



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée

Mémoire

Présentée en vue de l'obtention du diplôme **Master**

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : PHARMACO-TOXICOLOGIE

Présenté Par : M^{elle}. Zoghbi Assiaet

M. Bougherara Zakaria

Intitulé :

**Effet protecteur d'un extrait d'une plante
médicinale (Rosmarinus Officinalis) sur l'hépatotoxité du Chlorure de Nickel chez les rats Wistar**

Devant le jury :

Mme. Gedri kamilia	MCA	Université Larbi Tébessi- Tébessa	Président
M. Gasmi Salim	MCB	Université Larbi Tébessi- Tébessa	Rapporteur
Mme. Hamel Mehdi	MAA	Université Larbi Tébessi- Tébessa	Examineur

Année universitaire : 2020/2021

Résumé

L'objectif de cette étude était d'étudier l'effet de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* contre les altérations induites par le chlorure de nickel dont indices : dysfonctionnement hépatique et système de défense antioxydant du foie.

20 rats Wistar mâles ont été divisés en quatre groupes de cinq chacun ; Contrôle, extrait de *Rosmarinus officinalis* (100 mg/kg/j), chlorure de nickel (10 mg / kg/j), mixture de chlorure de nickel et d'extrait de *Rosmarinus officinalis* (10 et 100 mg/kg/j). Par voie orale durent 28 jours.

Le traitement au NiCl₂ a conduit à une augmentation significative des marqueurs biochimiques est représentée par les protéines tissulaires, ainsi que GSH sa concentration a également augmenté. Le niveau de la peroxydation lipidique (MDA) a été augmenté aussi. Alors que l'activité des enzymes antioxydantes, GPx et CAT ont été diminuées. Notant qu'il existe une augmentation du GST. Le traitement avec l'extrait de romarin a atténué la variation des marqueurs biochimiques, diminuant la peroxydation lipidique du foie, avec une augmentation concomitante de la teneur réduite en glutathion (p <0,05) et de la restauration des enzymes antioxydantes (GST, CAT, GPx) dans le foie.

Pour conclure, ces résultats ont démontré que l'extrait de romarin améliorerait efficacement l'hépatotoxicité causées par le chlorure nickel.

Mots clés : Nickel, *Rosmarinus officinalis*(Romarin), Hépatotoxicité, Stress Oxydant, Rats.

Abstract

The objective of this study is to examine the effect of Rosmarinus extract against nickel chloride-induced symptom of hepatic, dysfunction and antioxidant defense system of the liver.

20 Male Wistar rats were divided into four groups to five each: Control, rosmarinus officinalis extract, nickel chloride and mixture (NiCl₂/rosmarinus). Rosmarinus officinalis (100 mg / kg / day) and nickel in a form of nickel chloride (NiCl₂) (10 mg / kg / day). In orally manner during 28 days.

Treatment with NiCl₂ led to a noticeable increasing in biochemical signs is represented by total proteins, as well as the GSH's concentration is also increased. The level of lipid peroxidation (MDA) was also increased. While the activity of antioxidant enzymes, GPx and CAT have been decreased, noting that there is an increase in GST. Treatment with rosemary extract attenuated the variation in biochemical markers, decreasing the lipid peroxidation of the liver. With a concomitant increase in the reduced content of glutathion ($p < 0.05$) and the restoration of antioxidant enzymes (GST, CAT, GPx) in the liver.

The experiment continued for four consecutive weeks. After one night without feeding, the animals were sacrificed, samples of organs (liver) were taken, and hepatic antioxidant signs were determined.

To conclude, these results demonstrated that rosmarinus extract effectively improved hepatotoxicity caused by nickel chloride.

Key words: Nickel, Nickel chloride, Rosmarinus officinalis (Rosemary), Hepatotoxicity, Oxidative Stress.

الملخص

يعتبر الكبد من أكبر أعضاء الجسم، كما انه يصنف ضمن الغدد الموجودة بداخله، حيث يلعب دورا هاما في مختلف عمليات الأيض (الاستقلاب) كإنتاج العصارة الصفراوية، استقلاب البيليروبين والدهون و الكربوهيدرات و البروتينات...إلخ، تتم عملية تخزين المعادن و الفيتامينات فيه، و له دور في عملية تخثر الدم و حمايته من التجلط و تصفيته، و تعزيز المناعة و أدوار أخرى لا يمكن حصرها في هذا الملخص.

تُعدّ إزالة السُميّة أحد الوظائف الجوهرية للكبد، مثل إعادة هيكلة المواد السامة وتحويلها لشكل آمن، أو تحطيم المواد السامة إلى مواد أكثر أمناً، أو إبعادها والتخلص منها عبر العصارة الصفراوية، و قد يُضطرّ إلى تخزين المواد السامة بداخله كخيارٍ أخير من أجل الحفاظ على صحة باقي أعضاء الجسم، وبناءً على ذلك يُمكن القول بأنّ الكبد مسؤول عن إزالة سمية جميع المواد التي تدخل إلى الجسم بطرق مختلفة، هذا إلى جانب تنقية السموم، والعقاقير الطبية، و مختلف المواد الكيميائية و بعض المعادن السامة وغيرها، إلا أنه قد تتعرض خلاياه للتلف من كثرة تعرضها لهذه المواد.

في دراستنا هذه قمنا باستخدام جرذان ذكور من صنف ويستار كنموذج حيواني للتجريب، وقسمناها إلى أربع مجموعات، كل منها تضم خمس أفراد: مجموعة شاهدة (ماء شرب)، مجموعة معالجة بمستخلص إكليل الجبل (100ملغ/كغ/يوم)، مجموعة معالجة بكلور النيكل (10ملغ/كغ/يوم) ومجموعة معالجة بمزيج كلور النيكل (10ملغ/كغ/يوم) ومستخلص إكليل الجبل (100ملغ/كغ/يوم) معا.

بعد انقضاء مدة المعالجة بالمواد سائلة الذكر، قمنا بتقييم السمية الكبدية لكلور النيكل، بالإضافة إلى تقييم التأثير الوقائي لمستخلص إكليل الجبل ضد هذه السمية وهذا من خلال معايرة الإنزيمات والبيبتيد المضادة للإجهاد التأكسدي والمعايير البيوكيميائية وناتج بيروكسيد الدهون.

النتائج المتحصل عليها تجريبيا أظهرت اضطرابات على مستوى المجموعة المعالجة بكلور النيكل تجلت في زيادة نسبة البروتين النسيجي كمعيار بيوكيميائي تدل على تأثرها بسمية هذا الأخير بالإضافة إلى معايير مضادات الأكسدة التي تؤكد زيادة في نسبة الجلوتاثيون المرجع وناتج الأكسدة الليبيدية مالون ثنائي الألدهيد، وانخفاض في النشاط الأنزيمي للجلوتاثيون بيروكسيد والكاتالاز، في المقابل زيادة في النشاط الأنزيمي بالنسبة للجلوتاثيون الناقل.

كما أظهرت هذه النتائج أن علاج الجرذان بمستخلص إكليل الجبل أدى إلى التحسن من الإضطرابات والعودة إلى الحالة الطبيعية للمعايير السابق ذكرها.

ما توصلنا إليه في الأخير أن مستخلص هذه النبتة له تأثير وقائي مضاد للإجهاد التأكسدي ضد التسمم الكبدية الناتج عن المادة الكيميائية محل الدراسة.

الكلمات المفتاحية: النيكل، إكليل الجبل، السمية الكبدية، الإجهاد التأكسدي، الجرذان.

Remerciement

*A*près Cinque ans d'études et de travail continu, le moment attendu et arrivé.

Nous remercions avant tous, Dieu « ALLAH » le tout puissant pour la volonté, santé et le courage qu'il nous a donné durant toutes les longues années d'études afin que nous puissions arriver là.

Au moment où s'achève ce travail, permettez de remercier du fond du cœur à notre encadreur : *le Dr. Gasmi Salim* pour son encadrement exemplaire et complet. Son soutien pendant notre travaille, sa compétence, son aide précieuse pour notre recherche, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance nous ont beaucoup appris. Nous avons l'honneur de vous exprimer nos très profondes reconnaissances et nos sentiments les plus sincères. Son encadrement était de plus exemplaire.

Merci monsieur

Je remercie sincèrement Monsieur *Saker Hichem* mon Co- directeur de mémoire, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour m'avoir accordé sa confiance que pour m'avoir guidé dans mon travail.

Je vous prie de croire en ma profonde reconnaissance et l'expression de mon profond respect Je tiens à remercier vivement *Madame Guedri*, qui malgré ses nombreuses obligations a bien voulu faire partie de ce jury. Qu'il reçoive toute ma gratitude et mon respect.

J'exprime aussi toute ma gratitude à *Madame Hamel*, pour l'intérêt et l'attention qu'il a accordé à ce travail, et pour avoir accepté de faire partie de ce jury de participer à ce jury et d'examiner avec soin ce mémoire

Tous ceux et toutes celles qui, pendant cette période de mémoire, m'ont dirigée, soutenue, aidée et encouragée. Tous ceux qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à nos collègues de travail au le laboratoire -Alia Saleh-

Enfin nous veux dire merci à tous les enseignants du département de biologie l'université de -Tébessa- pour l'aide pendant notre formation d'étude et Nous remercions toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.

Dédicace

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce travail aux personnes les plus chères au monde :

Ma mère, pour son amour, sa gentillesse et sa tendresse, pour son sacrifice qu'elle n'a cessé de faire tout au long de ma formation et surtout pour ses prières. Pardonne-moi chaque minute de souffrance que je t'ai causée durant ce dur labeur ; je t'aime très fort chère ange.

Mon père, j'espère que tu trouveras dans ce travail toute la fierté que peut éprouver un père pour sa fille.

Mon frère unique, Aminemon bras, mon héros, merci pour votre compréhension.

Mes chères sœurs, Sara, Maria, Mouna, merci pour vos conseils, votre soutien, vos encouragements et surtout vos bénédictions et votre amour.

Tout le membre de ma famille grande et petite.

Ma belle-mère, Mina, merci d'être à côté à moi et merci pour tes prières pour moi.

J'aimerais également remercier une personne qui compte beaucoup pour moi " Naoufel", qui me font oublier tous mes soucis avec leurs douces paroles et leur charmant sourire enfantin. Merci pour votre amour sans limite.

Mes chers amis, Dr Souhila, Dr Aouni hamza, Dr Karim, Dr BoukhelfaMaroua, Dr Ben Aicha Brahim, Rayane, Wafa, merci d'être toujours à côté de moi.

Et sans oublier celle qui a partagé le plaisir de ce travail avec moi mon binôme Zakaria

A tous ceux que j'aime et que je respecte.

Assia

DÉDICACES

*Avant de dédier ce travail, nous tenons d'abord à
remercier ALLAH Tout-Puissant qui nous a permis de mener
à bien ce humble travail.*

À mes parents.

À ma femme et mes enfants.

À mes frères et sœurs.

Et à tous mes proches sans exception.

*Et sans oublier celui qui m'a fait partager la joie de ce
travail, ma binôme Assia.*

A tous ceux que je respecte.

Zakaria

Liste des abréviations :

REL : réticulum endoplasmique lisse.

REG : réticulum endoplasmique glandulaire.

Cyt P450 : Cytochromes P450.

GSH : Glutathion.

Ni : Nickel

MTs :méthallothionéines

NiCl₂: Chlorure de Nickel

GST : Glutathion S- transférase

CAT : Catalase

GPx: Glutathion peroxydase

MDA : Malondialdéhyde

EOA : Espèces oxygénées activées

SH : Le groupement sulfhydrile

SOD : Superoxydesdismutases

CAT : Catalase

GPx : Glutathion peroxydase

Liste Des Figures

Figure 01	Transport du nickel et ses interactions avec les molécules majeures de la cellule	13
Figure 02	Anatomie du foie	16
Figure 03	segmentation du foie	16
Figure 04	Vascularisation du foie	17
Figure 05	Structure d'un lobule hépatique	18
Figure 06	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.	24
Figure 07	Mécanisme de peroxydation des lipides	26
Figure 08	Schéma des systèmes enzymatiques et non-enzymatiques de détoxification des ROS	30
Figure 09	Conséquences pathogènes du stress oxydant.	31
Figure 10	Fleurs et feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i>	33
Figure 11	Aspects morphologies du romarin	34
Figure 12	Rat Wistar (photo personnelle).	43
Figure 13	Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	45
Figure 14	Extraction du foie (photo personnelle).	46
Figure 15	Variation de l'activité de Glutathion réduit (GSH) foie chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours	53
Figure 16	Variation de l'activité de Glutathion –S- transférase (GST) foie chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours	54
Figure 17	Variation de l'activité de Glutathion peroxydase (GPx) foie chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours	55
Figure 18	Variation de l'activité du Catalase (CAT) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours	56
Figure 19	Variation de l'activité du Malon-dialdéhyde (MDA) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours	57
Figure 20	Variation de taux des protéines chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.	58

Liste Des Tableaux

Tableaux	Titre	Pages
Tableau 01	Quelques caractéristiques physico-chimiques du nickel	08
Tableau 02	Principales d'espèces réactives de l'oxygène biologique	24
Tableau 03	Les variations de la composition chimique de romarin	35
Tableau 04	Structures chimiques des composés présents dans le romarin.	36
Tableau 05	Variation de l'activité du GSH chez les rats dans des différents lots expérimentaux	53
Tableau 06	Variation de l'activité du GST chez les rats dans des différents lots expérimentaux	54
Tableau 07	Variation de l'activité du GPx chez les rats dans des différents lots expérimentaux.	55
Tableau 08	Variation de l'activité du CAT chez les rats dans des différents lots expérimentaux.	56
Tableau 09	Variation du taux des protéines hépatiques chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).	57

Tables des matières

I. Introduction

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 01 : Chlorure de Nickel

1.	Généralité sur les métaux lourds	06
2.	Nickel	07
2.1 .	Définition	07
2.2 .	Propriétés physique et chimique	07
2.3 .	Usages et sources d'exposition	08
2.3.1	Exposition professionnelle	09
2.3.2	Exposition extraprofessionnelle	09
2.4	Toxicocénitique de Nickel	10
2.4.1	Absorption	10
2.4.2	Distribution	10
2.4.3	Elimination	10
2.5	Toxicodynamique	11
2.6 .	Toxicité de Nickel	11

Chapitre 02 : Foie

1.	Généralité sur l'hépto-toxicité	15
2.	Anatomie et vascularisation du foie	15
3.	Histologie du foie	17
4.	Fonctionnement hépatique	19
4.1.	Rôle d'épurateur	20
4.2.	Rôle métabolique	20
4.3.	Rôle antioxydant	20
5.	Effet de nickel sur la fonction hépatique	21

Chapitre 03 : Stress oxydatif

1.	Rappel sur le stress oxydatif	23
2.	Espèces réactives d'oxygène	23
3.	Rôle physiologique des espèces réactives d'oxygène	25
4.	Stress oxydant et conséquences cellulaires	25
4.1.	Peroxydation lipidique	25
4.2.	Oxydation des protéines	26

4.3.	Altération de l'ADN	26
4.4.	Oxydation des glucides	27
5.	Systèmes de défenses antioxydants	27
	A. Système anti oxydant enzymatique	28
	a. Superoxyde dimutase (SOD)	28
	b. Catalase (CAT)	28
	c. Glutathion peroxydase (GPX)	28
	B. Système antioxydant non enzymatique	28
	a. Glutathion	28
	b. Acide urique	28
	c. Polyphénols	29
	d. Oligo-éléments	29
	e. Vitamines E, C	29
6.	Liaison entre le stress oxydatif et les maladies hépatiques	30

Chapitre 04 : Rosmarinus Officinal

1.	Généralité sur les plantes médicinales	33
2.	Rosmarinus officinalis	34
	2.1. Description de la plante	34
	2.2. Classification	34
	2.3. Utilisation de la plante	35
	2.4. Composition chimique (Principaux phytocomposés)	35
	2.5. Propriété pharmacologique	37
	2.5.1. Activité Antibactérienne	37
	2.5.2. Activité Antioxydante	37
	2.5.3. Activité Anti-inflammatoire	38
	2.5.4. Activité antiproliférative	38
	2.5.5. Activité hépato-protectrices	38
	2.6. Pharmacocinétique	38
	2.7. Mode d'action de la plante	38
	2.8. Etude toxicologique	39
	2.9. Toxicité des plantes médicinales	39

PARTIE EXPERIMENTAL

I.	Matériel et méthode	43
----	---------------------	----

1. Matériel	43
1.1. Matériel chimique	43
1.2. Matériel biologique	43
2. Méthodologie	44
2.1. Entretien des animaux	44
2.2. Choix des doses	44
2.3. Répartition et traitement des rats	44
2.4. Sacrifice et prélèvement	45
2.5. Estimation du poids relatif du foie	46
2.6. Préparation des échantillons	46
3. Méthode de dosage	47
3.1. Paramètres biochimiques (dosages des protéines)	47
3.2. Paramètres du stress oxydant	47
3.2.1. Dosage de la teneur du Glutathion (GSH)	47
3.2.2. Dosage de l'activité du Glutathion S-Transférase (GST)	48
3.2.3. Dosage de l'activité du Glutathion peroxydase (GPx)	49
3.2.4. Dosage du taux du Malon-dialdéhyde (MDA)	50
3.2.5. Dosage de l'activité enzymatique du Catalase (CAT)	51
4. Etude statistique	51

Résultat et Discussion

1. Résultat	53
1.1. Effet du traitement sur les paramètres enzymatiques.	53
1.1.1. Effet du traitement sur le teneur du Glutathion réduit.	53
1.1.2. Effet du traitement sur l'activité du Glutathion–S-transférase.	53
1.1.3. Effet du traitement sur l'activité du Glutathion peroxydase.	54
1.1.4. Effet du traitement sur l'activité de Catalase.	55
1.1.5. Effet du traitement sur le taux de Malon dialdéhyde.	56
1.2. Effet du traitement sur les paramètres biochimiques (Protéines)	57
2. Discussion	60

Conclusion	64
-------------------	-----------

Référence bibliographique	66
----------------------------------	-----------

Annexes	73
----------------	-----------

Introduction



Introduction

Les activités agricoles et industrielles anthropiques croissantes sont à l'origine de la pollution de l'environnement par les métaux lourds. Alors que de nombreuses molécules organiques peuvent être décomposées. Au contraire, les métaux lourds ne peuvent pas et leur concentration augmente régulièrement dans l'atmosphère, les sols et les eaux (**Zorrig, 2011**). La pollution de l'environnement et l'exposition permanente, intense et exponentielle des êtres humains aux produits chimiques (hygiène personnel, soins de santé...) contenant ces métaux lourds toxiques comme le plomb, le nickel... sont de graves problèmes qui ne cessent de prendre de l'ampleur dans le monde, ces derniers causent une génotoxicité par conséquent, ils ont contribué à des complications comme des mutations, ce qui à son tour peut provoquer divers troubles somatiques et héréditaires (**Rabbani et al., 2006**).

Le nickel est un élément naturel de la croûte terrestre et il se présente sous des formes chimiques différentes, quand ses caractéristiques physicochimiques ont été mises en évidence et utilisées plus tard, il servi pour protéger l'acier contre la corrosion (le nickelage) (**Maniyar et al., 2012**). Les principales raisons de l'exposition humaine au nickel sont les aliments tels que les poissons, ainsi que les légumes riches en fibres et au fumer du cigarette, car le métal est principalement absorbé par le système digestif, distribué dans le sang, puis s'accumule dans différents organes cibles provoquant des effets hépatotoxiques, néphrotoxiques, oxydation des macro-molécules biologique par des espèces réactifs de l'oxygène générés par le nickel ou l'un de ses dérivé (**Boulila et al., 2014**).

