- C-
- **Carpya, A.J.M.,Haasbroe J P.P. Ouhabia,c, (2000)**. OliverdLaboratoire de Physico- &Toxico-Chimie des SystemesNaturels (LPTC), UPRES-A 5472, CNRS, Universite´ de Bordeaux I, 351, Cours de la Liberation, 33405 TalenceCedex,

France b Department of Pharmacy, Medical School, University of the Witwatersrand,
7 York Road, Parktown 2193, South Africa

- **Cempel M and Janicka K.(2002).** Distribution of nickel, zinc, and copper in rat Organs
- after oral administration of nickel (II) chloride. *Biol. Trace Elem. Res.* **90 (1)**, 215–226
- **CERADEL (2005).** fiche de donnée de sécurité code de produit:ox nickel *FDS n°P030*
- **Chaudhary A K., Reddy G R., Blair I A., and Marnett L J.(1996).** Characterization of an N6-oxopropenyl-2'-deoxyadenosine adduct in malondialdehyde-modified DNA using liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry: *Carcinogenesis*. **17:1167-1170pp.**
- **Cullen James and Gwilym Lewis (2013)***Curtis's Botanical Magazine* Vol 30.No2 pp 95-97
- 43–50
- **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
- **Cherukuri, P., Gannon, C.J., Leeuw, T.K., Schmidt, H.K., Smalley, R.E., Curley, S.A. & Weisman, R.B., 2006.**Mammalian pharmacokinetics of carbon nanotubes using intrinsic near-infrared fluorescence.*Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103**, 18882-18886.

-D-

- **Dai Jin, J Mumper Russel (2010)**plant phenolics extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties.*Molecules*, **15**,7313-7352.
- **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
- **Defraigne J.O. (1),.Pincemail J (2)(2008).**Stressoxydant et Antioxydant: mythe et réalité *Rev Med Liège* 2008; **63** : synthèse 10: 10-19
- **Daubié-Albanese S (2011).**Toxicité neurocomportementale à court et à long terme du BDE99 chez les rats adulte ou en développement etude des effets de l'administration quotidienne par voie orale a des dose representative de l'exposition humaine pendant 90

jours These de doctorat.Ecole doctoral unite de recherche animal et fonctionnalité des produit animaux

- **Denkhaus, E, Salnikow, K, 2002.** Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity. *Critical reviews in oncology/hematology*.42-35-56
- **Desmier Thomas (2016).** Les antioxydants de nos jour;definition et application these pour le diploma d"état de docteur en pharmacieprésentée et soutenue publiquement le 29 mars 2016
- 490pp
- **Diezi j.** (1989) Toxicologie principe de base et répercussions cliniques, Ed Slatkin, Genève,; pp 33-44.
- **Dumala, N., Mangalampalli, B., Chinde, S., Kumari, S. I., Mahoob, M., Rahman, M. F., et Grover, P. (2017).**Genotoxicity study of nickel oxide nanoparticles in female Wistar rats after acute oral exposure. *Mutagenesis, applied toxicology* 32(4), 417–427.
- **Dumala Naresh, Mangalampalli Bhanuramya Kalyan Sarika Srinivas Kamal Grover Paramjit (2019).**Repeated oral dose toxicity study of nickel oxide nanoparticles
- in Wistar rats: a histological and biochemical perspective *applied toxicology* 10.1002
- -E-
- **Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jurgens, G (1992).**The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free. Rad. Biol. Med.* 13: 341-54.
- **EddouksM.Maghrani,M, Louedec L et al (2007)** :antihypertensiveactivity of the aqueousextract of Retama reatam (Frossk) leaves in spontaneously hypertensive rats. *J Herb pharmacother*7(2) : 65-77.
- **El fannouni Meryam.**(2012)les plates réputées abortives dans les pratiques traditionnelles d'avortement au Maroc. Doctorat en pharmacie Université Mohamed V Rabat. p.87.
- **El-Shazly, A-M Ateya, L Witte, and M Wink(1996)**QuinolizidineAlkaloid profiles of Retama retam, Retama sphaerocarpa and R.monosperma. *Z.Naturforsh*.51c, 301-308.4

