

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHESCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : biochimie appliquée

Amélioration de la fonction hépatique par une plante
médicinale *Rhamnus alaternus* chez les rats intoxiqués
par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium

Présenté par :

- Gherib Yasmine
- Gourgane Mouna
- Saadali Badr Eddine
- Rahal Mohamed Tahar

Membre de jury :

Boulkenafet Fouzi (MCA) Président	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mellahi Lamia (MAA) Promoteur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Nadji Safia (MCB) Examineur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

Remerciement

Tout d'abord, nous rendons grâce à Dieu le tout puissant de nous savoir donner le courage, la volonté, et la force nécessaire pour réaliser ce travail.

Ce mémoire n'aurait pas peut-être réalisé sans la contribution de nombreuses personnes que nous tenons à remercier par ces quelques lignes

Nous exprimons toute notre gratitude à notre encadreur Mme L. Mellahi L pour son aide, ses conseils, sa disponibilité, sa gentillesse et ses orientations qui nous ont permis de mener à bien l'ensemble de nos recherches

Nos remerciements s'adressent également à tous les membres du jury : Madame Nadji S enseignant à l'université 20 aout 1955 Skikda pour son aide, ses précieuses conseils, ses encouragements, sa disponibilité et sa sympathie. Monsieur Bouleknafed F enseignant à l'université 20 aout 1955 Skikda, pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant présider le jury. Un remerciement très particulier à monsieur Ouzel Badiss, enseignant l'université 20 aout 1955, Skikda, pour son aide, ses précieux conseils, ses encouragements et sa patience A tous les enseignants qui ont contribué à notre formation Nos parents qui nous ont soutenus tout au long de nos études universitaires A tous les étudiants de la promotion Enfin nous remercions également tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, un ami ou un étranger, et pour tous ceux qui nous ont aidées, même si avec un mot gentil.



Dédicace

Je dédie ce travail

A mes très chers parents Qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.

J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour que dieu me les gardes

J'espère que je serai un jour à la hauteur de vos espérances. A

mes belles chères sœurs : Wissem, Ines, Hana, Lina

A mon cher frère : Abdel Fettah

A mon cher oncle, que Dieu ait pitié de toi et t'accorde le paradis

A toutes mes amis et mon trinôme Mouna (ma meilleure amie)

Ma chère tante : Wafa

A tous personnes les plus proches à mon âme qui par leurs prières, leurs encouragements, leurs soutiens et leur amour

inconditionnel, j'ai pu surmonter tous les obstacles.

Yasmine





Dédicace

Avec l'aide de dieu clément, on a pu réaliser ce modeste mémoire qui est le fruit d'un long et dure travail Je dédie ce travail, À mes très chers parents, A mon père Abdallah mon plus haut exemple qui m'a toujours souhaité la réussite et qui m'a encouragé dans tout mon cursus scolaire et universitaire.

J'espère que tu sois fière de ta fille. A ma mère qui m'a toujours témoigné son sacrifice et sa bénéficiation dans les moments les plus importants de ma vie. A ma soeurs Asma A mes frère Oussama et youcef . A ma meilleure amie yasmine.

A tous les membres de ma famille. A toutes mes amis et mon trinôme Yasmine (ma meilleure amie), Badriddine, et Mohammed.

Mouna





Dédicace

*Je dédie ce travail à Dieu tout-puissant, car sans sa
bénédiction, je n'aurais jamais rêvé de le réaliser.*

*Je dédie ces mots et les émotions de fierté et de bonheur qui
les accompagnent à ceux que j'ai aimés et qui m'ont aimé
en retour.*

*À ceux qui ont eu foi en moi et m'ont donné le courage et la
force de continuer à avancer.*

*Je dédie ces mots à mes chers parents, mes amis et à la
personne qui peut être les deux.*

MedFahar R.





Dédicace

Je dédie ce travail

*À Dieu tout-puissant, car sans sa bénédiction, je n'aurais
jamais rêvé de le réaliser.*

*Je tiens également à remercier mes parents et mon frère qui
ont toujours été à mes côtés chaque fois que j'ai rencontré un
obstacle, ainsi que mon ami le plus proche, Nikhail, qui
m'a énormément aidé tout au long de ce parcours.*

A Mes amis : Rami, Ilyes, Chérif, Chemsou, Aymen.

Et à mes collègues : Fahar, Yasmine, Mouna

*Et à toutes les personnes qui sont les plus chères et les plus
proches de mon cœur, dont la présence m'a influencé
positivement et m'a poussé à faire mieux et à travailler plus
dur.*

Badr-eddine



Table de matière

Résumé.....	
المخلص.....	
Abstract.....	
Liste des Figures.....	
Liste des tableaux.....	
Liste d'abréviation.....	
Introduction.....	1

Partie I : synthèse bibliographique

Chapitre I : *rhamnus alaternus*. L

1 descriptions général.....	3
2 la dénomination.....	3
3 la classification.....	3
4 la morphologie de <i>Rhamnus alaternus</i>	4
5 la répartition de <i>rhamnus alaternus</i>	6
5.1. Dans le monde.....	7
5.2. Dans l'Algérie.....	7
6 les composition chimique et biochimique.....	7
7 l'utilisation traditionnelle et les effets thérapeutiques de <i>rhamnus alaternus</i>	9
8. L'activité antioxydantes	10
9. L'activité antioxydantes de <i>Rhamnus alaternus</i>	10
10.la toxicité de <i>Rhamnus alaternus</i>	10

Chapitre II : Oxyde d'aluminium

1. Les nanoparticules.....	12
2. Oxyde d'aluminium.....	12
3. La toxicité d'aluminium.....	13
4. Les nano toxicité d'aluminium	13

5. La relation entre de stress oxydatif et radicaux libres	13
5.1. Les radicaux libres.....	13
5.2. Le stress oxydatif.....	14
5.3. La relation.....	14
6. Cibles des radicaux libres.....	15
6.1. Protéines.....	15
6.2. Lipides.....	15
6.3. Glucides.....	15
7. Pathologies liées au stress oxydatif.....	15
7.1. Maladies cardiovasculaire.....	16
7.2. Maladies neurodégénérative.....	16
7.3. Cancer.....	16
7.4. Maladie respiratoire.....	16
7.5. Maladie métabolique.....	16

Chapitre III : le foie

1. Généralité.....	17
2. Anatomie du foie.....	17
2.1. Anatomie externe.....	17
2.2. Anatomie interne.....	18
3. Les fonctions hépatiques.....	19
3.1. Métabolisme et stockage.....	19
3.2. Fonction d'épuration et détoxification.....	19
3.3. Fonction excréto-bilaire.....	20
4. les Indicateurs hépatiques.....	21
4.1. La bilirubine.....	21
4.2. L'alanine amino-transférase et l'aspartate amino-transphérase.....	21
4.3. Phosphate alcaline.....	21
4.4. Gamma-glutamyl transférase.....	21

4.5. Albumines.....	22
4.6. Facteur V.....	22
4.7. Lactate déshydrogénase.....	22
5. pathologie hépatique.....	22
5.1. Hépatites.....	22
5.2. Cirrhose.....	23
5.3. Stéatose hépatique.....	23
5.4. Hémochromatose.....	23

Partie 02 : expérimental

Chapitre I : matériel et méthode

I. Matériel.....	24
1. Matériel chimique.....	24
2. Matériel biologique.....	25
2.1. Matériel végétal.....	25
2.2. Matériel animal.....	25
2.3. Matérielles et produits de laboratoire utilisés.....	26
II. Méthodes.....	26
1. Récolte, séchage, broyage.....	26
2. Préparation de l'extrait brut.....	26
2.1. Macération.....	26
2.2. Evaporation.....	27
2.3. Séchage de l'extrait brut.....	28
3. Infusion.....	28
4. Dosage des polyphénols totaux.....	29
4.1 Principe de la réaction.....	29
4.2. Mode opératoire.....	29
4.3. Expression des résultats.....	29
5. Dosage des flavonoïdes totaux.....	30

5.1. Principe de la réaction.....	30
5.2. Mode opératoire.....	30
5.3. Expression des résultats.....	30
6. Activité anti-oxydante des extraits organiques de <i>Rhamnus alaternus</i> L. par le radicale libre DPPH.....	30
6.1. Principe.....	30
7. Traitement des rats.....	31
8. Préparation des animaux.....	33
8.1. Prélèvement sanguin.....	33
8.2. Prélèvement d'organes.....	34
9. Dosage des paramètres biochimique.....	34
9.1. TGO/TGP.....	34
9.2. Bilirubine.....	34
10. Paramètres métaboliques.....	35
10.1. Glucose.....	35
10.2. Triglycéride.....	35
10.3. Cholestérol totale.....	35
10.4. Protéines totales et fractions (albumine).....	35
10.5. Paramètres hématologiques.....	35
11. Paramètre biochimique.....	36
11.1. Extraction et dosage des métabolites.....	38
11.2. Dosage des glucides.....	38
11.3. Dosage des protéines.....	38
11.4. Dosage des lipides.....	39
12. L'étude histologique.....	39
12.1. Fixation.....	39
12.2. La préparation des cassettes des tissus.....	40
12.3. La circulation.....	40
12.4. Inclusion.....	40

12.5. Les coupes.....	40
12.6. Coloration.....	41
12.7. Montage.....	41
12.8. Lecture.....	41
12.9. L'analyse statistique.....	42

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Teneur en composant phénoliques.....	43
1.1 Teneur en polyphénols totaux.....	43
1.2 Teneur des flavonoïdes.....	44
2. L'activité antioxydante.....	45
2.1 La détermination de l'activité anti-radicalaire au radical DPPH.....	45
3. Gains de poids.....	46
4. Parametre biochimique.....	46
4.1 glycémie.....	47
4.2 TGP, TGO et PAL.....	49
4.3 La biliribine total et direct	51
4.4. Le triglycéride et le cholestérol.....	53
4.5. Protéine et Albumine.....	53
5. Effet du l'Al ₂ O ₃ sur les métabolites du foie	55
5.1. Effet sur le taux des glucides hépatiques.....	56
5.2. Effet sur le taux des lipides.....	56
5.3. Effet sur le taux des protéines hépatiques.....	57
6. Paramètres hématologiques.....	58
7. Coupe histologique.....	59
Conclusion générale.....	63
Références bibliographiques.....	65

Résumé

La présente étude ayant pour objectif d'évaluer la capacité améliorative de la fonction hépatique de la plante *Rhamnus alaternus*. L sur des rats femelle wistar *albinos* traités par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium en évaluant certain paramètre hématologique et biochimique. L'analyse phytochimique de la partie aérienne d'extrait de l'espèce végétale étudiée a mis en évidence les métabolites secondaires suivantes : Polyphénols (13µg/EAG/mg ES) et Flavonoïdes (26.76µg/EQ/ mg ES) et l'évaluation de l'effet antioxydant de cet extrait par le piégeage du radical libre DPPH, a donné une valeur élevée de IC50(140µg/ml).

L'organisme est doté d'un système complexe de défense contre l'oxydation, mais ce dernier subit des agressions multipliées et donc sera débordé et un déséquilibre aura lieu entre la production des espèces réactives à l'oxygène et les défenses antioxydantes.

Les rats ont été répartis en 6 groupes : un groupes témoins et un groupe traité par les nanoparticules d'oxyde aluminium(50mg/kg/jour), deux groupes traités uniquement avec l'extrait brut de la plante (dose 250 et 500mg/kg/jour), et deux groupes traités avec les nanoparticules d'oxyde d'aluminium (50mg/kg/jour) en combinaison avec l'extrait de la plante (250 et 500mg/kg/jour) pendant une durée de 4 semaine.

Cette étude met en évidence les effets nocifs des nanoparticules d'oxyde d'aluminium sur le foie, telle que : la diminution du poids corporel, l'augmentation du glycémie, l'augmentation de l'activité enzymatique des transaminases (TGO et TGP), ainsi que de la phosphatase alcaline (PAL). Un changement des paramètre hématologiques (GB, HT, HB, HT) et aussi des changements des coupes histologiques de foie dans le groupe traité par nanoparticules d'oxyde d'aluminium Et aussi l'effet opposé de l'extrait aqueux de la plante.

Effectivement, le traitement par *Rhamnus alaternus* a aidé à restaurer la fonction hépatique, ce qui nous a conduit à conclure que cette plante peut réduire la toxicité induite par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium. L'utilisation de l'extrait brut de *Rhamnus alaternus* s'avère être une méthode simple, économique et utile pour protéger toute personne exposée aux nanoparticules d'oxyde d'aluminium.

Abstract:

The present study aims to assess the ability to improve the liver function of the plant *Rhamnus alaternus*. L on female *wistar albino* rats treated with aluminum oxide nanoparticles by evaluating certain hematological and biochemical parameters. The phytochemical analysis of the aerial part of the extract of the plant species studied revealed the following secondary metabolites: Polyphenols (13 μ g/EAG/mg ES) and Flavonoids (26.76 μ g/EQ/mg ES) and the evaluation of the antioxidant effect of this extract by trapping the free radical DPPH, gave a high value of IC50 (140 μ g/ml).

The body has a complex defense system against oxidation, but the latter undergoes multiple attacks and therefore will be overwhelmed and an imbalance will occur between the production of reactive oxygen species and the antioxidant defenses.

The rats were divided into 6 groups: a control group and a group treated with aluminum oxide nanoparticles (50mg/kg/day), two groups treated only with the crude extract of the plant (dose 250 and 500mg/kg /day), and two groups treated with aluminum oxide nanoparticles (50mg/kg/day) in combination with the plant extract (250 and 500mg/kg/day) for a period of 4 weeks.

This study highlights the harmful effects of aluminum oxide nanoparticles on the liver, such as: decrease in body weight, increase in blood sugar, increase in enzymatic activity of transaminases (TGO and TGP), as well as alkaline phosphatase (ALP). A change in hematological parameters (GB, HT, HB, HT) and also changes in histological sections of the liver in the group treated with aluminum oxide nanoparticles and also the opposite effect of the aqueous extract of the plant.

Indeed, treatment with *Rhamnus alaternus* helped restore liver function, leading us to conclude that this plant can reduce the toxicity induced by aluminum oxide nanoparticles. The use of crude extract of *Rhamnus alaternus* proves to be a simple, economical and useful method to protect anyone exposed to aluminum oxide nanoparticles.

المخلص

تهدف الدراسة الحالية إلى تقييم القدرة على تحسين وظائف الكبد لنبات *Rhamnus alaternus* L على إناث فئران *wistar albinos* البيضاء المعالجة بجزيئات أكسيد الألومنيوم النانوية من خلال تقييم بعض المعايير الدموية والكيميائية الحيوية. كشف التحليل الكيميائي النباتي للجزء الجوي من مستخلص الأنواع النباتية المدروسة عن المستقلبات الثانوية التالية: البوليفينول (13 ميكروغرام / EAG / مجم ES) والفلافونويد (26.76 ميكروغرام / مكافئ / مجم ES) وتقييم التأثير المضاد للأكسدة لهذا المستخلص عن طريق محاصرة الجذور الحرة DPPH ، أعطى قيمة عالية من IC50 (140 ميكروغرام / مل).

يمتلك الجسم نظام دفاع معقدًا ضد الأكسدة، لكن الأخير يتعرض لهجمات متعددة، وبالتالي سوف يغمره ويحدث عدم توازن بين إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية والدفاعات المضادة للأكسدة.

قسمت الفئران إلى 6 مجموعات: مجموعة ضابطة ومجموعة عولجت بجسيمات أكسيد الألومنيوم النانوية (50 مجم / كجم / يوم) ، مجموعتين عولجت فقط بالمستخلص الخام للنبات (جرعة 250 و 500 مجم / كجم / يوم) ، و عولجت مجموعتان بجزيئات أكسيد الألومنيوم النانوية (50 مجم / كجم / يوم) بالاشتراك مع المستخلص النباتي (250 و 500 مجم / كجم / يوم) لمدة 4 أسابيع.

تسلط هذه الدراسة الضوء على الآثار الضارة لجزيئات أكسيد الألومنيوم النانوية على الكبد، مثل: انخفاض وزن الجسم، وزيادة نسبة السكر في الدم، وزيادة النشاط الإنزيمي للترانساميناسات (TGO و TGP) ، وكذلك الفوسفاتاز القلوي (ALP). تغيير في البارامترات الدموية (GB ، HT ، HB ، HT) وأيضًا تغييرات في الأقسام النسيجية للكلى في المجموعة المعالجة بجزيئات أكسيد الألومنيوم النانوية وأيضًا التأثير المعاكس للمستخلص المائي للنبات.

في الواقع، ساعد العلاج باستخدام *Rhamnus alaternus* على استعادة وظائف الكبد، مما دفعنا إلى استنتاج أن هذا النبات يمكن أن يقلل من السمية التي تسببها جزيئات أكسيد الألومنيوم النانوية. ثبت أن استخدام المستخلص الخام من *Rhamnus alaternus* هو طريقة بسيطة واقتصادية ومفيدة لحماية أي شخص يتعرض لجسيمات أكسيد الألومنيوم النانوية.

Numéro	Titre figure	page
Fig.1	<i>Rhamnus alaternus</i> (Aronne et Wilcock, 1995)	3
Fig.2	les feuilles de <i>Rhamnus alaternus</i> (Aronne et Wilcock, 1995)	4
Fig.3	les fleurs de <i>Rhamnus alaternus</i> (anonyme)	5
Fig.4	les fruits de <i>Rhamnus alaternus</i> (anonyme)	5
Fig.5	Répartition de <i>rhamnus alaternus</i> dans le monde	6
Fig.6	Répartition par secteur, en Algérie selon Quézel et Santa (1963).	7
Fig.7	Structures chimiques de quelques flavonoïdes de <i>R. alaternus</i>	9
Fig.8	poudre d'oxyde aluminium	12
Fig.9	Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques (Kumar, 2006).	12
Fig.10	Face diaphragmatique et viscérale du foie (Ferner <i>et al.</i> 1986)	18
Fig.11	Structure du lobule hépatique (Anonyme)	19
Fig.12	Oxyde Aluminium (photo originale, 2023)	24
Fig.13	photo originale,2023 du la région de La plante <i>Rhamnus alaternus</i> (zerdaza)	25
Fig.14	Carte géographique montant la région de Zardaza, Skikda (Google Maps, 2023)	25
Fig.15	les rats <i>Wistar albinos</i> (photo original,2023)	25
Fig.16	la récolte, la séchage, poudre (photo originale,2023)	26
Fig.17	l'agitation, la filtration (photo original, 2023).	27
Fig.18	la méthode d'évaporation (photo original ,2023)	27
Fig.19	l'extrait (photo originale,2023)	28
Fig.20	la filtration (photo originale,2023)	28
Fig.21	Le protocole d'expérimentation	32
Fig.22	Principales étapes d'extraction des métabolites : protéines, glucides, lipides	37
Fig.23	Les étapes de montage (photos originales, 2023)	41
Fig.24	Courbe d'étalonnage d'acide gallique.	43
Fig.25	courbe d'étalonnage du Quercitine.	44
Fig.26	Effet antioxydante contre le radical DPPH de l'extrait méthanolique De <i>R. alaternus</i> à différentes concentrations.	45
Fig.27	Variations du poids corporel chez les différents groupes étudiés après 4 semaines de traitement.	46
Fig.28	La variation de la concentration du glucose chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines de traitement.	47
Fig.29	Variations de l'activité enzymatique TGO, TGP et PAL chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines de traitement.	49

Fig.30	Les variations de la concentration sérique de la bilirubine totale et la bilirubine directe chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines de traitement.	51
Fig.31	Les variations de la concentration de triglycérides et des cholestérols chez les différents groupes des rats après 4 semaines de traitement.	52
Fig.32	Les variations de la concentration sérique du taux des protéines et l'albumine (g/L) chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines de traitement.	53
Fig.33	Variation du taux des Glucides hépatiques chez les rats témoins et les autres groupes traités après 4 semaines de traitement.	55
Fig.34	Variation du taux des lipides ($\mu\text{g/ml}$) chez les rats témoins et traités après 4 semaines de traitement.	56
Fig.35	Variation du taux des protéines hépatiques chez les rats témoins et traités après 4 semaines de traitement.	57
Fig.36	Variation du taux des protéines chez les rats témoins et traités après 4 semaines de traitement.	58
Fig.37	Les cellules du foie sous microscope (normal/influencé par l'oxyde aluminium) Grossissement X40	60
Fig.38	Les coupes histologiques du foie des rats témoins et les rats traités après 30 jours de traitement. Grossissement X10	61

Listes tableaux

Numéro	Titre de tableau	page
Tab.1	Dosage des glucides: réalisation de la gamme d'étalonnage	38
Tab.2	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des protéines.	38
Tab.3	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des lipides.	39

Liste d'abrogation

- Al_2O_3 : Oxyde d'Aluminium
- AlCl_3 : Chlorure d'aluminium
- BBC : Bleu Brillant de Commassie
- [C] : Concentration
- DL50 : Dose Létale 50
- DPPH : Diphénylpicrylhydrazyle
- FNS : La numération formule sanguine (formule de la numération sanguine).
- g : gramme
- GB : Globule blanc.
- GR : Globule rouge
- GPT: Glutamyl-pyruvate-transaminase
- GOT: Glutamyl oxaloacétate-transferase
- HCT ou HT : Hématocrite
- HGB ou HB : Hémoglobines
- I%: Inhibition
- IC: Concentration inhibitrice
- J: jour
- Kg: kilogramme
- L : litre
- M : mètre
- mm : millimètre
- Mg : milligramme
- Mme : Madame
- Na_2CO_3 : Carbonate De Sodium
- P : Poids
- R_2 : facteur de corrélation
- ROS: Reactive Oxygen Species
- SNV : Science de la Nature et de la Vie
- TCA : Acide trichloracétique
- μg EAG/mg ES: microgramme d'équivalente d'acide de gallique par milligramme d'extrait sec.
- μg EQ/mgE : microgramme d'équivalente de quercétine par milligramme d'extrait.
- μl : microlitre
- μg : microgramme
- VBC : Vert de bromocrésol
- W_8O_{23} : Tungstène.
- % : Pourcentage.



Introduction générale

Introduction

Introduction :

Depuis l'Antiquité jusqu'à nos jours, les plantes médicinales ont été utilisées pour traiter différents types de maladie. Elles sont considérées comme la matière principale dans la découverte de nouvelles molécules et ainsi de futurs médicaments.

L'espèce *Rhamnus alaternus*. L est une plante connue pour ces différents effets thérapeutiques par exemple ; Des effets gastriques, hypotenseurs, antioxydant...etc. (**Ben ammar, 2007**). Cette plante est riche en différent métabolite, des flavonoïdes, tanins, coumarines et anthraquinones (**Izahki et al., 2002**).

Les nanoparticules sont des structures conçues avec au moins une dimension de 100 nanomètres ou moins, doté de capacité physique et chimique unique (**Baig et al., 2021**). Ces derniers ont connu une explosion de la demande car leurs utilisations se sont étendues à un large éventail de secteurs tels que la médecine, les cosmétiques, les peintures, l'électronique, etc... (**Nel et al., 2006**).

Étant une technologie récemment introduite, il est possible qu'elle soit nocive et toxique pour les êtres humains et aussi pour l'environnement. Effectivement, les nanoparticules ne sont pas exemptes de risques. Des recherches ont démontré que les nanoparticules peuvent engendrer différentes maladies telles qu'une inflammation pulmonaire, des troubles neurologiques et même le cancer (**Cassee et al., 2016**). D'autres études ont également montré les effets néfastes des nanoparticules sur l'environnement, tels que la pollution de l'eau et la perturbation des écosystèmes (**Nowack et al., 2007**). Les nanoparticules d'oxyde aluminium (Al_2O_3) sont une des particules largement utilisées utilisée dans diverses industries et une exposition par inhalation ou contact directe peut engendrer une accumulation dans les différents organes du corps par exemple le foie ou peut causer un stress oxydatif et des dommages irréversible.



L'hépatotoxicité est le fait que certaines substances dites hépatotoxiques ou hépatotomies, sont capables d'induire la destruction des hépatocytes (cellules du foie) ou des hépatopathies (dysfonctionnements du foie). Il existe des hépato-protecteurs qui ont pour rôle de protéger les hépatocytes (**Georges, 2006**).

L'objectif de ce travail est de mettre en étude l'activité Hépato-protectrice des feuilles de la plante médicinale *Rhamnus alaternus*. Le potentiel hépato-protecteur de l'extrait brut des feuilles ont été étudiier contre l'hépatotoxicité induite par l'aluminium oxyde (Al_2O_3) in vivo chez le rat *wistar albinos*.



Introduction

La présente étude est organisée selon le plan suivant :

La première partie consacrée « synthèse bibliographie » et elle comporte trois chapitres : le premier chapitre présente une description de l'espèce *Rhamnus alaternus* L. Le deuxième chapitre concernant l'oxyde d'aluminium. Le troisième chapitre aborde le foie, ses fonctions, les marqueurs biologiques et les pathologies associées. La deuxième partie est consacrée à la partie expérimentale et se constitue deux chapitres : le premier chapitre intitulé Matériel et méthode, le deuxième chapitre traite sur les résultats et discussion. Enfin, ce manuscrit se termine par une conclusion générale et les références bibliographiques.