Les cellules ont développé des systèmes de défenses antioxydants permettant de contrôler et de maîtriser le plus précisément possible ce métabolisme pour se protéger des effets délétères des ROS (**Favier, 2006**). Ces systèmes antioxydants protègent les compartiments cellulaires des attaques radicalaires en interagissant directement avec ces radicaux (dismutation) ou indirectement en produisant des peptides tels que le glutathion, ferritine (**Leverve, 2009**). De nombreuses études indiquent une production massive d'espèces oxydantes et l'inhibition des activités des principales enzymes antioxydants due à la cytotoxicité du nickel dans une cellule peuvent favoriser une mort cellulaire excessive ou une évolution tumorale et/ou l'apparition de plusieurs maladies (**Favier, 2003**). Les effets oxydatifs peuvent être réduits par les antioxydants naturels tels que les oligoéléments, les vitamines et encore les plantes médicinales (**Haleng, 2007**). Plusieurs recherches s'orientent vers les plantes médicinales considérées comme source énorme de multiples substances phytothérapeutiques douées d'activités à la fois antioxydants et qui peuvent être l'arme

permettant de faire face au stress oxydant et ses dégâts au niveau des organes de l'être vivant. Ainsi, Le présent travail s'intéresse à l'étude de l'effet correcteur d'une plante médicinale algérienne (*rosmarinusofficinalis*), vis-à-vis l'hépatotoxicité induite par le chlorure de nickel chez les rats de la souche Wistar(**Favier, 2003**).

Nous allons donc, dans un premier temps rappeler l'état des connaissances bibliographiques sur le nickel, le stress oxydatif et l'action antioxydant de *Rosmarinus officinalis*(**Haleng, 2007**).

Dans la partie expérimentale, nous allons s'intéresser à évaluer la variation des activités des principales enzymes antioxydants (glutathion peroxydase, glutathion S-transferase et catalase), et la variation du taux de glutathion intracellulaire, taux du MDA résulte de la peroxydation lipidique et le taux des protéines tissulaire, suivant le traitement par le *rosmarinus* seul, et les traitements par mixture (NiCl_2 /rosmarinus) Et enfin le traitement par NiCl_2 (**Favier, 2003**). L'ensemble des résultats nous permettra d'approfondir le rôle de la phytothérapie de la forme de l'extrait du romarin à diminuer l'hépatotoxicité et l'effet du stress oxydatif du chlorure de nickel chez les rats Wistar(**Favier, 2003**).

Partie

Bibliographique



Chapitre 01 :

Chlorure de Nickel



1- Généralité

Les métaux lourds sont définis comme étant les éléments métalliques dont la masse volumique est supérieure à 5 g/cm³ (**Lapedes, 1974**), tels que (cadmium, mercure, plomb, cuivre, nickel, zinc, cobalt, manganèse, chrome...) Souvent, ils sont présents dans l'environnement sous forme de traces. Les plus toxiques d'entre eux sont le cadmium, l'arsenic, le plomb et le mercure. Ces éléments, par nature non biodégradables, présentent une forte écotoxicité et pourraient être impliqués dans de nombreuses pathologies (**Remon, 2006**). Ces éléments se retrouvent naturellement dans la croûte terrestre et dans tous les êtres vivants, à des concentrations variables selon l'environnement et les organismes. Dans la croûte terrestre, les métaux lourds se retrouvent sous forme de minerai, où ils peuvent être mobilisés à travers des phénomènes naturels tels que l'érosion (l'érosion du sol contribue à la remise en suspension des minéraux sous forme de particules ou gazeuses) ou des éruptions volcaniques (processus de précipitation naturelle d'origine volcanique), mais aussi à travers des travaux anthropiques Cette dernière résulte des décharges physiques liées aux activités métallurgiques et minières et des décharges de produits en fin de vie comme les cellules et les batteries (**Nowak et al., 2002**). Les émissions atmosphériques constituent également une source importante de pollution par les métaux lourds. Alors que de nombreuses molécules organiques peuvent être dégradées, les métaux lourds ne le peuvent pas et leur concentration augmente régulièrement dans les sols et les eaux (**Galvez-Cloutier et Lefrançois, 2005**).

Chez les végétaux et les animaux, certains métaux lourds sont indispensables à faibles concentrations aux processus physiologiques majeurs (Cu, Zn, Fe, Mn, Ni, Co) ; Ils ne deviennent toxiques que lorsque la limite de concentration est dépassée (**Zorrig, 2011**). De nombreux métaux lourds sont essentiels pour les plantes et les animaux lorsqu'ils sont présents dans la culture moyenne à faibles concentrations (micronutriments : Cu, Zn, Fe, Mn, Mo, Ni et Co). Ils ne deviennent toxiques que lorsque la limite de concentration est dépassée (Dans ce cas, le terme métaux au lieu de « micronutriments ») (**Rengel, 1999**). Ces dernières années, les nanomatériaux ou les matériaux nanostructures sont devenus une alternative prometteuse pour améliorer les propriétés physiques et chimiques des matériaux pour un large éventail d'applications allant du secteur automobile à l'électronique (**Godon, 2010**).

2- Chlorure de Nickel

2.1 Définition

L'élément nickel a été découvert par Cronstedt en 1751, et ce dernier a été purifié comme métal par Berthier au début des années 1800 (**Hausinger, 1993**). Le Nickel (Ni) est un élément métallique naturellement présent dans la croûte terrestre. En raison des propriétés physiques et chimiques uniques, le nickel est un métal blanc grisâtre brillant relativement dur malléable et ductile ; il occupe le 24^e rang et le huitième groupe de transition avec le fer et le cobalt. On peut le trouver dans des produits à base de métaux comme les bijoux. Les aliments contiennent naturellement de petites quantités de nickel. Les plus riches en nickel sont le cacao, le chocolat, le soja, les légumes secs, les noix et les céréales, Il possède une bonne résistance à l'oxydation et à la corrosion et est ferromagnétique (**Barbara et al., 2009**) le nickel métallique et ses composés sont largement utilisés dans les industries. Par conséquent, les humains et les animaux sont exposés au nickel via, le milieu professionnel et environnemental se produit principalement à travers fusion, exploitation minière, galvanoplastie, opération de raffinage pendant fabrication d'acier et autres alliages, batteries, peintures et implant médical (**Bouhalit et al., 2017**).

Le Chlorure de nickel, un polluant environnemental, agit comme un stress oxydant induisant un cytotoxique. Ce dernier démontré en mesurant les produits de la peroxydation lipidique. Ça peut provoquer également des effets génotoxiques donnant des tumeurs avec un changement dans la perméabilité de la membrane. Ainsi, le métal provoque divers effets néfastes au niveau cellulaire et tissulaire (perturbation de l'état redox des tissus, des problèmes d'équilibre des phosphates, altération hépatorenale, effets hématologiques, etc.) (**Boulila et al., 2014**).

2.2. Propriétés physique et chimique

Le nickel est un métal blanc argenté qui forme le premier groupe de séries de transition VIIIb du tableau périodique avec le cobalt et le fer Il a une conductivité thermique et électrique relativement élevée ainsi que des propriétés ferromagnétiques ; Mais moins que l'argent et le fer respectivement (**Hausinger, 1993**).

Le nickel appartient à une série de métaux de transition. Cette propriété résiste à la corrosion par l'air, l'eau et les alcalis, mais le nickel se dissout facilement dans les acides oxydants dilués. Des propriétés sidérophiles des alliages de fer nickel (**Hausinger, 1993**).

Les sels de nickel d'acides forts et d'acides organiques solubles dans l'eau, par contre les sels de nickel d'acides inorganiques faibles sont insolubles. Contrairement aux sels de nickel solubles (chlorure, nitrate, sulfate), le nickel métallique, les sulfures de nickel et les oxydes de nickel sont peu solubles dans l'eau. Les carbonates de nickel et les hydroxydes de nickel sont modérément solubles dans l'eau (**Hausinger, 1993**).

Tableau 01 :Quelques caractéristiques physico-chimiques du nickel (**Hausinger, 1993**).

Caractères physico-chimiques	Donnés bibliographiques
Numéro atomique	28
poinds atomique	58,71
Point de fusion	1455 °C
Point d'ébullition	2730 °C

Le nickel est composé de cinq isotopes stables: 58Ni (68,274%), 60Ni (26,095%), 61Ni (1,134%), 62Ni (3,593%) et 64Ni (0,904 %). Parmi les isotopes instables, le 63Ni a également joué un rôle important dans les études biologiques en agissant comme un traceur radioactif (**Hausinger, 1993**).

2.3. Usages et sources d'exposition

Le nickel et ses composés ont de meilleures propriétés physiques, ce qui rend ce métal le plus demandé dans divers produits et procédés (**Hoet P, 2007**).

2.3.1. Exposition professionnelle

L'exposition au nickel peut se produire dans diverses conditions :

- La production du nickel à partir du minerai sulfuré tels que (pentlandite : 34 % Ni, pyrrhotite: 6 % Ni...etc.), le reste du minerai oxydé (garniérite: 3 à 5% de nickel; latérites ou limonite : 1à 2% de nickel)

- L'exposition aux sulfures se produit principalement pendant les processus de traitement des minerais et de raffinage du métal, en particulier le mono sulfure de nickel (NiS) et le

sulfure de sous-nickel (Ni_3S_2), qui est un composant majeur des matériaux à base de nickel (Hoet P, 2007).

- Opérations de revêtement (nickelage) électrolytique des métaux et production d'aciers inoxydables et réfractaires, aciers alliés spéciaux résistants à la corrosion et à la chaleur) et d'alliages non ferreux (fabrication de divers outils et équipements, pièces de monnaie, ustensiles de cuisine, équipements électriques, véhicules ...) et superalliages par le cobalt qui sont des alliages de composition complexe présentant une excellente résistance à la corrosion sèche à haute température ainsi que de très bonnes propriétés mécaniques (limite d'élasticité élevée, résistance au fluage)(Hoet P, 2007)

- Production de plastique et de caoutchouc synthétique, l'incinération émet également ses composés.

- De nombreux ciments contiennent également des traces de nickel.

- Fabrication de piles et de pigments pour l'émail, la céramique et la porcelaine, la teinture et l'impression.

2.3.2. Exposition extraprofessionnelle

- Dans la population générale, le nickel absorbé provient principalement des aliments et de moindres quantités d'eau (robinets et tuyauteries). La alimentation riche en nickel tels la farine d'avoine, le cacao, le chocolat, les noix, le soja, les champignons, les lentilles, divers légumes (épinards, haricots verts, ...), les margarines industrielles, le thé...

- contact quotidien avec des objets en alliage de nickel (monnaies, bijoux et accessoires vestimentaires (colliers, montres, agrafes, boutons de jeans,...), ustensiles de cuisine, ciseaux, aiguilles)(Hoet P, 2007)

- Les prothèses et les implants nickelés, les fluides et cathéters pour injection intraveineuse ou hémodialyse, les produits de contraste utilisés en radiographie peuvent provoquer une exposition iatrogène.

- La cuisson dans des étangs en acier inoxydable enrichis les aliments par le nickel.

- Consommation de cigarettes et environnements hautement industrialisés, incinération des déchets et rejet des boues.

Selon l'OMS, les niveaux d'exposition quotidienne au nickel de la population générale sont les suivants:

- alimentation : < 0,3 mg (absorption : 0,045 mg [< 15 %])
- eau de boisson : < 0,02 mg (absorption : 0,003 mg [< 15 %])
- air ambiant, urbain : < 0,0008 mg (absorption : 0,0004 mg [50 %])
- fumée de cigarette : < 0,023 mg (absorption : 0,012 mg [50 %])

2.4. Toxicocinétique

2.4.1. Absorption

D'après (Hoet,2007), (Daddouh,2016), Au milieu professionnel, la principale voie de pénétration dans l'organisme est l'absorption par l'appareil respiratoire (de mauvaises conditions de travail et une hygiène personnelle insuffisante peuvent augmenter considérablement l'exposition par le système digestif). Le dépôt, la rétention au niveau du tractus respiratoire et l'absorption du nickel après inhalation dépendent largement des caractéristiques physicochimiques des particules inhalées: la solubilité et la taille aérodynamique des particules sont les facteurs déterminants(Hoet, 2007). Chez l'homme, environ 20 à 35 % du nickel déposé au niveau des poumons sont absorbés. Le reste est expectoré ou avalé (absorption gastro-intestinale indirecte) ou retenu dans les voies respiratoires. Les fines particules peuvent être absorbées par la muqueuse nasale. Par conséquent, les composés hydrosolubles, tels que les sulfates et le chlorure de nickel, sont rapidement absorbés et éliminés avec une demi-vie de quelques heures à quelques jours, tandis que les composés moins solubles (oxyde) sont absorbés très lentement, ce qui conduit à une accumulation et excrétion dans le tissu pulmonaire. On estime que cela peut prendre plusieurs semaines, voire plusieurs années (Daddouh,2016). Le nickel métallique et les sels de nickel peuvent se dissoudre lors d'un contact prolongé avec la peau recouverte d'un film acide formé par la sueur et les acides gras du sébum. Les propriétés oxydantes de la peau entraînent la formation de Ni⁺⁺, qui pénètre l'épiderme. Cela peut se faire par diffusion transcellulaire et intercellulaire mais également et de façon non négligeable via les shunts : follicules pileux, glandes sudoripares et sébacées. Le taux d'absorption dans la circulation générale est peu important(Daddouh, 2016).

De tous les dérivés du nickel, le nickel carbonyle est le plus complètement et le plus rapidement absorbé dans l'organisme, par toutes les voies d'exposition (inhalation, ingestion, contact cutané).A noter que tous les dérivés du nickel, le nickel carbonyle est le plus complètement et le plus rapidement absorbé dans l'organisme, par toutes les voies d'exposition (inhalation, ingestion, contact cutané)(Hoet, 2007).

2.4.2. Distribution

Dans le sang, le nickel est principalement lié à l'albumine, à l' α_2 -macroglobuline et à L-histidine. Chez l'homme, la demi-vie d'absorption varie de un à deux jours. Les concentrations les plus élevées sont observées dans les tissus d'autopsie (post mortem) chez les adultes sans exposition professionnelle ou iatrogène au nickel, dans les poumons, la thyroïde et les glandes surrénales, suivies par les reins, le cœur, le foie, le cerveau, la rate et le pancréas (**Hoet, 2007**).

2.4.3. Elimination

Quelle que soit la voie d'absorption, le nickel absorbé est principalement excrété par voie urinaire, et secondairement par la bile (les cheveux, la sueur...) (**Hoet, 2007**).

2.5. Toxicodynamique

Les ions nickel seraient responsables des effets observés aussi bien inflammatoires, génotoxiques et/ou cancérogènes. Les particules insolubles du nickel tels que Ni_3S_2 ou NiO pénétreraient les cellules par phagocytose et l'ion de nickel va relargué de vésicules phagocytaires (lysosomes) dans le cytoplasme et en périphérie du noyau. Soit retenu dans le système respiratoire, est associé au développement de carcinomes et le contact cutané peut déclencher une réponse allergique (**Toualbia, 2018**). D'autre part, les ions de composés de nickel solubles tels que NiSO_4 ou NiCl_2 pénètrent dans la cellule par les canaux calciques. Au sein de la cellule, le Ni^{+2} peut se lier aux différents composés et induire la formation des radicaux hydroxyles à partir de H_2O_2 . Le nickel est capable de générer les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en affectant ainsi l'ADN et les histones par des effets génotoxiques et de mutagenèse. Le nickel peut induire la mort cellulaire par apoptose, par l'activation des caspases et les facteurs pro-apoptotiques comme Apaf-1 (Apoptotic Protease Activating Factor) (**Toualbia, 2018**), (**Hoet, 2007**), (**Daddouh, 2016**).

2.6. Toxicité du nickel

• Toxicité aiguë

Quelques cas d'intoxication grave au nickel ont été signalés. Un tableau d'intoxication aiguë avec nausées, vomissements, faiblesse, céphalées et palpitations a été décrit chez des sujets fortement exposés au nickel suite à la contamination du liquide de dialyse (**Hoet, 2007**). Des travailleurs ayant accidentellement absorbé de l'eau contaminée par du sulfate et du chlorure de nickel (doses estimées à 0,5-2,5 g Ni) ont développé des nausées, des

vomissements, des douleurs abdominales, des diarrhées, de l'asthénie, des céphalées, des vertiges, de la toux ainsi qu'un état dyspnéique avec réversibilité totale dans les 8 jours(Hoet, 2007)

L'acétate, le dichlorure et le sulfate de nickel sont à l'origine d'effets non spécifiques, comme une piloérection et une hypoactivité. Un effet sensibilisant à de très faibles concentrations en ions nickel relargués (pour le sulfate et le dichlorure de nickel)(Hoet, 2007)

NB : La DL50 orale de NiCl₂ est de 43 à 130 mg / kg de pc (rats).

• Toxicité chronique et subchronique

Des études suggèrent que les employés, étaient toujours exposés à divers contaminants tels que le soudage, le raffinage ont souvent souffert d'atteintes des voies respiratoires supérieures ont également été rapportées comme des ulcérations de la cloison nasale et des anosmies (perte d'odeur), rhinite, sinusite, perforation de la cloison nasale. Et aussi état de bronchite chronique et de fibrose pulmonaire(Maiti et al.,2018). La prévalence de petites opacités irrégulières a été examinée sur des radiographies du thorax de 745 sujets ayant été exposés à des concentrations élevées de nickel (jusqu'à 100 mg/m³ dans certaines circonstances, principalement sous forme de sous-sulfure de nickel et d'oxyde de nickel). La prévalence était similaire à celle identifiée chez des fumeurs ou des sujets exposés à des poussières faiblement fibrogéniques. Une élévation des protéines urinaires totales, de l'alpha2-microglobuline, des rétinols binding protéine et de la N'acétyl-β-D-glucosaminidase a été décrite chez des travailleurs exposés à des composés solubles du nickel (sulfate et chlorure) à une concentration moyenne de 0,75 mg Ni/m, témoignant d'une atteinte rénale tubulaire(Maiti et al.,2018).

L'exposition de la peau à l'environnement général joue un rôle important dans l'apparition d'une hypersensibilité de contact quotidien avec des objets nickelés ou en alliage de nickel (par exemple des bijoux, des pièces de monnaies, des agrafes) (Maiti et al.,2018).

Des études antérieures suggéraient qu'un dysfonctionnement mitochondrial avec perte de potentiel membranaire lors d'une exposition au nickel entraînait une diminution de la production d'ATP et l'inhibition des complexes respiratoires mitochondriaux peut également entraîner une diminution de la production d'énergie qui pourrait perturber le fonctionnement normal de la Na⁺/K⁺ ATPase. Et une diminution de la teneur en ADN mitochondrial en raison de la toxicité du nickel. L'inhibition de la Na⁺ / K⁺ ATPase induit souvent diverses

altérations des neurones conduisant à des déficits fonctionnels dans le cerveau (Maiti et al.,2018).

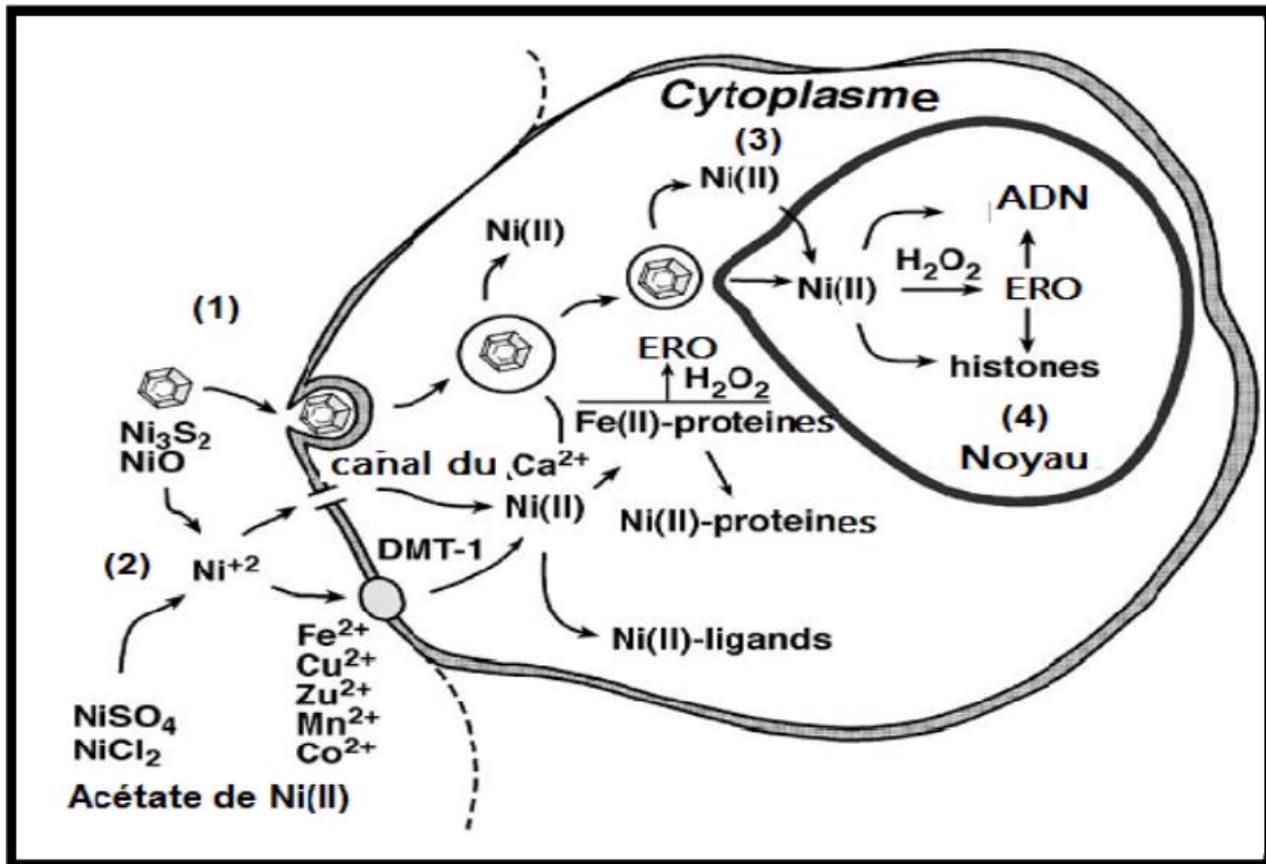


Figure 01 : Transport du nickel et ses interactions avec les molécules majeures de la cellule(Daddouh, 2016).

