

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



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: Science Biologique

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

*Contribution à l'étude de l'effet protecteur de
la plante médicinale Rhamnus alaternus L contre
La néphrotoxicité induit par les nanoparticules
d'oxyde d'aluminium*

Présenté Par :

- M^{elle} Manaa Amani
- M^{elle} Bouhedja Hanane
- M^{elle} Nouicer Meriem
- M^{elle} Ouatouat Asma

Membre de Jury:

- | | | |
|---------------------------|-----------|--------------------------------|
| - Boulkenafet Fouzi (MCA) | Président | Univ. du 20 Août 1955 – Skikda |
| - Mellahi Lamia(MAA) | Promoteur | Univ. du 20 Août 1955 – Skikda |
| - Benzazia Samia (MCB) | Examineur | Univ. du 20 Août 1955 – Skikda |

Année universitaire 2022/2023

Remerciement

Avant tout, nous remercions en premier lieu ALLAH le tout puissant de nous avoir illuminés et ouvert les voies du savoir et pour nous avoir accordé la volonté et le courage pour élaborer notre travail.

Au terme de ce modeste travail nous tenons tous particulièrement à témoigner notre profonde gratitude à notre encadreur Madame «Mallahi Lamia» de nous faire orienter et partager ses connaissances qui ont été très utiles et pour ses précieux conseils et encouragements.

Nous remercions et saluons vivement nos membres de jury Monsieur «Boulkenafet Fouzi », d'avoir accepté de présider le jury de soutenance, hommage respectueux,

Nous souhaitons adresser nos remerciements à Madame «Benzazia Samia», qui a bien voulu examiner ce travail. Ces remarques nous seront d'une grande utilité.

Nous tenons évidemment à remercier l'ensemble d'équipe de laboratoire du hall technologique de l'université 20 août 1955, et le laboratoire de " Dr.Bouhdjila " Harouche pour leur disponibilité, leurs conseils et leurs confiances. Un grand merci à l'ensemble des enseignants-chercheurs du département de la SNV en générale et en particulier à Mr «Aouzal Badis ».

Enfin, nous remercions tous ceux qui déparé ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

*Avec amour, affection, sincérité et gratitude, je dédie cet humble travail:
À ma chère mère Warda, qui a travaillé dur et est restée éveillée toute la
nuit pour que j'atteigne ce moment.*

*À celui qui a consacré sa vie et à élever et éduquer ses enfants, à mon cher
père Mebarek, que Dieu prolonge sa vie et lui accorde une bonne santé.*

*À mes frères : Chouaib, Chakib, Charaf et ma petite sœur Mahassine qui
étaient comme la lampe qui éclairent mon chemin et le cœur tendre qui
écoute ma plainte. À tous les proches et tous les amis (Nouha, Hiba, Rania,
Sabaa, Meriem, Bessma,) et à la famille qui m'ont laissé un impact positif
dans ma vie.*

À mon trinôme: Hanane, Amani, Asma.

*À tous les enseignants honorables, les bougies qui brûlent pour éclairer le
chemin des autres.*

*À tous les étudiants en biochimie appliquée qui m'ont accompagné mon
parcours universitaire, je prie pour eux Bon courage dans leur
vie professionnelle et familiales.*

*Enfin et surtout, je prie Dieu Tout Puissant pour que notre recherche soit
acceptée et couronnée de succès.*

Meriem

Dédicace

Je remercie en premier Allah de m'avoir donné la force, volonté et la patience durant toutes mes années d'étude.

Je dédie ce modeste travail :

A ma chère mère source d'amour et d'affection Wassila Boulesnane qui ma toujours témoignée son sacrifice et sa bénéficiassions dans les moments les plus importants de ma vie.

A mon très cher père Ahmed qui m'a toujours soutenu et aidé, il était toujours à mes côtés, depuis mon enfance.

Qu'Allah les garde et protège.

A ma chère sœur Chaima qui n'a pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.

Mon adorable petit frère Abd el Rahim qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

À mes grands-parents

A mon fiancé : Hani

A mon trinôme: Hanane, Meriem, Asma

A mon amie : Lamis

Mes camarades de la promotion de la classe de 2ème année master biochimie appliquée

A toutes les personnes que j'aime

Amani



Dédicace

*D'abord, je remercie Dieu de m'avoir permis de
le faire, et je dédie cet humble travail à mes
parents bien-aimés et à mes chers frères, que
Dieu les protège, ainsi qu'aux amis et à tous mes
chers collègues et à tous mes proches, et nous ne
devons pas oublier les honorables professeurs
qui ont joué un grand rôle en me soutenant et en
me fournissant des informations*

Asma

Dédicace

Je remercie en premier lieu Allah le miséricordieux de m'avoir donnée la force, Volonté et la patience durant toutes mes années d'étude.

Je dédie ce modeste travail :

A ma chère mère Nadia qui m'a toujours témoigné son sacrifice et sa Bénéficiassions dans les moments les plus importants de ma vie.

A mon cher père Brahim qui m'a toujours soutenu et aidé, il était toujours

À mes côtés, depuis mon enfance pour que je réussisse.

Que Allah les gardes et les protégés.

A mon cher frère : Anouar

A tous les membres de ma famille Bouhedja et Chaouch

A ma trinôme: Amani, Meriem, Asma

A mes amies: Lamis et Silia

Mes camarades de la promotion de la classe de 2ème année master

Biochimie appliquée

A tous les personnes que j'aime

Hanane

Sommaire

Résumé	
ملخص	
Abstract	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1

Synthèse Bibliographique

I. Oxyde d'aluminium	3
1. La définition.....	3
2. Les propriétés des nanoparticules d'oxyde d'aluminium... ..	3
3. Domaine d'utilisation.....	4
4. Production d'oxyde d'aluminium... ..	5
5. Toxicité d'oxyde d'aluminium... ..	5
6. Nanoparticules... ..	6
II. Rhamnus alaternus L	6
1. Définition... ..	6
2. Classification.....	7
3. Nomenclature.....	8
4. Caractéristiques.....	8
5. Ecologie répartition géographique	8
6. Propriétés biochimiques et les compositions chimiques et biochimiques... ..	8
➤ Les Polyphénols... ..	10
1. Définition... ..	10
2. Classification.....	10
2.1. Les acides phénoliques... ..	10
A. Les acides hydroxybenzoïques.....	10
B. les acides hydroxycinnamiques	10
2.2. Les flavonoïdes... ..	11
3. Biosynthèse de polyphénols.....	11

3.1. La voie de l'acide shikimique	11
3.2. La voie de l'acétate	11
4. Propriétés antioxydantes de polyphénols	11
7. Phytothérapie	12
8. Toxicité	12
III. Le rein.....	13
1. Anatomie.....	13
1.1. Anatomie Macroscopique	13
1.2. Anatomie Microscopique.....	14
1.2.1. Le néphron	14
1.3.1.1. Le corpuscule de Malpighi.....	15
A. Capsule glomérulaire (capsule de Bowman).....	15
B. Glomérule (capillaires glomérulaires).....	15
2. Innervation	17
3. Physiologie du rein	17
3.1. Fonction du rein	17
3.2. Filtration glomérulaire	19
3.2.1. Mécanisme de la filtration glomérulaire	19
4. L'insuffisance rénale	20
A. L'insuffisance rénale chronique (IRC)	20
B. L'insuffisance rénale aiguë (IRA)	20
4.1. Les causes.....	20
4.2. Les symptômes.....	20

Partie Expérimentale

❖ Objectif.....	22
I. Matériel et Méthodes	
➤ Matériel.....	22
1. Matériel végétale.....	22
2. Matériel animale	22
3. Matériels et produit du laboratoire utilisé.....	23
➤ Méthodes.....	23
1. Préparation de la matière végétale : récolte, séchage et broyage.....	23
2. Préparation de l'extrait brut	24
2.1. Macération hydro- alcoolique	24
2.2. Evaporation.....	24
2.3. Séchage de l'extrait brut.....	25

3. Infusion	25
4. Dosage de polyphénol, flavonoïde	25
4.1. Dosage des polyphénols totaux.....	25
4.2. Dosages des flavonoïdes totaux	26
5. Activité antioxydante de la plante.....	26
6. Préparation des nanoparticules d'oxyde d'aluminium.....	27
7. Préparation des animaux	28
8. Traitement des rats.....	28
9. Sacrifice des animaux	29
9.1. Prélèvement de sang	29
9.2. Prélèvement des organes.....	31
10. Paramètres biochimiques	32
10.1. Dosages des glucides.....	33
10.2. Dosages des protéines.....	34
11. Techniques Anato-mo-histologie.....	34
II. L'étude statistique.....	36
❖ Objectif.....	37
III. Résultat et Discussion.....	37
1. Teneur en composés phénoliques	37
1.1. Teneur en polyphénols.....	37
1.2. Teneur en flavonoïdes.....	38
2. Activité antioxydants	39
3. Gain de poids.....	40
4. Paramètres biochimiques.....	41
4.1. Glycémies.....	41
4.2. Bilan rénal (créatinine, acide urique, urée).....	43
4.3. Protéines totale et Albumines.....	45
5. Paramètres hématologiques (GR, GB, HB, HT).....	46
6. Paramètres des métabolites.....	47
7. L'étude histologique	49
Conclusion	53
Références bibliographiques.....	54

Résumé

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence la relation entre l'intoxication rénale par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et l'effet protecteur de la plante médicinale *Rhamnus alaternus* L.

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 (27,76 µg/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), donc une faible pouvoir d'activité.

Pour la réalisation de cette étude, nous avons utilisés les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et les doses de la plante *Rhamnus alaternus* L, synchroniquement pendant 28 jours par voie orale, sur des rats femelles de souche *Wistar Albinos*, au nombre de 42 rats, et pesants environ 90 à 120 g. Les rats sont divisés en 6 groupes à l'ordre de 7 rats par groupe. Le premier groupe a servi comme témoin, la deuxième et troisième groupe traité par les doses de *Rhamnus alaternus* L 250 et 500 mg /kg /jour, la quatrième groupe traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium 50 mg /kg /jour, la cinquième et sixième groupe traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et les doses de la plante 250 et 500 mg /kg /jour.

Les résultats obtenus à la fin de notre expérimentation ont montré que le traitement par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium peut causer une diminution remarquable du gain de poids des rats et des troubles rénales par l'augmentation du taux de l'acide urique, l'urée, glycémie, le nombre des globules blanc et diminué les protéines totales et pour la créatinine et l'albumine aucune différence significative. On a enregistré aussi une réduction des paramètres d'hématologiques (globules rouges, Hémoglobine et Hématocrite).

Le traitement des rats par *Rhamnus alaternus* L induit une importante restauration des certains paramètres biochimiques (glycémie, l'acide urique, urée) et le nombre des globules blanc ce qui montre l'effet protecteur de cette plante, et on montre aucun effet sur les paramètres suivent: les protéines totales, albumines et les paramètres d'hématologiques (globules rouges, Hémoglobine et Hématocrite).

Mots clés: Nanoparticules d'oxyde d'aluminium, *Rhamnus alaternus* L, polyphénols, flavonoïdes, DPPH.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو إبراز العلاقة بين التسمم الكلوي بـ *les nanoparticules d'oxyde d'aluminium* والتأثير الوقائي للنبات الطبي *Rhamnus alaternus L*.

أظهر التحليل الكيميائي النباتي للجزء الجوي من مستخلص الأنواع النباتية المدروسة المستقلبات الثانوية التالية: البوليفينول (13) ميكروغرام / EAG / مجم (ES) والفلافونويد (27.76 ميكروغرام / مكافئ / مجم (ES) و تقييم التأثير المضاد للأكسدة لـ أعطى هذا المستخلص عن طريق محاصرة الجذور الحرة DPPH قيمة عالية لـ (140 IC50 ميكروغرام / مل) ، وبالتالي فاعلية منخفضة من النشاط.

لإجراء هذه الدراسة ، استخدمنا *les nanoparticules d'oxyde d'aluminium* وجرعات نبات *Rhamnus alaternus L* ، بشكل متزامن لمدة 28 يوماً عن طريق الفم ، على إناث الفئران من سلالة *Wistar Albinos* ، وعددها 42 جرّداً ، وتزن حوالي 90 إلى 120 جراماً. تنقسم الفئران إلى 6 مجموعات بترتيب 7 فئران لكل مجموعة. استخدمت المجموعة الأولى كعنصر تحكم ، المجموعة الثانية والثالثة عولجت بجرعات من *Rhamnus alaternus L* 250 و 500 مجم / كجم / يوم ، المجموعة الرابعة عولجت بـ 50 *les nanoparticules d'oxyde d'aluminium* مجم / كجم / يوم ، المجموعة الخامسة والسادسة عشرة عولجت مع *les nanoparticules d'oxyde d'aluminium* وجرعات النبات 250 و 500 ملغم / كجم / يوم.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في نهاية تجربتنا أن العلاج *les nanoparticules d'oxyde d'aluminium* يمكن أن يسبب انخفاضاً ملحوظاً في زيادة الوزن لدى الفئران واضطرابات الكلى عن طريق زيادة مستوى حمض البوليك و اليوريا ونسبة السكر في الدم وعدد خلايا الدم البيضاء وانخفاض البروتين الكلي و للكرياتينين والألبومين لا فرق كبير. كما تم تسجيل انخفاض في معايير الدم (خلايا الدم الحمراء والهيموجلوبين والهيماتوكريت).

يحفز علاج الجرذان باستخدام *Rhamnus alaternus L* استعادة مهمة لبعض المعايير الكيميائية الحيوية (نسبة السكر في الدم ، وحمض البوليك ، و اليوريا) وعدد خلايا الدم البيضاء ، مما يدل على التأثير الوقائي لهذا النبات ، ولا يظهر أي تأثير على المعايير التالية: إجمالي البروتينات والألبومات والمعايير الدموية (خلايا الدم الحمراء والهيموجلوبين والهيماتوكريت).

الكلمات المفتاحية: *les nanoparticules d'oxyde d'aluminium* , *Rhamnus alaternus L* , بوليفينول , فلافونويد , DPPH.

Abstract

The objective of this study is to highlight the relationship between renal intoxication by aluminum oxide nanoparticles and the protective effect of the medicinal plant *Rhamnus alaternus* L.

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 (27.76 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), therefore a low potency of activity.

To carry out this study, we used the aluminum oxide nanoparticles and the doses of the *Rhamnus alaternus* L plant, synchronously for 28 days orally, on female rats of the Wistar Albino strain, numbering 42 rats, and weighing about 90 to 120 g. The rats are divided into 6 groups with the order of 7 rats per group. The first group served as a control, the second and third group treated with doses of *Rhamnus alaternus* L 250 and 500 mg / kg / day, the fourth group treated with aluminum oxide nanoparticles 50 mg / kg / day, the fifth and sixteenth group treated with aluminum oxide nanoparticles and doses of the plant 250 and 500 mg / kg / day.

The results obtained at the end of our experiment showed that treatment with aluminum oxide nanoparticles can cause a remarkable decrease in weight gain in rats and renal disorders by increasing the level of uric acid, BUN, glycaemia, white blood cell count and decreased total protein and for creatinine and albumin no significant difference. A reduction in hematological parameters (red blood cells, hemoglobin and hematocrit) was also recorded.

The treatment of rats with *Rhamnus alaternus* L induces an important restoration of certain biochemical parameters (glycaemia, uric acid, urea) and the number of white blood cells, which shows the protective effect of this plant, and no effect is shown on parameters follow: total proteins, albumins and hematological parameters (red blood cells, Hemoglobin and Hematocrit).

Keywords: aluminum oxide nanoparticles, *Rhamnus alaternus* L, polyphenols, flavonoids, DPPH.

Liste des abréviations

Abs: Absorbance

ADN: Acide Désoxyribose nucléique

AH: Antioxydant

AMP: Adénosine mono phosphate

ATP: Adénosine tri phosphate

AL₂O₃: Oxyde d'aluminium

AL (OH₃) : Hydroxyde aluminium

α -AL₂O₃: Alumine α

BBC : Bleu brillant de coomassie

BSA : Albumine de sérum de boeuf

C°: Celsius

COA: Carboxylation de l'acétyl

Cm: Centimètre

DPPH: Diphénylipicrylhydrazyle

DPPH: C₁₈H₁₂N₅O₆

ES: Espèce réactive azotées

EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique

EPO: érythropoïétine

FNS: La numération formule sanguine (formule de la numération sanguine)

g: gramme

g/l: gramme par litre

g/mole g/cm³: gramme par centimètre cube

g/mole: gramme par mole

GB: Globule blanc

GR : Globule rouge

H: heure

H⁺: Hydrogène

H₂O: eau

HCO₃:

H₃PW₁₂O₃: Acide phosphotungstique

H₃PMO₁₂O₄₀: Acide phosphomolybdique

HCT ou HT: Hématocrite

HGB ou HB: Hémoglobine

I%: Inhibition

IRA: L'insuffisance rénale aigüe

IRC: L'insuffisance rénale chronique

J: Jour

J/K/kg : joule par kelven par kilogramme

Kg: Kilogramme

K⁺ : Potassium

kV/mm : Kilovolte par millimètre

mg: milligramme

ml : millilitre

min: minute

ml/min : millilitre par minute

MO₈O₂₃ : molybdène

N⁺: Sodium

NaCl: Chlorure de sodium

NaCO₃: Carbonate de sodium

NaOH: Hydroxyde de sodium

NPs: Nanoparticules

O₂: Oxygen

P: Poids

PO₄³⁻: Phosphate

R²: Facteur de corrélation

ROS: Reactiveoxygen species = Espèces réactifs de l'oxygène.

SNV: science de la vie et la nature

TCA: Acide tréchlora acétique

µg: microgramme

µg/ml: microgramme par millilitre

µg EQ/mgE: microgramme d'équivalente de quercétine par milligramme d'extrait

µg EAG/mgE: microgramme d'équivalente de acide gallique par milligramme d'extrait

µl: microlitre

UV ultraviolet

W₈O₂₃ : Tungstène

%: Pourcentage

Liste des figures

N°	Titre	Pages
1	<i>Rhamnus alaternus</i> L	7
2	Structures chimiques de quelques flavonoïdes de <i>R. alaternus</i> L.	10
3	Anatomie de rein	14
4	Schéma du néphron	15
5	corpuscule rénale	16
6	Détails de la membrane de filtration	17
7	Carte géographique montrant la région de zerdaza, skikda	22
8	Rats <i>Wistar Albinos</i>	23
9	Feuilles fraîches, sèches et poudre de <i>Rhamnus alaternus</i>	23
10	Macération hydro-alcoolique et Filtration	24
11	Evaporation à l'aide d'un Evaporateur rotatif BUCHI	24
12	Extrait brut de <i>Rhamnus alaternus</i> L	25
13	Préparation des nanoparticules d'oxyde d'aluminium	28
14	Mesure du poids de rat	28
15	Technique de gavage	29
16	La dissection d'un rat	30
17	Prélèvement du sang au niveau cardiaque	30
18	L'automate de FNS modèle Mindray	30
19	L'automate des analyses biochimiques modèle Snibe	31
20	Conservation des organes dans le formole	31
21	Principales étapes d'extraction des métabolites : protéines, glucides	33

22	L'étape de l'enrobage	35
23	Les étapes de coloration	36
24	Courbe d'étalonnage d'acide gallique.	37
25	Courbe d'étalonnage de quercétine.	38
26	Évaluation des activités antioxydantes de vit C et extrait	39
27	Variation de gain du poids chez les rats des différents groupes étudiés.	40
28	Variation de la glycémie chez les rats des différents groupes étudiés.	41
29	Variation du taux de l'urée, créatinine et l'acide urique chez les rats des différents groupes étudiés.	43
30	Variation de la concentration de protéines et albumines chez les rats des différents groupes étudiés.	45
31	Variation du nombre des GR, GB et la concentration de HB et le pourcentage de HT chez les rats des différents groupes étudiés.	46
32	Variation du Glucides chez les rats des différents groupes étudiés.	48
33	Variation des Protéine chez les rats des différents groupes étudiés	49
34	Coupe histologique du tissu rénal du groupe témoin (X10).	50
35	Coupe histologique du rat traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium (X 10).	50
36	Coupes histologiques des reins traités par les deux doses <i>Rhamnus alaternus</i> . rats consommés dose 500mg/kg/jour (X10).	51
37	Coupes histologiques des rats traités par la dose 250mg/kg/jour Après les nanoparticules d'oxyde d'aluminium (X10).	51
38	Coupes histologiques des rats traités par la dose 500mg/kg/jour après les nanoparticules d'oxyde d'aluminium (X10),	52

Liste des tableaux

N°	Titre de tableau	Page
Tab. 1	Propriétés des nanoparticules d'oxyde d'aluminium.	4
Tab. 2	la classification botanique de <i>R. alaternus</i> L.	7
Tab. 3	Récapitulatif des résultats d'évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait de <i>Rhamnus alaternus</i> et vitamine C.	40

Introduction

Introduction :

Les nanoparticules d'oxyde métallique ont été largement développées au cours des dernières décennies. Ils ont été largement utilisés dans des nombreuses applications telles que les catalyseurs, les capteurs, les semi-conducteurs, la médicale science, condensateurs et batteries (**Ueda et al., 2008**). Parmi eux, l'oxyde d'aluminium (Al_2O_3).