Partie 01 : synthèse
Bibliographique





Chapitre I :

Rhamnus alaterne. L



I. *Rhamnus alaternus*. L:

1. Description général:

Rhamnus alaternus. L ou "oud el khir", comme l'appellent les Arabes (**Ben Ammar et al.;2009**), (**figure 1**) est une espèce végétale appartenant à la Famille Rhamnaceae (**Cuoco et al., 2014**). Les arbustes de cette famille sont employés en thérapeutique traditionnelle et préparation culinaire, c'est une famille mondial d'arbres, d'arbustes et d'herbes contenir environ 50 genres et 900 espèce (**Richardson et al., 2000 ; Bas et al., 2005 ; Bhourri et al., 2011**).

Le nom de genre *Rhamnus* vient du grec rhdos qui signifie baguette, en référence à la Flexibilité des rameaux (**beloued,2001**). *Rhamnus alaternus* est un arbuste dioïque, dicotylédones, à feuilles persistantes, distribué le long de bassin méditerranéen, cette espèce Très tolérant à la sécheresse, à l'ombre et au gel et tolérant à un mauvais drainage. Nécessite une fertilité du sol faible à moyenne (**Bas et al., 2009**).



Figure 1 : *Rhamnus alaternus* (Aronne et Wilcock, 1995)

2. La classification :

La classification de *Rhamnus alaternus* L. (**Yi-Ling et Pan-Kai, 1982**) :

- Règne : Plantae-Végétale
- Division : Magnoliophyta-plante à fleur
- Classe : Magnoliopsida-Dicotylédone
- Ordre : Rhamnales
- Famille : Rhamnaceae
- Genre : *Rhamnus*
- Nom binominal : *Rhamnus alaternus* L.

3. La dénomination :

Les noms vernaculaires du nerprun sont mentionnés dans le Tableau suivant :

- Nomenclature En arabe : Am'lile'ce, Oud El-khir ou bien Safir

- En Kabyl : Mélilés (**Bhouri et al., 2012; Debeaux, 1984**).
- En anglais : Buckthorn.
- En Français : Nerprun
- En Allemand : Kreülzdorn.
- En Espagnol : Aladierna, Cosco Unia, Sanguino de Andalucia.
- En Italien : Alaterno, Legno Puzzo (**Gubb, 1913**).

4. La morphologie:

L'espèce *Rhamnus alaternus*. L est un arbrisseau toujours vert méditerranéen (**Ben Ammar et al., 2005**) qui obtenu une élévation de 5 m. Elle grandit doucement et peut habiter jusqu'à cent ans (100 ans) (**Hamiani, 2018**)

❖ **Les feuilletts:** sont ovales ou lancéolées et de petite taille (**figure2**). Elles sont disposées de manière alternée sur la tige, sont coriaces et ont un pétiole. Elles sont luisantes et mesurent environ 6 cm de long sur 3 cm de large. Les bords des feuilles sont peu dentés et les feuilles persistent sur la plante (**Hamiani, 2018**). Les branches de *Rhamnus alaternus* sont également disposées de manière alternée, sont glabres (sans poils) et dépourvues d'épines. Elles présentent généralement de 4 à 6 nervures peu saillantes de chaque côté de la nervure médiane (**Jean-Marc Tison, Bruno de Foucault ; Flora Gallica**). Parfois, elles peuvent être dichotomiques, c'est-à-dire qu'elles se divisent en deux lobes presque égaux à partir de la base. Il peut également y avoir une marbrure palmée à la base ou sur toute la longueur du limbe des feuilles. Les stipules (structures en forme de feuilles situées à la base des feuilles) peuvent parfois se développer de manière déformée en épines. (**Spichiger, 2004**).



Figure 2 : les feuilles de *Rhamnus alaternus* (**Aronne et Wilcock, 1995**)

- ❖ **Les Fleurs:** sont dioïques, ce qui signifie qu'il y a des fleurs mâles et des fleurs femelles (**figure3**). Elles sont de couleur jaune pâle et sont regroupées en grappes comprenant de nombreuses petites bractéoles. Les fleurs mâles ont un calice avec 5 lobes lancéolés qui sont posés, tandis que les fleurs femelles ont des lobes dressés. Elles n'ont pas de pétales. Le style est bidirectionnel, ce qui signifie qu'il peut recevoir du pollen et se diriger vers la fleur femelle ou être libéré du pollen pour féconder d'autres fleurs. Les graines produites par la plante ont un fossé ouvert. *Rhamnus alaternus* présente une polymorphie, ce qui signifie qu'il existe différentes formes ou variations dans la plante. L'inflorescence, c'est-à-dire l'arrangement des fleurs sur la plante, est en grappes compactes mais de petite taille. Elles sont unisexuées, ce qui signifie que chaque fleur est soit mâle soit femelle. La période de floraison de *Rhamnus alaternus* se situe généralement entre mars et avril, où les fleurs s'épanouissent et sont pollinisées. Cette période peut varier légèrement en fonction des conditions climatiques et géographiques (**Ait Youssef, 2006**).



Figure 3: les fleurs de *Rhamnus alaternus* (**anonyme**)

- ❖ **Les fruits:** sont charnus et se transforment en une drupe à maturité. Initialement rouge en surface, le fruit (**figure4**) devient noir à maturité. Chaque drupe renferme de 2 à 4 noyaux triangulaires d'une taille d'environ 2,5 mm. Le fruit mesure environ 4,6 mm de long et pèse

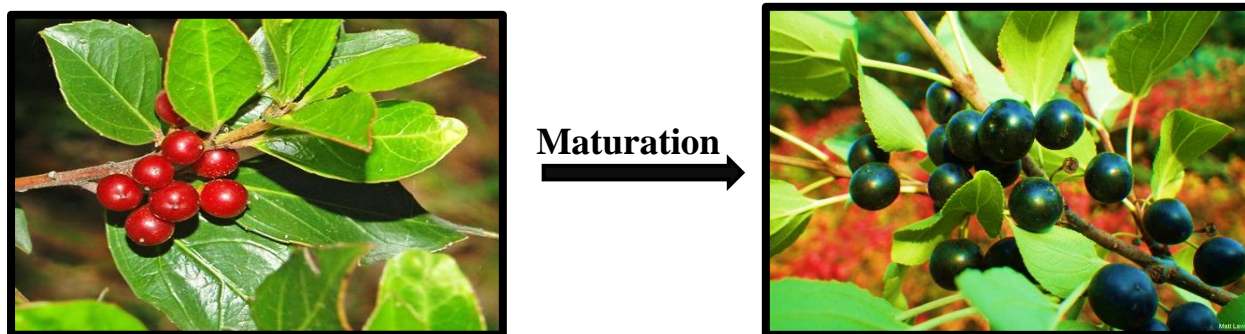


Figure 4 : les fruits de *Rhamnus alaternus* (**Aronne et Wilcock, 1995**)

Chapitre I : *Rhamnus alaternus*. L

environ 9 mg (**Bas et al., 2009**). La maturité des fruits de *Rhamnus alaternus* se produit entre avril et août (**Aronne et Wilcock, 1995**).

Les fruits sont une source importante de nutriments pour les oiseaux et les petits mammifères (**Gulías et al., 2004**). Les graines germent généralement en 3 à 4 semaines à des températures comprises entre 7,5 et 24 °C. De plus, les graines de *Rhamnus alaternus* peuvent être conservées pendant plusieurs années (**Bas et al., 2006**).

- ✓ Le tronc est dressé et ramifié. Les branches sont alternes, non Épineux (**Chancelier, 1920**)

5. la répartition géographique de *Rhamnus alaternus*. L:

- **5.1. Dans le monde:** La distribution de *Rhamnus alaternus*. L est influencée par différents facteurs, tels que le climat (température, humidité, etc.) et le type de sol, en particulier les sols calcaires des régions tropicales. Cette espèce est originaire d'Asie mineure, mais elle s'est largement répandue dans le pourtour méditerranéen en Europe. Elle se trouve sur les coteaux secs et calcaires du sud de la France, ainsi que dans les pays d'Afrique du Nord, tels que l'Algérie, le Maroc et la Tunisie, où elle est considérée comme commune (**Ben ammar et al., 2008**) On la retrouve également dans les fourrés littoraux méditerranéens. En dehors de ces régions, *Rhamnus alaternus* s'est naturalisé en Australie et en Nouvelle-Zélande, ce qui signifie qu'il a été introduit et s'est établi dans ces régions de manière non indigène. Ces introductions peuvent être attribuées à divers facteurs, tels que le commerce, l'ornementation ou d'autres activités humaines. Il est important de noter que la distribution spécifique de *Rhamnus alaternus* peut varier en fonction des conditions écologiques et des changements environnementaux. Certaines populations de cette espèce peuvent également présenter des variations génétiques en raison de l'adaptation à des habitats spécifiques (**Gulias J, 2004**).

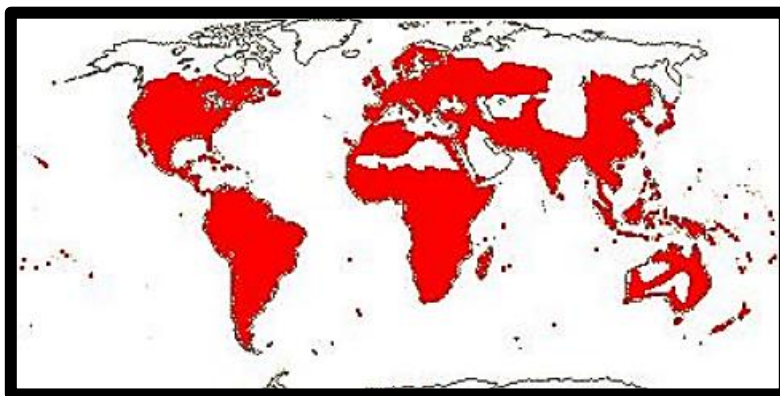


Figure 5 : Répartition de rhamnus alaternus dans le monde

- **5.2. En Algérie:** *Rhamnus alaternus*. L se développe principalement dans les garrigues et sur les coteaux calcaires bénéficiant d'une exposition solaire abondante (**figure5**). Cet arbrisseau est caractéristique de la zone littorale en Algérie, ce qui signifie qu'il est fréquemment présent le long de la côte (**Quézel et Santa 1963**).

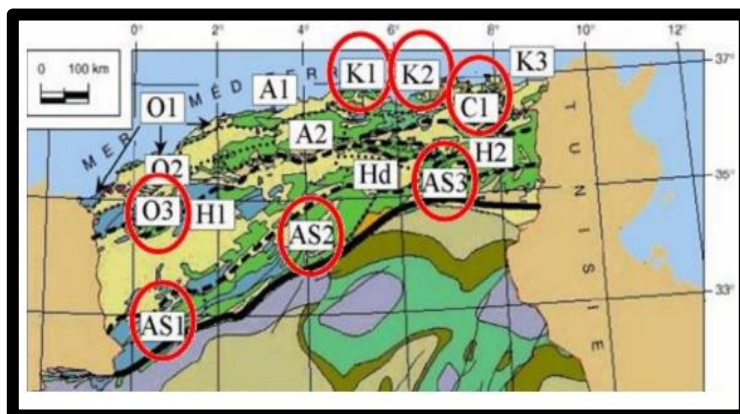


Figure 6 : Répartition par secteur, en Algérie selon Quézel et Santa (1963).

Selon une étude phytogéographique réalisée sur le territoire algérien par Quézel et Santa en 1963, *Rhamnus alaternus* est largement répandu dans le nord de l'Algérie, tandis que sa présence est quasiment inexistante dans le sud du pays. Cette distribution différenciée peut être attribuée à des facteurs écologiques spécifiques, tels que les variations climatiques, la disponibilité des habitats appropriés et les contraintes environnementales propres à chaque région (**Quézel et Santa, 1963**).

Les conditions climatiques plus favorables dans le nord de l'Algérie, caractérisées par des températures modérées, une plus grande humidité et des sols appropriés, offrent un environnement propice à la croissance et à la présence de *Rhamnus alaternus*. En revanche, les régions du sud de l'Algérie sont généralement plus arides et présentent des conditions moins favorables au développement de cette espèce (**Ait Youssef, 2006**).

6. Les composition chimique et biochimique :

La plante de *Rhamnus alaternus* est caractérisée par une richesse de substances Phénoliques spécialement :

6.1. Les tannins: sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant une masse Moléculaire comprise entre 500 et 3000Da, ils ont la propriété de précipiter les alcaloïdes, la

Chapitre I : *Rhamnus alatenus. L*

gélatine et d'autres protéines Les tannins sont classés en deux groupes principaux différents par leur structure : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

6.2. Anthraquinone : Anthra (anthracite : chrbon) et quinone (Espagnol : quinone=5). L'antraquinone appartient à la famille chimique des hydrocarbures aromatiques polycycliques. C'est un dérivé de l'oxydation de l'anthracène, il a l'apparence d'une poudre cristalline solide, et sa couleur varie du jaune et du gris-clair au gris-vert. Anthraquinones aglycones (**Wei et al., 1992**).

Il y a Quatre molécules ont été isolées de anthaquinone :

6.2.1. Émodine : plus abondant dans la partie aérienne de la plante, c'est le seul aglycone détectée dans les graines et dans le péricarpe mûr.

6.2.2. Chrysophanol : très abondamment dans les parties les plus jeunes de la plante mais totalement absent dans les feuilles.

6.2.3. Alaternine : atteint sa concentration maximale dans l'écorce

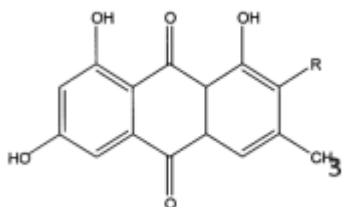
6.2.4. Physcion : a été trouvé dans toutes les parties de la plante à l'exception des graines et du péricarpe mûr.

6.3. Flavonoïde: sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils ont des rôles variés dans les plantes. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Brunton, 1999**). Ils sont impliqués dans la résistance aux maladies, les processus de défense Contre les UV, la stimulation des nodules pour la fixation de l'azote. Les flavonoïdes comprennent 15 atomes de carbone formant une structure de base C6-C3-C6 (**Chira et al., 2008**), constituée de deux cycles benzéniques (A et B liés par un hétérocycle pyrane (C) (**Cushnie et Lamb,2005**).

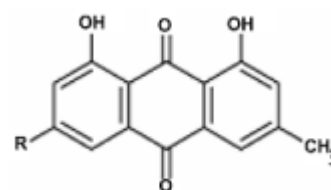
Rhamnus alaternus est contient des flavonoïdes glycosylés tel que kaempferol 3-O-Bisorhamninoside, rhamnocitrin 3-O-B-isorhamninoside et rhamnetin-3-O-B-isorhamninoside (**Ben Ammar et al., 2009**), et des flavonoïdes aglycones comme le kaempferol, quercétine et l'apigénine (**Ben Ammar et al., 2008 ; Ben Ammar et al., 2009**). Elle est aussi riche en flavones, hétérosides, alcaloïdes. (**Stocker et al, 2004**) et coumarines (**Ben Ammar et al., 2005**).

Chapitre I : *Rhamnus alaternus*. L

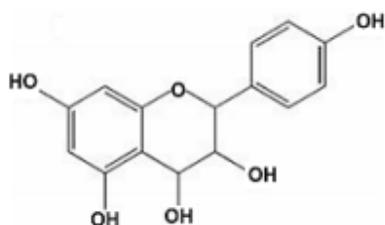
La pulpe *R. alaternus* contiennent spécifiquement de l'eau (68%), des minéraux (Fe, Zn, Mn, K, Na, Ca, Mg, P, Cu), dont K (12,90%), lipides, protéines et fibres (cellulose, hémicellulose, lignine). Fruits relativement gros L'argousier est riche en eau et en phosphore, et le fruit est de taille moyenne Teneur élevée en matières grasses, magnésium et calcium et faible teneur en fruits Plus de protéines, de potassium et de zinc. La pulpe contient l'indiqué L'émodine est toujours inférieure aux feuilles (**Izhaki et al., 2002**).



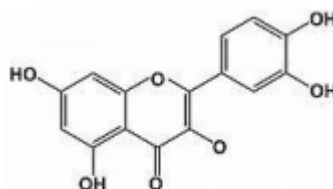
**R = H Emodine R = OH
Alaterne (Bortolomeazzi et al.,
2007)**



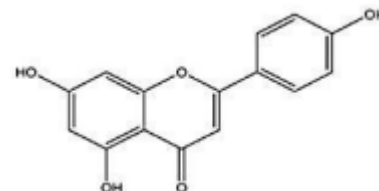
**R = OCH3 Physcion R = OH
Emodine R = H Chrysophanol (Jain
et Patil, 2010)**



Kaempferol (Jain et Patil, 2010)



**Quercétine (Jain
et Patil, 2010)**



**Apigénine (Kawasaki et
al., 2010)**

Figure 7 : Structures chimiques de quelques flavonoïdes de *R. alaternus*

8. L'utilisation traditionnelle et les effets thérapeutiques de *Rhamnus alaternus*. L:

- Grâce à ses propriétés hypotensives, diurétiques, laxatives, digestives et purificatrices du sang, *Rhamnus alaternus* est utilisé dans la médecine traditionnelle pour traiter diverses affections.
- Il est utilisé pour le traitement des complications hépatiques et dermatologiques (**Bhouri et al., 2011**). Il est également utilisé pour traiter l'anémie, la jaunisse et d'autres maladies graves liées à l'hémoglobine (écorce, feuilles). De plus, il est bénéfique pour les maladies cardiovasculaires et respiratoires, ainsi que pour la protection du foie et la digestion (**Ben Ammar et al., 2007**).
- Il est également utilisé dans le traitement des affections oculaires, des brûlures, des maladies dentaires, des affections hépatiques, des troubles psychologiques, de la dépression, du goitre et des problèmes thyroïdiens (**Ben Ammar et al., 2008**).

- Des études ont également révélé que les extraits de feuilles de *R. alaternus* présentent une activité antimutagène élevée dans les systèmes de dosage bactériens, une forte inhibition de la xanthine oxydase (**Ben Ammar et al., 2008**), ainsi que des effets sur l'intestin du rat et une inhibition de la carboxylestérase hépatique porcine purifiée (**Stocker et al., 2004**).
- Comme en témoignent de nombreuses études expérimentales, qui ont souligné que *R. alaternus* contient des diverses propriétés pharmacologiques, notamment des activités antioxydantes, antihyperlipidémiques, anti-génotoxiques, antiprolifératives et antimutagènes.

8. L'activité antioxydantes :

C'est le processus biologique nécessaire pour traiter le stress oxydatif et qui implique la neutralisation des radicaux libres au niveau de la cellule, en utilisant des mécanismes et des substances de protection qui diffèrent par la présence ou l'absence d'enzymes (**Pham-Huy et al. 2008**).

L'activité antioxydante est une propriété de certaines plantes et de leurs extraits. Elle est utilisée pour traiter diverses pathologies. Des études ont montré que les extraits de plantes contenant des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des stérols et des triterpènes ont une activité antioxydante élevée (**Arts et al., 2000**).

9. L'activité antioxydants de *Rhamnus alaternus* :

Plusieurs études ont été mises en place pour évaluer l'importance de cette plante. L'une de ces études, qui nous aide à évaluer l'activité antioxydante de *Rhamnus alaternus*, est la méthode du piégeage des radicaux libres DPPH, qui montre que l'extrait méthanolique avait une activité antioxydante significative (**Ercisli. S et al. 2007 ; Mhadhbi. L et al. 2016**).

10. La toxicité de *Rhamnus alaternus*:

Les parties toxiques de la plante sont : Les fruits murs et l'écorce. Cette plante contient des glycosides qui se transforment par hydrolyse en anthraquinones telles que l'émodine (une trihydroxy-méthyl-anthraquinone). Cette plante contient d'hétérosides anthracéniques laxatifs dans l'écorce, les fruits et les graines. La Toxicité est provoquée dès la consommation de 20 drupes chez l'enfant et 30 drupes chez l'adulte. L'ingestion des fruits provoque des coliques, vomissements, diarrhées, éventuellement lésions rénales avec néphrite (oligurie, protéinurie), mydriase, céphalées, vertiges (**Claude, 2018**).



Chapitre II : Oxyde d'aluminium



II/ oxyde d'aluminium :

1. Oxyde d'aluminium Al_2O_3 :

L'oxyde d'aluminium(**figure8**), également appelé alumine, est un composé formé de deux atomes d'aluminium et trois atomes d'oxygène, il est considéré comme un composé chimiquement stable et produit naturellement sous forme de corindon minéral, ce qui signifie qu'il ne réagit pas facilement avec d'autres substances.

Il est résistant à la chaleur, aux produits chimiques et à la corrosion, on se trouve dans diverses sources telles que le sol, l'eau et la nourriture.



Figure 8 : poudre d'oxyde aluminium (Kumar, 2006)

2. Nanoparticules d'oxyde d'aluminium Al_2O_3 :

Les nanoparticules (**figure7**) sont des particules qui mesurent généralement entre 1 et 100 nanomètres (un nanomètre est équivalent à un milliardième de mètre), ils peuvent être fabriqués à partir de différents matériaux tels que les métaux, les oxydes, les composés organiques...etc. (Chuto et Chaumet-Riffaud, 2010).

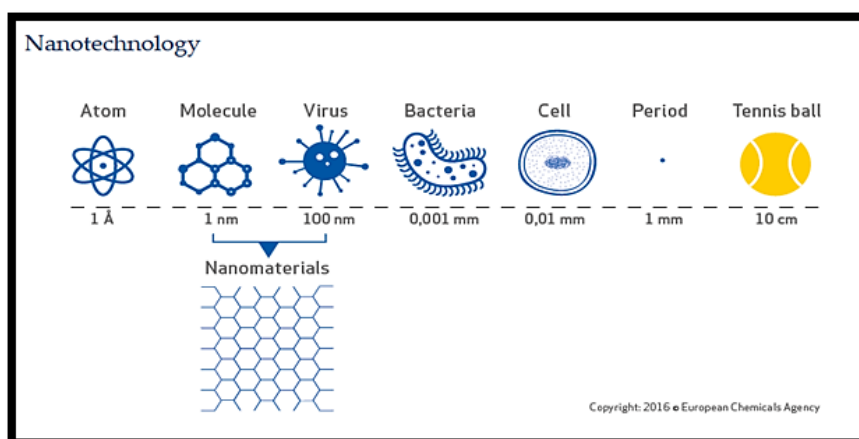


Figure 9: Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques (Kumar, 2006).

Chapitre II : Oxyde d'aluminium

Les nanoparticules d'oxyde d'aluminium se réfèrent à de petites particules d'oxyde d'aluminium (Al_2O_3). Ces nanoparticules présentent des propriétés spécifiques liées à leur petite taille et à leur grande surface spécifique. Elles peuvent présenter des propriétés optiques, électriques, chimiques et mécaniques différentes de celles de l'oxyde d'aluminium à l'échelle macroscopique. Les nanoparticules d'oxyde d'aluminium sont couramment utilisées dans des domaines tels que la catalyse, l'électronique, les revêtements, la médecine et d'autres applications liées à la nanotechnologie (Yelten, 2020).

3. La toxicité d'aluminium :

La toxicité de l'aluminium fait référence aux effets nocifs qu'une exposition excessive à l'aluminium peut avoir sur les organismes vivants, y compris les humains.

Bien que l'aluminium soit un élément naturellement présent dans l'environnement, Une exposition excessive à l'aluminium a été associée à divers problèmes de santé, notamment des troubles neurologiques, des troubles osseux, des lésions rénales et des problèmes respiratoires ; il a été mentionné que l'aluminium peut s'accumuler dans les tissus et perturber les fonctions cellulaires normales.

La toxicité d'aluminium peut se produire par diverses sources, notamment la Prise orale, les Médicaments, l'Exposition professionnelle et de l'Exposition environnementale. (Exley, 2017).

4. Nano-toxicité d'aluminium :

Les nanoparticules d'oxyde d'aluminium (Al_2O_3) peuvent potentiellement présenter une toxicité, en particulier lorsqu'elles sont inhalées ou pénètrent dans l'organisme par d'autres voies. Cependant, la toxicité de ces nanoparticules dépend de facteurs tels que leur taille, leur forme, leur surface spécifique, leur revêtement et leurs propriétés chimiques.

L'un des effets potentiels de la toxicité des nanoparticules d'oxyde d'aluminium notamment l'Effets neurotoxiques, l'Effets respiratoires, l'Effets sur les cellules et l'ADN et éventuellement des Effets sur les organes. (Elkhadrawey *et al*, 2021).

5. La relation entre le stress oxydatif et la toxicité d'aluminium :

5.1 Les radicaux libres :

Ces substances chimiques sont des composés caractérisés par une structure électronique déséquilibrée, ce qui le rend hautement réactif chimiquement, Ces molécules se forment dans

Chapitre II : Oxyde d'aluminium

les corps de manière contrôlée, justifiée et par un processus de production tout à fait naturel. (Halliwell et Gutteridge, 2015).