Chapitre 02:

Foie



1. Généralité sur l'hépatotoxicité

Le foie est un organe très important parce qu'il permet à notre organisme d'éliminer les substances nuisibles auxquelles nous sommes quotidiennement exposés. Il est défini comme le pouvoir qu'une substance (comme les pesticides, les nanoparticules, les métaux lourds et les médicaments) qui induit des dommages au niveau des cellules hépatiques. La toxicité du foie se manifeste sous forme d'inflammation (qui s'appelle l'hépatite) ou de nécrose (décès des cellules hépatiques), dans les cas plus sévères. La stéatose hépatique devient lorsqu'il y a accumulation de gras dans le foie (**Therrien, 2009**).

Un xénobiotique non seulement montre directement des effets toxiques par ses propriétés physiques/chimiques mais aussi indirectement. Une réactivité chimique intrinsèque est possible lorsque le métabolisme hépatique induit à la production locale de structure radicalaire à forte réactivité chimique conduisant à une nécrose hépatique par épuisement du système de détoxification réalisé par le glutathion (**Ophélie, 2019**).

Généralement, l'hépatotoxicité est dose-dépendante et donc prévisible, apparaissant après un court délai (1-12 semaines) après exposition au toxique. Plus rarement, elle est particulièrement dose-indépendante et apparaît avec une période d'incubation plus longue (jusqu'à 12 mois). Le mécanisme des lésions hépatiques n'est pas unique, mais est généralement spécifique du toxique en cause, avec une atteinte régiosélective du lobule hépatique (**Mégarbane et al., 2007**).

2. Anatomie et vascularisation du foie

Le foie est un organe très richement vascularisé qui joue un rôle important dans les métabolismes lipidique, glucidique et protéidique de l'organisme (**Botta A et Viala A, 2009**).

Chez l'être humain, le foie est l'organe le plus volumineux pesant environ 1.5 Kg et constitue 2% de la masse totale du corps. Il est constitué de deux parties, le lobe gauche et le lobe droit, séparés par le ligament falciforme. Ces lobes sont subdivisés en segments hépatiques délimités par des cloisons fibreuses (**Messaoudi, 2017**).

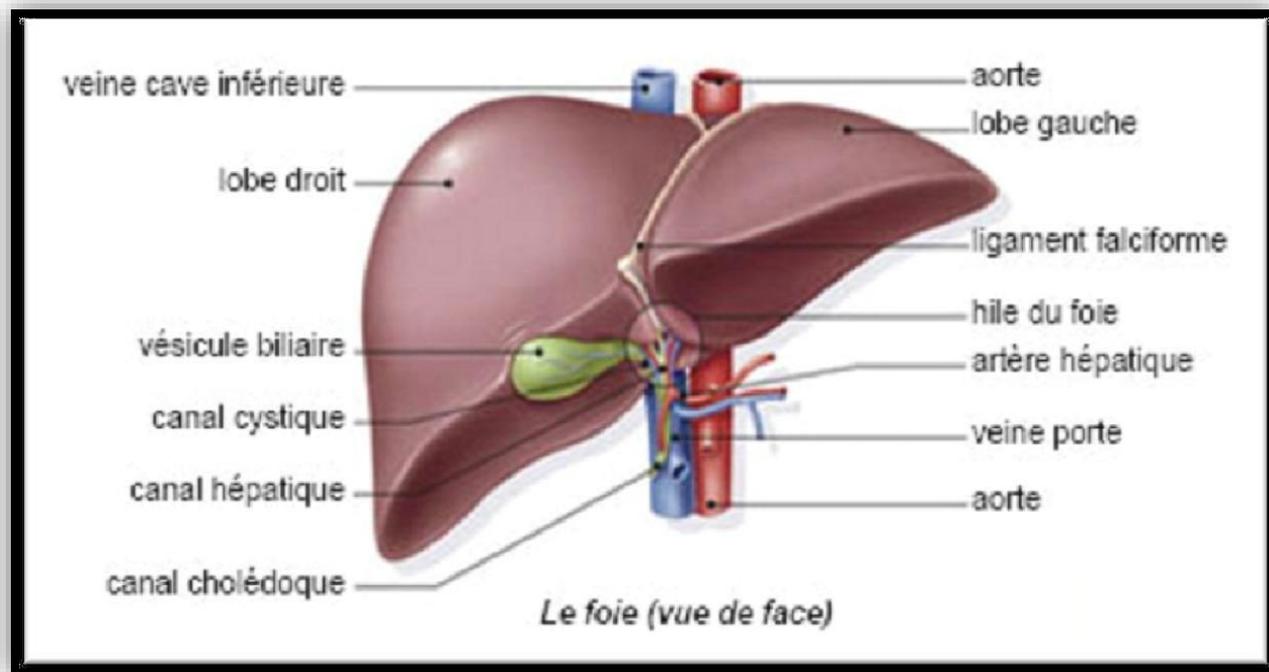
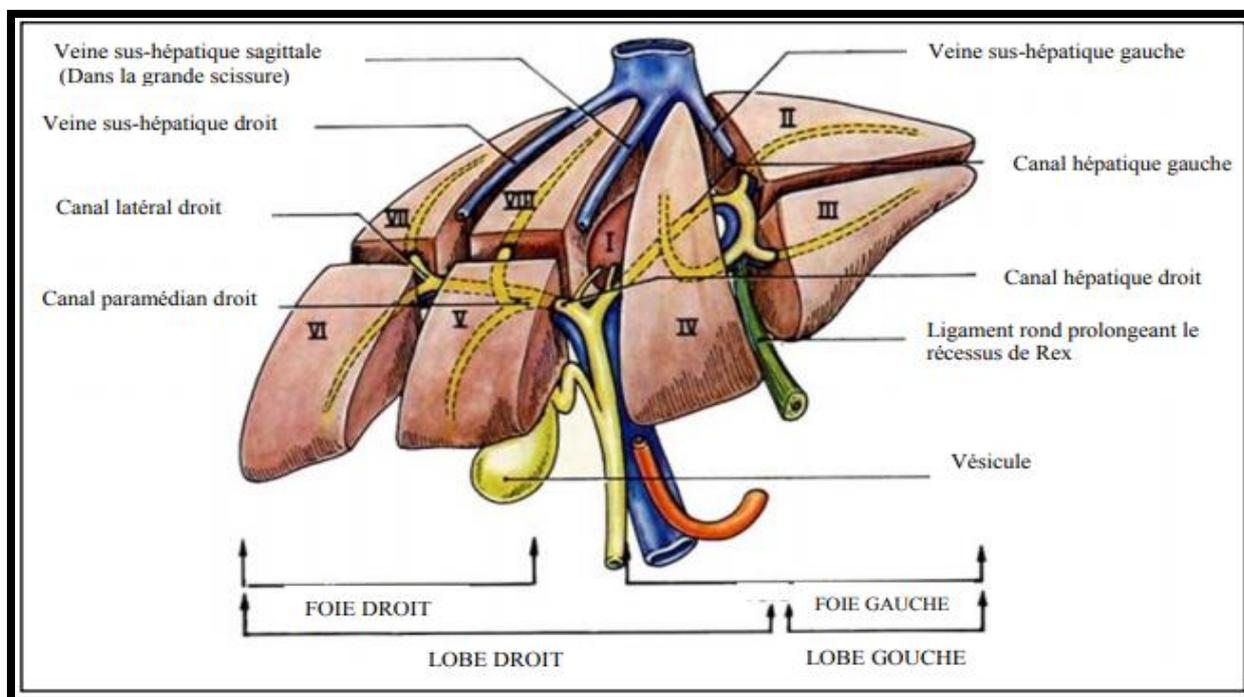


Figure 02 : Anatomie du foie(Boukhalfa et Benelmufli,2016)

Classiquement le foie est divisé en quatre lobes, chacun étant subdivisé en un ou plusieurs segments. Huit segments sont décrits chacun étant l'objet d'une vascularisation



propre (Ploton, 2018)

Figure 03 : Segmentations du foie (Bendehiba et Belghaouti, 2017)

Le foie possède une double vascularisation différente, artérielle et portale et une vascularisation afférente par les veines sus-hépatique, entre les deux se disposent les capillaires sinusoides en étroite relation avec les hépatocytes (**Benelmufti et Boukhalifa, 2016**).

D'après (**Barka t, Ben Moussa, 2018**) le foie reçoit le sang de deux vaisseaux majeurs : la veine porte et l'artère hépatique. En pénétrant dans le foie, ces vaisseaux se divisent jusqu'à former un très dense réseau de vaisseaux extrêmement fins. Le sang de l'artère hépatique apporte essentiellement l'oxygène nécessaire aux cellules hépatiques.

Les veines sus-hépatiques débutent dans le foie par les veines Centro-lobulaires, qui reçoivent le sang des sinusoides, ces veines confluent en veines sub-lobaires qui se réunissent et forment des vaisseaux de plus en plus volumineux, auxquels font suite les veines sus-hépatiques (**Barket et sabour, 2014**)

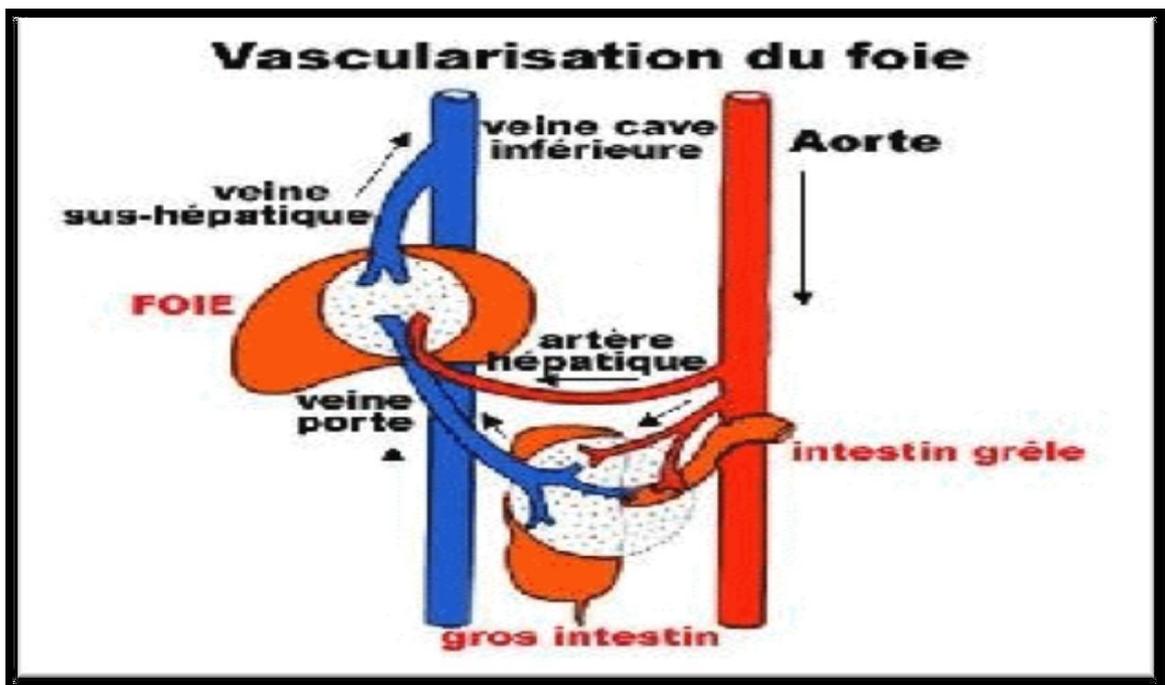


Figure 04 : vascularisation du foie (Boukhalifa et Benelmufti, 2016)

3. Histologie du foie

• *La cellule fondamentale c'est l'hépatocyte* : sont retrouvés sous forme de lobule hépatique qui est l'unité fonctionnelle du foie et qui est une cellule parenchymateuse. Elle joue un rôle important dans la formation de la bile et dans le métabolisme de nombreuses molécules.

Le cytoplasme de cette cellule est composé de plusieurs organites :

- Des mitochondries.
- Un réticulum endoplasmique lisse contenant les enzymes d'hydroxylation **REL**, (**cyt P450**) et de conjugaison dont le rôle est important lors du métabolisme des xénobiotiques.
- Un réticulum endoplasmique glandulaire **REG** permettant la synthèse de protéines plasmatiques.
- Des ribosomes libres participant à la synthèse protéique ou du glycogène.
- Des lysosomes contenant des enzymes lytiques permettant la destruction cellulaire.
- Un appareil de golgi permettant la sécrétion des protéines dans le plasma (**Deltor, 2019**)

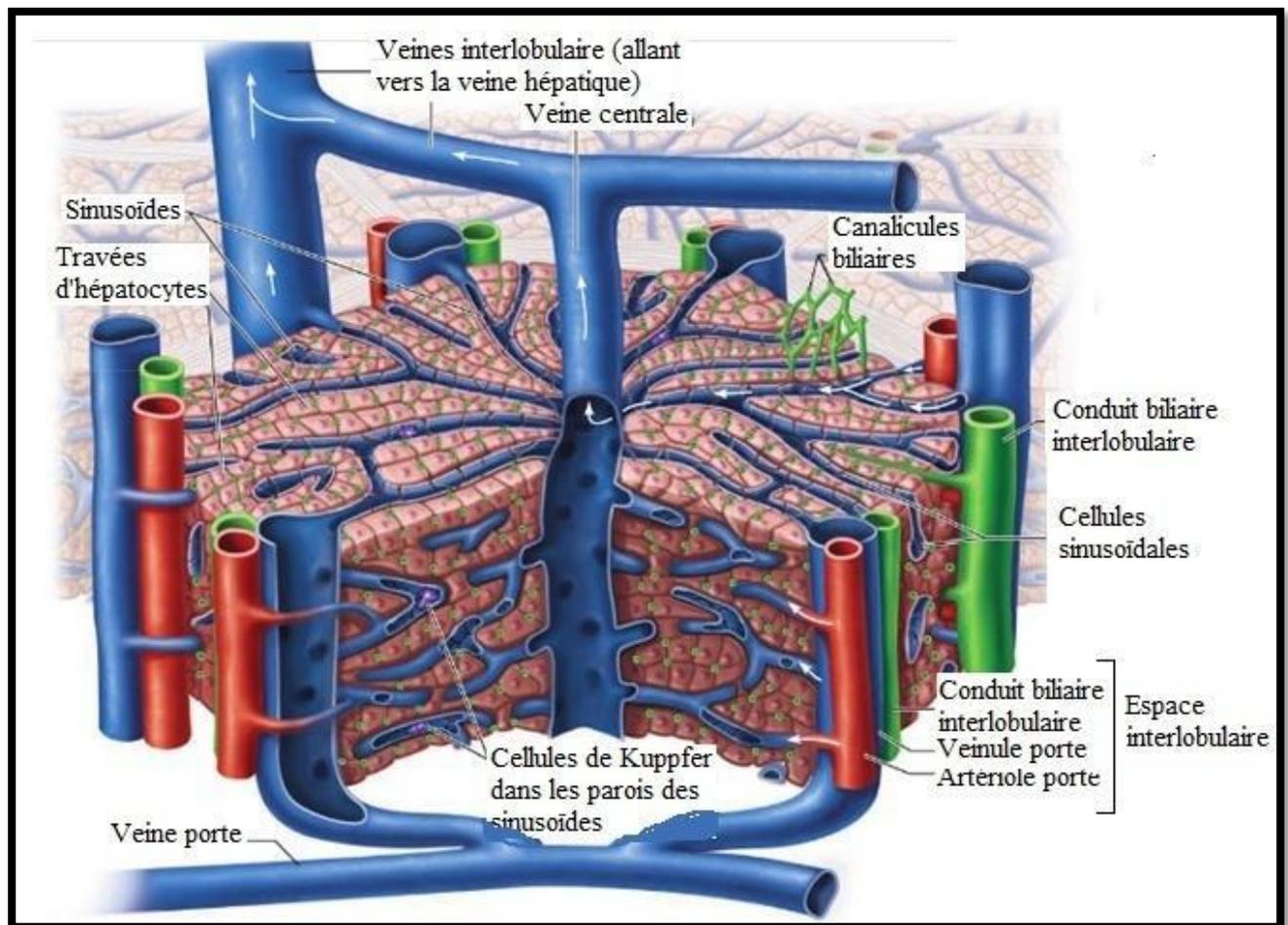


Figure 05 : Structure d'un lobule hépatique (Massaoudi, 2017)

- **Cellules endothéliales :**

Sont des cellules qui limitent la lumière des sinusoides, sont des petites taille comportant des très fins prolongements cytoplasmiques formant un réseau continu mais qui laisse persister des pores endothéliaux. L'endothélium est séparé des hépatocytes par une fente qui s'appelle l'espace péri-sinusoides(**Barket et Sabour, 2014**).

- **Les cellules de Kupffer:**

Les cellules de Kupffer représentent 5 à 10% des cellules hépatiques. Elles sont des macrophages hautement mobiles localisées à l'intérieur de la micro-vascularisation sinusoidale, attachées à la face luminale des cellules endothéliales de la sinusoidale(**Messaoudi, 2017**).

Elles remplissent leur rôle de macrophages en phagocytant les particules potentiellement néfastes de l'intestin avant qu'elles entrent dans la circulation sanguine(**Ploton, 2018**).

Les cellules de Kupffer jouent un rôle important dans les réponses immunitaires innées et adaptatives(**Messaoudi, 2017**).

- **Cellules péri- sinusoidales (cellules d'Eto) :**

Les cellules stellaires (appelées aussi cellules étoilées du foie, lipolyses, cellules péri sinusoidales ou cellules d'Eto), sont des petites tailles et représentent moins de 15% des cellules hépatiques. On trouve dans l'espace péri-sinusoidal des grandes cellules contenant de grosses gouttelettes lipidiques. On les a aussi appelées cellules accumulant des graisses. Leur fonction principale est le stockage de la vitamine A, elles prennent leur capacité de stockage de la vitamine A et produisent en quantité abondante des différents composants de la matrice extracellulaire, collagènes, fibronectine (**Boukhalfa et Benelmufti, 2016**).

4. Fonctionnement hépatique

Grâce à ses fonctions endocrines et exocrines, le système hépatique joue un rôle vital dans la régulation de l'homéostasie. Il est responsable de la détoxification des xénobiotiques, la sécrétion biliaire, le métabolisme des carbohydrates, le stockage des vitamines, des protéines et des lipides. Le foie participe à toutes les voies biochimiques de la croissance, du métabolisme, du système immunitaire et de la reproduction (**Messaoudi, 2017**).

