



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. Selama Chams-Eddine et M. Djareche Hicham

Intitulé :

**L'effet protecteur de l'extrait de la plante
médicinale *Rosmarinus officinalis* sur la
neurotoxicité du nickel**

Devant le jury :

M. Menaceur Fouad	MCA	Université Larbi Tébessi- Tébessa	Président
M. Gasmi Salim	MCB	Université Larbi Tébessi- Tébessa	Rapporteur
M. Soltani Nadjemddine	MCB	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 neuronale et stress oxydatif du système nerveux

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 représentée par les protéines tissulaires, ainsi que l'augmentation de la concentration du GSH et du niveau de la peroxydation lipidique (au biais de la MDA). 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 enregistré dans le cerveau, avec une augmentation coïncidente de la teneur réduite en glutathion ($p < 0,05$) et de la restauration des enzymes antioxydantes (GST, CAT, GPx) dans le cerveau.

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

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

Abstract

The objective of this study was to study the effect of the extract of *Rosmarinus officinalis* against the alterations induced by nickel chloride, including indices: neuronal dysfunction and oxidative stress of the nervous system.

20 male Wistar rats were divided into four groups of five each; Control, extract of *Rosmarinus officinalis* (100 mg / kg / d), nickel chloride (10 mg / kg / d), mixture of nickel chloride and extract of *Rosmarinus officinalis* (10 and 100 mg / kg / d). Orally last 28 days.

NiCl₂ treatment led to a significant increase in biochemical markers represented by tissue proteins, as well as an increase in the concentration of GSH and the level of lipid peroxidation (through MDA). While the activity of antioxidant enzymes, GPx and CAT were decreased. Noting that there is an increase in GST. Treatment with rosemary extract attenuated the variation in biochemical markers, decreasing lipid peroxidation recorded in the brain, with a coincident increase in reduced glutathione content ($p < 0.05$) and restoration of antioxidant enzymes (GST, CAT, GPx) in the brain.

In conclusion, these results demonstrated that rosemary extract effectively improved the neurotoxicity caused by nickel.

Key words : Nickel, *Rosmarinus officinalis*, Neurotoxicity, Oxidative stress, Rats.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تقييم التأثير التصحيحي للمستخلص الميثانولي المأخوذ من أوراق النبات الطبي اكليل الجبل ضد السمية العصبية التي يسببها كلوريد النيكل في جرذان سلالة ويستار. لهذا تم اجراء تجارب في الجسم الحي لمدة 28 يوم على 20 فأر من الذكور. تم تقسيم الفئران الى 4 مجموعات في كل مجموعة 5 فئران. المجموعة الأولى فئران شاهدة لم تعالج، المجموعة الثانية تعالج بمستخلص نباتي لنبته اكليل الجبل بجرعة 100ملغ/كلغ/يوم، الثالثة تعالج بكلوريد النيكل بجرعة 10ملغ/كلغ/يوم و الرابعة تعالج بمزيج مستخلص نبتة اكليل الجبل و كلوريد النيكل بجرعة 10ملغ/كلغ/يوم (العلاج عن طريق الفم). تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن كلوريد النيكل يسبب اضطرابا في الأيض مما يؤدي الى تغيير في المعايير الأيضية مؤكدة بزيادة في تركيز البروتينات الكلية، و المعايير الانزيمية الخاصة بالنسيج العصبي مؤكدة بزيادة في الغلوتاثيون المختزل (GSH) و (MDA)، و انخفاض في النشاط الانزيمي للغلوتاثيون المؤكسد (GPX)، و زيادة في النشاط الانزيمي بالنسبة للغلوتاثيون الناقل (GST) (معايير الاجهاد التأكسدي). تكشف نتائجنا أن علاج الفئران بالمستخلص الميثانولي لنبات اكليل الجبل أدى الى تحسين المعايير الوظيفية العصبية كما أدى ايضا الى تحسين انزيمات الدفاع المضاد للأكسدة. تلهم هذه النتائج أن مستخلص هذه النبتة له تأثير وقائي مضاد للأكسدة ضد السمية العصبية التي يسببها كلوريد النيكل.

الكلمات المفتاحية : اكليل الجبل، كلوريد النيكل، السمية العصبية، الاجهاد التأكسدي.

Remerciements

Louange à Allah le tout puissant qui nous a accordé la foi, le courage et la patience pour mener à bien ce travail.

*Nous tenons à remercier infiniment notre encadreur, **Dr. Gasmí Salím**, pour son aide, sans réserve, sa patience et ses conseils précieux qui nous ont été très utiles.*

*Nous remercions sincèrement Monsieur **Saker Hichem** notre Co- directeur de mémoire, qu'il trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance tant pour nous avoir accordé sa confiance que pour nous avoir guidé dans notre travail.*

*Nous remercions également les membres du jury «**Dr. Menaceur Fouad** et **Dr. Soltani Nadjemddine** » qui nous ont honoré en acceptant de juger et d'enrichir ce travail. Ces remerciements vont aussi à toute nos familles, et tous nos amis pour leur aide et leur soutien.*

Nous tenons à remercier également tous nos enseignants durant nos études académiques.

Selama Chams-Eddine et Djerche Hicham

Dédicace

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

Nos Parents, pour leur amour, leur gentillesse et leur tendresse, pour leur sacrifice qu'ils n'ont cessé de faire tout au long de notre formation et surtout pour leurs prières. Nous espérons que vous trouverais dans ce travail toute la fierté que peut éprouver un parent pour leurs enfants.

Nos frères et sœurs, pour leurs encouragements, soutien, conseils et surtout pour leur bénédiction et amour.

Sans Oublier Tous Les Membres De Nos Familles Grande Et Petite Ainsi Que Tous

Nos Amis.

Liste des abréviations :

ERO :Espèce réactif de l'oxygène.

ERN : Espèce réactif de l'azote.

RL : Radicaux libre.

TRx : Thiorédoxines.

TRxR : Thiorédoxine réductase.

(α -TOH) : α -tocophérol.

SN : Système nerveux.

SNC : Système nerveux centrale.

SNP : Système nerveux périphérique.

SNA : Système nerveux automatique.

DDP : Différence de potentiel.

GABA : Acide γ -aminobutyrique.

Ach : L'acétylcholine.

AchE : Acétylcholinestérase.

Gly : Glycine.

Glu : Glutamate.

5-HT : La sérotonine, ou 5-hydroxytryptamine.

GSH : Glutathion.

Ni : Nickel.

NiCl₂ : Chlorure de Nickel.

GST : Glutathion S- transférase.

CAT : Catalase.

GPx : Glutathion peroxydase.

MDA : Malondialdéhyde.

EOA : Espèces oxygénées activées.

SH : Le groupement sulfhydrile.

SOD : Superoxydes dismutases.

CAT : Catalase.

GPx : Glutathion peroxydase.

Listes des Figure

Figure 1 : Forme natif du nickel (Yann. 2017).	3
Figure 2 : Exemple de lésions cutanés induites par une hypersensibilité au nickel (Belliaro. 2018)	6
Figure 3 : Transport du nickel et ses interactions avec les molécules majeures de la cellule (Daddouh. 2016)	6
Figure 4 : Structure de la vitamine C	12
Figure 5 : Structure de le vitamine E	12
Figure 6 : Structure d'un neurone (Vibert et al. 2011).	16
Figure 7 : : Synthèse et sécrétion de l'acétylcholine (Siegel & Hreday. 2011).	21
Figure 8 : Synthèse et sécrétion de la dopamine (Siegel & Hreday. 2011).	23
Figure 9 : Synthèse et sécrétion de l'adrénaline (Siegel & Hreday. 2011).	23
Figure 10 : Synthèse et sécrétion de la serotonine (Siegel et Hreday. 2011).	24
Figure 11 : Rats males dans cage d'élevage (Photo per.)	31
Figure 12 : Variation de l'activité de protéines totales chez les rats de chaque lot après 28 jours.	38
Figure 13 : Variation de l'activité de Glutathion réduit (GSH) chez les rats de chaque lot après 28 jours	39
Figure 14 : Variation de l'activité de Glutathion peroxydase (GPx) chez les rats de chaque lot après 28 jours.	40
Figure 15 : Variation de l'activité de Glutathion -S- transférase (GST) chez les rats de chaque lot après 28 jours.....	41
Figure 16 : Variation de l'activité de Malo dialdéhyde (MDA) chez les rats de chaque lot après 28 jours.....	41
Figure 17 : Variation de l'activité de la Catalase (CAT) chez les rats de chaque lot après 28 jours.	42

Liste Des Tableaux

Tableau 1 : Quelques caractéristiques physicochimique du nickel (Facility, 2014).	3
Tableau 2 : Espèces réactives de l'oxygène radicalaire et non radicalaire (Halliwell., 2006)	9
Tableau 3 : Exemple de quelques neurotransmetteurs, leur récepteur et leurs pharmacologie (Bear et al. 2016)	20
Tableau 4 : Evaluation des variations des protéines totale des rats dans les différents lots expérimentaux.	38
Tableau 5 : Variations de peroxydation lipidique et des enzymes antioxydantes dans le cerveau des rats testés et témoins	39

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	---

Partie Bibliographique

Chapitre 01 : Généralité sur le nickel

1. Le Nickel	2
2. Utilisation du nickel	4
3. Toxicocinétique	4
3.1 Absorption	4
3.2 Distribution	5
3.3 Elimination	5
4. Toxicité.....	5
4.1 Toxicité aiguë.....	5
4.2 Toxicité chronique	6
4.3 Neurotoxicité du Nickel (Ni).....	6

Chapitre 02 : Le stress oxydants

1. Généralité sur le stress oxydatif	8
1.1. Définition	8
1.2. Radicaux libres.....	8
1.3. Effet des radicaux libres sur l'organisme.....	9
1.3.1. Peroxydation lipidique	9
1.3.2. Oxydation et protéine	9
1.3.3. Oxydation de l'ADN	9
2. Les antioxydants :.....	10
2.1. Le système antioxydant enzymatique	10
2.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)	10
2.1.2. Glutathion peroxydase (GPx).....	10
2.1.3. La catalase (CAT).....	10

2.1.4.	Les thiorédoxines (TRx) et la thiorédoxine réductase (TRxR)	11
2.2.	Le système antioxydant non enzymatique	11
2.2.1.	Le Glutathions (GSH)	11
2.2.2.	Les oligo-éléments	11
2.2.3.	Les vitamines C (acide ascorbique) et E (α -tocophérol)	12
2.2.4	Polyphénols	12

Chapitre 03 : Le système nerveux

1.	Histologie du système nerveux (SN).....	14
1.1.	Le système nerveux central (SNC)	14
1.1.1.	L'encéphale.....	14
1.1.2.	La moelle épinière	15
1.2.	Le système nerveux périphérique	15
1.2.1.	Le système nerveux somatique.....	15
1.2.2.	Le système nerveux viscéral.....	16
2.	Physiologie du système nerveux	16
2.1.	Les neurones	16
2.2.	Les cellules gliales	17
2.2.1.	Les cellules gliales du SNC.....	17
2.2.2.	Les cellules gliales du SNP	18
3.	Fonctionnement du système nerveux	18
3.1.	L'influx nerveux et les potentiels membranaire	18
3.1.1.	Le potentiel de repos	18
3.1.2.	Les potentiels gradués	18
3.1.3.	Le potentiel d'action.....	19
3.2.	Les neurotransmetteurs	19
3.2.1.	Acétylcholine (Ach)	21
3.2.2.	Acide γ -aminobutyrique (GABA).....	21

3.2.3. Les amines Biogènes	22
----------------------------------	----

Chapitre 04: Le *Rosemarinus Officinalis*

1. Généralité	25
2. Définition.....	25
<i>Rosmarinus officinalis</i> dans la classification des végétaux.....	25
3. Historique	26
4. Les différentes espèces du genre <i>Rosmarinus</i>	26
5. Compositions chimiques du romarin.....	26
5.1. Les acides phénoliques.....	27
5.2. Les flavonoïdes	27
5.3. Les terpènes.....	27
5.4. L'huile essentielle.....	27
6. Utilisation en médecine traditionnelle.....	27
6.1. En usage interne	27
6.1.1. Tonique-stimulant.....	27
6.1.2. Apéritif-Stomachique-Dépuratif	28
6.1.3. Antitussif et antispasmodique	28
6.1.4. Ocytocique - Emménagogue	28
6.1.5. Autres utilisations.....	28
6.2. En usage externe	29
6.2.1. Antiseptique et cicatrisant	29
6.2.2. Emménagogue	29
6.2.3. Antirhumatismal Anti –inflammatoire	29
7. Percutions d'usage lié à la toxicité de l'huile essentiellement de <i>R. officinalis</i>	29
7.1. Toxicité en usage externe	29
7.2. Toxicité en usage interne.....	29
8. Utilisation non pharmaceutique de <i>R.officinalis</i>	30

En parfumerie	30
En alimentation	30
Comme antioxydant	30
Comme insecticide, antibactérien et antifongique.	30

Partie Expérimentale

Chapitre 01 : Matériels et Methodes

1. Matériels	31
1.1. Matériels biologiques	31
A. Animaux de laboratoire.....	31
B. Extrait de la plante médicinale (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	31
1.2. Matériel chimique	32
2. METHODES	32
2.1. Traitement des rats	32
2.2. Sacrifices et récupération du cerveau.....	32
2.3. Détermination des paramètres métaboliques et enzymatique	32
2.3.1. Détermination des paramètres métaboliques.....	32
2.3.2. Détermination des paramètres enzymatiques	33
2.4. Analyse statistique	37

Chapitre 02 : Resultats et Discussion

1. Résultats	38
1.1. Etude des biomarqueurs de croissance.....	38
1.2. Étude des biomarqueurs de stress oxydatif	38
1.2.1. Glutathion réduit (GSH).....	39
1.2.2. Glutathion peroxydase (GPx).....	40
1.2.3. Glutathion -S- transférase (GST)	40
1.2.4. Malo dialdéhyde (MDA)	41
1.2.5. Catalase (CAT)	42

2.	Discussion	43
2.1.	Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydant.....	43
2.1.1.	Effet sur le GSH	43
2.1.2.	Effet sur le GPx	43
2.1.3.	Effet sur le GST	44
2.1.4.	Effet sur le MDA	44
2.2.	Effet du traitement sur les paramètres biochimiques	44
	Conclusion.....	46
	Références bibliographique	

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. 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)**.

