République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Dr. Moulay Tahar -Saïda-
Faculté des Sciences
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master en Biologie

Option : *Biochimie et physiologie cellulaires*

Thème :

Contribution à l'étude de l'effet de l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* L. chez les jeunes rats *Wistar* intoxiqués à l'acétate de plomb : évaluation de l'activité hépatique.

Présenté par :

Melle. AIMER SARA

Melle. BENZINE FATIMA

Soutenu le: 23 Juin 2015.

Devant les membres du jury :

Président :	***Mme. LABANI Nora***	***Maitre Assistant A, Université de Saïda.***
Examinatrice :	***Mme. HASSANI Maya***	***Maitre de Conférences B, Université de Saïda.***
Examinatrice :	***Mme. HADJAJ Hassina***	***Maitre Assistant A, Université de Saïda.***
Encadreur :	***Mme. DAHANI Moufida***	***Maitre Assistant A, Université de Saïda.***

Année universitaire : 2014 - 2015

Dédicace de Fatima

Je dédie ce modeste travail en signe de reconnaissance et de respect à Mes chers parents symbole d'amour et de tendresse, qui est tant privée pour me satisfaire, pour leurs sacrifices.

A mes sœurs Fatna, Khadidja, Hayat, Naziha et Rabha.

A mes frères Abdelkader, Ibrahim, Abdelhamid et Boudali.

A toutes les familles Benzine et Hamdani.

A tout mes professeurs.

A tous mes amis et en particulier Sara, Wahiba, Messaouda, Manar, Aicha, Fadila, Khadija, Zahra, Zoubida, Hanane, Mira, Kheira, Naremane, zakaria,Khalad, Ahlam.

Sans oublier ma promotion de biologie 2015.

Dédicace de Sara

Je dédie ce modeste travail en signe de reconnaissance et de respect à : Mes chers parents symbole d'amour et de tendresse, qui est tant privée pour me satisfaire, pour leurs sacrifices.

Mes sœurs Halima, Karima, Soumai et Aoiali.

A mes frères Aziz, Alli.

A toute la famille Dellase et Aimer.

A tout mes professeurs.

A tous mes amis et en particulier Fatima, Wahiba, Messaouda, Manar, Khadidja, Zoubida, Fatna, Romaissa, Imane,Kheira, Zakaria, Naremane.

Sans oublier ma promotion de biologie 2015.

Remerciements

Nous remercions le DIEU, le tout puissant de nous avoir accordé la santé et le courage pour accomplir ce modeste travail.

Au terme de ce travail, La première personne que nous tenons à remercier est notre encadreur Madame DAHANI Moufida pour avoir bien accepté de diriger notre travail, pour son orientation, pour la confiance qu'elle nous a donné et pour sa grande patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pu être mené au bon port.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury :

Madame LABANI Nora le président du jury qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse

Madame HASSANI Maya et Madame HADJAJ Hassina pour nous avoir fait l'honneur de prendre part de notre jury de thèse, et d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous exprimons nos remerciements les plus profondes à M R.AMMAM pour son aide précieuse dans l'expérimentation animale, au moment des prélèvements ainsi que la réalisation des coupes histologiques.

Nous exprimons nos profonds remerciements à tous ceux que nous avons côtoyés tout au long de notre séjour au laboratoire du département de biologie de l'université de Saida et en particulier Mr. Ahmed, L'hôpital de Saida, le laboratoire de Ouled Brahim et le laboratoire de Mostaganem en particulier.

En fin, nous exprimons nos remerciements les plus profondes à tous les personnes qui ont contribué de prés ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Liste des figures

Figure 1: Parcours du plomb dans l'organisme……. 12

Figure 2: Effet du plomb sur la biosynthèse de l'hème…… 15

Figure 3: Feuille et fleurs de la mélissaofficinalis……. 23

Figure 4 : Structure des principaux composants de l'huile essentielle de la mélisse…… 27

Figure 5: Protocole expérimental…….. 33

Figure 6 : Méthode d'extraction du résidu de plante……. 35

Figure 7: Le rendement de la plante *Mélissa officinales L*…….. 44

Figure 8: l'évolution du poids corporel des trois lots des jeunes rats pendant 8 semaines d'expérimentation……... 45

Figure 9 : Le poids relatif du foie des trois lots expérimentaux…… 46

Figure 10: Variation du nombre des globules rouges (GR) chez les lots expérimentaux……. 47

Figure 11: Variation du nombre des Hémoglobines chez les lots expérimentaux ……..... 48

Figure 12: Variation du nombre des Hématocrites chez les lots expérimentaux…….. 49

Figure 13: Variation du nombre des globules blancs (GB) chez les lots expérimentaux ……. 50

Figure 14: Evolution de la TGP chez les lots expérimentaux …….. 51

Figure 15 : Evolution de la TGO chez les lots expérimentaux ……. 52

Figure 16 : Examen microscopique du tissu hépatique chez les rats étudiés : rats témoins (A), rats intoxiqués à 350mg/l de plomb (B), rats intoxiqués et traités (C). (Hématoxyline-Eosine X 40 X10). VC : vaisseau congestif, CN : cellule nécrosée, IN : dépôts d'inclusions…… 53

Lite des tableaux

Tableau1: propriétés physico-chimique du plomb et ses dérivées ……. 5

Tableau2 : La classification de la mélisse..……..22

Tableau 3:. Composés principaux de la mélisse selon différentes sources…….25

Tableau 4: Composition de l'huile essentielle de mélisse selon différentes sources……..28

Tableau5: Origine et caractéristique du matériel végétal (*la mélisse)*.……..*34*

Tableau 6: L'effet du plomb sur les poids des rats de l'expérience ……46

TABLE DES MATIERES

Résumé

Abstract

ملخص

Dédicace

Remerciements

Table des figures

Liste des tableaux

Table des matières

Abréviation

Introduction générale…… ..1

CHAPITRE I

1. Généralité du plomb..... 4

2. Propriétés physico-chimiques du plomb 4

3. Utilisation du plomb 5

4. Les sources d'exposition 6

4.1. Le plomb l'alimentation 6

4.2.Le plomb et sol 7

4.3.Le plomb et l'eau 7

4.4.Le plomb etl'air 8

5. Toxicocinétique 8

5.1. L'absorption 8

5.1.1. L'absorption pulmonaire 8

5.1.2. L'absorption digestive 9

5.1. 3. L'absorption cutanée 10

5.2. La distribution et stokage 10

5 .3. Elimination 11

6. La toxicité de plomb 13

6.1.Toxicité aiguë et subaiguë 13

6.2.Toxicité chronique 13

6.2.1. Effet sur la synthése de l'héme 13

6.2.2. Effets hépatique *16*
6.2.3. Effets sur le systéme nerveux *17*
6.2.4. Effets cardiovasculaire *17*
6.2.5. Effets respiratoire *18*
6.2.6. Effets digestif *18*
6.2.7. Effets rénal *18*
6.2.8. Effets reproduction *18*
6.2.9. Effets cancérogènicité 19
6.2.10. Effets sur l'immunité 19

CHAPITRE II

1.La mélisse (Mélissaofficinales L) *22*
1.1 Classification *22*
2.Description botanique *22*
3. Habitat *23*
4. Composition chimique de la mélisse. 24
4.1. Acides phénoliques *23*
4.1.1.Dérivés de l'acide benzoique *23*
4.1.2.Dérivés de l'acide cinnamique *23*
4.1.3 Acide carnonique 23
4.2. Flavonoïdes 23
4.3. Tri terpènes 24
4.4. Autre 24
4.5. L'huile essentielle de la mélisse 25
5.Historique 28
6.Utilisation traditionnelle et contemporaine 28
7.La partie utilisée de la plante 29

CHAPITRE III

1.Objectif 31
2. Animaux et Préparation de l'extrait de la plante *31*
2.1. Animaux d'expérimentation *31*
2.1.1.Répartition des groupe 31
2.2 Préparation du matériel végétal 33

2.2.1.Extraction des résidus de plante 33
2.2.2.Calcule du rendement 35
3. Préparation de la solution injectable 35
4.Evolution du poids corporel et le poids relatif des organes 35
5. Prélévement du sang et des organes 36
6. Etude biochimique 36
6.1. Evaluation des marqueurs du fanctionnement hépatique 36
6.1.1. Dosage des transaminasse 36
6.1.1.1. Dosage des transaminasse Glutamino Oxaloacétique (TGO) 36
6.1.1.2. Dosage des transaminasse Glutamino Pyruvique (TGP) 38
7. Détermination des paramétres hématologiques 39
8.Etude histologique des organes 39
8.1.La fixation 39
8.2.L'inclusion 40
8.2.1. Déshydratation 40
8.2.2. Eclaircissement 40
8.2.3.Imprégnation par paraffine 40
8.3.Les coupes 40
8.4. La coloration(Méthode Hémalun-Eosine) 41
8.5.Montage 41
8.6. Observation au microscope 41
9. Expression et analyse statistique des résultats 41

RESULTATS ET INTERPRITATIONS

1. Résultats de l'extraction de la mélisse 44
1.1. Calcul du rendement (en %) 44
2. L'effet du plomb sur la croissance pondérale et le poids des organes 44
2.1. L'effet sur la croissance pondérale 44
2.2. L'effet sur le poids relatif du foie 45
3. Effet du plomb et de l'extrait de Mélissa officinalis L. sur les parameters hépatique 47
3.1. Effet sur le nombre de globules rouges 47
3.2. Variation des taux d'hémoglobine (Hb) 48
3.3. Variation des taux hématocrites 49

3.4. Variation sur le nombre de globules blancs 50

4. Effet prophylactique de l'extrait de *Mélissa officinalis L.* sur les parameters biochimiques du foie 51

5. Etude histologique 52

DISCUSSION

Conclusion

Références bibliographiques

Abréviation

ACPb : Acétate du plomb.

ADN : acide désoxyribonucléique.

ALA : Acide aminolévulinique.

ALA-D : Acide aminolévulinique déshydratas.