4.1. Rôle d'épurateur

Le foie est également l'usine de recyclage du corps humain : il est en charge de détoxifier l'organisme, en métabolisant les médicaments, les xnébiotiques "tous qui est exogènes"(Belghaouti et Bendehiba, 2017).

Selon(Ploton, 2018)les molécules hydrosolubles peuvent être directement éliminées par le système rénal, et les substances liposolubles doivent au préalable être transformées par le système hépatique. Classiquement ce processus de transformation est divisé en trois grandes phases et a lieu au niveau des hépatocytes : la phase I permet l'hydroxylation du composé à éliminer, la phase II la conjugaison de ce dernier avec une protéine endogène. Ces deux étapes permettent de transformer le composé souvent très liposoluble en une molécule hydrosoluble plus facile à éliminer. La phase III consiste en l'excrétion active de ce dernier, à l'aide de transporteurs transmembranaires, soit dans le flux sanguin afin d'être éliminé au niveau rénal, soit dans la bile pour être éliminé par les selles après sécrétion de la bile au niveau de l'intestin.

4.2. Rôle métabolique

Le foie reçoit une quantité très importante du sang qui provenant du système digestif. Il participe au métabolisme des glucides et des lipides. Il transforme les glucides en glycogène et le stocker, pour finalement libérer du glucose dans le sang, selon les besoins de l'organisme. Il est le seul organe à la fois hypoglycémiant et hyperglycémiant. Les acides gras aussi sont transformés en molécules lipidiques complexes (triglycérides) afin de les stocker dans les cellules adipeuses. Il synthétise ou dégrade le cholestérol qui est un précurseur d'hormone et participe à la structure des membranes cellulaire. Le foie est aussi capable de stocker des vitamines, les nutriments qui sont apportés par la digestion (Belghaouti et Bendehiba, 2017).

4.3. Rôle antioxydant

Certaines substances qui arrivent au foie sont toxiques pour l'organisme : la fonction hépatique est de neutraliser cette substance en produits moins-toxiques.

Les éléments non toxiques qui sont solubles dans les graisses (liposolubles) sont ensuite apportés dans la bile qui sera amenée dans l'intestin, et éliminée dans les selles. Les éléments qui sont solubles dans l'eau (hydrosolubles) sont sécrétés dans le sang, qui les mène jusqu'aux reins : ils sont éliminés par les urines.

Ainsi, l'ammoniaque, qui est naturellement produite par le colon, il est possède une forte toxicité par les cellules nerveuses menée au foie par la veine porte, l'ammoniaque est transformée par les cellules du foie en urée, puis l'urée est apportée aux reins et sortie par les urines(**Barkaet Ben moussa, 2018**).

5. Effet du nickel sur le fonctionnement hépatique

L'hépatotoxicité du nickel chez les modèles animales se traduit généralement par une augmentation des activités enzymatiques des transaminases (alanine aminotransférase, aspartate aminotransaminase), de la phosphatase alcaline et une diminution de la concentration sérique des protéines totales et de l'albumine. De plus, des atteintes hépatiques caractérisées par une nécrose des hépatocytes et une veine Centro lobulaire dilatée ont été observé aux rats exposés au nickel.

Dans le foie, le Ni peut se conjuguer au glutathion (GSH) ou aux métallothionéines (MTs). Les complexes Ni-GSH et Ni-MTs formés arrivent au niveau des tubules proximaux où ils sont excrétés par 50% et réabsorbés par 50% par endocytose. Les complexes réabsorbés sont dégradés par les lysosomes libérant du nickel susceptible d'interagir d'autres composants cellulaires et de les endommager si le métal n'est pas repris en charge (**Daddouh, 2016**).

Chapitre 03 :

Stress oxydant



1. Rappel sur le stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme le résultat d'un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et / ou azote (ERA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, rendant la cellule incapable de se défendre contre l'agression de ces espèces réactivées, ce qui conduit à l'apparition de lésions qu'il est souvent irréversible(**Haleng et al., 2007**).

Considérant que, le stress oxydatif n'est pas une maladie en soi, il constitue un terrain favorable au développement de nombreuses maladies (stress oxydant pathologique) qui lui sont associées comme le diabète, l'oxydation des lipides qui contribue également aux maladies cardiovasculaires, aussi que l'oxydation d'ADN qui conduisent au développement de cancer. Divers polluants tels que les métaux lourds, le tabagisme, la fumée noire, la consommation excessive d'alcool, une exposition excessive au soleil ou aux radiations sans protection adéquate et les infections chroniques ... etc., par exemple, sont de nombreuses sources de production de ces espèces réactivées(**Haleng et al., 2007**).

Une mauvaise alimentation déséquilibrée en fruits et légumes où se trouvent la plupart des antioxydants nécessaires (vitamines C et E, caroténoïdes, polyphénols) favorise une diminution de la capacité antioxydante(**Haleng et al., 2007**).

2. Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO)

Les radicaux libres sont des espèces chimiques qui ont une réactivité élevée en raison du fait que, contrairement aux molécules ou atomes dans lesquels les électrons sont liés par paires, ils contiennent un électron non apparié (célibataire).les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. D'autres radicaux libres, appelés radicaux secondaires, sont formés par la réaction de ces radicaux primaires aux composés biochimiques de la cellule. Une distinction est faite entre les espèces radicalaires et non-radicalaires, Le tableau suivant montre les différents types(**Pasquier,1995**).

Tableau 02 : Principales d'espèces réactives de l'oxygène biologique (Pasquier.1995).

Radicaux libres		Espèces non-radicalaires	
ERO	ERN	ERO	ERN
$O_2^{\bullet -}$: anion superoxide	$\bullet NO$: monoxyde d'azote	$ONOO^-$: anion peroxytrite	$ONOOH$: acide peroxytriteux
$\bullet H_2O$: radical hydroperoxyl	$\bullet NO_2$: dioxyde d'azote	$OONO^-$: anion peroxytrite	$ROONO$: alkyl peroxytrite
$\bullet OH$: radical hydroxyl	$\bullet NO_3$: nitrate	H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène	HNO_2 : acide nitreux
RO^{\bullet} : radical alkoxy		1O_2 : oxygène singulet	NO^+ : cation nitrosyl
ROO^{\bullet} : radical peroxy		O_3 : ozone	NO^- : anion nitrosyl
		$HOCl$: acide hypochloreux	
		$ROOH$: Peroxyde	

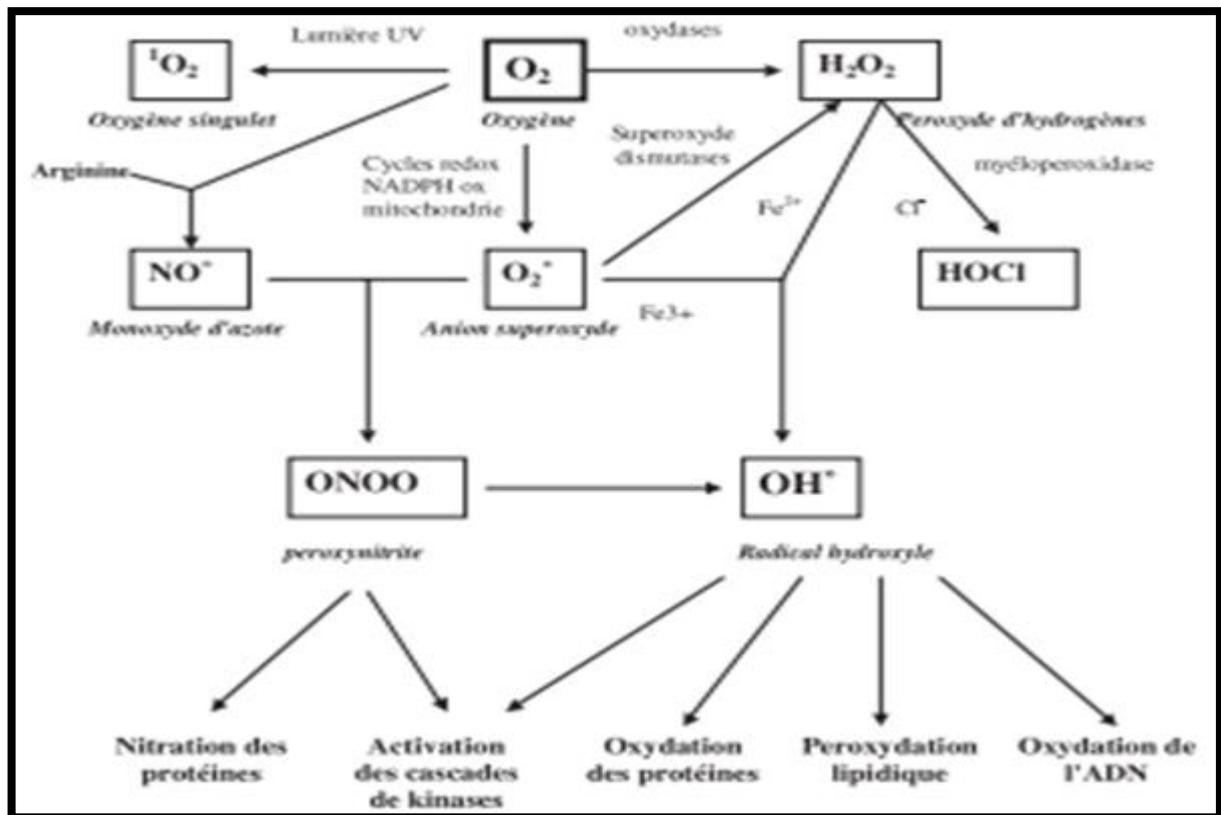


Figure 06 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).

3. Rôle physiologique des espèces réactives d'oxygènes

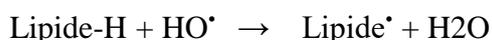
Les espèces réactives d'oxygènes jouent un rôle de seconds messagers, régulant plusieurs processus physiologiques, moléculaires, cellulaires et tissulaires. Elles participent dans : le développement embryonnaire ; La défense antibactérienne au cours des réactions de cytotoxicité face aux agents pathogènes ; la régulation des gènes par un phénomène appelé contrôle redox des gènes ; la destruction par apoptose des cellules tumorales ; la transduction des signaux cellulaires ; la modulation de métabolisme cellulaire par la liaison de ligand – récepteur ; la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire (Rebiai et Zeghdani, 2019).

4. Stress oxydant et conséquences cellulaires

Notre organisme peut réguler la production de radicaux libres grâce à différents systèmes de régulation constitués d'enzymes, des peptides, de molécules antioxydantes de petite taille et d'oligoéléments indispensables pour l'activité des enzymes. Un déséquilibre de la balance antioxydante en faveur de la production des ERO constitue le stress oxydant. Le stress oxydant va dénaturer les lipides, les protéines, l'ADN et provoquer des pathologies tels (le diabète, les maladies cardiovasculaires, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson...) (Favier, 2003)

4.1. Peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique est une réaction en chaîne initiée par l'arrachement d'un atome d'hydrogène par $\cdot\text{OH}$ ou $\text{O}_2^{\cdot-}$ à partir d'esters d'acides gras insaturés isolés ou de composants des membranes lipidiques. Les acides gras polyinsaturés tels que l'acide arachidonique sont les cibles privilégiées des radicaux libres oxygénés, ce qui cause des altérations au niveau de la membrane, altérant la perméabilité. Inhibition de récepteurs et d'enzymes membranaires. Ces troubles fonctionnels peuvent entraîner la mort cellulaire. Le cerveau est également ciblé par la peroxydation lipidique car il est très riche en acides gras polyinsaturés (Gasmi, 2018), (Daddouh, 2016).



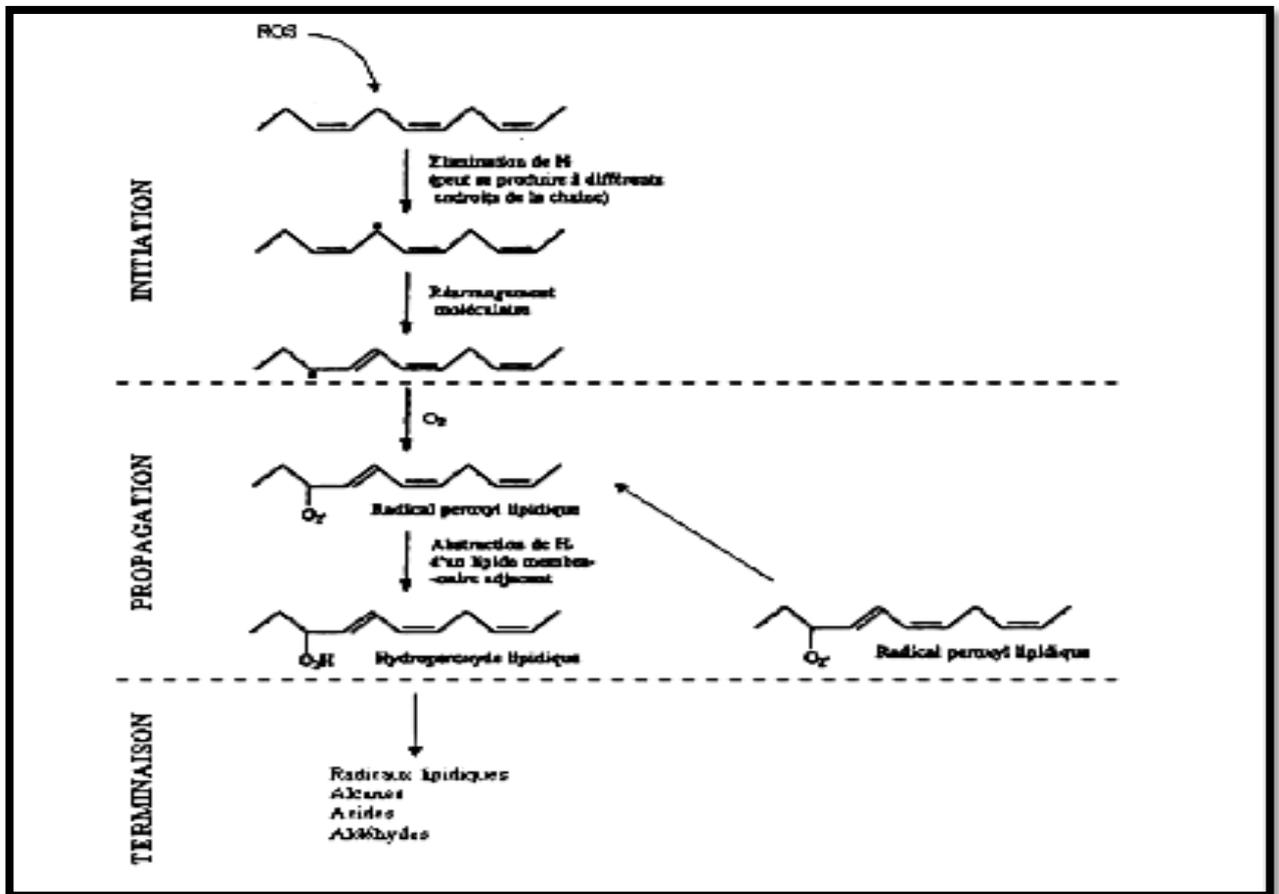
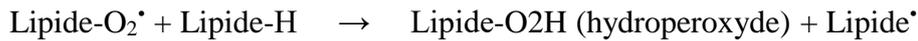


Figure 07 :Mécanisme de peroxydation des lipides(Rebiai et Zeghdani, 2019).

4.2. Oxydation des protéines

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont notamment celles qui contiennent le groupement sulfhydryle (SH). Comme des enzymes cellulaires et des protéines de transport qui seront oxydées et inhibées. Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, récepteur, etc.) et deviennent plus sensibles à l'action des protéases. Les protéines oxydées deviennent aussi très hydrophobes, soit par suppression de groupements amines ionisables, soit par extériorisation de zones hydrophobes centrales. Ensuite, ils forment des amas anormaux dans ou autour des cellules. Ces amas, associés aux lipides, forment les dépôts de lipofuschines (Pigment formé par la liaison de lipides et de protéines, issue de la peroxydation des acides gras membranaires dans des cellules vieillissantes) caractéristiques des tissus des sujets âgés (Favier, 2003).

4.3. Altération de l'ADN

L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial (son potentiel de réparation plus faible que celui de l'ADN nucléaire et de sa proximité directe de l'une des principales sources des ERO cellulaires : la chaîne respiratoire mitochondriale), est également une cible majeure des ROS, et il peut en fait interagir avec l'ADN du désoxyribose mais aussi avec les bases puriques et pyrimidiniques. Ils peuvent interagir avec la base guanine (G) de l'ADN, pour la convertir en 8-hydroxy-2 'désoxyguanosine (8-OH2DG), qui au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'apparie avec l'adénine qui est capable d'induire des mutations spécifiques dans l'ADN qui peuvent conduire au cancer et du vieillissement(Bohr et al., 1998).

4.4. Oxydation des glucides

Les radicaux OH sont capables de couper les molécules de polysaccharides tels que (désoxyribose, mannose, glucose) et ainsi former des liaisons entre oses et protéines provoquant des épaissements membranaires. La cataracte diabétique serait une conséquence de cette liaison. Les radicaux libres de l'oxygène suscitent aussi une fragmentation des polymères de glucides comme l'acide hyaluronique. L'acide hyaluronique est un glycosaminoglycane composé de répétitions d'unités d'acide glucuronique-N-acetylglucosamine. Il maintient une viscosité élevée du liquide synovial, mais, dans la polyarthrite rhumatoïde, il est dépolymérisé, effet qui peut être induit par les radicaux de l'oxygène générés par les neutrophiles in vivo, en synergie avec la libération des enzymes des granulations spécifiques et azurophiles(Pasquier, 1995).

5. Systèmes de défenses antioxydants

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, sont des antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation.

A. Systèmes antioxydants enzymatiques

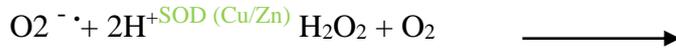
Les enzymes existent à l'état endogène et permettent de protéger les cellules contre les radicaux libres produits de manière physiologique au cours du métabolisme cellulaire normal.

a. Superoxydesdismutases (SOD)

Ce sont des métallo enzymes retrouvées dans toutes les cellules animales ou végétales, sont les premières lignes de défense enzymatique, catalyse la conversion de l'anion

superoxyde($O_2^{\cdot-}$) produit par la chaîne respiratoire mitochondriale en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), Chez l'homme, on décrit trois iso-enzymes (**Ait Yahia et Zemmoura, 2014**).

1) la Cu/Zn-SOD cytosolique; 2) la Mn-SOD2 mitochondriale; 3) la Cu/Zn-SOD3.



b. Catalase (CAT)

La catalase est une enzyme hémique présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes (enzyme intracellulaire). Elle catalyse la réaction de détoxification du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui est généralement produit par la SOD (mécanisme de défense secondaire contre les ERO) en eau et en oxygène (**Bouguerne, 2012**).



c. Glutathion peroxydase (GPx)

Le GPx est une sélénoprotéine qui réduit les peroxydes au détriment de son substrat (GSH). Il se compose de quatre sous-unités dont chacune contient l'atome de sélénium sous forme de sélénocystéine qui est le site actif de l'enzyme (**Haleng et al., 2007**). Son rôle principal est d'éliminer le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques résultant de l'effet du stress oxydatif sur les acides gras polyinsaturés. Cette enzyme, se situant dans le cytosol et dans les mitochondries (**Daddouh, 2016**).