Elles jouent un rôle essentiel dans certains processus biologiques normaux, tels que la signalisation cellulaire, la défense immunitaire et la régulation de la fonction cellulaire.

L'excès de ces molécules peut endommager les cellules et les tissus du corps ; elles peuvent interagir avec divers composants cellulaires et causer des dommages aux cellules.

L'équilibre entre la production des radicaux libres et la capacité du corps à éliminer l'excès de ces molécules est crucial pour maintenir l'homéostasie et la santé du corps (Sies,1997).

- Quelques radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Valko *et al.*,2007) :
 - Radicaux libres de l'oxygène
 - Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)
 - Oxyde nitrique (NO•)
 - Anion superoxyde (O₂⁻)
 - Radical hydroxyle (HO•)
 - Radicaux peroxydes (ROO•)
 - Oxygène singulet (O₂)
 - Acide hvpochloreux (HOCl)

5.2. Le stress oxydatif :

C'est un déséquilibre chimique induit par des molécules instables, autrement dit, c'est un déséquilibre entre l'activité des radicaux libres et l'activité des antioxydants (enzymatique et non enzymatique) dans le corps, ce qui peuvent endommager les cellules saines. (Halliwell et Gutteridge, 2015).

Toute altération chimique dans la production des radicaux libres est amenée par des facteurs environnementaux tels que la fumée de cigarette, la pollution atmosphérique, les radiations, les rayons UV et certains produits chimiques (telles que l'oxyde d'aluminium). Ils peuvent aussi être altérés par des facteurs physiologiques tels que des déséquilibres hormonaux, des infections, des inflammations et une carence en antioxydants (Rollond ,2004).

5.3. La relation :

Il existe une relation étroite entre le stress oxydatif et la toxicité de l'aluminium. L'aluminium peut contribuer à la production accrue des radicaux libres et perturber l'équilibre redox normal de l'organisme, ce qui peut entraîner un stress oxydatif.

Le stress oxydatif induit par l'aluminium peut avoir des effets néfastes sur différentes parties du corps. Il peut endommager les lipides, les protéines et l'ADN cellulaires, ce qui peut entraîner une altération des fonctions cellulaires normales. (Rafael Monteiro *et al.*, 2021).

6. Cibles des radicaux libres :

6.1. Protéine :

Les protéines sont des composants vitaux des organismes vivants et jouent un rôle essentiel dans divers processus biologiques, cependant, Ils sont sensibles aux stress oxydatifs ; les radicaux libres peuvent oxyder les acides aminés constitutifs entraînant des modifications dans la structure, l'altération de la fonction de cette protéine est inévitable (**Stadtman, 1992**).

6.2. Lipides :

Les lipides sont des composants vitaux et essentiel de la membrane cellulaire et jouent un rôle important dans divers processus biologiques, Les acides gras sont l'un de ces lipides, présente dans les membranes cellulaires et peuvent être attaqués par les radicaux libres, provoquant des dommages oxydatifs et une altération de la structure et la fonction de la cellule (**Esterbauer et Gebicki,1999**).

6.3. Glucides :

Les glucides, également connu sous le nom de sucres ou de carbohydrates, ils sont la principale source et la moyenne de stocké l'Energie dans le corps, ils peuvent être ciblés par les radicaux libres menant à des réactions d'oxydation et des dommages oxydatives dans la cellule (**Halliwell et Gutteridge, 2015**).

7. Pathologies liées au stress oxydatif :

Le stress oxydatif peut conduire à des dommages cellulaires réversibles et, dans des cas extrêmes, des dommages irréversibles. Autrement dit, ce stress est impliqué dans la genèse de nombreuses pathologies.

7.1. Maladies cardiovasculaires :

Le stress oxydatif peut endommager les cellules endothéliales qui tapissent les vaisseaux sanguins, ce qui favorise l'accumulation de plaques d'athérosclérose et contribue ainsi au développement de maladies cardiovasculaires telles que l'athérosclérose, l'hypertension artérielle, les maladies cardiaques et les accidents vasculaires cérébraux. (**Pham-Huy et Pham-Huy, (2008)**).

7.2. Maladies neurodégénératives :

Le stress oxydatif peut endommager les cellules nerveuses du cerveau et du système nerveux central, ce qui peut contribuer au développement de maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la sclérose latérale amyotrophique (Pham-Huy, 2008).

7.3. Cancer:

Le stress oxydatif peut endommager l'ADN et d'autres composants cellulaires, favorisant évidemment l'apparence des mutations et la prolifération des cellules cancéreuses.

7.4. Maladies respiratoires :

Le stress oxydatif peut endommager les voies respiratoires ce qui provoquant une inflammation, une telle réponse peut jouer un rôle dans le développement des maladies respiratoires telles que l'asthme, la bronchopneumopathie chronique obstructive et d'autres maladies pulmonaires (Singh, R et al., 2019).

7.5. Maladies métaboliques :

Le stress oxydatif peut contribuer au développement de maladies métaboliques telles que le diabète de type 2 en altérant la sensibilité à l'insuline et en favorisant l'inflammation. En revanche c'est altérations métaboliques peut être la cause des maladies hépatiques, comme la maladie du foie gras non alcoolique (NAFLD) (Ribeiro, et al. 2017 ; Stefan, et al. 2008).



Chapitre III : le foie



1/Généralité :

Le foie est un organe vital situé dans la partie droite de l'abdomen chez l'humain. Pesant entre 1300 et 1600 g, le poids se diffère selon le sexe et la taille du corps. Il est responsable de nombreuses fonctions importantes dans l'organisme. Le foie joue un rôle pivotale dans le maintien de l'hémostasies et dans l'immunité par le métabolisme et l'exercice des différents complexes moléculaires, les antigènes, les microbes et les substances toxiques en forme de bile. Il est capable de se régénérer et guérir de certains types de blessures, mais les blessures causées par oxydation sont irréversibles (Grisham., 2009).

2. Anatomie du foie :

2.1 Anatomie externe :

Dans la plupart des espèces de mammifères, le foie (**figure9**) est multilobé, les lobes individuels reflétant la distribution des principales branches de vaisseaux sanguins afférents et efférents. En revanche, le parenchyme hépatique humain est fusionné en une masse parenchymateuse continue avec deux lobes majeurs, droit et gauche. Les lobes droit et gauche sont topographiquement séparés par les restes de la veine ombilicale embryonnaire (le ligament falciforme). Entre ces deux lobes majeurs, on peut différencier le lobe caudé et le lobe carré. La vésicule biliaire est reliée au foie à la jonction du lobe carré et du lobe hépatique droit.

La Hile, ou la porte hépatique, est une structure anatomique située à la face inférieure du foie. Elle représente la région où les vaisseaux sanguins, les voies biliaires et les nerfs pénètrent et sortent du foie. Cette dernière est entourée de tissu conjonctif et traversée par des ganglions lymphatiques et des fibres nerveuses. La veine porte, responsable du transport du sang riche en nutriments provenant de l'intestin vers le foie, ainsi que l'artère hépatique, qui apporte au foie le sang oxygéné provenant du cœur. Le transport de la bile produite par le foie vers la vésicule biliaire et puis vers l'intestin est garanti par les voies biliaires.

La vésicule biliaire est un petit organe en forme de poche situé sous le foie. Sa principale fonction est de stocker et concentrer la bile produite par le foie. La contraction de la vésicule biliaire libère la bile dans le duodénum, la première partie de l'intestin grêle. La bile reflue par le canal cystique vers la vésicule biliaire, pour y être stockée lorsque l'intestin grêle est vide. (Grisham., 2009)

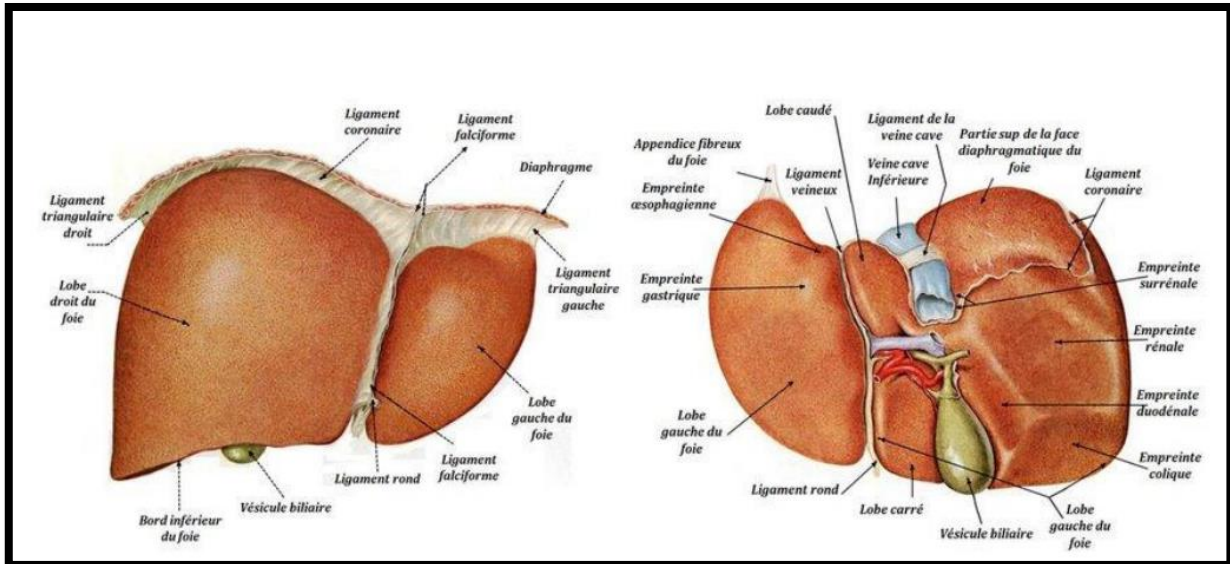


Figure 10 : Face diaphragmatique et viscérale du foie (Ferner *et al.* 1986)

2.2. Anatomie interne :

Le foie est un organe complexe composé de plusieurs types de tissus qui lui confèrent ses fonctions spécifiques. Voici ces principales composantes :

Le foie est entouré par une fine couche de tissu conjonctif appelée capsule de Glisson. Ce tissu se prolonge à l'intérieur du foie, formant des cloisons qui séparent les lobules hépatiques et fournissent un soutien structurel.

Les lobules hépatiques (**figure 10**) sont les unités fonctionnelles du foie, leur section transversale est représentée sous la forme hexagone. Chaque lobule hépatique est entouré par des tracts portaux, qui contiennent des vaisseaux sanguins, des tissus conjonctif et des canaux biliaires (Grisham., 2009). À l'intérieur des lobules, les cellules hépatiques forment des plaques ou des rangées qui s'étendent de la veine centrale aux tracts portaux, favorisant un contact étroit avec les sinusoides hépatiques. Les sinusoides sont des vaisseaux sanguins microscopiques qui traversent les lobules où se produit l'échange de substances entre le sang et les cellules hépatiques (Martin *et al.*, 2017).

Les Hépatocytes, ce sont les cellules principales du foie et elles représentent environ 70 à 80 % de la masse hépatique. Les hépatocytes sont responsables de nombreuses fonctions métaboliques, notamment la synthèse de protéines, la dégradation des toxines, le stockage des nutriments et la production de la bile.

L'organisation complexe de ces différentes composantes permet au foie d'accomplir ses nombreuses fonctions essentielles pour le métabolisme, la détoxification, la régulation hormonale, la digestion et bien d'autres processus vitaux dans le corps. (Grisham., 2009)

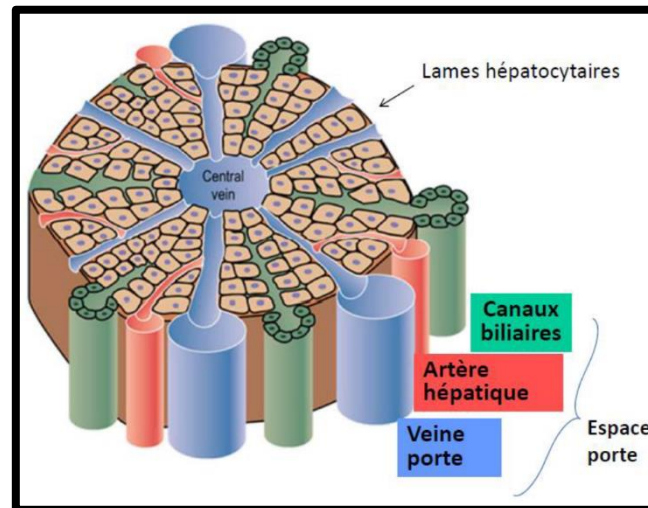


Figure 11 : Structure du lobule hépatique (Anonyme)

3. Les fonctions hépatiques :

Le foie est un organe vital qui remplit de nombreuses fonctions essentielles. Ces dernières sont regroupées en trois grandes fonctions principales : (Guella, 2020)

1. La métabolisation des nutriments, y compris le stockage, la synthèse et la libération de glucose, la synthèse de protéines, la conversion d'ammoniac en urée, et la métabolisation des graisses.
2. La détoxification et l'élimination des déchets et substances toxiques, y compris les médicaments, les toxines alimentaires et les déchets métaboliques.
3. La production de bile, qui aide à la digestion et à l'absorption des graisses dans l'intestin grêle.

3.1. Métabolisme et stockage :

Selon nombreuse étude scientifique, le foie joue un rôle central dans la production et le stockage du glucose. Les hépatocytes sont capables de capter le glucose via des transporteurs spécifiques et le métabolisent par la glycolyse, une voie métabolique qui produit de l'énergie. Le glucose peut également être utilisé pour synthétiser du glycogène afin de le stocker dans le foie.

Les hépatocytes par lipogenèse hépatique peuvent synthétisées de nouvelles graisses à partir des différentes sources telles que les glucides, les acides aminés et l'alcool. Ces graisses synthétisées sont ensuite emballées dans des lipoprotéines, telles que les VLDL, et libérées dans la circulation sanguine pour être utilisées par d'autres tissus. Ces derniers sont

Chapitre III : le foie

impliqués aussi dans la désaturation des acides gras par convention en acide gras insaturés par l'action d'enzymes. Cela permet de produire des acides gras essentiels qui ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme. Les triglycérides stockés sont métabolisés par les hépatocytes en libérant des acides gras et du glycérol. (**Mukesh *et al.*, 2020**)

Le foie est essentiel dans le métabolisme des protéines. Il synthétise de nombreuses protéines plasmatiques, telles que l'albumine, les facteurs de coagulation (comme le fibrinogène), les protéines du système immunitaire.

La plupart de ces synthèses sont par recyclage de certains acides aminés essentiels apportés par l'alimentation, ou à partir de nouveaux acides aminés non essentiels fabriqués par les hépatocytes (**Berg *et al.*, 2015**).

Cet organe agit aussi comme un réservoir des vitamines liposolubles (vitamines A, D, E et K), ainsi que certaines vitamines du groupe B (**Shils, 2009**). Les hépatocytes sont également responsables du stockage d'oligo-éléments tels que le fer, le cuivre, le sélénium et le manganèse (**Rouault *et al.*, 2020**).

3.2. Fonction d'épuration et détoxification

Les hépatocytes, les cellules principales du foie, filtrent le sang pour éliminer les substances toxiques, les déchets métaboliques, les médicaments et autres substances étrangères. Ils décomposent ces substances et les transforment en composés moins nocifs, qui sont ensuite éliminés par la bile ou l'urine. De plus, le foie participe activement dans la détoxification de l'ammoniac, un produit toxique issu du métabolisme des protéines, en le convertissant en urée, qui est ensuite excrétée par les reins (**Chiang, 2009**).

3.3. Fonction excréto-biliaire :

Une fois métabolisées par les hépatocytes, les substances mentionnées précédemment sont expulsées de l'organisme par le biais de la bile ; La bile est un liquide jaunâtre et visqueux produit par le foie et stocké dans la vésicule biliaire. Elle est composée principalement d'eau, de sels biliaires, de cholestérol, de phospholipides et de pigments biliaires tels que la bilirubine. La bile permet d'éliminer de nombreux composés tels que la bilirubine qui est un déchet métabolique, le cholestérol en excès qui est une substance endogène, ainsi que les médicaments et d'autres substances exogènes (**Chiang, 2009**).

4. Les Indicateurs hépatiques :

Selon l'étude de (Martin *et al.* 2017), différentes molécules présentes dans le plasma peuvent être mesurées, chacune fournissant une indication spécifique de l'activité du foie.

4.1. La bilirubine :

La bilirubine est un pigment jaune produit lors de la dégradation des globules rouges. Elle existe sous deux formes : la bilirubine conjuguée et la bilirubine non conjuguée (ou indirecte). La bilirubine non conjuguée est insoluble dans l'eau et doit être transformée dans le foie en bilirubine conjuguée, qui est ensuite excrétée dans la bile et éliminée de l'organisme par voies biliaires. La présence de niveaux élevés de bilirubine conjuguée ou non conjuguée dans le sang peut indiquer des troubles hépatiques ou des dysfonctionnements de la voie biliaire. Ces variations anormales de bilirubine sanguine peuvent être un indicateur de problèmes de santé liés au foie ou à la fonction biliaire (Vitek, 2012).

4.2. L'alanine amino-transférase et l'aspartate amino-transphérase :

L'alanine aminotransférase (ALAT) et l'aspartate aminotransférase (ASAT) sont deux enzymes hépatiques couramment utilisées comme marqueurs de la fonction hépatique. L'ALAT est principalement présente dans les hépatocytes (cellules du foie), tandis que l'ASAT se trouve également dans d'autres tissus, tels que le cœur, les muscles et les reins. Des taux élevés d'ALAT et d'ASAT dans le sang peuvent indiquer des lésions ou une inflammation du foie, comme dans le cas de l'hépatite ou de la cirrhose (Lazo, 2008).

4.3. Phosphate alcaline :

On peut évaluer la fonction hépatique et la santé des voies biliaires en mesurant les taux de phosphatase alcaline dans le sang. La présence d'une obstruction ou d'une anomalie des voies biliaires, comme une obstruction des canaux biliaires par des calculs biliaires ou une tumeur, peut être indiquée par des niveaux élevés de phosphatase alcaline. Ces niveaux élevés peuvent également être observés dans des conditions hépatiques telles que l'hépatite, la cirrhose ou une maladie hépatique alcoolique (Fernandez, 2007).

4.4. Gamma-glutamyl transférase :

La gamma-glutamyl transférase (GGT) est une enzyme présente principalement dans les cellules du foie, ainsi que dans d'autres tissus du corps. La mesure des taux de GGT dans le sang peut être utilisée comme un marqueur de la fonction hépatique et de la santé

Chapitre III : le foie

des voies biliaires. Des niveaux élevés de GGT peuvent indiquer une atteinte hépatique, telle que l'hépatite, la cirrhose ou une maladie du foie liée à l'alcool (**Whitfield, 2001**).

4.5. Albumines :

L'albumine est une protéine produite par le foie et présente dans le sang. Elle remplit plusieurs fonctions essentielles dans l'organisme, notamment le maintien de la pression osmotique, le transport des hormones, des médicaments et d'autres substances dans le sang, ainsi que la régulation de l'équilibre acido-basique. La mesure du taux d'albumine dans le sang peut être utilisée comme un marqueur de la fonction hépatique. Des niveaux bas d'albumine peuvent indiquer une diminution de la production hépatique ou une perte excessive de protéines (**Peters, 1995**).

4.6. Facteur V :

Le facteur V, également connu sous le nom de proaccéléline, Des mutations génétiques ou des déficiences du facteur V peuvent entraîner des troubles de la coagulation, tels que la thrombophilie, une condition caractérisée par une tendance accrue à former des caillots sanguins.

4.7. Lactate déshydrogénase :

Des niveaux élevés de LDH peuvent être observés dans différentes conditions, telles que les lésions tissulaires, l'inflammation, les maladies hépatiques, les maladies cardiaques, les troubles musculaires et certains types de cancers.

5. Pathologie hépatique :

Le foie, un organe complexe aux multiples rôles dans le fonctionnement de notre corps, peut également être affecté par différentes affections et maladies. Ces pathologies hépatiques peuvent entraîner des conséquences variées, certaines pouvant être extrêmement graves. Voici un aperçu de quelques-unes de ces hépato pathologies.

5.1. Hépatites :

L'hépatite B, l'hépatite C et l'hépatite A sont des infections virales qui peuvent causer une inflammation du foie.

5.2. Cirrhose :

La cirrhose est une affection chronique du foie qui se caractérise par une cicatrisation progressive et une altération de sa fonction. Elle peut être causée par différents facteurs tels

que la consommation excessive d'alcool, l'hépatite chronique, la stéatose hépatique non alcoolique, et d'autres encore. Au fil du temps, la cicatrisation entraîne une détérioration de la structure du foie, ce qui peut compromettre son fonctionnement normal (**Whitfield, 2001**).

5.3. Stéatose hépatique :

Une accumulation excessive de graisse dans les cellules du foie, souvent associée à l'obésité, au diabète, à l'alcoolisme ou à des facteurs métaboliques.

5.4. Hémochromatose :

L'hémochromatose est une maladie du foie caractérisée par une accumulation excessive de fer dans l'organisme. Elle se produit lorsque le corps absorbe et stocke trop de fer provenant de l'alimentation, entraînant une surcharge progressive de fer dans les tissus, y compris le foie. Cette accumulation de fer peut endommager les cellules hépatiques et altérer la fonction hépatique. L'hémochromatose peut être d'origine génétique ou acquise, et ses symptômes peuvent varier en fonction de la gravité de la maladie (**Bacon, 2011**).



Partie 02 : Partie expérimentale





Chapitre I : Matériel et méthodes



Matériel et Méthodes :

L'objectif :

Nous avons effectué les différentes expérimentations de notre étude au niveau de l'animalerie Du département des sciences de la nature et de la vie de l'Université 20 aout 1955 Skikda. Pendant une période de 4 semaine, et dans le laboratoire de biochimie au niveau du hall technologie, ainsi que dans un autre laboratoire dans la commune d'Elhrrouch (Laboratoire d'analyses médicales Dr Bouhdjila.F EP Bouaninba), Ces différents structures disposent de matériel nécessaire qui nous permette d'effectuer notre recherche dans meilleures conditions.

I. Matériel :

- ❖ Notre étude expérimentale est divisée en deux parties :
 - Première partie qui traité le dosage de polyphénols et l'activité antioxydante de notre plante.
 - Deuxième partie qui étudie le traitement des rats *Wistar albinos* par l'oxyde d'aluminium et l'extrait de *Rhamnus alaternus*. L

1. Matériel chimique :

Dans ce travail, nous avons utilisé un produit nanoparticule d'oxyde d'aluminium pour le traitement des rats sous forme de poudre soluble dans l'eau distillée, pour une dose de 50mg/kg/jour. La solution obtenue a été conservée à une température ambiante dans un flacon en verre à labri de la lumière vive durant la période de l'utilisation. Le choix de la dose est basé sur des études précédentes (**figure 12**).

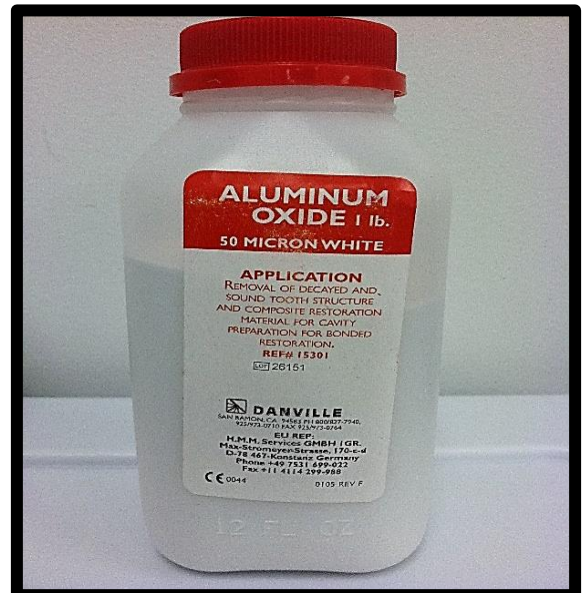
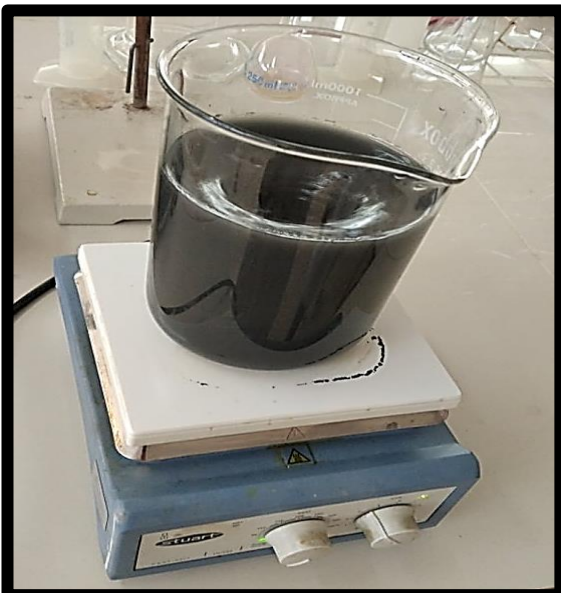


Figure 12 : Oxyde Aluminium (photo originale, 2023)

2. Matériel biologique:

2.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé est constitué la partie aérienne (feuilles) de *Rhamnus alaternus*. L. récolté dans une forêt (**figure13,14**) située dans la commune de Zardaza daïra de Elharouch, wilaya de Skikda, au cours du mois de fin Février début Mars.