ALAT :Alanine amino transférase.

ALP: phosphates alcaline.

ANOVA : analysis of variance.

ASAT :aspartate aminotransférase.

C° :dégrée celsus.

Ca: calcium.

CIRC : Centre international de recherche sur le cancer.

DO : Densité optique.

EDTA :Acide Ethylène Daim aine Tétra Acétique sel sodique.

ERO : (Espèces Réactive de l'Oxygène).

g :gramme.

GABA: acide-gamma-amino-butyrique.

GR : globules rouges.

Groupe 2B : peut-être cancérogènes pour l'homme.

GSH : glutathion réduit.

GSSG : glutathion oxydé.

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène.

Hb : hémoglobine.

HCT : Hématocrite.

HE :méthode Hémalun –Eosine.

J :jour .

***Kg** :kilogramme.*

l :litre.

mg :milligramme

***MO :** la mélisse.*

N° :nombre.

Na : sodium.

Pb : plomb.

SEM :Erreur Moyenne Standard.

SOD : super oxyde dismutase.

TGO : Glutamooxaloacétate Transférase.

TGP : Glutamopyruvate Transférase.

VGM : Volume moyenne globulaire.

WBC : globules blancs.

% : pourcentage.

Introduction :

L'augmentation des effets néfastes des polluants est un problème dans le monde vivant. Le plomb est un métal utilisé par l'homme depuis des millénaires. La production et l'utilisation du plomb ont augmenté de façon spectaculaire durant la révolution industrielle entraînant une libération intense de ce métal indestructible et son accumulation massive dans l'environnement.

En raison de sa toxicité avérée, son utilisation a été fortement restreinte, du moins dans les pays développés. Cependant, le plomb étant un élément peu mobile, il a une très forte persistance dans les sols **(Bourrelier P & Berthelin G., 1998)** et peut induire plusieurs pathologies dont le saturnisme **(Cleveland *et al*., 2008)**.

Les données bibliographiques indiquent que le plomb cause des dysfonctionnements cognitifs, des désordres neurophysiologiques, des dommages neurologiques, de l'hypertension et un affaiblissement rénal et hépatique. La pathogénie de la toxicité du plomb est multifactorielle, car le plomb interrompt directement l'activation d'enzymes, empêche compétitivement l'absorption minérale, se lie aux protéines ayant un groupement sulfhydryles et abaisse le niveau des antioxydants disponibles dans le corps **(Loiccanen *et al*., 2003)**. Ainsi, parmi les effets délétères du plomb, l'augmentation de la production des radicaux libres.

Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, l'évaluation de ces propriétés phytothérapeutiques comme antioxydant et antimicrobienne, demeurent une tache très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation moins fréquentes ou non connues dans la médecine et les traditions médicinales. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs **(Bhorun., 1997).**

Actuellement le rôle joué par les antioxydants naturels dans la prévention contre le stress oxydatif généré par les métaux lourds «éléments traces métalliques» et différentes pathologies a été clairement établie par différentes études **(Osawa T., 1999., Wiseman *et al*., 2000., Manach C *et al*., 2004., Hang *et al*., 2004)**.

A la lumière de ces données ce travail a pour but d'évaluer le rôle prophylactique de l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* L. vis-à-vis l'intoxication subchronique à l'acétate de plomb chez les jeunes rats wistar. Cette étude a été réalisée selon les approches physiologique, hématologique, biochimique et histologique consacrés à l'étude de la fonction hépatique.

1. Généralité :

L'histoire des métaux lourds n'a pas été écrite. Et pourtant, ils paraissent liés à la civilisation. L'or, l 'argent, le cuivre ont permis de fabriquer les premières pièces de monnaie. La problématique même des métaux et des métaux lourds en particulier repose sur le fait qu'ils sont très utiles voir indispensables à l'homme **(Di Benedetto., 1997).**

Le plomb est l'un des premiers métaux connu et qui fut utilisé par l'homme. Des découvertes archéologiques ont mis en évidence la présence de plomb dans des objets et des pigments au début de l'Age de Bronze **(Lessler M. A., 1988)**. Il existe sous forme organique ou inorganique ; presque la totalité des expositions industrielles ou environnementales au plomb impliquent des formes inorganiques (ex : **PbO) (Lauwerys R. R., 1990).**

Les métaux lourds sont les éléments métalliques naturels dont la masse volumique dépasse 5g/cm^3 et qui possèdent un numéro atomique élevé. Ils sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, mais en général en quantités très faibles et ne sont pas biodégradables **(Blum W. E., 1990).**

2. Propriétés physico-chimiques du plomb :

Le Pb est un élément trace métallique, xénobiotiques, du latin plombum, ubiquitaire, de couleur gris bleuté, on le troue à l'état naturel, sous forme de minerai, il appartient au groupe IVa de la classification périodique des éléments, ainsi qu'il existe 20 isotopes radioactifs et 4 naturels : 204Pb, 206 Pb, 207Pb et 208 Pb **(OMS., 2000).**

-Ses principales propriétés physico-chimiques sont présentées dans le tableau N°01 :

Tab. 01 : Propriétés physico-chimique du plomb et ses dérivées **(Sposito S *et al.*, 1982).**

Numéro atomique	82
Masse atomique	207,2 g.mol-1
Point de fusion	327 C°
Point d'ébullition	1740 C°
Densité	11 ,35
Electronégativité de Pauling	1,8
Masse volumique	11,34 g.cm à 20C°
Rayon atomique (Van der Waals)	0 ,154nm
Isotopes	4
Energie de première ionisation	715,4Kj.mol-1
Energie de deuxième ionisation	1450,0Kj.mol.-1
Energie de troisième ionisation	3080,7Kj.mol-1
Energie de quatrième ionisation	4082,3Kj.mol-1
Energie de cinquième ionisation	6608Kj.mol-1

3. Utilisation du plomb :

La présence généralisée du plomb dans l'environnement est essentiellement due aux activités humaines. Cette origine anthropique est multiple car les utilisations passées ou présentes du plomb sont très nombreuses.

Activités métallurgiques : Elles comprennent la métallurgie de première fusion lors de laquelle le minerai de plomb subit différents traitements afin d'extraire le plomb et les autres métaux. Il existe aussi la métallurgie de 2ème fusion ou recyclage, qui consiste à obtenir du métal par la récupération de déchets contenant du plomb.

Production d'essence au plomb : Le tétraéthyle de plomb (Pb(C2H2)4) était le principale constituant des agents antidétonant ajoutés à l'essence pour augmenter le taux d'octane .Cette utilisation est interdite depuis le 1er janvier 1996. Avant son interdiction, le plomb utilisé dans l'essence représentant la majeure partie du plomb disséminé, à cause des émissions des fumées.

Protection contre les radiations : Du fait de sa densité importante, le plomb est utilisé pour la protection contre le rayonnement γ.

Accumulateur : Les batteries au plomb sont constituées de 2 électrodes, une positive (Pb_2/$Pbso_4$) est négative (Pb /PbSO4) immergées dans une solution d'acide sulfurique (H2SO4). Une batterie contient environ 8,6 Kg de plomb. Les batteries restent la principale utilisation du plomb actuellement.

Munitions (cartouches et grenailles du plomb) et lest de pèche : Des études **(Baron., 2001)** ont montré que cette utilisation était responsable du saturnisme des oiseaux. De plus, cela entraine la dispersion d'environ 8000 t.an^{-1}, dont ¾ sont dus à la chasse **(BRGM., 2004).**

Peintures, pigments, apprêts : La cérusite ou blanc de plomb ont été utilisés dans les peintures pendant prés de 2000 ans. Le plomb a également été utilisé comme composante de nombreux pigments en peintures. Le minium Pb_3O_4 est appliqué sous forme d'une couche antirouille sur de l'acier (interdit désormais comme peinture pour la coque des navires : su marine). Le stéarate de plomb ($Pb(C_{17}H_{35}COO)_2$) et l'acétate de plomb ($Pb(CH_3CO\text{-}O)_2$) sont ajoutés à la peinture ou aux vernis comme dessiccateurs. L'utilisation dans les peintures est arrêtée depuis 2002.

Verre et cristal : le plomb est utilisé pour abaisser la température de fusion et pour assurer une meilleure transparence.

4. Principales sources d'exposition :

Il existe plusieurs source d'exposition au plomb dont la majorité des intoxications la source principale reste difficile a identifié **(Landrans & Paclot., 1994., Landrans *et al*., 1989 ; 1999).**

4. 1. Le plomb et l'alimentation :

L'ingestion d'aliment contenant du plomb est une voie d'exposition, Cette contamination intervient essentiellement lors de la phase de production et des échanges avec les matériaux dans lesquels ils sont emballés (boites de conserves, capsules de bouteille...), c'est-à-dire les produit industriels contaminés lors de la production ou de la conservation des denrées. Elle est principalement due aux retombées de la pollution atmosphérique et à la contamination des sols qui touchent en priorité les végétaux, par exemple les légumes qui peuvent être contaminée dont on considère que la plus grande partie est éliminée par le lavage. Les produits d'origine animal : contaminés par concentration dans les tissus ou les liquides (surtout le foie), les animaux sont contaminés soit par ingestion de sol lorsqu'ils paissent soit par inhalation **(INERIS., 2003., INSERM., 1999; Institut de vieille Sanitaire., 2002).**

4. 2. Le plomb et le sol :

Le plomb trouvé dans les sols urbains vient des habitats anciens (peintures, chauffage au fuel…) ainsi que des émissions de fumées automobiles. Celui trouvé dans les sols ruraux vient plutôt des activités industrielles (production de batteries,…), des minutions pour la chasse, des manufactures et des mines. Il faut aussi considérer le plomb qui vient de l'atmosphère et qui se dépose, le lessivage des peintures, ainsi que les pluies acides, le fonctionnement des décharges et des stations d'épuration. De fortes concentrations en plomb sont mesurées à proximité des routes .Elles abord des anciennes émissions de gaz d'échappement des automobiles. Le plomb s'est alors solidement fixé aux particules de sol.