B. Systèmes antioxydants non enzymatiques

a. Glutathion

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). C'est le thiol majeur (-SH) au niveau intracellulaire. Il est principalement présent sous forme réduite (GSH) (**Haleng et al., 2007**). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydante (GSSG) est en très faible concentration, et le rapport GSH / GSSG est un excellent marqueur d'oxydation lipidique et permet de déterminer l'importance du stress (**Boussekine, 2014**).

b. Acide Urique

L'acide urique est un piègeur d'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), des radicaux peroxydes et hydroxyles ($\text{RO}_2 \cdot$ et $\text{HO}\cdot$), de l'ozone (O_3) et de l'acide hypochloreux (HOCl). La réaction de l'acide urique avec ces ROS génère des radicaux moins réactifs que radical hydroxyl ($\text{HO}\cdot$) (**Bouguerne, 2012**).

c. Polyphénols

Les polyphénols sont des molécules contenant un ou plusieurs noyaux aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyle trouvés dans les plantes sont divisés en tanins, lignines et flavonoïdes, qui sont tous dérivés de simples assemblages d'unités phénoliques. Excellents piègeurs de radicaux libres et très bons chélateurs pour les métaux de transition comme le fer et le cuivre (**Hala, 2008**).

d. Oligo-éléments

Les cofacteurs tels que (sélénium, cuivre, zinc, manganèse ...) jouent un rôle efficace et essentiel pour le bon fonctionnement des enzymes antioxydantes comme le GPX et la SOD (**Valko et al, 2005**).

e. Vitamines E, C

La vitamine E est une vitamine liposoluble qu'est un puissant antioxydant biologique qui protège les cellules des effets des radicaux réactifs, et l'alpha-tocophérol (la forme la plus active de vitamine E) (**Gasmi, 2018**) est l'un des principaux antioxydants liés aux membranes utilisés par la cellule. Son activité principale en tant qu'antioxydant est de protéger contre la peroxydation lipidique.

La vitamine C ou acide ascorbique est un antioxydant hydrosoluble majeur, l'acide ascorbique et l'alpha-tocophérol agissent ensemble dans une réaction de type cyclique (**Buettner, 1993**). En plus d'agir comme un réducteur d'alpha-tocophérol, l'acide ascorbique est également un antioxydant protecteur en raison de sa capacité à piéger des radicaux réactifs (**Valko et al, 2004**).

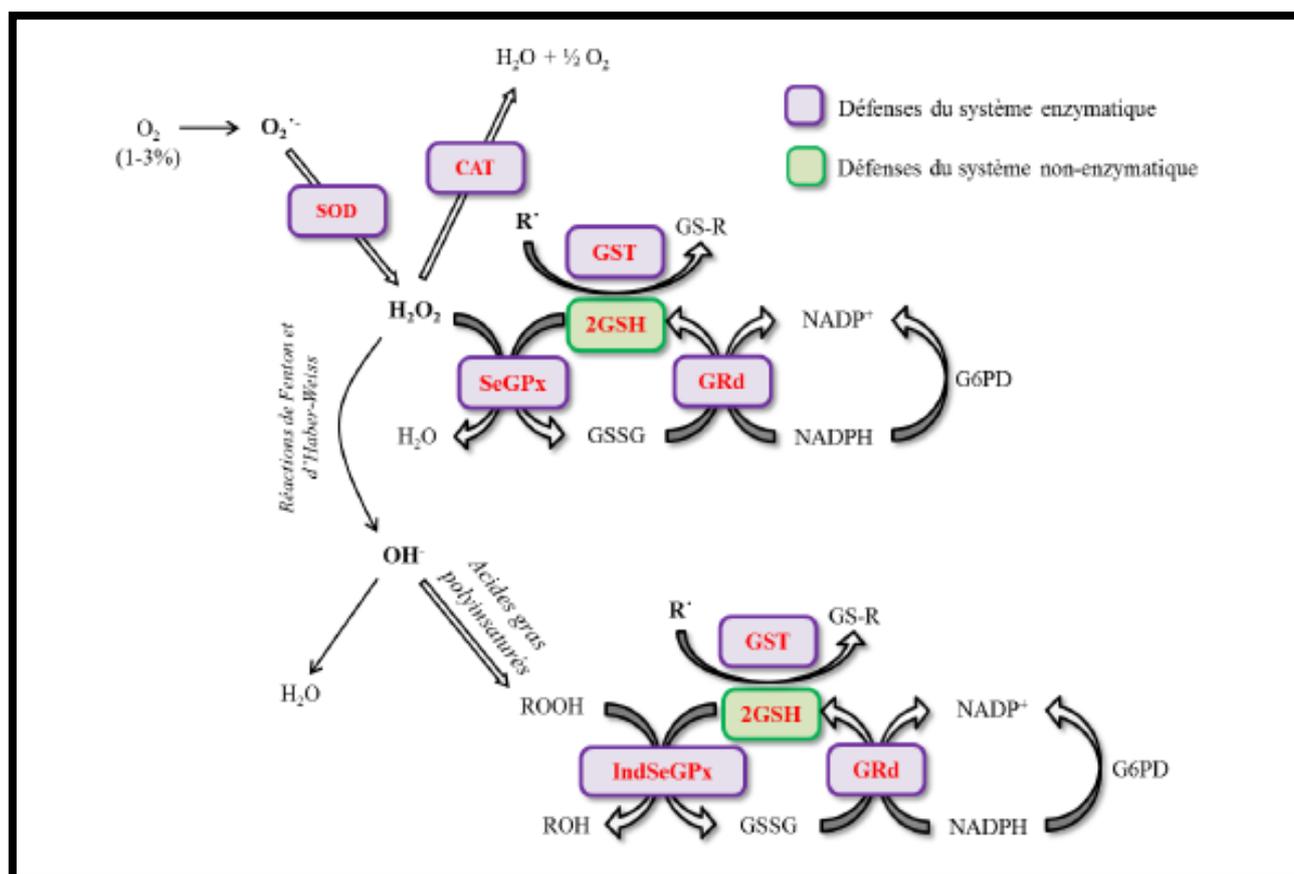


Figure 08 : Schéma des systèmes enzymatiques et non-enzymatiques de détoxification des ROS (Rebiai et Zeghdani, 2019).

6. Liaison entre le stress oxydatif et les maladies hépatiques

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies, incluant l'obésité, l'athérosclérose, le diabète, le cancer, le vieillissement, l'Alzheimer, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires et aussi les maladies hépatiques (Favier, 2003).

Il est impliqué également dans des très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. La multiplicité des conséquences médicales de ce stress n'a rien de surprenant, selon les maladies, celui-ci se localisera à un tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. La plupart des maladies causées par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (Favier, 2003).

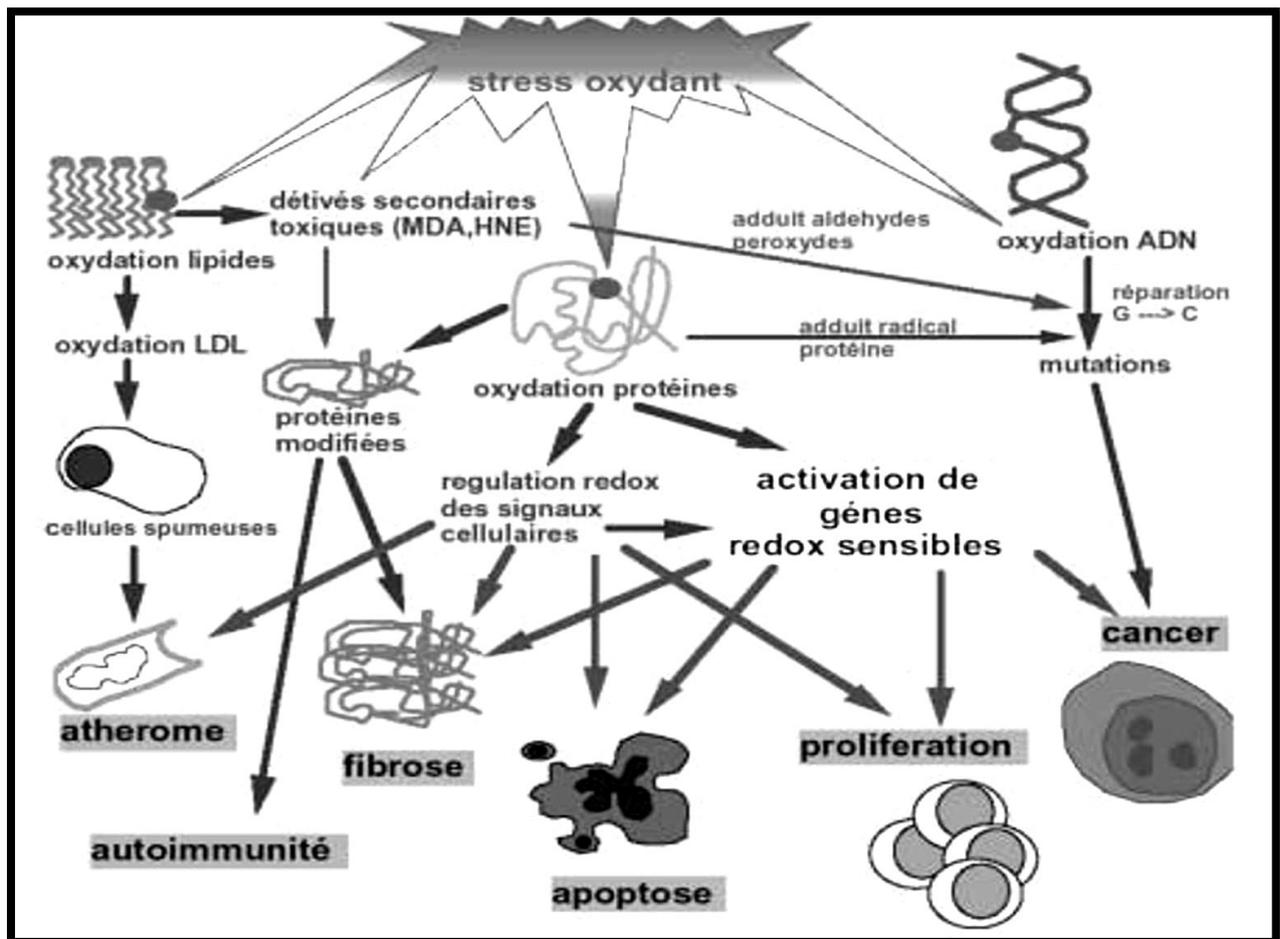


Figure 09 : Conséquences pathogènes du stress oxydant (Favier, 2006).

Les causes principales de ce stress oxydant sont : soit d'origine nutritionnelle dans les cas de diminution des vitamines et des oligo-éléments, ou inversement de surcharges en facteurs pro-oxydants (fer, acides gras), soit d'origine génétique, soit d'origine accidentelle (inflammation, exposition à des xénobiotiques pro-oxydants...). Le plus souvent, l'association de ces différents facteurs aboutira au mécanisme pathogène (Favier, 2003).

Chapitre 04 :
Rosmarinus Officinalis

A decorative horizontal line with stylized leaf-like flourishes at both ends, positioned below the text.

1. Généralité

Au cours des dernières années, la recherche pharmaceutique a découvert la composition chimique des propriétés des nombreuses plantes médicinales.

Les plantes médicinales sont utilisées en médecine traditionnelle, elle possède plusieurs propriétés médicamenteuses.

L'industrie pharmaceutique a réussi à reproduire chimiquement un grand nombre de leurs composantes et à décrypté des nouvelles combinaisons. Leur action devient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés (Amroune, 2018).

➤ **Métabolites primaires** : les molécules nécessaires de la vie végétale qui ne présentent qu'une activité pharmacologique de base, (les enzymes, les glucides comme la cellulose, les lipides l'amidon ...)(Grenez, 2019).

➤ **Métabolites secondaires**: les paramètres les plus complexes. Parmi celles-ci on peut prendre quelques familles chimiques les plus courants : les alcaloïdes les polyphénols, les terpénoïdes(Grenez, 2019)

En effet, les plantes médicinales sont utilisées pour des différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur(Amroune, 2018).

Rosemarinus Officinalis L, fait partie des plantes médicinales qui sont utilisé depuis l'Antiquité. Elle garde une place dans l'inventaire des remèdes des tradipraticiens de tout le bassin méditerranéen. Elle aurait également des vertus thérapeutiques(Hoefler, 1994).



Figure 10 : Fleurset feuilles de *Rosmarinus officinalis*(Bouadjemi, 2018)

2. *Rosemarinus Officinalis*

2.1. Description de la plante

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est un membre de la famille des *Lamiaceae*, est un arbuste qui amplifie à l'état sauvage dans le bassin méditerranéen. Dans la médecine populaire, étant une herbe médicinale très appréciée. Le romarin est traditionnellement utilisé comme épice culinaire, principalement pour modifier et/ou améliorer les saveurs alimentaires.

Aujourd'hui, c'est l'une des sources les plus appréciées pour composés bioactifs qui présentent un intérêt particulier pour industrie alimentaire. En fait, cette usine exerce un grand nombre des activités pharmacologiques, telles que : hépato-protection, antifongiques, antithrombotique, antibactériennes, antinociceptive, anti-inflammatoire et des activités antioxydants (**Borras et al, 2011**).

La plante de romarin possède plusieurs utilisations telles que, Augmenter la sécrétion de la bile, régulation du système digestif et la guérison des blessures. Et pour ces raisons, il est également utilisé dans les domaines tels que, la médecine, production pharmaceutique et l'agriculture. Le produit chimique composants de la plante de romarin sont 20% α -pinene, 20% cineol, 18% camphre, 6% β -pinen 5borneol, 5% mirsen, 3% acétate de bornicyl, 2% terpineol, limonène, terpineol et cariophyllen(**Rutkay et al, 2020**).

2.2. Classification

Rosmarinus Officinalis dans la classification des végétaux (**Marion, 2017**).

Règne : Plantes

Embranchement : Spermaphytes

Sous-Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-Classe : Gamopétales

Ordre : Tubiflorales

Sous-Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinusofficinalis*

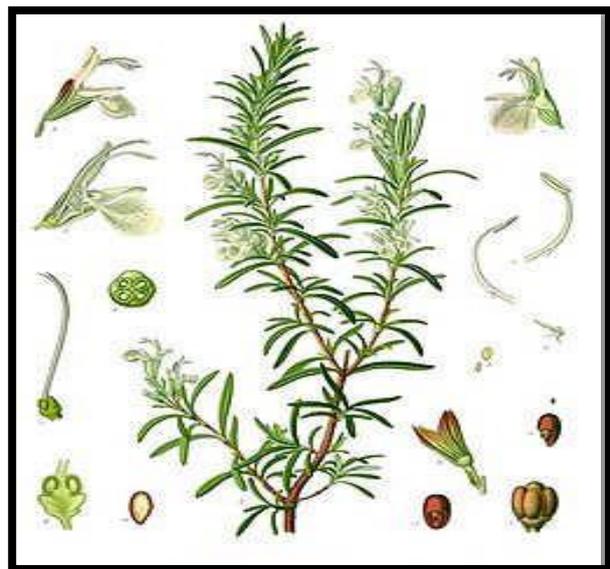


Figure 11 : Aspects morphologies du romarin (**Athamena,2009**)

Utilisation de la plante

Le romarin est largement utilisé dans les activités alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments(Djabi et khobizi, 2018). Les extraits de la plante présentent une activité antioxydant très importante, et aussi appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques, ces propriétés sont dues aux acides poly phénoliques (caféique, rosmarinique) (Boumadjen et Kimouche, 2018).

En médecine traditionnelle, *le romarin* aide à la digestion, traite les céphalées et les migraines, stimulé les fonctions hépatiques et biliaires en cas de troubles digestifs. Il est utilisé en usage externe pour soigner les rhumatismes et les troubles circulatoires .C'est un hypoglycémique, il soigne les affections oculaires, il est utilisé comme antiseptique. Dans la région de Béchar, *Rosmarinus officinalis L.* est traditionnellement destiné à la conservation des pâtes des dattes et comme un emménagogue (qui provoque ou régularise le cycle menstruel). (Makhloufi, 2012).

2.3. Composition chimique

D'après (Yahiaoui, 2010), l'extrait méthanolique contenait un taux élevé en Sucrose, Succinate, Fumarate, Malonate, et en acides phénoliques, mais un niveau bas en Fructose, Glucose.

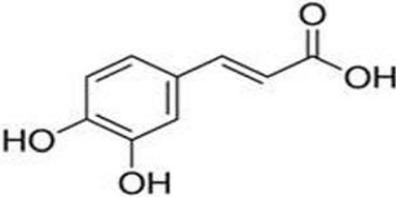
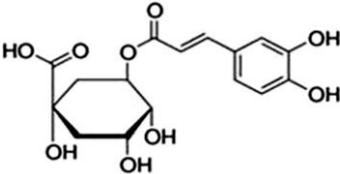
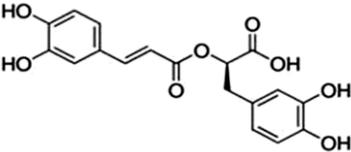
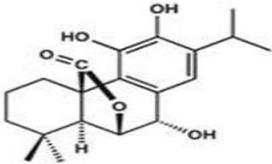
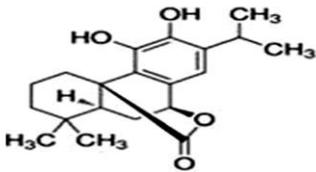
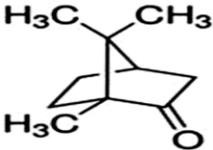
Tableau 03 : Les variations de la composition chimique de romarin (Francisco et al, 2020 ; Yahiaoui, 2010).

Eléments actifs de la plantes	Substances chimiques
L'huile essentielle : Les feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> contiennent environ 50% d'une essence spéciale à odeur aromatique.	Pinène, camphène, bornéol, d'acétate, bornyle, cinéole et de camphre ordinaire
Les di-terpènes phénoliques : Les principaux antioxydants dans <i>Rosmarinus officinalis</i> sont les di-terpènes phénoliques.	Acide carnosique, carnosol, rosmarol, isorosmanol
Flavonoïdes : Les lamiacées sont des dicotylédones produisant surtout des Flavones.	Lutéoline, apigénine, diosmetine, dimetoxi-flavone
Acide phénolique : Ce sont des composés organiques possèdent une fonction hydroxyle et un carboxyle	Acide caféique, chlorogénique et acide rosmarinique

2.4.1 Les principaux phytoconstitués

La composition chimique de romarin dans son ensemble résulte du lieu de récolte et croissance, ainsi que du moment de récolte dans le cycle végétatif (Marion, 2017).

Tableau 04 : Structures chimiques des composés présents dans le romarin (Esteve et al, 2019)

Nom De Composés	Structure Chimique
Acide Caféique	
Acide chlorogénique	
Alpha-pinène	
Acide rosmarinique	
Rosmanol	
Carnasol	
Camphre	

2.4. Propriétés pharmacologiques

Les plantes ayant des propriétés médicamenteuses peuvent avoir également des usages alimentaires ou condimentaires, ou à la préparation de boissons hygiéniques. Pour ces diverses utilisations, il s'agit soit des mêmes parties de plantes, soit des parties différentes (Grenez, 2019).

2.4.1. Activités Antibactérienne

Le romarin est une plante médicinale utilisée dans le traitement des diverses maladies infectieuses, ont apprécié l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique de la plante, ces derniers ont été très efficaces contre 5 souches bactériennes les plus courantes : *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Mansouri et al, 2018).

L'huile essentielle du romarin montre qu'il possède une activité antibactérienne efficace contre les bactéries gram négatives : *Escherichia. Coli* et les bactéries gram positives *Staphylococcus aureus* (Marion, 2017).

2.4.2. Activité Antioxydante

Les dommages oxydatifs induits par les ROS parce qu'il est la cause majeure du vieillissement cellulaire. Pour protéger les tissus/cellules contre les ROS, l'extrait du romarin possède des mécanismes antioxydants, classés en systèmes enzymatiques, par exemple la SOD (superoxydismutase), la CAT (catalase), la GSH-P (glutathion peroxydase) ; et non enzymatiques, par exemple des vitamines, des minéraux et des polyphénols (Marion, 2017).

Les extraits méthanoliques et les huiles essentielles de la plante contiennent une quantité très importante d'antioxydant, tandis que ce dernier contient essentiellement de l'acide rosmarinique et de l'acide rosmarinique, on conclut que les extraits méthanoliques, éthanoliques montrent une grande capacité de naturalisation des radicaux libres (Mansouri et al, 2018).

Les effets de l'acide rosmarinique sur les enzymes antioxydantes hépatiques et rénales et l'ultrastructure des tissus chez des rats ont été évalués. Il produit une augmentation significative de l'activité de la SOD, de la CAT avec une diminution de la MDA (malondialdéhyde) (indicateur de la peroxydation lipidique) (Leplat, 2017).