Al_2O_3 ou alumine se réfère généralement au corindon. C'est un oxyde blanc. L'alumine a plusieurs phases telles que gamma, delta, thêta et alpha. Cependant, la phase alpha-alumine est la phase la plus stable thermodynamiquement. En général, l'alumine possède des nombreuses propriétés intéressantes, par exemple une dureté élevée, une stabilité élevée, une isolation élevée et une transparence (**Hart, 1990**).

De par ses propriétés physiques et chimiques et surtout sa forte adaptation, c'est un élément qui est tout particulièrement employé dans le secteur de la construction. Mais de nos jours, c'est loin d'être son seul domaine d'utilisation car on va le retrouver aussi bien dans le domaine de la santé (à la fois comme adjuvant dans les vaccins ou comme principe actif dans les médicaments antiacides) que dans celui de la cosmétique (avec les déodorants et les dentifrices) ou celui de l'agroalimentaire (emballages alimentaire). De par ses multiples utilisations nous pouvons dire que cet élément est vraiment omniprésent dans notre environnement quotidien et qu'en quelque sorte nous vivons à l'ère de l'aluminium. Mais si cet élément possède des nombreuses qualités, il n'est pas exempt de défauts. En effet, des 1921 les premiers signes de toxicité de l'aluminium ont été décrits chez un métallurgiste qui développa une encéphalopathie. Il faudra cependant attendre les années 1970 et l'apparition d'un syndrome de démence chez des insuffisants rénaux dialysés pour que la communauté scientifique classe l'aluminium comme neurotoxique chez cette population et s'interroge plus largement sur sa toxicité (**Sonthonnax, 2014**).

Pour éviter l'effet des nanoparticules d'oxyde d'aluminium on utilise des plantes médicinales comme *Rhamnus alaternus* L.

Les utilisations des plantes médicinales remontent à des milliers d'années pour ses propriétés thérapeutiques par l'homme pour se soigner.

Rhamnus alaternus L appartenir à des familles des *Rhamnaceae*, sont considérés comme des plantes médicinales car il est une riche source d'excellents composés bioactifs, notamment des polyphénols et des flavonoïdes (**Nekkaa et al., 2021**). On le trouve dans les régions méditerranéennes notamment dans Algérie et Tunisie.

Le but de ce travail est de déterminer l'effet protecteur de *Rhamnus alaternus* L contre la néphrotoxicité induite par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium.

Introduction

Cette étude est divisée en :

Première partie: présente une synthèse bibliographique concernant les nanoparticules d'oxyde d'aluminium, les reins et notre plante médicinale *Rhamnus alaternus* L.

Deuxième partie : concerne matériel et méthodes et les résultats et la discussion

Enfin, on termine par une conclusion générale.



Synthèse Bibliographique

I. Oxyde D'aluminium

1. Définition d'oxyde d'aluminium :

L'oxyde d'aluminium a la formule chimique d' Al_2O_3 . il est utilisé dans diverses applications chimiques, industrielles et commerciales. Il est considéré comme un additif indirect utilisé dans les substances en contact avec les aliments par la FDA. L'oxyde d'aluminium est une poudre cristalline blanche inodore. Insoluble dans l'eau. Les propriétés varient selon la méthode de préparation; différentes méthodes donnent différentes modifications cristallines. La variété formée à très haute température est chimiquement assez inerte (**Cheltit Wafa, 2021**).

L'alumine est également largement utilisée dans l'ignifuge, l'isolant de catalyseur, le revêtement protecteur de surface et les matériaux composites (**Laachachi, 2009; Lach, 2011**).

2. Les propriétés des nanoparticules d'oxyde d'aluminium:

L'alumine est un composé très dur : seul le diamant et quelques produits de synthèse ont une dureté supérieure. A température ambiante, elle est inattaquée par les composés chimiques courants. Elle fond à plus de 2000 °C. L'alumine très pure peut être utilisée jusqu'à 1700°C. Elle est étanche aux gaz jusqu'à 1300°C).

La combinaison d'un coefficient thermique élevé, d'une faible dilatation thermique et d'une résistance élevée à la compression permet une bonne tenue aux chocs thermiques. On l'utilise donc comme matériau réfractaire, par exemple pour le revêtement de fours ou comme creusets, tubes et gaines de thermocouples soumis à des chocs thermiques. L'alumine offre également une bonne isolation électrique à température élevée et une bonne résistance à l'usure, ce qui permet de l'utiliser comme matériau d'outillage (**Petal, 1980**) (**Tableau 1**).

Synthèse bibliographique

Tableau 1: Propriétés des nanoparticules d'oxyde d'aluminium (Petal, 1980).

Propriétés	Valeurs
Propriétés physiques	
- Masse volumique (g/cm ³)	3,9
- Poids moléculaire (g/mole)	102
Température maximale d'utilisation sous air (°C)	1700-1800
Propriétés mécaniques	
Dureté	9
Coefficient de Poisson	0,25
Résistance à la flexion	380
Ténacité (Mpa.m ^{1/2})	2-3
Propriétés électriques	
Constante diélectrique	9-10
Résistivité électrique à 20 °C (Ohm.cm)	> 1014
Résistance diélectrique (kV/mm)	10-2
Propriétés thermiques	
Chaleur spécifique (J/K/kg)	900
Point de fusion (°C)	2050
Résistances chimiques	
Acides concentrés	Bonne
Acides –dilués	Bonne
Alcalins	Bonne
Halogènes	Bonne
Métaux	Bonne

3. Domaine d'utilisation:

L'oxyde d'aluminium est utilisé comme adsorbant, déshydratant, comme charge pour peintures et vernis, et comme catalyseur pour les produits organiques L'oxyde d'aluminium est largement utilisé

Synthèse bibliographique

dans la fabrication d'alliages, céramique, verre, isolants électriques et résistance (Csds, 1989; Dose, 1992).

4. Production d'oxyde d'aluminium:

Le procédé Bayer, suivi d'une calcination, est un flux de travail bien établi pour produire de l'oxyde d'aluminium à partir de bauxite. Cela fonctionne en digérant d'abord le minerai de bauxite, contenant un maximum de 55% d'alumine, dans une solution chaude d'hydroxyde de sodium. A des températures d'environ 175°C, l'aluminium se dissout et forme de l'aluminate de sodium. L'alumine de haute pureté est filtrée du composé et la solution résultante est transférée vers un réservoir de précipitation pour le refroidissement. En refroidissant, la solution estensemencée d'hydroxyde d'aluminium à grains extrêmement fins ($\text{Al}(\text{OH})_3$) cristaux. Ces cristaux sont déplacés vers un four pour être calcinés à des températures proches de 1,260 XNUMX °C, produisant de la poudre d'oxyde d'aluminium (Anonyme, 2022).

5. Toxicité de l'oxyde d'aluminium :

5.1. Effets aigus

L'ingestion d'oxyde d'aluminium est rare et n'entraîne pas de problèmes toxicologiques; la plupart des expositions se font par inhalation. Aucune caractéristique suite à une inhalation aiguë n'a été signalée (Nielsen *et al.*, 1993).

5.2. Effets chroniques

5.2.1. Exposition oculaire

Dans une étude, la conjonctivite a été signalée significativement plus fréquemment chez les soudeurs d'aluminium (n = 25) que chez les témoins (Nielsen *et al.*, 1993).

5.2.2. Exposition cutanée

➤ Toxicité cutanée:

Une augmentation du nombre de peau télangiectasies sur la partie supérieure du torse des travailleurs d'une usine d'aluminium. Il n'y avait pas de caractéristiques cliniques associées et l'agent causal était considéré comme un hydrocarbure ou un fluorure émis par l'aluminium réacteurs électrolytiques décrit par Thériault *et al.* (1980) . Il y a des rapports de sensibilité de contact à l'aluminium mais c'est extrêmement rare Les manifestations cutanées suivant l'oxyde d'aluminium topique sont rares (Kotovirta *et al.*, 1984).

5.2.3. Inhalation:

➤ Toxicité pulmonaire

Dans une étude contrôlée des symptômes respiratoires chez 25 aluminiums les soudeurs (Nielsen *et al.*, 1993) ont signalé une augmentation significative incidence de la pharyngite. Fait intéressant, les employés exposés à l'aluminium / l'oxyde d'aluminium pendant moins de 2 ans étaient plus

Synthèse bibliographique

susceptibles de ressentir ce symptôme, reflétant peut-être un travailleur en bonne santé " sélection ou développement de la tolérance Exposition chronique à la poudre d'aluminium estampée (paillettes d'aluminium), produit par le meulage d'aluminium dur non fondu, peut causer pneumoconiose. Les premiers symptômes comprennent la dyspnée et la toux bien que chez certains patients, le premier indice de maladie respiratoire est la découverte des nodules miliaires répandus sur la radiographie pulmonaire (**Sjögren et al., 1996**). Fibrose pulmonaire possible.

➤ Toxicité osseuse :

L'exposition professionnelle à l'aluminium et à l'oxyde d'aluminium nuire à la densité osseuse (**Schmid et al., 1995**).

5.2.4. Cancérogénicité:

Sur 521 travailleurs exposés à l'oxyde d'aluminium dans une fabrication d'abrasifs usine et suivi entre 1958 et 1983 (**Edling et al., 1987**). Ont trouvé pas d'augmentation significative de la morbidité ou de la mortalité par cancer.

6. Nanoparticule d'oxyde d'aluminium :

Le préfixe «nano», dérivé du mot grec «nano» signifiant «nain » représente dans le système international un milliardième d'une unité de base (**Buzea et al., 2007**).

Les nanoparticules (NPs) sont des structures composées de quelques centaines de milliers d'atomes. Du fait de leur taille (1 à 100 nanomètres), les propriétés physiques et chimiques de ces nano-objets sont différentes de celles des matériaux classiques de taille supérieure, en particulier une réactivité de surface très élevée. Leur champ de développement est extrêmement vaste et inclut la recherche médicale (**Chuto et Chaumet, 2009**).

II. *Rhamnus alaternus* L

1. Définition :

Rhamnus alaternus L est une espèce végétale qui appartient à la famille des *Rhamnaceae*, les plantes de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et en préparation culinaire, c'est une famille cosmopolite d'arbres, arbustes et herbacées qui contient environ 50 genres et 900 espèces (**figure 1**), (**Richardson et al., 2000**).

En Algérie, 9 espèces végétales appartenant à 3 genres sont répertoriées dans diverses régions et classées selon leurs caractéristiques morphologiques (**Quezel et Santa, 1963**).



Figure 1 : *Rhamnus Alaternus* L (Messaoudi Khoukha, 2012).

2. Classification: La classification des plantes de la famille des *Rhamnaceae* est la suivante (Tableau2). (Quezel et Santa, 1963 ; MobileReference, 2008).

Tableau 2: la classification botanique de *R. alaternus* L (Quezel et Santa, 1963; MobileReference, 2008).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Rhamnales
Famille	<i>Rhamnaceae</i>
Genre	<i>Reynosia</i>
Sous genre	<i>Rhamnus</i>
Espèce	<i>Rhamnus alaternus</i> L
Sous espèce	R. alaternus <i>eu-alaternus</i> Maire (Quezel et Santa, 1963).

Synthèse bibliographique

3. Nomenclature:

En arabe : Am'lile'ce, M'lila, Soitfaïr, Oud El-khir ou bien Safir. En Kabyl : Mélilés (**Bhourï 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. Caractéristiques morphologiques:

Rhamnus alaternus Lest un Arbuste toujours vert, parfois très grand, à feuilles luisantes, ovoïdes ou lancéolées, sont alternes, lisses, pétiolées (3-6 cent, sur 2-3), à bords cartilagineux et dentées, Elles restent sur l'arbre pendant deux années environ, coriaces, à nervure médiane épaisse, trinervées à la base; stipules linéaires, caduques; grappes axillaires plus longues que le pétiole, multiflores; fleurs dioïque verdâtres, disposées en grappes denses, tétra-pentamères, pétales nuls, très petites; baie ou fruit petite c'est est une drupe à 2 ou 3 sillons extérieurs, rouge puis noire, à 4 noyaux , partout, broussailles, haies (**Battandier et al., 1888**). La tige est dressée et rameuse ; les rameaux sont alternes, non épineux (**Chancerel, 1920**).

La croissance de *R. alaternus* est lente, sa longévité considérable. Son bois est à fibre courte et cassante, très lourd, très homogène, d'un grain fin, blanc jaunâtre à l'état d'aubier, brun clair ou foncé à l'état parfait comme le chêne. Il prend beaucoup de retrait et exhale, quand on le travail, une odeur désagréable (**Mathieu, 1860**).

5. Ecologie répartition géographique:

Cet arbrisseau est caractéristique de la zone littorale et, uni aux lentisques, à l'arbousier, au myrte et à d'autres plantes à feuilles persistantes, il joue un rôle important dans la composition des maquis qui couvrent une bonne partie du littoral et des îles de la Méditerranée. En France, il se trouve encore dans l'Isère, l'Ardèche, l'Aveyron, le Lot, la Vienne, le Maine-et-Loire et en Bretagne (**Penzig, 1902**).

R. alaternus L habite les coteaux secs et calcaires du Sud de la France, de la Corse, de l'Algérie, du Nord de la Tunisie (**Ben Ammar et al., 2008; Chancerel, 1920**).

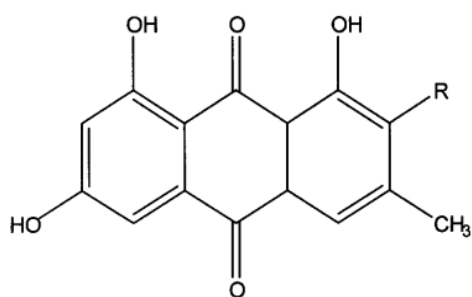
6. Les propriétés biochimiques et les compositions chimiques et biochimiques:

L'étude phytochimique sur les extraits de la partie aérienne et les racines de *R. alaternus* La révélé La présence de diverses quantités d'antraquinones, de coumarines, de tannins et en particulier des flavonoïdes (**Ben Ammar et al., 2008**).

Synthèse bibliographique

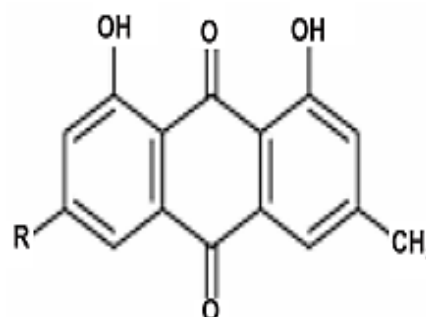
Généralement, les espèces du genre *Rhamnus alaternus* L contiennent des anthraquinones telles que l'émodyne ou chrysophanol (Wei *et al.*, 1992), leurs formes réduites ou leurs glycosides (Abegaz et Peter, 1995), tandis que d'autres contiennent des flavonoïdes (Marzouk *et al.*, 1999). Trois flavonoïdes tri-glycosidiques ont été isolés à partir des feuilles de *R. alaternus*, Kaempferol 3-O- β -isorhamninoside, rhamnocitrin 3-O- β -isorhamninoside et le rhamnetin-3-O- β -isorhamninoside, en revanche, trois flavonoïdes aglycones ont été identifiés : l'apigénine, le kaempferol et la quercétine (Ammar *et al.*, 2009).

Dans une autre étude quatre anthraquinones aglycones ont été isolées (Figure 2) à partir de la partie aérienne de la plante : l'émodyne était l'aglycone le plus abondant, il a été trouvé dans toutes les parties examinées de la plante, en même temps, c'est la seule aglycone détectée dans les graines et dans le péricarpe mûr, le Chrysophanol existe abondamment dans les parties les plus jeunes de la plante mais totalement absent dans les feuilles entièrement mûres. Alaternine atteint sa concentration maximale dans l'écorce. La quatrième anthraquinone, le Physcion a été trouvé dans toutes les parties de la plante à l'exception des graines et du péricarpe mûr (Abou-chaar et Shamlian, 1980).



R = H Emodine

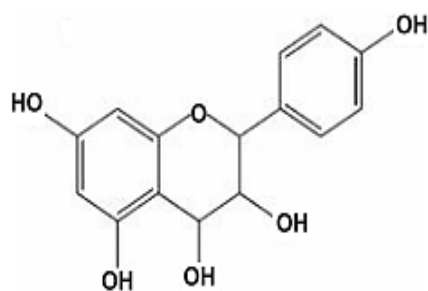
R = OH Alaternine (Bortolomeazzi *et al.*, 2007).



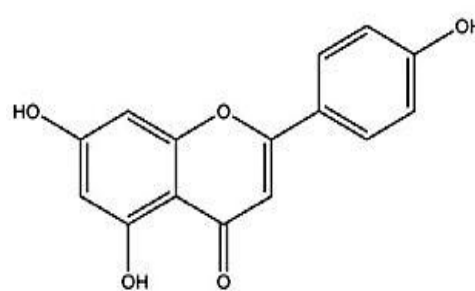
R = OCH₃ physcion

R = OH Emodine

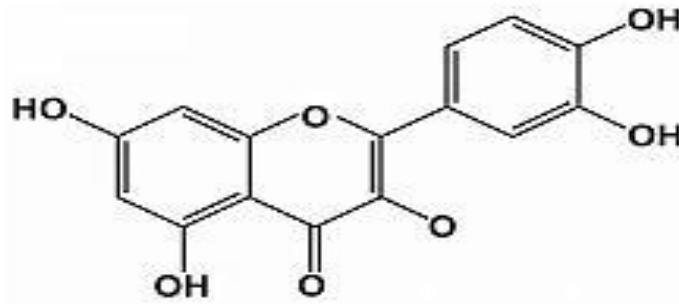
R = H Chrysophanol (Jain et Patil, 2010).



Kaempferol (Jain et Patil, 2010).



Apigénine (Kawasaki *et al.*, 2010).



Quercétine (Jain et Patil, 2010).

Figure 2: Structures chimiques de quelques flavonoïdes de *R. alaternus*

➤ Les polyphénols:

1. Définition:

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que: éther, ester, hétéroside...etc. (Bruneton, 1999).