La teneur naturelle des sols en plomb se diffère en raison des fonds géologiques, les facteurs intrinsèques du sol influent sur le métabolisme du plomb tel que : humidité, pH, nature et stabilité de compartiments tels que ceux des matières organiques, des phosphates... En fonction du pH du milieu, le plomb est amené soit à se trouver sous forme d'ion libre et à se déplacer en solution, soit à s'adsorber sur les argiles, les hydroxydes et la matière organique du sol **(Prost., 2000).**

4. 3. Le plomb et l'eau :

Une petite partie de plomb trouvé dans les sols peut être entrainé dans les rivières et les lacs, lors du processus d'érosion qui arrachent les particules de sol liées au plomb et les entraînent par ruissellement vers les hydro systèmes de surface. Le mouvement du plomb associé aux particules du sol dépend du type de plomb (sels ou composés) et des caractères physico-chimiques du sol.

La source d'approvisionnement en eau potable (surface ou souterraine) contient rarement du plomb en concentration significative, les soudures utilisées pour l'installation des canalisations domestiques contenaient autrefois beaucoup de plomb. En 1989, le code de la plomberie a interdit l'utilisation de soudures contenant plus de 0,2 % de plomb. Les soudures en plomb peuvent perdre graduellement la capacité de libérer du plomb après quelques années **(INERIS., 2003).**

4. 4. Le plomb et l'air :

L'atmosphère est le vecteur principal de transport et de distribution du plomb vers les autres compartiments, cette pollution atmosphérique est d'origine industrielle et automobile. L'inhalation de poussières fines émises dans l'atmosphère à partir de sources générant du plomb est une voie d'exposition. Les fumées de cigarette contiennent également de très faibles quantités de plomb.

Les poussières peuvent être transférées du lieu de travail au domicile par les chaussures, les vêtements, les cheveux et les mains sales des salariés du plomb et augmenter ainsi la plombémie de leurs familles **(Ineris., 2003., Institut de Vieille Sanitaire., 2002., Observatoire régional de la santé Rhône-Alpes., 2007).**

5. Toxicocinétique :

Le métabolisme du plomb est important à connaître pour comprendre certains aspects de l'intoxication. Il importe d'évaluer les différentes phases de ce métabolisme de l'absorption à l'élimination en passant par les mécanismes de transfert dans les différents tissus et le stockage dans certains organes, pour en tirer des réponses quant à l'évaluation des risques et la surveillance biologique des personnes exposées.

5. 1. L'absorption :

Les voies de pénétration du plomb sont pulmonaires, digestive et secondairement cutanée.

5. 1. 1. Absorption pulmonaire :

Le plomb atmosphérique peut exister sous forme de vapeurs, de gaz ou de particules. Plusieurs propriétés du plomb sont en faveurs son absorption pulmonaire ; tel que, les particules d'oxyde de plomb, plus petites, sont inhalées jusqu'aux alvéoles dans une plus grande proportion que celles de sulfure de plomb **(Dossing M & Paulev P. E., 1983)** ; la taille des particules **(Botta A *et al*., 1976)** et la solubilité dans l'eau de certaines particules **(Friberg L *et al*., 1986)**.

Les particules déposées sur les voies aériennes ciliées et non absorbées sont généralement éliminées en 24 heures. Celles qui ont atteint la zone non ciliée profonde des poumons peuvent remonter vers les zones ciliées, être éliminées par voie lymphatique ou être dissoutes puis transportées au niveau sanguin **(Gartside P. S *et al*., 1982)**. L'inhalation

journalière de 30 µg de plomb provoque une absorption de 20 à 30 % de cette dose, soit 6 à 9µg **(Thompson J. A., 1971).**

5. 1. 2. Absorption digestive :

Le plomb est transporté par les aliments quelque soit l'origine (végétale ou animale) et par l'eau, La biodisponibilité du plomb dépend de la propriété de solubilisation dans la lumière intestinale car le pH se varie dans le tube intestinal : de très acide au niveau de l'estomac, il devient faiblement acide dans le jéjunum et neutre ou légèrement alcalin dans le duodénum. Le plomb doit être sous la forme de sel hydrosoluble pour être absorbé **(Botta A *et al*., 1976)**. Le plomb doit être solubilisé pour être absorbé. Ainsi, le plomb métallique ne serait assimilable au maximum qu'à 20 % **(Botta A & Coll., 1976).**

D'après Ito *et al*, **(1987)**, il y aurait deux mécanismes de transport gastroduodénal:

• Passif, qui nécessite une solubilité dans les lipides et une ionisation permettant la liaison à des macromolécules; cette situation est rare dans le cas du plomb;

• Actif, beaucoup plus important, qui emprunte les voies d'absorption du calcium, du magnésium et du fer. Cette composante est saturable, comme le prouve la baisse du taux d'absorption quand la quantité de plomb présente dans l'estomac augmente.

De nombreux facteurs peuvent favoriser l'absorption du plomb:

- Composition du régime alimentaire en acides organiques: citrate de sodium des agrumes, acide ascorbique (vitamine C), acides aminés et protéines, graisses, lactose.
- Carences en fer, calcium, magnésium entraînant une diminution de la compétition avec le plomb;
- Carences en vitamine B1 et en fibres végétales **(Ito Y & Coll., 1987).**

D'autres facteurs interviennent dans l'absorption :

- La grossesse et la lactation, qui augmentent les besoins en Ca^{2+}, favorisent l'absorption du plomb ainsi que sa résorption osseuse, comme l'ont montré expérimentalement Maldonado-Vega et coll **(1996)** sur des rats ;
- L'état de jeûne, qui augmente le taux d'absorption digestive jusqu'à 35 % chez l'adulte **(Demichele S. G., 1984)** ;
- La fonction chlorhydrique gastrique du sujet ;
- La taille des particules ingérées;
- La spéciation du plomb, dont dépend sa biodisponibilité ;

- Le facteur le plus important est le mécanisme de compétition avec le calcium. Toute carence ou tout besoin supplémentaires en Ca^{2+} favorise l'absorption du plomb.

5. 1. 3. Absorption cutanée :

Cette voies est utilisée seulement par les composés organiques du plomb, liposolubles, sauf si la peau est lésée **(Botta A *et al.*, 1976).** Des études qui ont été faites classent les différents composés du plomb selon leur taux d'absorption par ordre décroissant : tetrabutyl de plomb>naphtalène de plomb >acétate de plomb > oxyde de plomb (indétectable) **(Bress W & Bidanset J. H., 1991).**

5. 2. Distribution et stockage :

Le plomb absorbé passe dans la circulation sanguine où plus de 90 % est fixé aux érythrocytes au niveau de la membrane et de l'hémoglobine ; le reste diffuse dans le sérum. Il est ensuite distribué à divers organes et tissus. Les études de cinétique chez l'animal et l'homme indiquent principalement trois compartiments :

- La masse sanguine et quelques tissus à échange rapide ; la demi-vie du plomb y est d'environ un mois. La concentration sanguine est modulée par des variations individuelles d'origine nutritionnelle (interférence avec le zinc ou le cuivre) ;

- Le système nerveux central et périphérique ainsi que le foie, les reins, les muscles ; la demi-vie du plomb y est d'environ 40 à 60 jours. Dans le système nerveux central, le plomb se concentre dans la substance grise et certains noyaux, les plus fortes concentrations se retrouvent dans l'hippocampe suivi par le cervelet, le cortex cérébral et la moelle **(Amdur M.O *et al.*, 1996)** . Dans les reins, il est retrouvé dans le cortex ;

- Le squelette, compartiment le plus chargé et pour lequel la cinétique de renouvellement est la plus lente ; il contient environ 90 % du plomb total et la demi-vie est d'environ 20-30 ans chez l'homme et 60-100 jours chez le rat. Le taux de plomb dans ce compartiment augmente avec le temps par transfert à partir des deux autres compartiments **(Laurewys R. R., 1983)**.

La fixation osseuse se fait par une réaction échange/absorption entre la partie minérale de l'os et le fluide extracellulaire ; le plomb se substitue au calcium à la surface des cristaux d'hydroxyapatite. Il n'est pas « séquestré » irréversiblement et peut être libéré par échange ionique ou activité ostéoclastique en cas de stress physiologique (gestation, lactation, maladie chronique) ou d'administration d'hormone parathyroïdienne. Dans ces conditions, le plomb osseux est une source importante d'exposition interne et peut représenter jusqu'à 50 % de la concentration sanguine. La fraction de plomb dans les os augmente avec l'âge (70 % de la charge corporelle chez l'enfant et 95 % chez le vieillard). La quantité totale de plomb accumulée pendant la vie peut atteindre plus de 500 mg chez un ouvrier fortement exposé **(Amdur M. O *et al*., 1996)**.

- Le plomb ne s'accumule pas dans les poumons. Il traverse la barrière placentaire et peut s'accumuler dans les tissus fœtaux (sang, foie, cerveau, squelette) **(Kasprzak K. S *et al*., 1985)**

5. 3. Elimination :

La principale voie d'excrétion du plomb est urinaire, au moins 75% du plomb absorbé sont éliminés par cette voie **(Haguenenoer J. M & Furon D., 1982)** les taux de plomb urinaire sont compris entre 0,05 et 0,2 mg/l. L'organisme peut éliminer le plomb non absorbé par l'intestin à travers les fèces. La salive représente une autre voie d'élimination ainsi la sueur, les cheveux, et les ongles. L'exposition à la chaleur peut entraîner chez l'homme une excrétion sudorale supérieure à l'élimination urinaire **(Asayama M *et al*., 1975)**.

Le plomb inorganique n'est pas métabolisé dans l'organisme. Le plomb inhalé non absorbé est éliminé par action mucociliaire trachéo-bronchique vers le tractus gastro-intestinal puis, comme le plomb ingéré, est absorbé ou directement éliminé dans les fèces. Le plomb absorbé est principalement éliminé par la voie urinaire (environ 80 %). Le reste est éliminé par la bile (environ 16 %), les sécrétions gastro-intestinales, la sueur et les phanères (environ 8 %). **(IARC., 1980).** Le plomb, en raison de sa similarité avec le calcium, est excrété dans le lait.