-F-

- **Favier A. (2006).** Le stress oxydant et pathologie humaine Département de biologie intégrée du CHU de Grenoble Centre nucléaire de Grenoble Elsevier *Masson SAS Ann pharm FR* 2006 ,64.3906396
- **Fatehyab S, Hasan M, Hasan MZ, Anwar J. (1980).** Effect of nickel on the levels of dopamine, noradrenaline and serotonin in different regions of the rat brain. *Acta Pharmacol Toxicol* 47:318—20
- **Favier Alain (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique actualité chimique 106 *actualité chimique*

-G-

- **Grissa, I., Elghoul, J., Ezzi, L., Chakroun, S., Kerkeni, E., Hassine, M., El Mir, L., Mehdi, M., Cheikh, H.B. & Haouas, Z., (2015).** Anemia and genotoxicity induced by sub-chronic intragastric treatment of rats with titanium dioxide nanoparticles. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 794, 25-31.
- **Guenfissi Lamia et Laifaoui Radia (2012).** Etude de l'activité antibactérienne des extraits méthanolique et acétonique de *Retama sphaerocarpa*, *Retama raetam*, et *spartium junceum*. Mémoire d'ingénieur d'état en génie biologique. Université abderahmane Mira Bejaia p.28.
- **Garba Sani Danjuma Department of Sciences, Kebbi State Polytechnic, Dakingari, Nigeria. Yakubu Abubakar 2019.** Nickel Oxide (NiO) Devices and Applications: A Review Department of Physics, Kebbi State University of Science and Technology, Aliero, Nigeria. Sahabi Suleiman Department of Sciences, Kebbi State Polytechnic, Dakingari, Nigeria. *International Journal of Engineering Research & Technology (IJERT)* <http://www.ijert.org> ISSN: 2278-0181
- **Gourari Rahma, Taib Zineb (2017).** **Animalerie et animaux de laboratoire preparation des procedure pour le laboratoire du departement de pharmacie these doctorat en pharmacie Université Abou Baker Kaid Telmcen.**
- **Gonzalez A.J. Leon, Navarro I., Acero N, D. Munoz Mingarro, C. Martin Cordero 2018.** Genus *Retama* a review on traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities. *phytochem.* 17 :701-731.

- **Guillouty amandine(2016).**Plantes medicinales et antioxydants these pour diploma d'etat en pharmacie université de Toulouse faculté des sciences pharmaceutique p 220
- **Gui, S., Zhang, Z., Zheng, L., Cui, Y., Liu, X., Li, N., Sang, X., Sun, Q., Gao, G., Cheng, Cheng, Z., Wang, J., Tang L., , M. Hong, & F.(2011).** Molecular mechanism of kidney injury of mice caused by exposure to titanium dioxide nanoparticles.*J Hazard Mater*, 195, 365-70.
- **Guilarte TR and Mcglothan JL. (2003).** Selective decrease in NRI subunit splice variant mRNA in the hippocampus of Pb²⁺-exposed rats: implications for synaptic targeting and cell surface expression of NMDAR complexes.
- **Ghalmi Yasse (2019).** Etude du comportement électrochimique et optique de couches minces d'oxyde de nickel (NiO) ; application en photovoltaïques These de doctorat univeristé Farhat Abbas Setif 113 pp

-H-

- **HouariAdliDjallal Eddine (2015).**effetsprophylactique de l'administration d'un extrait de *Syzygiumaromaticum* (Clou de girofle) chez les rats wistarencroissanceintoxiqués au plombet au manganese, etude biochimique, histologique et neurocomportemental pp 170.
- **Haber T L,1. Diamond G. L. Zhao Q ErdreichL and. Dourson M. L (2000).**Hazard Identification and Dose Responseof Ingested Nickel-Soluble Salts Toxicology Excellence for Risk Assessment; *Syracuse Research Corporation*,New York 2000
- **Haleng J. (1)Pincemail , J. (2),. Defraigne J.O (3), Charlier C. (4), Chapelle J.P. (5) (2007).**stress oxydant*Rev Med Liege* 2007; 62 : 10 : 628-638
- **Harris, R.M., Williams, T.D., Hodges, N.J.,Waring, R.H (2011).** Reactive oxygen species and oxidative DNA damage mediate the cytotoxicity of tungsten–nickel–cobalt alloys in vitro. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **250**: 19–28.
- **Halliwell ,B.(1989).** Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J ExpPathol.*,70: 737 – 757 pp
- **H-Nawal. M, Antonio.J., Inmaculada N, Farida B, Said B, Carmen .M-C(2017)** Phytochemical profile an antibacterialactivity of *Retama retam* and *R. sphaerocarpa*cladodesfrom Algeria.*Natural Product Communications* Vol.12 No.12 1857-1860.