Ce sont des pigments généralement responsables de la teinture des feuilles et les couleurs des fleurs et des fruits. Les principales sources alimentaires des polyphénols sont les fruits les légumes et les céréales (Martin et Andriantsitohaina, 2002; Bruneton, 2009).

2. Classification des polyphénols:

Les principaux groupes appartenant aux polyphénols sont les acides phénoliques, les Flavonoïdes et les tannins

2.1. Les acides phénolique:

Sont les principaux polyphénols alimentaires (Watson *et al.*, 2013). Il existe sous deux formes: les acide hydroxybenzoïques et les acide hydroxycinnamiques (Balasundram *et al.*, 2006).

A. Les acides hydroxybenzoïques:

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque, et ont une formule de base de type (C6-C1) sept acide benzoïque sont connue: acide p-hydroxybenzoïque, protocathéchique, vanilique, gallique, syringique, salicylique et gesticque (Macheixetal., 2005 ; Collin et Crouzet, 2011).

B. les acide hydroxycinnamiques:

Synthèse bibliographique

Représentent un groupe très important des polyphénols, dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamique sont: l'acide p-coumarique, caféïque et férulique (**Macheixetal, 2005**).

2.2. Les flavonoïdes:

Sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux. Plus de 4000 flavonoïdes ont été répertoriés. Ils protègent les plantes terrestres des radiations ultraviolettes (**Guignard, 2000**).

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base C6-C3-C6. Ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**). La structure des différents types de flavonoïdes varie par la nature de l'hétérocycle oxygéné (**Ribereau-Gayon, 1968**).

3. Biosynthèse des polyphénols :

3.1. La voie de l'acide shikimique :

C'est la voie de biosynthèse principale des composés aromatiques (**Kening et al., 1995**). Dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aminés aromatiques : la Phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Ce sont des métabolites primaires qui servent de Précurseurs pour de nombreux de produits naturels (secondaire) tel que les flavonoïdes, les Acides phénoliques, les coumarines, les alcaloïdes. (**Ghasemzadeh, 2001**).

3.2. La voie de l'acétate

Ce mode de formation plus secondaire consiste à cyclisation des chaînes polycétonique, elles-même obtenue par condensation de groupement acétate. La condensation de groupement acétate ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyle COA en malonyles COA (**Merghem, 2009**).

4. Propriétés antioxydantes des polyphénols:

Les composés phénoliques sont capables d'agir comme des antioxydants qui peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène (**Apak et al., 2007**).

Leurs structures leur confèrent une activité antioxydante aussi importante. Les groupes hydroxyle des polyphénols sont bien des donateurs d'atomes d'hydrogènes, ils peuvent réagir avec les ROS de l'oxygène et les RNS, enfin de réaction, le cycle de génération de nouveaux radicaux est interrompu (**Laughton et al., 1989**).

D'après **Pereira et al. (2009)**. Suite à l'interaction avec les espèces réactives initiales, la forme radicalaire de l'antioxydant est produite, ayant une plus grande stabilité chimique que le radical initial. L'interaction des groupes hydroxyle de composés phénoliques avec les électrons du noyau benzénique donne les radicaux libres, où le radical est stabilisé par la délocalisation. Le pouvoir

Synthèse bibliographique

antioxydant des composés phénoliques est également attribué à leur capacité à chélater les métaux ioniques impliqués dans la production de radicaux libres. Cependant, les composés phénoliques peuvent agir comme des prooxydants. Les polyphénols peuvent agir selon divers mécanismes :

- Inhibition enzymatique (par la réduction des hydro peroxydes et du peroxyde d'hydrogène).
- Chélation des ions métalliques (par la séquestration des ions métalliques).
- Piégeage des radicaux libres (par des réactions de complexation) (**Apak et al., 2007**).

7. Phytothérapie:

En médecine traditionnelle, l'espèce *Rhamnus alaternus* est utilisée comme remède pour un bon nombre de maladies comme les Troubles Hépatiques (dont l'Ictère), maladies Cardiaques, maladies dermatologique, l'Athérosclérose, l'Anémie, maladies des voies respiratoire, Inflammation de la bouche et l'aphte, Apaise les douleurs dentaires et toniques, Traitement des pathologies du côlon et des intestins, soulage la constipation et les maux de gorge...etc.

Rhamnus alaternus possède plusieurs propriétés parmi lesquelles:

- Hypotensive, Diurétique, Laxative, Digestive et Purificatrice du sang,...
- La production d'émodin sur la surface de ses feuilles lui confère plusieurs activités biologiques dont autoprotection contre les effets nocifs de la lumière UV, comprenant aussi des effets purgatifs chez homme, et effets allopathie, antibactériens et antifongiques (**Izhaki et al., 2002**).
- L'un des principes actifs de *Rhamnus alaternus* (Rh-amine) contenu dans son fruit, fait d'elle un purgatif très énergique.
- Ses feuilles en infusion sont très astringentes (**Chancerel, 1920**). Selon **Ben Ammar et al. (2008)** et **Bhourri et al. (2011)**; extrait brut de *Rhamnus alaternus*, est un puissant antioxydant, antimutagène, anti-génotoxique et Antimicrobien (**Kosalec et al., 2013**).

8. Toxicité:

Les fruits murs et l'écorce sont les parties les plus toxiques de la plante à forte dose. Ces parties contiennent des glycosides qui se transforment par hydrolyse en anthraquinones telles que l'émidine (un tri hydroxy-méthyl-anthraquinone).ingestion des fruits provoque des vomissements, des spasmes, des mydriases et des convulsions (**Khengui et Kimfoko, 2022**).

III. Rein

1. Anatomie:

Les reins sont des organes pairs de couleur rougeâtre en forme d'haricot mesurant 12 cm de longueur, 06 cm de largeur et 03 cm d'épaisseur chez l'homme. Ils sont situés de part et d'autre dans la colonne vertébrale dans le tissu rétropéritonéal, allant de la 11ème dorsale jusqu' à la 2ème vertèbre lombaire. Ils sont vascularisés par l'artère rénale qui naît de l'aorte, et par la veine rénale qui se jette dans la veine cave. Morphologiquement, topographiquement, les reins ne sont pas exactement symétriques. Le rein droit est situé plus bas, le rein gauche souvent un peu plus volumineux et un peu moins large et plus allongé. La face latérale du rein est convexe, tandis que sa face médiale est concave et porte une échancrure appelée : le hile rénal. (Pellet, 1977; Dalmás *et al.*, 2009) (Figure 3).

1.2. Anatomie Macroscopique:

Le rein est entouré d'une capsule fibreuse recouvrant elle-même une capsule adipeuse. Sur une coupe frontale, on distingue le sinus du rein qui conduit au hile et contient de la graisse, des vaisseaux et l'origine des canaux excréteurs. Autour du sinus, le parenchyme comporte la médullaire et la corticale (Mayrier *et al.*, 1993).

Le cortex, la partie la plus externe. De couleur pâle et d'environ 1 cm d'épaisseur, il recouvre la médullaire. Il correspond au reste du parenchyme rénal situé en périphérie et entre les pyramides de Malpighi (colonnes de Bertin) (Idier, 2012; Khaldi, 2014).

La médullaire, au centre, est de couleur brun rouge, située profondément est constituée par les pyramides de Malpighi dont le nombre est variable (entre 8 et 18). Chacune d'elles présente un sommet criblé par les orifices des canaux papillaires faisant saillie dans la cavité du calice correspondant et une base, hérissée de nombreuses petites pyramides effilées pointant vers la convexité du rein nommées pyramides de Ferrein. Elle renferme des millions d'unités de filtrations, les néphrons.

Les calices et le bassinnet sont des cavités collectrices d'urine. Les calices reçoivent l'urine depuis les néphrons qui est ensuite déversée dans le bassinnet. L'urine s'écoule ensuite par les uretères jusqu'à la vessie, où elle sera stockée avant d'être évacuée (Idier, 2012; Khaldi, 2014).

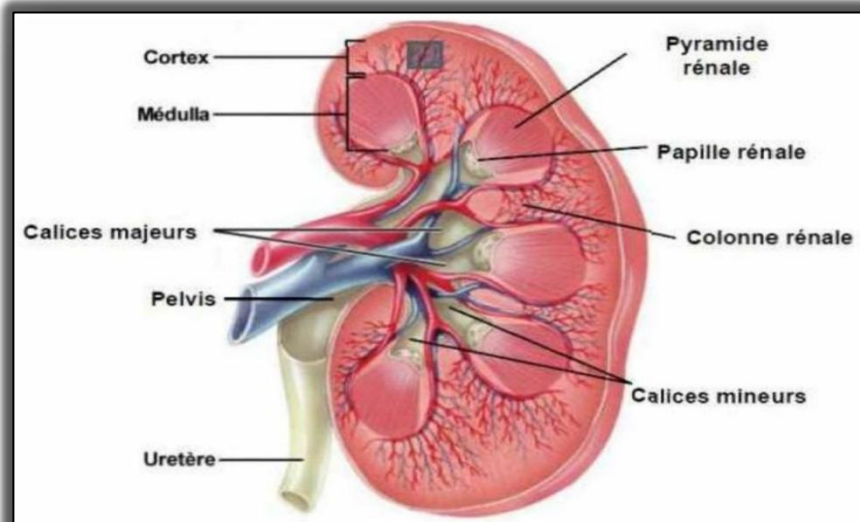


Figure 3: Anatomie de rein (Chaouchi et Haouas, 2018).

1.3. Anatomie Microscopique:

1.3. 1-Le néphron:

Chaque rein est composé d'environ un million de néphrons qui constituent les unités fonctionnelles du rein. Chaque néphron (**Figure 4**), est composé d'une part d'un glomérule qui est formé d'un bouquet d'anse capillaire alimenté par une artériole afférente et drainé par une artériole efférente et entouré par la capsule de Bowman; et d'autre part de tubules composés successivement du tubule proximal, de l'anse de Henné, du tubule distal et du tube collecteur, les différents tubes sont entourés de vaisseaux péri tubulaires jouant un rôle primordial dans les mécanismes de sécrétion et de réabsorption des substances dissoutes. Le contrôle de ces échanges est assuré par des hormones et des médiateurs, d'origine systémique ou locale. (Al Nowaiser *et al.*, 2003).

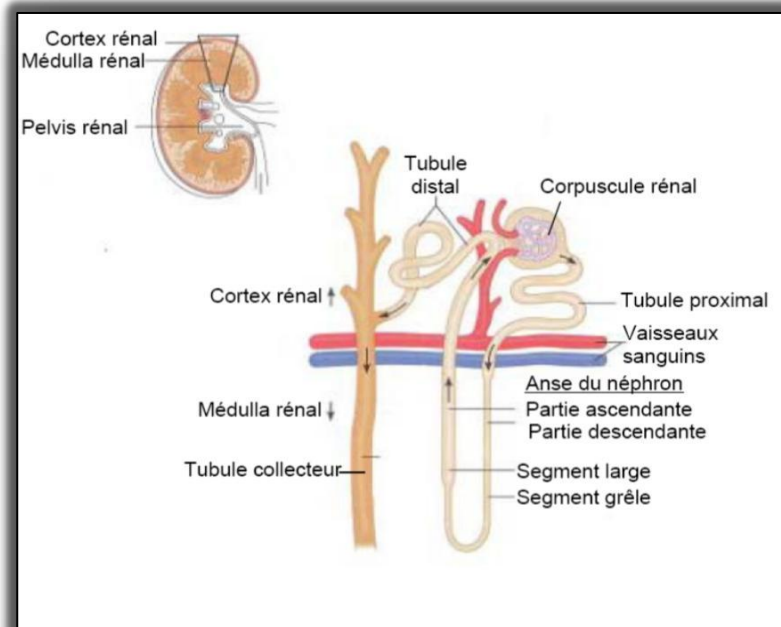


Figure 4: Schéma du néphron (adapte de marieb, 2004).

1.3.1.1. Le corpuscule de Malpighi:

Est une sphère située dans le cortex rénal (Tortora et Angnostakos, 1988), dont le diamètre est de 150 à 250 microns. Il possède un pôle urinaire ou s'insère, le tube contourné proximal et un pôle vasculaire où pénètre l'artériole (Meyrie et Berti, 1993).

Le corpuscule rénal (corpuscule de Malpighi) (Figure 5) est formé de deux parties :

A. Capsule glomérulaire (capsule de Bowman):

La capsule de Bowman, sorte de coupe épithéliale à double paroi. La paroi externe, ou feuillet pariétal, est formé d'un épithélium pavimenteux (Tortora et Grabowski, 2001). La paroi externe est séparée de la paroi interne qui est appelée feuillet viscéral est formée de cellules épithéliales appelées podocytes. Il entoure un réseau de capillaire appelé glomérule (Tortora et Angnostakos, 1988).

B. Glomérule (capillaires glomérulaires):

Les capillaires glomérulaires forment un système porte artériel situé entre l'artériole afférente et l'artériole efférente du corpuscule (Meyrier et Berti, 1993). Les glomérules font partie à la fois du système cardiovasculaire et du système urinaire (Tortora et Grabowski, 2001).

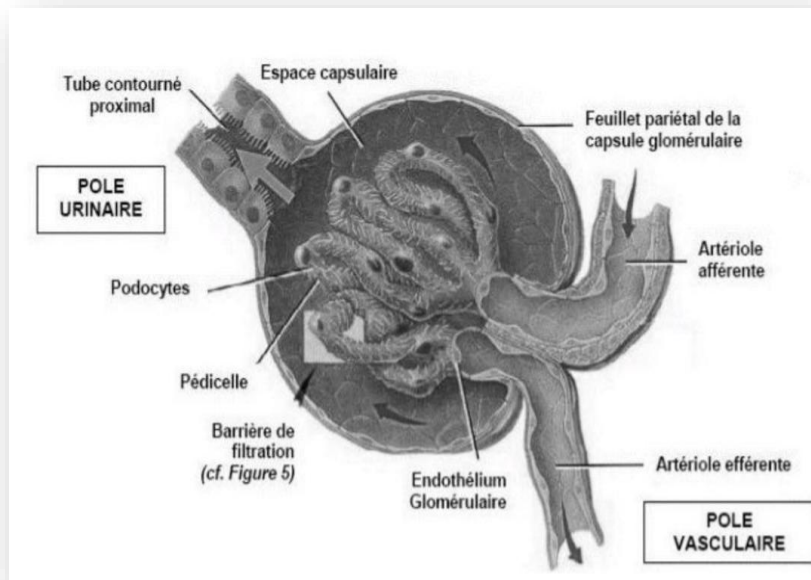


Figure 5: corpuscule rénale (Hadj-Aissa, 2013).

Membrane de filtration:

Le feuillet viscéral de la capsule de Bowman et l'endothélium du glomérule forment la membrane glomérulaire (**Figure 6**), Cette membrane est formée de différentes parties :

L'endothélium glomérulaire: couche unique de cellules endothéliales pourvues de pores mesurant de 50 nm à 100 nm de diamètre (**Meyrier et Berti, 1993**). La taille de ces ouvertures permet à tous les solutés de plasma sanguin de quitter les capillaires glomérulaires mais s'oppose au passage des globules sanguins et des plaquettes (**Tortora et Grabowski, 2001**).

La membrane basale glomérulaire: Membrane extracellulaire, située sous l'endothélium, qui ne contient pas de pores. Elle est formée de fibrilles à l'intérieur d'une matrice de glycoprotéine. Chez l'adulte, la partie périphérique de la membrane basale est de 240 à 340 nm d'épaisseur (**Meyrier et Berti, 1993**). L'essentiel du tamisage des macromolécules circulantes s'effectue dans la membrane basale glomérulaire. Elle fonctionne comme un filtre mécanique, mais également comme un filtre électronique, car elle porte des charges anioniques (**Meyrier et Berti, 1993**). L'épithélium du feuillet viscéral de la capsule de Bowman ; cellules épithéliales qui, en raison de leur forme particulière, sont appelées podocytes. Les podocytes renferment des structures en forme de pied appelées pédicelles. Les pédicelles sont parallèles à la circonférence du glomérule et recouvrent la membrane basale, sauf les espaces qui les séparent qui est appelée les fentes de filtration, ou fissures poreuses. Les charges négatives des membranes plasmiques podocytaires sont indispensables au maintien de l'architecture des pédicelles (**Meyrier et Berti, 1993**).

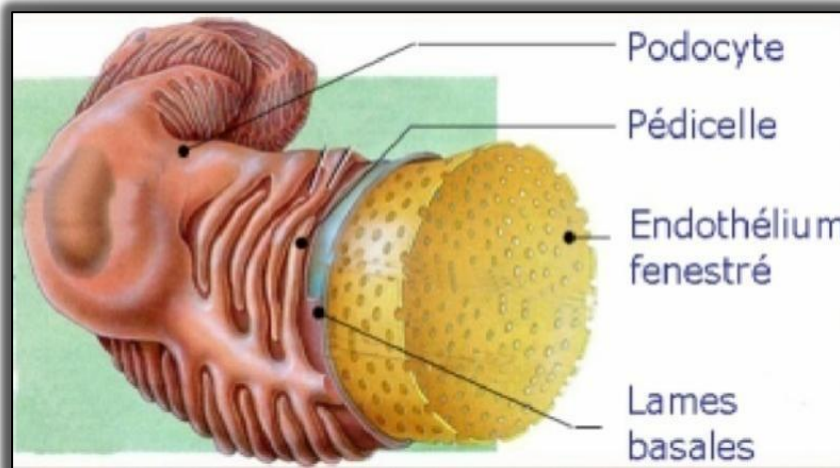


Figure 6: Détails de la membrane de filtration (Tortora et Grabowski, 2001).

2. Innervation:

La plupart des nerfs du rein proviennent du ganglion cœliaque. Ces nerfs appartiennent à la partie sympathique du système nerveux autonome. La plupart sont des nerfs vasomoteurs qui innervent les vaisseaux sanguins, c'est à dire qu'ils règlent le débit sanguin en modifiant le diamètre des artérioles (Tortora et Grabowski, 2001).

3. Physiologie du rein

3.1. Fonction du rein:

Les reins sont les organes où les principales fonctions du système urinaire s'accomplissent, car les autres parties du système sont avant tout des conduits et des lieux de stockage (Tortora et Grabowski, 2001). Les reins filtrent le sang et forment l'urine. Ils contribuent ainsi à maintenir l'équilibre des liquides de l'organisme, et ce de plusieurs façons :

Régulation de la composition ionique de sang, Les reins participent à la régulation de la concentration sanguine de plusieurs ions, dont les plus importants sont les ions sodium (Na^+), potassium (K^+), calcium (Ca^{2+}), chlorure (Cl^-) et phosphates (PO_4^{3-}) (Tortora et Grabowski, 2001).

Synthèse bibliographique

Maintien de l'osmolarité sanguine, En réglant séparément la perte d'eau et celle des solutés dans l'urine, les reins maintiennent l'osmolarité du sang à un niveau relativement stable, soit près de 290 milliosmoles par litre (mo.sm/L) (**Tortora et Grabowski, 2001**).

Régulation du volume sanguin, En conservant ou en éliminant l'eau, les reins ajustent le volume sanguin et de ce fait, assurent la régulation du volume du liquide interstitiel. Par ailleurs, une augmentation du volume sanguin provoque une élévation de la pression artérielle, alors qu'une diminution du volume sanguin fait baisser la pression artérielle (**Tortora et Grabowski, 2001**).

Régulation du PH sanguin, Les reins excrètent dans l'urine des quantités variables d'ions H et retiennent les ions bicarbonate (HCO_3^-) qui exercent un important effet tampon sur les ions H^+ . Ces deux fonctions contribuent à la régulation du pH sanguin (**Tortora et Grabowski, 2001**).