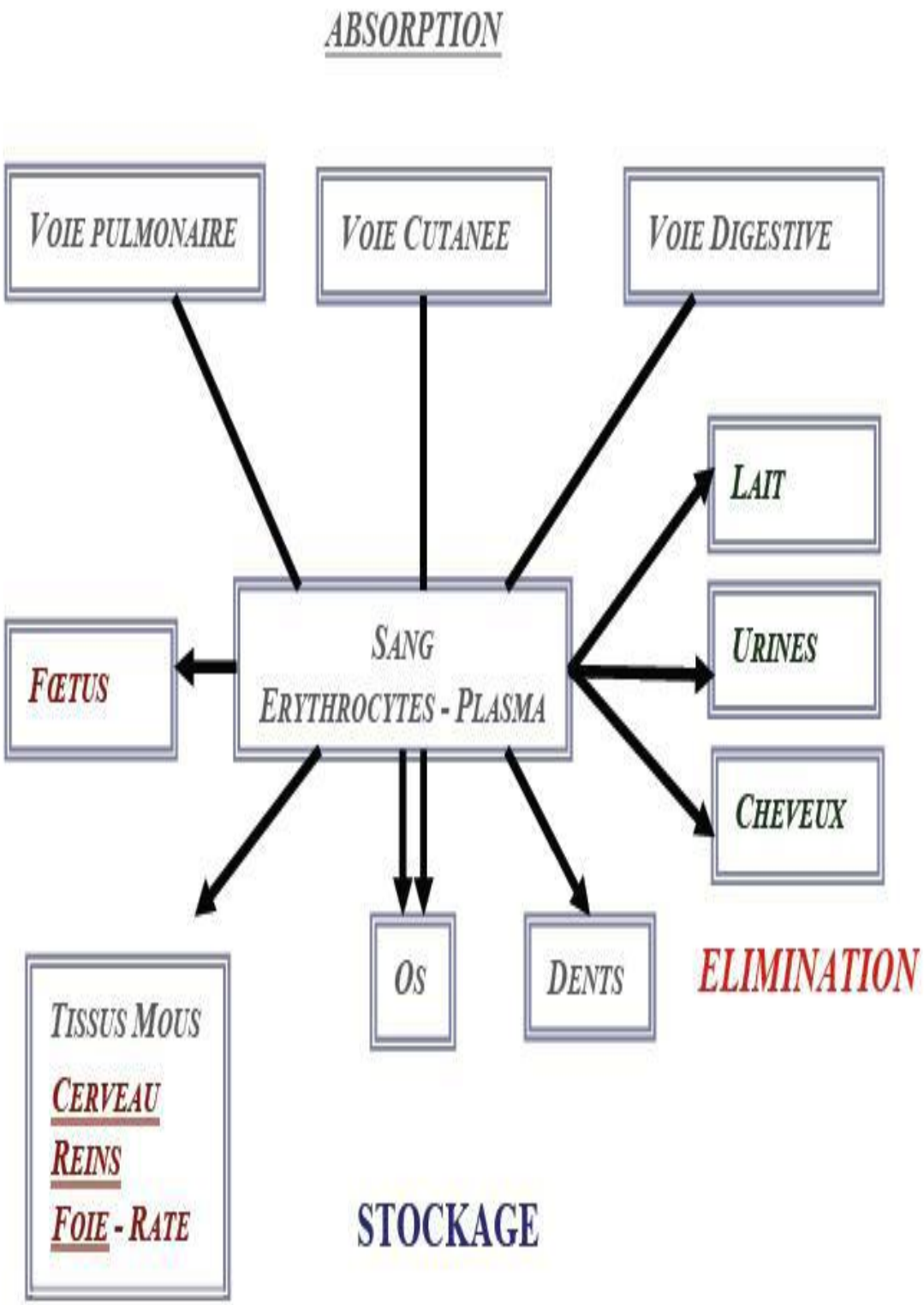

Fig. 01 : Parcours du plomb dans l'organisme **(Institut de Veille Sanitaire., 2005)**.

6. La toxicité du plomb :

Le plomb ne joue aucun rôle physiologique au sein de l'organisme, **(Kahloula K., 2010)** mais il est toxique pour les systèmes hématopoïétique, rénal, reproducteur, cardiovasculaire et nerveux central et périphérique. Les symptômes de l'intoxication au plomb chez les adultes, s'ils sont présents, sont non spécifiques et varient considérablement entre les individus **(Karri S. C., 2008).**

6. 1. Toxicité aiguë et subaiguë :

La toxicité aiguë est rare, exceptionnellement professionnelle par inhalation massive de vapeurs ou de poussières chez un métalliseur au plomb, comme elle peut se rencontrer après absorption volontaire d'un sel de plomb dans un but abortif (suicide, crime, avortement) ou lors d'une intoxication accidentelle **(Dexotes J., 1992)**.

Les troubles digestives sont parmi les symptômes les plus précoces. Ils se traduisent par l'apparition de forte colique associées a des douleurs et crampes abdominales, ainsi qu'à des vomissements, mais chez l'enfant la toxicité aiguë se manifeste par l'anorexie, les vomissements, l'irritabilité et les troubles de comportement, le seuil de la manifestation de ces symptômes lorsque la plombémie est de l'ordre de 30-50 mg/dl **(Lauwerys R. R., 1998., California Enviromental Protection Agency., 1997)**.

De plus, l'atteinte rénale a été décrite par différents auteurs et plusieurs s'accordent à mentionner l'apparition de lésions tubulaires caractérisées par une oligurie, une albuminurie, une glycosurie et une hyper phosphaturie **(Malcom., 1970., Bennett., 1985)**. La sévérité des lésions peut aller jusqu'à entraîner la mort des sujets exposés, mais l'administration rapide d'un traitement rend en principe les effets réversibles.

6. 2. Toxicité chronique :

L'exposition chronique au plomb de longue durée en milieu professionnel influe sur l'organisme et aura des effets néfastes sur les fonctions cellulaires de l'organisme.

6. 2. 1. Action sur la synthèse de l'hème :

Le risque d'une intoxication au plomb repose sur sa forme ionisé, il entraine des modifications sur les propriétés des protéines cytosoliques et membranaires, en se liant de façon réversible avec les groupements thiols. Le plomb inhibe trois enzymes impliquée dans la biosynthèse de l'hème : l'acide aminolévulinique déshydratasse (ALA-D), la coproporphyrinogène décarboxylase et la ferrochélatase (Fig. 02). Il en résulte respectivement une accumulation d'acide aminolévulinique (ALA), une augmentation des coproporphyrines et une diminution de la quantité d'hème formé accompagnée d'une augmentation du taux de protoporphyrine (PPZ).

La protoporphyrine en excès prend la place de l'hème dans l'hémoglobine et fixe du zinc sur le site occupé habituellement par le fer **(Amdur M. O *et al*., 1996)**. Le plomb affecte aussi, par rétrocontrôle négatif via l'hème, l'activité de l'ALA synthétase et la synthèse de la partie globinique. En conséquence, l'excrétion urinaire d'ALA et de coproporphyrine est augmentée ; les protoporphyrines et le coproporphyrinogène s'accumulent dans les érythrocytes.

Au cours des intoxications chroniques, il peut exister des formes sévères, d'allure aiguë, comportant une hémolyse intra vasculaire qui traduit la fragilisation de la membrane des hématies **(Lauwerys R. R., 1990**).