- **Hassan Rammal (2018).**L'anxiété trait et son lien avec l'expression des sous-unité des récepteur (GABAA γ 5-HT1A μ -opioïdes et α 1-adrénérgiques) et des marqueurs du stress oxydatif au niveau du SNC (neurones et cellules gliales) et au niveau périphérique (immunité cellulaire et humorale) : evaluation des effets de substances naturelles a potentiel cytoprotecteur these de doctorat Université Paul Verlaine Metz.p.28.
- **Hattiwale SH, Saha S, Yendigeri SM, Jargar JG, Dhundasi SA, Das KK (2013).** Protective effect of L-ascorbic acid on nickel induced pulmonary nitrosative stress in male albino rats. *Biometals*.**26**, 329–336
- **Hilton John W. Ph.(1989).** Les antioxydants roles, types et necessities dans les ailments pour animaux de compagnie,*Nutrition Alimentation* Can vet volume 30
- **Hirst, S. M., Karakoti, A., Singh, S., Self, W., Tyler, R., Seal, S., & Reilly, C. M. (2013).** Bio-distribution and in vivo antioxidant effects of cerium oxide nanoparticles in mice. *Environmental Toxicology*, 28(2), 107–118.
- **Hfaiedh N, Allagui MS, Hfaiedh M, ElFeki(2008)** FoodandchemicalElsevierProtective effect of cactus (Opuntia ficus indica) cladode extract upon nickel-induced toxicity in rats
- **Hopking G William (2003).**Physiologie végétal 2éme edittion americaine par serge Rambour Révision scientifique de Charles Marie Evrard pp 600

-I-

- **Ighodaro O.M & Akinloye O.A(2018)** First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the,entire antioxidant defence grid *Alexandria Journal of Medicine*

-J-

- **Jameson RR, Seidler FJ, Qiao D, Slotkin TA(2006);.**Chlorpyrifos affects phenotypic outcomes in a model of mammalian neurodevelopment: critical stages targeting differentiation in PC12 cells. *Environ Health Perspect* 114:667—72.
- **Jovanovic Slobdan.V, , Steen Steenken, MihajloTosic, BudimirMarjanovic, and Michal G. Simic (1994).**:flavinoids as antioxidants. *J.Am Chem. Soc.* 1994, 116, 4846-4851.
- **Johnston, H. J., Hutchison, G., Christensen, F. M., Peters, S., Hankin, S., &**

- **Stone, V. (2010.)** A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity. *Critical Reviews in Toxicology*, 40(4), 328–346.
- **Jumel R. Thibaut, 1L. Lagadic, L. Debrauwer1 A.. RathahaoE, Cravedi1J.-P2000** Identification of 4-n-nonylphenol metabolic pathways and residues in aquatic organisms by HPLC and LC-MS analyses Laboratoire des Xénobiotiques, INRA, UMR 1089, BP3, 31931 Toulouse Cedex 9, France 2 Équipe Écotoxicologie Aquatique, INRA, SCRIBE, IFR 43, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, France *Endocrine disruptors*

-K-

- **Kadi Kenza, Hamli Sofia, Zeraib Azeddine, Yahya Abdelouahab(2016):** effet antibactérien des extraits de *Thymelaea hisruta*. *L revue de region aride* N43
- **Kaur, G., Tomar, M. & Gupta, V., (2017).** Nanostructured NiO-based reagentless biosensor for total cholesterol and low density lipoprotein detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 1-11.
- **Khiari Mohamed 2018.** These de doctorat Etude de l'effet de Mentha et Pistacia sur la toxicité du Nickel Université badji mokhtar Annaba 167PP
- **Kasprzak S Kazimirz, sunderman william slankiw konstanin (2003).** Nickel cocarcinogenesis laboratory of comparative carcinogenesis National cancer institute at frederick *Mutation Research* 533(2003)67-97
- **Kilfoil, T., Michel, A., Montgomery, D., & Whiting, R. L. (1989).** Effects of anxiolytic and anxiogenic drugs on exploratory activity in a simple model of anxiety in mice. *Neuropharmacology*, 28(9), 901-905.
- **Korim M., Khaled Mabdell Razik H. Farrag, Sayed A. El toumy(2010)** Beneficial effects of tow mediterranean medical plants on blood , liver, a kidney toxicity induced by formalin in rats. *Biohealth Science Bulletin*, 2(1), 8-14.
- **Kehrer2000. James P.** The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity Division of Pharmacology and Toxicology, College of Pharmacy, The University of Texas at Austin, Austin, TX 78712 -1074, USA *Toxicology* 149
- **Khaled Kahloula, Djallal Eddine Houari Adli, Miloud Slimani, Halima Terras, Salima Achour(2014).** Laboratoire de biochimie, département de biologie, faculté des sciences, université Dr Tahar Moulay Saida 2000, Algérie; Effet de l'exposition chronique au nickel