Parmi les métaux lourds qui est largement utilisés Le nickel (Ni) est un métal blanc, brillant et dur, présent en faible quantité dans la croûte terrestre, surtout sous forme de minerais sulfurés, oxydés et silicatés. Il est couramment utilisé pour fabriquer des alliages de métaux solides et durables (aluminium, cuivre et fer). Il est retrouvé dans de nombreux objets courants comme les casseroles inoxydables, les pièces de monnaie, les piles rechargeables, les batteries nickel-cadmium. **(Chen et Thyssen. 2018)**.

Le stress oxydatif est un des effets toxiques couramment attribués au nickel, il se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre du rapport entre les radicaux libres et les systèmes de défense antioxydants dont dispose la cellule, avec comme conséquence l'apparition des dégâts souvent irréversible pour la cellule.

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 protecteur d'une plante médicinale (*Rosmarinus officinalis*), vis-à-vis la neurotoxicité induite par le nickel chez les rats de la souche Wistar Albinos.

Partie I : Bibliographique

Chapitre 01 : Généralité sur le nickel

Un métal est une matière, issue le plus souvent d'un minerai ou d'un autre métal, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité, se combinant ainsi aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisables dans l'industrie, l'orfèvrerie... On appelle en général métaux lourds les éléments métalliques naturels, métaux caractérisés par une masse volumique élevée, supérieure à 5 grammes par cm³.

L'appellation métaux lourds est cependant une appellation courante qui n'a ni fondement scientifique, ni application juridique. - Les métaux lourds sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, mais en général en quantités très faibles. On dit que les métaux sont présents " en traces ". Ils sont aussi " la trace " du passé géologique et de l'activité de l'homme.

Chez les végétaux et les animaux, de nombreux métaux lourds jouent un rôle indispensable dans leurs processus physiologiques majeures (Cu, Zn, Fe, Mn, Ni, Co) à faible concentration (oligo-éléments) ; Ils ne deviennent toxiques que lorsque la limite de concentration est dépassée (Miquel. 2001).

Pour le but de cette étude nous discuterons brièvement le nickel, son utilisation et sa toxicité potentiels.

1. Le Nickel

C'est un métal de couleur blanc brillant, presque argenté, magnétique (cependant moins que le fer ou le cobalt) qui n'existe pas dans la nature à l'état natif. Relativement dur, malléable et ductile, il fond à 1453°C et bout à 2800°C. Il existe sous la forme de cinq isotopes stables et a une faible réactivité chimique. Il est soluble dans l'acide nitrique dilué, est passif (non réactif) dans l'acide nitrique concentré et ne réagit pas avec les bases. Le nickel métallique ne se rencontre pas fréquemment dans la nature, il existe le plus souvent sous forme d'un alliage fer-nickel dans certaines roches ultrabasiques riche en fer et en magnésium (Yann. 2017).



Figure 1 : Forme natif du nickel(Yann. 2017).

Tableau 1 : Quelques caractéristiques physicochimique du nickel(Facility, 2014).

Symbole	Ni
Numéro atomique	28
Électrons par niveau d'énergie	2, 8, 16, 2
Masse atomique	58,69 u
Isotopes les plus stables	<p>58Ni avec une durée de vie de plus de 4x10¹⁹ ans (68,077 %)</p> <p>60Ni stable avec 32 neutrons (26,10 %)</p> <p>61Ni stable avec 33 neutrons (1,13 %)</p> <p>62Ni stable avec 34 neutrons (3,59 %)</p> <p>64Ni stable avec 36 neutrons (0,91 %)</p>
Série	métaux de transition
Groupe	10
Période	4
Bloc	D
Densité	8,9 g/cm ³
Point de fusion	1455 °C, 2651°F, 1728K
Point d'ébullition	2913 °C, 5275°F, 3186K

2. Utilisation du nickel

Environ les deux tiers du nickel produit sont utilisés dans les aciers inoxydables. Alors que c'est le chrome qui rend les aciers inoxydables inoxydables, le nickel améliore la résistance, la ductilité, la ténacité (non cassante) et la résistance à la corrosion. En conséquence, environ les deux tiers de l'acier inoxydable produit aujourd'hui sont alliés à des nickels. La résistance à la corrosion, la formabilité, la facilité de nettoyage et la capacité d'être stérilisé ont fait en sorte que les aciers inoxydables sont largement utilisés dans la transformation des aliments, la restauration, le traitement de l'eau, les usines pharmaceutiques et les équipements médicaux. Les alliages à base de 80 % de nickel et 20 % de chrome sont utilisés depuis de nombreuses années comme éléments chauffants, des cuisinières domestiques aux fours industriels. À l'autre extrême de la température, les aciers inoxydables au nickel restent résistants (non cassants) à des températures très basses, ce qui en fait des candidats pour le transport et le stockage de gaz naturel liquide. Le nickel est l'un des quatre éléments ferromagnétiques (fortement magnétiques) à température ambiante. Les trois autres sont les métaux fer, cobalt et gadolinium. Les alliages de fer et de nickel sont facilement magnétisés (aimants doux) et sont particulièrement adaptés pour protéger les équipements électroniques sensibles des interférences électromagnétiques (EMI). Les alliages d'aluminium, de nickel et de cobalt donnent naissance à la famille d'aimants permanents (**Chen et Thyssen. 2018**).

3. Toxicocinétique

3.1 Absorption

La principale voie d'apport en nickel est la voie orale à travers l'alimentation. Sa biodisponibilité est fortement influencée par les conditions d'administration. Ainsi, du nickel dissout dans un verre d'eau bu à jeun présente une biodisponibilité d'environ 27%, contre 1 à 2% lors de l'administration au cours d'un repas solide. Le bol alimentaire influence son absorption car le nickel se lie facilement à des acides aminés ou des vitamines, ce qui peut limiter son absorption.

L'inhalation représente une voie minoritaire d'apport dans la population générale mais existe chez les travailleurs au contact de vapeurs de nickel. Leur exposition est différente selon le type de nickel : nickel métal, oxydes de nickel, sels de nickel. Au plus le composé de nickel est soluble au plus il sera absorbé et sera susceptible d'exercer un effet toxique.

L'absorption par voie cutanée est possible bien que mineure, elle dépend de la nature du composé de nickel (le nickel carbonyle et les sels solubles comme les chlorures et les sulfates étant les mieux

absorbés), et augmente avec la sudation, les solvants, les détergents et les huiles qui favorisent la solubilisation du nickel contenu dans certains alliages (**Belliardo. 2018**).

3.2 Distribution

Le nickel en tant que métal a également besoin d'être lié à des protéines de transports pour pouvoir être distribué dans l'organisme. Ainsi, dans le sang, il peut se retrouver complexé avec différentes protéines : l'albumine, l' α 2-macroglobuline ou encore la L-histidine. Une fois complexé à l'albumine, un complexe ternaire peut se former avec la L-histidine. L'avantage de cette configuration est que la liaison nickel/albumine se rompt permettant au nickel de ne rester lié qu'à la L-histidine. Ce complexe, contrairement au précédent, est suffisamment petit pour permettre au nickel de franchir les membranes cellulaires et d'entrer dans les cellules.

Le nickel se distribue dans de nombreux organes avec une préférence pour les reins, les poumons et le foie. Il se retrouve également au niveau des glandes surrénales, de la glande thyroïde, du cœur, de la rate, du cerveau et du pancréas. Il passe également le placenta et se fixe dans les tissus fœtaux (**Belliardo. 2018**).

3.3 Elimination

L'excrétion du nickel a lieu majoritairement dans les urines durant les 9 premières heures suivant l'ingestion. Le nickel non absorbé est éliminé dans les fèces. Le nickel se retrouve également en faible quantité dans la sueur, la bile et le lait maternel. Sa demi-vie d'élimination est estimée entre 28 et 60h. Cependant, cette demi-vie a priori courte n'exclue pas l'existence d'une accumulation du métal sous forme insoluble dans les tissus impliquant, de facto, des demi-vies bien plus longues qui ne sont pas quantifiées à l'heure actuelle (**Belliardo. 2018**).

4. Toxicité

Les effets toxiques du nickel sont essentiellement indirects. Ce métal lourd non oxydoréducteur en milieu biologique provoquerait la diminution des taux cellulaires des principaux systèmes antioxydants. Des expositions courtes au Ni semblent à inhiber les enzymes antioxydants comme la SOD la CAT et la GSH-Px.

4.1 Toxicité aiguë

L'intoxication aiguë accidentelle par voie orale provoque essentiellement des troubles digestifs (nausée, vomissement, diarrhée, douleur abdominale), des céphalées et une asthénie associée parfois à

une bradycardie et une légère hyperthermie. Ces signes cèdent assez rapidement mais dans certains cas, peuvent persister quelques jours. Un cas mortel a été signalé ; celui d'un enfant ayant ingéré environ 200 mg/kg de nickel (sous forme de sulfate). L'emploi des sels de nickel dans l'industrie peut produire une dermatite, cette lésion appelée eczéma du nickel « Nickel itch » ; apparaît surtout chez les travailleurs occupés aux opérations de nickelage. Il s'agit d'un eczéma allergique, cependant que l'allergie respiratoire est rare (Daddouh. 2016).

4.2 Toxicité chronique

On retrouve, quelle que soit la voie d'exposition, une altération de la fonction rénale qui se traduit par une décroissance de la fonction glomérulaire et une hyper albuminurie. D'autres études mettent en évidence une hépatotoxicité avec une modification du poids du foie, une hypertrophie cellulaire, une congestion vasculaire, une dégénérescence des hépatocytes révélée par une augmentation des enzymes hépatiques (Daddouh. 2016).



Figure 2 : Exemple de lésions cutanées induites par une hypersensibilité au nickel (Belliaro. 2018)

4.3 Neurotoxicité du Nickel (Ni)

Le nickel est un polluant neurotoxique pouvant causer des dommages aux organismes vivants,

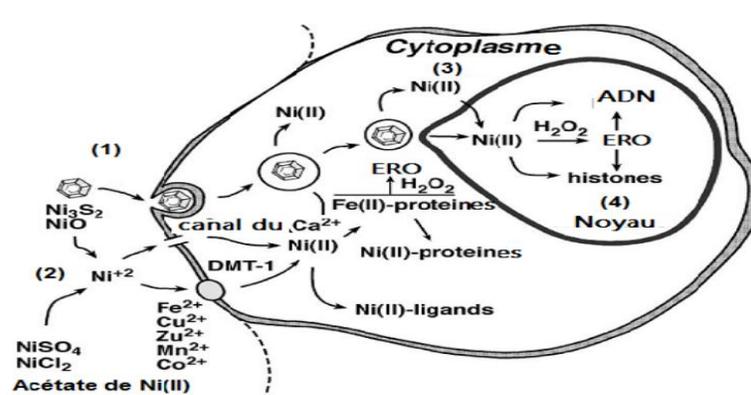


Figure 3 : Transport du nickel et ses interactions avec les molécules majeures de la cellule (Daddouh. 2016)

principalement par le biais du stress oxydatif. Parmi tous les organites la mitochondrie a été prouvé d'être la cible primaire de la toxicité du Ni, une fonction mitochondriale déficiente affecte généralement les activités d'importantes responsables du maintien de la fonction neuronale normale, à savoir la Na + K + ATPase. grâce à une génération accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les lésions oxydatives qui en résultent causant une réduction de la formation d'ATP. la Na + K + ATPase, une importante enzyme hétérodimérique dépendant de l'énergie, joue un rôle crucial dans le maintien des gradients Na + et K + à travers la membrane cellulaire. L'inactivation de la Na + K + ATPase conduit souvent à diverses altérations du neurone conduisant à des déficits fonctionnels dans le cerveau **(Maiti et al. 2018)**.

Chapitre 02 : Le Stress Oxydant

1. Généralité sur le stress oxydatif

1.1. Définition

Le stress oxydatif ou stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les pro-oxydant (producteur de radicaux libre) et les anti-oxydant (la capacité de corps a géré les radicaux libre) d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire en faveur des oxydants pouvant causer des dommages **(Yzydorzcyk. 2011 ; Favier. 2006 ; Sellaf. 2017)**.

Un oxydant est défini comme toute molécule acceptant un ou plusieurs électrons, devenant ainsi une substance réduite. La molécule d'O₂, du fait de sa configuration électronique, a un caractère oxydant qui se manifeste par son avidité vis-à-vis des électrons **(Yzydorzcyk. 2011)**.

Le système peroxydant est constitué par les espèces réactive dérivées de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN), l'augmentation des ERO et ERN peut être dues une augmentation de leur production ou à une diminution du système antioxydant chargé de leur neutraliser **(Yzydorzcyk. 2011 ; Favier. 2006)**.

1.2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable **(Favier. 2003)**.

Les radicaux libres (RL) sont des composés chimiques instables, caractérisés par un électron non apparié ou célibataire sur leur orbitale externe et douées de paramagnétisme lié au moment magnétique de spin de l'électron non apparié présentant une très grande réactivité **(Vergely and Rochette. 2005 ; Yzydorzcyk. 2011 ; Durant et al., 2003)**.

Grace à sa capacité à exister avec un électron non apparié l'oxygène est à l'origine de la formation des oxydants radicalaires et non radicalaires du système peroxydant. Ces oxydants sont regrouper sous deux catégories ; les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERN) **(Yzydorzcyk. 2011)**.

Tableau 2 : Espèces réactives de l'oxygène radicalaire et non radicalaire (Halliwell., 2006)

ERO radicalaire	Formule chimique
Oxygène moléculaire	$^3\text{O}_2$
Dioxygène singulet	$^1\text{O}_2$
Anion super oxyde	$^{\circ}\text{O}_2$
Radical hydroxyle	$^*\text{OH}$
Radical peroxyde	ROO°
Radical hydro peroxyde	HOO°
Radical alkoxyde	RO°
Radial oxyde nitrique	NO°
Peroxinitrite	ONOO°
ERO non Radicalaires	Formule chimique
Hydro peroxyde	ROOH
Hypochlorite	CLOH
Ozone	O_3
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2

1.3. Effet des radicaux libres sur l'organisme

1.3.1. Peroxydation lipidique

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des ERO radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allylique facilement oxydable. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé, c'est-à-dire dégradé par un processus oxydant non enzymatique (**Litime and Nacibe. 2020**).

1.3.2. Oxydation et protéine

Les radicaux libres oxygénés induits des modifications dans les structures primaires, secondaires et tertiaires des protéines par la formation des dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés (**Gasmi. 2018**).

1.3.3. Oxydation de l'ADN

L'ADN est une cible privilégiée pour les EOA. La guanine, par exemple, peut réagir avec OH^{\bullet} pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (**Litime and Nacibe. 2020**).