Régulation de la glycémie, Les reins peuvent effectuer la désamination de la glutamine, un acide aminé, l'utiliser pour la néoglucogenèse et libérer le glucose dans le sang (**Tortora et Grabowski, 2001**).

Fonction endocrine, Le rein produit et libère des hormones dans la circulation sanguine :

La rénine : La rénine est sécrétée au niveau de l'appareil juxta-glomérulaire, en réponse aux variations de la volémie, c'est-à-dire lorsque la pression de perfusion diminue. Sous l'effet de l'angiotensinogène, produit par le foie, la rénine permet la production d'angiotensine I. Enfin, l'enzyme de conversion transforme l'angiotensine I en l'angiotensine II. Cette dernière exerce des effets vasoconstricteurs sur les artérioles entraînant ainsi une augmentation de la pression artérielle et stimule la sécrétion surrénalienne d'aldostérone qui favorise alors la rétention de sodium.

L'érythropoïétine(EPO): De plus, le rein sécrète de l'érythropoïétine dans les cellules interstitielles peritubulaires fibroblastiques en réponse aux variations de la pression partielle tissulaire en O_2 . Ainsi, à la suite d'une hypoxie cellulaire, de l'EPO est libérée et permet la production de globules rouges par la moelle osseuse.

La vitamine D : La vitamine D3 (forme active de la vitamine D) est produite dans les cellules tubulaires proximales. Elle permet l'absorption du calcium alimentaire par l'intestin et sa fixation sur l'os mais également l'absorption intestinale de phosphate. Les reins interviennent donc dans le maintien d'une structure osseuse normale (**Pirson et Strihou, 1986**).

Elimination des produits du catabolisme: Le rein joue un rôle important dans l'élimination des déchets issus du catabolisme, ce qui prévient l'accumulation de métabolites, parfois toxiques, dans l'organisme. Parmi ces déchets, nous pouvons citer :

Synthèse bibliographique

L'urée, C'est un des premiers marqueurs qui a été utilisé pour mesurer le débit de filtration glomérulaire. L'urée passe dans les néphrons quelle que soit sa concentration dans le sang : c'est une substance sans seuil (**Chanton et Paniel, 1966**). Cette molécule est filtrée librement dans le glomérule mais est réabsorbée au niveau des tubes proximaux et distaux. Un taux élevé indique généralement une atteinte glomérulaire, mais la concentration peut être aussi modifiée par un régime riche en protéines, d'un catabolisme des protéines augmenté, un état de choc, insuffisance cardiaque ou une hépatotoxicité fréquente avec de nombreux toxique (**Frank, 1992; Friedman et Young, 2001**).

La créatinine, qui provient au niveau musculaire de la dégradation de la créatine ; en pratique, la clairance de la créatinine, qui mesure le rapport entre le débit d'élimination de la créatinine par les reins (à travers l'urine) et sa concentration dans le sang, permet d'évaluer la fonction de filtration des reins (car la créatinine est éliminée uniquement par filtration rénale).

L'acide urique, qui est une molécule issue de la dégradation des purines ; ces purines sont les éléments de base de l'acide désoxyribonucléique (adénine et guanine), de l'ATP, de certaines coenzymes² ou de molécules impliquées dans la transduction du signal intracellulaire, comme l'adénosine mono-phosphate cyclique (**Widmaier EP, al Raff H, al Strang KT, 2013**).

3.2. Filtration glomérulaire:

La filtration glomérulaire est la première étape de l'élaboration de l'urine. La filtration, est un processus passif et passage forcé de liquides et de substances dissoutes à travers une membrane sous l'effet de la pression (**Bendellali et al., 2006**). Elle se produit dans les corpuscules rénaux, à travers la membrane glomérulaire (**Tortora et Angnostakos , 1988**).

3.2.1. Mécanisme de la filtration glomérulaire:

Sous l'influence de la pression sanguine régnant dans les capillaires glomérulaires ; il y a filtration du sang à travers la paroi capillaire et la paroi interne de la capsule de Bowman. Si la pression sanguine chute en dessous de 60 mm Hg, il y a arrêt du phénomène de filtration glomérulaire. Cette filtration est un mécanisme passif et unidirectionnel. Le filtre est semi-perméable, laissant passer l'eau et les éléments dissous dans le plasma (sels minéraux, glucose, acides aminés, déchets), il ne laisse pas passer les grosses molécules comme les lipides, les protéines d'un poids moléculaire de plus de 70 000 dalton (exemple : l'albumine) et les éléments figurés du sang (globules rouges, globules blancs et plaquettes). Le filtra obtenu a une composition identique à celle du plasma sanguin (même concentration pour chacun des éléments que dans le plasma), on l'appelle les urines primitives (**Pebret, 1993**).

4. L'insuffisant rénale:

L'insuffisance rénale est la diminution plus ou moins importante des fonctions des reins. Le rein est un organe vital qui sert principalement à épurer des déchets néfastes pour le corps. La perte d'efficacité des organes engage le pronostic vital (**Anonyme, 2022**).

Il existe deux formes de la maladie:

A.L'insuffisance rénale chronique (IRC): est due à la destruction progressive et irréversible des reins. Elle se fait de manière silencieuse. L'insuffisance rénale chronique est une diminution progressive, importante, et définitive de la filtration glomérulaire qui a pour conséquence le non excrétion des déchets azotés (urée, créatinine, acide urique). Seuls les examens de laboratoire permettent alors de la déceler, en montrant l'élévation dans le sang du taux normal de substance comme l'urée et créatinine (**Lyonel, 2004**).

B.L'insuffisance rénale aiguë (IRA): est une diminution rapide de la filtration glomérulaire qui a pour conséquence le non excrétion des déchets azotés (urée, créatinine, acide urique) (**Lyonel, 2004**).

4.1. Les causes:

Les causes principales actuelles de l'insuffisance rénale sont le diabète et l'hypertension (**Anonyme, 2017**). L'hyperglycémie diabétique induit une détérioration des petits vaisseaux au niveau des glomérules, qui entraîne à terme le dysfonctionnement des reins. On parle de néphropathie diabétique. L'hypertension s'associe à des rétrécissements des petites artères du rein qui peuvent se boucher et a une diminution de la vascularisation qui peut conduire à une défaillance rénale. Plus que ces causes on peut citer : la maladie de Crohn, les infections urinaires hautes et l'excès de cholestérol sanguin.

4.2. Les symptômes:

Les premiers signes et symptômes de l'insuffisance rénale chronique peuvent apparaître à partir d'un taux de filtration glomérulaire (mesure de filtration des reins) inférieur à 60 ml/min. Parmi ceux-ci, on peut mentionner:

- Une **hypertension artérielle**, avec des valeurs souvent supérieures à 140/90 mm Hg, qui peut parfois se manifester par des maux de tête ou des vertiges.
- Une **anémie** qui se traduit par une tendance à la fatigue et un "souffle court" lors des efforts.

Synthèse bibliographique

- Des **troubles osseux**, avec des os qui ont tendance à se fragiliser.
- Une **rétenction de sel** pouvant conduire à des œdèmes, ainsi qu'une rétenction de potassium pouvant être à l'origine de troubles du rythme cardiaque.
- Aux stades plus avancés, les patients présentent souvent des troubles digestifs (nausées, vomissements), une perte de poids, des démangeaisons) (**Krzesinski *et al.*, 2003 ; Jungers *et al.*, 2011**)

Partie Expérimentale

❖ Objectif

Notre travail vise à vérifier « in vitro » et « in vivo », l'éventuel effet néphro - protecteur de la plante *Rhamnus alaternus* L vis à vis la néphro- toxicité induite par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium chez les rats de souche *Wistar Albinos*.

Cette étude est adoptée plusieurs aspects :

- Dosage des compositions chimiques d'extrait de la plante : polyphénols, flavonoïde.
- L'effet antioxydant de l'extrait de la plante par le piégeage du radical libre DPPH.
- Dosages de quelque paramètre biochimique et hématologique.
- L'étude histologique du rein.

I. Matériel et Méthodes:

➤ Matériel:

1. Matériel végétale :

Dans le cadre de cette étude, le travail a été fait sur la partie aérienne (les feuilles) de l'espèce *Rhamnus alaternus* L, récoltée au mois de Mars 2023 dans la région de Zerdaza situé à l'ouest EL-harrouche de la wilaya de Skikda. (**Figure 7**).



Figure 7: Carte géographique montrant la région de zerdaza, skikda (google maps).

2. Matériel animal :

Dans cette expérience, nous avons utilisés des rats (femelle) (**Figure 8**) appartenant à l'espèce *Rattus Norvegicus*, souche : *Wistar Albinos*, pesant entre 90 et 120g, provenant de l'institut de pasteur d'algerie et en met dans l'animalerie du département des sciences de la nature et la vie de la faculté des sciences de l'université 20 Aout1955 de Skikda.



Figure 8: Rats *Wistar Albinos* (photo originale, 2023).

3. Matériel et produit du laboratoire utilisé:

L'ensemble de matériel et des produits utilisés dans notre expérimentation seront cités au fur et à mesure de leurs utilisations.

➤ Méthodes

1. Préparation de la matière végétale : récolte, séchage et broyage.

Une fois récoltée, les feuilles fraîches de *Rhamnus alaternus* (**Figure 9**) sont été séchées dans une chambre sombre, aérée, à l'abri de l'humidité et à température ambiante pendant 20 jours.

Le broyage a été effectué à l'aide d'un moulin à café, Afin d'obtenir une poudre très fine est placée dans un sac en papier protégée de la lumière et de la chaleur jusqu'à son utilisation.



Figure 9: Feuilles fraîches, sèches et poudre de *Rhamnus alaternus* L (photo originale, 2023).

2. Préparation de l'extrait brut:

2.1. Macération hydro-alcoolique:

Parmi les différentes méthodes d'extraction, la macération est une méthode d'extraction des principes actifs ou des arômes d'un corps solide par dissolution dans un liquide froid (eau, huile, alcool, saumure). Dans ce travail, la méthode utilisée a été la macération hydro-alcoolique.

Après la pesée de 100 g de poudre sèche à l'aide d'une balance, dans un bécher la poudre a été mélangée dans une solution eau-alcool (70% méthanol / 30% eau distillée).

Le mélange a été agité à la main et laissé infuser pendant 24h sur un agitateur dans un espace clos (à l'abri de la lumière). Au lendemain le macérat a été filtrait par pompe de filtration à l'aide d'un entonnoir et d'un papier filtre, ce filtrat nommé filtrat 1. Ce processus a été répété trois fois pour obtenir les filtrats 1, 2 et 3. Le tout est mélangé et conservé dans un bécher à 35°C et est prêt à vaporiser (**Figure 10**).



Figure 10: Macération hydro-alcoolique et filtration (**photo originale, 2023**).

2.2. Evaporation:

Les filtrats obtenus sont évaporés jusqu'à séchage à l'aide d'un évaporateur rotatif-BUCHI à une température de 60° C pendant une période de temps par rapport au volume de l'extrait (filtrat) contenu dans le ballon rotatif évaporé (**Figure 11**).

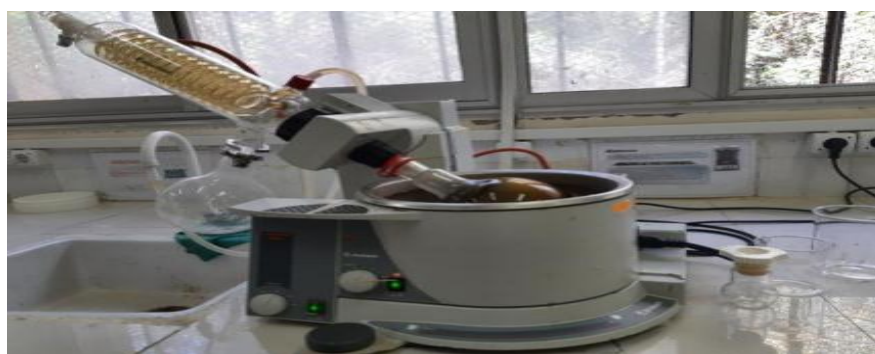


Figure 11: Evaporation à l'aide d'un Evaporateur rotatif-BUCHI (**photo originale, 2023**).

2.3. Séchage de l'extrait brut:

L'extrait brut obtenue a été recueillie dans les boites de pétri, qui ont été conservées à 35°C dans l'étuve pour le séchage jusqu'à la stabilisation du poids (**Figure 12**).

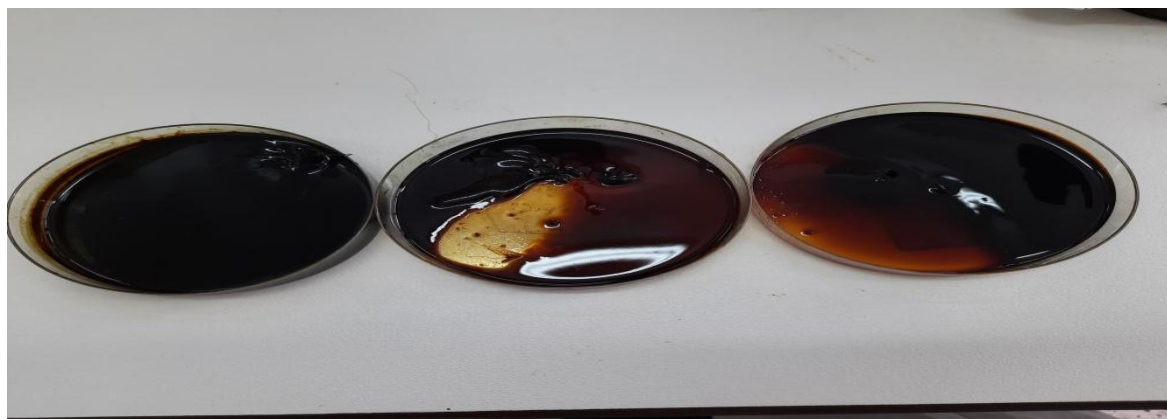


Figure 12: Extrait brut de *Rhamnus alaternus* (photo originale, 2023).

3. Infusion:

- La dose 250 : on mélange 300 ml de l'eau distillé chaude avec 7,5mg de la poudre de plante dans l'agitateur et laisse agitation pendant 24 heures et en fait la filtration.
- La dose 500 : on pesé 15 mg de poudre et on fait la même préparation de dose 250.

4. Dosage des polyphénols et flavonoïdes:

4.1. Dosage des polyphénols totaux:

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

➤ 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}) (Robbins, 2003). La coloration bleue ainsi produite est proportionnelle aux taux de composés phénoliques et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

➤ Mode opératoire:

Il consiste à mélanger 200 μ l de chaque extrait (5 mg d'extrait dilué dans 10ml Méthanol) avec 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois diluée dans l'eau distillée). Les solutions ont été

Partie expérimental

mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation, 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ (75g/l) dans l'eau distillée a été ajoutée. 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 mesurée 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 : Leblanc = control négatif : contient tout le mélange réactionnel sauf l'extrait de la plante.

➤ **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 µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg E).

4.2. Dosage des flavonoïdes totaux:

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) cité par (**Djeridane et al., 2006**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes.

➤ **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 (**Lagnika, 2005**).

➤ **Mode opératoire:**

Brièvement, 1 ml de chaque extrait et du standard (5 mg d'extrait ou standard dissous dans 10 ml Méthanol) a été ajouté à 1ml de solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

Note : Leblanc = control négatif : contient tout le mélange réactionnel sauf l'extrait de la plante.

➤ **Expression des résultats:**

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) réalisé par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (2.5-30 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).

5. Activité antioxydante de la plante :

Partie expérimental

L'activité du balayage des radicaux libres a été mesurée en employant le radical libre stable DPPH (C₁₈H₁₂N₅O₆). Cet essai est l'un des essais principaux employés pour explorer l'utilisation des extraits d'herbes comme antioxydants (**Markowicz Bastos *et al.*, 2007**).

➤ **Principe de la réaction** : La réduction de ce radical s'accompagne par son passage de la couleur violette caractéristique de la solution de DPPH à la couleur jaune (**Bentabet *et al.*, 2014**). Ce radical est un oxydant qui peut être réduit par l'antioxydant (AH) selon la réaction suivante :



➤ **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 1600ul 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**).

➤ **Expression des résultats** : Les résultats peuvent être exprimés en tant que l'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I%) en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = [(\text{Abs Contrôle négatif} - \text{Abs Echantillon}) / \text{Abs Contrôle négatif}] \times 100$$
 (**Lu *et al.*, 2011**).

6. Préparation des nanoparticules d'oxyde d'aluminium :

Dans ce travail, nous avons utilisé des nanoparticules d'oxyde d'aluminium (**Figure 13**) sous la forme d'une solution avec l'eau distillé, la dose 50 mg / kg/ jour des nanoparticules d'oxyde

Partie expérimental

d'aluminium, puis ils ont été placés dans un bécher, couverts et mélangés à l'aide d'un agitateur pendant 2h.

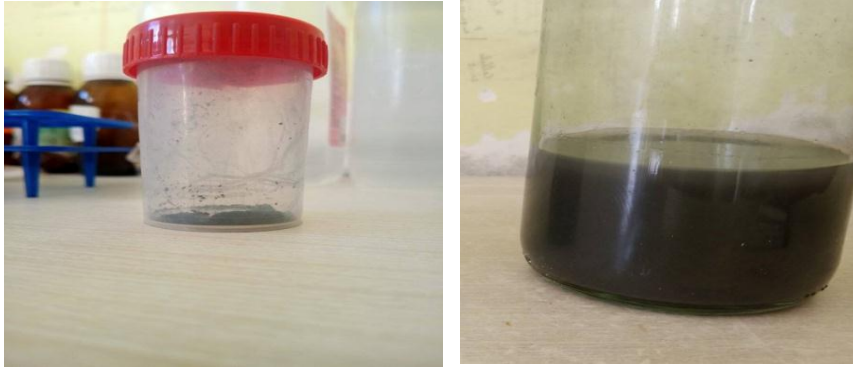


Figure 13 : Préparation des nanoparticules d'oxyde d'aluminium (photo originale, 2023).

7. Préparation des animaux :

Les rats sont placés dans des cages en plastique, avec accès libre à la nourriture (aliment standard), à l'eau de robinet utilisé pour les abreuver dans les biberons lavés, a été constamment renouvelée.

Les 42 rats sont pesés puis repartis en 7rats /cage selon leurs poids corporel, avant le début de traitement (**Figure 14**).



Figure 14: Mesure du poids de rat (photo originale, 2023).

8. Traitement des rats:

Après une adaptation de dix jours un traitement par gavage (voie orale) (**Figure 15**) à l'aide d'une seringue munie d'une sonde de gavage à son extrémité a été effectué pendant 28 jours. Les

Partie expérimental

rats ont été pesés chaque 3 jour et renouvelable les doses de plante chaque 2 jour pendant cette période.

- **G1**: c'est le groupe témoin qui n'a pris aucun traitement.
- **G2**: c'est le groupe traité par la dose plante 1 (250mg/ kg/ jours).
- **G3**: c'est le groupe traité par la dose plante 2 (500 mg/ kg/ jours).
- **G4**: c'est le groupe traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium (50 mg/ kg/ jours).
- **G5**: c'est le groupe traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et la plante dose 1.
- **G6**: c'est le groupe traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et la plante dose 2.



Figure 15 : Technique de gavage (photo originale, 2023).