Figure 13 : photo originale,2023 du la région de La plante *Rhamnus alaternus* (**zardaza**)

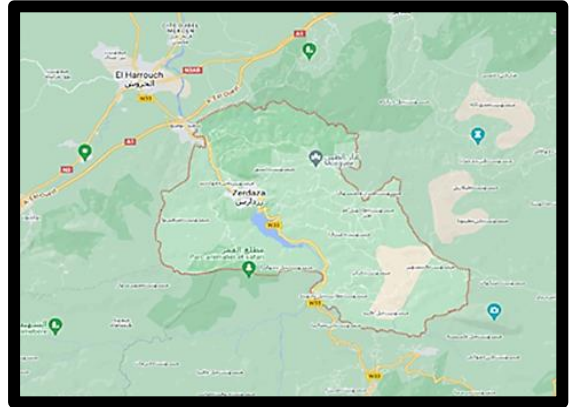


Figure 14 : Carte géographique montrant la région de Zardaza, Skikda (**Google Maps, 2023**)

2.2. Matériel animal :

Les expériences ont été menées sur des rats femelle *Wistar albinos* (**figure15**) en raison de leurs similitudes biologiques avec les humains, de leur facilité de manipulation en laboratoire, permettant des études rapides et économiques. Toutefois, il convient de souligner que l'utilisation de ces animaux est réglementée afin d'assurer le respect des normes éthiques. Ces rats âgés de huit semaines et ayant un poids corporel entre 90 et 120 g.



Figure 15 : les rats *Wistar albinos* (**photo original, 2023**)

2.3. Matériel et produit de laboratoire utiliser :

Les matériaux et les produits utilisés dans notre expérimentation seront cités au fur et à mesure de leurs utilisations.

II. Méthodes

1. Récolte , séchage , broyage

Pour préparer la partie aérienne de la plante en vue de son broyage, les parties appropriées (les feuilles) sont récoltées et soigneusement nettoyées pour éliminer les impuretés. Ensuite, elles sont séchées à température ambiante et à l'ombre pour conserver leurs propriétés pendant une durée de trois 3 semaines. Une fois sèches, ensuit broyés à l'aide d'un moulin à café pour avoir une poudre qui est stockées dans des boites fermés et placée dans un endroit à l'abri de la lumière et de la chaleur jusqu'à son utilisation (**figure 16**).



Figure 16 : la récolte, la séchage, poudre (**photo originale, 2023**)

2. Préparation de l'extrait :

2.1. Macération

La macération est une technique d'extraction des composés solubles d'une plante en la laissant reposer dans un solvant à froid, tout en agitant le mélange à l'aide d'un barreau magnétique. Ce procédé permet d'extraire de manière plus efficace les arômes et les principes actifs présents dans la plante. L'agitation favorise la diffusion des composés solubles dans le solvant, accélérant ainsi le processus d'extraction. Après avoir pesé 100 grammes de poudre sèche à l'aide d'une balance, celle-ci a été placée dans un bécher. Ensuite, elle a été mélangée avec une solution hydroalcoolique composée de 400 ml de méthanol 70% .

Le mélange a été agité manuellement pendant 5 minutes (**figure 17**) , puis laissé en macération pendant 24 heures, à l'abri de la lumière. Le lendemain, le macérat a été filtré à l'aide d'une pompe à vide, d'un entonnoir et d'un papier filtre.

Matériel et méthodes

Cette opération a été réalisée trois fois afin d'obtenir les filtrats 1, 2 et 3. Après chaque filtration (**figure 17**), les filtrats obtenus ont été conservés à l'abri de la lumière. Ces derniers en était mélangé et utilisé pour l'évaporation ultérieure.

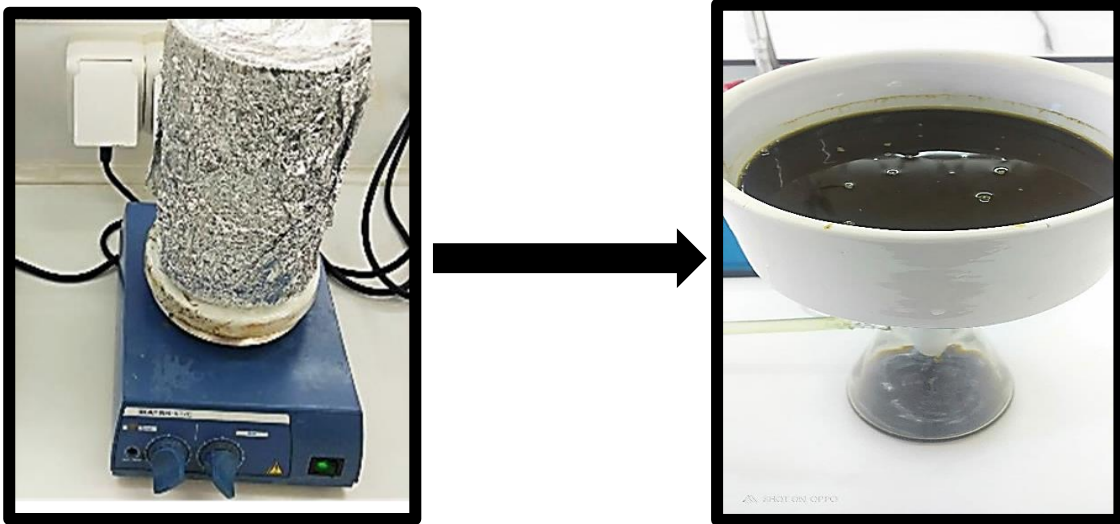


Figure 17 : l'agitation, la filtration (photo original, 2023).

2.2. Evaporation

Les filtrats sont évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif (**figure 18**) à une température de 65°C, en fonction du volume de l'extrait (filtrat) contenu dans le ballon de l'évaporateur rotatif.



Figure 18 : la méthode d'évaporation (photo original, 2023).

2.3. Séchage de l'extrait brut :

L'extrait brut obtenu a été collecté dans des boîtes (figure 19) de pétries et ensuite conservé dans l'étuve pour le séchage. Après le séchage, les boîtes de pétri ont été conservées au étuve jusqu'à la stabilisation du poids.

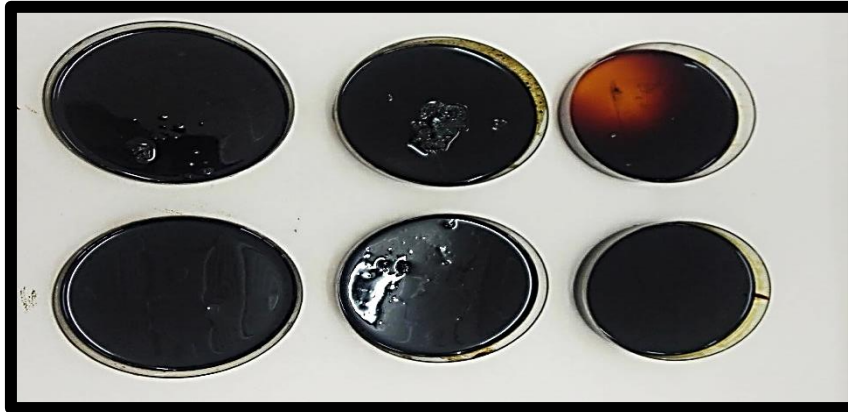


Figure 19 : l'extrait (photo originale, 2023)

3. Infusion :

La technique d'infusion implique de verser de l'eau chaude sur une substance végétale, la poudre sèche des feuilles dans notre cas, puis de laisser reposer pendant 24 heures avec agitation magnétique. Deux doses ont été préparées en utilisant l'infusion. Pour la première dose, 7 g de la poudre sèche ont été pesés sur une balance, puis ajoutés à 300 ml d'eau distillée, ce qui donne une concentration de 250 mg/kg/jour. Pour la deuxième dose, 15 g de la poudre sèche ont été pesés, ce qui correspond à une concentration de 500 mg/kg/jour.

Le résultat de l'infusion était ensuite filtré plusieurs fois à l'aide d'une passoire pour obtenir le filtrat qui serait administré aux rats par gavage (figure 20).



Figure 20 : la filtration (photo originale, 2023)

4. Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par (Wong *et al.*, 2006).

4.1. Principe de la réaction :

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols dans un milieu basique, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue ainsi produite est proportionnelle aux taux de composés phénoliques et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

4.2. Mode opératoire :

Il consiste à mélanger 200 μ l de chaque extrait (0.5 mg d'extrait dilué dans 1ml méthanol) avec 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois diluée dans l'eau distillée). Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation, 800 μ l de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (75g /l) a été ajoutée dans l'eau distillée . Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 2 heures. Après incubation, l'absorbance est mesuré par un spectrophotomètre à 765 nm. Le blanc de la réaction ne contenant pas de polyphénols est réalisé comme le point 0 en mg/ml. Note : Le blanc = control négatif : contient tout le mélange réactionnelle sauf l'extrait de la plante.

4.3. Expression des résultats :

La concentration en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression linéaire de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (10-200 μ g/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (μ gEAG/mg E).

5. Dosage des flavonoïdes totaux :

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) cité par (Djeridane *et al.*, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes.

Matériel et méthodes

5.1. Principe de la réaction :

Cette technique est basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes.

5.2. Mode opératoire :

Brièvement, 1 ml de chaque extrait et du standard (0.5 mg d'extrait ou standard dissous dans 1ml Méthanol) a été ajouté à 1ml de solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

➤ **Note :** Le blanc = control négatif : contient tout le mélange réactionnelle sauf l'extrait de la plante.

5.3. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction ;une courbe ;étalonnage linéaire ($y = a x + b$) réalisé par un standard étalon (la quercétine); à différentes concentrations (2.5-40 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg E).

6. Activité anti-oxydante des extraits organiques de *Rhamnus alaternus* L. par le radicale libre DPPH :

C'est une activité du balayage des radicaux libres qui a été mesurée en employant le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH : C₁₈H₁₂N₅O₆) c'est l'un des Principaux essais employés pour explorer l'utilisation des extraits d'herbe comme Antioxydants (**Markowicz et al.,2007**).

6.1. Principe

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH 2.2 diphenyl 1 picryle hydrazyl de couleur violette se réduit en 2.2 diphenyl 1 picrylhydrazine de couleur jaune (**Maataoui et al.,2006**) Selon (**Turkmen et al., 2005**) 2 mL de DPPH (0,15 mmol / L) sont mélangés avec 1 mL de chaque extrait. L'ensemble est mélangé à l'aide d'un vortex pendant 30 s, puis porté à l'obscurité à température du laboratoire pendant 20 min. Après cette durée, l'absorbance est Mesurée à 517 nm. L'activité anti-radicalaire est exprimée en pourcentage d'inhibition de DPPH selon l'équation suivante :

$$I\% = \frac{\text{Abs de blanc} - \text{abs de l'extrait}}{\text{Abs blanc}} \times 100$$

6.2. Mode opératoire :

Préparation de la DPPH :

Dissoudre 4 mg de DPPH dans un volume de 100 mL de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et conservé à -20°C dans l'obscurité. L'absorbance mesurée par spectrophotométrie est de 0,5 nm à une longueur d'onde de 517 nm.

Procédure :

Dans notre étude on a suivi la procédure comme elle est décrite en dessous : 400ul de chaque solution méthanolique des extraits à mélangé à 1600 µl d'une solution méthanolique du DPPH. Après agitation, les tubes ont été placés à l'obscurité à une température ambiante, et incubés pendant 30 minutes, puis on a mesuré l'absorbance à 517 nm. Le banc contient 400ul du méthanol et 1600ul de DPPH et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon (Blois, 1958).

7. Traitement des rats :

Dans cette expérience, un groupe de 42 rats (femelles) a été soigneusement sélectionné et divisé en six groupes en fonction de leur poids corporel (7 rats pour chaque groupe). Après une période d'adaptation de dix jours pour permettre aux rats de s'habituer à leur environnement, un traitement par gavage a été effectué pendant quatre semaines. Le gavage a été réalisé à l'aide d'une sonde spécifique, ce qui implique l'administration contrôlée du traitement directement dans l'estomac des rats pour assurer son effet ciblé

- Groupe 1: c'est le groupe témoin qui n'a pas pris aucun traitement.
- Groupe 2 : c'est le groupe traité par la dose (1), 250mg/kg/jour de l'extrait de la plante (Rhamnus alaternus).
- Groupe 3 : c'est le groupe traité par la dose (2), 500mg/kg/jour de l'extrait de la plante.
- Groupe 4: c'est le groupe qui est administré par une dose de 50mg/kg/jour par l'oxyde d'aluminium (Al_2O_3) dissoute dans l'eau distillée.
- Groupe 5 : c'est le groupe traité par la combinaison d'oxyde d'aluminium de dose et la dose (01) de l'extrait de la plante.
- Groupe 6 : c'est le groupe traité par la combinaison d'oxyde d'aluminium de dose et la dose (02) de l'extrait de la plante.

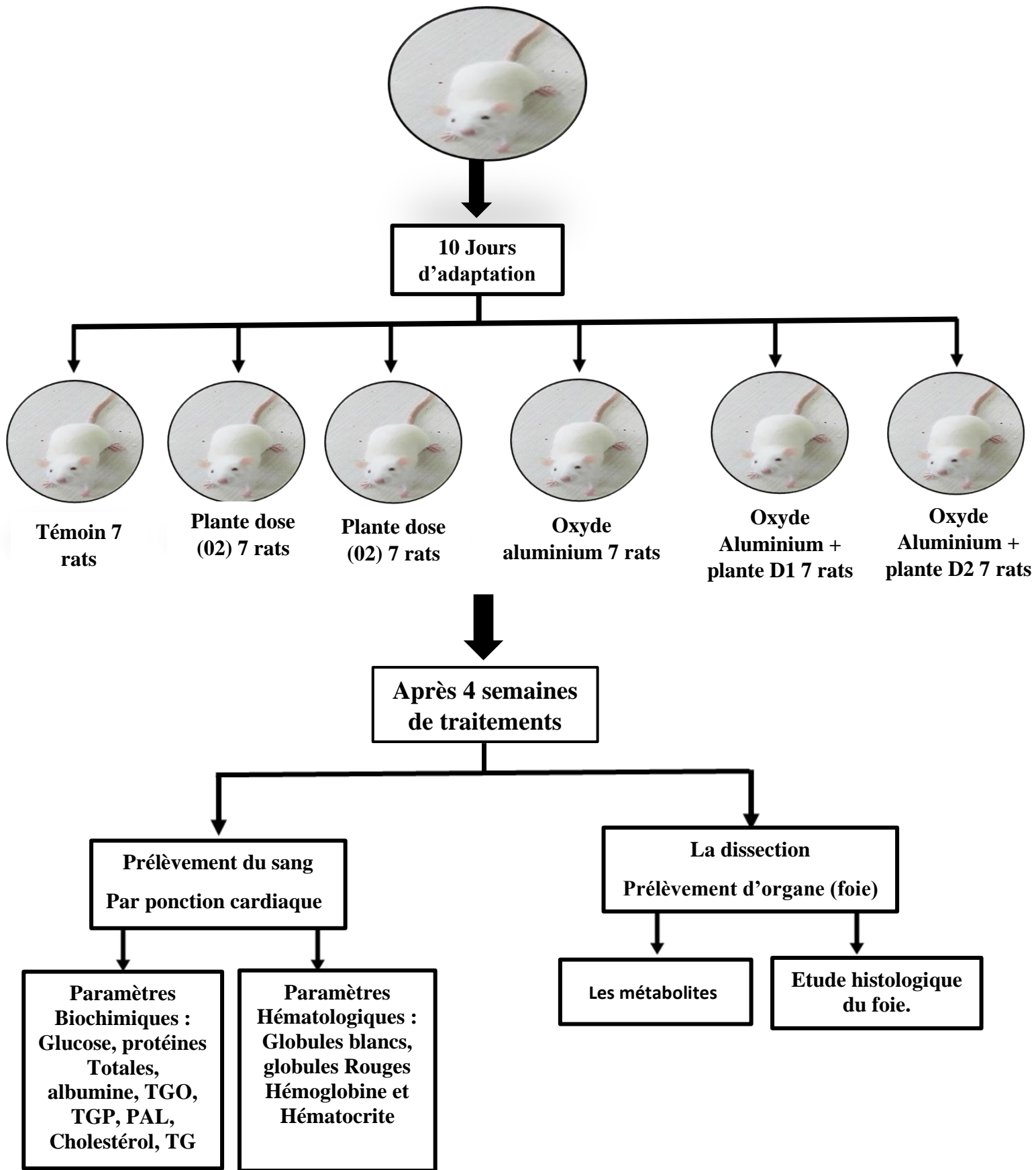


Figure 21 : Le protocole d'expérimentation

8. Préparation des animaux :

La pesée des rats est effectuée tous les 3 jours, à partir du premier jour de traitement jusqu'à la fin du mois, Cela permet de suivre l'évolution du poids moyenne de chaque groupe et ajuster la dose d'administration

Pendant les jours où les rats recevaient leur dose quotidienne, l'extrait aqueux de la plante était renouvelé 2 fois chaque semaine. Cette mesure de précaution était mise en place pour éviter les risques de contamination et préserver l'intégrité de l'expérimentation.

On a assuré l'isolement de toute rats présentant des signes d'empoisonnement ou de maladie lors d'études sur des rats pour éviter la propagation de maladies et infections au sein de ces groupes.

On a fourni aussi une bonne alimentation et un eau potable propre et fraîche en quantités adéquates pour répondre aux besoins nutritionnels des rats.

La manipulation des rats été mise en place avec précaution et compétence afin de minimiser le stress et les traumatismes.

Ces mesures visent à garantir le respect et le bien-être des animaux utilisés dans les études sur les rats, tout en surveillant à la validité scientifique des résultats obtenus.

8.1. Prélèvement sanguin :

Pendant une période de quatre semaines, nous avons minutieusement suivi un groupe de 42 rats qui ont été soumises à ce traitement, après la période de traitement initiale, les rats ont été soumis à un jeûne la veille du prélèvement prévu. Cette mesure vise à assurer des conditions standardisées avant l'anesthésie et le prélèvement des échantillons.

Le jour de prélèvement, les rats sont anesthésiés à l'aide de chloroforme, cette mesure assure la stabilité des rats pendant les prélèvements.

Cette méthode est utilisée conformément aux protocoles éthiques et de bien-être animal.

Après une dissection réalisée à l'aide d'un bistouri et utilisant une seringue propre le sang est prélevé par ponction à partir du cœur des rats.

Cette procédure, connue sous le nom de ponction cardiaque, permet d'obtenir des échantillons de sang directement du cœur, offrant ainsi une source fiable de matériel biologique pour les analyses ultérieures.

Matériel et méthodes

Le sang prélevé et recueilli dans des tubes spécifiques. Un tube contient un anticoagulant, l'EDTA, tandis que l'autre est héparine, les tubes ont été transportés dans une glacière au laboratoire pour la numérisation de la formule sanguine.

8.2. Prélèvement d'organes :

Immédiatement après le prélèvement du sang, les organes ont été soigneusement disséqués et lavés avec une solution saline à 0,9% (NaCl) pour éliminer les impuretés. L'organe spécifique concerné était le foie, qui est d'une importance vitale pour cette étude.

Après la dissection du foie, il est possible de prélever une petite portion de cet organe pour effectuer des dosages des lipides, des protéines et des glucides. Ces analyses permettent de déterminer les quantités de ces différents composants présents dans les tissus organiques.

Une fois lavés, l'organe a été placé sur une balance de précision pour être pesé avec une grande minutie.

Après la pesée, l'organe a été conservé dans une solution de formol à 10%.

Cette solution fixative permet de stabiliser les tissus biologiques et de les préparer pour les coupes histologiques ultérieures.

9. Dosage des paramètres biochimiques :

Le dosage des paramètres biochimiques est une pratique courante qui sert à évaluer diverses substances présentes dans le corps humain. Le dosage de ces paramètres a été réalisé au laboratoire d'analyse médicale privé situé à EL-Harrouch, tous les paramètres ont été dosés automatiquement sur un automate Biosystème, l'un de ces paramètres biochimiques sont :

9.1. TGO/TGP :

Le dosage de l'AST (TGO) et de l'ALT (TGP) est couramment utilisé pour évaluer la fonction hépatique, ainsi pour détecter d'éventuelles lésions hépatiques.

Les méthodes de dosage couramment utilisées pour ces enzymes sont des dosages colorimétriques ou enzymatiques.

Des niveaux élevés de ces paramètres biochimiques peuvent indiquer des dommages ou une inflammation au niveau du foie.

9.2. Bilirubine : La mesure des bilirubines est essentielle pour évaluer la fonction hépatique et diagnostiquer des troubles liés à la production, métabolisation et l'élimination de ce pigment.

Matériel et méthodes

Le dosage est principalement effectué à partir du sang, en utilisant une réaction chimique qui convertit la bilirubine en une forme mesurable, suivie de la mesure de l'absorbance de cette réaction à une longueur d'onde spécifique. La mesure est faite sur deux formes de bilirubine, notamment le bilirubine indirect (non conjugué) et le bilirubine direct(conjugué).

10. Paramètres métaboliques :

Ils évaluent le métabolisme corporel, Ces paramètres fournissent des informations sur la façon dont le corps utilise et transforme les nutriments et autres substances pour maintenir ses fonctions vitales, telles que :

10.1. Glucose :

Le dosage du glucose peut être réalisé de différentes manières, l'un des manières est la mesure enzymatique de la réaction de l'enzyme glucose oxydase.

10.2. Triglycéride :

Le dosage des triglycérides et généralement effectuée à partir d'un échantillon de sang prélevé à jeun, ainsi la méthode de dosage couramment utilisé est le dosage enzymatique colorimétrique.

10.3. Cholestérol totale :

C'est un paramètre biochimique qui mesure la concentration totale de cholestérol dans le sang, où des réactifs enzymatiques réagissent avec le cholestérol pour former un produit coloré, dont l'intensité est mesurée pour déterminer la concentration de cholestérol.

10.4. Protéines totales et fractions (albumine) :

Le dosage des protéines totales est une mesure courante en biochimie clinique pour évaluer la concentration totale de protéines présentes dans un échantillon biologique, généralement le sérum ou le plasma sanguin. Les protéines totales comprennent toutes les classes de protéines présentes dans l'échantillon, telles que l'albumine, les globulines, les enzymes, les facteurs de coagulation, etc.

10.5. Paramètres hématologiques :

Ces paramètres évaluent les cellules sanguines, notamment le nombre de globules rouges, de globules blancs, l'hémoglobine, l'hématocrite.

11. Paramètre biochimique :

11.1. Extraction et dosage des métabolites :

L'extraction des différents métabolites a été réalisée le procédé de (**Shibko *et al.*, 1966**) .et les principales étapes sont résumées dans la (**figure 21**). Les échantillons de foie sont broyés dans l'acide trichloracétique (TCA) à 20 % (<1mg d'organe/ml de TCA) . Après une première centrifugation (5000 tours / min , pendant 10min) , le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de. Au culot I , on ajoute 1 ml de mélange éther / chloroforme (IV / IV) et après une seconde centrifugation (5000 tours / mn , pendant 10mn) , on obtient le surnageant II et le culot II , le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides. et le culot II , dissout dans la NaOH (0,1 N) , servira au dosage des protéines.