sur les fonctions neurocomportementales chez les rats Wistar pendant la période de développement

- **Kurt Hostellmann(2010)**, plante médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique, Edition diffusion 22-24 boulevard Arago 75013 Paris.
- **Kumari, M., Kumari, S.I., Kamal, S.S. & Grover, P., (2014)**. Genotoxicity assessment of cerium oxide nanoparticles in female Wistar rats after acute oral exposure. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 775-776, 7-19.

-L-

- **Laurent Carine (2005)**. Thèse de doctorat de l'Université : Role du stress oxydatif dans le développement des effets cellulaires radio induit au niveau cutané application au irritation localisée accidentelles Versailles Saint-Quentin-en- 226pp
- **Louaer, S. Akkal, H. Laouar, and D. Guilet(2007)**. Flavonoids of *Retama sphaerocarpa* and their antimicrobial activities. *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 43. No, 5.
- **Louaer S, S. Akkal, A. Boussetla K. Medjroubi, L. Djarri, and E. Seguin(2005)** Phytochemical study of *Retama sphaerocarpa* *Chemistry of Natural Compounds Vol. 41*. No, 1.
- **Lauwerys Robert (2000)**. Toxicologie industrielle et intoxication professionnelle cinquième édition université catholique de Louvain
- **Lopez Lazaro Miguel, Carmen Martin-Cordero, Felipe Cortes, Joaquin Pinero and Maria Jesus Ayuso(2000)**. Cytotoxic activity of flavonoids extracts from *Retama sphaerocarpa* Boissier. *Naturforsch* 55c, 40-43.
- **Lemieux Guillaume 2019**. Diversité de la fonction du récepteur mGluR dans l'anxiété la motricité et l'apprentissage mémoire pour maître en biologie moléculaire université de Trois-Rivières Québec
- **Leret M., Garcia Uceda F, Antonio M (2003)**. Perinatal exposure to lead and cadmium affects anxiety like. *Behaviour toxicology* 186:125 -130

-M-

- **Mahnane Wahiba(2010)**. appréciation de la diversité génétique du genre *Retama* par les marqueurs biochimiques.. thèse de magister en biotechnologie végétale. Université de Mentourie de Constantine. p7-9.
- **Marcia.J, Daiany.A, Maria.O, Dalmacia.M, Julimery.M, Bianca.A, Manuele.S, Maria.L, Marta.S(2018)** Fabaceae medicinal flower with therapeutic potential in savanna areas in the Chapada do Araripe, Northeastern Brazil *Revista Brasileira de Farmacognosia* .738-750.

- **Mathur P.K Palrecha M.M (1997).** Adsorptive stripping voltammetric determination of chromium in gallium *Analytical chemistry division Bhabha atomic research centre Mumbai India*
- **Massin P., Erginay A.(2010).** Rétinopathie diabétique. Ed : 2SAS. Italie. 111 pp channels. *Brain Res Mol Brain Res* 117:139—44
- **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
- **Menvielle-Bourg F. Joanny (2005).** Superoxide Dismutase (SOD), a Powerful Antioxidant, Doctor in Pharmaceutical Sciences, Fabienne Joanny, *Consulting & Licensing, Paris, France*
- **Misra Manoj, Ricardo E Rodriguez and Karzimirz S Kaspirak.(1990).** Nickel induced lipid peroxidation in the rat correlation with nickel effect on antioxidant defense systems; laboratory of comparative carcinogenesis national cancer institute USA
- **Misslin Rene Roseline Bouchonet Philipe Ropartz (1976).** Université Louis Pasteur laboratoire de psychophysiologie Strasbourg. France
- **Movits Kullijaako-, Tamara Zhkovsky, Olga Romantichk, Monika Jurgenson, Eda Merisalu, Lenne-Teiin Heidmets Alexander Zharkovky 2005.;** developmental lead exposure impairs contextual fear conditioning and reduces adult hippocampal neurogenesis in the rat brain. *Int. J. Devl Neuroscience* 23 627-635.
- **Morsy, G. M., El-Ala, K. S., & Ali, A. A. (2016).** Studies on fate and toxicity of nanoalumina in male albino rats: Some haematological, biochemical and histological aspects. *Toxicology and Industrial Health*, 32(4), 634–655.
- **Mlouki Hakim (2013).** Matériaux et dispositifs électrochromes à base de NiO modifiés en couches minces Thèse de doctorat université de Bordeaux 146pp