2.4.3. Activité anti-inflammatoire

Selon (Andrade, 2018), le romarin en médecine populaire est connu pour ses propriétés thérapeutiques pour le traitement des maladies inflammatoires et contre les douleurs abdominales, respiratoires, comme l'asthme bronchique. Certaines études expérimentales ont rapporté les activités anti-inflammatoires et analgésiques de l'huile essentielle et terpènes biologiquement actifs tels que l'acide carnosique, le carnosol, ainsi que l'acide rosmarinique.

2.4.4. Activité anti-proliférative

Le romarin a affiché des activités antiprolifératives importantes contre plusieurs cellules cancéreuses humaine grâce à des composés les plus courants qui présente dans l'extrait de la plante tel que l'acide carnosique, le carnosol et l'acide rosmarinique ont induit l'apoptose de ces cellules cancéreuses à travers de la production d'oxyde nitrique et l'acide carnosique (Messabhiaet al, 2018).

2.4.5. Activité hépato protectrices

On a été réalisées pour étudier l'effet hépato protectrice du *Romarin* grâce à des plusieurs études ce derniera été appliqué pour l'évaluation de l'efficacité de l'extrait méthanolique du *Romarin* pour mesurer certains paramètres biochimiques et histologiques des cellules hépatiques (Benikhlef, 2014).

Après l'ingestion d'un hépato-toxine le chlorure de nickel (NiCl₂), les résultats ont montré que cet extrait à enrayer la peroxydation lipidique et il accroît l'activité du glutathion-S-transférase (GST) (Benikhlef, 2014).

2.5. Pharmacocinétique

Le métabolisme des polyphénols et les plus précisément les flavonoïdes, sont rapidement absorbés dans l'appareil digestif et décelé dans le plasma, ce qui suggère qu'ils sont disponibles pour distinguer leurs effets biologiques. En effet, il a été démontré que les flavonoïdes peuvent traverser le tractus intestinal et arriver à la circulation plasmatique à des concentrations auxquelles ils possèdent des effets bénéfiques observés in vitro (Grenez, 2019).

2.6. Mode d'action

Selon (Djabi et Khobizi, 2018), certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membranephospholipidiques comme l'enzyme

ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP.

2.7. Etude Toxicologique

L'efficacité d'une substance en pharmacologie n'est pas suffisante pour justifier son éventuelle introduction en thérapeutique. En effet, en plus de l'efficacité, il ne doit pas se produire pour la dose active des effets toxiques pour l'être humain. Il faut donc définir le rapport bénéfice-risque dans l'indication thérapeutique de chaque molécule. Ceci ne peut être réalisé que par l'intermédiaire de deux types d'étude, d'une part l'efficacité chez l'animal (pharmacologie expérimentale) et chez l'homme (effets bénéfiques), d'autre part une étude de sécurité chez l'animal (toxicologie) et chez l'homme (effets indésirables) (**Bounihi, 2016**).

La toxicologie doit donc veiller à l'innocuité des plantes médicinales. Mais sa position ne doit pas être seulement négative et réglementaire, bien au contraire elle doit aider aussi à l'innovation, au choix des plantes médicinales à des doses référencier. En définitive, elle doit apporter à la phytothérapie et à la consommation des plantes une certaine garantie et une certaine caution. L'évaluation de la sécurité d'une substance peut être appréciée soit par l'étude de sa toxicité aiguë après administration d'une dose unique ou bien par l'étude de sa toxicité chronique après administration répétée de la substance. Cependant, l'étude de la toxicité aiguë reste le jalon indispensable dans toute étude toxicologique (**Bounihi, 2016**).

2.8. Toxicité des plantes médicinales

La toxicité des plantes médicinales peuvent être expliquée par :

• La toxicité intrinsèque des constituants :

Les plantes médicinales sont des mélanges complexes des constitutions. Leur composition, souvent mal définie, est formée de substance pourvue d'une activité biologique notoire, entre autres des alcaloïdes, des hétérosides, des stéroïdes et des tannins. Comme toutes les molécules bioactives, ces derniers montrent à un certain degré de concentration présenté une toxicité intrinsèque (**Zekkour, 2008**).

• L'identification imprécise des composants :

D'après (**Zekkour, 2008**), la préparation à base des plantes médicinales peut devenir toxique, lorsque l'un de ses éléments actifs est susceptible d'avoir des effets toxiques graves, n'est pas identifié ou est mal identifié.

- **Les altérations**

La toxicité peut être aussi liée à la présence des composants qui altèrent chimiquement au cours des préparations à base de plantes médicinales, qu'il s'agisse des végétaux ou de substances médicamenteuses(Zekkour, 2008).

Partie Expérimentale



Matériel et Méthodes



I. Matériel et Méthode

L'étude suivante a été menée dans le but de vérifier l'hypothèse suivante : l'effet protecteur et préventif de l'extrait méthanolique de la plante médicinale *Rosmarinus Officinalis* (le romarin) au niveau le foie. Le but de cette étude est d'évaluer, chez des rats de la souche Wistar, les variations des paramètres biochimiques sanguins, enzymes anti oxydantes tissulaires, les produits de la peroxydation lipidique.

Les expérimentations effectuées dans cette étude ont été accomplies dans l'animalerie puis laboratoire de toxicologie du département de biologie appliqué.

1. Matériel

1.1. Matériel chimique

Dans notre travail le matériel biochimique utilisé est constitué dedeux produits:

- Chlorure de nickel : (NiCl_2)
- L'extrait méthanoïque de la plante médicinal le romarin.

1.2. Matériel biologique

La présente étude a été réalisée sur des rats mâles adulte de la souche Wistar au nombre de 20 rats, provenant de l'institut Pasteur d'Alger, âgés de 06 à 08 semaines pesant environ (250+-25g). Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs largement utilisés dans divers domaines de la recherche expérimentale. Les rats avaient libre accès à la nourriture standard de rat : pin et l'eau.



Figure 12 : Rat Wistar (photo personnelle).

2. Méthodologie

2.1. Entretien des animaux

Les rats ont été répartis en quatre (04) lots à raison de cinq (05) rats par lot. Ils ont été soumis à une période d'adaptation de 30 jours dans l'animalerie de département de biologie. Faculté des sciences exactes science de la nature et de vie, université de Tébessa. La température ambiante est de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ et une photopériode naturelle 12/12h. Les rats sont élevés dans des cages qui sont tapissées de copeaux de bois. Les cages sont nettoyées une fois par deux jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.

2.2. Choix des doses

Nous avons choisi deux (02) doses différentes, la dose de nickel est : 10 mg/kg/jet pour le romarin 100 mg/kg/j administrées sub-chroniquement par voie orale pendant 28 jours.

Le choix de ces doses est basé sur des études réalisées par (**Omamuyovwi M et al, 2018**), Il est à mentionner que ces doses sont très proches à la réalité et sont susceptibles de contaminer la population générale. D'autre part la dose de la plante médicinale (le romarin) utilisé dans notre étude pour la prévention contre ce produit toxique est 100mg /kg/j et aussi nous avons choisi la dose selon des études précédentes (**Kabwe Nkongolo et al, 2018**).

2.3. Répartition et traitement des rats

La répartition et le traitement des animaux sont récapitulés dans la figure 07 et illustrés comme suit :

Lots T : lot témoin (T), reçoit l'eau distillée pendant 28 jours.

Lots E : lot extrait, recevant 100mg/kg/jour pendant 28 jours.

Lots N : lot nickel, traité par le nickel recevant 10 mg/kg/jour pendant 28 jours.

Lots E/N : lot nickel/extrait, traité par la mixture à la dose de 10mg/kg/jour de nickel + 100mg/kg/j d'extrait de romarin pendant 28 jours.

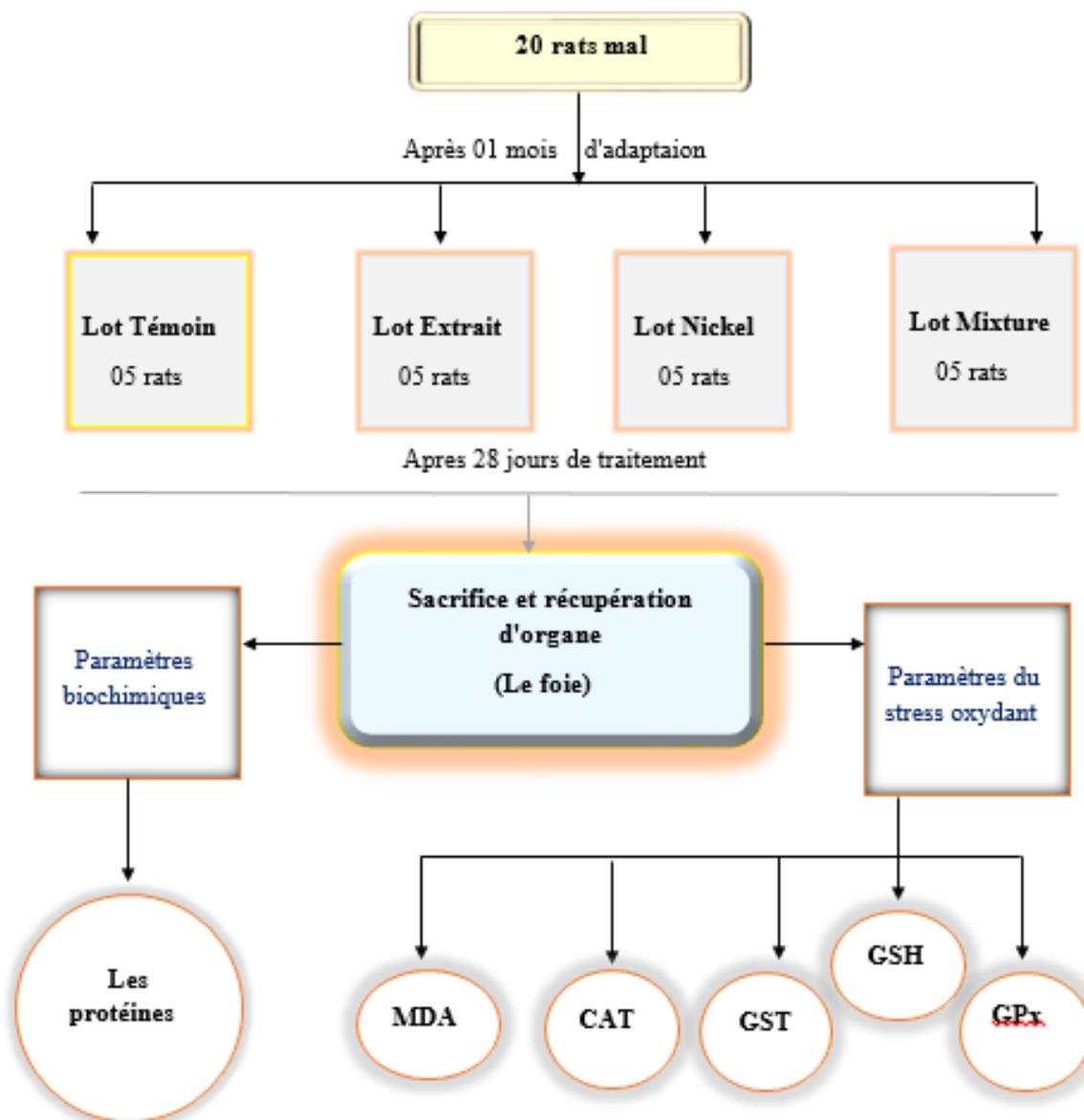


Figure 13 :Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

2.4. Sacrifice et prélèvement

Après 28 jours du traitement, on a sacrifié les rats, le prélèvement des organes a été fait au niveau de l'animalerie de l'université de Tébéssa, Après une récupération de foie, il a été prélevés et pesés puis mettez dans le formol et stockés au niveau congélateur -80 °C pour les dosages des différents paramètres biochimiques et enzymatiques.



Figure 14 : Extraction du foie (photo personnelle).

2.5. Estimation du poids relatif du foie

Après le sacrifice des rats et le prélèvement des organes, nous rinçons les organes par l'eau distillée puis nous pesons les organes par un balance précis enfin nous stockons les organes dans un frigo-80°jusqu'à moment du travail en laboratoire.

Le poids relatif de foie extraits des rats (PRC [g/100g de poids corporel]) est calculé par rapport au poids total du rat selon la formule suivant :

$$\text{PRC (g/100g de PT)} = \text{PC/PT} \times 100$$

PC : poids du foie (g). *PT* : poids total de rat (g). *PRC* : poids relatif de foie (g)

2.6. Préparation des échantillons

Un gramme des tissus hépatiques a été utilisé. Après broyageet homogénéisation des tissusedans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150mM, pH : 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (9000 tours/min, 4°C, 15 min), puis le surnageant obtenu est aliquote dans des tubes eppendorfs puis conservés à -20°C en attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydatif.

3. Méthode De Dosage :

3.1. Paramètre Biochimique (Dosages des protéines)

La concentration des protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)**. Les protéines réagissent avec un réactif coloré contenant de l'acide ortho-phosphorique, de l'éthanol ainsi que le bleu de coomassie (BBC). Ce réactif réagit avec le groupement (-NH₂) des protéines. L'intensité de la couleur reflète la concentration des protéines. Dans un tube sec 0.1 ml de l'homogénat sont ajoutés à 5 ml de bleu de coomassie. Agitation, incubation 5 minutes à température ambiante puis lecture de l'absorbance à $\lambda = 595$ nm.

3.2. Paramètre de stress oxydant

3.2.1. Dosage de la teneur du Glutathion (GSH)

- **Principe**

Le dosage du glutathion est effectué selon la méthode de Weckbeker et Cory (1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique, ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (SH) du glutathion.

- **Protocole d'expérience**

-Prélever 0.8ml de l'homogénat (broyage de 200mg de l'échantillon (cytosol/matrice) + 8 ml de solution d'EDTA à (0,2M).

-Ajouter 0.2ml d'une solution d'acide salicylique (0.25%).

-Agiter et laisser pendant 15min dans un bain de glace.

-Centrifuger pendant 5min à 1000tours/min.

- Prélever 0.5ml du surnageant

-Ajouter 1ml de tampon tris-HCL+EDTA (0.02M), pH 9.6.

- Mélanger et ajouter 0.025ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M dissous dans le méthanol absolu.

Laisser le mélange pour reposer pendant 5min à température ambiante et lire les densités optiques à 412nm.

- **Calcul :**

$$\text{GSH (n mol GSH / mg prot)} = \frac{\text{D0} * \text{L} * 1,525}{13100 * 0,8 * 0,5 \text{ mg prot}}$$

D0 : Densité1 optique.

- 1 : Volume total des solutions utilisées de la déprotéinisation. (0.8 ml homogénat +0.2ml SSA).

- 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant+1 ml Tris-EDTA+0.025 ml DTNB).

- 13100 : Coefficient d'absorbance (contenant le groupement-SH à412 nm).

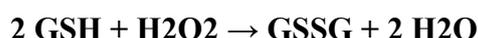
- 0.8 : Volume de l'homogénat.

- 0.5 : Volume du surnageant.

3.2.2. Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)

• Principe

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de (**Flohe et Gunzler, 1984**), en utilisant du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) comme substrat. Elle est basée sur la réduction du (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH) pour former le (GSSG) sous l'action de la GPx selon la réaction suivante :



• Protocole d'expérience

-Prélever un volume de 0.2ml de cytosol/matrice.

-Ajouter 0.4ml de GSH 0.1mM et 0.2ml de tampon phosphate 0.067M, pH 7.8.

-Incuber au bain marie à 25°C pendant 05min.

-Ajouter 0.2ml d'H₂O₂ 1.3mM pour initier la réaction et laisser pendant 10 min.

-Rajouter 1ml de TCA 1% (acide tri chloro-acétique) dans le but d'arrêter la réaction et laisser le mélange dans un bain de glace pendant 30min.

- Centrifugé durant 10min à 3000t/mn.

- Prélever un volume de 0.48 ml de surnageant.

-Ajouter un volume de 2.2ml de Na₂HPO₄ 0.32M avec 0.32ml de DNTB 1mM.

- Mesurer la densité à 412nm chaque 30sec pendant 5min.

• **Calcul :**

La détermination (calcule) de l'activité de la GPx se fait de la façon suivante :

Activité de GSH consommée / min / gr de protéine

Blanc = 0.04 micro mole de GSH réduit ----- DO_b

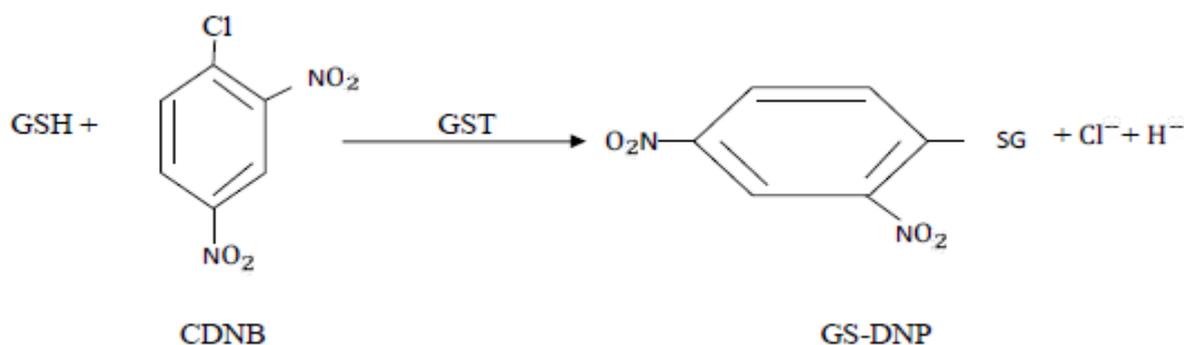
Extrait = 0.04 // // -----DO_e

Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue) = DO_e -DO_b

3.2.3. Dosage de l'activité du glutathion S-Transférase (GST)

• **Principe**

La mesure de l'activité de la glutathions- transférase (GST) est déterminée selon la méthode de (**Habig et al.,1974**). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro2,4 di nitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion(GSH), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle ; 1-S-Glutathionyl 2-4 Dinitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST selon la réaction



suivante :

• **Protocole d'expérience**

-Centrifuger l'homogénat [échantillons +1ml de tampon phosphate (0.1M, pH6)] à 14000 t/min pendant 30 min.

-Prélever 200µl du surnageant

-Ajouter 1.2ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM) [20.26mg CDNB, 153.65mg GSH, 1ml éthanol, 100ml tampon phosphate (0.1M, PH 6)].

-Lire les absorbances pendant une minute et chaque 15sec à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

3.2.4. Dosage du taux du Malon-dialdéhyde (MDA)

• Principe :

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode (**d'Esterbauer et al., 1992**). Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide Thio barbiturique pour former un complexe en couleur rose.

• Protocole d'expérience :

- Prélever 375µl de surnageant.
- Ajouté un volume de 150µl de la solution TBS (tris 50mM, NaCl (150mM ; pH7.4) et un volume de 375µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%)
- Agiter puis centrifuger à 1000tours/min pendant 10min.
- Prélever 400 µl du surnageant.
- Ajoute 80µl du HCL 0.6M et 320µl de la solution tris-TBA (tris 26mM, TBA120mM).
- Vortexer (Mélanger) et incuber au bain marie à 80°C pendant 10minutes.
- Lire les densités optiques des échantillons par spectrophotométrie à 530 nm.

La concentration du MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert ($DO = E.C.L$) :

• Calcul :

$$[C] \text{ (nmol/mg protéine)} = \frac{DO.10^6}{\epsilon.L.X.Fd}$$

C : Concentration en nmol/mg de protéines

DO : Densité optique lue à 530 nm.

ε : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56105M^{-1}cm^{-1}$.

L: Longueur du trajet optique = 0.779 cm.

X: Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml).

Fd: Facteur de dilution : **Fd** = 0.2083.

3.2.5. Dosage de l'activité enzymatique du Catalase (CAT)

• Principe :

Les catalases sont présents dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces réactives et en accélérant la réaction spontanée de l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) toxique pour la cellule en eau et en oxygène (Aebi, 1984).

La réaction se fait par deux étapes :



• Protocole :

L'activité de la catalase (CAT) est mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) pendant 1 min à un intervalle de 15 seconde, en faisant réagir dans 780 μ l (100 mM) de tampon phosphate pH 7.4, 200 μ l d' H_2O_2 (500mM) sur 20 μ l de l'homogénat. Les résultats ont été exprimés en μ moles d' H_2O_2 par minute et par mg de protéines.