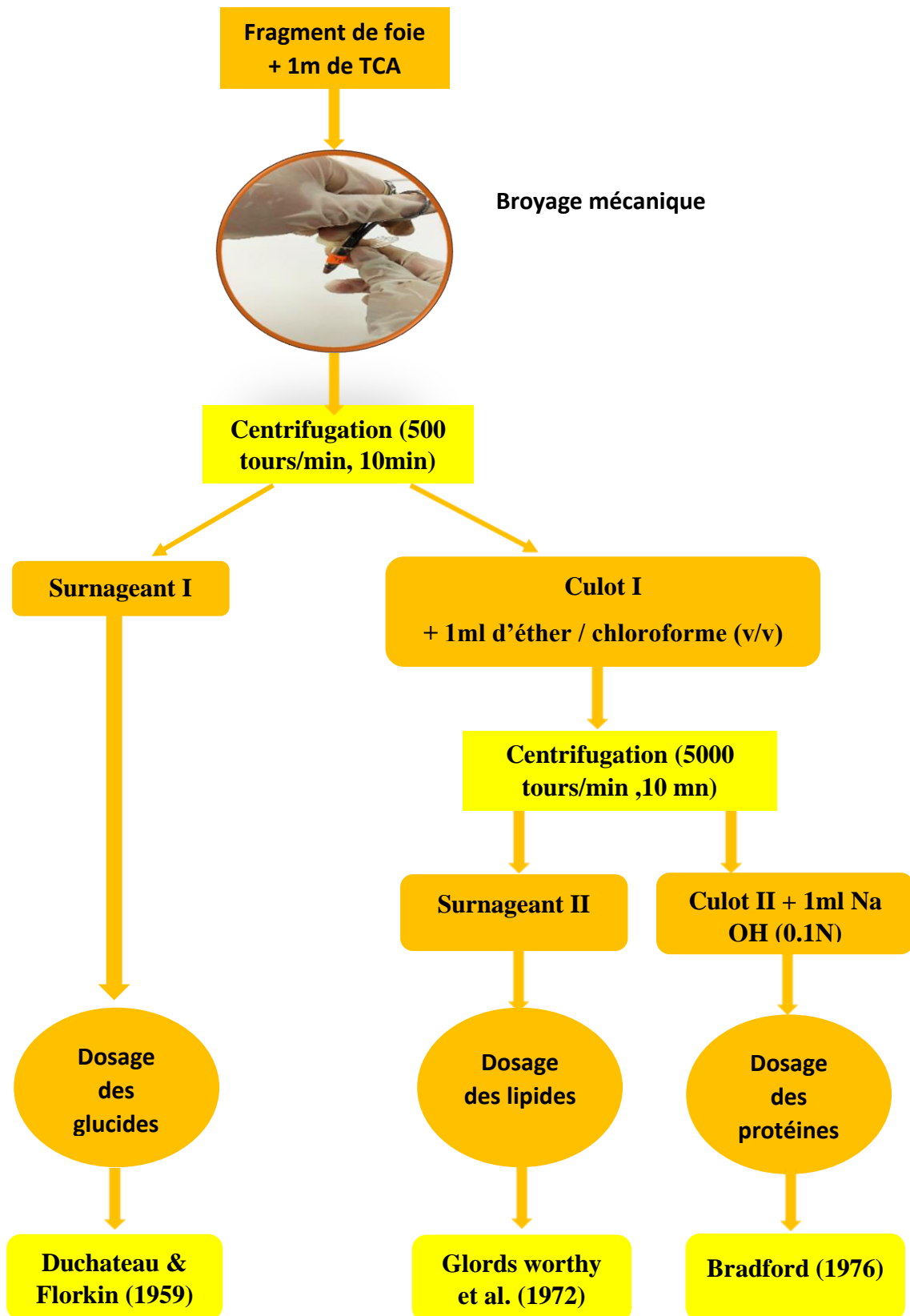


Figure 22: Principales étapes d'extraction des métabolites : protéines, glucides, lipides

Matériel et méthodes

11.2. Dosage des glucides :

Le dosage des glucides a été réalisé selon (Duchateau et Florkin ,1959). Cette méthode utilise l'anthrone comme réactif (150mg d'anthrone, 75ml d'acide sulfurique et 25ml d'eau distillée) et le glucose comme standard. La gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution mère de glucose (1g/l).

Après l'addition du réactif, un chauffage au bain marie à 80°C pendant 10 min permet l'obtention d'une coloration verte. Le dosage des glucides à été effectué dans une fraction aliquote (100µl).

Les absorbances ont été obtenues grâce à un spectrophotomètre et la lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 620 nm contre un blanc de gamme (Tableau 01).

Tableau 01: Dosage des glucides: réalisation de la gamme d'étalonnage :

Tube	1	2	3	4	5	6
Glucose (µl)	0	100	200	300	400	500
Eau distillée (µl)	500	400	300	200	100	0
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

11.3. Dosage des protéines :

Les protéines contenues dans le foie ont été quantifiées selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu brillant de coomassie G 250 (BBC) comme réactif (100mg de BBC+50ml d'éthanol. Agitation pendant deux heures + 100ml d'acide orthophosphorique + H2O distillée 1000ml) et l'albumine de sérum de boeuf (BSA) comme standard.

Le dosage des protéines a été effectué dans une fraction aliquote (100µl). Les absorbances ont été obtenues grâce à un spectrophotomètre et la lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 595nm contre un blanc de gamme (Tableau 02).

Tableau 02: Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des protéines.

Tube	1	2	3	4	5	6
BSA (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

Matériel et méthodes

11.4. Dosage des lipides :

La concentration des lipides totaux a été estimée selon Goldsworthy et al.,(1972) utilisant le réactif sulfophosphanillinique (0,38 g de vanilline, 55ml d'eau distillée et 195ml d'acide orthophosphorique à 85%). La solution mère des lipides est préparée en utilisant l'huile de table (Cevital) selon la procédure suivante: 25mg d'huile de table pesés dans un tube eppendorf; cette quantité est ensuite reprise dans 10ml du mélange (éther / chloroforme) (1V/1V) (**Tableau 03**)

Tableau 03:Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des lipides.

Tube	1	2	3	4	5	6
Solution mère lipide(μ l)	0	20	40	60	80	100
Solvant ether/chloroforme (μ l)	100	80	60	40	20	0
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

Après évaporation des prises aliquotes de 100 μ l de surnageant II dans un bain à sec à 40°C, on additionne 1ml d'acide sulfurique concentré (96%), les tubes fermés sont agités et chauffés dans un bain à sec à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, on prélève 200 μ l de chaque tube auxquels on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphanillinique et on agite. Après 30 minutes à l'obscurité, le complexe se colore en rose. La densité optique est lue dans un spectrophotomètre (Jenway 6300) à une longueur d'onde de 530 nm.

12. L'étude histologique :

Après le prélèvement des organes l'étude histo-pathologique à établie au service de l'anatomie pathologique de l'hôpital des frères Saad Guermeche de Skikda selon le protocole expérimental du laboratoire.

12.1. Fixation :

Dans le but de conservation des structures et le durcissement des pièces. La fixation doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur. Dans notre étude les organes a été conservée dans le formol dilué à 10%.

12.2. La préparation des cassettes des tissus :

Les morceaux sont coupés par un quôteur à des pièces de petites tailles pour faciliter la pénétration rapide du fixateur, et sont mis en totalité dans des cassettes en plastiques sur lesquelles sont mentionnées les informations nécessaires.

12.3. La circulation :

Elle se réalise à l'aide d'un automate qui contient une série du solvant selon les étapes suivantes :

- La 1^{ère} étape on les met les cassettes dans le formol qui est indispensable pour conservera morphologie cellulaire.
- La 2^{ème} étape à la 7^{ème} étape : la déshydratation dans l'alcool (70%,80%,90%,100%,100%,100%).
- La 8^{ème} étape : poser les cassettes dans 1/2 alcool et 1/2 xylène .
- La 9^{ème} et la 10^{ème} étape : posé dans l'xylène pour la fixation de la paraffine avec le tissu lors de l'enrobage.
- La 11^{ème} et la 12^{ème} étape : les paniers contenant les cassettes se trouvent dans un bain de paraffine chaude (liquide). Ils sont égouttés avant d'être transférés dans le bac d'attente du poste d'inclusion.

12.4. Inclusion :

Leur principe consiste en un enrobage des pièces par la paraffine liquide qui permet ainsi de conserver les rapports architecturaux des structures les unes par rapport aux autres et de lui fournir un support externe à la fois pendant et après la coupe. Les blocs en attente de coupe sont stockés dans un congélateur à -2°C. Les étapes de l'enrobage sont:

- A. On verse la paraffine liquide (T° entre 56-60) dans le moule.
- B. On met le morceau de tissu dans le moule et on l'a poussé.
- C. On recouvre la pièce par la cassette.
- D. On verse la paraffine, Enfin le refroidissement du moule à une température de -2°C, on obtient un bloc de Paraffine dur qui contient la pièce prélevée.

12.5. Les coupes :

- Les coupes du bloc de paraffine sont faites avec un microtome permettant de réaliser des tranches de sections (coupes) de 2 à 5µm d'épaisseur.
- Les coupes sont recueillies sur des lames en verre.

12.6. Coloration :

- Séchage des lames : pour faciliter l'adhérence des coupes sur la lame de verre avant le déparaffinage, les lames doivent être « cuites » ; Il est réalisé dans l'étuve à 135°C pendant 1h.
- Déparaffinage : pour la coloration d'une coupe histologique est d'éliminer la paraffine du tissu à l'aide d'un solvant (xylène) puis une réhydratation qui consiste à amener à l'eau.
- Coloration : La coloration est basée principalement sur l'utilisation d'hématoxyline d'Harris qui colore le noyau à une couleur move foncé presque noir et l'éosine qui colore le cytoplasme en rose ou rouge. Cette méthode de coloration dure 45min (figure 26, voir l'annexe).
- Déshydrations : elle consiste à retirer l'eau des coupes par des bains successifs d'éthanol absolu puis à un éclaircissement dans des bains des xylènes. Protocole de coloration des lames .

12.7. Montage :

Après coloration une goutte d'Eukitt de montage (colle à base de résine) est disposée sur la coupe, une lamelle est appliquée de façon à ce que la résine recouvre l'ensemble de la coupe. Lors de la manipulation aucune bulle d'air ne doit s'insérer entre la lame et lamelle .

10.8. Lecture :

L'observation de la lame se réalisée au niveau de laboratoire du département d'agronomie de l'université de Skikda à l'aide d'un microscope. Cette étape permet d'apprécier les éventuelles lésions ou anomalies au sein du tissu à analysés (**figure 23**).



Figure 23 : Les étapes de montage (photos originales, 2023).

12.9. Etude statistique :

Les données obtenues à partir des mesures des analyses biochimique et hématologique ont été exprimées en moyenne avec l'écart type (Moy \pm écart-type) les résultats représentés sous forme des histogrammes l'analyse statistique à été réalisé à l'aide du logiciel minitab® 17.

La comparaison de plusieurs moyennes est effectuée par une analyse de variance (ANOVA). Et la comparaison de deux moyennes qui est effectué par un test t tukey. La différence entre deux moyennes comparées est significative si la probabilité P est inférieure à 0.05 ainsi le degré de signification est comme suite :

- $P \leq 0.05$ la différence est significative.
- $P \leq 0.01$ la différence est hautement significative.
- $P \leq 0.001$ la différence est très hautement significative.

* : Différence significative à G2,G3,G4,G5,G6 comparativement au témoin ($P \leq 0.05$).

** : Différence hautement significative à G2,G3,G4,G5,G6 comparativement au témoin ($P \leq 0.01$).

* : Différence très hautement significative à G2,G3,G4,G5,G6 comparativement au témoin ($P \leq 0.001$).

& : Différence significative comparant le G3 au G2($P \leq 0.05$).

&& : Différence hautement significative comparant G3 au G2 ($P \leq 0.01$).

&&&: Différence très hautement significative comparant G3 au G2 ($P \leq 0.001$).

#: Différence significative à G5,G6 comparativement aux G4 ($P \leq 0.05$).

##: Différence hautement significative G5,G6 comparativement aux G4 ($P \leq 0.01$).

###: Différence très hautement significative à G5,G6 comparativement aux G4 ($P \leq 0.001$).

+ : Différence significative à G5 comparant au G6 ($P \leq 0.05$).

++ : Différence hautement significative à G5 comparant au G6 ($P \leq 0.01$).

+++ : Différence très hautement significative G5 comparant au G6 ($P \leq 0.001$).

P : Seuil de signification.



Chapitre II : Résultats et discussion



Résultats et discussion

Cette étude est pour déterminer l'effet de la plante médicinale *Rhamnus alaternus* L. sur l'amélioration de la fonction hépatique chez des rats intoxiqués par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et ainsi d'évaluer la teneur de certains composés phénoliques et déterminer l'activité antioxydante de cette plante (méthode DPPH), les changements de poids, les paramètres biochimiques ; glycémie, TGO, TGP et PAL, bilirubine totale et directe, cholestérols et triglycérides, protéines, albumines. De plus les métabolites du foie ainsi que les paramètres hématologiques tels que le nombre de globules blancs, de globules rouges, l'hémoglobine et l'hématocrite. Enfin, une étude histologique du foie a été réalisée.

1. Teneur en composant phénoliques :

1.1. Teneur en polyphénols totaux :

Les composés phénoliques constituent une classe principale des antioxydants présents dans les plants en raison de leur activité de piégeage des radicaux libres ou de leur capacité de chélation des métaux (Benchehiha, 2015).

Après l'addition de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) et le réactif de Folin-Ciocalteu à l'extrait des feuilles de *Rhamnus alaternus* L. une couleur bleue est obtenue, cette coloration varie en fonction de la concentration des polyphénols. Donc les feuilles de *R. alaternus* sont riches en composés phénolique.

Afin de doser les polyphénols d'un extrait, on a réalisé une gamme d'étalonnage d'acide gallique de concentration (6,25-200 $\mu\text{g}/\text{ml}$) dans le méthanol. Les différentes concentrations des polyphénols totaux sont calculées à partir de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique, la formule de la régression linéaire de cette courbe est de : $y = 0.011x + 0.374$ avec un facteur de corrélation R^2 égale à 0.976 (Figure24) Les résultats sont exprimés en μg EAG/mg ES.

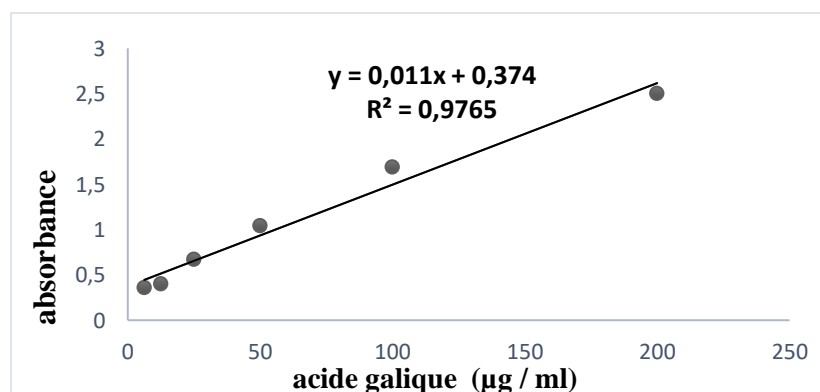


Figure24: Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Résultats et discussion

- La teneur en polyphénols totaux dans notre extrait est 13 µg EAG/mg ES.

Nos résultats ressemblent à ceux trouvés par (**Ben ammar *et al.*, 2008**) sur la même plante. En effet, ils ont déterminé 13 mg EAG/ g de matière fraîche pour un extraits méthanoliques suivie par une extraction dans le butanol saturé en eau des feuilles, mais supérieur à une teneur de 7 mg EAG/ g d'un extrait méthanolique suivi aussi par une extraction dans le butanol saturé en eau des écorces des racines (**Ben ammar *et al.*, 2008**). Dans d'autres résultats (en prenant le méthanol comme solvant), (**Kosalec *et al.*, 2013**) ont eu une quantité des polyphénols totaux égale à $38,4 \pm 1,56$ mg EAG/g d'extrait. Ainsi, (**Boussahel *et al.*, 2013**) ont obtenu $33,65 \pm 2,5$ mg EAG/g d'extrait. Ces résultats sont supérieurs à nos résultats Tandis que (**Ben ammar *et al.*, 2007**) ont dévoilé que l'extrait méthanolique des feuilles de *R. alaternus* de Tunisie contient environ 138 ± 9 mg EAG/ g d'extrait. Ces résultats sont notamment supérieurs à nos résultats. Cette différence pourrait s'expliquer par la région dans laquelle la plante est cultivée, ainsi que la période de la récolte. La méthode d'extraction (**Pandey et Tripathi, 2014**). La solubilité des composés phénoliques est en fonction de leur degré de polymérisation, et ainsi lié à la distribution des métabolites secondaires. (**Rezagui *et al.*, 2020**).

1.2. Teneur des flavonoïdes :

Lors du dosage des flavonoïdes, après l'addition d'AlCl₃ et après incubation une couleur jaunâtre est obtenue dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des flavonoïdes, ce qui confirme la présence des flavonoïdes dans l'extrait des feuilles de *R. alaternus*. Les différentes concentrations des flavonoïdes sont calculées à partir de la gamme d'étalonnages établis avec la quercitrine de concentration (2.5-40 µg/ml) (**figure25**).

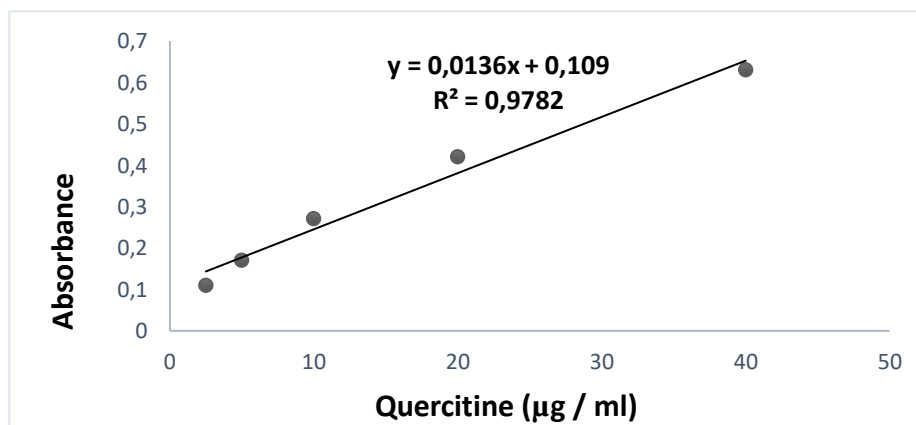


Figure 25 : courbe d'étalonnage du Quercitrine.

Résultats et discussion

La formule de la régression linéaire de cette courbe est de : $Y = 0.013X + 0.109$ avec un facteur de corrélation R^2 égale à 0.978 (figure 20). Les résultats sont exprimés en $\mu\text{g}/\text{mg}$ de Quercétine.

La teneur en flavonoïdes montre que l'extrait méthanolique des feuilles de *R. alaternus* contient environ 27.76 $\mu\text{g EQ}/\text{mg}$ d'extrait sec. Donc, les feuilles de *R. alaternus* sont très riches en flavonoïdes, ce résultat obtenu est nettement supérieur aux résultats trouvés par (Ben ammar *et al.*, 2007) qui sont respectivement 28 et 21 mg EQ/100g de manière fraîche pour les extraits méthanolique et aqueux des feuillettes de la même espèce de la région de la Tunisie. Et aussi supérieur aux résultats trouvés par (Ben ammar *et al.*, 2008) soit des teneurs de 15 et 20 mg EQ/g de matière fraîche pour des extraits méthanoliques des écorces et des feuillettes respectivement. Cette différence pourrait s'expliquer par la région dans laquelle la plante est cultivée, ainsi que la période de la récolte et les changements climatiques (Hechache et Khelloufi, 2013).

2. L'activité antioxydante :

2.1. La détermination de l'activité anti-radicalaire au radical DPPH :

Le DPPH est un radical libre stable et violet qui transforme en jaune lorsqu'il est réduit par un antioxydant et ce qui est remarqué au cours de la réalisation de se teste.

L'activité antioxydante d'un extrait a été évaluée en utilisant le calcul de la valeur IC50. Cette valeur représente la concentration nécessaire de l'extrait pour inhiber 50% du radical libre DPPH, il est noté que plus la concentration de l'extrait est faible, plus l'extrait est considéré comme un bon antioxydant. La comparaison entre les résultats de DPPH et de la plante permet d'évaluer l'efficacité de notre échantillon (figure 26).

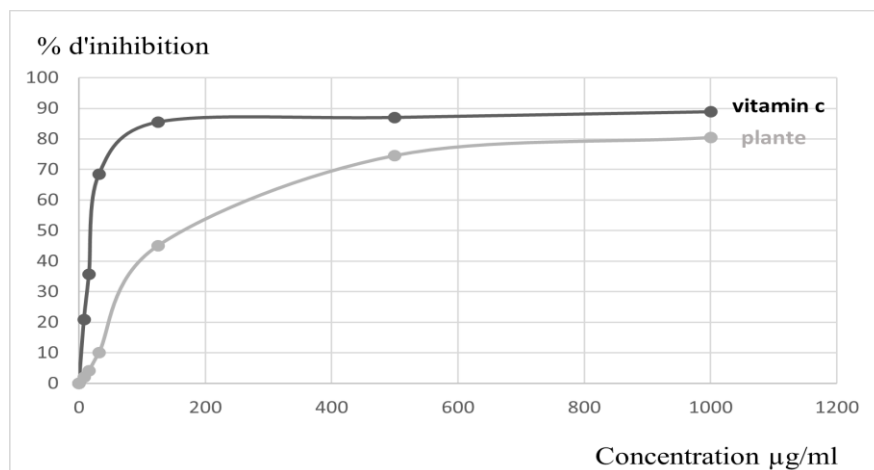


Figure 26 : Effet antioxydant contre le radical DPPH de l'extrait méthanolique de *R. alaternus* à différentes concentrations.

Résultats et discussion

	Inhibition max (%)	IC 50 (µg/ml)
Les résultats du vitamine c	87	24
Les résultats de la plante	75	140

Les résultats de l'étude comparative montrent que l'extrait méthanolique de la partie aérienne des *R. alaternus* L. à une activité antioxydante différente de celle de la vitamine C utilisée comme standard (IC 50 = 24 µg/ml) et (IC50 de la plante est 140µg/ml).

Cela indique que l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la plante est moins puissante que celle de la vitamine C.

Cette valeur obtenue est élevée par rapport à celles rapportées dans les études réalisées sur l'extrait méthanolique des feuilles de *R. alaternus* L. de Tunisie qui est de l'ordre de 25,38µg/ml (**Ben ammar et al., 2005**), et la valeur de l'IC₅₀ calculé pour l'extrait de *R. alaternus* était de 37,97µg/ml dans l'étude de (**Hechache et Khelloufi. 2013**).

Cette différence pourrait varier en fonction de plusieurs facteurs, tels que les méthodes d'extraction, les conditions expérimentales, les protocoles d'essai ou par la nature des composés phénoliques contenus dans l'extrait qui est influencé par la période de récolte, Comme elle pourrait s'expliquer aussi par la différence des conditions climatique et celles du sol ou la plante est cultivée. (**Hechache et Khelloufi. 2013**).

3. Gain du poids :

La figure suivante démontre les variations du poids chez les différents groupes des rats :

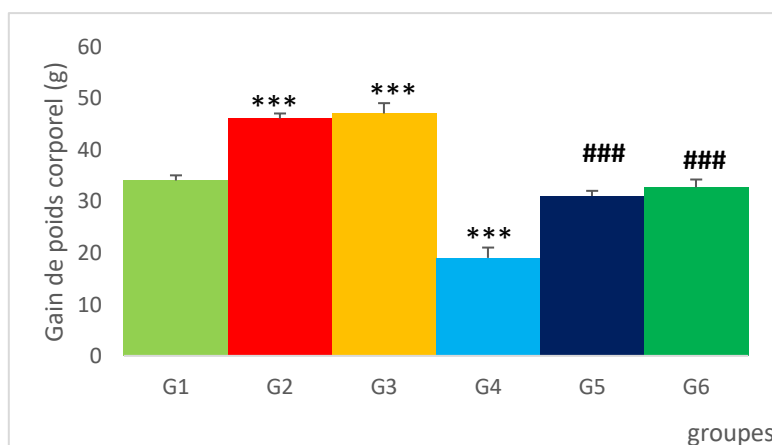


Figure 27 : Variations du poids corporel chez les différents groupes étudiés après 4 semaines de traitement.

Les résultats présentés dans la (**figure 27**) indique une diminution significative ($p \leq 0.001$) du poids des rats traités par l'oxyde d'aluminium par rapport au témoin.

Résultats et discussion

Cette diminution est conforme avec les résultats obtenus par l'étude de (Cheltit, 2021 ; Ghellab, 2021).

Cependant le poids des deux groupes traités par la combinaison de l'oxyde aluminium et les doses (250 et 500mg/kg/jour) de l'extrait de la plante augmente significativement ($p \leq 0.001$) par rapport au groupe traité par l'oxyde aluminium seulement, en revanche en remarque aucune différence significative du gain de poids en comparaison au groupe témoin.

Les deux groupes traités par la dose (250 et 500mg/kg/jour) de l'extrait de la plante montrent une augmentation significative ($p \leq 0.001$) par rapport au groupe témoin.

Ces résultats ne sont pas conformes avec l'étude de (Aoughlis et Mazari, 2014) où l'on a noté aucune augmentation du poids des rats traités par la plante.

La diminution du poids corporel peut résulter de l'anorexie observée chez les animaux à la suite d'une exposition prolongée à des xénobiotiques, ainsi que de l'état de stress dans lequel ils se trouvent pendant cette période d'exposition (Viviana, 2015).