-N-

- **Navrot Nicolas 2018.** Thèse de doctorat Etude fonctionnelle des glutathion peroxydases de peuplier, une famille de peroxydases thioredoxine-dépendantes l'Université Henri Poincaré, Nancy 1 *En Biologie Forestière* 263pp
- **Nahid S, Azadeh Montaseri², Alireza Najafpour³, Homayun Dolatkhan⁴, Asghar Rajabzadeh¹, Amir Afshin Khaki . 2015.** Study of *Foeniculum vulgare* Fennel. Seed

Sadeghpour N., Montaseri A., Najafpour A., Dolatkhah H., Rajabzadeh A., Khaki AA.(2015)Study of *Foeniculum Vulgare* (Fennel) Seed Extract Effects on Serum Level of Oxidative Stress. *Crescent J Med & Biol Sci* 2(2): 59-63 pp.

- **Nel, A. E., Mädler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E. M., Somasundaran, P Thompson, M. (2009).** Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nature Materials*, 8, 543–557.

-P-

- **Pastre, j. (2005)** .Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de doctorat, Ecole nationale vétérinaire, Toulouse. 320pp
- **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
- **Pari L and Amudha K (2011).**Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male Wistar rats. *European Journal of Pharmacology* 650, 364–370
- **Prabhakar, P. V., Reddy, U. A., Singh, S. P., Balasubramanyam, A., Rahman, M. F., Indu Kumari, S., ...Mahboob, M. (2011).** Oxidative stress induced by aluminum oxide nanomaterials after acute oral treatment in Wistar rats. *Journal of Applied Toxicology*, 32(6), 436–445.
- **Pugnaire F.I., Haase P, Puigdefabregas J., Cueto M, Claek and Incoll L.D(1996).** facilitation and succession under the canopy of a leguminous shrub, *Retama sphaerocarpa*, in a semi-arid environment in south-east Spain. *OIKOS* 76 : 455-464. Copenhagen.
- **Prieto, Ivan Zaal Kikvidze, Francisco I(2010).** Pugnaire: Hydraulic lift: soil processes and transpiration in the Mediterranean leguminous shrub *Retama sphaerocarpa*(L) *Plant soil* 329;447-456.
- **Prosie Florin, Lesage Xavier Francois Deschamp Frederic 2008.** Nanoparticules : structures, utilisations et effets sur la santé. Hôpital Sébastopol unité fonctionnelle de pathologie professionnelle et santé au travail France *Presse Med* 2008; 37: 1431–1437

-R-

- **Roberfroid Marcel B Coxam Véronique, Delzenne Nathalie (2008).** Aliments fonctionnels 2^{ème} édition -1088 pages Lavoisier.