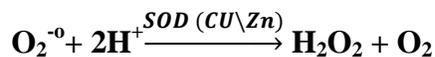
2. Les antioxydants :

Un antioxydant se définit comme toute substance, présente en faible quantité par rapport à un substrat oxydable, capable de réduire ou de retarder de manière significative l'oxydation de celui-ci. Les défenses antioxydantes sont de nature non enzymatique et enzymatique, elles constituent deux systèmes complémentaires dans la défense de l'organisme, contre-les ERO/ERN et leurs effets secondaires (**Yzydorczyk. 2011**).

2.1. Le système antioxydant enzymatique

2.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

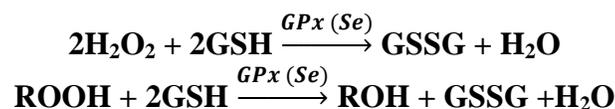
La SOD est une des plus importantes enzymes cellulaires possédant une fonction antioxydante et forme la première ligne de défense enzymatique. C'est l'enzyme antioxydante "anti-O₂^{-•}" la plus importante dans toutes les cellules vasculaires car elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en eau oxygénée. L'absence de cette enzyme peut être létale (**Bouguerne. 2012 ; Gasmi. 2018**).



Cette métalloprotéine est classée en trois catégories, la SOD cytosolique (Cu- et Zn-dépendante), la SOD mitochondriale (Mn-dépendante), et la SOD extracellulaire (Bouguerne. 2012).

2.1.2. Glutathion peroxydase (GPx)

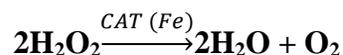
C'est la deuxième ligne de défense enzymatique, empêche la formation des radicaux libres, chez les mammifères. C'est une enzyme à sélénium présente dans le cytosol et la mitochondrie. Elle peut réduire d'une part l'H₂O₂ en H₂O et d'autre part les hydro peroxydes organiques (ROOH) en alcool (ROH) (**Gasmi. 2018**).



2.1.3. La catalase (CAT)

La CAT est une enzyme intracellulaire, localisée principalement dans les peroxysomes. La CAT est une enzyme tétramérique (à quatre hèmes) qui catalyse la réduction de H₂O₂ en O₂ et H₂O. La CAT et la GPx ayant des niveaux faibles dans le cerveau par rapport au niveau de SOD, c'est pourquoi un

effort oxydant créé par un taux élevé de métabolisme peut favoriser les maladies neurodégénératives (Bouguerne. 2012 ; Yzydorczyk. 2011 ; Gasmi. 2018).



2.1.4. Les thiorédoxines (TRx) et la thiorédoxine réductase (TRxR)

Les thiorédoxines sont des enzymes à activité antioxydante intrinsèque comme toutes les protéines à groupement thiol (-SH). Elles jouent aussi un rôle important dans la régulation du système immunitaire. Une fois oxydée, la thiorédoxine est réduite par la thiorédoxine réductase (TRxR) qui est une enzyme possédant un groupement sélénocystéine dans son site actif. La TRxR intervient aussi dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène et dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Bouguerne. 2012).

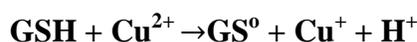
2.2. Le système antioxydant non enzymatique

2.2.1. Le Glutathions (GSH)

Le glutathion est un tripeptide (Y-glutamyl-cystéinyglycine) avec un groupement thiol très abondant, Il se retrouve de façons ubiquitaires chez les animaux et les végétaux. Le glutathion permettant la réduction des peroxydes cellulaires grâce à la réduction par le glutathion peroxydase (GPx) (Bouguerne. 2012).



Le glutathion peut également réagir avec les ions Fe^{3+} et Cu^{2+} et ainsi limiter leur participation à la génération des radicaux libres par la réaction de Fenton (Gasmi 2018).



2.2.2. Les oligo-éléments

Les oligoéléments apparaissent à des taux faibles dans notre organisme et certains d'entre eux, intervenant dans de multiples processus physiologiques, Toutes les enzymes antioxydants requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium (Litime and Nacibe. 2020).

2.2.3. Les vitamines C (acide ascorbique) et E (α -tocophérol)

2.2.3.1. Vitamine C

Malgré son rôle pro-oxydant, en présence d'ions métalliques libres, la vitamine C ou acide ascorbique possède une action antioxydante prédominante dans les conditions basales. Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques (**Boussekine. 2014**).

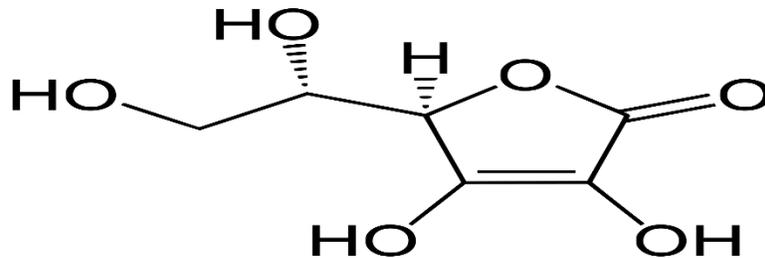


Figure 4 : Structure de la vitamine C

2.2.3.2. Vitamine E

La Vitamine E ou α -tocophérol (α -TOH) est le principal antioxydant de la famille des tocophérols structure moléculaire comporte une extrémité hydrophobe correspondante noyau chromanol et une extrémité hydrophobe. Il fixe aux membranes et stop la chaîne de réaction de peroxydation lipidique en captant un radical lipidique peroxyde (LOO-) (**Daghmous. 2020**).

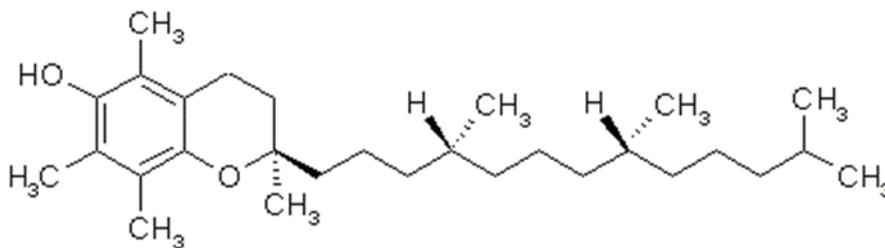


Figure 5 : Structure de la vitamine E

2.2.4 Polyphénols

Les phénols sont des molécules qui contiennent un ou plusieurs noyaux aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyle (OH). Ils peuvent être extraits à partir de plantes ou synthétiques.

L'apport alimentaire de ces composés aurait des effets bénéfiques dans la prévention de pathologies

diverses, telles que les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, l'ostéoporose ou le cancer
(Bouguerne. 2012 ; Gasmi. 2018)

Chapitre 03: Le système nerveux

1. Histologie du système nerveux (SN)

Le système nerveux de tous les mammifères à deux divisions : le système nerveux central (SNC) et le système nerveux périphérique (SNP) (**Meriab et al. 2019**).

1.1. Le système nerveux central (SNC)

Le SNC comprend les parties du système nerveux encapsulé dans l'os : l'encéphale et la moelle épinière (**Meriab et al. 2019**).

1.1.1. L'encéphale

L'encéphale se trouve entièrement dans le crâne et est composé de trois parties : le cerveau, le cervelet et le tronc cérébral (**Bear et al. 2016**).

1.1.1.1. Le cerveau

Divisé au milieu en deux hémisphères cérébraux (droit et gauche), séparés par la fissure sagittale profonde. L'hémisphère droit cérébral reçoit les sensations et contrôle les mouvements du côté gauche du corps. De même, l'hémisphère cérébral gauche est concerné avec les sensations et mouvements du côté droit du corps (**Bear et al. 2016**).

1.1.1.2. Le cervelet

Le cervelet se trouve derrière le cerveau, malgré sa taille il contient autant de neurones que les deux hémisphères du cerveau réunis, le cervelet est principalement un centre de contrôle de mouvements connecter à la cervelle et la moelle épinière. Contrairement au cerveau le côté droit et gauche du cervelet contrôle les mouvements du côté droit et gauche du corps (**Bear et al. 2016**).

1.1.1.3. Le tronc cérébral

Le tronc cérébral forme la tige à partir de laquelle les hémisphères cérébraux et le cervelet germent. Le tronc cérébral est un lien complexe de fibres et de cellules qui en partie sert à relayer les informations du cerveau à la moelle épinière et au cervelet, et vice versa. Cependant, le tronc cérébral est également le site où les fonctions vitales sont régulées, telles que la respiration, la conscience et la contrôle de la température corporelle. On peut survivre à des dommages au cerveau et au cervelet, mais les dommages au tronc cérébral sont généralement mortels (**Bear et al. 2016**).

1.1.2. La moelle épinière

La moelle épinière est enfermée dans la colonne vertébrale osseuse et est attaché au tronc cérébral. La moelle épinière est le principal canal d'information de la peau, des articulations et des muscles du corps vers le cerveau, et vice versa. La moelle épinière communique avec le corps via les nerfs spinaux (nerfs rachidiens), qui font partie du système nerveux périphérique. Les nerfs spinaux sortent de la moelle épinière par des encoches entre chaque vertèbre de la colonne vertébrale. Chaque nerf rachidien se fixe à la moelle épinière au moyen de deux branches, la racine dorsale et la racine ventrale. La racine dorsale (ou postérieur) contient des axones apportant des informations dans la moelle épinière. La racine ventrale (ou antérieur) contient des axones transportant des informations loin de la moelle épinière (Bear et al. 2016).

1.2. Le système nerveux périphérique

Le SNP est la partie du système nerveux en dehors du SNC. Le SNP est principalement constitué de nerfs qui s'étendent du cerveau et de la moelle épinière, et de ganglions (collections de corps cellulaires neuronaux). Les nerfs spinaux transportent des impulsions vers et depuis la moelle épinière, et les nerfs crâniens transportent des impulsions vers et depuis le cerveau. Ces nerfs périphériques servent de lignes de communication qui relient toutes les parties du corps au SNC.

Le SNP a deux subdivisions fonctionnelles, la division sensorielle (Afférent) transporte l'information émanant du corps vers le SNC, et la division motrice (Efférent) transporte l'information du SNC vers le corps. La division motrice est elle-même comprise de deux parties le système nerveux somatique (volontaire) et viscéral (autonome) (Vibert et al. 2011 ; Bear et al. 2016).

1.2.1. Le système nerveux somatique

Tous les nerfs spinaux qui innervent la peau, les articulations, et les muscles qui sont sous contrôle volontaire font partie du SN somatique. Les axones moteurs somatiques, qui commandent la contraction musculaire, proviennent des motoneurones de la moelle épinière ventrale. Les corps cellulaires des motoneurones se trouvent dans le SNC, mais leurs axones se trouvent principalement dans le SNP. Les axones sensoriels somatiques, qui innervent et collectent des informations de la peau, des muscles et des articulations, pénètrent dans la moelle épinière par les racines dorsales (Marieb et al. 2019 ; Bear et al. 2016).

1.2.2. Le système nerveux viscéral

Le SNP viscéral, également appelé système nerveux involontaire, végétatif ou autonome (SNA), se compose des neurones qui innervent les organes internes, les vaisseaux sanguins et les glandes. Les axones sensoriels viscéraux apportent des informations sur la fonction viscérale au SNC, comme la pression et teneur en oxygène du sang dans les artères. Les fibres moteur viscéral commandent la contraction et la relaxation des muscles qui forment la paroi des intestins et des vaisseaux sanguins, le taux de contraction du muscle cardiaque et fonction de sécrétion de diverses glandes. Par exemple, le SNP viscéral contrôle la pression artérielle en régulant la fréquence cardiaque et le diamètre des vaisseaux sanguins (Marieb et al. 2019 ; Bear et al. 2016).

2. Physiologie du système nerveux

2.1. Les neurones

L'unité la plus élémentaire du système nerveux sont les neurones. Les neurones sont des cellules nerveuses hautement spécialisées qui génèrent et conduisent des impulsions nerveuses et se composent de trois parties : les dendrites, un corps cellulaire et un axone, qui fonctionnent tous pour transmettre des informations sous forme d'impulsions électriques ou signaux. Les dendrites reçoivent les signaux, qui se déplacent ensuite vers le corps cellulaire et voyager jusqu'à ce qu'ils atteignent la fin d'un axone, ou des fibres nerveuses. Le signal traverse alors un écart (synapse) entre l'axone et la dendrite

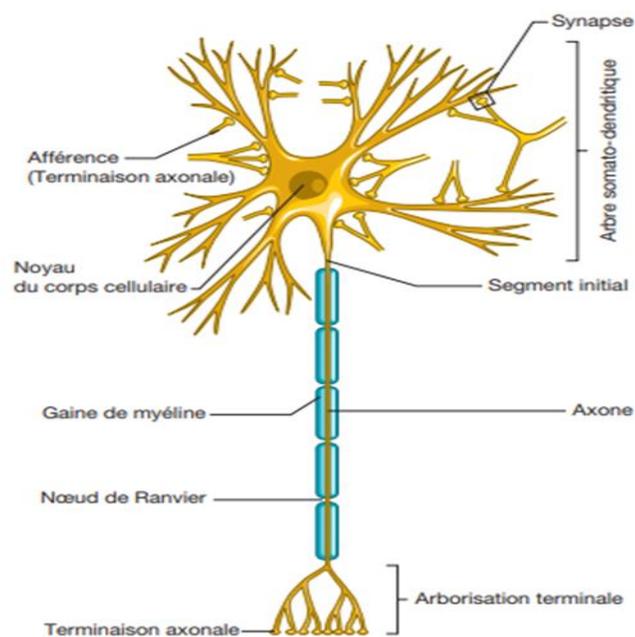


Figure 6 : Structure d'un neurone (Vibert et al. 2011).

suivante, se changeant en un signal chimique appelé neurotransmetteur pour relier l'écart (**Rogers. 2010 ; Marieb et al. 2019**).

2.2. Les cellules gliales

Ces cellules de soutien sont des cellules non conductrices qui soutiennent, isolent et protègent les neurones délicats. Il existe six types de cellules gliales – quatre dans le SNC (les oligodendrocytes, la microglie, les épendymaires et les astrocytes) et deux dans le SNP (les cellules de Schwann et les cellules gliales satellites) (**Marieb et al. 2019 ; Vibert et al. 2011**).

2.2.1. Les cellules gliales du SNC

Les astrocytes : Sont les cellules gliales les plus abondantes et les plus polyvalentes. Ils jouent un rôle dans les échanges entre capillaires et neurones. Ils contrôlent également l'environnement chimique autour des neurones et aident à recueillir les ions de potassium qui fuient et à recapturer et recycler les neurotransmetteurs libérés (**Gasmi. 2018 ; Marieb et al. 2019 ; Bear et al. 2016**).