4. Paramètre biochimique

4.1. La glycémie :

Les résultats de ce paramètre sont mentionnés dans la figure suivante :

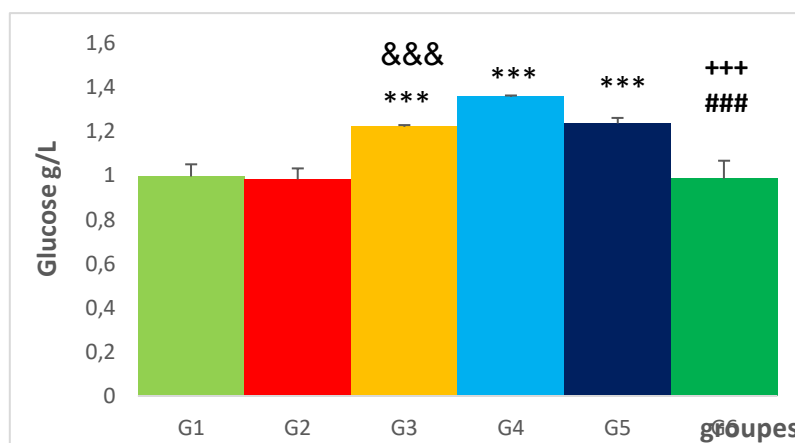


Figure 28 : La variation de la concentration du glucose chez les rats témoins et les Rats traités après 4 semaines de traitement.

Les résultats de la (figure 28) indiquent une augmentation significative ($P \leq 0.001$) du taux de glucose (hyperglycémie) chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium par rapport aux rats témoins. Cela suggère que l'exposition à l'oxyde d'aluminium peut avoir un impact sur le métabolisme du glucose.

Résultats et discussion

Ainsi, Les résultats montrent une diminution non significative pour les rats traités par la combinaison d'oxyde et dose (250mg/kg/jour) de la plante et une diminution significative ($P \leq 0.001$) du taux de glucose chez les rats traités par la combinaison de l'oxyde d'aluminium et la deuxième dose (500mg/kg/jour) de la plante *Rhamnus alaternus* par rapport aux rats traités par l'oxyde d'aluminium.

Ces observations suggèrent que l'administration de la plante *Rhamnus alaternus* par la dose (500mg/kg/jour) peut potentiellement moduler le métabolisme du glucose de manière bénéfique. Cette plante semble induire une diminution significative des niveaux de glucose chez les rats traités par la combinaison par rapport au groupe traité avec l'oxyde d'aluminium seul.

Ce résultat est en accord avec les travaux des (Stefan, et al. 2008) qui trouvé que le stress oxydatif peut induire une résistance à l'insuline, une condition dans laquelle les cellules du corps deviennent moins réceptives aux effets de l'insuline provoquant une hyperglycémie.

Ce résultat est en accord avec les travaux des (Khengui et Kimfoko, 2022). Qui trouvé que L'espèce *Rhamnus alaternus* peut être dotée d'une activité antidiabétique.

Une autre recherche faite par (B. Khettal, et al., 2014) indique que la plante *Rhamnus alaternus* présente un effet inhibiteur de l'absorption intestinale des lipides et des carbohydrates par inhibition de la lipase et de l'glucosidase, cela signifie le taux diminué de glucose.

Résultats et discussion

4.2. TGP, TGO et PAL :

Les figures suivantes montrent les variations des activités enzymatiques TGO, TGP et PAL (figure29):

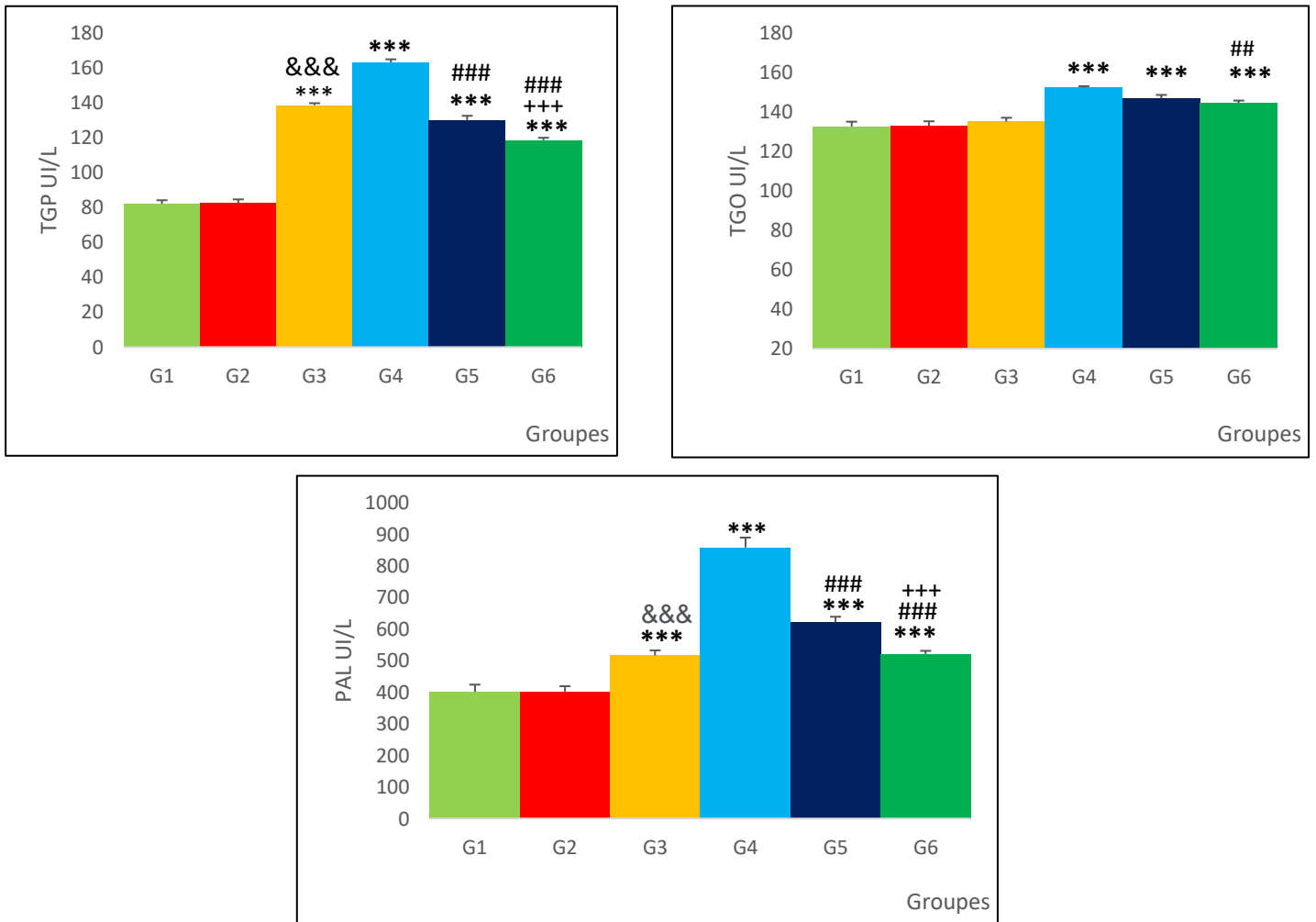


Figure 29 : Variations de l'activité enzymatique TGO, TGP et PAL chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines de traitement.

Les résultats de notre étude révèlent une augmentation significative de l'activité de la TGP ($p \leq 0,001$), de la TGO ($p \leq 0,001$) et de la phosphatase alcaline (PAL) ($p \leq 0,001$) chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium par rapport au groupe témoin.

L'augmentation de l'activité enzymatique de ces enzymes est en accord avec les résultats de (Cheltit, 2021 ; Ghellab, 2021).

Le groupe traité par la combinaison de l'oxyde d'aluminium et les deux doses de l'extrait de la plante (250 et 500 mg/kg/jour) ont montré une diminution significative de l'activité TGP et

Résultats et discussion

la PAL ($p \leq 0.001$) par rapport aux rats traités par l'oxyde aluminium, en revanche on a remarqué une augmentation significative ($p \leq 0.001$) de ces deux dernier par rapport au groupe témoins.

En ce qui concerne l'activité TGO, une diminution non significative a été observée dans le groupe traité par la combinaison de l'oxyde d'aluminium à une dose de (250 mg/kg/jour), tandis qu'une diminution significative ($p \leq 0.01$) a été observée dans le groupe traité par l'oxyde d'aluminium à une dose de (500 mg/kg/jour) par rapport au groupe traité par l'oxyde. Cependant les résultats des deux groupes montrent une augmentation significative ($p \leq 0.001$) par rapport au groupe témoin.

Le groupe 6 montre une diminution significative ($p \leq 0.001$) de l'activité TGP et la PAL par rapport au groupe 5, aucune différence significative n'a été observée sur les résultats de l'activité TGO.

Les rats traités par la dose (500mg/kg/jours) de l'extrait de la plante montre une augmentation significative ($p \leq 0.001$) de l'activité enzymatique TGP et PAL par rapport aux témoins et aux rats traités par la dose (250mg/kg/jours) de l'extrait de la plante. Cependant le groupe traité par la dose (250mg/kg/jours) montre aucun changement significatif des résultats par rapport au témoin.

L'augmentation de l'activité enzymatique de TGP chez les rats traités par la dose (500mg/kg/jours) est conforme avec les résultats de (**Aoughlis et Mazari, 2014**) qui ont travaillé avec un extrait méthanolique de la plante, mais ne sont pas conformes avec l'enzyme TGO ou il y'avais pas une diminution significative.

L'augmentation des transaminases et la phosphatase alcaline indique une lésion ou une inflammation hépatique chez les rats traités avec les nanoparticules d'oxyde aluminium, ce qui peut être expliqué par la fuite des enzymes du tissu hépatique vers le plasma en raison de l'altération de la perméabilité membranaire (**Lazo et Clark, 2008**). Cette augmentation des transaminases est un indicateur fiable de l'hépatotoxicité.

Résultats et discussion

4.3. Bilirubine totale et bilirubine direct :

Les résultats de ce paramètre sont mentionnés dans les figures suivants (**figure30**):

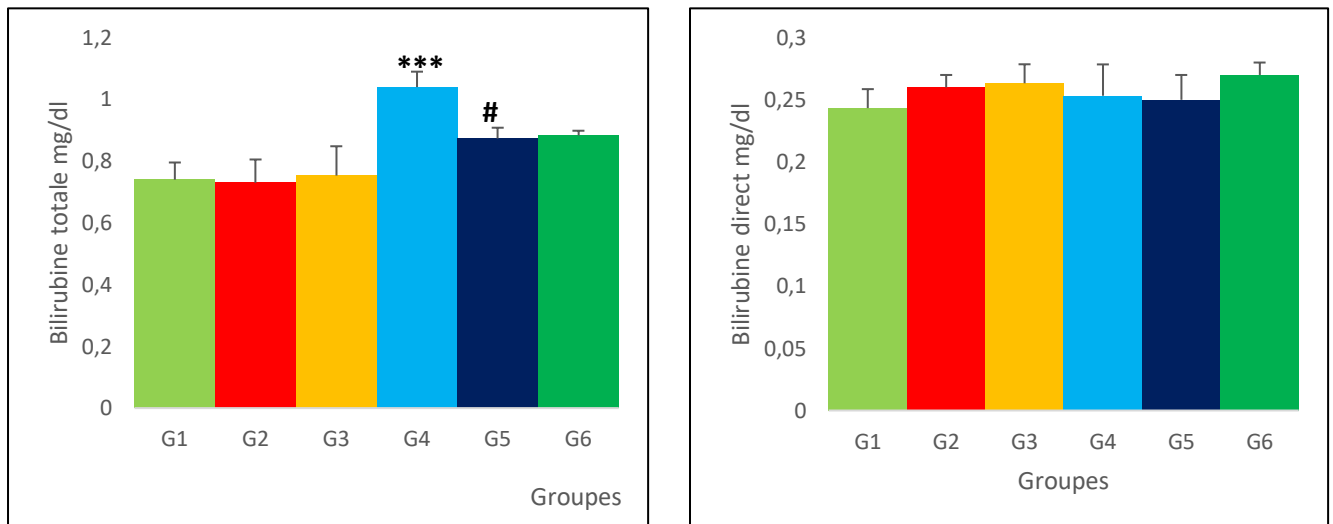


Figure 30 : les variations de la concentration sérique de la bilirubine totale et la bilirubine directe chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines de traitement.

L'exposition des rats à l'oxyde d'aluminium a induit une augmentation significative ($p \leq 0.001$) de la bilirubine totale et aucune différence significative du taux de la bilirubine directe en comparaison avec le groupe témoin.

Les résultats de la bilirubine totale sont conformes avec les résultats de (**Yousef *et al.*, 2019**).

Le groupe traité par la combinaison de l'oxyde d'aluminium et la dose (250mg/kg/jours) de l'extrait de la plante montre une diminution significative ($p \leq 0.05$) de la bilirubine totale, en revanche le groupe traité par la combinaison l'oxyde d'aluminium et la dose (500mg/kg/jours) de la plante indique aucune différence significative par rapport au groupe traité par l'oxyde aluminium uniquement.

Aucune différence significative du taux de la bilirubine directe du groupe traités par la combinaison de l'oxyde d'aluminium et les deux doses de la plante comparativement au groupe traité par l'oxyde d'aluminium.

Les résultats de la bilirubine totale et directe montrent aucune différence significative entre les groupes traités par la combinaison de l'oxyde d'aluminium et les deux doses de la plante par rapport au groupe témoin.

Résultats et discussion

Toutefois aucune différence significative n'a été constaté sur les mesures de bilirubine totale et directe des groupes traités par les deux doses de la plante seul (250 et 500 mg/kg/jours) respectivement en comparaison avec le groupe témoin.

L'absence de différence est en accord avec les résultats de (Aoughlis et Mazari., 2014).

L'augmentation de la bilirubine totale chez les rats peut être attribué à l'augmentation de la bilirubine indirecte dans le sang par l'inhibition de la conjugaison de ces derniers. Les radicaux libres générés par les nanoparticules d'oxyde aluminium peuvent endommager les cellules du foie, y compris les cellules responsables de la transformation de la bilirubine indirecte en bilirubine directe ce qui peut expliquer la haute quantité de bilirubine total chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium. (Li *et al.*, 2015).

L'effet toxique de l'oxyde aluminium a été diminuer chez les rats traités avec *Rhamnus alaternus*, ce qui est prouvé par la diminution de la bilirubine totale par rapport aux rats traités uniquement avec l'oxyde aluminium. La diminution du taux de la bilirubine totale peut être attribué à l'effet amélioratif de l'extrait de la plante *Rhamnus alaternus* L.

4.4. Le triglycéride et le cholestérol :

Les résultats de ce paramètre sont mentionnés dans les figures suivants (figure 31) :

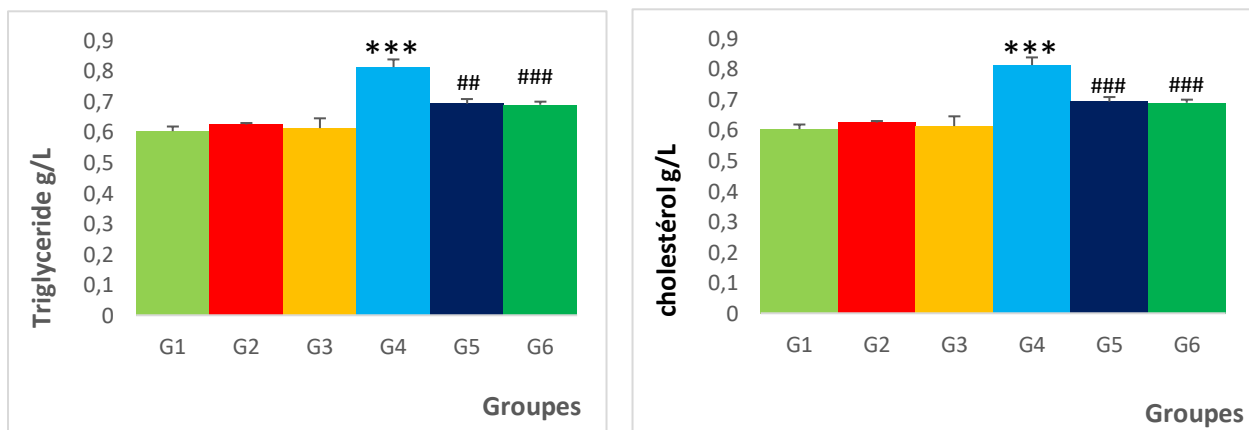


Figure 31 : Les variations de la concentration de triglycérides et des cholestérols chez les différents groupes des rats après 4 semaines de traitement.

Les résultats indiquent une augmentation significative ($p < 0.001$) du taux de triglycérides et de cholestérol chez les rats intoxiqués par l'oxyde d'aluminium par rapport au groupe témoin. Cette augmentation est conforme au résultat trouvé par (Cheltit, 2021).

Résultats et discussion

Les résultats du groupe traités avec la combinaison d'oxyde d'aluminium et les deux doses de la plante (250 et 500mg/kg/jour) montrent qu'il y a une diminution significative ($P \leq 0.01$) et ($P \leq 0.001$) respectivement du taux de triglycéride par rapport au groupe l'oxyde d'aluminium.

Ainsi, on remarque que ces deux groupes montrent à une diminution significative ($P \leq 0.001$) du taux de cholestérol par rapport au groupe traité par l'oxyde d'aluminium. Ce résultat est en accord avec les travaux des (Khengui et Kimfoko, 2022).

Les résultats du groupe traités avec les deux doses de plante de (250 et 500mg/kg/jour) montrent qu'il n'y a aucune différence significative par rapport au groupe témoin. Les recherches de (Ribeiro et al., 2017). Montrent que le stress oxydatif peut contribuer au développement de maladies métaboliques. Cela suggère que l'intoxication par l'aluminium peut avoir un effet sur le métabolisme des lipides chez les rats, entraînant une augmentation de leur concentration dans le sang. Cette perturbation (stress oxydatif) peut potentiellement interférer avec les processus métaboliques impliqués dans la régulation des lipides dans l'organisme. La diminution du triglycéride et le cholestérol chez les deux groupes traités avec les nanoparticules et la plante par rapport au groupe traité par l'oxyde aluminium pourrait indiquer que la plante à une influence sur la réduction des taux de triglycérides et de cholestérol augmenté par l'oxyde d'aluminium seulement. La plante *Rhamnus alaternus*. L peut avoir un effet bénéfique sur les taux de triglycérides et de cholestérol chez les rats traités avec l'oxyde d'aluminium.

4.5. Protéine et Albumine :

Les résultats de ce paramètre sont mentionnés dans l'histogramme suivant (figure32):

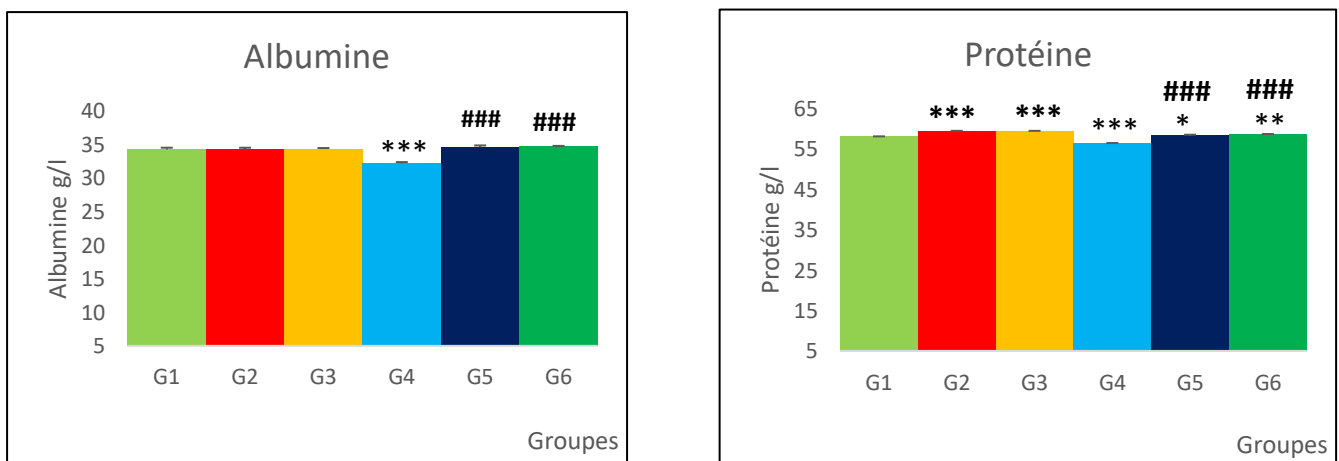


Figure 32: Les variations de la concentration sérique du taux des protéines et l'albumine (g/L) chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines de traitement.

Résultats et discussion

Nos résultats montrent une diminution significative ($p \leq 0.001$) du taux de protéine et de l'albumine chez les rats traités par l'oxyde aluminium par rapport aux témoins.

La diminution de taux de protéine n'est pas conforme aux résultats de (**Ghellab, 2021**), ou elle a marqué une augmentation mais elle est conforme aux résultats de (**Bensidhoum et Brahmi, 2014**) ils ont travaillé sur un extrait méthanoliques.

Le groupe traité par la combinaison de l'oxyde d'aluminium et la dose (250 mg/kg/jours) présente une augmentation significative ($p \leq 0.05$) du taux de protéine cependant le groupe traité par les nano particules d'oxyde d'aluminium et la dose (500 mg/kg/jours) de la plante montre une augmentation significative ($p \leq 0.01$) par rapport au témoin et une augmentation significative ($p \leq 0.001$) du taux de protéine par rapport au témoin traité par l'oxyde d'aluminium, en revanche le taux d'albumine s'augmente significativement ($p \leq 0.001$) pour les deux groupes traités par la combinaison de l'oxyde d'aluminium et les deux dose par rapport au groupe traité par l'oxyde d'aluminium et on remarque aucune différence significative avec le groupe témoin.

Les deux groupes traités par les deux doses (250 et 500 mg/kg/jours) montrent une augmentation significative ($p \leq 0.001$) du taux de protéine et aucune différence significative du taux d'albumine.

L'augmentation de taux de protéine est conforme aux résultats de (**Bensidhoum et Brahmi., 2014**).

La diminution des taux de protéine et d'albumine chez les rats traités par l'oxyde aluminium, pouvait être attribué à des modification causé sur la fonction hépatique en interfèrent avec les processus métaboliques et enzymatiques dans le foie, ainsi la synthèse et le métabolisme des protéines. (**Abbassy et Mossa., 2012**)

Cette réduction peut être provoqué par les espèces réactives de l'oxygène, telles que les radicaux libres générer par l'oxyde aluminium (**Elkhadrawey et al., 2021**). Ces espèces réactives peuvent causer des dommages oxydatifs aux cellules hépatique (**Rolland, 2004**) et perturber les fonctions cellulaires normales, y compris la synthèse et la régulation des protéines plasmique et l'albumine.

Le traitement des rats avec *Rhamnus alaternus* diminue l'effet toxique de l'oxyde d'aluminium, ce qui est confirmé par l'augmentation des taux de protéines et d'albumines par rapport aux rats traités uniquement avec l'oxyde d'aluminium. Cette augmentation peut être

Résultats et discussion

attribuée à l'utilisation de *Rhamnus alaternus* L. en tant que molécule hépato-protectrice, ce qui a amélioré efficacement les taux de protéines.

5. Effet du l'Al₂O₃ sur les métabolites du foie :

5.1. Effet sur le taux des glucides hépatiques :

Les résultats de ce paramètre sont mentionnés dans la figure suivante (figure 33) :

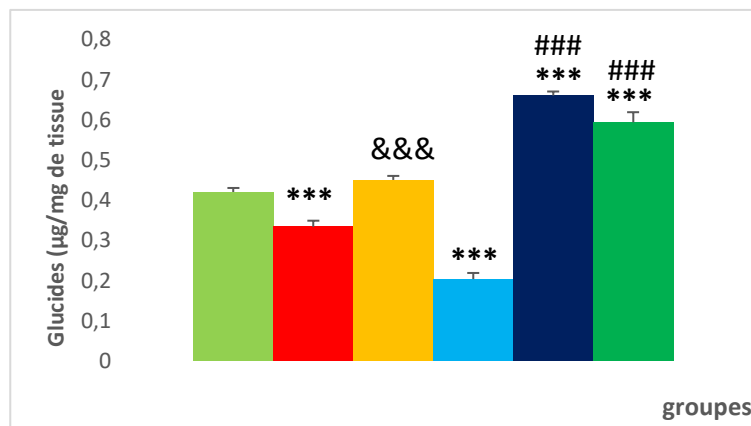


Figure 33 : Variation du taux des Glucides hépatiques chez les rats témoins et les autres groupes traités après 4 semaines de traitement.

Le résultat obtenu montre que les rats traités par l'oxyde aluminium en subis une réduction significative ($p \leq 0.001$) du niveau de glucides en comparaison avec rats témoins.

Cette diminution n'est pas en accord avec les résultats obtenus par (Ghellab, 2021) Qui ont trouvé une augmentation significative ($p \leq 0.001$). En revanche, ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus par (Cheltit, 2021) qui a également mené des études sur le cœur des rats.

On enregistre également une augmentation significative ($p \leq 0.001$) de la teneur hépatique en glucides chez les groupes traités par la combinaison d'oxyde et les deux doses (250 et 500 mg/kg/jour), par rapport au groupe témoin et au groupe traité par l'oxyde d'aluminium.