-S-

- **Sallvador VPedro, Barbara. C, Luis.F, Benito.M(2013)***Reatmamonosperma(L.)* Boiss. *Retama*, retamablanca, retama de olor ; cat : ginesta de florblanca, ginesterablanca, *Retama sphaerocarpa* : *Retama*, escoba, ginestra,hinestra ; cat : ginesta, ginestaginestavimenera.p.343
- **Saquib, Q., Attia, S. M., Ansari, S. M., Al-Salim, A., Faisal, M., Alatar, A. A.,Al-Khedhairi, A. A. (2017)**. p53, MAPKAPK-2 and caspases regulate nickel oxide nanoparticles induce cell death and cytogenetic anomalies in rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 228–237.
- **Schlichter R. Étifoxine, neurostéroïdes et anxiété.(2008)**.Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives, Université Louis Pasteur,Strasbourg
- **Selami Nawel(2015)**. Etude des associations symbiotiques de *Retama monosperma* : Approches Morphologique, anatomique et ultra structurale, caractérisation moléculaire des isolats..these de doctorat en biotechnologie végétal université de Mohammed Boudiaf Oran.p.35
- **Sergent O, B. Griffon, P. Cillard, J.(2000)**.Alcool et stress oxydatifCillardLaboratoire de biologiecellulaire et végétale, faculté de pharmacie, 2, avenue Pr. Léon Bernard, 35043 *Rennes cedex*, France (Accepté le 10 juillet 2000)
- **Sharma, V., Singh, P., Pandey, A. K., &Dhawan, A.(2012)**.Induction of oxidative stress, DNA damage and apoptosis in mouse liver after subacute oral exposure to zinc oxide nanoparticles. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 745(1), 84–91.
- **Shidu P, Garg ML, Dhawan DK (2004)**.Protective role of zinc in realization ofenzymaticreagentless urea biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 52, 196-201
- **Solostok:http://www.Solostock.ma**
- **Slimani M BensahlaTalet A etBoutiba Z (1997)** .Effet de linden sur la fonctionementhépatique et cerebral chez les rat *Maghreb medicalenumero* 319 pp 53
- **Singh, S. P., Kumari, M., Kumari, S. I., Rahman, M. F., Mahboob, M., &Grover, P. (2013)**. Toxicity assessment of manganese oxide micro and nanoparticles in Wistar rats after 28 days of repeated oral exposure. *Journal of Applied Toxicology*, 33(10), 1165–1179.

- **Soulère, L., Viodé, C., Périé, J., Hoffmann, P. (2002)** .Selective Inhibition of Fe-versusCu/Zn- SuperoxideDismutases by 2,3-Dihydroxybenzoic Acid Derivatives
- **Swanson, C. J., M. Bures, M. P. Johnson, A. M. Linden, 1. A. Monn and D. D. Schoepp (2005)**. Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders." *Nat Rev Drug Discov* 4(2): 131-144.
- **Seguin Johanne (2012)**.caractérisation de model de tumeur smurinesetleurs application enthérapie anti-angiogéniquevectorisée.thèse pour obteniredocteurdel'université de piérre et marie curie p.123. edi kn lguitiha fi intro rodiha noir

-T-

- **Taillé (2003)**. These de doctorat Role de la voie de l'heme oxygenase dans le contracilité et la prolifération du muscle lisse des voie aierieene application a l'asthme science de vie et de la santé option physiopathologie de la chainerespiratoireacadémie cereal universite de paris pp 203
- **Thierry Chepda, Christian piererannettechamson Jaques ferry (1999)**.laboratoire de biochimie faculte de medecine France 1999
- **Tikare Swati N. 1, Saeed Yendigeri 2, Amrita das gupta1, Salim A. Dhundasli and Kusal K. (2013)**.Protective effect of □-Tocophérol against hematotoxicityHépatotoxicity, and nephrotoxicity induced by nickel sulfate in male albino rats Departments of Physiology and Pathology, Medical College University's Sri B.M. Patil Medical College,, Karnataka, India August 2012
- **Touati Razika, A.O Santos Sonia, M.Rocha Silvia, Kamel, Belhamel, Armando J.D.Silvestre(2016)**.phenolic composition and biologicalprospecting of grains and stems of *Retama sphaerocarpa*. . *Industrial corps and Products* indcro-9199 : No of pages 12.
- **Touati Razika, A.O.Santos Sonia, Silvia M. Rocha, Kamel Belhamel, Armando J.D Silvestre(2015)** Retama spherocarpa an unexploited and rich source of alkaloids, unsaturaterfattyacids and othervaluable phytochemicals. *Industrial corps and Products*.69 (2015)238-243.
- **Tyagi, M., Tomar, M. & Gupta, V., (2014)**. Glad assisted synthesis of NiO nanorods for realization of enzymatic reagentless urea biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 52, 196-

-V-

- **Valko, M, Leibfrit, D., Moncol, J., Cronin MTD., Mazur, M., Telser, J.(2007).**Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.*Int J Biochem Cell Biol.*,39:44-84pp
- **Vamecq J ., Vallée L, Storme L., GeléPBordet., R. (2004).**Les acteurs immédiats du stress oxydatif Key players in oxidative stress .*La Lettre du Pharmacologue* - Volume 18 - n° 1 - janvier-février-mars 2004

-Y-

- **Yang, S. T., Wang, X., Jia, G., Gu, Y., Wang, T., Nie, H., ... Liu, Y. (2008).** Long-term accumulation and low toxicity of single-walled carbon nano-tubes in intravenously exposed mice. *Toxicology Letters*, 181(3), 182–189

Annexes

Partie pratique

Annexe 01 : Dosage des glucides

Tableau 8 : la réalisation de la gamme d'étalonnages pour les glucides aux niveaux hépatopancréas.