Les Microglies : ou microgliocytes sont des petites cellules, généralement à petit noyau dense et de forme étoilée surveillent la santé des neurones voisins, et lorsqu'ils sentent que certains neurones sont blessés ou en difficulté, les microgliocytes migrent vers eux. Là où des micro-organismes envahissants ou des neurones morts sont présents, les cellules microgliales se transforment en un type spécial de macrophage qui phagocyte les micro-organismes ou les débris neuronaux. Ce rôle protecteur est important, car les cellules du système immunitaire ont un accès limité au SNC (**Marieb et al. 2019**).

Les épendymaires : varient en forme de squameux à colonnaire, et beaucoup sont ciliés. Ils tapissent les cavités centrales du cerveau et de la moelle épinière, où ils forment une barrière assez perméable entre le liquide céphalo-rachidien qui remplit ces cavités et le liquide tissulaire baignant les cellules du SNC. Le battement de leurs cils aide à faire circuler le liquide céphalo-rachidien qui amortit le cerveau et la moelle épinière (**Marieb et al. 2019**).

Oligodendrocytes : Bien qu'ils se ramifient également, les oligodendrocytes ont moins de branche (Oligo = peu ; dendro = branche) que les astrocytes. Les oligodendrocytes s'alignent le long des fibres nerveuses plus épaisses du SNC et enroulent leurs processus étroitement autour des fibres, produisant un revêtement isolant appelé gaine de myéline (**Marieb et al. 2019**).

2.2.2. Les cellules gliales du SNP

Les deux types de cellules gliales du SNP ; les cellules satellites et Schwann diffèrent principalement par leur emplacement.

Les cellules satellites : entourent les corps cellulaires neuronaux situés dans le système nerveux périphérique, et ont plusieurs des mêmes fonctions dans le SNP que les astrocytes dans le SNC (Marieb et al. 2019).

Les cellules de Schwann : (également appelées neurolemmocytes) entourent tous les fibres nerveuses dans le PNS et forment des gaines de myéline autour des fibres nerveuses plus épaisses. De cette façon, ils sont fonctionnellement similaires aux oligodendrocytes. Les cellules de Schwann sont vitales pour la régénération des fibres nerveuses périphériques endommagées (Marieb et al. 2019).

3. Fonctionnement du système nerveux

3.1. L'influx nerveux et les potentiels membranaires

Les cellules nerveuses génèrent une variété de signaux électriques qui transmettent et retiennent des informations. Tous ces signaux électriques proviennent de flux ioniques provoqués par la perméabilité ionique sélective des membranes des cellules nerveuses, produites par les canaux ioniques, et la distribution non uniforme de ces ions à travers la membrane, créée par des transporteurs actifs (Purves et al. 2018).

3.1.1. Le potentiel de repos

Désigne le potentiel électrochimique de la membrane plasmique d'un neurone (et toute cellules excitables) lorsqu'il est au repos. Lorsque le neurone est au repos, sa différence de potentiel (DDP) est négative c'est-à-dire que son cytosol le long de la surface interne de sa membrane est chargé négativement par rapport à la charge à l'extérieur, ceci est causé par une fuite importante et diffusion constante d'ions de potassium K^+ (la membrane est hautement perméable au K^+) vers le milieu extérieur et l'entrée d'ions de sodium Na^+ par quelques canaux ioniques de sodium (faible perméabilité). Le DDP des neurones est habituellement entre 40 mV et 90 mV (cela dépend du type de neurone) et est maintenu grâce à la pompe $3Na^+/2K^+$ (Siegel & Hreday. 2011 ; Marieb et al. 2018).

3.1.2. Les potentiels gradués

Les potentiels gradués sont des changements localisés de courte durée du potentiel membranaire, généralement dans les dendrites ou le corps cellulaire. Il peut s'agir de dépolarisations ou

d'hyperpolarisations. Ces changements provoquent des flux de courant dont l'ampleur diminue avec la distance. Les potentiels gradués sont appelés "gradués" parce que leur ampleur varie directement avec la force du stimulus. Plus le stimulus est fort, plus la tension change et plus le courant circule. Les potentiels gradués sont déclenchés par un changement (un stimulus) dans l'environnement du neurone qui ouvre des canaux ioniques fermés. Les potentiels gradués reçoivent des noms différents, selon l'endroit où ils se produisent et les fonctions qu'ils remplissent.

- Un potentiel de récepteur ou un potentiel générateur est produit lorsqu'un récepteur sensoriel est excité par son stimulus (par exemple, lumière, pression, produits chimiques).
- Un potentiel postsynaptique est produit lorsque le stimulus est un neurotransmetteur libéré par un autre neurone. Ici, le neurotransmetteur est libéré dans un espace rempli de liquide appelé synapse et influence le neurone au-delà de la synapse (**Marieb et al. 2018**).

3.1.3. Le potentiel d'action

Le potentiel d'action, également connu sous le nom de spike (pointe) est une réponse active générée par le neurone et est typiquement un changement bref (environ 1 ms), réversible et brutale dans le potentiel transmembranaire de négatif à positif. Lorsqu'un neurone reçoit un stimulant chimique (Neurotransmetteurs) ou électrique excitatrice, la membrane neuronale est dépolarisée, ce qui entraîne une ouverture de certains canaux Na^+ voltage-dépendants et un influx de Na^+ . L'accumulation de charges positives due à l'influx de Na^+ favorise la dépolarisation de la membrane neuronale. Lorsque le potentiel de membrane atteint le potentiel de seuil, les chances de générer un potentiel d'action sont d'environ 50%. Cependant, lorsque la membrane est dépolarisée au-delà du potentiel de seuil, un nombre suffisant de canaux Na^+ voltage-dépendants s'ouvrent, la perméabilité relative des ions Na^+ est supérieure à cela d'ions K^+ , et les potentiels d'action sont générés avec certitude. Les potentiels d'action sont tous identiques pour un même neurone, et ils ne diminuent ni de taille ni de puissance au cours de leur progression sur l'axone permettant le signal généré de traverser de long distance (**Purves et al. 2018 ; Vibert et al. 2011 ; Siegel & Hreday. 2011**).

3.2. Les neurotransmetteurs

Un neurotransmetteur est défini comme une substance chimique synthétisée dans un neurone, libérée au niveau d'une synapse suite à la dépolarisation du terminal nerveux, qui se lie aux récepteurs de la cellule postsynaptique et / ou du terminal présynaptique pour susciter une réponse spécifique. Certains neurotransmetteurs sont excitateurs (cause une dépolarisation) d'autres sont inhibitrice (cause

une hyperpolarisation). Pour qu'une substance soit considérée comme un neurotransmetteur, il faut que les critères suivants soient remplis :

- le neurotransmetteur doit être présent dans l'élément présynaptique ;
- l'élément présynaptique doit contenir les précurseurs et les enzymes nécessaires à sa synthèse ;
- le neurotransmetteur doit être libéré en réponse à l'activation du neurone présynaptique ;
- une fois libéré dans la fente synaptique, le neurotransmetteur doit rencontrer des récepteurs spécifiques au niveau de la membrane post-synaptique ;
- les éléments du complexe synaptique doivent posséder un ou plusieurs mécanismes capables d'inactiver le neurotransmetteur.

Il existe plus de 100 neurotransmetteurs différents. Ce grand nombre de transmetteurs permet une énorme diversité dans la signalisation chimique entre les neurones. Il est utile de séparer cette panoplie de transmetteurs en deux grandes catégories basées simplement sur la taille. Les neuropeptides, également appelés neurotransmetteurs peptidiques, sont des molécules émettrices relativement grandes composées de 3 à 36 acides aminés. Les acides aminés individuels, tels que le glutamate et le GABA, ainsi que les émetteurs acétylcholine, sérotonine et histamine, sont beaucoup plus petits que les neuropeptides et sont donc appelés neurotransmetteurs à petites molécules. Dans la catégorie des neurotransmetteurs à petites molécules, les amines biogènes (dopamine, norépinéphrine, épinéphrine, sérotonine et histamine) sont souvent discutées séparément en raison de leurs propriétés chimiques similaires et de leurs actions post-synaptiques (Siegel & Hreday. 2011 ; Vibert et al. 2011 ; Purves et al. 2018 ; Marieb et al. 2018).

Tableau 3 : Exemple de quelques neurotransmetteurs, leur récepteur et leurs pharmacologie (Bear et al. 2016)

Neurotransmetteurs	Type de récepteur	agoniste	antagoniste
Acétylcholine	Récepteur nicotinique	Nicotine	Curare
	Récepteur muscarinique	Muscarine	atropine
Norépinéphrine (Noradrénaline)	Récepteur α	Phényléphrine	Phénoxybenzamine
	Récepteur β	Isoprénaline	Propranolol
Glutamate	AMPA	AMPA	CNQX
GABA	GABA _A	Muscimal	Bicuculine
	GABA _B	Bacloten	Phacloten
Adénosine	0	Adénosine	Cafféine

3.2.1. Acétylcholine (Ach)

L'acétylcholine est synthétisée par les terminaisons axonales à partir de la choline et de l'acétylcoenzyme A. L'acétylcoenzyme A est présente dans les mitochondries. Il s'agit d'une enzyme provenant de la dégradation du glucose en pyruvate. La réaction de synthèse de l'Ach est catalysée par la choline acétyltransférase (CAT). Une fois synthétisée, l'Ach est stockée dans les vésicules synaptiques par un mécanisme de transport actif qui fonctionne avec une pompe H⁺/ATPase. Chaque deux molécules d'Ach diffusent de l'autre côté est liées avec un récepteur cholinergique, ce dernier provoque l'ouverture d'un canal sodique, ce qui favorise l'entrée des ions du sodium à l'intérieur de la fibre musculaire, dépolarisant ainsi la membrane post-synaptique et créant un potentiel (l'Ach a un effet postsynaptique excitatrice). En fonction du nombre des récepteurs activés, ce potentiel peut dépasser la valeur seuil et déclencher ainsi un potentiel d'action. Les molécules d'Ach sont rapidement détruites par l'enzyme Acétylcholinestérase (AChE) présente au niveau de la fente synaptique a deux molécules ; acétate et choline (Gasmi. 2018 ; Siegel & Hreday. 2011 ; Purves et al. 2018).

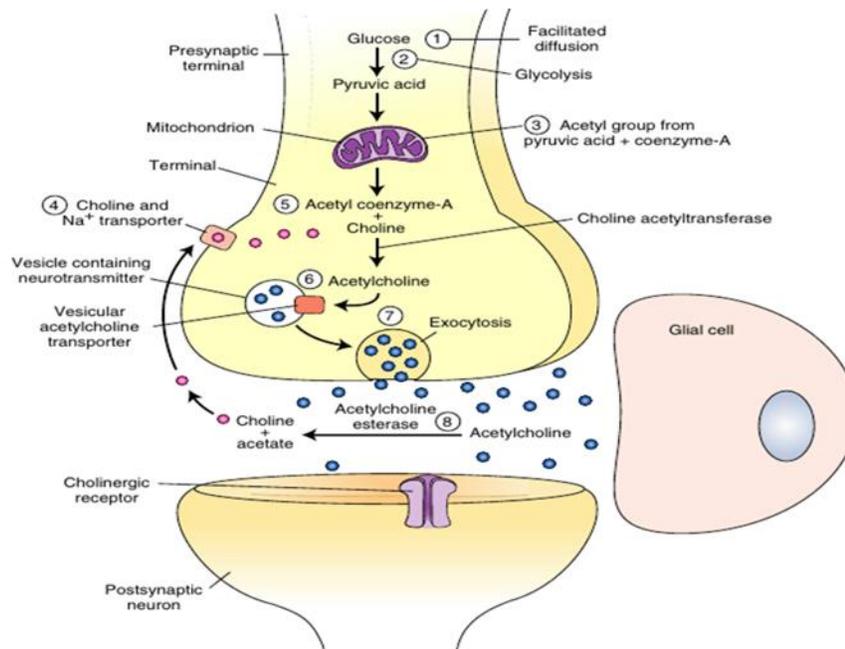


Figure 7 : : Synthèse et sécrétion de l'acétylcholine (Siegel & Hreday. 2011).

3.2.2. Acide γ -aminobutyrique (GABA)

La plupart des synapses inhibitrices du cerveau et de la moelle épinière utilisent soit l'acide γ -aminobutyrique (GABA), soit la glycine (Gly), soit la glutamate (Glu) comme neurotransmetteurs. Un tiers des synapses du cerveau utilisent le GABA comme neurotransmetteur inhibiteur. Seul le GABA

est unique aux neurones qui l'utilisent comme neurotransmetteur ; les autres font partie des 20 acides aminés qui composent les protéines (Pruves et al. 2018 ; Bear et al. 2016).

Parce que le GABA n'est pas l'un des 20 acides aminés utilisés pour construire les protéines, il est synthétisé en grande quantité uniquement par les neurones et est métabolisé par l'enzyme GABA transaminase dans les cellules gliales (Bear et al. 2016).

3.2.3. Les amines Biogènes

Les émetteurs d'amines biogènes tel que la dopamine, adrénaline (épinéphrine) et sérotonine régulent de nombreuses fonctions cérébrales et sont également actifs dans le système nerveux périphérique. Étant donné que les amines biogènes sont impliquées dans une si grande variété de comportements, que des défauts de la fonction amine biogénique soient impliqués dans la plupart des troubles psychiatriques.

La dopamine : est présente dans plusieurs régions du cerveau, et joue un rôle essentiel dans la coordination des mouvements corporels. Dans la maladie de Parkinson, par exemple, les neurones dopaminergiques dégénèrent, conduisant à un dysfonctionnement moteur caractéristique. On pense également que la dopamine est impliquée dans la motivation, la récompense et le renforcement ; de nombreux médicaments abusifs agissent en affectant les circuits dopaminergiques du SNC.