4. Etude Statistique

Pour chaque paramètre, les différences entre les lots ont été évaluées grâce à une analyse de variance à un critère de classification t « student » comparer les différents lots entre eux y compris le lot témoin.

Les résultats sont représentés sous la forme : moyenne \pm écart type et les différences ont été considérées comme suit :

- $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative.
- (*) $0,05 > P > 0,01$ = la différence est significative.
- (**) $0,01 > P > 0,001$ = la différence est hautement significative.
- (***) $P < 0,001$ = la différence est très hautement significative.

Nous avons utilisé l'office Excel 2013 pour représenter ces résultats sous forme des histogrammes.

Résultat et Discussion



1. Résultat

1.1.Effet du traitement sur les paramètres enzymatiques

1.1.1. Effet du traitement sur l'activité du Glutathion réduit GSH

Le taux de GSH montre une augmentation très hautement significative ($p \leq 0.001$) chez le groupe traité par le Nickel (10 mg/kg/j) au niveau de foie comparativement au groupe témoin, et significative ($p \leq 0,01$) chez le lot traité par la mixture des doses (10mg/kg/j) + (100mg/kg/j).

Tableau 05 : Variation de l'activité du GSH chez les rats dans des différents lots expérimentaux.

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par Extrait 100mg/kg/j	Traité par Nickel 10mg/kg/j	Traité par mixture 10 mg/kg/j + 100 mg/kg/j
GSH (µmol/min/mg)	2.881 ± 1.318	3.139 ± 2.819	17.702 ± 2.957 ***	9.268 ± 2.875 *

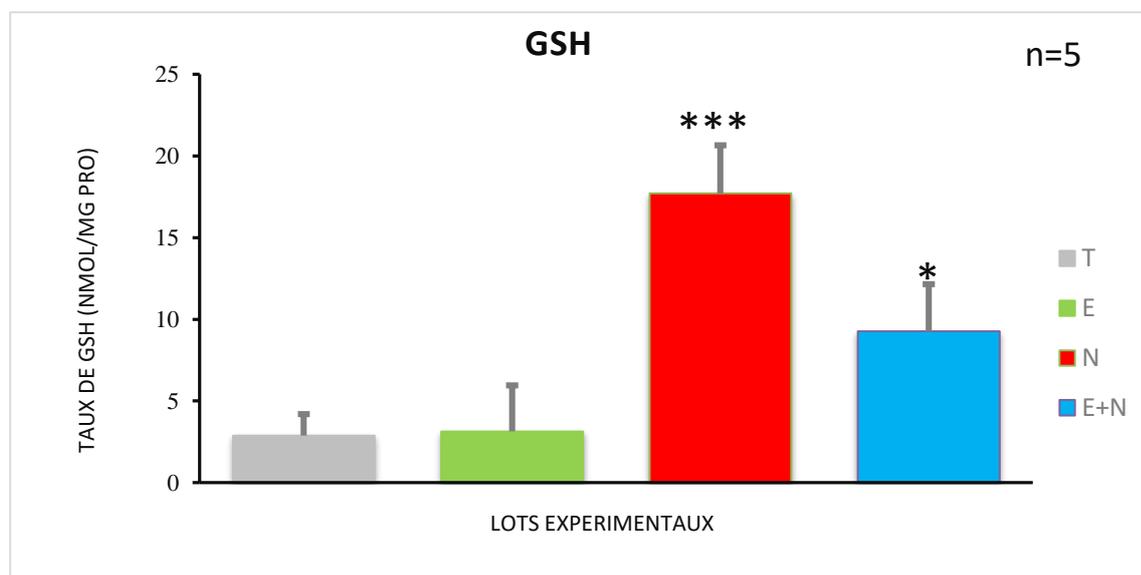


Figure 15 : Variation de l'activité de Glutathion réduit (GSH) foie chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours

1.1.2. Effet du traitement sur l'activité du Glutathion-S-transférase GST

La figure 10 et le tableau 04 montrent que l'administration du Nickel et l'extrait à des doses différentes (10 et 100 mg/kg/j) pendant 28 mois chez les rats Wistar induit une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'activité de GST chez les rats traités

par le Nickel (10 mg/kg/j) par contre le lot traité par la dose mixture (100mg/kg/j)+(10 mg/kg/j) présente une augmentation significative ($P \leq 0.01$) par rapport au lot témoin.

Tableaux 06 : Variation de l'activité du GST chez les rats dans des différents lots expérimentaux.

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par Extrait 100mg/kg/j	Traité par Nickel 10mg/kg/j	Traité par mixture 10 mg/kg/j + 100 mg/kg/j
GSH ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$)	17.915 \pm 1.537	18.428 \pm 2.107	31.829 \pm 1.565 ***	25.028 \pm 1.150 *

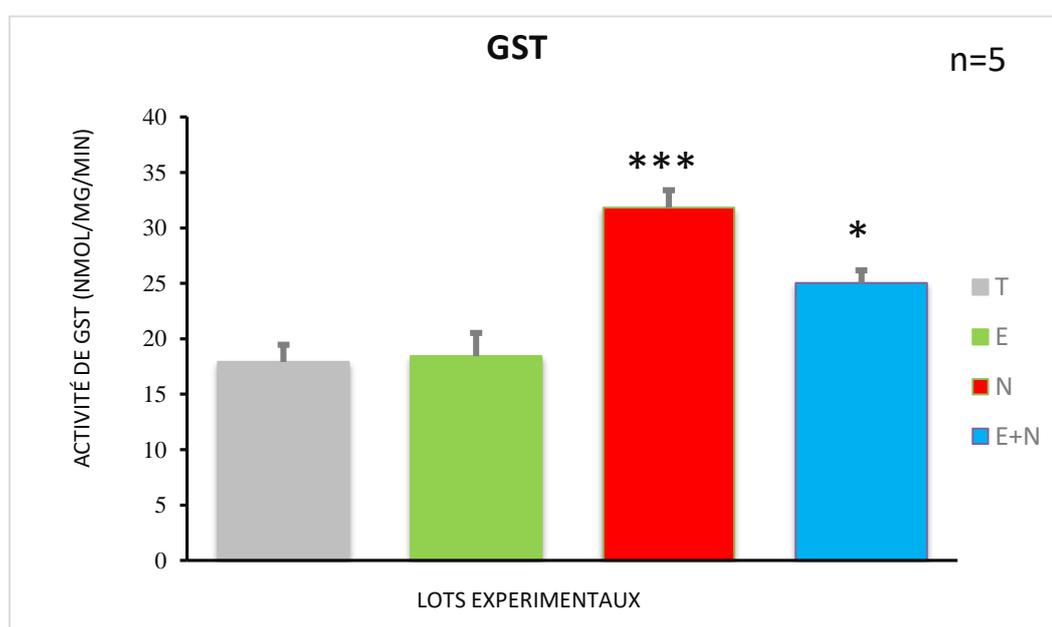


Figure 16 : Variation de l'activité de Glutathion -S transférase (GST) foie chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours.

1.1.3. Effet du traitement sur l'activité du Glutathion peroxydase GPx

Le traitement des rats Wistar par le Nickel et de l'extrait pendant 28 jours induit une diminution de l'activité de GPx, cette diminution est très hautement significative ($P \leq 0.001$) par rapport au témoin chez les rats traités par 10mg/kg/j.

Tableau 07 : Variation de l'activité du GPx chez les rats dans les différents lots expérimentaux

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par Extrait 100mg/kg/j	Traité par Nickel 10mg/kg/j	Traité par mixture 10 mg/kg/j + 100 mg/kg/j
GSH (μmol/min/mg)	1.834 ± 0.307	2.203 ± 0.273	0.442 ± 0.297 ***	1.594 ± 0.228 *

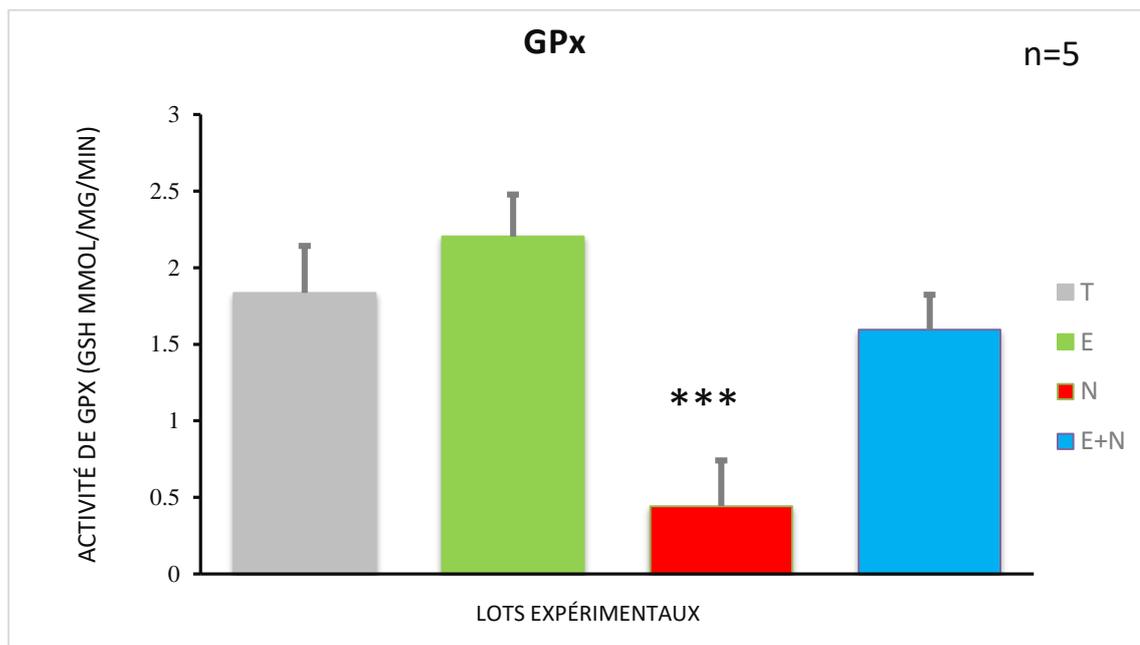


Figure 17 : Variation de l'activité de Glutathion peroxydase (GPx) foie chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours

1.1.4. Effet du traitement sur l'activité du Catalase CAT

La figure 11 et le tableau 06 montrent que l'activité de catalase CAT est diminuée au niveau du lot traité par 10mg/kg/j cette diminution est très hautement significative.

Tableau 07 : Variation de l'activité du CAT chez les rats dans les différents lots expérimentaux

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par Extrait 100mg/kg/j	Traité par Nickel 10mg/kg/j	Traité par mixture 10 mg/kg/j + 100 mg/kg/j
GSH (μmol/min/mg)	5.416 ± 0.706	5.367 ± 0.629	0.085 ± 0.685 ***	3.666 ± 0.526

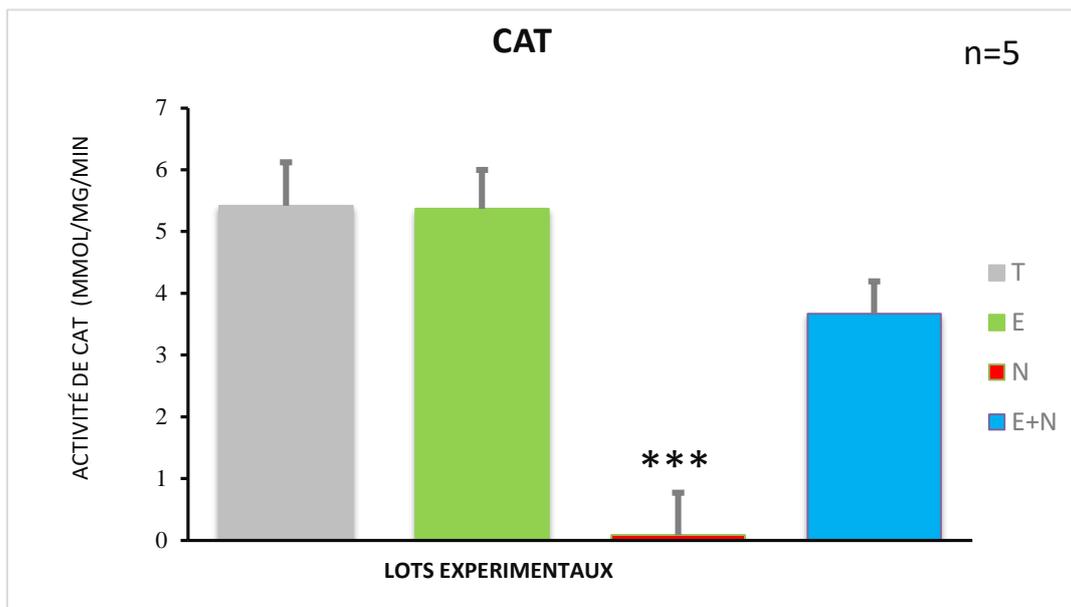


Figure 18 : Variation de l'activité du Catalase (CAT) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours

1.1.5. Effet du traitement sur le teneur du Malon-dialdéhyde (MDA)

Nous avons obtenu, suite au traitement des rats par le Nickel, une augmentation très hautement significative ($p \leq 0.001$) du taux de MDA dans les tissus hépatiques enregistrée par rapport au groupe témoin.

Tableaux 08 : Variation du teneur du MDA chez les rats dans les différents lots expérimentaux

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par Extrait 100mg/kg/j	Traité par Nickel 10mg/kg/j	Traité par mixture 10 mg/kg/j + 100 mg/kg/j
GSH ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$)	9.859 \pm 5.158	8.103 \pm 2.992	20.783 \pm 5.031 ***	13.044 \pm 4.688

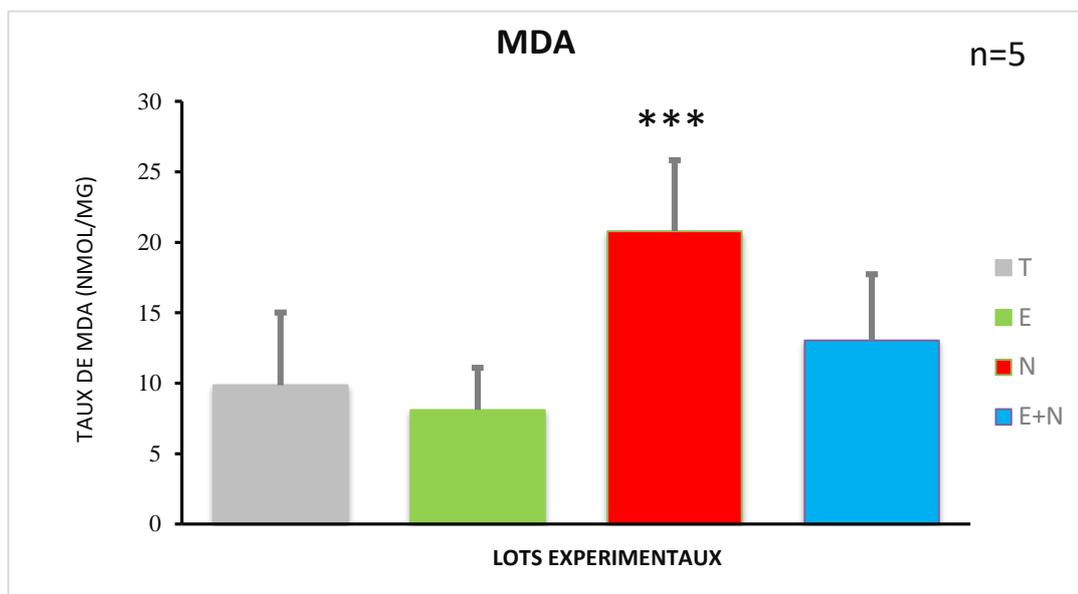


Figure 19 : Variation de l'activité du Malon-dialdéhyde (MDA) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours

1.2. Effets sur les paramètres biochimiques (protéines)

Les résultats obtenus suite à l'évaluation de l'activité de protéines totale montrent une augmentation significative chez le lot traité par le Nickel (10mg/kg/j) par rapport au lot témoin alors que pas de différence chez le lot traité par Extrait et au lot mixture (10mg/kg/j) + (100mg/kg/j).

Tableau 09 : Variation du taux des protéines hépatiques chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par Extrait 100mg/kg/j	Traité par Nickel 10mg/kg/j	Traité par mixture 10 mg/kg/j + 100 mg/kg/j
GSH ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$)	1.125 \pm 0.493	1.187 \pm 0.490	* 2.723 \pm 0.250	1.592 \pm 0.176

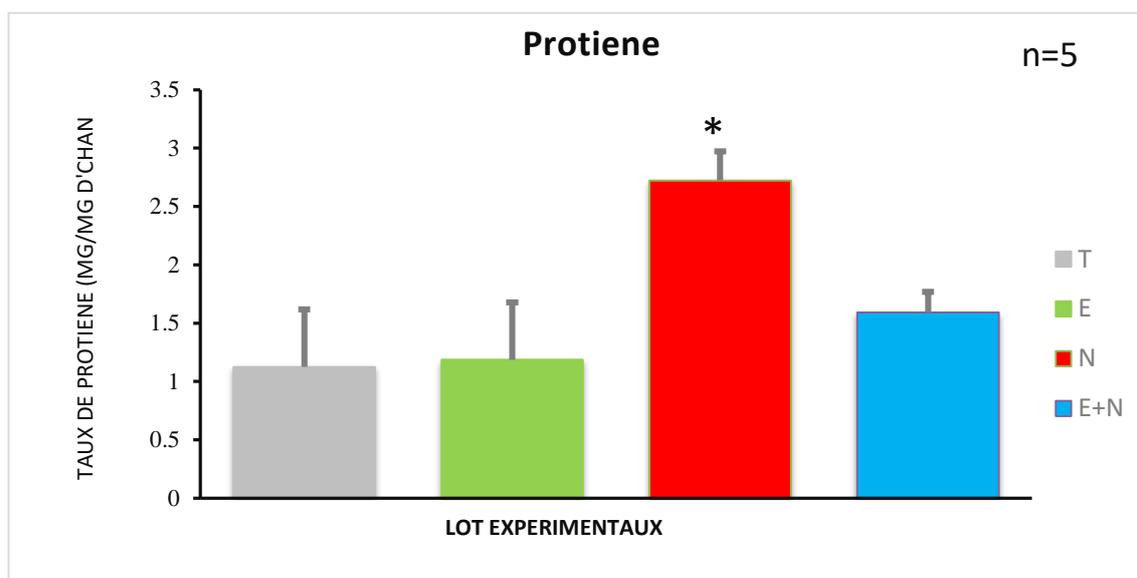


Figure 20 : Variation de taux des protéines chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

Discussion



2. Discussion

En toxicologie, la majorité des recherches ne concernaient que l'investigation des effets toxiques des xénobiotiques, tandis que les mécanismes et les agents de détoxification et de neutralisation n'ont pas encore pris leur valeur comme des objectifs des études expérimentales. C'est pour cela, dans ce travail, nous sommes intéressés, en premier lieu, à la mise en évidence d'un éventuel effet du *rosmarinus officinalis* sur la toxicité hépatique induite par le Nickel, sur quelques paramètres biochimiques plus spécifiquement et du stress oxydant chez les rats.

Le nickel est l'un des générateurs des espèces réactives de l'oxygène, produisant un déséquilibre entre les radicaux libres et leur élimination par les défenses antioxydantes, Il contribue à l'initiation et au développement de nombreuses pathologies. Les ROS sont très réactifs et peuvent endommager, s'ils ne sont pas neutralisés, diverses cibles telles que les glucides, les protéines, les acides nucléiques et les acides gras poly insaturés (peroxydation lipidique) (Boulila et al., 2014). Les objectifs de cette étude sont d'évaluer les effets toxiques d'une exposition chronique des rats au NiCl₂ sur les paramètres biochimique et les marqueurs antioxydant.

Dans notre étude expérimentale, nous avons constaté une augmentation significative du taux de protéines tissulaires après une exposition sub-chronique chez des rats aux NiCl₂ reflétant la synthèse d'enzymes et des peptides pour se défendre contre un déséquilibre homéostatique du stress oxydatif (Daddouh, 2016).