Tube	1	2	3	4	5	6
Solution mère de glucose (µl)	100	80	60	40	20	00
Eau distillée	00	20	40	60	80	100
Réactif d'anthrone	4	4	4	4	4	4

Tableau 9 : Dosage des glucides : résultats des densités optiques de de la gamme d'étalonnages

Concentration de solution de glucose (mg/ml)	0	20	40	60	80	100
Absorbance(DO)	0,0000	0,0073	0,0122	0,0223	0,0412	0,1002

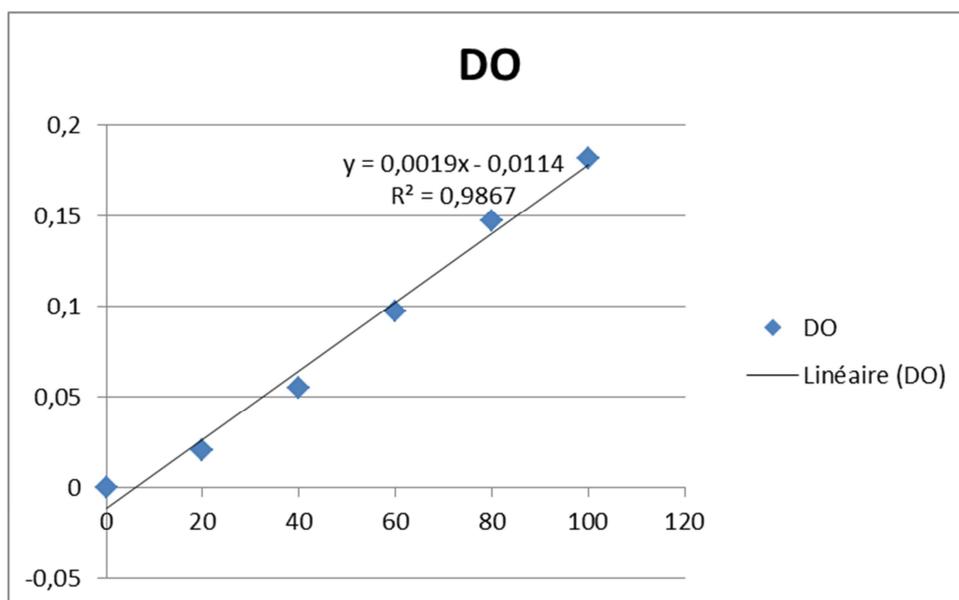


Figure 30. Droite de régression exprimant les absorbances à 620 nm en fonction de concentration de solution de glucose (mg/ml) (R^2 : coefficient de détermination)

Partie pratique

Annexe02 : Dosage des lipides

Tableau 10 : La réalisation de la gamme d'étalonnage pour les lipides aux niveaux de l'hépatopancreas

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipide (μ	00	20	40	60	80	100
Solvant (éther/chloroforme)(1)	100	80	60	40	20	00
Vanilline (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

Tableau 11 : dosage des lipides résultats des densités optiques de la gamme d'étalonnage

Concentration de solution mère de lipide (mg/ml)	20	40	60	80	100
Absorbance(D)	0,016	0,026	0,08	0,098	0,12