9. Sacrifice des animaux :

9.1. Prélèvement de sang :

Au lendemain du dernier jour des traitements expérimentaux, et après une nuit de jeûne tous les rats ont été sacrifiés après anesthésie au chloroforme et le prélèvement de sang se fait par ponction à partir du cœur (ponction cardiaque) après une dissection à l'aide d'une seringue, et est recueillie dans des tubes EDTA et des tubes héparinés. Ce dernier est centrifugé à (3000tours/min) pendant 7 min pour le dosage des paramètres biochimique (glycémie, urée, créatinine, albumine, protéines totales, acide urique) et Le sang mis dans des tubes contenant l'EDTA est utilisé pour le dosage des paramètres hématologiques FNS (globules blanc, globules rouges, hémoglobine, hématocrite). Le sang a été transporté dans une glacière au laboratoire " Dr.Bouhdjila " Harouche pour faire les déférents analyses médic

ales (automate de FNS, automate des analyses biochimiques) (**Figure 16, 17, 18, 19**).

Partie expérimental



Figure 16: La dissection d'un rat (photo originale, 2023).



Figure 17: Prélèvement du sang au niveau cardiaque (photo originale, 2023).



Figure 18 : L'automate de FNS modèle Mindray (photo originale, 2023).



Figure 19 : L'automate des analyses biochimiques modèle **Snibe** (photo originale, 2023).

9.2 Prélèvement des organes:

Les reins sont immédiatement prélevés puis pesés à l'aide d'une balance précisée. Nous avons pris des fragments des reins puis avons pesés et conservés dans TCA.

Les reste de reins a été rincés dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) de 0.9%. Puis, conservés dans des boites contient le formol 10 % pour faire les coupes histologiques (**Figure 20**).



Figure 20 : Conservation des organes dans le formole (photo originale, 2023).

10. Paramètres biochimiques :

➤ Extraction et dosage des métabolites :

✓ Extraction des métabolites des reins :

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 témoins et traités sont broyés à l'aide d'un broyeur mécanique dans l'acide trichloracétique (TCA) à 20% (200 mg d'organe 1ml 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 (**Dubois, 1956**).Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 tours/mn, pendant 10mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnagent II sera utilisé pour le dosage des lipides (**Goldsworthy *et al.*, 1972**). Et le culot II, dissout dans la NaOH (0,1 N), servira au dosage des protéines, selon **Bradford (1976)**.

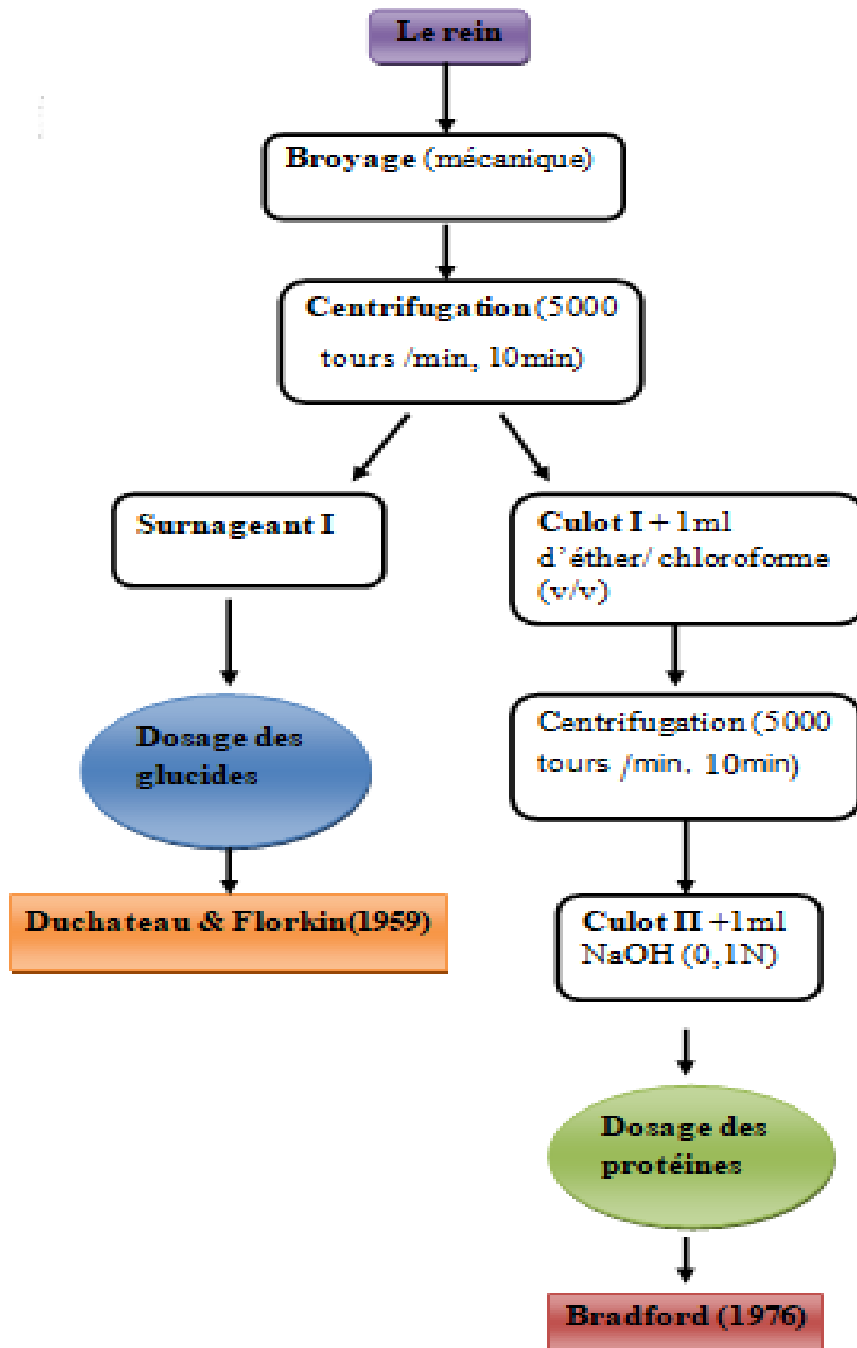


Figure 21: Principales étapes d'extraction des métabolites: glucides, protéines (Shibko *et al.*, 1966).

➤ Dosage des glucides :

Le dosage des glucides a été réalisé selon (Duchateau et Florkin, 1959). Cette méthode utilise l'antrone comme réactif (150mg d'antrone, 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).

Partie expérimental

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 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 620 nm contre un blanc de gamme.

Tubes	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

Dosage des protéines :

Les protéines contenues dans les reins 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.

Tubes	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

11. Technique Anatomo -histologie :

La discipline " anatomie et cytologie pathologie " est l'étude des altérations organique des tissus et des cellules provoqué par la maladie. Ces altérations peuvent être reconnues par comparaison avec les structures normales. Les organes sont immédiatement fixés dans une solution de formol 10%, l'examen anatomo-histo-pathologique est effectué au service d'Anatomie pathologique hôpital des frères Saad Guermach de Skikda, La technique est réalisée par les étapes suivantes :

Partie expérimental

➤ Prélèvement et fixation :

Le prélèvement doit se faire aussi délicatement que possible afin de ne pas dégrader l'organisation tissulaire. Une fois obtenue, doit, immédiatement être immergé dans un volume de liquide fixateur (est le formol 10%), à la fin de la conservation des structures

➤ Imprégnation en paraffine :

Les prélèvements découpés en fragment de petite taille et sont mis en totalité dans des cassettes plastiques et poser les cassettes sur l'appareille de circulation (automate), selon les étapes suivent :

- La première étape, mis les cassettes dans le formol, ce qui permet la conservation morphologique des structures tissulaires et cellulaires.
- La deuxième à septième étapes déshydratation dans l'alcool (70% ,80%, 90%,100%,100%,100%).
- La huitième étape posé les cassettes dans 1/2 alcool et 1/2 L xylène.
- La 9^{ème} et 10^{ème} posé dans xylène.
- La 11^{ème} et 12^{ème} posé dans la paraffine.

➤ L'enrobage (inclusion) :

Pour la facilite de manipulation, ouvrir la cassette après la circulation enlève la couverture et dépôt et orientée du tissu sur un moule après verser le paraffine et inclusion du tissu à l'aide de cassette (démoulage du bloc) après refroidissement de paraffine (**Figure 22**).



Figure 22: L'étape de l'enrobage (photo originale, 2023).

➤ Les coupes ou microtome :

Installé le réservoir, régler l'angle sur 5m et déposer le bloc de paraffine sur l'appareille.

- Surcharge de paraffine après régler l'angle sur 3à4 m et couper, déposer les coupes sur l'eau.
- Chauffée à 40 °C et coller sur lame après déparaffinage (sécher) sur l'étuve à 140 °C pendant 30min.

Partie expérimental

➤ La coloration:

Après déparaffinage puis réhydratation ; les coupes sont colorées (**Figure 23**) par des passages dans des produits chimiques afin des différenciations par des couleurs des composants prélèvements (noyaux et cytoplasme) selon le protocole.



Figure 23: Les étapes de coloration (photo originale, 2023).

➤ L'éclair-cément, montage et la lecture:

On utilise le xylène pour la facilite l'éclaircissement de la lecture puis ont montées les coupes entre lame et lamelle avec une goutte de baume dont l'indice de réfraction est proche de celui du verre. On obtient ainsi, une préparation histologique prête à être observée au microscope optique. Placer la lame sur le microscope pour la lecture de la coupe par défirent grossissement.

II. Les études statistiques:

Les données obtenues à partir des mesures des analyses biochimiques et hématologiques ont été exprimées en moyenne avec l'écart type (Moy \pm Ecart type) correspondant. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant ANOVA, teste tukey le niveau de signification a été fixé à $p \leq 0,05$. Le logiciel utilisé pour cette étude est le Minitab version 17. Les différences sont considérées comme :

- Comparaison des groupes 2 et 3 et 4 et 5 et 6 par rapport au groupe 1 : $P \leq 0.05(*)$, $P \leq 0.01 (**)$, $P \leq 0.001(***)$
- Comparaison de groupe 3 par rapport au groupe 2: $P \leq 0.05(&)$, $P \leq 0.01 (&&)$, $P \leq 0.001(&&&)$.
- Comparaison des groupes 5 et 6 par rapport au groupe 4: $P \leq 0.05(\#)$, $P \leq 0.01 (\#\#)$, $P \leq 0.001(\#\#\#)$
- Comparaison de groupe 6 par rapport au groupe 5: $P \leq 0.05(+)$, $P \leq 0.01 (++)$, $P \leq 0.001(+++)$

❖ Objectif

Cette partie a pour objectif de faire l'effet de traitement des rats par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium, *Rhamnus alaternus L* et leur combinaison. Les effets toxiques des nanoparticules d'oxyde d'aluminium sur les reins ainsi que l'effet préventif de la plante sont mis à l'évidence par l'investigation des quelques paramètres biochimiques et l'hématologiques et l'étude histologique. Cette expérience nous a permis de mettre en évidence la relation entre l'exposition à des nanoparticules d'oxyde d'aluminium et les effets de la plante qu'il induise.

III. Résultat et discussion:

1. Teneur en composés phénoliques:

1.1. La teneur en polyphénols:

Après le dosage, la teneur en polyphénols est obtenue à partir de courbe détalonnage de l'acide gallique (**Figure 24**), ayant l'équation de régression linéaire est $y=0,011x+0,374$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,976$.

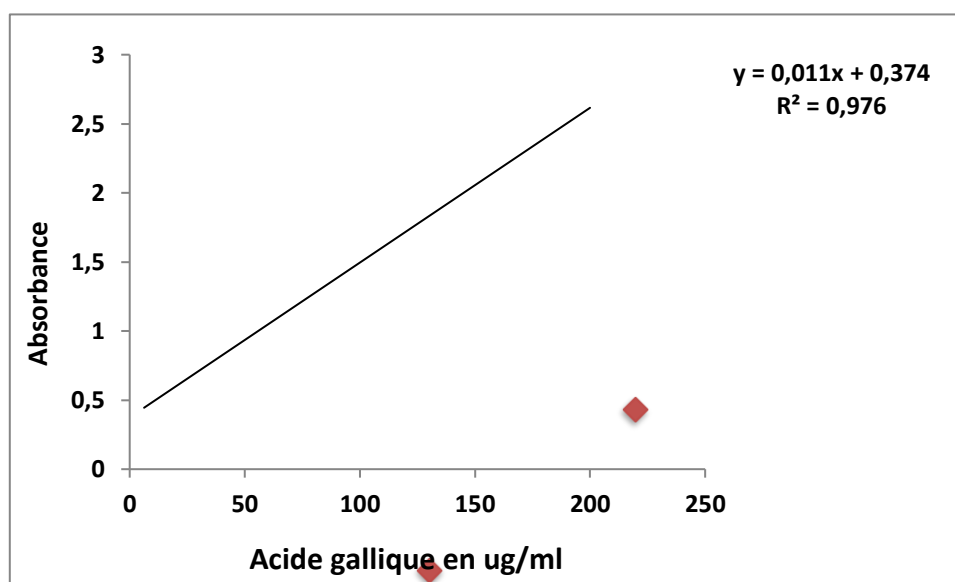


Figure 24 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

La teneur en polyphénols dans notre extrait est 13 µg EAG/mg ES, les résultats supérieure au résultats de (**Harrar Abd et Nacer, 2012**) obtenus que le teneur en polyphénols est 7 µg EAG/mg ES. La teneur en composés phénoliques d'une plante dépend d'un certain nombre des facteurs intrinsèques (Génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, maturité à la récolte et conditions de stockage) (**Falleh et al., 2008**).

Partie expérimental

La teneur en composés phénoliques varié également en fonction de la méthode d'extraction (**Pandey et Tripathi, 2014**), la solubilité des composés phénoliques est en fonction de leur degré de polymérisation, et ainsi liée à la distribution des métabolites secondaires, l'interaction avec les autres constituants et le type de solvant utilisé. Dans notre cas la méthode d'extraction des polyphénols par le test Folin-Ciocalteu lorsque dosage non sélectif vise à vis des polyphénols car il est impliqué que toutes les molécules réductrices comme le sucre réductrice (**Rahmani, 2020**)

1.2. La teneur en flavonoïdes:

Après le dosage, la teneur en flavonoïdes est obtenue à partir de courbe détalonnage de quercétine (**Figure 25**), ayant l'équation de régression linéaire est $y=0,013x+0,109$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,978$.

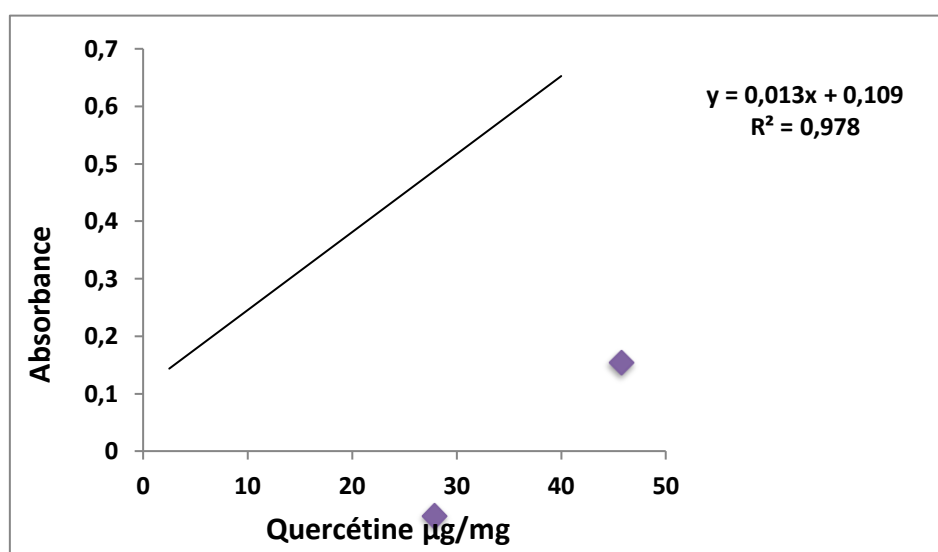


Figure 25: Courbe d'étalonnage de quercétine.

La teneur en flavonoïdes dans notre extrait est 27,76 µg EQ/mg ES. les résultats sont proches aux résultats trouvés par (**Ben Ammar et al., 2007**) qui sont respectivement 28 et 21 mg EQ/100g de matière fraîche pour les extraits méthanolique et aqueux des feuilles de la même espèce de la région de la Tunisie. Mais légèrement 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 des racines et des feuilles respectivement.

Cette différence peut être due au temps et aux saisons de la récolte, aux conditions climatiques et conditions d'extraction et du dosage lui-même (**Ravel et al., 2005**), les méthodes de conservation et d'exposition à la lumière des plantes peuvent affecter la teneur en flavonoïdes même (**Ravel et al., 2005**).

Partie expérimental

2. Activités antioxydants :

Les antioxydants sont définis comme « toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat » (Pastre, 2007). Les antioxydants piègent les radicaux libres en inhibant les réactions à l'intérieur des cellules provoquées par les molécules de dioxygène et de peroxyde, aussi appelées espèces oxygénées radicalaires (EOR) et espèces azotées radicalaires(EAR).

L'activité antioxydante des extraits de la partie aérienne de *Rhamnus alaternus* a été évaluée in vitro par le test de DPPH et le résultat a été exprimé en termes de pourcentage de réduction de DPPH. Selon la méthode précédent, après 30 min d'incubation à température ambiante et en obscurité .Le 2, 2-diphényle-1picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable de couleur violacée en présence des composés anti- radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune , l'absorbance est mesuré à une 517 nm longueur d'onde et l'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique (vitamine c) est été également analysé à la même concentration pour faire la comparaison. Les résultats obtenus sont représentés dans la **Figure 26** qui illustre l'efficacité d'extrait de *Rhamnus alaternus* à piéger le radical DPPH, traduite par le taux d'inhibition (I%) en fonction des différentes concentrations l'évolution de l'activité anti radicalaire-dose dépendante, car elle augmente avec l'augmentation des concentrations d'extrait dans le milieu réactionnel.

La capacité antioxydante des différents extraits a été déterminée à partir de l'IC₅₀, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radicale DPPH. Plus la valeur de l'IC₅₀ est petite plus l'extrait est considère comme un antioxydant puissant. (Kumbhare *et al.*, 2012 ; Khoudali *et al.*, 2014 ; Hebi et Eddouks, 2016). Récapitulatif des résultats d'évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait de *Rhamnus alaternus* et vitamine C représenté dans le Tableau 3:

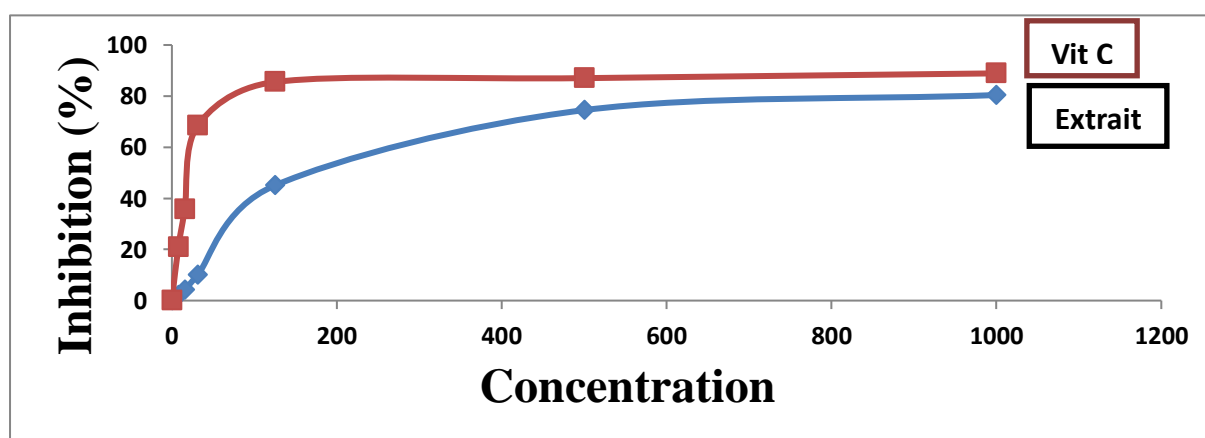


Figure 26: évaluation des activités antioxydantes de vit C et Extrait.