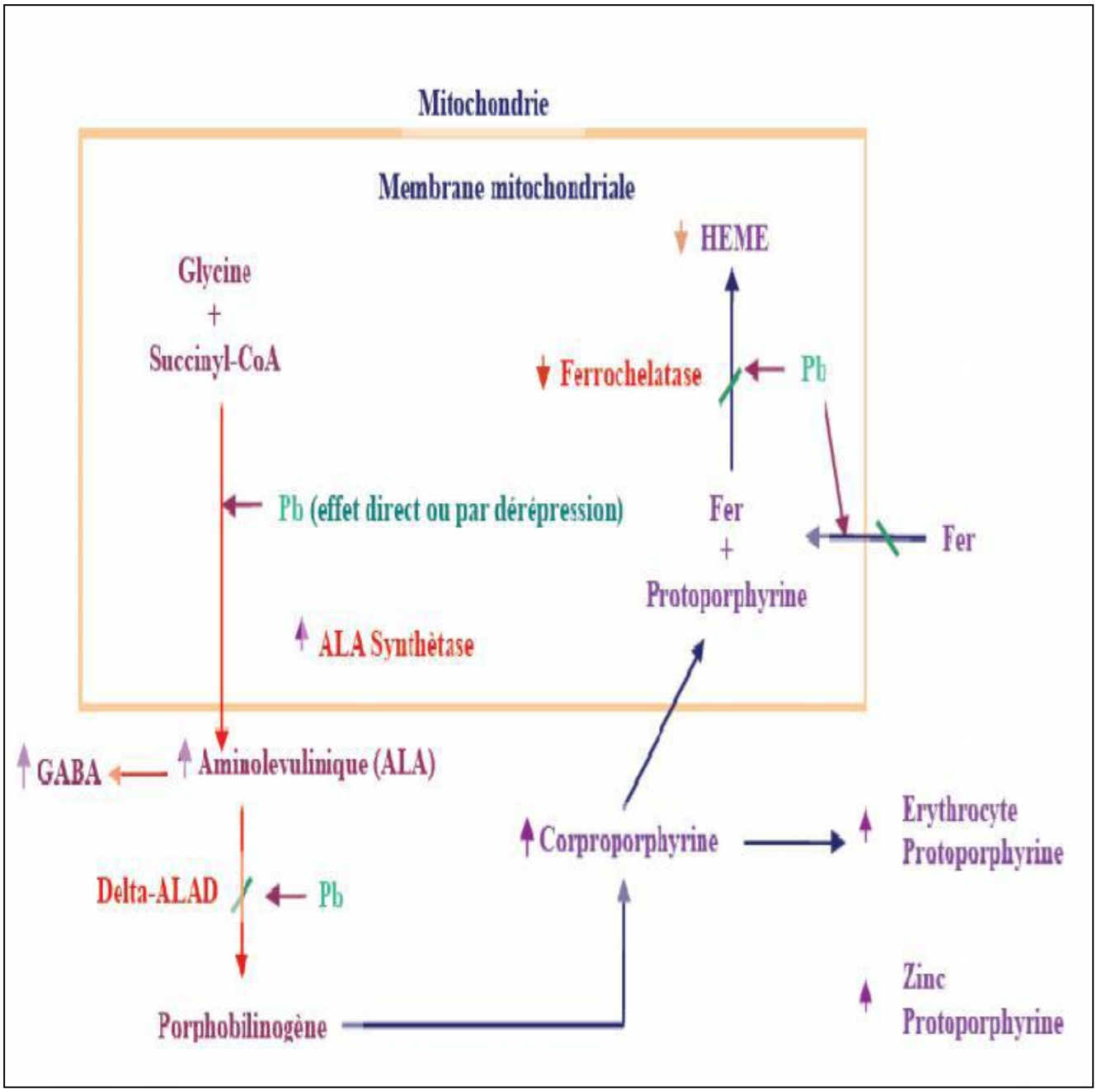

Fig. 02 : Effet du plomb sur la biosynthèse de l'hème **(Needleman., 2004).**

6. 2. 2. Effet hépatique :

Le foie est un organe ayant des fonctions métaboliques nombreuses et variées et l'étude de son état de fonctionnement se base sur la capacité à effectuer une fonction métabolique déterminée. Un grand nombre des tests ont été mis au point pour mettre en évidence les altérations des fonctions hépatiques. Des quelque 100 tests mis au point, seul un petit nombre s'est montre pratique en médecine.

Le foie, par l'intermédiaire de la veine porte, est le premier organe exposé aux aliments absorbés par voie entérale et à tout autre xénobiotique. Elle se compose de deux tissus métaboliques fortement actifs contenant un équipement enzymatique très important de désintoxication désigne sous le nom des systèmes d'enzymes de la phase I et II qui sert à protéger les autres systèmes physiologiques des effets toxiques des composés xénobiotiques. Plusieurs études ont rapporté que le plomb induit une forte hépatotoxicité et provoque des changements dans le métabolisme du cholestérol, une prolifération des cellules du foie, et de synthèse d'ADN indiquant une hyperplasie hépatique **(Dini L *et al*., 1999).**

De plus, l'accumulation des quantités significativement élevée du plomb au niveau du foie est impliquée dans l'induction d'un effort oxydant important ; et ce par une peroxydation de lipide avec l'inhibition concomitante de plusieurs enzymes antioxydantes telles que la superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathion peroxydase, le glutathion réductase (GSSG) et d'une réduction du rapport GSH/GSSG (**Sandhir R & Gill K. D., 1995., Burns *et al*., 2003).**

Les mécanismes de l'effort oxydant induit par le plomb au niveau des hépatocytes contribuent dans la production de lipoperoxyde (LPO) et l'expression des médiateurs de cytokine, y compris α-TNF. Ces médiateurs sont également associes au déclin significatif dans la concentration intracellulaires en triphosphate différents d'adénosine observée dans les cultures d'hépatocytes de rat **(Sieg D. J & Billings R. E., 1997)** et dans les dommages oxydants de l'ADN et puis finalement suivie d'une apoptose d'hépatocytes **(Milosevic N & Maier P., 2000).**

Par ailleurs, d'autres études ont rapporté que le plomb à un rôle dans la mort cellulaire des hépatocytes par protéolyse **(Pagliara P *et al.*, 2003)**. L'utilisation chez les animaux de laboratoire de thérapie par les antioxydants a été explorée dans le but de comprendre les différents mécanismes impliqués dans la protection du tissu hépatique contre le stress oxydant généré par le plomb. Ainsi, l'administration de composes antioxydants (acide ascorbique, vitamine E, N-acétylcystéine les acides lipoiques et les L-méthionines) seul ou dans des

combinaisons avec chélateurs conventionnels se sont avérés efficace pour conférer une protection contre l'effort oxydant induit par le plomb et pour réduire la toxicité de ce métal **(Ercal N *et al*., 1996., Vij *et al.*, 1998., Gurer H *et al.*, 1999., Patra R. C *et al.*, 2001).**

Tous ces efforts sont associes a l'amélioration des fonctions cellulaires par réactivation des différents types d'enzymes à pouvoir antioxydants et a la protection des différentes structures cellulaires contre l'agression radicalaire **(Patra R. C *et al.*, 2001., Xie L *et al.*, 2003)**.

6. 2. 3. Effet sur le système nerveux :

L'action sur le système nerveux se traduit par une encéphalopathie et une neuropathie périphérique. Les effets centraux prédomine chez l'animal jeune alors que les effets périphériques prédominent chez l'adulte **(Beliles R. P *et al*., 1994)**. Le cerveau du fœtus est particulièrement sensible en raison d'une plus grande perméabilité de la barrière méningée. Le plomb y exerce des effets :

- **morphologiques :** il diminue les connections intercellules, d'ou une modification des circuits neuronaux, et il induit une différenciation précoce des cellules gliales, gênant la migration des cellules nerveuses pendant la structuration du cerveau ;
- **pharmacologiques :** il diminue la libération des neurotransmetteurs (acétylcholine, noradrénaline, acide gamma-aminobutyrique et dopamine), probablement par interférence avec le calcium et le zinc au niveau de la synapse.

La neuropathie périphérique, caractérisée par une baisse de la conduction nerveuse se traduit, sur le plan histologique, par une démyélinisation segmentaire et peut-être une dégénérescence axonale qui suivent la dégénérescence des cellules de Schwann. Les nerfs sensitifs sont moins sensibles que les nerfs moteurs **(Amdur M. O *et al*., 1996)**. Des lésions des nerfs auditifs ont été montrées chez le cobaye et une cécité nocturne chez le singe Rhésus **(Stokinger M. E., 1981).**

6.2.4. Effet cardiovasculaire :

Il est bien connu que le plomb peut faire augmenter la tension artérielle, particulièrement chez l'homme. Toutefois, les mécanismes en cause sont moins bien définis et ne sembleraient pas limités à l'atteinte rénale dont il a été question précédemment. Déterminer un seuil de plombémie n'est pas chose facile, comme on peut le constater dans la documentation sur le sujet, mais « il semble exister une relation entre exposition au plomb et effets sur la pression artérielle à partir de taux aussi faibles que 70 mg/l (0,34 mol/l) chez les sujets masculins d'âge moyen » **(Vyskocil *et al*., 1992).**

6. 2. 5. Effet respiratoires :

L'exposition au plomb provoque une augmentation de la fréquence d'apparition des maladies respiratoires chez les sujets dont la plombémie dépasse 60mg/100ml de sang. Ces sujets exposés présentent certaines affections respiratoires comme tuberculose, emphysème, bronchite et asthme **(Kahloula K., 2010).**

6. 2. 6. Effet digestif :

Les effets du plomb sur l'appareil digestif s'observent a la suite d'une exposition élevée au plomb (plombémie =100mg/dl ou plus). Les troubles digestifs sont parmi les symptômes les plus précoces, ces effets sont principalement : anorexie, nausées, vomissements, perte de poids, douleurs et crampes abdominales, constipation tenace parfois des épisodes diarrhéiques et des ballonnements **(Beliles R. P., 1994., Fu & Boffeta P., 1995., Goyer R. A., 1993)**.

6. 2. 7. Effet rénal :

En cas d'intoxication aiguë par le plomb, des lésions tubulaires proximales caractérisées par une aminoacidurie, une hypophosphatémie avec hyper phosphaturie relative et glycosurie (syndrome de Fanconi). Une exposition chronique intense au plomb est associée à des altérations de nephrosclerose et a une atrophie corticale. La question d'un impact possible du plomb à des niveaux d'exposition plus faibles reste beaucoup plus controversée.

La néphropathie liée à l'exposition au plomb se caractérise par une atteinte progressive de la fonction rénale et elle est souvent accompagnée d'hypertension. Dans certains cas, elle peut aller jusqu'à l'insuffisance rénale **(Goyer R. A., 1989., NIOSH., 1997).**

6. 2. 8. Effets sur la reproduction :

Chez l'homme, les études suggèrent qu'une exposition à long terme au plomb de plusieurs années, de l'ordre de 6 à 10 ans (plombémie supérieure à 400 µg/l), provoque une réduction de la production des spermatozoïdes due à une diminution de la stéroïdogénèse **(Anjum *et al*., 2011)** et donc, un risque d'hypofertilité **(Alexander B. H *et al*., 1996)**.

Chez les femmes ayant une plombémie moyenne de 150 µg/l, plusieurs études n'ont montré aucune augmentation du risque d'avortement spontané comparativement à un groupe témoin **(Murphy M. J *et al*., 1990**). Cependant, une baisse de fécondité a pu être associée à

un groupe de femmes qui présentait des plombémies comprises entre 290 et500 µg/l **(Sallmen M *et al*., 1995., Greenlee., 2003)**.