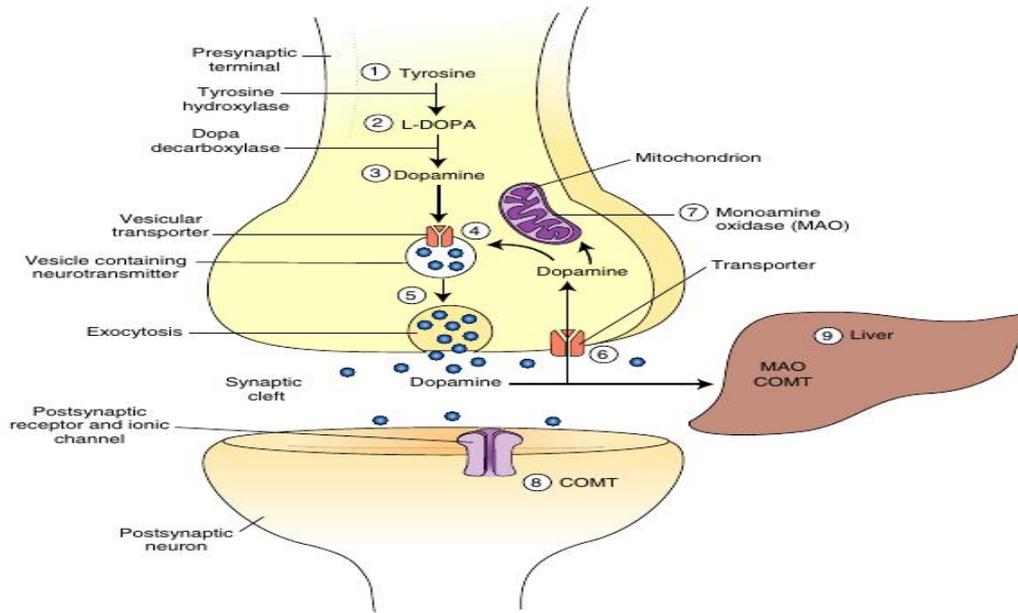


Figure 8: Synthèse et sécrétion de la dopamine (Siegel & Hreday. 2011).

L'épinéphrine (également appelée adrénaline) : se trouve dans le cerveau à des niveaux inférieurs

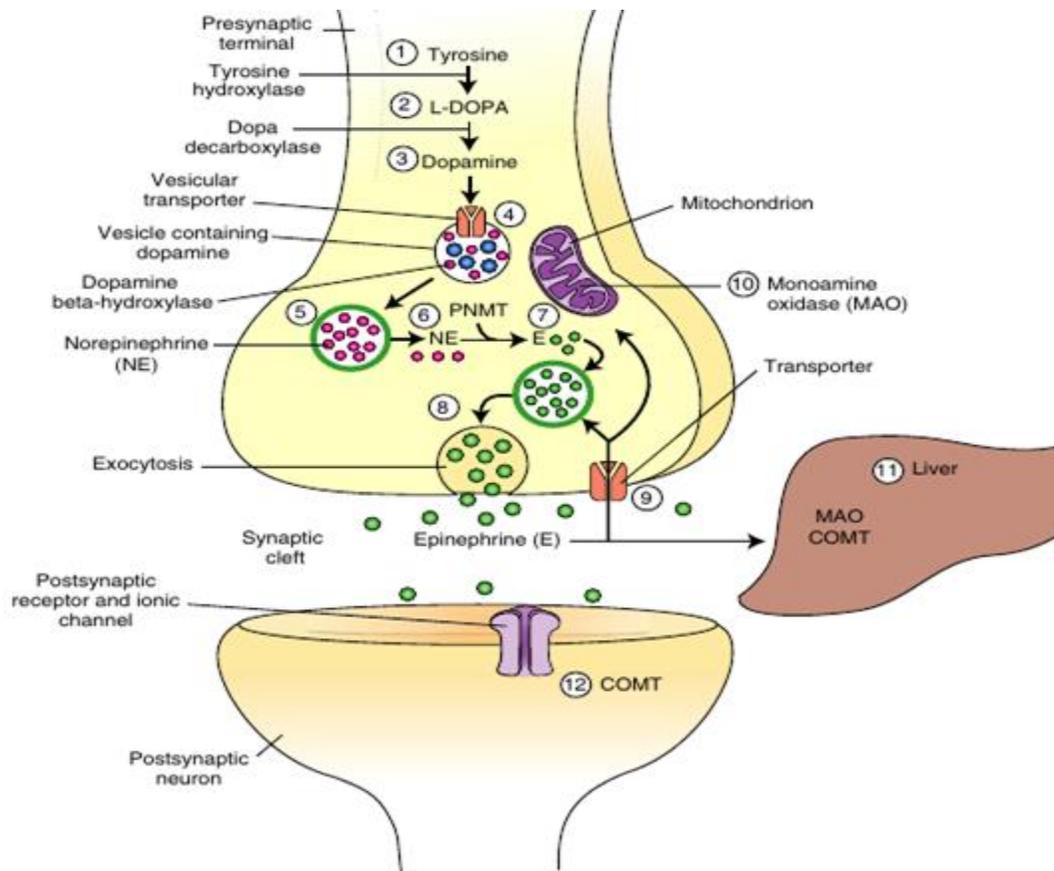


Figure 9 : Synthèse et sécrétion de l'adrénaline (Siegel & Hreday. 2011).

à celui de la dopamine et est également présente dans moins de neurones cérébraux que la dopamine. Les neurones contenant de l'épinéphrine dans le SNC se trouvent principalement dans le système tegmental latéral et dans la moelle épinière et se projettent vers l'hypothalamus et le thalamus. Ces neurones sécréteurs d'épinéphrine régulent la respiration et la fonction cardiaque. L'enzyme qui synthétise l'épinéphrine, la phényléthanolamine-N-méthyltransférase, n'est présente que dans les neurones sécréteurs d'épinéphrine.

On pensait initialement que **la sérotonine, ou 5-hydroxytryptamine (5-HT)**, augmentait le tonus vasculaire en raison de sa présence dans le sérum sanguin (d'où le nom de sérotonine). La sérotonine se trouve principalement dans des groupes de neurones de la région du raphé du pont et du tronc cérébral

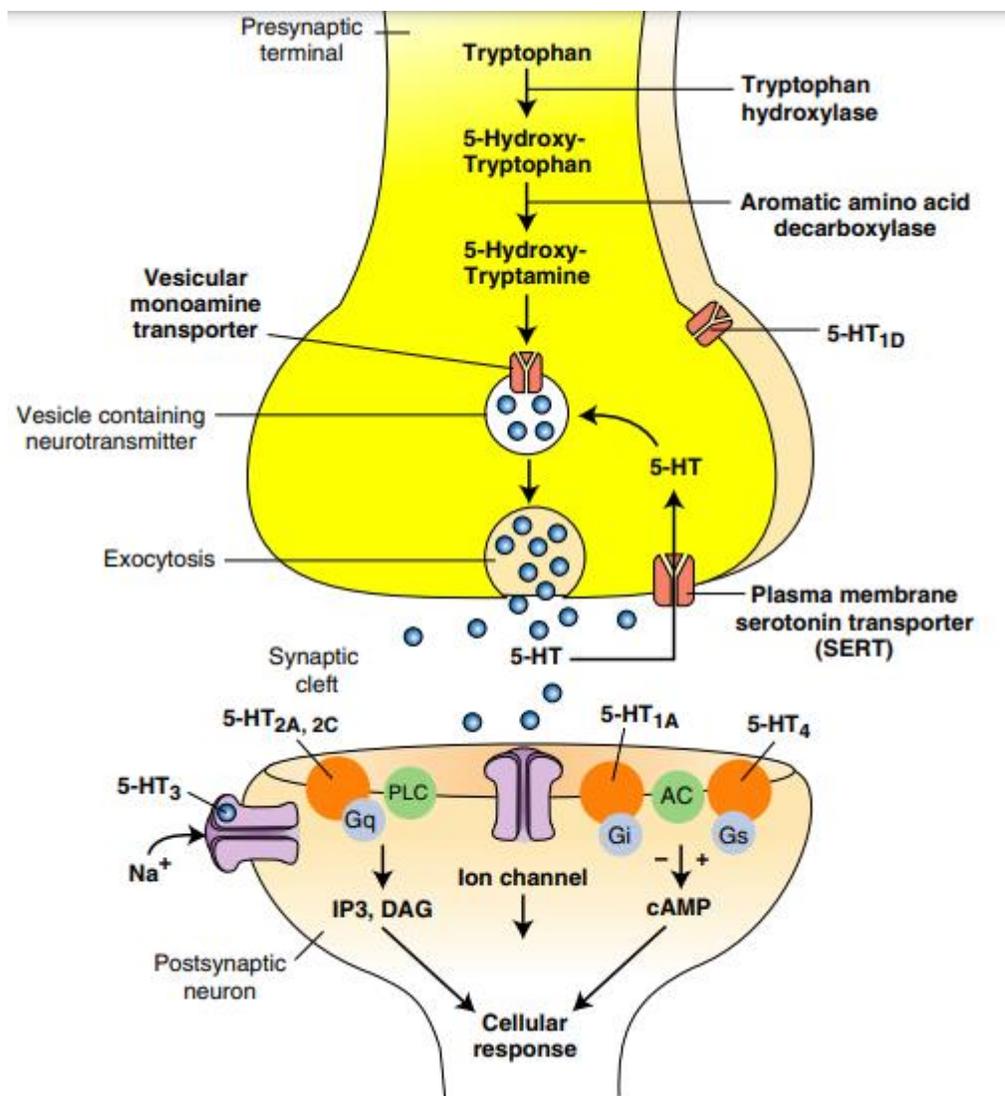


Figure 10 : Synthèse et sécrétion de la sérotonine (Siegel et Hreday, 2011).

supérieur, qui ont des projections étendues vers le cerveau antérieur et régulent le sommeil et l'éveil. La 5-HT occupe une place de choix en neuropharmacologie car un grand nombre d'antipsychotiques utiles dans le traitement de la dépression et de l'anxiété agissent sur les voies sérotoninergiques (Purves et al. 2018).

Chapitre 04: Le *Rosmarinus officinalis*

1. Généralité

La médecine traditionnelle et le monde végétal vivent en étroite communion, car elle y puise toute sa matière première pour confectionner ses remèdes. Seulement, pour que ces drogues entrent au sein de la médecine occidentale, elles doivent s'affranchir d'une expérimentation pharmacologique afin de vérifier leur activité et d'en garantir leur innocuité (bien que la toxicité d'une plante ne soit pas un facteur de sélection.)

Parmi l'inventaire des plantes médicinales, nous avons choisi d'étudier *Rosmarinus officinalis*.L. Pour l'originalité de sa prescription actuelle, en gemmothérapie ou les jeunes pousses sont utilisées en macérât Glycéro-alcoolique.

Le *Rosmarinus officinalis* fait partie des plantes médicinales qui sont en usage depuis l'Antiquité et qui, au travers des siècles, a su garder une place dans l'inventaire des remèdes des tradipraticiens de tout le bassin méditerranéen.

Des tradipraticiens de tout le bassin méditerranéen. On la place dans la catégorie des plantes dépuratives pour son action sur le système digestif et urinaire, des plantes stimulantes pour son huile essentielle. Elle aurait également des vertus antirhumatismales et anti-œdémateuses.

C'est une plante qui a une destination féminine puisqu'elle s'utilise dans les phases qui entourent la naissance (ocytocique, emménagogue). Les femmes s'en servent également comme épice pour la préparation des repas et la conservation des aliments (graisses, viandes).

Aujourd'hui, le romarin est entré dans la médecine moderne par le biais de spécialités de nature phytothérapique ou il apparaît souvent en association avec d'autres plantes, et par le biais de la gemmothérapie qui préconise l'usage des jeunes pousses dans les « insuffisances hépatique ».

2. Définition

Le romarin est un arbrisseau qui doit son nom au latin *ros*, rosée et *marinus*, marin.

En effet, d'après la légende, il est une plante que l'on retrouvera seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer, au petit jour. Dans d'autres régions, on le surnomme « La Rose de mer » en latin *Rosa marina* qui a donné son nom au genre, Le *Rosmarinus officinalis* est une espèce végétale appartenant à la famille des Lamiacées originaire des régions méditerranéennes, que l'on trouve sur les terrains calcaires, dans les garrigues arides et caillouteuses.

***Rosmarinus officinalis* dans la classification des végétaux.**

Embranchement : Spermaphytes.

Le *Rosmarinus officinalis*

Sous-Embranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotylédones.

Sous-Classe : Gamopétales.

Ordre : Tubi florales.

Sous-Ordre : Lamiales.

Famille : Lamiacées.

Genre : *Rosmarinus*.

Espèce : *officinalis*.

3. Historique

La famille des lamiacées compte 2700 espèces réparties en 31 genres. D'après (BOELENIS (1985) ; on compterait jusqu'à 200 genres et environ 3500 espèces. Les plantes de cette famille sont herbacées (ou plus ou moins ligneuses), à feuilles opposées sans stipule, à tige quadrangulaire et à fleurs irrégulières et gamopétales disposées en grappes (Parfois d'apparence verticillée, en épis ou en capitule). La plante est couverte de poils glanduleux renfermant une huile essentielle.

4. Les différentes espèces du genre *Rosmarinus*

La systématique du genre *Rosmarinus* n'a pas toujours été homogène, ce qui se traduit par de nombreux noms d'espèces cités par les auteurs et qui ne sont pas tous en usage actuellement.

Des auteurs allemands et italiens (HEINZ et al ,1975) mentionnent 4 espèces répertoriées surtout en Afrique du Nord :

Rosmarinus chilensis(Dumont, Basc)

Rosmarinus laxiflorus

Rosmarinus lavandulaceus

Rosmarinus tournefortii (De Noe)

5. Compositions chimiques du romarin.

La composition chimique de la plante dans son ensemble dépend du lieu de croissance et de récolte ainsi que du moment de la récolte dans le cycle végétatif (idéal quand le végétal a le maximum d'essence. Le criblage phytochimique de l'extrait éthanolique des parties aériennes du romarin a indiqué. La présence des flavonoïdes des tannins et des saponines (GONZALEZ et al ;2007). Les compositions principales du romarin responsable des différentes propriétés sont :

5.1. Les acides phénoliques

Acide vanillique, acide caféique, acide p-coumarique (Ibanez et al ,2003).

5.2. Les flavonoïdes

Genkwanine, crisimaritine (Ibanez et al ,2003)ériocitrine, hespéridine, diosmine, lutéoléine (Okamura et al 1994) api génine (Yang et al 2008).

5.3. Les terpènes

Les dérivés triterpéniques présentent 2 à 4 de tels que : l'acideursolique, l'acideoléanolique, l'acétate de germanicol. Les lactones di –terpénique : picrosalvine. Les dérivés de l'acide camosolique, rosmanol, des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque. Les acides gras organique : L'acidecritique, glycolique et glycérique, desstérois, de la choline, du mucilage (Bellakhdar,1997) et de la résine (Beloued,1998).