Partie expérimental

	Inhibition max (%) (Imax)	IC ₅₀ (µg/ml)
Vit C	87	24
Plante	75	140

Les résultats de cette étude ne conforme pas avec les résultats de (**Guendouz, Saidi, 2018**) dont IC₅₀ obtenu est 9,72 µg/ml. A travers ces résultats, on déduit que l'évaluation de l'activité antioxydant in vitro par le test DPPH et en comparaison avec la valeur d'IC₅₀ de vit C 24µg/ml.

La plupart des activités antioxydants des végétaux sont en corrélation avec les teneurs en polyphénols totaux. Les polyphénols et les flavonoïdes jouent un rôle important dans la défense contre les radicaux libres (**Govindarajan et al., 2005**) et ils sont considérés parmi les antioxydants les plus puissants (**Letowska et al., 2006**).

3. Gain du poids:

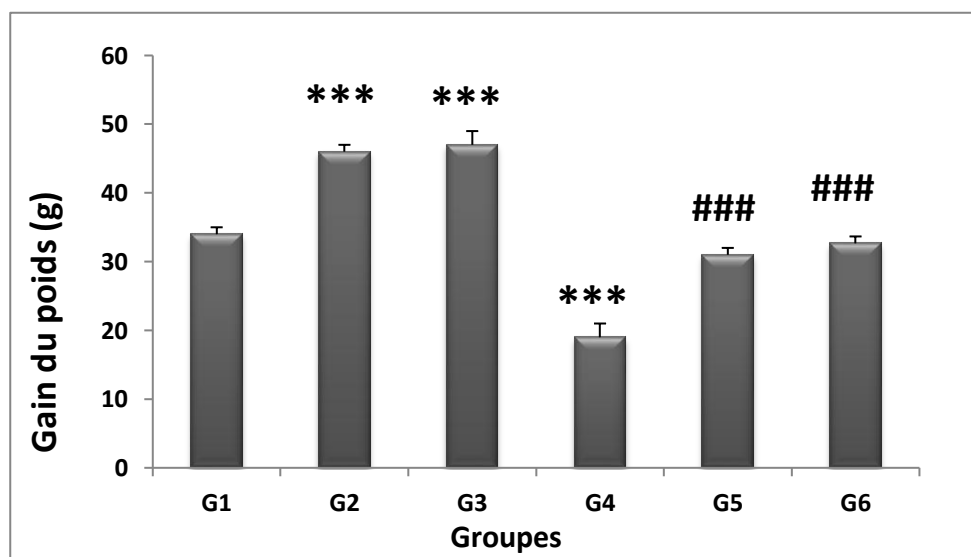


Figure 27 : Variation de gain du poids chez les rats des différents groupes étudiés.

D'après les résultats présents dans la **Figure 27**, on remarque une diminution significative ($p \leq 0.001$) de gain du poids chez le groupe traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium par rapport au groupe témoin. Les résultats sont conformes avec les résultats de (**M.diaby Vandjiguiba, 2017**) montré que le sulfate de cadmium entraîne des pertes de poids et un ralentissement de la croissance. Tandis que, une augmentation significative ($p \leq 0.001$) de gain du poids chez les groupes traités par

Partie expérimental

les deux traitements les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et la plante dose 250 et 500 mg/kg/jour par rapport le groupe exposé aux nanoparticules d'oxyde d'aluminium.

Chez les rats traités par les deux doses de *Rhamnus alaternus* L 250 et 500 mg/kg/jour, les résultats montrent une augmentation significative ($p \leq 0.001$) de gain du poids par rapport les rats témoins.

Les résultats obtenus montrent clairement que les nanoparticules d'oxyde d'aluminium diminué le poids des rats. Les résultats sont conformes avec les résultats de (wenting *et al.*, 2014) affirment que l'exposition a cet agent influence la prise alimentaire et perturbe l'absorption des aliments au niveau du tractus gastro-intestinal ce qui conduit à un retard de croissance (Struys-Ponsar *et al.*, 2000; Hirata-Koizumi *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2012), mais les résultats de (Je-Oh *et al.*, 2020) justifient cette perte de poids à un effet anorexigène induise par cet agent toxique. Selon Sajjad *et al.* (2004), le cadmium a entraîné des pertes d'appétit chez les rats. Aussi, la disponibilité de l'aliment est-elle un facteur important dans la prise de poids (Layachi et kechrid, 2012). Ces auteurs pensent que la perte de poids peut être due a une augmentation de la dégénération des lipides, des protéines et des nutriments. Selon B. Khettal *et al.* (2014), les feuilles de *Rhamnus alaternus* peut être constituent une source de molécule active ayant une incidence sur l'évolution du poids corporel sans effet sur le métabolisme des lipides et sont exempt d'effet néphrotoxique.

4. Paramètres biochimiques:

4.1. Glycémie:

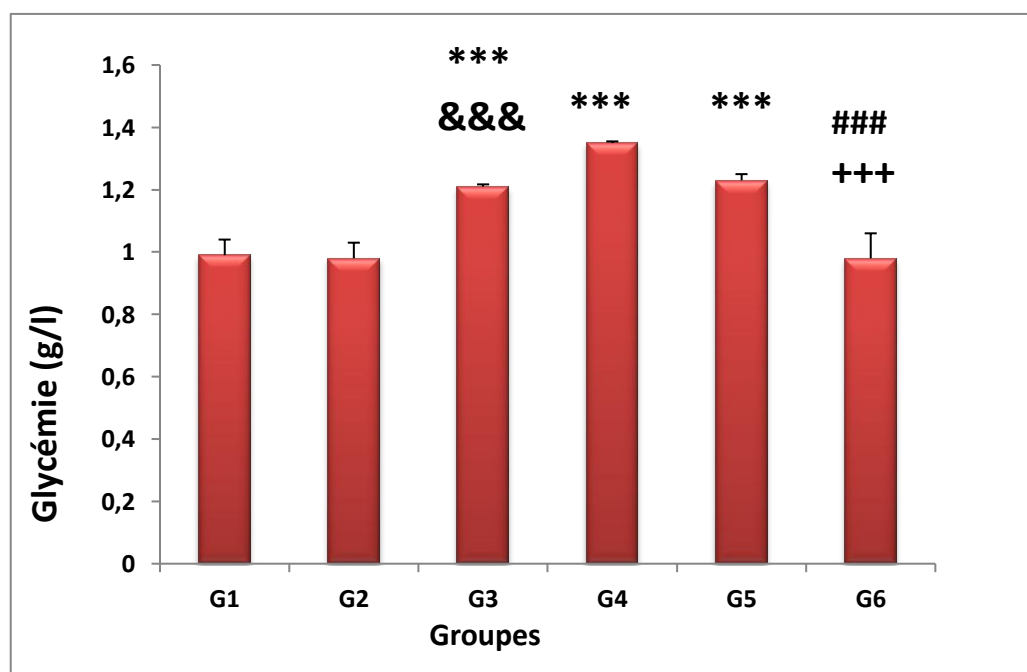


Figure 28: Variation de la glycémie chez les rats des différents groupes étudiés.

Partie expérimental

D'après les résultats présents dans la **Figure 28** on remarque une augmentation significative du taux du glucose ($P \leq 0,001$) chez les rats traités avec les nanoparticules d'oxyde d'aluminium par rapport aux rats témoins. Les résultats sont similaires avec les résultats de (**Merrouche et Belgharbi, 2022**), qui ont signalés une augmentation de la glycémie chez les groupes des rats traités par le chlorure d'aluminium. Par contre, les résultats ne conforme pas avec les résultats de (**Okba et Rouissi, 2015**), que l'oxyde de fer diminué le taux du glucose chez les lapins par rapport à celui des lapins témoins. Au contraire, on a également enregistré une diminution significative du glycémie ($P \leq 0,001$) chez les rats traités par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et *Rhamnus alaternus* L concernent la dose 500 mg/kg/jour et aucune différence significative chez les rats traités par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et la dose de plante 250 mg/kg/jour par apport aux rats exposés aux les nanoparticules d'oxyde d'aluminium. Chez les rats traités par la dose de *Rhamnus alaternus* L 250 mg/kg/jour, les résultats montrent aucune différence significative de la glycémie et une augmentation significative ($P \leq 0,001$) chez les rats traités par la dose 500mg/kg/jour par apport les rats témoins.

L'augmentation de la glycémie résulte de l'effet de l'oxyde d'aluminium sur la diminution de l'insuline (**SM Hosseini et al., 2020**).

L'exposition à $AlCl_3$ provoque un stress oxydatif et inhibe la fonction rénale (**J Liu et al., 2016**).

La plante *Rhamnus alaternus* peut être auraient une activité antidiabétique (**Khengui, Kimfoko, 2022**).

Partie expérimental

4.2. Bilan rénal: Urée, Acide urique, Créatinine:

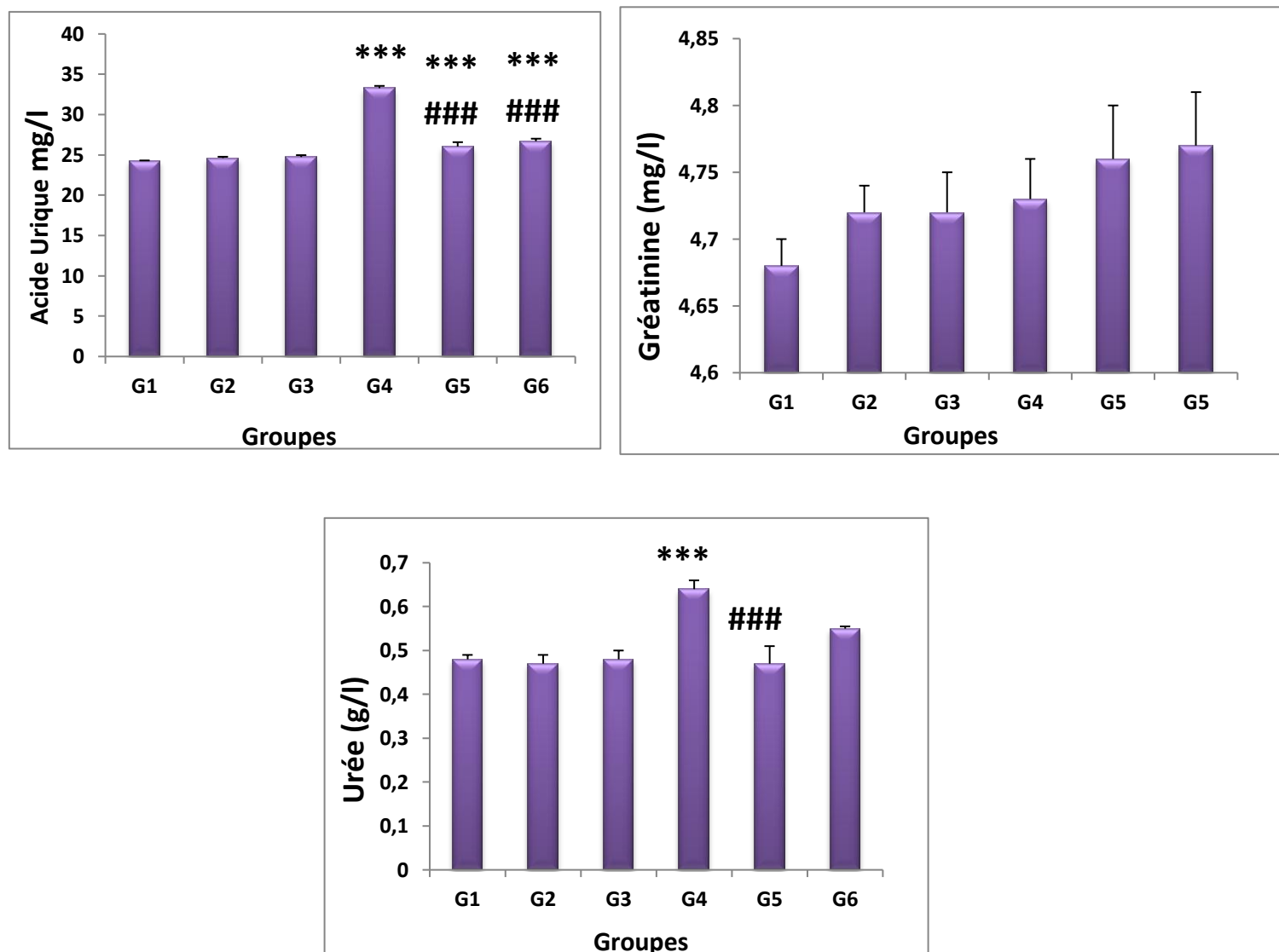


Figure 29 : Variation du taux de l'urée, créatinine et l'acide urique chez les rats des différents groupes étudiés.

D'après les résultats présents dans la **Figure 29**, on remarque une augmentation significative ($P \leq 0,001$) du taux d'urée et l'acide urique chez le groupe traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium par rapport au groupe témoin.

Les résultats sont similaires avec les résultats de (**Merrouche et Belgharbi, 2022**) obtient que l'exposition a le chlorure d'aluminium provoque une augmentation du taux d'urée, acide urique chez les rats. Par contre ce qui concerne la créatinine, les résultats devient non conforme car dans leur étude le chlorure d'aluminium augmente le taux de créatinine. Tandis que, on remarque une diminution significative d'un taux d'urée ($P \leq 0,001$) chez le groupe traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et la dose de plante 250 mg/kg/jour et aucune différence significative chez le

Partie expérimental

groupe traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et la dose de plante 500 mg/kg/jour par rapport le groupe exposé aux nanoparticules d'oxyde d'aluminium. D'autre côté une diminution significative de l'acide urique ($P \leq 0,001$) chez les groupes traités par deux traitement les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et la plante par rapport le groupe exposé aux nanoparticules d'oxyde d'aluminium. Chez les rats traités par les deux doses de *Rhamnus alaternus* L 250 et 500 mg/kg/jour, les résultats montrent aucune différence significative du taux d'urée et acide urique par rapport les rats témoins.

Quand la créatinine, on remarque aucune différence significative chez les différents groupes étudiés.

Les résultats obtenus montrent clairement que les nanoparticules d'oxyde d'aluminium affecte la fonction excrétrice des néphrons, l'unité structurale et fonctionnelle des reins, révélée par l'augmentation des niveaux de l'acide urique sanguine et l'urée. D'autant plus que c'est un paramètre très important et essentiel pour évaluer la fonction rénale et la filtration glomérulaire (**Fingo, 1997**). L'urée et la créatinine sont des produits finaux de la dégradation des protéines tandis que la purine est la principale source d'acide urique (**Mahieuet al., 2005**) de ce fait, l'augmentation de leur taux plasmatique peut être corrèle soit à l'augmentation du catabolisme protéique, ou bien à l'augmentation de la glycation des protéines qui peut entraîner une atrophie musculaire accompagnée d'une libération accrue de la purine(**EL-Demerdash, 2004**). Un taux élevé de ces produits dans le sang, peut être traduit par un dysfonctionnement rénal dû à la présence d'une néphropathie caractérisée par une réduction de la filtration glomérulaire (**El-Nekeety et al., 2009**).

4.3. Protéines totales et Albumines:

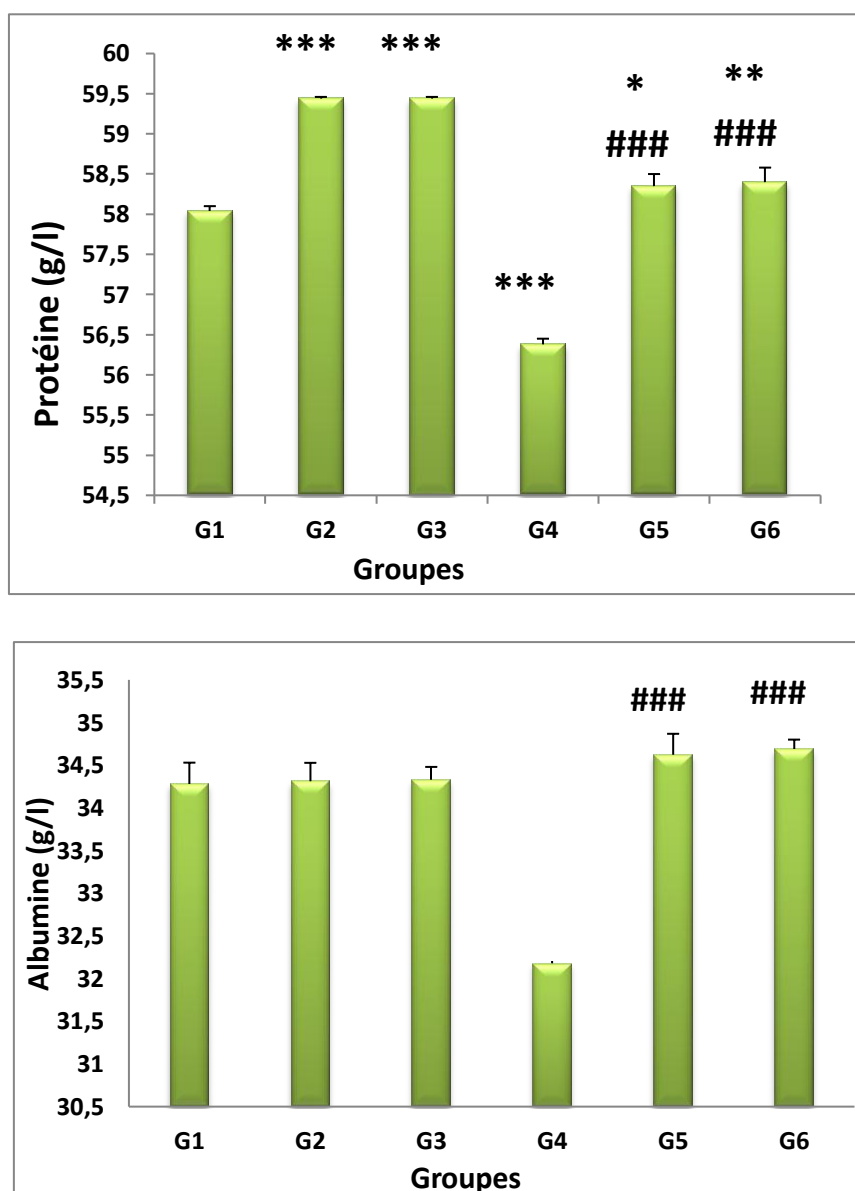


Figure 30 : Variation de la concentration des protéines et albumines chez les rats des différents groupes étudiés.

Les résultats de la **Figure 30**, montrent une diminution significative de la concentration des protéines ($P \leq 0,001$) chez les rats traités par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium par rapport les rats témoins, les résultats compatibles avec (**Merrouche et Belgharbi, 2022**) qui utilise le chlorure d'aluminium et aucune différence significative d'albumines chez les rats traités par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium par rapport les rats témoins. Au contraire on remarque une augmentation significative ($P \leq 0,001$) chez les rats qui traités par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et les deux doses de la plante par rapport les rats exposés par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium. Chez les rats traités par les deux doses de *Rhamnus alaternus* L 250 et 500

Partie expérimental

mg/kg/jour, les résultats montrent aucune différence significative de albumine et une augmentation significative des protéines par rapport les rats témoins.