6. 2. 9. Effet Cancérogénicité :

Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) classe le plomb comme « possiblement cancérogène pour l'humain » (groupe 2B3), l'Environnemental Protection Agency (EPA) comme cancérogène probable chez l'humain (B2) et l'American Conférence of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) comme cancérogène confirmé chez l'animal (A3) dont la transposition à l'humain est inconnue. Des données récentes suggèrent de façon non concluante une association entre le plomb et les cancers du poumon et de l'estomac, et de façon moindre avec les cancers du rein et du cerveau **(Landrigan P. J., 2000., Steenland., 2000).**

Certains composés du plomb exercent une faible activité génotoxique dans les cellules de mammifères, par des mécanismes indirects reposant sur la perturbation de l'activite d'enzymes impliques dans la synthèse, la réparation ou le maintien de la structure hélicoïdale de l'ADN. En outre, certains composés du plomb peuvent contribuer à un effet cancérigène en agissant au niveau de protéines nucléaires, où ils exerceraient une activité promotrice ou induiraient une stimulation de la prolifération cellulaire **(Zelikoff J. T *et al.*, 1988., Fowler B. A *et al.*, 1994)**. En particulier, il a été montré que l'ion PB2+ peut, à faible concentration, stimuler l'activité de la protéine kinase C. Cela indiquerait un potentiel Co-cancérigène et/ou promoteur **(Marcovac J & Goldstein G. W., 1988a et b)**. La formation d'inclusions nucléaires composées de protéines acides complexées au PB2+ peut également influencer la croissance et la division cellulaire **(Beck B. D., 1992)**.

Chez le rat Wistar male, l'administration orale d'acétate de plomb augmente la formation de tumeurs au niveau des cellules tubulaires, en réponse à une nitrosamine **(Hiasa *et al*., 1983)**. Chez le hamster, l'administration intra trachéale d'oxyde de plomb conjointement avec du benzo[a]pyrene exerçait une activité co-cancérigène au niveau pulmonaire **(Kobayashi & Okamoto., 1974)**.

6. 2. 10. Effet sur l'immunité :

Le plomb induit une diminution de la résistance aux germes pathogènes par suppression de l'immunité humorale. Il agit sur les cellules myéloïdes par augmentation des précurseurs dans la moelle avec diminution consécutive des cellules matures. Il provoque aussi une

altération de la reconnaissance immunitaire et peut inhiber la production de l'interleukine-2 **(INRS., 1998).**

1. La mélisse (*Melissa Officinalis L*) :

Elle possède plusieurs appellations vernaculaires en français telles que : citronnelle, thé de France, piment des abeilles **(Wichtl M & Anton R., 2003)**. En anglais, elle porte le nom de ***lemon balm*** **(Perrot E & Paris R., 1971)**. Ces dénominations font référence au parfum citronné qui se dégage des feuilles lorsqu'elles sont froissées. En arabe **الترجان.**

1. 1. Classification :

Tab. 02 : La classification de la mélisse **(Perrot E & Paris R., 1971., Meyer S *et al*., 2008., Thoby C., 2009).**

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotylédones
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	*Mélissa*
Espèce	*Mélissa officinalis* L.

2. Description botanique :

La mélisse **(fig. 01)** est une herbacée vivace de 30 à 80 centimètres de haut, poussant en touffes, à feuillage vert vif, d'odeur citronnée. Les tiges sont quadrangulaires, très rameuses, velues vers le sommet et dressées. Les feuilles sont opposées, grandes, ovales, pétiolées, largement crénelées.

Les fleurs, à corolle d'abord jaunâtres, puis blanches, sont regroupées par 6 à 12 en verticilles axillaires espacés le long de la tige. La floraison a lieu de juin à septembre**.**

Le fruit, entouré par un calice persistant, contient des graines luisantes brun foncé **(Couplan F & Styner E., 1994)**.

Fig. 03 : Feuille et fleurs de ***Melissa officinalis.***

3. Habitat :

La mélisse est répandue dans la flore naturelle de la région Méditerranéenne, dans le sud de l'Europe et de l'Amérique du Nord, et en Asie Mineure **(Sari A. O & Ceylan A., 2002)**. Elle est cultivée en Europe centrale et occidentale, ainsi qu'aux Etats-Unis **(OMS., 1999a).** En Algérie, la mélisse est cultivée dans les régions de la Kabylie. Néanmoins, elle est spontanée dans les montagnes du Tell, où elle est signalée comme assez rare jusqu'en 1962. On l'observe dans les ravins humides des montagnes de Bâbords, du Djurdjura et de l'Atlas Blidéen, les décombres, les endroits frais et les forêts, ainsi qu'aux alentours des maisons **(Aït Youssef M., 2006., Beloued A., 2005., Delille L., 2007., Baba Aissa F., 1999).**

4. Composition chimique de la mélisse :

La plante contient une grande variété de composés dont les principaux, selon diverses sources, sont présentés dans le tableau 2. Les feuilles de mélisse sont riches en acides-phénols (ou acides phénoliques) et en flavonoïdes.

4. 1. Acides phénoliques

Un acide phénolique (ou acide-phénol) est un composé organique polaire constitué d'au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Dans le monde végétal, ce terme désigne les dérivés cinnamiques (C6-C3) et les dérivés benzoïques (C6-C1).

4.1.1. Dérivés de l'acide benzoïque

Les dérivés de l'acide benzoïque sont des acides-phénols en C6-C1 **(Bruneton J., 2009)**. Il y en a trois identifiés dans les feuilles de mélisse. Il s'agit de l'acide para-hydroxybenzoïque, de l'acide protocatéchique et de l'acide gentisique **(Guignard J. L *et al.*, 1985)**.

4.1.2. Dérivés de l'acide cinnamique

Les acides-phénols dérivés de l'acide cinnamique un composé en C6-C3, le plus souvent estérifiés **(Bruneton J., 2009)**. Les feuilles de mélisse contiennent ce type d'acides-phénols, l'acide caféique, et des composés qui en sont dérivés : l'acide rosmarinique, l'acide chlorogénique et les acides A et B mélitriques.

4.1.3. Acide carnosique

L'acide carnosique ou rosmaricine est un diterpène phénolique **(Penchev P. I., 2010)**. Il est avec l'acide rosmarinique le marqueur du romarin dont des extraits sont autorisés dans l'UE comme antioxydants alimentaires par le biais d'une directive de l'Autorité Européenne de Sécurité Alimentaire ou *EFSA, European Food Safety Authority* **(EFSA., 2008)**.

4. 2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés souvent polaires et donc solubles dans l'eau et dans l'alcool, qui possèdent tous la même structure de base puisque qu'ils ont une origine biosynthétique commune. Leur teneur, dans les feuilles de mélisse, varie de 0,2 % à 0,7 %.

4. 3. Triterpènes

Les triterpènes sont des composés en C30 issus de la cyclisation du squalène ou de l'époxysqualène. Ils possèdent le plus souvent une fonction oxygénée en C3. Ce sont des molécules fortement lipophiles, propres au monde végétal, tandis que les stéroïdes qui en dérivent sont communs aux deux règnes. L'acide ursolique et l'acide oléanolique sont des triterpènes contenus dans les feuilles de mélisse **(Bruneton J., 2009)**. Ce sont deux isomères largement répandus dans le monde végétal **(Liu J., 1995).**

4. 4. Autres

Les feuilles de mélisse possèdent également des tanins catéchiques qui correspondent aux proanthocyanidols. Ils possèdent des propriétés sur l'éréthisme cardiaque. Comme beaucoup de plantes, la mélisse contient des vitamines, notamment B1 et B2 **(Thoby C., 2009)**, de la chlorophylle, des cires et des stérols, ainsi que de l'acide succinique **(Penchev P. I., 2010)**.

Tab. 03 : Principaux composés de la mélisse selon différentes sources. **(Herodez S. S *et al*., 2003), (Ziakova A *et al*., 2003).**

Composés	*Exemples*
Huile essentielle	Voir tableau 04
Composés flavonoïdes :	- Cynaroside - Cosmosin - Rhamnocitrin - Isoquercitrin - Dérivées du Luteolin - Dérivées hydroxycinnamique - Cires Stérols - Chlorophylles
Acides phénoliques :	- Acide rosmarinique - Acide protocatechuique - Acide protocatechuique - Acide caffeique - Acide P-hydroxbenzoïque - Acide gentisique - Acide carsonique
Acides de triterpène :	- Acide ursolique - Acide olénoique

4. 5. L'huile essentielle de la mélisse :

Si, malgré sa faible teneur (moins de 0,5 ml/kg) c'est surtout l'huile essentielle qui a retenu l'attention **(Bruneton J., 1999)**, Il présente des activités antibactériennes, anti-parasitiques, anti -histaminiques et antifongiques (**Sadraei H *et al*., 2003**).

Les composés principaux de l'huile essentielle sont le citral (représenté par les deux stéréo-isomères néral et geranial en quantité très variable, mais généralement dans un rapport constant (4/3)) **(Carnat A. P *et al*., 1998)**, le caryophyllène et le citronellal ces trois composants constituant généralement 50 à 75 % de l'huile essentielle **(Schultze W *et al*., 1995)**. D'autres composés y sont présents en petits quantités tels que germarcène D, ocimène, citronellol **(Carnat A. P., 1998)**, oxyde de caryophyllène **(Ribeiro M. A *et al*., 2001., Rozzi N. L *et al*., 2002)**, néral acétate (**Rozzi N. L *et al*., 2002)**, linalol, geraniol **(Ribeiro M. A *et al*., 2001).**