Cependant les rats traités par la dose (250 mg/kg/jour) de l'extrait de la plante, indique une diminution significative ($p \leq 0.001$) de la teneur hépatique en glucides, en revanche on signale aucune différence significative chez les rats traités par la dose (500 mg/kg/jours) en référence au groupe témoin.

Le groupe traité par la dose (500mg/kg/jours) de plante seule montre une augmentation ($p \leq 0.001$) du taux de glucide par rapport au groupe traité par la dose (250mg/kg/jours)

Résultats et discussion

Les glucides, également connus sous le nom de sucres ou hydrates de carbone, ils sont composés de molécules de carbone et d'hydrogène. Les glucides sont une source d'énergie essentielle pour le corps humain. Ils se présentent sous différentes formes, notamment les sucres simples comme le glucose et le fructose. (Nelson *et al.*, 2017)

Cette diminution peut être justifiée par la fuite de ces métabolites des cellules hépatiques endommagées par les radicaux libres, ainsi que par une diminution de la capacité de synthèse des glucides de ces cellules altérées (Rolland, 2004 ; Postic *et al.*, 2004). Ou bien en raison de la peroxydation des glucides causée par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Yadav et Ramana, 2013).

5.2. Effet sur le taux des lipides hépatiques :

Les résultats de ce paramètre sont mentionnés dans la figure suivante (figure34):

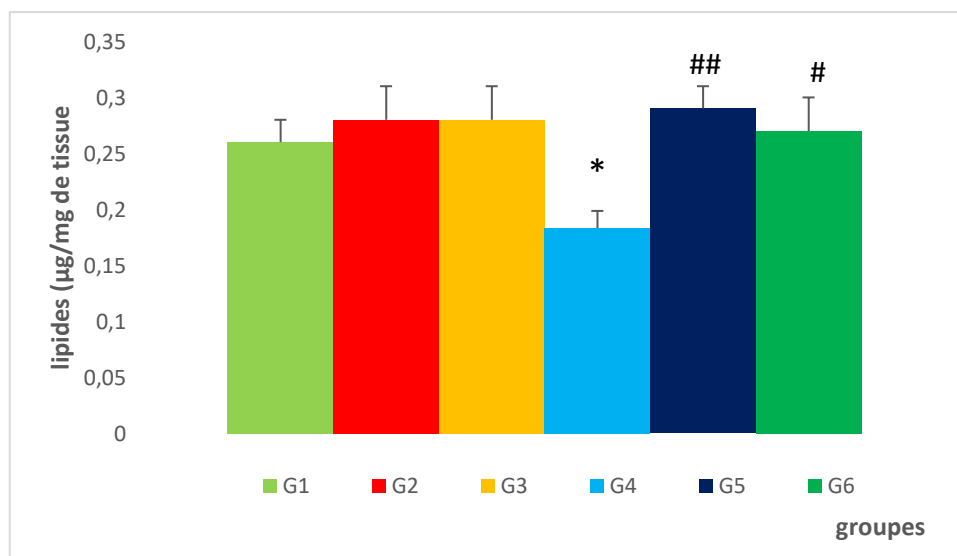


Figure 34 : Variation du taux des lipides (µg/ml) chez les rats témoins et traités après 4 semaines de traitement.

Les résultats montrent une diminution significative ($P \leq 0.05$) de la teneur hépatique en lipides chez les rats traités par les nanoparticules de l'oxyde d'aluminium seulement par rapport au témoin.

Cette diminution est cohérente avec les résultats de l'étude menée par (Cheltit., 2021), qui a porté sur le système cardiovasculaire.

Les résultats montrent une augmentation significative ($P \leq 0.01$) et ($P \leq 0.05$) chez les deux groupes traités par la combinaison des nano particule d'oxyde d'aluminium et les deux doses

Résultats et discussion

de plante (250 et 500 mg/kg/jours) respectivement par rapport au groupe traité par les nanoparticules d'oxyde aluminium.

La diminution des lipides chez les rats traités par les nanoparticules de l'oxyde d'aluminium peut s'expliquer par la dégradation des lipides hépatiques par l'activation de la peroxydation lipidique (Yadav et Ramana, 2013).

L'étude de (Fu et al., 2014) confirme que l'exposition aux nanoparticules augmente significativement la production des radicaux libres. Ces derniers peuvent interagir avec les lipides qui sont abondamment présents dans les biomembranes, entraînant la peroxydation des produits lipidiques associés.

5.3. Effet sur le taux des protéines hépatiques :

Les résultats de ce paramètre sont mentionnés dans la figure suivante (figure35):

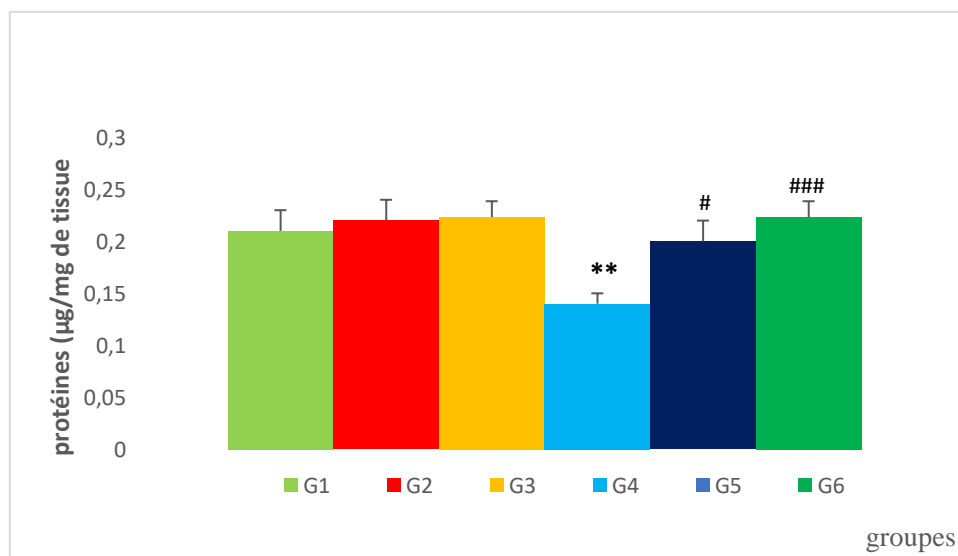


Figure 35: Variation du taux des protéines hépatiques chez les rats témoins et traités après 4 semaines de traitement.

Les résultats montrent une diminution significative ($P \leq 0.01$) de la teneur hépatique en protéines chez les rats traités par les nanoparticules de l'oxyde d'aluminium seulement. Par rapport au témoin.

Les résultats montrent une augmentation significative ($P \leq 0.05$) des taux de protéines dans le foie chez les rats du groupe 5 et une augmentation significative ($P \leq 0.001$) chez les rats du groupe 6 par rapport aux rats traité par l'oxyde aluminium seulement.

Résultats et discussion

Cette diminution chez les groupes traités par les nanoparticules d'oxyde aluminium est expliquée par la peroxydation des protéines du foie due à l'exposition aux radicaux libres, qui ont la capacité d'endommager les protéines présentes dans les cellules hépatiques (Yadav et Ramana, 2013).

6. Paramètres hématologiques :

Les résultats de ces paramètres sont mentionnés dans les histogrammes suivants (figure36):

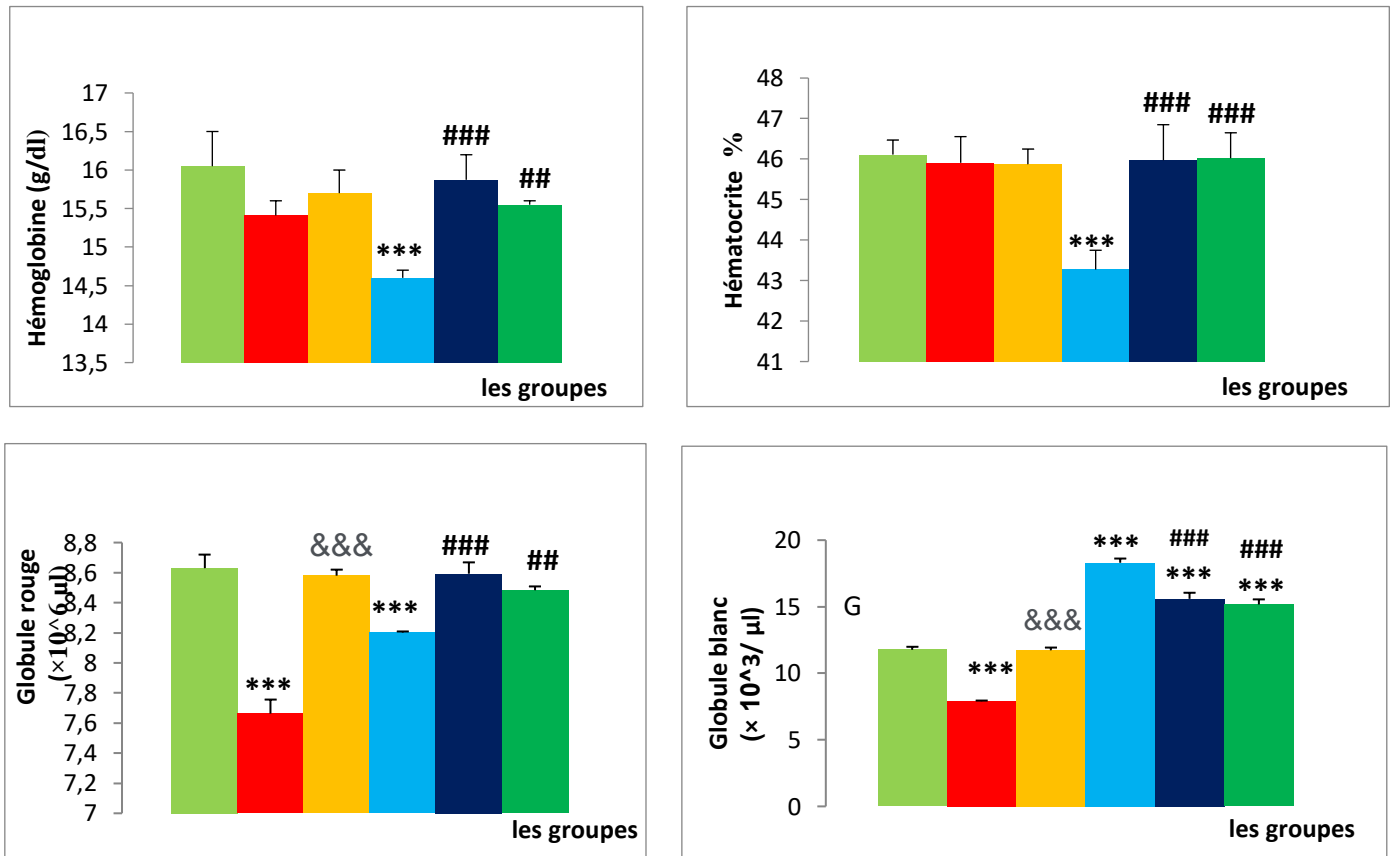


Figure 36: Variation du taux des protéines chez les rats témoins et traités après 4 semaines de traitement.

L'exposition des rats à l'oxyde d'aluminium a induit des changements au niveau des paramètres hématologiques par une augmentation significative du nombre de globules blancs (GB) ($P < 0.001$), et une diminution significative du nombre de globules rouge (GR) ($P < 0.001$), du pourcentage d'hématocrite (HT) ($P < 0.001$), et diminution significative aussi du taux d'hémoglobine (HB) ($P < 0.001$) par rapport aux témoins.

Cependant, on remarque une augmentation significative du nombre de GR ($P < 0.001$), HB ($P < 0.001$) et HT ($P < 0.001$) et une diminution significative du nombre de GB ($P < 0.001$) chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium et la dose (250mg/kg/jour) de l'extrait de la plante par rapport au groupe traité par les nanoparticules oxyde d'aluminium.

Résultats et discussion

On observe une augmentation significative du nombre de GR ($P < 0.01$), pourcentage de HT ($P < 0.001$) et du taux de HB ($P < 0.01$) et une diminution significative de GB ($P < 0.001$) chez les rats traité par la combinaison de nanoparticules d'oxyde d'aluminium et la dose (500 mg/kg/jours) par rapport au groupe oxyde, par contre aucune différence significative de ces paramètres hématologique chez les deux groupes traités par la combinaisons de l'oxyde et les deux doses de la plante par rapport au témoin sauf le nombre de GB entraîné une augmentation significative ($P < 0.001$) chez les deux groupes Traite par la combinaison de nano particule d'oxyde aluminium et les deux doses (250 et 500 mg/kg/jours) par rapport aux témoins.

Le traitement par la dose (250mg/kg/jour) de la plante a entraîné une diminution significative du nombre de GB et GR ($P < 0.001$) tandis qu'il y a aucune différence significative du nombre de HB et le pourcentage de HT par rapport aux témoins Ainsi, en observe aucune différence significative de ces paramètres hématologique après le traitement par la dose (500mg/kg/jour) de l'extrait de la plante par rapport aux témoins. On remarque aussi une augmentation significative de nombre de GB et le nombre de GR ($P < 0.001$) de (G3) par rapport au lot (G2) et aucune différence significative pour les autres paramètres.

L'administration d'oxyde d'aluminium aux rats, provoque une augmentation du nombre des globules blancs reflète la présence d'œdème et d'inflammation au niveau tissulaire (réponse pathologique). Nos résultats sont en accord avec l'étude de (**Farina *et al.*, 2005**) qui ont montré que le traitement des rats par le nitrate d'aluminium a entraîné une augmentation du nombre des globules blancs. Plusieurs études ont montré que le traitement avec l'aluminium augmente les mécanismes de défense du système immunitaire de l'animal. Le traitement des rats par l'oxyde d'aluminium provoque aussi une hémato toxicité, il s'agit de la diminution du nombre des globules rouges, du taux d'hémoglobine et d'hématocrites. Cette réduction explique par l'inhibition de l'érythropoïèse et l'hémosynthèse et à une augmentation du taux de destruction d'érythrocytes des organes hématopoïétiques (**Merrouche et Belgharbi 2021**).

Résultats et discussion

7. Etude histologique :

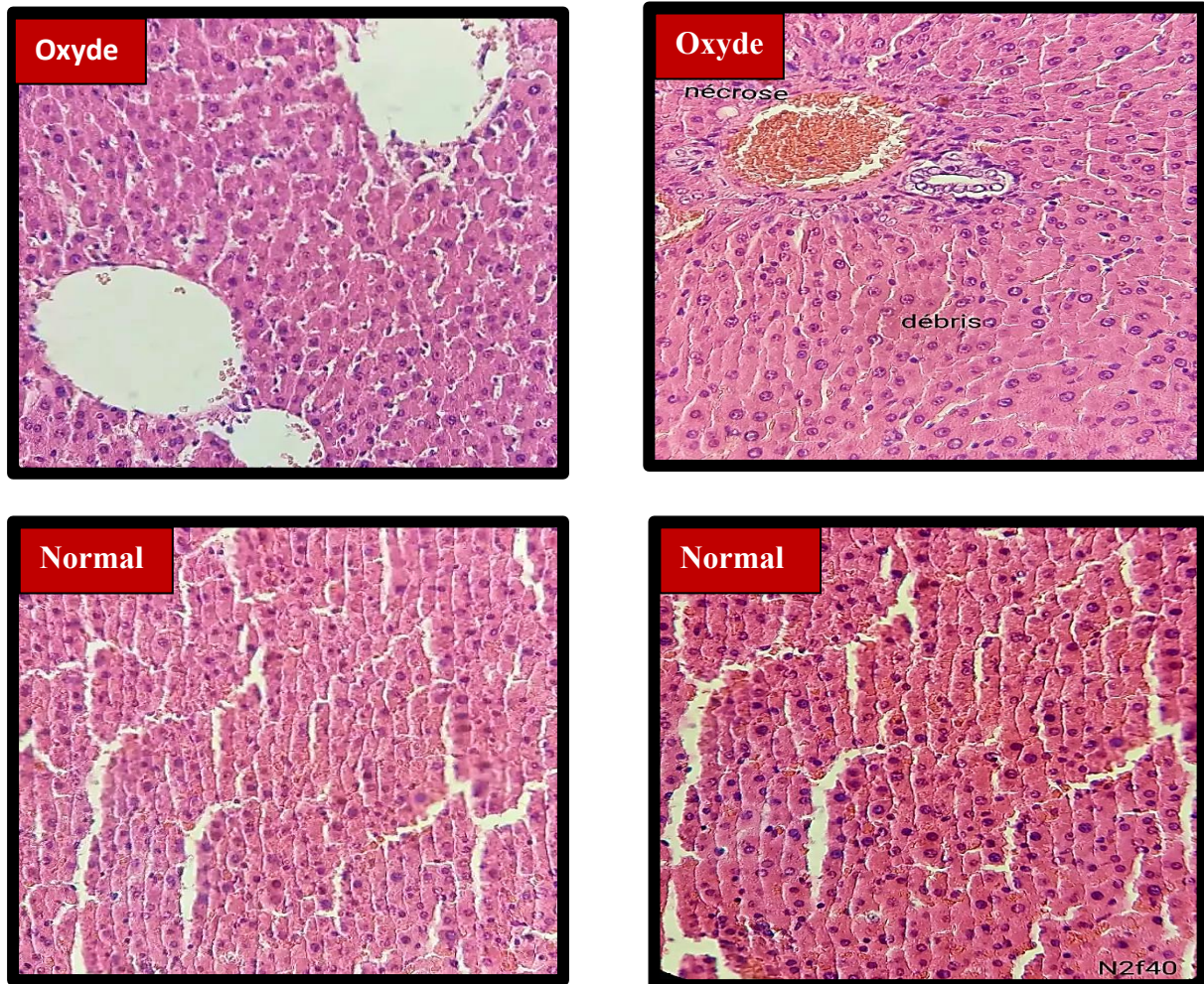


Figure37: Les cellules du foie sous microscope (normal/influencé par l'oxyde aluminium)
Grossissement X40

Pour confirmer les résultats biochimiques obtenus, on a réalisé des coupes histologiques (au niveau des tissus du foie), qui permette d'avoir une idée générale sur le pouvoir améliorative des substances actives de l'espèce *Rhamnus alaternus* L. vis-à-vis de l'intoxication provoqué par l'oxyde aluminium (**figure37**).

Le foie des rats témoins présente un aspect normal sans modification hépatique, avec un parenchyme d'architecture lobée. Chaque lobe est constitué d'hépatocytes agencés en travées de Remak disposé autour d'une veine centrale appelée veine centro-lobulaire qui reçoit le sang à partir du parenchyme hépatique au contact des sinusoides. Les travées de Remak sont constituées d'hépatocytes empilés en lames épithéliales d'une seule cellule d'épaisseur alors que les sinusoides occupent les espaces entre les travées.

Résultats et discussion

L'observation des coupes du groupe témoin traités par l'oxyde d'aluminium seulement, nous révèle des hépatocytes nécrosés ainsi que des inflammations, surtout au tour des viens portes, les viens centro-lobulaires sont dilatées avec des formes irrégulières.

Chez le groupe traité par la dose (250 et 500 mg/kg/jour) de l'extrait de *Rhamnus alaternus* L. et les groupes traités par l'oxyde aluminium plus les doses de (250 et 500mg/kg/jour) de l'extrait de *Rhamnus alaternus* L. On observe des cellules hépatiques bien définis avec des noyaux basophiles de couleur bleu violacé, donc les coupes ne montrent aucun changement significatif (G2), et présente un parenchyme hépatique normal par rapport au groupe témoin.

Les coupes histologiques présentent les mêmes structures hépatiques que le lot témoin, avec des lésions au niveau des tissus hépatiques (**figure38**), (G3). On observe aussi des nécroses entourées par des inflammations au niveau du tissu hépatique (G5) et aussi des lésions seulement au niveau des tissus des groupes traités par l'oxyde aluminium et la dose de 500 mg/kg/jour de l'extrait (G6).

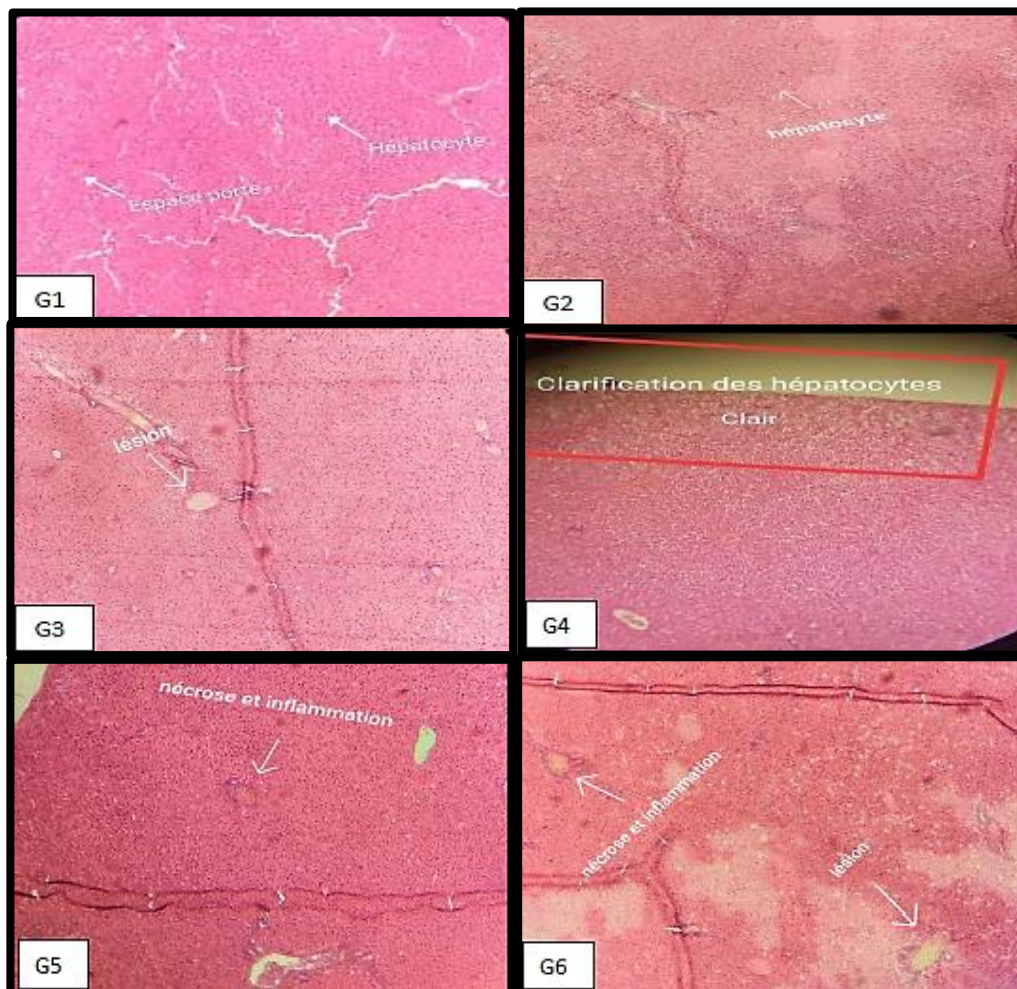


Figure 38 : Les coupes histologiques du foie des rats témoins et les rats traités après 30 jours de traitement. Grossissement X10

Résultats et discussion

L'analyse histologique du foie affirme nos résultats, ou on note que l'oxyde aluminium a induit des modifications structurales remarquables, qui ont mené à des perturbations des paramètres biochimique (**Kumari *et al.*, 2016**). Ces derniers sont la vacuolisation cytoplasmique des hépatocytes, une nécrose, une abondance remarquable d'infiltrations leucocytaires, congestion des vaisseaux sanguines et d'infiltration graisseuse. Des observations similaires ont été observées dans le foie des rats exposés aux nanoparticules d'oxyde d'aluminium et les nanoparticules de l'oxyde de zinc (**Yousefa *et al.*, 2019**) et les nanoparticules d'oxyde d'argent (**Ali *et al.*, 2022 ; Yousof *et al.*, 2022**). Ces études indiquent que les nanoparticules d'oxyde aluminium, les nanoparticules d'oxyde d'argent et d'oxyde de zinc ont des effets néfastes sur les tissus du foie.

Les résultats de l'étude histologique ont révélé l'existence des lésions légère congestive et de nature dégénérative ont été observé chez les deux groupes traités par l'extrait de la plante dose (250 et 500mg/kg/jours) mais elles sont non significatives. Ces résultats sont conformes à celle obtenus par (**Aoughlis et Mazari., 2014**).



Conclusion générale

Conclusion

Conclusion générale :

La plante *Rhamnus alaternus* L. est une espèce de plante qui fait partie de la famille des Rhamnaceae, abondamment présente dans la région méditerranéenne, reconnue pour ses nombreux effets médicaux.

Ce travail est pour étudier la capacité améliorative de la fonction hépatique de l'extrait méthanolique de la plante *Rhamnus alaternus* L. chez des rats (*Wistar albinos*) exposés aux nanoparticules d'oxyde aluminium et évaluer différents paramètres métaboliques, biochimique (protéines totales et albumines, TGP, TGO et PAL, le triglycéride et cholestérol, glycémie, la bilirubine total et directe) et quelques paramètres hématologiques (globule rouge, globule blancs, hémoglobine, hématocrite).