La diminution des protéines est le signe d'une néphrotoxicité (Dafri, M.lehadi, 2017).

L'augmentation des protéines totales par *Rhamnus alaternus* facilite l'élimination des molécules toxiques (Bensidhom *et al.*, 2014).

5. Paramètres hématologiques : Globule rouge(GR), Globule blanc(GB), Hémoglobine(HB), Hématocrite(HT) :

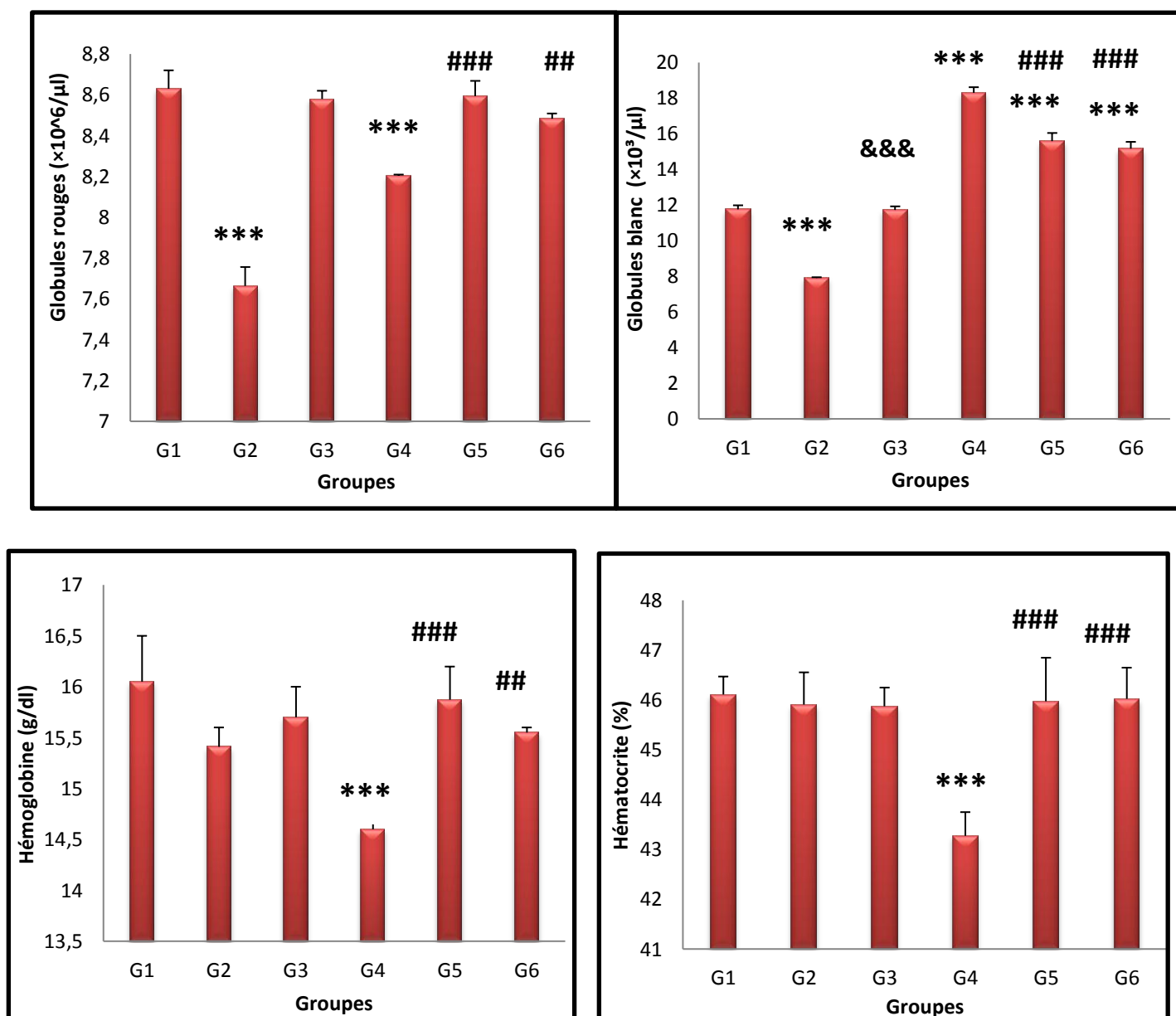


Figure 31: Variation du nombre des globules rouges, globules blanc et la concentration de hémoglobine et le pourcentage de Hématocrite chez les rats des différents groupes étudiés.

Partie expérimental

Les résultats de la **Figure 31**, montrent une diminution significative de nombre des globules rouges et la concentration de HB et le pourcentage de HT ($P \leq 0,001$) et une augmentation significative du nombre des GB ($P \leq 0,001$) chez les rats traités avec les nanoparticules d'oxyde d'aluminium par rapport aux rats témoins. Les résultats sont conformes avec (**Merrouche et Belgharbi, 2022**), obtient que l'administration de chlorure d'aluminium aux rats provoque une diminution de nombre des GR et la concentration de HB et le pourcentage de HT et une augmentation du nombre des GB.

On montre une augmentation significative de la concentration de HB et le pourcentage de HT ($P \leq 0,001$) chez les rats traités par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et la plante dose 250 mg/kg/jour et une diminution significative ($P \leq 0,001$) de nombre des GB et on observe aucune différence significative du nombre des GR par rapport les rats traités par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium.

Pour les rats traités par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et la plante dose 500 mg/kg/jour on remarque une augmentation significative du nombre des GR et le pourcentage de HT et la concentration de HB ($P \leq 0,01$) par rapport les rats exposés aux nanoparticules d'oxyde d'aluminium, mais on remarque une diminution significative du nombre des GB ($P \leq 0,001$).

On remarque une diminution significative de nombre des GR et des GB ($P \leq 0,001$) chez les rats traités par la plante dose 250 mg/kg/jour par rapport les rats témoins et aucune différence significative de concentration de HB et le pourcentage de HT.

Chez les rats traités par la dose 500 mg/kg/jour, les résultats montrent aucune différence significative des nombre des GR et GB, la concentration de HB et le pourcentage de HT par rapport les rats témoins.

L'administration de chlorure d'aluminium aux rats provoque une toxicité au niveau des organes.

Il s'agit de la diminution du nombre des GR à cause de leur hémolyse.

En outre, l'augmentation de nombre des GB reflète la présence d'œdème et d'inflammation au niveaux tissulaire. **Farina et se collaborateurs (2005)** montrés que l'exposition chronique au nitrate d'aluminium altère de nombreux paramètres hématologiques et provoque par conséquent l'apparition d'une anémie.

La plant *Rhamnus alaternus* peut être elle à la capacité de traité de l'inflammation.

6. Paramètres de métabolites:

6.1. Glucides:

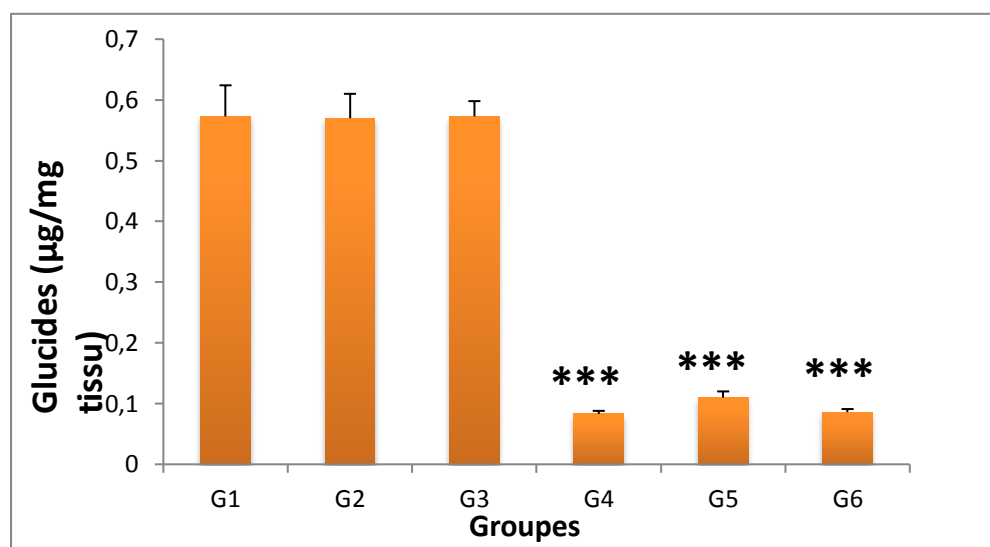


Figure 32: Variation des Glucides chez les rats des différents groupes étudiés.

D'après les résultats présentes dans la **Figure 32**, on montre une diminution significative du taux des glucides rénales ($P \leq 0.001$) chez le groupe traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium par rapport au groupe témoin. Les résultats non conformes pas avec les résultats de (**Dafri, M.lehadi, 2017**) qui utilisés le Fe_3O_4 .

Par contre on n'observe aucune différence significative chez les rats traités par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et la plante dose 250 et 500 mg/kg/jour par rapport les rats exposés par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium.

Chez les rats traités par les deux doses de *Rhamnus alaternus* L 250 et 500 mg/kg/jour, les résultats montrent aucune différence significative du taux des glucides par rapport les rats témoins.

6.2. Protéines:

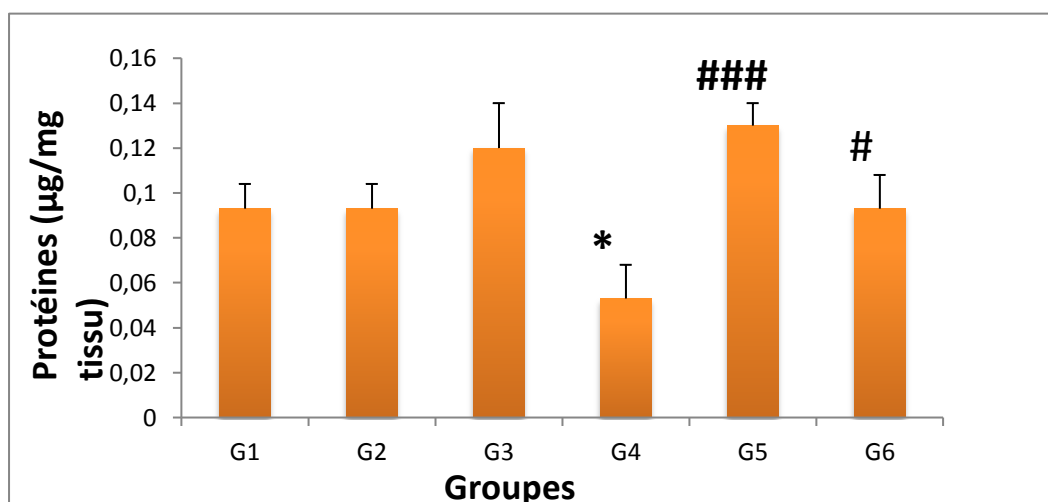


Figure 33: Variation des Protéine chez les rats des différents groupes étudiés.

D'après les résultats présentes dans la **Figure 33**, on montre une diminution significative ($P \leq 0,05$) du taux des protéines rénales chez le groupe traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium par rapport au groupe témoin. Les résultats sont conformes avec les résultats de (**Dafri, M.lehadi, 2017**) qui utilisés Fe_3O_4 .

Au contraire on remarque une augmentation significative ($p \leq 0,001$) chez les rats traités par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et la plante dose 250 mg/kg/jour, et les rats traités par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et la plante dose 500 mg/kg/jour ($P \leq 0,05$) par rapport les rats exposés par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium. Chez les rats traités par les deux doses de *Rhamnus alaternus* L 250 et 500 mg/kg/jour, les résultats montrent aucune différence significative du taux des protéines par apport les rats témoins.

La diminution des protéines rénales cela est probablement du a l'inhibition de l'activité enzymatique provoquée par l'introduction de la nanoparticule (**Dafri, M.lehadi, 2017**).

7. L'étude histologique :

Pour conformé les résultats des paramètres biochimiques obtenus, on a réalisé des coupes histologiques au niveau des tissus des reins, qui permette d'avoir une idée générale sur le pouvoir des substances activées de l'espèce *Rhamnus alaternus* vis-à-vis de l'intoxication provoqué par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium (**Figure 34**).

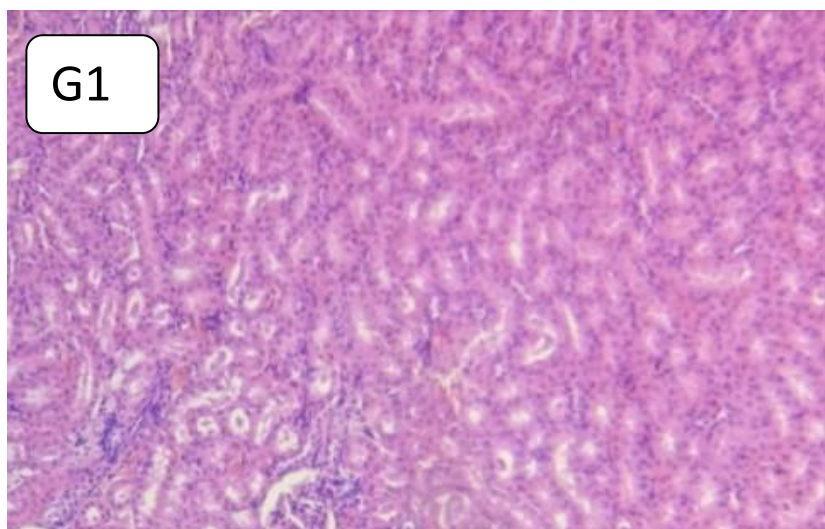


Figure 34: Coupe histologique du tissu rénal du groupe témoin (X10).

La structure histologique rénale des rats témoins montre une structure et un aspect histologique normal (**Figure 34**). En effet, nous observons des cellules rénales avec des zones corticales et médullaires bien définies avec des noyaux volumineux et sombres. Aussi le nucléole est visible au centre, simultanément à la présence des autres compositions telle que les tubes rénaux, les chambres glomérulaires et les glomérules rénales.

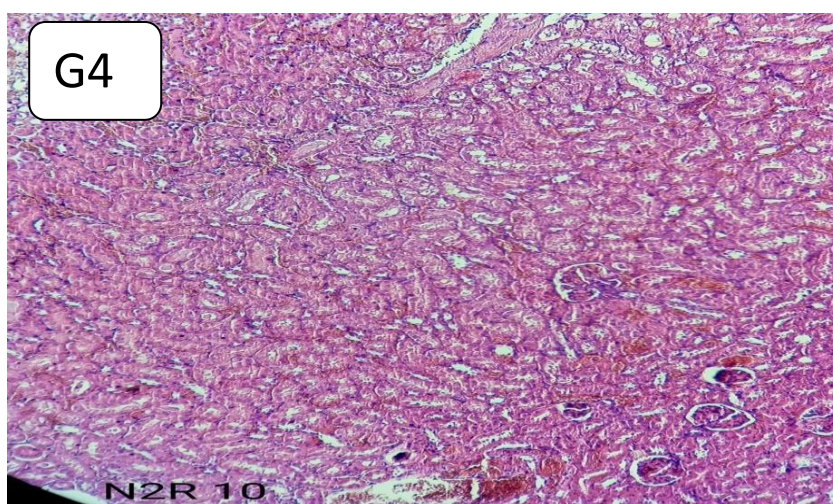


Figure 35: Coupe histologique du rat traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium (X 10).

L'analyse de coupe histologique du rat traité avec les nanoparticules d'oxyde d'aluminium révèle des modifications structurelles par rapport au témoin. On note des vaisseaux congestifs et des néphrites interstitielles (**Figure 35**). Ces altérations seraient éventuellement liées à l'augmentation de l'activité rénale expliquée par des taux élevés d'acide urique et d'urée. Selon les résultats de **Elfeki et al. (1981)** et **Stengel (1996)** et **Samaoui et al. (2000)** et **Mohamed et al. (2003)** l'intoxication par certains oxydes induit un dysfonctionnement tubulaire ou une néphropathie tubulo-interstitielle, qui évolue vers une insuffisance rénale. De plus **Pollak et Harsas (1982)** ont montré que l'oxyde inhibe l'incorporation des acides aminés dans les protéines causant une augmentation des niveaux de la

Partie expérimental

créatinine, de l'acide urique, urée, ce qui explique la relation entre les différents valeurs des paramètres biochimiques.

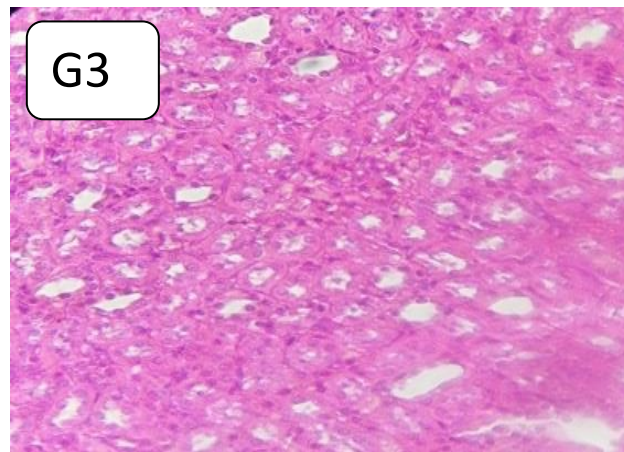


Figure 36 : Coupe histologique des reins traités par la dose de *Rhamnus alaternus* 500mg/kg/jour (X10).

L'examen histologique de rat ayant consommé le dose 500 mg/kg/jours de *Rhamnus alaternus* (**figure 36**) n'a présente aucun changement structurel par rapport du rat témoin.



Figure 37: Coupes histologiques des rats traités par la dose 250mg/kg/jour après les nanoparticules d'oxyde d'aluminium (X10)

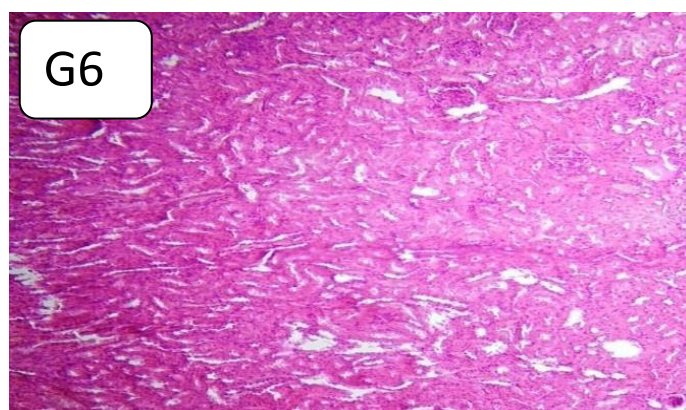


Figure 38: Coupes histologiques des rats traités par la dose 500mg/kg/jour après les nanoparticules d'oxyde d'aluminium (X10).

Pour les rats traités par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium et de *Rhamnus alaternus* L (**Figure 37, 38**) ont montré la présence du foyer nécrosé, la disparation des vaisseaux congestifs et néphrite interstitielle, par rapport eu rat traité par les nanoparticules d'oxyde d'aluminium, aussi la présence des parties tissulaires saines, peut être cette absence traduit par effet protecteur de *Rhamnus alaternus* L.

L'analyse histologique des reins affirme les résultats biochimiques, où on note que les nanoparticules d'oxyde d'aluminium induits des modifications structurales remarquables, qui ont mené à des perturbations des paramètres biochimiques (**Djahra, 2014**). D'une part l'utilisation des substances naturelles comme des solutions thérapeutiques, dans notre cas le principe actif de l'espèce végétale *Rhamnus alaternus*, a réparé les néphrites interstitielles et des vaisseaux congestifs issus des nanoparticules d'oxyde d'aluminium.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Rhamnus alaternus L constitue un important sujet de recherche vu ses multiples vertus thérapeutiques. Ses activités pharmacologiques sont attribuées à ses différents composants chimiques (polyphénols, flavonoïdes).