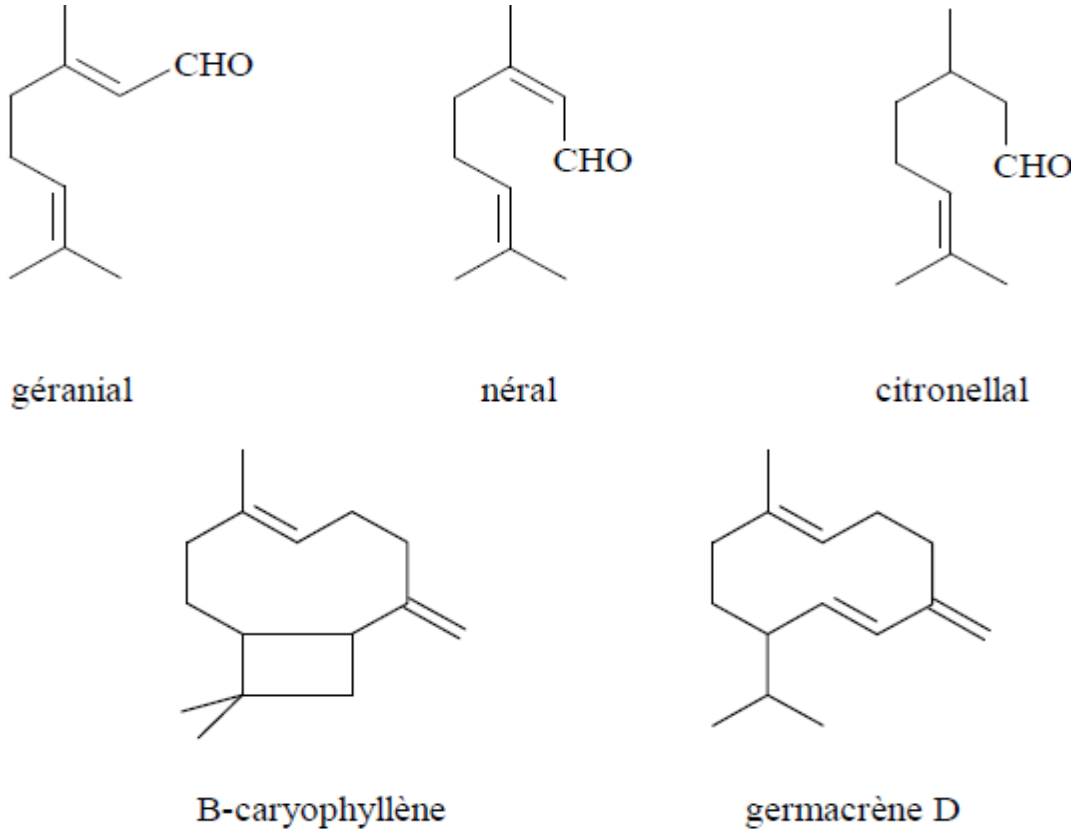

Fig. 04 : Structure des principaux composants de l'huile essentielle de la mélisse.

Tab. 04 : Composition de l'huile essentielle de mélisse (exprimée en pourcentage) selon différentes sources.

Référence	**Sadraei H *et al.*, 2003.**	**Carnat A. P *et al.*, (1998).**	**Rozzi N. L *et al.*, (2002).**	**Rozzi N. L *et al.*, (2002).**
Technique / Composé	Hydro-Distillation	Hydro-Distillation	Hydro-Distillation	Extraction supercritique
Octen-3-ol	1,3	-	-	-
6-methylhepten-2-one	0,3	0,35	-	-
Trans- β -ocimene	0,5	0,3	-	-
Linalool	0,9	0,56	-	-
Para-menth-3-en-8-ol	0,2	-	-	-
Citronellal	12,9	39,47	5	2,87 – 3,53
Citronellol	6,2	0,63	-	-
Néral	24,5	20,40	33,63	21,77 – 23,3
Geraniol	0,7	0,18	-	-
Geranial	35,3	27,84	47,06	61,40 – 63,23
α -Cubebène	0,2	-	-	-
Eugénol	0,1	-	-	-
Acétate de Geranyl	7,1	0,58	-	-
Caryophyllène	4,9	2,37	1,23	6,63 - 8,47
Germacrène	0,2	-	-	-
Acétate d'Eugenol	0,1	-	-	-
Oxyde de caryophyllène	2,7	0,67	3,56	0,9 – 2,63
Acétate de néral	-	-	N/A	0 – 1,57
α -pinène	-	0,11	-	-
Cis- β -ocimène	-	0,1	-	-
Oxyde de cis-linalool		0,39	-	-

5. Historique :

La mélisse est connue depuis la Grèce antique. En effet, Théophraste (372 - 287 av. J.-C.) et Hippocrate (460 – 377 av. J.-C.) utilisaient déjà les feuilles de cette plante pour améliorer la digestion et réduire les états de nervosité. Le philosophe, écrivain et médecin perse Avicenne (980 - 1037) recommandait la mélisse pour renforcer le cœur. Au XVIème siècle, le médecin suisse Paracelse (1493 – 1541) préparait des boissons fortifiantes (toniques) appelées « élixir de la vie » contenant de la mélisse **(Wichtl M & Anton R., 2003)**.
L'Eau de mélisse des Carmes Boyer existe depuis 1611. C'est une solution alcoolisée à base de mélisse, et contenant également neuf épices et treize autres plantes. Elle est présentée comme un produit aux multiples vertus, notamment celles de diminuer le stress et la fatigue, de faciliter la digestion et d'apaiser le mal des transports **(Perrot E & Paris R., 1971., Eau des Carmes Boyer., 2011).**

6. Utilisation traditionnelle et contemporaine :

La Mélisse est, traditionnellement utilisée dans le traitement symptomatique de troubles digestifs (ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations) et dans le traitement symptomatique des états neurotoniques des adultes et des enfants, notamment en cas de troubles mineurs du sommeil **(AFSSAPS., 1998)**. L'effet spasmolytique de l'huile essentielle de Mélisse a été confirmé par une étude récente **(Sadraei H *et al.*, 2003)** portant sur l'inhibition de la contraction de l'iléum chez le rat.

D'autres études **(Mantle D *et al.*, 2000; Hohmann J *et al.*, 1999)** démontrent *in vitro*, que les extraits alcooliques de Mélisse possèdent une activité anti-oxydante, ce qui suggère que la Mélisse peut être utilisée comme protecteur des dommages créés par les radicaux libres.

Plusieurs propriétés ont été mises en évidence pour l'extrait aqueux : action antithyroïdienne **(Auf'Mkolk *et al.*, 1985)** liée aux produits d'oxydation des acides phénols et, surtout, activité antivirale sur divers virus (herpès, vaccine). **(Dimitrova Z *et al.*, 1993)** indiquent que la Mélisse inhibe *in vitro* le virus *herpès simplex* et quelques études cliniques indiquent que l'application topique d'une crème à base de Mélisse peut diminuer les symptômes de l'herpes labial (la démangeaison, la sensation de brûlure, l'enflure et la rougeur) **(Koytchev R *et al.*, 1999., Wobling R. H & Leonhardt K., 1994).** L'extrait aqueux de Mélisse serait, de plus, actif, *in vitro*, sur le virus du SIDA **(Yamasaki K. *et al.* 1998)**. En

effet, il inhiberait efficacement la réplication du HIV-1 ; cet effet serait dû à l'inhibition de la liaison et/ou de la fusion entre le virus et les cellules ciblent de ce virus qui est les cellules de l'immunité.

L'huile essentielle de Mélisse a un fort pouvoir antibactérien **(Koch-Heitzmann I & Schultze W., 1988 et 1984)** contre *Staphylococcus Aureus, Escherichia Coli, Streptococcus Faecalis* et *Enterobacterium Aerogenis* **(Wyuts D., 1993)** et antifongique **(Araujo C *et al.*, 2003., Dikshit A & Husain A., 1984)** contre *Aspergillus Flavus, Candida Albicans* et *Pénicillinum Citrinum* **(Wyuts D., 1993)** grâce à la présence de terpènes, notamment du citral.

Le citral est utilisé dans la pharmacie pour la synthèse des vitamines A et E, ainsi que comme caroténoïde (**Xing K *et al.*, 2000).** Il a de fortes propriétés antimicrobiennes **(Onawunmi G. O., 1989)**, antivirales, sédatives, antifongiques. Il est aussi considéré comme antitumoral **(Filho C. A., 2003).** Le citral étant un composé aromatique, il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire (comme flaveur des nourritures, boissons, bonbons etc.) et en parfumerie pour son odeur de citron **(Filho C. A., 2003., Xing K *et al.*, 2009].**

7. La partie utilisée de la plante :

Dans la médecine traditionnelle, la mélisse est utilisée sous-forme de jus, crème ou thé **(Herod S. S *et al.*, 2003).** La drogue utilisée dans les médicaments ou les compléments alimentaires est l'extrait sec de feuilles de mélisse (*Mélissa officinalis L.*) ou les feuilles de mélisse séchées. Cependant, l'huile essentielle extraite de celles-ci peut aussi être utilisée.

1. Objectif :

Notre travail a pour but d'évaluer le rôle prophylactique de l'extrait aqueux de *Mélissa officinalis* L. vis-à-vis l'intoxication subchronique à l'acétate de plomb. Cette étude a été réalisée selon les approches physiologique, hématologique, biochimique et histologique consacrés à l'étude de la fonction hépatique.

2. Animaux et préparation de l'extrait de la plante :

2. 1. Animaux d'expérimentations :

Nous avons choisi des rats de souche ''wistar'' comme matériel biologique. Un effectif de 18 rats male et femelle âgées de 4 ± 1 semaine et d'un poids moyen 100 ± 10g ont été retenus pour l'ensemble de l'expérience dans des cages adaptées dans l'animalerie de département de biologie (université de Saïda). La nourriture et la prise hydrique sont données à volonté à tous les rats durant toute la durée de l'expérimentation (08 semaines). Les rats ont été exposés à un cycle lumière obscurité de 10-14 h et la température ambiante était de 20 à 22° C.

2. 1. 1. Répartition des groupes :

Les rats sont repartis en trois lots homogènes :

- **Lot témoin :** composé de 6 rats, ils reçoivent de l'eau du robinet sans acétate de plomb.
- **Lot Pb (intoxiqué) :** composé de 6 rats qui reçoivent par voie orale une eau contenant 350 mg/l d'acétate de plomb durant une période de 08 semaines.
- **Lot Pb-MO (intoxiqué et traité):** composé de 6 rats qui reçoivent simultanément une eau contenant 350 mg/l d'acétate de plomb par voie orale et l'extrait aqueux de la Mélisse a une dose de 50 mg/kg par voie intrapéritoniale (ip) durant une période de 08 semaines.