D'autre part, d'après les résultats obtenus lors de l'utilisation d'extrait du romarin comme molécule cytoprotectrice, il a été montré que ces composés phénoliques (Acide caféique et acide rosmarinique), Les di-terpènes phénoliques comme exemple (Acide carnosique, carnosol, rosmarol) et les flavonoïdes (diosmetine, dimetoxi-flavone). (Francisco et al., 2020 ; Yahiaoui, 2010), améliorerait l'équilibre de ce paramètre biochimique étudié dans ce présent travail.

Ce pouvoir préventif peut être attribué aux propriétés moléculaires antioxydant de ces composants phénoliques à travers le groupement hydroxyl(OH) et les groupements avec l'affinité chélatante des minéraux qui caractérisent ce composé. Ces résultats sont en accord avec de nombreuses études sur ce (Yahiaoui, 2010).

1. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydant

L'étude des paramètres de stress oxydatif tissulaire a montré une augmentation très hautement significative du taux de glutathion réduit (GSH) dans les tissus hépatiques du lot traité au NiCl₂ par rapport au lot témoin. En revanche, nous avons observé une augmentation significative du taux de GSH au niveau du lot traitée par la mixture de NiCl₂ et l'extrait de romarin. Ce résultat est en désaccord avec **(Leelavinothan et Kasinathan, 2010)**.

L'augmentation de GSH est suite au repense à l'altération générées par le stress oxydant, Celle -ci est en accord avec la recherche de **(Ben Saad et al.,2017)**.

Les enzymes antioxydantes sont la première ligne de défense de l'organisme contre les radicaux libres, empêchant l'oxydation des molécules biologiques **(Favier, 2006)**. Au cours de nos études, nous avons enregistré une différence très hautement significative ($p \leq 0.001$) de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) dans les tissus hépatiques chez les rats traités par NiCl₂. Par rapport aux témoins, l'activité enzymatique de la lactase a également été diminuée de manière très hautement significative dans le même lot (traité au NiCl₂). Ce résultat est en accord avec les recherches préalables de **(Leelavinothan et Kasinathan, 2010)**. Donc il va aboutisse finalement à un déséquilibre du système redox cellulaire au profit des prooxydants. Cet état de stress oxydatif favorise les réactions en cascade des radicaux libres avec les molécules biologiques. Une lipoperoxydation (au niveau des bios membranes cellulaires).

Concernant la glutathion S-transférase (GST), cette enzyme joue un rôle très important dans la désintoxication des xénobiotiques et/ou dans la protection contre des métabolites nocifs (enzyme de la phase 2 du conjugaison) générés après la dégradation des macromolécules suite à leur exposition au stress oxydant **(Mulder et al.,1999)**. D'après nos résultats on observe une augmentation très hautement significative de la GST dans le foie chez le lot NiCl₂ par rapport au lot témoin. L'augmentation de l'activité de cette enzyme est une réponse physiologique (effet protecteur) pour compenser les altérations qui sont dus aux radicaux libres **(Moussa, 2008)**. Après le traitement par la plante *Rosmarinus Officinalis* pendant 28 jours, l'activité enzymatique de la GST, revient presque à la normale chez le lot mixture (10mg/kg/j +100 mg/kg/j). Ceci est dû à l'effet protecteur de cette plante contre les dommages oxydatifs induits par le nickel. Ce résultat est confirmé par l'étude de **(Benkhedir et Bennedjoue, 2016)**.

Au cours de notre travail nous avons enregistré une augmentation très hautement significative ($p \leq 0.001$) du taux de MDA dans le foie, chez les rats traité par le NiCl_2 par rapport aux témoins.

Alors que l'hyper peroxydation pourrait être le résultat d'une modification importante du statut redox cellulaire dans le foie en faveur des prooxydants, parce que le Nickel s'est avéré générateur de radicaux libres qui est par leur pouvoir oxydant, sont à l'origine de l'oxydation de l'ADN, de lipides aboutissant ainsi à la mort des cellules. (**Quinlan et Gutteridge, 1988 ; Huk *et al.*, 1998**). Ces résultats sont confirmés par l'étude de (**Kebieche Mohamed, 2009**).

2. Effet du traitement sur les paramètres biochimiques

Le foie est le principal organe pour la détoxification, il est capable de neutraliser toutes les molécules toxiques. Grace à son rôle dans la transformation des xénobiotiques à titre d'exemple le Nickel, où le foie présente un grand risque des dommages.

Nos résultats révèlent une augmentation significative de taux des protéines tissulaire chez le groupe traité par le NiCl_2 , par rapport au groupe témoin.

Cette augmentation est due à l'altération des protéines tissulaires (structurales) par les ROS suite au dysfonctionnement entre la balance pro-oxydant et antioxydant, donc les protéines altérées deviennent des peptides, ce changement va perturbée leur fonction, ce qui devient sensible à l'action des protéases. (**Ben Saad *et al.*, 2017**).

Conclusion



Conclusion

Le stress oxydatif se réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire, durant laquelle, la génération d'oxydants accable le système de défense antioxydant. En raison de la toxicité des antioxydants synthétiques, le recours à des phytonutriments doués d'activités antioxydantes s'avère très avantageux et d'actualité.

Le *Rosmarinus officinalis*, plante pérenne qui pousse en abondance à l'état sauvage dans le bassin méditerranéen, est parmi celles fortement utilisées de nos jours, aussi bien en médecine traditionnelle qu'en agroalimentaire.

Dans notre étude, les extraits de *Rosmarinus officinalis* semblent présenter un intérêt réel et potentiel par leurs activités antioxydantes, établies in vitro.

Nos résultats montrent que l'intoxication du nickel chez les souris mâles adultes provoque des effets oxydatifs, hépatotoxiques qu'on peut les résumer dans les points suivants:

✓ L'effet oxydatif du nickel se manifeste par altération du système antioxydant cellulaire caractérisé par une action directe sur l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px) et du catalase et le taux du glutathion hépatique (GSH). Tandis que, les traitements combinés du chlorure de nickel et l'extrait de la plante ont montré une amélioration claire de système antioxydant.

En fin, le romarin comme toutes les plantes aromatiques, contient des arômes, des pigments et d'autres impuretés qui peuvent limiter son utilisation en tant qu'antioxydant ; il convient donc, de chercher des techniques d'extraction et de purification plus performantes afin d'obtenir les principes actifs, sans couleur, ni goût, ni odeur et qui agissent aussi efficacement à des petites concentrations.

Reference

Bibliographique



BIBLIOGRAPHIE

A

- **Ait Yahia L, ZemmouraHella D.** (2014). Etude de l'effet d'un stress oxydatif et le système défensif enzymatique chez le blé dur (*triticumdurumdesf.*). Université constantine 1.p 30-32.
- **Amroune Salah Eddine.** (2018).Phytothérapie et Plantes Médicinales. Université des Frères Mentouri Constantine. 66p.
- **Andrade J,Faustino C, Garcia1 C,Ladeiras D, Catarina P, Rijo P.** (2018). Rosmarinus officinalis L.: an update review of its photochemistry and biological activity. Future science group. 4(4). 18p.
- **Athamena. S.** (2009). UniversiteEl-Hadj Lakhdar-Batna. 126 p

B

- **Barka D, Ben MoussaR.** (2018). Evaluation in vivo de l'activité hépato protectrice de l'extrait aqueux de *Daphnegnidium L.* face à une hépatotoxicité induite par le CCl4. Université EchahidHamma Lakhdar -El OUED. 130p.
- **Barket S, Sabour H.** (2014). Hépatotoxicité médicamenteuse : cause et conséquence. Université canstantine1. 56p
- **Belghaouti R, Bendehiba S.** (2017). La prévalence de l'hépatite virale B dans la wilaya de Mostaganem. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. 62p.
- **Benikhlef.A.** (2014). Comparaisant entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla. Université Abor Belkaid-Tlemcen. 36p.
- **Borrás. L, Arráez-Romána. D, Herreroc. M, Ibáñezc. E, Segura Carreteroa. A, Fernández-Gutiérrez. A.** (2011). Comparison of different extraction procedures for the comprehensive characterization of bioactive phenolic compounds in *Rosmarinus officinalis* by reversed-phase high-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry. Journal of Chromatography A. 7682– 7690p.
- **Bouadjemi Khaled.** (2018). Etude comparative des différents parties de la plante romarin «*Rosmarinus officinalis*» par rapport aux pouvoirs antibiotiques sur le yaourt. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. 68 P.
- **Boukhalfa I, BenelmuftiF.** (2016). Les substances à pouvoir toxique sur le foie.Université des Frères Mentouri Constantine. 55p.

- **Boumadjen R, Kimouche.S.** (2018). Etude phytochimique et evaluation de l'activité antioxydante de Romarin (*Rosmarinus officinalis*). Université des Frères Mentouri Constantine. 85p
- **Bounihi .A.** (2016). Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentharotundifolia* (Lamiacées). Université Mohammed V. 08/15. 199.
- **Bouguerne B.**(2012).conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose).thèse de doctorat de l'université de toulouse.P15 -17.
- **Boussekine S.** (2014). Contribution a l'étude de l'effet du sélénium sur le mécanisme biochimique chez le diabète expérimental. Université badji-mokhtar, annaba. P 22-23
- **Buettner GR.**(1993). The pecking order of free radicals and antioxidants – Lipid-peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. *Arch BiochemBiophys* 300(2): 539–540, 1993
- **Bohr V, Anson RM, Mazur S, Dianov G.**(1998).Oxidative DNA damage processing and changes with aging. *ToxicolLett* .in press.47-52.
- ***Bouhalit S, Et Al** (2017). Effect of silymarin extracted from *silybummarianum* on nickel hematotoxicity and nephrotoxicity in male albino wistar rats. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*.vol 9: 8.p
- ***Boulila S, El Feki A, Oudadesse H, Kallel C, El Feki H .** (2014). Detoxification of rats subjected to nickel chloride by a biomaterial-based carbonated orthophosphate.*ann pharm fr*.in press.
- **Benkhedir.A, Bennedjoue. M.** (2016). Contribution a l'étude de l'effet du thymus numidicus sur l'hepatotoxicite induite par l'alloxane chez les souris.Université de Larbi Tébessi -Tébessa-. 101 P.
- **Ben SaadH, kammoun I, Zeghal M, Ben Amara I, Magne C, et al.** (2017). Effets du selenium sur le stress oxydant au niveau des reins des rats traites par le tebuconazoleeffects of selenium on tebuconazole- inducednephrotoxicity in adult rats. *J.I.M.Sfax*.35-42P.

C

- **Claire Hoefler.** (1994). Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses: activités cholérétiques, anti-hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Université De Metz. 171P.

D

- **Daddouh F.** (2016). L'effet combiné de la vitamine C (acide ascorbique) et de la vitamine E (α -tocophérol) contre la toxicité du nickel chez les souris (*Mus musculus*). Université Badji-Mokhtar, Annaba. 141p.
- **Danielle Tholey MD**, *Thomas Jefferson University Hospital*, 2019
- **Deltor O.** (2019). Médicaments et hépatotoxicité, conseils et suivi à l'officine. Université de Limoges. 121p.
- **DJABI A, KHOBIZI B.** (2018). Etude de l'effet des extraits aqueux et éthanoliques de Romarin sur la croissance de quelques champignons phytopathogènes. Université Ali Mohand Oulhadj – Bouira. 59p

E

- **Eline Padeloup Grenez.** (2019). Phytothérapie - exemples de pathologies courantes à l'officine: Fatigue, Insomnie, Stress, Constipation, Rhume, Douleur et Inflammation. Université de Lille. 141p.

F

- **Francisco González-Minero. J, Luis. B, Antonio. A.** (2020). *Rosmarinus officinalis L.* (Rosemary): An Ancient Plant with Uses in Personal Healthcare and Cosmetics. MDPI. 7 (77). 17p.
- **Favier A.** (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique* - novembre-décembre.
- **Favier A.** (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Elsevier Masson SAS*. 64: 390-396.

G

- **Galvez-Cloutier R et Lefrançois P J.** (2005). Les sols contaminés par des métaux lourds : Distribution géochimique et techniques de restauration (Première partie). VECTEUR ENVIRONNEMENT .VOL. 38(3).P30.
- **Gasmi S.** (2018). Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat. Thèse Doctorat. Université de Tébessa. 217p.
- **Godon A.** (2010). Relations structure/composition/propriétés de revêtements électrodéposés de nickel de taille de grain nanométrique. Université de la rochelle français.p9. ...thèse01.

H

Hala Y.(2008).L'obésité de l'adolescent Libanais : étude épidémiologique et effets d'un exercice aigu et chronique sur le stress oxydant d'adolescentes en surpoids. Université Européenne de Bretagne.

- **Haleng J, Pincemail J , Defraigne J.O , Charlier C , Chapelle J.P .**(2007).Le stress oxydant. Rev Med Liege.62(10). P628-636

- **HausingerRp.** (1993). Biochemistry of nickel. Springerlink.v12.p01.

- **Hoet P.**(2007). Nickel et composés. Emc(elseviermassonsas,paris),toxicologie- pathologie professionnelle et de l'environnement.p2-5.

- **Huk. I., Brokovich. V., Nanobashvili. J., Weigel. G., Neumayer. C., Partika. R., et al.** **1998.** Bioflavonoid quercetin scavenger superoxide and increases nitric oxide concentration in ischemia-reperfusion injury an experimental study. *Brit J Surg.* 85: 1080-1085

J

- **Jonatas. R. Esteves. AfonsoCamargo.S.Luciane D.** (2019). Rosmarinus officinalis L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of Biomedical Science.* 5 (26). 23p

L

- **LEPLAT. M.** (2017).Le Romarin, Rosmarinus officinalis L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Université d'Aix-Marseille. 229p.

- **Lapedes D.N.**(1974). Dictionnaire of scientific and technical terms. New-York Mc Graw Hill.Edition N°1. p. 674.

- **Leelavinothan P. Kasinathan A.**(2010).Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male Wistar rats. *European Journal of Pharmacology.* 364–370 P.

M

- **Makhloufi. A.** (2012). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricariapubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. UniversitéAboubakerBelkaid. 166p

- **Mansouri.F, Messabhia. H.** (2018). Etude de l'effet larvicide de l'extrait hydroalcoolique de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Culex pipiens*. Université Larbi Ben M'Hidi Oum El Bouaghi. 69p.

- **Mégarbane B., N. Deye, F. Baud.** (2007). mécanismes lésionnels et thérapeutiques pharmacologiques spécifiques. *Réanimation médicale et toxicologique.*16. 632—642

- **Mégarbane. B, Deye. N, BaudF.** (2007). Foie toxique : mécanismes lésionnels et thérapeutiques pharmacologiques spécifiques. *Reanimation*. 16. 632—642p
- **Messaoudi D.** (2017).Effet hépatoprotecteur et propriétés antioxydantes de Santolinachamaecyparissus. Université Ferhat Abbas Sétif 1. 123p.
- **Maiti A K, Saha N C, Paul G, Dhara K.**(2018). Nickel neurotoxicity induces mitochondrial dysfunction and na+k+atpase inhibition. *Interdisciplinary toxicology*. Vol. 11(2). P 306–307.
- **Moussa S.** 2008. Oxidative stress in diabetesmellitus. *Romanian Journal of Biophysic*. 18: 225-236.
- **Mulder T., Court D., Peter W.** 1999. Variability of glutathione-S-transferasein human liver and plasma. *Clin. Chem*. 45: 355-359.

N

- **Nowak, C., J.R. Mossmann Et A. Saada.** (2002). État des connaissances sur l'atténuation naturelle : mécanismes et mise en œuvre. Rapport brgm/rp-51960-fr. 97p.

O

- **Omamuyovwi. M, Sunday.Y, Joshua. O, Thajasvarie. N, Michael. A.** (2018). Nickel induced neurodegeneration in the hippocampus, striatum and cortex; an ultrastructural insight, and the role of caspase-3 and α -synuclein. *Trace elements in medicine and biology*. 20p.

P

- **Ploton M.** (2019). Impact de la phosphorylation de fxr par la pka sur son activité transcriptionnelle et sur la régulation de la néoglucogenèse hépatique. Université de Lille. 293p.
- **Pasquier C.** (1995).stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires*.

Q

- **Quinlan G., Gutteridge J.** 1988. Hydroxyradical generation by the tetracycline antibodies with free radical damage to DNA, lipids, carbohydrates carbohydratesin the presence of iron and copper salts. *Biol Med*. 5: 341-342.

R

- **Rachel Therrien.** Pharmacist, Bpharm, Msc Unité Hospitalière de recherche et d'enseignement VIH/sida Centre Hospitalier de l'Université de Montréal.
- **Rutkay. A, UÇAR. E, GÜRSOY. Ö.** (2020). Investigation of Salt Stress in Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) with the Remote Sensing Technique. *Türkiye TarımsalAraştırmalarDergis*.7(2). 120-127p

- **Remon E.**(2006). Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution. Thèse Doctorat. UNIVERSITÉ JEAN MONNET.P3-9.
- **Rengel Z.** (1999) heavy metals as essential nutrients. In m.n.v. Prasad and j.Hagemeyer (ed.) Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems. Springer, berlin.p 231–252.

T

- **Toualbia N.**(2018). Étude de la toxicité mixte de chlorure de nickel et de chlorpyrifos sur les lapins oryctolaguscuniculus. Université laarbi tebessi –tebessa.p21

V

- **Viala A, Botta A,** (2009). Toxicologie. Lavoisier. 2ieme édition. 170-189p.
- **Valko M, Izakovic M, Mazur M, C J. Rhodes and Telsler J.**(2004)Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. Molecular and Cellular Biochemistry.266 :46-49
- **Valko M, Morris H and. Cronin M.T.D.**(2005).Metals, Toxicity and Oxidative Stress. CurrentMedicinalChemistry, Vol. 12, N°10.P1161-1186.

Y

- **YahiaouiHassiba épouse Bentata.** (2010). Caractéristiques Biochimiques des Antioxydants du Romarin (Rosmarinus officinalis) de l'Ouest Algérien et leurs Effets sur la Conservation des Viandes. Université Abdelhamid Ibn Badis -Mostaganem. 183p.

Z

- **Zekkour M.** (2008). Les risques de la phytothérapie, Monographies des plantes toxiques les plus usuelles au Maroc. UniversitéMohamed V-Souissi. 30. 125p.
- **Zorrig W.** (2011).recherche et caractérisation de déterminants contrôlant l'accumulation de cadmium chez la laitue"lactucasativa". Faculté des sciences de tunis. P 15

WEBOGRAPHIE

- (Site 01) : www.guidetherapeutiquevih.com
- (Site 02) : <http://www.inrs.fr/fichetox>. Nickel et composés. 5^{ème} édition.mise à jour : Février 2021.N ° 276.

Annexe



Annexe01 : photo du plant *Rosmarinus officinalis L*

Région : youkous, Hammamet.

La récolte : Avril - Mai (2020).



Annexe 02 : des différentes parties du plant *Rosmarinus officinalis L*

Le type d'extraction qui nous avons utilisé c'est : la macération

- **Les différentes formes d'extraction :**

Le mode de préparation conditionne la composition et la teneur en principe actif. Il y a trois étapes préalables avant l'extraction :

- 1) **Le choix de la matière première :**

Plante fraîche, plante sèche ou plante stabilisée

- 2) **Le traitement préalable de la drogue :**

Concassée, broyée plus ou moins finement selon le degré d'extraction recherché

- 3) **Le choix du solvant:**

Le méthanol, L'eau, l'alcool, la glycérine, l'acétone, etc...

Enfin on a plusieurs possibilités d'extraction :

La macération : Procédé de dissolution et d'extraction partielle, par exemple par l'eau ou le méthanol, consistant à maintenir, pendant plusieurs heures, la matière première en contact, à froid, avec le solvant. Le produit obtenu est un macéré ou un macérât.

La décoction : Procédé de dissolution et d'extraction partielle, par exemple par l'eau ou l'éthanol, consistant à maintenir la matière première en contact avec le solvant, à l'ébullition. Le produit est un décocté.

L'infusion : Opération de dissolution extractive consistant à verser sur une plante de l'eau bouillante, à maintenir le contact pendant un certain temps puis à laisser refroidir. Le produit obtenu est appelé infusion.