L'objectif de notre travail a été basé sur l'évaluation de l'effet toxique des nanoparticules d'oxyde d'aluminium qui provoque une néphrotoxicité en alternant les différents paramètres biochimiques et hématologiques. En revanche, l'analyse phytochimique de la partie aérienne de *Rhamnus alaternus* L a mis en évidence les métabolismes secondaires suivants: polyphénols et flavonoïdes a des concentrations respectivement: (13µg EAG/mg ES et 27,76 µg EQ/mg ES). Alors que l'évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait de la plante par le piégeage du radical libre DPPH, a donné la valeur de IC₅₀ (140 µg /ml), donc un faible pouvoir d'activité.

Les nanoparticules d'oxyde d'aluminium peut causer une diminution remarquable du gain de poids des rats et des troubles rénales par l'augmentation du taux de l'acide urique, l'urée, glycémie, le nombre des globules blanc et aucune différence significative chez la créatinine. Les résultats obtenus montrent clairement que les nanoparticules d'oxyde d'aluminium diminués les protéines totales et pour l'albumine aucune différence significative. On a enregistré aussi une réduction des paramètres d'hématologiques (globules rouges, Hémoglobine, Hématocrite).

Néanmoins, le traitement par *Rhamnus alaternus* L induit une importante restauration des certains paramètres biochimiques (glycémie, l'acide urique, urée) et le nombre des globules blanc ce qui montre l'effet protecteur de cette plante, et on montre aucun effet sur les paramètres suivent: les protéines totales, albumines et les paramètres d'hématologiques (globules rouges, Hémoglobine, Hématocrite)

Bibliographies

Références:

A

- **Abegaz, B. M., Peter, M.G. (1995).** Emodin and emodinanthrone rhamnoside acetates from fruits of *Rhamnus prinoides*. *Phytochem*, 39: 1411-1414.
- **Abou-chaar, C. I., Shamlian, S. N. A. (1980).** Chromatographic Study of the Anthraquinones of *Rhamnus alaternus* L. I. Extraction, Isolation and Identification of the Aglycones. *Pharm. Biol*, 18: 49-55.
- **Al Nowaiser, A., Roberts, G-J., Trompeter, R-S., Wilson, M., amp Lucas, V.-S. (2003).** Oralhealth in children with chronic renal failure.
- **Ammar, R., Bhourri, B. W., Sghaier, M., Boubaker, B. J., Skandrani, I., Neffati, A., Bouhlel, I., Kilani, S., Mariotte, A. M., Chekir-Ghedira, L., Dijoux-Franca, M. G. Đ., 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 Chem*, 116: 258-264.
- **Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S.E., Bektaşoğlu, B., Berker,K.I., Özyurt, D.(2007).** Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Journal of Molecules*, 12:1496–1547.
- Akkouche, S., Kadik, L. (2021).** Nassima Guerrache, Rachida Bouberbala , Dune restoration ,International Journal of Human Settlements VoL.5,pp: 955.

B

- **Balasundram, N., Sundram, K., Sammam, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial byproducts: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Journal of Food Chemistry*, 99: 191-203.
- **Battandier, JA., Debray, FG., Flagey, C., Petit, P., Trabut, L. (1888).** Flore de l'Algérie. Ed. A. Jourdan, Alger, p: 189-190.
- **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. Chem. Toxicol*,31: 61-80.

Bibliographie

- **Ben Dellali, I., Benyahia, H. (2005).** Contribution à l'étude de la glomérulonéphrite aigue post-infectieuse dans le sud-est Algérien. Mémoire de Université de Kasdi Merbah Ouargla, pp: 3.
- **Bensidhoum., Charihane., Brahmi., Bakdi, H(Encadreur). (2014).** L'activité antioxydante et hépatoprotective de l'extrait éthanolique de *Rhamnus alaternus* sur la toxicité hépatique induite par Klipal chez les rats *wistar albinos*.
- **Bergeret, JP., Bergeret, E., Bergeret, G. (1909).** Flore des Basses-Pyrénées. Ed. Imprimerie-stéréotype Garet, Pau, p: 230-231.
- **Bhourri, W., Boubaker, J., Kilani, S., Ghedira., 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. *S. Afr. J. Bot.*, 80: 57-62.
- **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 Chem.* 100: 1481-1489.(photo).
- **Boulabaiez Rayane., Melle Daiboun Sahel Ines., Melle Djouria Sarra., Melle Louaar Ghada. (2022).** Effet hépato-protecteur de l'extrait de la plante *Cupressus sempervirens* L. chez les rats intoxiqués par un pesticide, du Diplôme de Master. Université 20 aout 1955 Skikda.
- **Boussekine Rayane., Draoui Meroua., Guerfi Asma., Guessabi Soumai. (2022).** L'effet néphro- induite par un pesticide protecteur de l'extrait de la plante *Cupressus sempervirens* L. vis- à -vis la néphrotoxicité, diplôme de master, université 20 out 1955 Skikda.
- **Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the Principe of proteindye binding. *Anal Biochem*, 72: 278-254.

C

- **Chancerell. (1920).** Flore forestière du globe. Ed. Gauthier-Villars, Paris, p: 561-562.
- **Chancerell. (1920).** *Flore forestière du globe*. Gauthier-Villars.
- **Chanton, R., Paniel, J. (1966).** Biologie animale; Anatomie et physiologie animal II fonction de nutrition. Edition Doin Deren et Cie, pp: 127.
- **Chaouchi, K., Haouas, N. (2018).** Le traitement de l'anémie chez les patients hémodialysés au niveau d'EPH Ain defla, mémoire de fin d'études, Ain defla, p: 45.

Bibliographie

- **Collin, S., Crouzet, J. (2011).** Polyphénols et procédés. *Edition Lavoisier TEC & DOC*, p: 5, 13, 16, 235.

- **Cheltit Wafa. (2021).** Etude de toxicité d'Al₂O₃-NPs et leur impact sur le système cardiovasculaire. Mémoire. Université de Larbi Tébessi –Tébessa.

D

- **Dafri Yasmine., Lehadji Chihab Eddine, M. (2017).** Néphrotoxicité par l'oxyde de fer et l'effet opposé de diféruoyl-méthane, MEMOIRE DE MASTER. Université de Larbi Tébessi –Tébessa.

- **Dalmas, V., Brémond-Gignac, D., Douard, R., Dupont, S., Latrémouille, C., Le Minor, J. M., Pirro, N., Sèbe, P., Vacher, C., You, R. (2009).** In : Anatomie générale, Edition Elsevier Masson, pp : 173.

- **Debeaux, JO. (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, p: 81-82.

- **Djeridane, A. Yous., Nadjemi, M. B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006).**

- **Duchateau, G., Florkin, M. (1959).** For trehalosemie of insects and its signification. Arch Insect Physiol Biochem, 67: 306-314.

- **Diaby Vandhiguiba, M. (2017).** Etude biochimique, hématologique du sulfate de cadmium chez les rats *Wistar*, diplôme de doctorat, université Félix Houphouët-Boigny.

E

- **Edling, C., Anjou, CG., Axelson, O. (1987).** Mortality among personnel exposed to diesel exhaust. Int. Arch Occup Environ Health 59: 559–565.

- **El-feki, A., Gribaa, S., Gharbi Las-seram, N., Kammoun, A. (1981).** Taux de catabolisme hépatique de la cortocostérone chez les rats soumis à diverses agressions. Journal of physiology 77: 17A

F

- **Farina, M., Ratta, L., Soares F, N. A. A., Jardin, F., Jacques, F. (2005).** Haematological changes in rats chronically exposed to oral aluminium. Toxicology 209: 29-37.

- **Frank, Frank CLU. (1992).** Toxicologie, Données générales procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Paris pp: 73- 202.

Bibliographie

- **Friedman, RB., Young, DS. (2001).** Effects of disease on clinical laboratory tests. 5th Edition, AACC, pp: 60: 75.

G

- **Ghellab Maroua. (2021).** Nanotoxicité et réponse hépatique au nanoparticule d'oxyde d'aluminium (Al₂O₃), diplôme de master, université de Larbi Tébessi –Tébessa.

- **Gilani, G. S., Anderson, J. J. B. (2002).** Phytoestrogens and health. Edition *Aocs Press*, P: 405.

- **Gubb, A. S.(1913).** *La flore algérienne, naturelle et acquise.* Paul Geuthner.

- **Gubb, AS.(1913).** La flore algérienne, naturelle et acquise. Ed. A. Jourdan, Alger, p; 16-17.

- **Guendouz Rahima., Saidi Sabrine. (2018).** Etude de l'activité antioxydante de *Rhamnus alaternus* L.

- **Goldsworthy, G. J., Mordue, W., Guthkelch, J. (1972).** Studies on insect adipokinetic hormones. *General and comparative Endocrinology*, 18: 545-551.

H

- **Hadj-Aissa, A., Physiologie rénale. (2013).** Service d'exploration fonctionnelle rénale et métabolique hôpital Herriot E, pavillon P. Faculté de médecine, Lyon-Est.

- **Harrar Abd El Nacer. (2012).** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Diplôme de mater, Université Ferhat Abbas Sétif.

- **Hart, L. D . (1990).** Alumina Chemicals: Science and Technology Handbook, American Ceramic Society, Columbus, Ohio, USA.

- **Hosseini, SM., Leila Beigom Hejazian., Reza, A., Negin Siahchereh Badeli. (2020).** Geraniol attenuates oxidative stress, bioaccumulation, serological and histopathological changes during aluminum chloride-hepatopancreatic toxicity in male *wistar* rats.

Bibliographie

I

- **Idier, L., Larroumet, N., Trolonge, S et al. (2012).** Intérêt d'un programme spécifique en éducation thérapeutique auprès de patients dialysés en hors-centre. *Néphrologie & thérapeutique*, 8(2) : 87-91.
- **Izhaki, I., Tsahar, E., Paluy, I., Friedman, J. (2002).** Within population variation and interrelationships between morphology, nutritional content, and secondary compounds of *Rhamnus alaternus* fruits. *New Phytologist*, 156(2): 217-223.

J

- **Jany Rodrigue. (2019).** Vers un dépistage précoce de l'atteinte glomérulaire chez les femmes avec un diabète en grossesse étude pilote, université de Sherbrooke **(photo)**.
- **Jain, S., Patil, U. K. (2010).** Phytochemical and pharmacological profile of *Cassia tora* Linn. - An Overview. *Indian J. Nat. Prod. Resour*, 1: 430-437**(photo)**.
- **Jianyu Liu., Qin Wang., Xudong Sun., Xu Yang., Cuicui Zhuang., Feibo Xu., Zheng Cao., Yanfei Li. (2016).** The toxicity of aluminum chloride on kidney of rats.
- **Jungers, P., Man, NK., Joly, D et al. (2011).** L'insuffisance rénale chronique: prévention et traitement. Lavoisier.

K

- **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. **(photo)**.
- **Kening, Y., Vincenzo, D. L., Normand, B. (1995).** Création of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to phytophthora infestans. *Journal of The Plant Cell*, 7: 1787-1799.
- **Khaldi, C. (2014).** Impact d'une formation à la gestion du stress sur le vécu de la maladie dans l'insuffisance rénale chronique dans un hôpital universitaire français. *International Journal of Whole Person Care*. 1(1).
- **Khengui Khair-Eddine., Kimfoko Nkombo Constant Welcome. (2022).** Evaluation de l'activité hépatoprotectrice de l'espèce *Rhamnus alaternus* sur les rats traités au CCL4, mémoire de diplôme, Université frères Mentouri Constantine 1.

Bibliographie

- **Khettal, B., Zaidi, A., Tacherfiout, M., Sobhi, W. (2014).** Effet des extraits de feuilles de *Rhamnus alaternus* à activités antioxydant et antilipasique sur la masse corporelle et le métabolismes des lipides des souris nourries avec un régime enrichie en carbohydrates.
- **Krzesinski, JM., Dubois, B., Rorive, G et al. (2003).** Prévention de l'insuffisance rénale chronique chez l'adulte. *Revue Médicale de Liège*, 58(6) : 369-377.
- **Kotovirta, ML., Salo, OP., Visa-Tolvanen, K. (1984).** Contact sensitivity to aluminum. *Contact Dermatitis*. Aug, 11(2):135. doi: 10.1111/j.1600-0536.1984.tb00955.x. PMID: 6488779.
- **Kosalec, I., Kremer. D., Locatelli, M., Epifano, F., Genovese. S., Carlucci, G., Končić, M. Z. (2013).** Anthraquinone profile, antioxidant and antimicrobial activity of bark extracts of *Rhamnus alaternus*, *R. fallax*, *R. intermedia* and *R. pumila*. *Food chemistry*, 136(2): 335-341.

L

- Laachachi, M., Ferriol, M., Cochez, J-M Lopez Cuesta., Ruch, D. (2009).** “A comparison of the role of boehmite (AlOOH) and alumina (Al₂O₃) in the thermal stability and flammability of poly (methyl methacrylate),” *Polymer Degradation and Stability*, vol. 94, no. 9, pp: 1373–1378.
- **Lyonel, AL. (2004).** Insuffisance rénale aigue en préopératoire et en préanimation pp: 4.

M

- **Marzouk, M. S., El-Toumy, S. A., Merfort, I. A., Nawwar, M. A. M. (1999).** Polyphenolic metabolites of *Rhamnus disperma*. *Phytochem*, 52: 943-946.
- **Mathieu, A. (1860).** Flore forestière; description et histoire des végétaux ligneux qui croissent spontanément en France et des essences importantes de l'Algérie. Suivies d'une méthode analytique pour en déterminer les principales espèces. Ed. Ancienne maison Grimblot et cie, N. Grosjean, successeur, Nancy, p: 52-53.
- **Merrouche khawla., Belgharbi Hanane. (2022).** Contribution à l'étude de la toxicité de l'aluminium chez les rats, diplôme de master, Université L'arbi Ben M'hidi Oum el bouaghi.
- **Meyrier, A., Bertic, C. (1993).** Maladie rénale de l'adulte. Ed ellipse, Pp: 26, 28, 41,43.
- **Mayrier, A., Affre, J., Beaufiles, M., Pecquemont, L. (1993).** LES Maladies Renales de l'adulte compréhension, diagnostic, traitements, page: 17-98 et 138. Editions Ellipses, Paris. Berti éditions, Alger, 1994.

Bibliographie

- **Mobile Reference. (2008).** The Illustrated Encyclopedia of Trees and Shrubs: An Essential Guide To Trees and Shrubs of the World. Ed. MobileReference, p: 5205.
- **Mouhamed, M., Abdellatif, MD., Sabar, A., Elglammal, MD. (2003).** Sodium fluoride ion and renal function after prolonged sevoflurane or isoflurane anaesthesia .Eng J Anaesth 19: 79-83.

N

- **Nekkaa, A., Benaissa, A., Mutelet, F., Canabady-Rochelle, L. (2021).** *Rhamnus alaternus* plant: extraction of bioactive fraction and evaluation of their pharmacological and phytochemical propertie.
- **Nielsen, J., Dahlqvist, M., Welinder, H. (1993).** Small airways function in aluminum and stainless steel welders. Int. Arch Occup Environ Heath 65: 101–105

O

- **Okba Oum Elkheir., Rouissi Raja Zohra. (2015).** Etude de l'effet toxique des nanoparticules de l'oxyde de fer sur quelques paramètres biologiques chez les lapins, Diplôme de Master Académique, Université Echahid Hamma Lakhdar d'el-oued.

P

- **Pebret, F. (1993).** Anatomie physiologie .Ed heure de France, Pp: 293.
- **Pellet, M. V. (1977).** Le milieu intérieur. Le rein. Physiologie humaine. 2 ème partie. Sime pp: 58.
- **Penzig, O. (1902).** Flore coloriée de poche du littoral méditerranéen. Ed. P. Klincksieck, Paris, p: 27-28.
- **Pirson, Y., amp., Strihou, C. Y. (1986).** Renal side effects of non-steroidal anti-inflammatorydrugs: clinical elevance, P: 44.
- **Pollak, J. K., Haras, W. (1982).** Effects of organochlorine compounds on lipid catabolism of foetal rat liver mitochondria and microsome. Bull envirom contam toxicol 28: 313-18.

Q

- **Quezel, P., Santa, S., (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. Centre nationale de la recherche scientifique, Paris, p: 617-620.

R

Bibliographie

- **Richardson, J., Fay, E. M., Cronk, F. Q., Bowman, C. B. D., Chase, M. W. A. (2000).** phylogenetic analysis of *Rhamnaceae* using rbcL and trnL-F plastid DNA sequences. *Am. J. Bot.*, 87: 1309-1324.

S

- **Sahraoui Amel., Sadki Amel. (2019).** Testes phytochimiques et activité antioxydante des partie aériennes de *Rhamnus alaternus* L, diplôme de master, universite Mohamed El Bachir El Ibrahimi – B .B.A.

- **Samaoui, M., Gorbel, F., Bougelben, M., Makni-Ayad, F., El Feki, A. (2000).** Impact de l'exposition chronique aux gaz d'échappement d'origine automobile sur certains biomarqueurs touchant la fonction rénale et l'hémogramme chez les rats. *Pollut Atmos* 167: 439-449.

- **Sjögren, B., Iregren, A., Frech, W. (1996).** Effects on the nervous system among welders exposed to aluminium and manganese. *Occupational and Environmental Medicine*, 53: 32-40.

- **Stengel, B. (1996)** . Maladies rénales d'origine toxique professionnelle, in encyclopédie, medico-chirurgicale elsevier, paris, p: 8.

- **Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyneck, C. (1966).** Newhall A, Freidman L, A method for the sequential quantitative separation and glycogen from a single rat liver homogenate or from a sub cellular fraction. *Analyt Biochem*, 19: 415-428.

- **Sonthonnax, J. (2014).** L'aluminium et son potentiel toxique, Diplome de docteur pharmacie, Université limoges.

T

- **Thériault, G., Cordier, S., Harvey, R. (1980).** Skin telangiectases in workers at an aluminum plant. *N Engl J Med.* Nov 27, 303(22):1278-81. doi: 10.1056/NEJM198011273032206. PMID: 7421964.

- **Tortora, G. J., Angostakos, N. P. (1988).** Principe d'anatomie et de physiologie. Ed montreal quebec, pp: 706-717.

- **Tortora-Grabowski. (2001).** Principe d'anatomie et de physiologie. Ed de boeck, pp: 974-983.

Bibliographie

U

- **Ueda, W. M., Sadakane., Ogihara, H. (2008).** “Nano-structuring of complex metal oxides for catalytic oxidation,” *Catalysis Today*, vol. 132, no. 1–4, pp: 2–8, 2008.

W

- **Wei, B. L., Lin, C. N., Won, S. J. (1992).** Nakahalene and Cytotoxic principles of Formosan *Rhamnus* Species. *J. Nat. Prod*, 55: 967-969.

- **Widmaier, EP., Raff, H., Strang, KT. (2013).** Reins et régulation de l’eau et des ions inorganiques. In: Widmaier EP, Raff H Strang KT (dir). *Physiologie humaine*. Paris: Maloine, p: 475–515.

- **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 *Food Chem*, 97: 705-711.

Liste des sites:

Anonyme (2017): www.doctissimo.fr

Anonyme (2022): www.inserm.fr

Anonyme (2022): www.ceramicsrefractories.saint