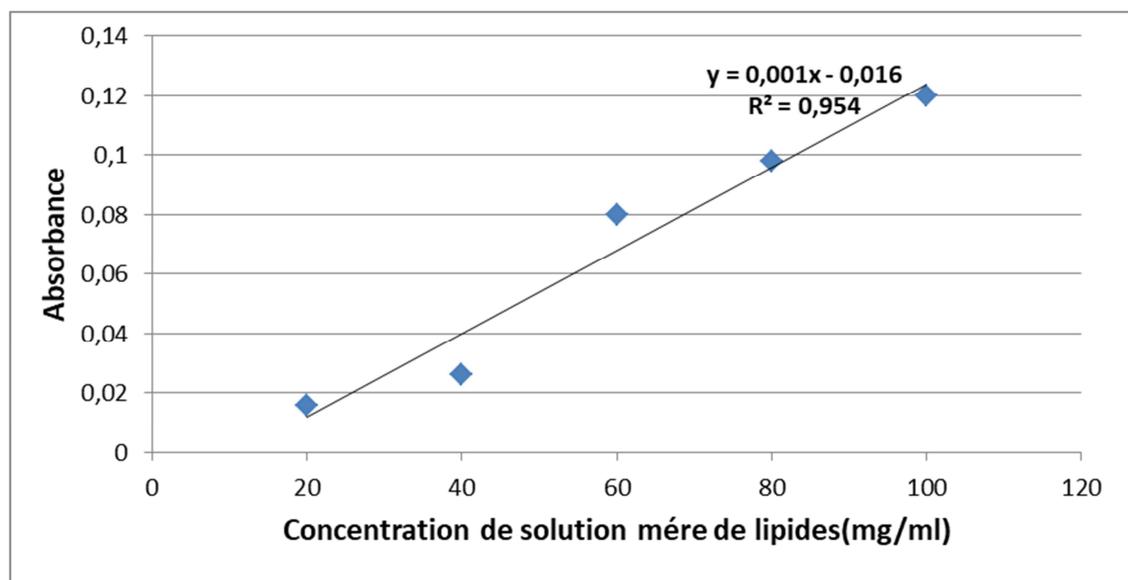


Figure 20. Droite de régression exprimant les absorbances à 530 nm en fonction de la concentration de solution mère de lipides (mg/ml) (R^2 : coefficient de détermination).

Partie pratique

Annex03 : dosage des protéines

Tableau 13 : la réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines ou niveau hépatopancréas

Tube	1	2	3	4	5	6
BSA (µl)	00	20	40	60	80	100
Eau distillé	100	80	60	40	20	00
ReactifBBC(n	4	4	4	4	4	4

Tableau 13 : Dosage des protéines : résultats des densités optiques de la gamme d'étalonnage.

Concentration de	20	40	60	80	100
Absorbance (D	0,165	0,3221	0,5581	0,6519	0,8126

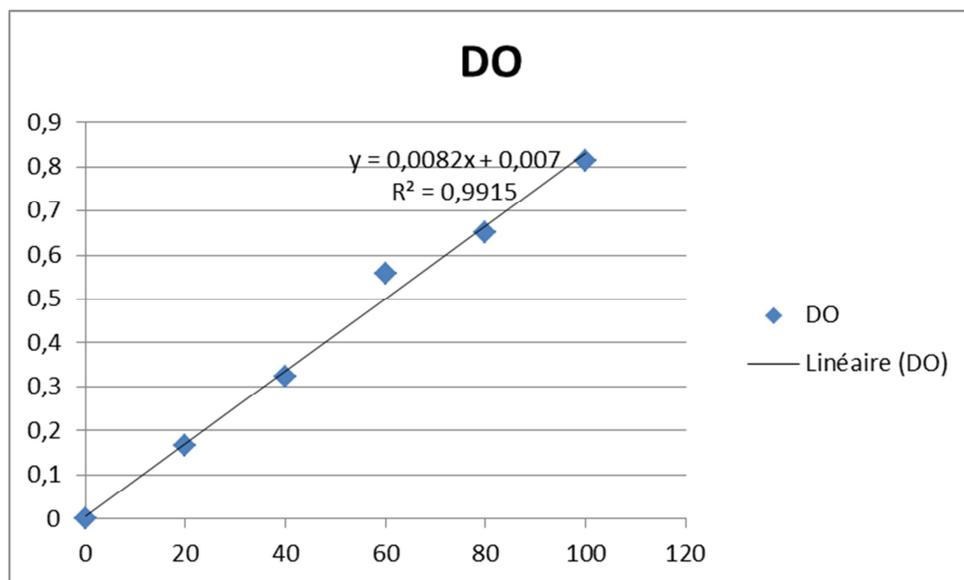


Figure 32 : Droite de régression expérimentant les absorbances à 595 nm en fonction de concentration BSA (mg/l) (R^2 : coefficient de détermination).