5.4. L'huile essentielle

Représente (1 à 2 dans la plante) contient de l'a-pinène (7 à 80), de la verbénone (1 à 37), du camphre (1à 38), de l'eucalyptol (1 à 35), du bornéol (4à 19), de l'acétate de bomyle (jusqu'à 10) et du camphène (Bekara et al ,2007).

6. Utilisation en médecine traditionnelle.

Les indications thérapeutiques actuelles du romarin ressemblé ci-après font, pour la plupart, référence à son usage pratiqué en Afrique du Nord (Tunisie, Algérie, Maroc, Sahara Algéroise). Nous classerons son utilisation en deux catégories : usage interne et usage externe. On tire plusieurs drogues de cette plante ; huileessentielle, feuilles, sommités fleuries.

6.1. En usage interne

6.1.1. Tonique-stimulant.

L'huile essentielle s'emploie comme stimulant en cas de surmenage ou d'asthénie, ou pendant les convalescences (après une fièvre typhoïde) (FOURNIER ,1948).

Le romarin (partie de plante non précisée) s'emploie aussi contre la paralysie et l'épilepsie (DUCROS, 1930) et contre les phénomènes de « débilite de tous genre.

6.1.2. Apéritif-Stomachique-Dépuratif

Dans le sud tunisien, le romarin « iazir » se prend en infusion sucrée, comme apéritif, le matin et à jeun (REBOUL et al ,1953-1960). Cette même infusion aurait des vertus stomachiques (BOUCHAT et al ,1956-1985).

Il s'utilise aussi contre les maux d'estomac, les vomissements, les fermentations intestinales (BOUQUET ,1921) et contre les coliques, soit en infusion sucrée (BOUCHAT ,1956), soit pris avec du lait caillé ou dans une pâte faite de farine, de beurre et de citron (PRAX ,1850 cité par LE FLOCH ,1983).

6.1.3. Antitussif et antispasmodique

Les feuilles de romarin en infusion ont une action calmante sur la toux (PASSAGER et al 1958 ;1961) et s'emploient également dans d'autres affections bronchiques : l'asthme et la coqueluche (FOURNIER ,1948).

L'huile essentielle a également des vertus antispasmodiques. Son action s'exerce surtout au niveau des parois des vaisseaux, dans le cas de spasmes vasculaires, de la diminution des irrigations périphériques et de l'hypotension (ANTOINE ,1991).

6.1.4. Ocytocique - Emménagogue

Le romarin (sans autre précision) provoquerait des contractions utérines et de ce fait serait abortif (DUKE et al ,1985).

Les indications suivantes sont préconisées surtout dans le Sahara algérois et les détails d'utilisation varient d'une oasis à l'autre :

Pendant l'accouchement, le romarin utilisé en décoction accélère le travail des parturientes (BOUCHAT ,1956) et, utilisé en infusion, il facilite l'accouchement et purifie le sang de la mère (PASSAGIER et al 1958 ; 1961).

Après l'accouchement, le romarin est utilisé en infusion à renouveler plusieurs fois ou, associé à *Ruta chalepensis* (abortif) en infusion de feuilles sèches (REBOUL ,1953) ou encore associé à du blé cuit à l'eau (PASSAGIER et al ,1956).

6.1.5. Autres utilisations

On recense d'autres utilisations du romarin dans les problèmes de circulation sanguine, du cœur, du système nerveux (FOURNIER ,1948). Il est efficace aussi dans les cas de vertiges, de palpitations et de

névralgies (sous forme de teintures). En Amérique Latine, l'infusion de romarin s'utilise pour améliorer la mémoire (propriété déjà reconnue dans l'antiquité).

6.2. En usage externe

6.2.1. Antiseptique et cicatrisant

Les feuilles de romarin desséchées et mélangées à de l'huile ou réduite en poudre sont vulnérables pour des plaies récentes comme la circoncision (TROTTER, et al 1945).

Les feuilles en décoction sont préconisées dans le cas des leucorrhées, en injections vaginales, et dans le cas des amygdalites, en gargarisme (FOURNIER, 1948).

Le romarin s'emploie aussi en fumigation, pour traiter les affections respiratoires (FOURNIER, 1948).

6.2.2. Emménagogue

Les bains aromatiques et les applications de compresses chaudes de romarin provoquent l'écoulement du lux menstruel (en Afrique du Nord et en Amérique du Sud)(GATTEFOSSE et al ,1921).

6.2.3. Antirhumatismal Anti –inflammatoire

Les feuilles de romarin cuites dans du vin ou en décoction dans l'eau sont utilisées comme compresses en application sur les gonflements articulaires et les œdèmes, (FOURNIER et al,1948).

Le romarin cuit dans l'huile est indiqué pour les maux de gorge (LOUIS, 1979).

7. Percutions d'usage lié à la toxicité de l'huile essentiellement de *R. officinalis*

7.1. Toxicité en usage externe

L'huile essentielle utilisée dans le bain peut causer un érythème. Les eaux de toilette contiennent de l'huile essentielle de romarin peuvent provoquer des dermatoses ou une hypersensibilité individuelle.

7.2. Toxicité en usage interne.

L'huile essentielle employée à des doses supérieures à (2 à 3 gouttes /jour) provoquerait des risques de néphrites et de gastro-entérites. Les feuilles et les sommités fleuries auraient le même effet à des doses excessives (FOURNIER ,1948).

D'après Cadéac et Meunier (1889)(cités par FOURINER ,1948), l'huile essentielle administrée en quantité exagérée (60mg/kg) serait épileptisant chez le chien.

Lewin (cité par Garnier et Coll ,1961) signale que, chez le lapin, la dose létale est de l'ordre de (1,2g/animal) avec des symptômes de convulsion, de paralysie des centre respiratoires, d'une abolition de l'excitabilité réflexe et d'une hypotension. Un empoisonnement chronique provoquerait des hémorragies stomacales, une albuminurie, unecylindurie, une stéatose du foie et des reins (Schreiber ,1878) cité par (GARNIER et al,1961).

8. Utilisation non pharmaceutique de *R.officinalis*.

En parfumerie

L'huile essentielle de romarin entre dans la composition de nombreux parfums.

En alimentation

Le romarin est très utilisé en tant que condiment dans le bassin méditerranéen et en Angleterre pour aromatiser les viandes (poulet, canard, lapin, porc, veau, agneau), les poissons, les ragouts, les soupes et les légumes (pommes de terre, aubergine...) (DUKE,1985). Il existe du miel spécialement produit à partir du nectar des fleurs de romarin.

Comme antioxydant

Déjà au XIIIe siècle (IBN AL BAYTAR traduit par LECLERC ,1877), le romarin s'employait en Afrique de Nord pour arrêter le développement de la putréfaction dans le ventre des animaux tués à la chasse. Dans ce cas, c'est à la fois son action antimicrobienne et antioxydant qui seraient mises à profit.

Toujours en Afrique du Nord, le romarin s'emploie pour éviter le rancissement du beurre fondu dans les outres (LOUIS et al ,1979) rapporte que les charcutiers ont coutume de traiter à chaud le saindoux, aussitôt après abattage du porc, par chauffage en son sein d'un bouquet de romarin ou il agit à la fois comme antioxydant et comme conservateur, tandis que son essence pourrait jouer un rôle antibactérien modéré.

Comme insecticide, antibactérien et antifongique.

Le romarin est utilisé comme insecticides en Amérique Latine. C'est un antimites parfumé. L'huile essentielle est bactéricide et fongicide (Maruzzella et al 1988).

Partie II : Partie Expérimentale

Chapitre 01 : Matériels et méthodes

1. Matériels

L'étude suivante a été menée dans le but de vérifier la neurotoxicité induite par le nickel et l'effet correcteur d'un extrait d'une plante médicinale (*Rosmarinus officinalis*) chez le rat Wistar. La partie expérimentale de notre étude a été réalisée au niveau de laboratoire de recherche de toxicologie à l'université l'Arbi Tébessi-Tébessa.

1.1. Matériels biologiques

A. Animaux de laboratoire

Il s'agit des souches de rats Wistar Albinos de sexe mâle, dont le poids se situe entre 200 ± 250 g, ils ont été fournis de l'institut Pasteur (centre d'élevage d'El-Kouba, Alger). Les rats obtenus ont été répartis en quatre lots de cinq rats chacun. Ils ont été soumis à une période d'adaptation de 10 jours dans notre animalerie, dont les conditions d'élevage sont les suivantes : les cages utilisées sont spéciales en polyéthylène tapissées de litière constituée par des copeaux du bois renouvelés chaque jour jusqu'à la fin de l'expérimentation, équipés par des biberons d'eau et un accès libre à la nourriture, la température de l'animalerie voisine de 25°C , une photopériode naturelle de 12/12H.



Figure 11 : Rats males dans cage d'élevage (Photo per.)

B. Extrait de la plante médicinale (*Rosmarinus officinalis*)

Le matériel végétal utilisé dans la présente étude est représenté par les feuilles de la plante médicinale *Rosmarinus officinalis* dans la région d'El-Hammamet, c'est une commune de la wilaya de

Tébessa Nord-est algérien. Les feuilles fraîchement récoltés, séchés pendant 15 jours puis conservés jusqu'à l'extraction.

1.2. Matériel chimique

- Le chlorure de nickel (II) (NiCl_2)
- L'extrait du *Rosmarinus officinalis*

Les autres produits chimiques et les réactifs utilisés dans cette étude sont de qualité analytique reconnue.

2. METHODES

2.1. Traitement des rats

20 rats ont été répartis en 4 lots de 5 rats pour chacun, comme suit :

- Lot T : lot témoin (T) non traités
- Lot Ni : lot nickel (Ni) traité par chlorure de nickel à la dose de 10mg/kg/jour, voie orale pendant une durée de 28 jours.
- Lot E : lot extrait (E) traité par l'extrait recevant 100mg/kg/jour, voie orale pendant une durée de 28 jours
- Lot Ni+E : lot mixture (N+E) traité par la mixture de nickel et l'extrait (10mg/kg/j) pendant une durée de 28 jours.

2.2. Sacrifices et récupération du cerveau

Après 28 jours de traitement, les 4 lots ont été sacrifiés (par décapitation). Les cerveaux sont immédiatement recueillis, rincés avec l'eau physiologique à 0.9%, pesés puis conservés à 80°C pour le dosage des paramètres du stress oxydant (GST, GSH, GPx, CAT, MDA et la protéine totale).

2.3. Détermination des paramètres métaboliques et enzymatique

2.3.1. Détermination des paramètres métaboliques

2.3.1.1. Préparation de l'homogénat

Un gramme du cerveau des différents rats étudiés, a été utilisé. Après le broyage et l'homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4), le mélange est mis dans des glaçons et centrifugé (9000 tours/min, 4°C, 15 min), le surnageant obtenu est mis dans des

tubes Eppendorf, puis conservés à -80°C en attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydatif.

2.3.1.2. Dosage des protéines

❖ Principe

La méthode utilisée pour le dosage des protéines est celle de (Bradford 1976) qui utilise la BSA comme standard et le BBC comme réactif. Les protéines présentes dans l'échantillon réagissent par ses groupement amine ($-\text{NH}_2$) avec le BBC pour donner un complexe coloré en bleu. Le développement de la couleur de réaction reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité établit la concentration des protéines dans l'échantillon.

❖ Protocole d'expérience

- Prélever 0.1 ml de l'homogénat
- Ajouter 5 ml du réactif coloré (BBC)
- Agiter et laisser le mélange pendant 5 min pour la stabilisation de la couleur
- Lire l'absorbance de l'échantillon contre le blanc contenant l'eau distillée à une longueur d'onde de 595 nm. La densité optique obtenue est rapportée sur la courbe d'étalonnage préalablement tracé ($0 \rightarrow 1\text{mg/ml}$ de sérum albumine de bovin)

2.3.2. Détermination des paramètres enzymatiques

A. Dosage de l'activité enzymatique 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- mercapturique, ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements ($-\text{SH}$) du glutathion.

❖ Protocole d'expérience

Les échantillons (200mg de tissu) sont mis individuellement en présence de 8 ml de solution d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tetra Acétique) à 0.02M. Le mélange mis dans des glaçons est broyé à l'aide d'un pilon en porcelaine.

- Prélever 0.8ml de l'homogénat déprotéinisé
- Ajouter 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%.

- Agiter et laisser pendant 15min dans un bain de glace.
- Centrifuger pendant 5min à 1000t/min.
- Prélever 0.5ml du surnageant
- Ajouter 1ml de tampon tris-HCL+EDTA (0.02M), pH 9.6.
- 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.
- Mesurer l'absorbance (A) à 412nm.

❖ Calcul

$$[\text{GSH}] = \frac{D_o \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5 \text{mgP}_{r,t}} \text{ nMGSH/mgP}_{r,t}$$

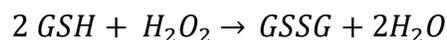
- **D_o** : Densité optique.
- **1** : Volume total des solutions utilisées de la déprotéinisation. (0.8 ml homogénat +0.2ml SSA).
- **1.525** : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant+1 ml Tris-EDTA+0.025 ml DTNB).
- **13100** : Coefficient d'absorbance (contenant le groupement-SH à412 nm).
- **0.8** : Volume de l'homogénat après déprotéinisation trouvé dans 1 ml.
- **0.5** : Volume du surnageant trouvé dans un 1.525 ml.

On que la concentration de GSH est mesuré par apport à 1 mg de protéine. C'est pour cela ce dosage doit être accompagne par le dosage des protéines.

B. Dosage de l'activité enzymatique de 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.
- Centrifuger 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.

❖ Clacul

$$X = \frac{(DO_e - DOP) \times 0,04}{DO_b} = \text{quantité de GSH réduite disparue (oxydée)}$$

$$\text{L'activité de la GP}_x = X \times \frac{5}{\text{La concentration de protéine}}$$

C. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion S-Transférase (GST)

❖ Principe

L'activité enzymatique de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig et al. (1974), cette méthode est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, généralement le CDNB (1-Chloro2,4-dinitrobenzène), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle ; 1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST. La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST.

❖ 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.

❖ Calcul

$$\text{GST (nmol GST/min/mgprotéine)} = \frac{DO (\text{min}) \times V_A}{e \times V_s} / \text{mg de protéine}$$

DO : Densité optique de l'échantillon /min.

DO/min blanc : Densité optique du blanc /min

e : Coefficient d'extinction molaire du CDNB = 9,6mM⁻¹ cm⁻¹

VA : Volume totale dans la cuve (0,2ml.Surnageant + 1,2mélange).

Vs : Volume du surnageant dans la cuve (0,2ml).