L'analyse phytochimique des feuilles de *Rhamnus alaternus* L. a montré une concentration en composés phénoliques est environs 13,009 µg EAG/mg ES et la concentration en flavonoïdes est 27,76 µg EAG/mg.

Enfin l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait de la plante par le piégeage du radical libre DPPH a donné une valeur de IC50 est 140µg/ml.

Après 4 semaines successifs du traitement par gavage avec une dose de 50mg/kg/jours d'oxyde aluminium et 250 et 500mg/kg/jours de l'extrait méthanolique de la plante, on a fait un prélèvement sanguin pour l'étude biochimique et hématologiques. A la base des résultats obtenus on peut conclure que ces paramètres ont subis des perturbations.

Les résultats montrent les changements suivants :

En ce qui concerne le poids corporel, nos résultats montrent que :

- Les nanoparticules d'oxyde d'aluminium ont entraîné une diminution du poids corporel, tandis que l'extrait de la plante a provoqué une augmentation de celui-ci.
- Des perturbations de poids ont été observées chez les lots traités avec les deux doses de l'extrait de la plante, que ce soit seules ou en combinaison avec les nanoparticules d'oxyde aluminium.

Concernant l'étude biochimique et hématologique, nos résultats indiquent que :

- Les nanoparticules d'oxyde d'aluminium ont provoqué une augmentation significative de la concentration sérique de la glycémie, des triglycérides, du cholestérol, des transaminases TGO, TGP et de la phosphatase alcaline (PAL), ainsi que de la bilirubine totale. En revanche, une diminution des taux de protéine et d'albumine et aucune

Conclusion

différence significative des taux de bilirubine direct, ainsi qu'une diminution des taux de glucides, protéines et lipides dans le foie, a été observée. Tandis que chez les rats traités par les deux doses, aucune différence significative n'a été observée pour la majorité des paramètres, à l'exception de l'augmentation de la concentration sérique des protéines, de la TGP et de la PAL et de la diminution des taux de glucides dans le foie.

- Une diminution des taux de globules blancs et rouges a été observée chez les rats traités avec la dose de 250 mg/kg/jour, tandis qu'aucun changement n'a été remarqué chez les rats traités avec la dose de 500 mg/kg/jour tandis qu'une augmentation des globules blancs a été observée chez tous les rats traités avec l'oxyde d'aluminium. Cependant, une diminution des autres paramètres hématologiques a été noté chez les rats traités avec l'oxyde d'aluminium uniquement.
- L'étude histologique confirme que les rats traités avec les nanoparticules d'oxyde d'aluminium présentaient des nécroses entourées d'inflammations, tandis qu'aucun changement n'a été observé chez les rats traités avec la plante seule. De plus des lésions légères non grave ont été observé chez les rats traités par la combinaison.

Ce travail marque le début de recherches futures sur les effets des extraits du *Rhamnus alaternus* L. En termes de perspectives, les propositions sont les suivantes :

- ✓ Augmenter le nombre des rats.
- ✓ Envisager l'utilisation d'autres espèces animales et de modèles expérimentaux.
- ✓ Analyser d'autres enzymes hépatiques telles que la SOD, le glutathion, et la catalase...
- ✓ Étendre le champ de recherche pour explorer d'autres activités, telles que l'activité antimicrobienne, antivirale, anti enzymatique, antidiabétique et cytotoxique.
- ✓ Explorer d'autres zones de récolte de la plante.



**Référence
bibliographique**

Références bibliographiques

A

- **Abbassy, M. A., Mossa, A. H. (2012).** Haemato-biochemical effects of formulated and technical Cypermethrin and deltamethrin insecticides in male rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 7(7), 312-321.
- **Abou Zeid, C., Yi, L., Kaler, S. G. (2020).** Copper metabolism and the liver. In *The Liver* (pp. 207-214).
- **Aronne, G., & Wilcock, C. C. (1995).** Reproductive lability in pre-dispersal biology of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae). *Protoplasma*, 187, 49-59.
- **Ait Youssef, M. (2006).** *Plantes médicinales de Kabylie*. Edition Ibis Press. ISBN: 978-9961-57-259-7.
- **Ali, H., Hasan Ali Aljezani, I. (2022).** Cytotoxicity assessment of silver nanoparticles on the liver and spleen of female rats. *Journal of Medical and Life Science*, 4(3), 53-60.
- **Aoughlis, S., & Mazari, N. (2014).** Étude de la toxicité sub-chronique de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* sur des rats Wistar. Université ABDERRAHMANE MIRA- Bejaïa, 28-39.
- **Arts, I. C., Hollman, P. C., Feskens, E. J., & Bueno de Mesquita, H. B. (2000).** Review article: The antioxidant properties of herbs/spices, teas and medicinal plants. *Free Radical Research*, 32(4), 291-302.

B

- **Khettal, A. B., Zaidi, M., Tacherfiout, W., Sobhi, W. (2014).** Effet des extraits de feuilles de *Rhamnus alaternus* à activités antioxydante et antilipasique sur la masse corporelle et le métabolisme des lipides des souris nourries avec un régime enrichi en glucides. Volume 28, Supplement 1, Pages S149-S150.
- **Bacon, B. R., Adams, P. C., Kowdley, K. V., Powell, L. W., Tavill, A. S., American Association for the Study of Liver Diseases. (2011).** Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*, 54(1), 328-343.
- **Baig, N., Kammakakam, I., Falath, W. (2021).** Nanomaterials: A review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges.

Référence bibliographique

- **Bas, J.-M., Gómez, C., & Pons, P. (2005).** Fruit production and predispersal seed fall and predation in *Rhamnus alaternus* (Rhamnaceae). *Acta Oecologica*, 27, 115–123.
- **Boussekine, R., Draoui, M., Guerfi, A., Guessabi, S. (2020).** L'effet néphro-protecteur de l'extrait de la plante *Cupressus sempervirens* L. vis-à-vis la néphro-toxicité induite par un pesticide, mémoire de biologie, Université de Skikda 20 Août 1995.
- **Beloued, A. (2001).** Les plantes médicinales d'Algérie. Ben Aknoun, Alger: Ed. OPU.
- **Ben Ammar, R., Bhourri, W., Ben Sghaier, M., Boubaker, J., Skandrani, I., Neffati, A., Bouhlel, I., Kilani, S., Mariotte, A. M., Chekir-Ghedira, L., Dijoux-Franca, M. G., & Ghedira, K. (2009).** Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): A structure activity relationship study. *Food Chemistry*. (In press)
- **Bortolomeazzi, R., Sebastianutto, N., Toniolo, R., & Pizzariello, A. (2007).** Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging, and oxidation potential. *Food Chemistry*, 100, 1481-1489.
- **Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantification of micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 278-284.
- **Ben Ammar, R., Kilani, S., Bouhlel, I., Ezzi, L., Skandrani, I., Boubaker, J., Ben Sghaier, M., Naffeti, A., Mahmoud, A., Chekir-Ghedira, L., & Ghedira, K. (2008).** Antiproliferative, antioxidant, and antimutagenic activities of flavonoid-enriched extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* L.: Combination with the phytochemical composition. *Drug and Chemical Toxicology*, 31, 61-80.
- **Ben Ammar, R., Kilani, S., Bouhlel, I., Skandrani, I., Naffeti, A., Boubaker, J., Ben Sghaier, M., Bhourri, W., Mahmoud, A., Chekir-Ghedira, L., et al. (2007).** Antibacterial and cytotoxic activities of extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* (Rhamnaceae). *Annals of Microbiology*, 57, 453-460.
- **Ben Ammar, R., Kilani, S., Abdelwahed, A., Hayder, N., Mahmoud, A., Chibani, J., Chekir-Ghedira, L., & Ghedira, K. (2005).** In vitro mutagenicity, antimutagenicity, and free radical scavenging activities of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae) extracts. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(3), 439-445.
- **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. 3e édition. TEC et DOC : Lavoisier, Paris. ISBN 2-7430-0315-4: 227-387.

Référence bibliographique

- **Benchiha, W. (2015).** Phyto-écologie et étude biochimique des composants phénoliques (traitement in vivo contre l'hépatite) de *Rhamnus alaternus* L. des monts de Tessala, Wilaya de Sidi Bel Abbès.
- **Bensidhoum, C., & Brahmi, F. (2014).** L'activité antioxydante et hépatoprotectrice de l'extrait éthanolique de *Rhamnus alaternus* sur la toxicité hépatique induite par Klipal chez les rats Wistar albinos. Université Abderrahmane Mira Bejaia, 49-55.
- **Bhourri, W., Ben Sghaier, M., Kilani, S., Bouhlel, I., Dijoux-Franca, M.-G., Ghedira, K., Chekir, L. (2011).** Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity of two flavonoids from *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): Kaempferol 3-O-b-isorhamninoside and rhamnocitrin 3-O-B-isorhamninoside. Food and Chemical Toxicology, 49, pp. 1167-1173.
- **Bhourri, W., Boubaker, J., Kilani, S., Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2012).** Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity of two flavonoids from *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): Kaempferol 3-O--isorhamninoside and rhamnocitrin 3-O-B-isorhamninoside. South African Journal of Botany, 80, 57-62.



- **Cassee, F., Tran, C., Baeza-Squiban, A., De Vizcaya-Ruiz, A., Pietroiusti, A., Hoet, P., Schwarze, P., Kuhlbusch, T., Jensen, K., Kreyling, W., Vogel, U., Schins, R., Møller, P., Mills, N., Elder, A., Clift, M., Miller, M., & Stone, V. (2016).** Nanomaterials vs Ambient Ultrafine Particles: An Opportunity to Exchange Toxicology Knowledge. Environmental Health Perspectives.
- **Chancerel, L. (1920).** Flore forestière du globe. Gauthier-Villars.
- **Wei, B. L., Lin, C. N., & Won, S. J. (1992).** Nakahalene and cytotoxic principles of Formosan *Rhamnus* species. Journal of Natural Products, 55(7), 967-969.
- **Aronne, G., & Wilcock, C.-C. (1995).** Reproductive lability in pre-dispersal biology of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae) Protoplasma, 187, 49-59.
- **Chebil, O. (2014).** Interactions et mobilité des organes abdominaux sous sollicitations dynamiques : Approche expérimentale et numérique.
- **Cheltit, W. (2021).** Étude de toxicité d'Al₂O₃-NPs et leur impact sur le système cardiovasculaire, Université de Larbi Tébessi, 42-55.
- **Chiang, J. Y. (2009).** Bile acids: regulation of synthesis. Journal of Lipid Research, 50(10), 1955-1966.

Référence bibliographique

- **Cichoż-Lach, H., & Michalak, A. (2014).** Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 20(25), 8082-8091.
- **Cuoco G., Mathe C. & Vieillescazes C. (2014).** Liquid chromatographic analysis of flavonol compounds in green fruits of three *Rhamnus* species used in Stil de grain. *Journal of Microchemical*, 115, 130-137.
- **Chira K, Suh JH, Saucier C, Teissède PL (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6, 75-82.

D

- **Debeaux, J.O. (1984).** Flore de la Kabylie du Djurdjura, ou, Catalogue méthodique et raisonné de toutes les plantes vasculaires et spontanées observées jusqu'à ce jour dans cette contrée. Ed. P. Klincksieck, Paris. pp. 81-82.
- **Djeridane A., Yous M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stacker P., Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plant extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, vol. 97, pp. 653-660.
- **Dobias J. (2004).** Fonction et Localisation d'Atrpx42, une peroxydase de classe III.
- **Duchateau G. et Folking M. (1959).** Sur la thréalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Int. Physiol. Biochem*, 67, 306.

F

- **Elkhadrawey B., El-Bialy B., Abou-Zeid S., El-Borai N., Elsabbagh H. (2021).** Potential Toxic Effects of Aluminum Nanoparticles: An Overview. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 39(2), 94-106.
- **Ercisli S., Orhan E., Ozdemir O., Sengul M. (2007).** The Antioxidant and Antimicrobial Properties of the Methanol Extract of *Rhamnus alaternus* L. Leaves. *Journal of Medicinal Food*, 10(4), 668-673.
- **Esterbauer H., Gebicki J. (1999).** PUFAs: structures, occurrence, and their contribution to oxidative stress. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 469, 77-87.
- **Exley C. (2017).** Aluminium and Human Health: A Comprehensive Review. *Deutsches Ärzteblatt International*, 114(39), 653-659.



- **Farina M., Ratta L.N., Soares F.A.A., Jardim F., Jacques R., Souza D.O., Rocha J.B.T. (2005).** Hematology in rats chronically exposed to oral aluminium. *Toxicology*, 209, 29-37.
- **Fernandez N.J., Kidney B.A. (2007).** Alkaline phosphatase: Beyond the liver. *Veterinary Clinical Pathology*, 36(3), 223-233.
- **Fu P.P., Xia Q., Hwang H.M., Ray P.C., Yu H. (2014).** Mechanisms of nanotoxicity: Generation of reactive oxygen species, 65-75.



- **Chuto G., Chaumet-Riffaud P. (2010).** Médecine Nucléaire. Volume 34, Pages 370-376.
- **Goldsworkey G.J., Mordue W., Guthkelsh J. (1972).** Studies on insect adipogenic. *Comparative Endocrinology*, 18(3), 545.
- **Ghellab M. (2021).** Nanotoxicité et réponse hépatique aux nanoparticules d'oxyde d'aluminium (Al₂O₃). Université de Larbi Tébessi – Tébessa.
- **Gherardi R.K., Coquet M., Cherin P., Authier F.J. (2015).** La myofasciite à macrophages : une conséquence de l'injection de l'aluminium contenu dans les vaccins. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, 199(4-5), 389-402.
- **Gill SS, Tuteja N. (2010).** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909-930.
- **Gubb A.S. (1913).** La flore algérienne, naturelle et acquise. Ed. A. Jourdan, Alger, 16-17p.
- **Guillet B., Faivre P., Mariotti A., Khobzi J. (1988).** The ¹⁴C dates and the ¹³C/¹²C ratio of soil organic matter for studying the past vegetation in intertropical regions. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 65(2), 51-58p.
- **Gulias J., Travesset A., Riera N., Mus M. (2004).** Critical stages in the recruitment process of *Rhamnus alaternus* L. *Annals of Botany*, 93, 723-731.



Référence bibliographique

- **Halliwell, B., & Gutteridge, J. (2015).** Free Radicals in Biology and Medicine (5th ed.). Oxford University Press.
- **Hamiani, A. (2018).** L'Etude chimique et pharmacologique de quelques familles de plantes médicinales Algériennes. Oran (Algérie). Université de Oran 1.
- **Hechache, K., & Khelloufi, S. (2013).** Étude de l'effet de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* sur l'hyperlipidémie induite par le triton WR-1339 chez les rats *Wistar*.

Q

- **Arias, I. M. (2009).** The liver biology and pathobiology (5th ed.).
- **Izhaki, I., Tsahar, E., Irena, P., & Jacob, F. (2002).** Within population variation and interrelationships between morphology, nutritional content, and secondary compounds of *Rhamnus alaternus* fruits. *Journal of New Phytologist*, 156, 217-223.

J

- **Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto Jr., G. J., & Stryer, L. (2015).** Biochemistry (Chapter 30: The Biosynthesis of Amino Acids).
- **Grisham, J. W. (2009).** Organizational Principles of the Liver. In *The Liver Biology and Pathobiology, Fifth Edition* (pp. 1-15).
- **Jain, S., Patil, U. K. (2010).** Phytochemical and pharmacological profile of *Cassia tora* Linn. - An Overview. *Indian Journal of Natural Products Research*, 1, 430-437.

K

- **Khengui, K.-E., & Kimfoko Nkombo. (2022).** Evaluation de l'activité hépatoprotectrice de l'espèce *Rhamnus alaternus* sur les rats traités au CCL4.
- **Kawasaki, I., Jeong, M. H., Oh, B. K., & Shim, Y. H. (2010).** Apigenin inhibits larval growth of *Caenorhabditis elegans* through DAF-16 activation. *FEBS Letters*, 584, 3587-3591.
- **Kosalec, I., Kremer, D., Locatelli, M., Epifano, F., Genovese, S., Carlucci, G., Randic, M., & Zovko Končić, M. (2013).** Anthraquinone profile, antioxidant, and antimicrobial activity of bark extracts of *Rhamnus alaternus*, *R. fallax*, *R. intermedia*, and *R. pumila*. *Journal of Food Chemistry*, 136, 335-341.

Référence bibliographique

- **Kumari, S. A., Madhusudhanachary, P., Patlolla, A. K., & Tchounwou, P. B. (2016).** Hepatotoxicity and Ultra Structural Changes in Wistar Rats treated with Al₂O₃ Nanomaterials.

L

- **Lazo, M., & Clark, J. M. (2008).** The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: A global perspective. *Seminars in Liver Disease*, 28(4), 339-350.
- **Li, S., Tan, H.-Y., Wang, N., Zhang, Z.-J., Lao, L., Wong, C.-W., & Feng, Y. (2015).** The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *Antioxidants*, 4(2), 26087-26124.

M

- **Malé, C. (2016).** La myofasciite à macrophages et le rôle de l'aluminium d'origine vaccinal.
- **Martin, C., Vallet, B., & Riou, B. (2017).** *Physiologie humaine appliquée* (2e édition). Arnette-John Libbey Eurotext.
- **Merchant, F. A., McCormick, J. J., Smith, J. M., & Santanam, N. (2017).** Oxidative Stress in Cancer and Fibrosis: Opportunity for Therapeutic Intervention with Antioxidants. *Physiological Genomics*.
- **Merrouche, K., & Belgharbi, H. (2021).** Contribution à l'étude de la toxicité de l'aluminium chez les rats mémoire biologie, Université L'arbi Ben M'hidi Oum el bouaghi.
- **Mhadhbi, L., Kchaou, W., Bahloul, N., & Sahnoun, Z. (2016).** Antioxidant activity and phenolic content of *Rhamnus alaternus* L. leaves growing in Tunisia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(9), 732-737.

N

- **Nel, A., Xia, T., Malder, L., Li, N. (2006).** Toxic Potential of Materials at the Nanolevel. *Science*, 311(5761), 622-627.
- **Nelson, D.L., Cox, M.M. (2017).** *Lehninger Principles of Biochemistry*. W.H. Freeman and Company. Pages 238-239.
- **Nowack, B., & Bucheli, T. D. (2007).** Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution*, 150(1), 5-22.

P

- **Peters, T. (1995).** All About Albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications. San Diego, CA: Academic Press.
- **Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008).** Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89-96.
- **Workman, P., Aboagye, E. O., Balkwill, F., Balmain, A., Bruder, G., Chaplin, D. J., Double, J. A., Everitt, J., Farningham, D. A. H., Glennie, M. J., Kelland, L. R., Robinson, V., Stratford, I. J., Tozer, G. M., Watson, S., Wedge, S. R., Eccles, S. A., & An ad hoc committee of the National Cancer Research Institute. (2010).** Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. *British Journal of Cancer*, 102(11), 1555–1577.
- **Postic, C., Dentin, R., & Girard, J. (2004).** Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. *Diabetes & Metabolism*, 30(5), 398-408.

Q

- **Quezel, P., & Santa, S. (1962).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Tome I. CNRS Editions, Paris, France. 565p.

R

- **Rafael Monteiro F, Luciana Guimarães Eiró, Victória dos Santos Chemelo, María Olimpia Paz Alvarenga, Rafael Rodrigues Lima. (2021).** Aluminum toxicity and oxidative stress. In *Toxicology* (pp. 127-135).
- **Ribeiro, A. M., Andrades, M. E., Alves, M. J., Soares, G. M., Teixeira, A. L., & Monteiro, M. C. (2017).** Oxidative Stress and Metabolic Diseases: Epidemiological Evidence, Pathophysiological Mechanisms, and Potential Therapeutic Targets. *Redox Biology*, 12, 582-612.
- **Richardson J. E., Fay M. F., Cronk Q. C. B., Bowman D., & Chase M. W. (2000).** A phylogenetic analysis of Rhamnaceae using rbcL and trnL-F plastid DNA sequences. *American Journal of Botany*, 87, 1309-1324.
- **Rouault, T. A., Gordeuk, V. R., & Anderson, G. J. (2020).** The Central Role of the Liver in Iron Storage and Regulation of Systemic Iron Homeostasis. In *The Liver* (pp. 215-228).



- **Shils, M. E., Olson, J. A., Shike, M., Ross, A. C. (Eds.). (1999).** Modern Nutrition in Health and Disease, 9th edition. Lippincott, Williams & Wilkins. Section C: Vitamins.
- **Shibko, S., Kaivistoinen, P., Tratnyck, C. A., Newhell, A. R., & Freidman, L. (1966).** A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid, and glycogen from a single rat liver homogenate and from a subcellular fraction. *Analytical Biochemistry*, 19, 514-528.
- **Sies, H. (1997).** Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82(2), 291-295.
- **Singh, R., Sharma, A., & Alhewairini, S. S. (2019).** Oxidative Stress and Its Implications in the Pathogenesis and Treatment of Asthma. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 452(1-2), 81-92.
- **Spichiger, R. (2004).** Préface. In: Aeschimann, D., Lauber, K., Moser, D. M., & Theurillat, J-P. *Flora alpina. Atlas des 4500 plantes vasculaires des Alpes* (pp. 7-8). Belin, Paris.
- **Spichiger, R., Savolainen, V., Figeat, M., & Jeanmonod, D. (2004).** Systematic Botany of Flowering Plants. Science Publisher, Inc. Genève. 184p.
- **Stadtman, E. R. (1992).** Protein oxidation and aging. *Science*, 257(5074), 1220-1224.
- **Stefan, N., Fritsche, A., Weikert, C., Boeing, H., Joost, H. G., Häring, H. U., & Schulze, M. B. (2008).** Oxidative Stress and Insulin Resistance: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study. *Diabetes Care*, 31(3), 652-657.
- **Stocker, P., Yousfi, M., Djerridane, O., Perrier, J., Amziani, R., El Boustani, S., & Moulin, A. (2004).** Effect of flavonoids from various Mediterranean plants on enzymatic activity of intestinal carboxylesterase. *Biochimie*, 86(12), 919-925.



- **Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- **Vítek, L. (2012).** The role of bilirubin in diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 3, 55.

Référence bibliographique

- **Viviana, V. L., Angelica, T. B., Lina, G. M., Alejandro, M., & Marisol, R. L. (2015).** Acute restraint stress and corticosterone transiently disrupt novelty preference in an object recognition task. *Behavioural Brain Research*, 291, 60-66.

W

- **Whitfield, J. B. (2001).** Gamma glutamyl transferase. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 38(4), 263-355.
- **Wilson, K., & Walker, J. (Eds.). (2018).** *Clinical Biochemistry: Principles and Methods*. Elsevier.
- **Wong, C. C., Li, H. B., Cheng, K. W., Chen, F. (2006).** A systematic survey of Antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry*, 97, 705-711.

Y

- **Yadav, U. C. S., & Ramana, K. V. (2013).** Regulation of NF- κ B-Induced Inflammatory Signaling by Lipid Peroxidation-Derived Aldehydes, 1-11.
- **Yelten, Y. (2020).** Recent Advances in Aluminum Oxide Nanoparticles: Synthesis and Applications. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, 45(1), 1-23.
- **Yi-ling C and Pan-Kai C. (1982).** Rhamnaceae. In: Chen Yi-ling, ed., *Fl. Reipubl. Popularis Sin.* 48 (1):1-169.
- **Yohan Rolland. (2004).** Antioxydants naturels végétaux, 419-424.
- **Yokel, R. A., & Macphail, R. C. (2001).** Engineered nanomaterials: exposures, hazards, and risk prevention. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 14(1), 1-8.
- **Yousef, M. I., Mutar, T. F., & Kamel, M. A. E. (2019).** Hepato-renal toxicity of oral sub-chronic exposure to aluminum oxide and/or zinc oxide nanoparticles in rats, 337-346.
- **Yousefa, M. I., Mutara, T. F., & Kamelb, M. A. E. (2019).** Hepato-renal toxicity of oral sub-chronic exposure to aluminum oxide and/or zinc oxide nanoparticles in rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 9(8), 008-015.
- **Yousof, S. M., Erfan, H., Hosny, M. M., Shehata, S. A., El-Sayed, K. (2022).** Subacute toxic effects of silver nanoparticles oral administration and withdrawal on the

Référence bibliographique

structure and function of adult Albino Rats' hepatic tissue. Saudi Journal of Biological Sciences, 29(5), 3890-3898.

Site d'internet

Anonyme 01 :

- <https://identify.plantnet.org/ar/the-plant-list/species/Rhamnus%20alaternus%20L./data>

Anonyme 02 :

- https://www.google.com/search?q=lobule+du+foie&client=opera&hs=ClS&tbm=isch&source=Inms&sa=X&ved=2ahUKEwj-tamv4dn_AhUrVaQEhfWNAKgQ0pQJegQIDRAE&biw=1491&bih=826&dp r=1.1#imgrc=JPt_myOWXzcmwM