D. Dosage du Malo 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 thiobarbiturique 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 1000t/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 et incubé 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

$$C\left(\frac{\text{nmol}}{\text{mg}} \text{ de protéine}\right) = \frac{DO \cdot 10^6}{\epsilon \cdot L \cdot X \cdot Fd}$$

- **C** : Concentration en nmoles /mg de protéines
- **DO** : Densité optique lue à 530 nm
- **ε** : Coefficient d'extinction molaire du MDA = 1.56 10⁵ M⁻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.

E. Dosage du catalase (CAT).

❖ Principe

Le dosage spectrophotométrique de l'activité catalase (CAT) est réalisé suivant la méthode de Cakmak et Horst (1991). La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant trois minutes par un spectrophotomètre pour une longueur d'onde de 240nm et un coefficient d'extinction linéique molaire $\epsilon=39400 \mu\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{L}$ pour un volume final de 3ml, le mélange réactionnel contient : 100 μl de l'extrait enzymatique brut, 50 μl de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 à 0,3% et 2850 μl de tampon phosphate (50mM, pH 7,2). L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique. La réaction est déclenchée par l'addition d'eau oxygénée.

2.4.Analyse statistique

Les résultats sont représentés sous forme (moyenne \pm écart type), illustrés par des graphiques et des histogrammes en utilisant l'office Excel 2013. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Minitab ® 17.1. La signification de différence entre le lot témoin et les lots traités est vérifiée en utilisant le test de Dunette et le test de Student. La comparaison ou la corrélation est considérée, selon la probabilité (p), comme :

- non significative si $p>0,05$.
- significative (*) si $p<0,05$
- hautement significative (**) si $p<0.01$
- très hautement significative (***) si $p<0.001$

Chapitre 02: Résultats et discussions

1. Résultats

1.1. Etude des biomarqueurs de croissance

Tableau 4 : Evaluation des variations des protéines totale des rats dans les différents lots expérimentaux.

	T	E	N	E+N
Protéine	0,0673±	0,0709±	0,1628±	0,0693±
μmol/min/mg	0,0294	0,0293	0,0149	0,0105

Les résultats obtenus suite à l'évaluation de l'activité de protéines totale montrent une augmentation hautement significative ($p \leq 0.01$) chez le lot traité par le N par rapport au lot témoin alors que la différence chez le lot traité par E et E+N est négligeable.

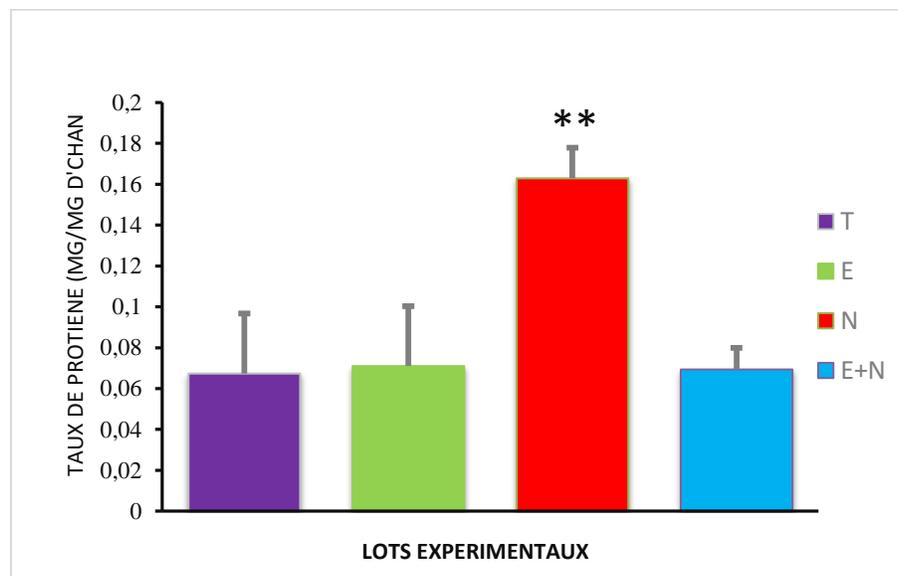


Figure 12 : Variation de l'activité de protéines totales chez les rats de chaque lot après 28 jours.

1.2. Étude des biomarqueurs de stress oxydatif

Les résultats obtenus pour la peroxydation lipidique et les enzymes antioxydantes chez les animaux d'essai et de contrôle sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Variations de peroxydation lipidique et des enzymes antioxydantes dans le cerveau des rats testés et témoins

	T	E	N	E+N
GSH	0,5762±	0,6278±	3,9540±	0,8536±
μmol/min/mg	0,2636	0,5639	0,5914	0,5751
GPx	0,1097±	0,1317±	0,0648±	0,1095±
μmol/min/mg	0,0183	0,0163	0,0178	0,0136
GST	1,0714±	1,1020±	1,9034±	1,1977±
μmol/min/mg	0,0919	0,1260	0,0936	0,0687
MDA	1,9719±	1,6207±	5,6648±	2,6088±
μmol/min/mg	1,0316	0,5985	1,0063	0,9376
CAT	0,3239±	0,3030±	0,1756±	0,2192±
μmol/min/mg	0,0422	0,0376	0,0409	0,0314

1.2.1. Glutathion réduit (GSH)

Le taux en GSH montre une augmentation très hautement significative ($p \leq 0.001$) chez le groupe traité par le N comparé au groupe témoin, et une augmentation significative ($p \leq 0,05$) chez le lot traité par E+N. Et on enregistre une amélioration significative du taux en GSH chez le lot traité par E.

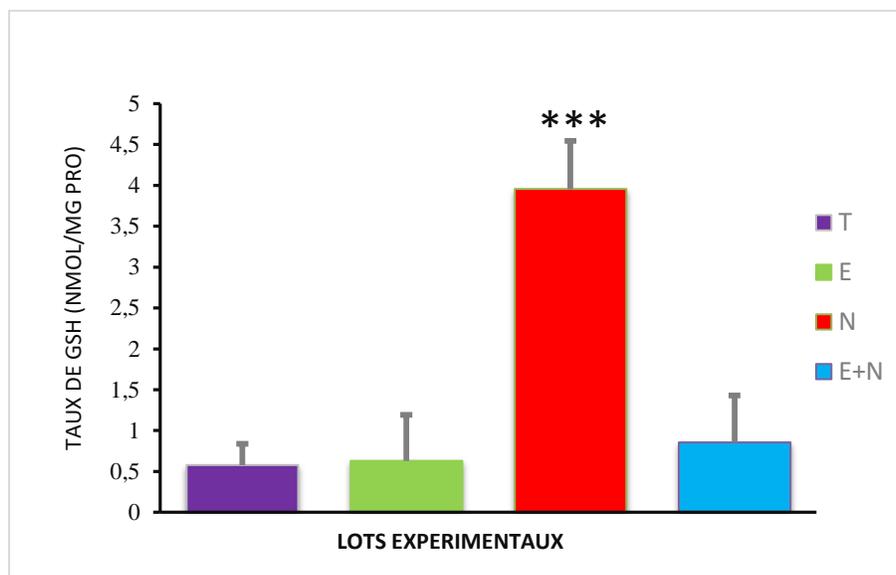


Figure 13 : Variation de l'activité de Glutathion réduit (GSH) chez les rats de chaque lot après 28 jours

1.2.2. Glutathion peroxydase (GPx)

Une diminution significative ($p \leq 0.05$) de l'activité de glutathion peroxydase GPx a été enregistrée chez les lots traités par le N par rapport au groupe témoin. Par contre, une augmentation significative a été enregistrée chez le lot traité par E, et aucune variation significative enregistrée chez le lot traité par la combinaison d'E+N comparativement au lot témoin.

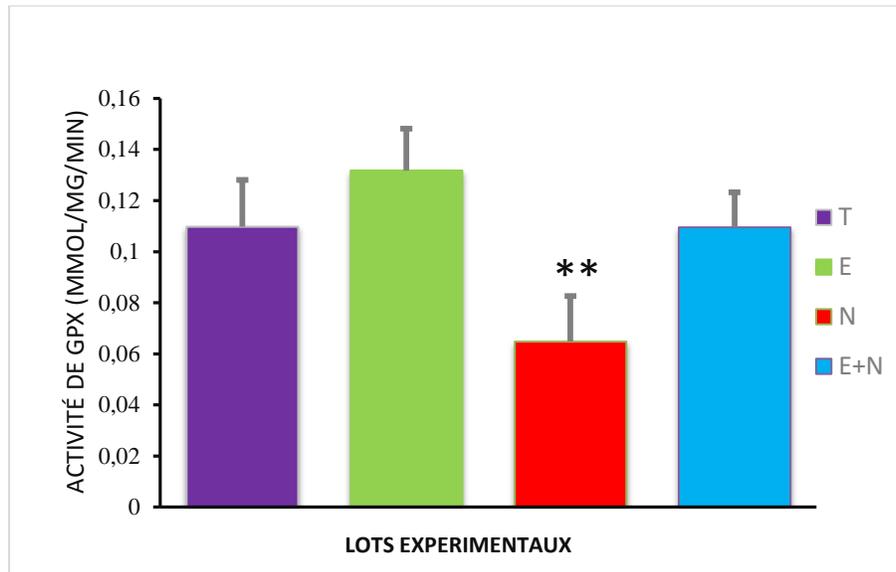


Figure 14 : Variation de l'activité de Glutathion peroxydase (GPx) chez les rats de chaque lot après 28 jours.

1.2.3. Glutathion-S- transférase (GST)

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative ($p \leq 0.01$) de l'activité enzymatique de la glutathion-S- transférase (GST) chez le lot traité par le N en comparaison avec le lot témoin. Nous avons enregistré également une augmentation non significative ($p > 0.05$) de l'activité enzymatique de la GST chez le lot traité par E+N par rapport aux lots témoins.

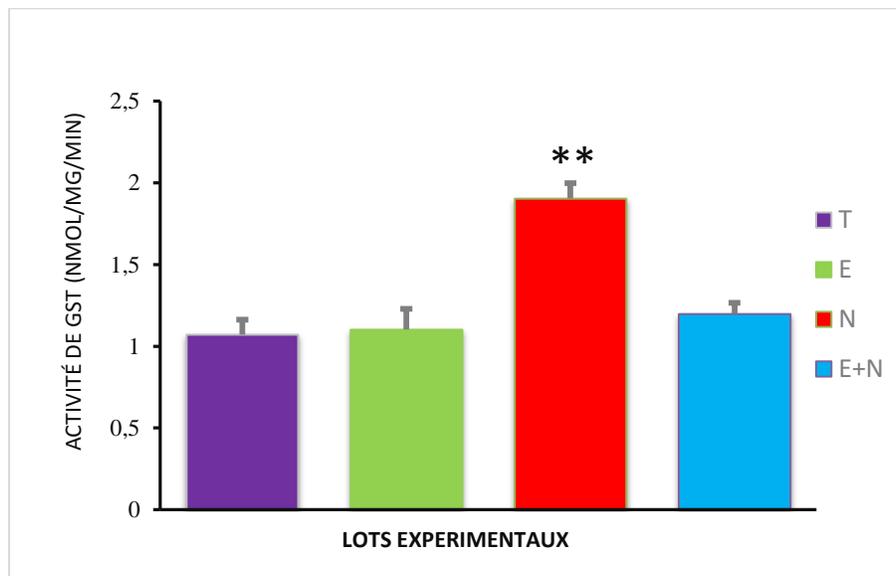


Figure 15 : Variation de l'activité de Glutathion -S- transférase (GST) chez les rats de chaque lot après 28 jours.

1.2.4. Malo dialdéhyde (MDA)

Nous avons obtenu, suite au traitement des rats par le N, une augmentation très hautement significative ($p \leq 0.001$) du taux de MDA dans le cerveau enregistré par rapport au groupe témoin et une augmentation significative ($p \leq 0,05$) enregistrée chez les lots traités par E+N et une diminution non significative enregistrée chez le groupe traité par E.

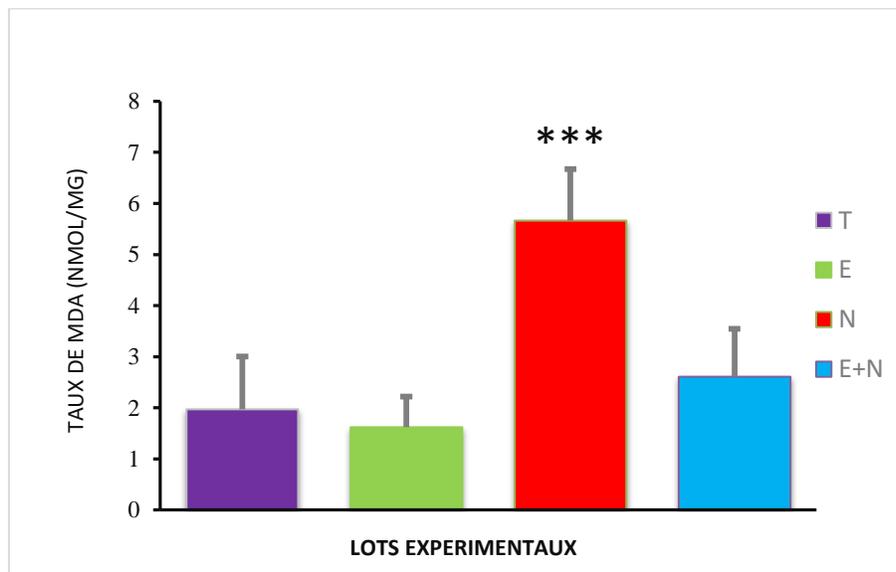


Figure 16 : Variation de l'activité de Malo dialdéhyde (MDA) chez les rats de chaque lot après 28 jours.

1.2.5. Catalase (CAT)

Une diminution hautement significative de 46% de l'activité de la catalase a été observée chez les rats ayant reçu le traitement au Ni comparé au lot témoin. En revanche, l'activité de la catalase a également été réduite à 32% dans le groupe de co-exposition qui a reçu E+N. Les activités de la catalase des rats traités avec le seul n'étaient pas significativement différentes de celles du témoin (6%).

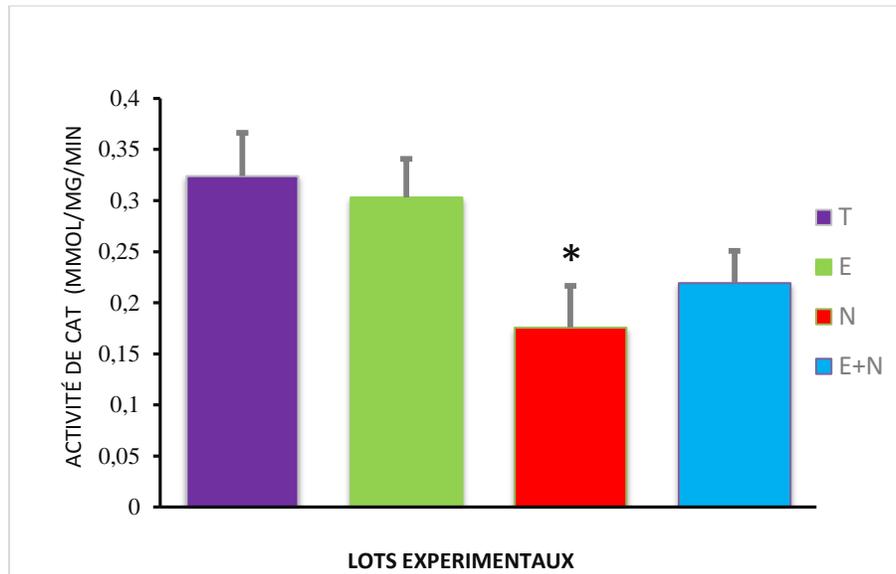


Figure 17 : Variation de l'activité de la Catalase (CAT) chez les rats de chaque lot après 28 jours.

2. Discussion

Le stress oxydatif est l'un des principaux mécanismes de toxicité associés à une panoplie de xénobiotique dans l'environnement, parmi lesquels, on retrouve les métaux lourds, et plus spécifiquement le Nickel qui peut s'avérer gravement toxique pour l'homme et l'animale. On est exposé au nickel en inhalant de la poussière, en consommant des aliments et de l'eau, et en touchant certains objets, comme les pièces de monnaie et les bijoux. Dans cette présente étude, nous nous sommes intéressés, à priori à la mise en évidence d'un éventuel effet neurotoxique sur le système nerveux des rats exposés au chlorure de nickel NiCl_2 et en second lieu à l'intérêt de la prévention de cette toxicité par l'extrait du *Rosmarinus officinalis*, une plante de grande importance dans la médecine traditionnelle. Des travaux biochimiques, biologiques et hématologiques étaient plus qu'indispensables pour cerner, d'une manière scientifique satisfaisante, la question posée dans la problématique que l'on a posée dans l'introduction de cette étude.

2.1. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydant

Les enzymes antioxydantes sont la première ligne de défense de l'organisme contre les radicaux libres, empêchant l'oxydation des molécules biologiques (Favier, 2006).

2.1.1. Effet sur le GSH

L'étude des paramètres de stress oxydatif tissulaire a montré une augmentation très hautement significative du taux de glutathion réduit (GSH) dans les tissus nerveux du lot traité au NiCl_2 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 NiCl_2 et l'extrait de romarin. Ce résultat en désaccord avec (Leelavinothan et Kasinathan, 2010).

L'augmentation de GSH est suite au repense à l'altération générées par le stress oxydant (Maiti et al. 2018), et nous avons enregistré une normalisation après le traitement des rats du Ni par *Rosmarinus*.

2.1.2. Effet sur le GPx

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 nerveux chez les rats traités par NiCl_2 . Par rapport aux témoins. 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.

2.1.3. Effet sur le GST

D'après nos résultats on observe une augmentation très hautement significative de la GST 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).

2.1.4. Effet sur le MDA

Au cours de notre travail nous avons enregistré une augmentation très hautement significative ($p \leq 0.001$) du taux de MDA, chez les rats traités par le NiCl₂ par rapport aux témoins.

Alors que l'hyper peroxydation pourrait être le résultat d'une modification importante du statut redox cellulaire dans le système nerveux 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 du dysfonctionnement mitochondrial des cellules nerveuses aboutissant ainsi à leur mort. Ces résultats sont confirmés par l'étude de (Maiti et al. 2018)

2.2. Effet du traitement sur les paramètres biochimiques

Le cerveau est sujet au stress oxydatif en raison de sa forte absorption d'O₂ car il représente les grandes quantités d'énergie nécessaires pour maintenir l'homéostasie ionique intracellulaire neuronale face à toutes les ouvertures et fermetures de canaux ioniques associées à la propagation des potentiels d'action. De plus, un système de défense antioxydant déficient (faibles taux de catalase, de glutathion peroxydase et de vitamine E) rend le cerveau plus vulnérable au stress oxydatif (Maiti et al. 2018).

Nos résultats révèlent une augmentation significative de taux des protéines tissulaire chez le groupe traité par le NiCl₂, 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

Conclusion Générale

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 phyto-nutriments 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, neurotoxique qu'on peut les résumés 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 de la catalase et le taux du glutathion (GSH). Tandis que, les traitements combinés du nickel et vitamines 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.

Référence Bibliographique

Référence

-B-

1. **Bear MF, Connors BW, Paradiso MA** (2016) Neuroscience Exploring The Brain, Wolters Kluwer, (2016) 4ème Edition, P 23-214.
2. **Belliardo C.** (2018). Etude Comparée De La Cytogenotoxicite Du Cadmium, Du Nickel Et De L'aluminium Sur Le Fibroblaste Cutané Humain. Aix-Marseille Université. P 15-20.
3. **Brieskorn C, Kabelitz,L** (1971) Hydroxy Fatty Acids From Leaf Cutin Of Rosmarinus Officinalis ,Phytochem ,10(12),P 3194-3204.
4. **Brieskoen C, Michel H** (1968) Flavones From Rosmarinus Officinalis Leaves, Tetrah Lett, P 3447-3448.
5. **Brieskorn C, Zwerohn G**(1970); Zum Vorkommen Von Drei Weiteren Triterpensauren Im Blatt Von Rosmarinus Officinalis,Pharmazie ,25, (8), P 488-490.
6. **Bouguerne B.** (2012) Conception Et Synthèse De Dérivés Phénolique Hautement Fonctionnalisés Et Etude Leurs Propriétés Biologiques Vis A Vis De Maladie Cardiovasculaire. Thèse Doctorat, Université Detoulouse III, P256.
7. **Boussekine S**(2014) Contribution A L'étude De L'effet Du Sélénium Sur Le Mécanisme Biochimique Chez Le Diabète Expérimental, Université Badji Mokhtar, P 6-24.
8. **Bulletin Officiel** (1990) Avis Aux Fabricants Concernant La Mise Sur Le Marché De Spécialités Pharmaceutiques A Base De Plantes. 90/22bis.
9. **Bult H, Herman A.G, Pampart M** (1985) Modification Of Endotoxine-Induced Haemodynamic And Haematological Changes In The Rabbit By Methylprednisolone, F (Ab)2 Fragments And Rosmarinic Acid, Br J Pharmac 84p 317-327.

-C-

10. **Cabo Torres J, Maldonado J, Jimenez J, Villar Del Fresno A, Bravo L,** (1972). Estudio Cromatographico De Las Esencias De Romero Espanol, Boll Chim Farm,111, P 573-578.
11. **Chaprol E, Chapronnat R, Maximin R, Busson A,** (1932), L'action Cholérétique Des Labiées .C R Soc Biol ,109, P275-276.
12. **Chen J.K, Thyssen J.P.** (2018). Metal Allergy From Dermatitis To Implant And Device Failure. Springer. P 11-13.
13. **Chipault, J.R, Mizuno.G.R, Hawkins.J.M, Lundberg W.O**(1952) ,The Antioxidant Properties Of Natural Spices ,Food Research,17,P 46-55.

14. **Cunin.C, Chatron .M, Benoit .M, De Foucault R, Merveau P(1976-1977).** Le Livre Vert De L'officiene ; Médicaments Spécialisés Humains Et Vétérinaires, Paris : Ed Office Commercial Pharmaceutique.

-D-

15. **Daddouh F.** (2016). L'effet Combiné De La Vitamine C (Acide Ascorbique) Et De La Vitamine E (A-Tocophérol) Contre La Toxicité Du Nickel Chez Les Souris (Musmusculus). Université Badji-Mokhtar, Annaba. P 5.

16. **Daghmous H.** (2020) Contribution A L'étude De l'Hématotoxicité Induite Par La Deltamethrine Et L'effet Correcteur De L'extrait De Citrullus Colocynthis Chez Le Rat Wistar, Université De Tébessa, P 13-21.

17. **Davis P.H.** (1982), Flore Of Turkey And The East Aegan Islands ,7, Edinburgh: Ed Edinburgh University Press. P 75-76.

18. **Delas R, Lagreu R.** (1954). Sur L'action Pharmacodynamique Du Romarin, Sociète De Pharmacie De Montpellier, P240-242.

19. **Delaveau P.** (1987). Les Epices Histoire, Description Et Usage Des Différents Epices, Aromates Et Condiments. Paris : Ed Albin Michel. 371 P.

20. **Doreau M.** (1967). Considération Actuelle Sur L'alimentation, Ainsi Que Sur La Pharmacopée Et La Thérapeutique Traditionnelle Au Sahara, Thèse Pharm, Strasbourg. 108p.

21. **Dorvault F, Weitz R.** (1945). Le Dispensaire Pharmaceutique, In L'officine Répertoire Général De Pharmacie Pratique Tome 2, Paris : Eds Vigot Frères .2345p.

22. **Ducros A.H.** (1930). Essais Sur Le Droguier Populaire Arabe De L'inspectorat Des Pharmacies Du Caire. Mem Inst D'egypte .15.165p.

23. **Duke J.** (1985). Handbook Of Medicinal Herbs., Ed Crc Press,Bocaraton ,Fl.

24. **Duke J, Ayensu E.** (1985). Medicinal Plants Of China .2 Volumes.Alanac.MI.

25. **Durant G, Polidori A, Pucci B.** (2003). La Vectorisation De Pièges A Radicaux Libres ; Nouvelle Stratégie Thérapeutique. L'actualité Chimique. Novembre-Décembre 2003. P26-29.

-E-

26. **Eakins M.N.** (1978). Bile Secretion And Cholestasis, In Slater, T.F.Biochemical Mechanism Of Liver Injury . Crc Press, London New-York: Ed Academic Press.P559-5589.

-F-

27. **Facility, Thomas Jefferson National Accelerator.**(2014). Office of Science Education, It's Elemental - The Periodic Table of Elements.
28. **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 2003. P108-115.
29. **Favier A.** (2006). Stress Oxydant Et Pathologies Humaines. P390-396.
30. **Fleurentin J, Hoefler, Mortier F, Pelt J.M.** (1987). Pharmacologie Des Extraits De Jeunes Pousses Et De Plante Entière De Rosmarinus Officinalis L,Phytotherapy .20 P19-30.
31. **Fournier P.** (1948). Livre Des Plantes Médicinales Et Vénéneuses De France .Tome 2. Paris :Ed Lechevalier. P334-337.

-G-

32. **Garnier G, Bezanger –Beauquesne L, Debraux G.** (1961). Ressources Médicinales De La Flore Française .2. Paris : Ed Vigot Frères .1211-1214.
33. **Gasmi S.** (2018). Neurotoxicité De Deux Pesticides (Acetamipride Et Deltamethrine) Et La Prévention De Cette Toxicité Par La Quercétine Chez Le Rat, Université De Tébessa, P 18-39.
34. **Gattefosse J.** (1921). Les Plantes Dans La Thérapeutique Indigène Du Maroc.Rapport De La Mission Perrot –Gentil. Notice N°10. In Sur Les Productions Végétales Du Maroc. Off Nat Des Matières Premières Végétales. Paris : Ed Larose. P73-123.
35. **Girre L.** (1985). Nouveau Guide Des Vieux Remèdes Naturels, Rennes : Ed Ouest-France. 314p.
36. **Gracza L, Ruff P.** (1984). Rorsmarinsaure In Arzneibuchdrogen Ind Ihre Hplc-Bestimmung. Arch Pharm;317, p339-345.

-H-

37. **Halliwell B.** (2006). Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. American Society of Plant Biologists. p 312–322.

-L-

38. **Litime L, Nacibe H.**(2020). Néphrotoxicité Induite Par La Deltamethrine Et L'effet Correcteur De L'extrait De Présenté Citrulluscolocynthischez Par Les Rats Wistar. Université de Tébessa. P 11-14.

-M-

39. **Maiti AP, Saha NC, Paul G, Dhara K.** (2018) Mitochondrial respiratory chain inhibition and Na⁺K⁺ + ATPase dysfunction are determinant factors modulating the toxicity of nickel in

the brain of indian catfish *Clarias batrachus* L, *Interdiscip Toxicol.* 2018; Vol. 11(2): 306–315.

40. **Marieb E.N., Hoehn K.** (2019) *Human Anatomy and Physiology*, Pearson, 11ème édition, p 422-459.

41. **Miquel G.** (2001). *Les Effets Des Métaux Lourds Sur L ' Environnement Et La Santé.*

-P-

42. **Purves D, Augustine G.J, Fitzpatrick D, Hall W.C, Lamanita A.S, Mooney R.D, Platt M, White L.E.** (2018). *Neuroscience*, Sinauer Associates, 6ème édition, p 5-142.

-R-

43. **Rogers K.** (2010). *The brain and the nervous system* , *Britanica*, 1ère édition, p 19-50.

-S-

44. **Sellaf F.Z.** (2017). *Balance Oxydante Antioxydante Et Paramètres Nutritionnels Chez La Population Féminine Agée De La Wilaya De Tlemcen – Etude Cas-Témoins.* Université De Tlemcen. p09-11.

45. **Siegel A, Hreday NS.** (2011). *Neuroscience*, Wolters Kluwer, 2ème édition, p 59-95.

-V-

46. **Vergely C, Rochette L.** (2005). *Les radicaux libres, des composés à fonction biologique méconnue : à côté de leur action physiopathologique, ce sont des régulateurs avant d'être des destructeurs.* *AMC pratique.* 141. p28-30.

47. **Vibert JF, Sebille A, Lavallard-Rousseau MC, Boureau' F, Mazières L.** (2011). *Neurophysiologie De la physiologie à l'exploration fonctionnelle*

-Y-

48. **Yann.** (2017). *Le nickel : élément chimique de numéro atomique 28 (symbole Ni).* Récupéré sur Superprof.

49. **Yzydorczyk C.** (2011). *Rôle du stress oxydant en période néonatale dans l'hypertension artérielle et la dysfonction vasculaire et métabolique de l'adulte.* p 51-84.

-Z-

50. **Zorrig W.** (2011). *Recherche et caractérisation de déterminants contrôlant l'accumulation de cadmium chez la laitue "Lactuca sativa".* Thèse de Doctorat. Université Tunis El Manar. p11.