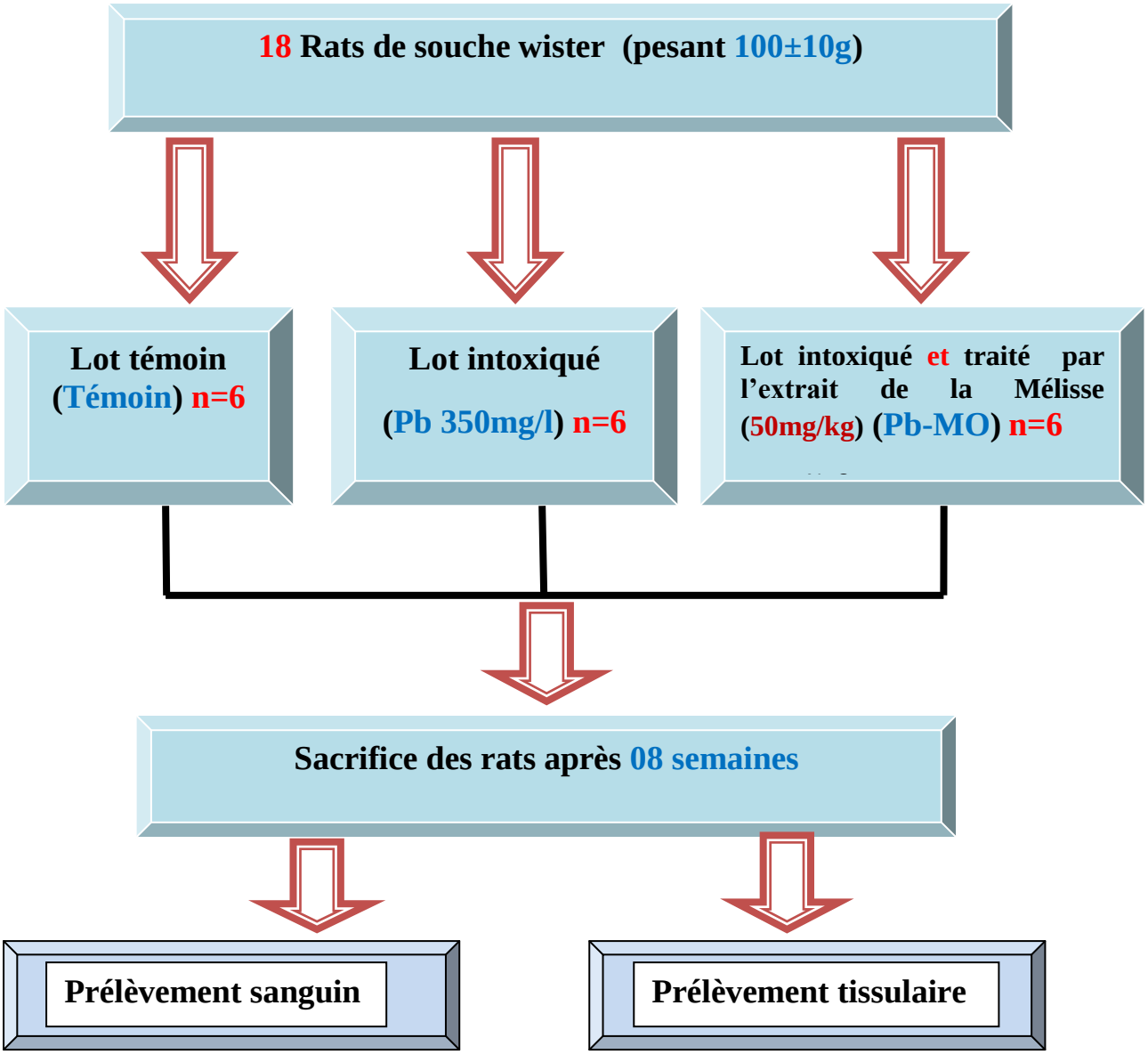

Figure 05 : Protocole expérimental.

2. 2. Préparation du matériel végétal :

La plante de *Mélissa officinalis L.* est récoltée dans la région de l'est de l'Algérie au mois de mai. Les feuilles séchées sont moulues à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre qui sera conservée dans un bocal en verre hermétiquement fermé pour préserver sa qualité initiale.

Tab. 05 : Origine et caractéristique du matériel végétal (*Mélissa officinalis L.*)

Quantité de la plante	**110 g**
Origine de la plante	**Est de l'Algérie (Guelma)**
Date de récolte	**Mois de mai**
Partie utilisée	**Les feuilles**
État	**Sèche**

2. 2. 1. Extraction des résidus de plante :

Pour la préparation de l'extrait aqueux des procédés classiques d'extraction ont été utilisés.

L'extrait aqueux de la plante a été obtenu par la méthode d'infusion. 100 mg de poudre de la plante a été mise dans 1000 ml d'eau distillée bouillie et la solution extraite a été filtrée à froid. Ce procédé a été répété à plusieurs reprise afin d'obtenir la quantité nécessaire pour notre expérimentation et le filtrat a été séché a l'étuve. Le résidu ainsi obtenu a été stocké à -20°C, jusqu'au moment de son utilisation.

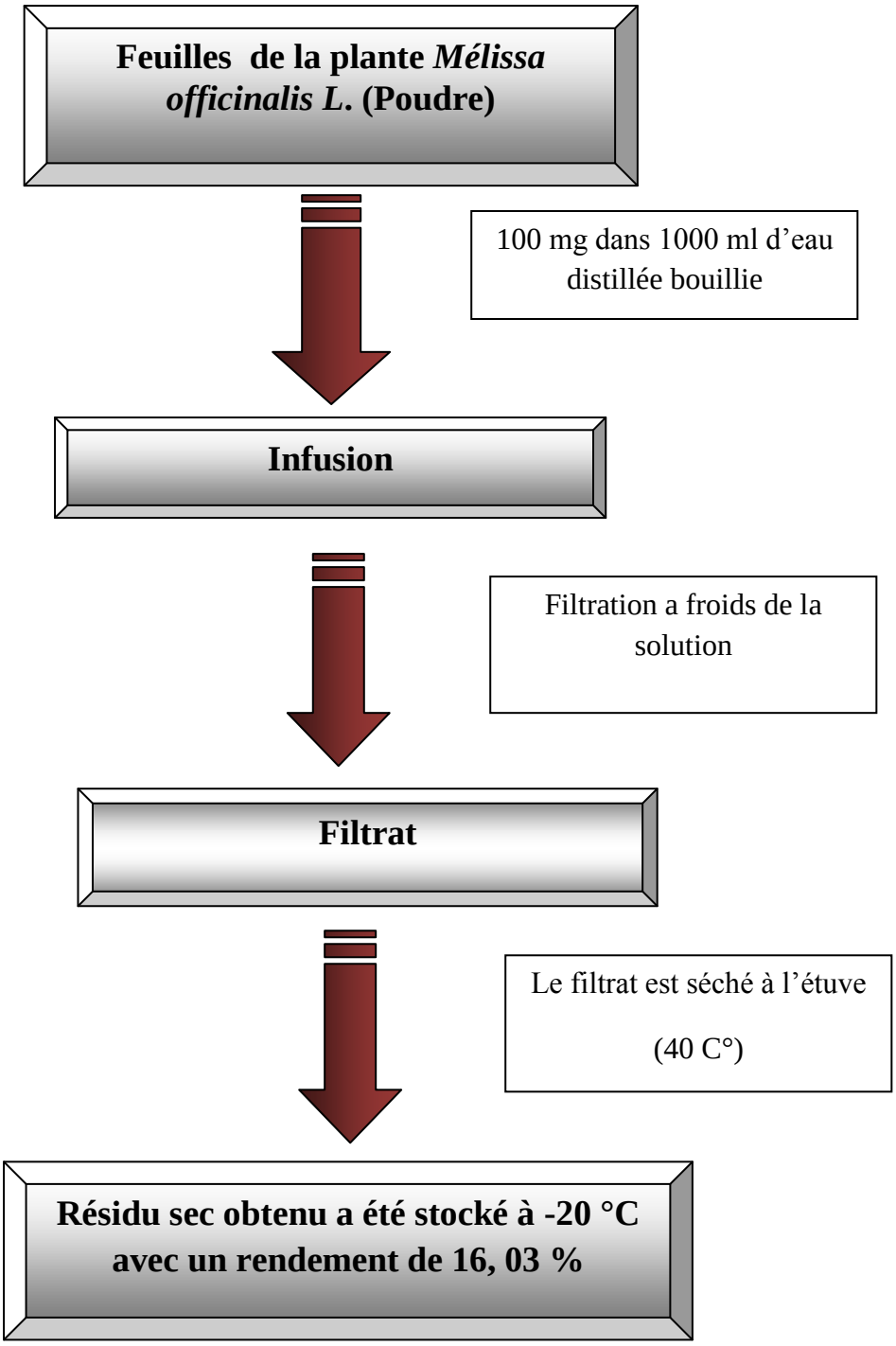

Fig. 06 : Méthode d'extraction du résidu de la plante.

2. 2. 2. Calcule du rendement :

Le rendement des extraits aqueux est définit comme étant le rapport entre la masse des extraits secs obtenue et la masse du matériel végétal à traiter **(Haje Ammar *et al*., 2009).** Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R\ (\%) = M \times 100/M_0$$

- R (%) : Rendement en extraits sec de matière sèche.
- M : quantité d'extrait récupérée exprimée en g.
- M_0 : quantité de la matière sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

3. Préparation de la solution injectable :

L'extrait aqueux de la mélisse est obtenu par dilution de l'extrait sec dans l'eau distillée à une dose de 50 mg/Kg **(Zarei A *et al*., 2014)**.

4. Evolution du poids corporel et le poids relatif des organes :

Le poids corporel de chaque animal a été noté chaque semaine durant la durée de l'expérimentation (08 semaines) ensuite, nous avons procédé au sacrifice de ces rats et le poids du foie des trois lots d'animaux a été enregistré. À partir de ces valeurs l'indice relatif des organes a été calculé par la formule suivante:

$$\textbf{Poids relatif des organes} = \frac{\text{Poids des organes (g)}}{\text{Poids corporel total (g)}} \times 100$$

5. Prélèvement du sang et des organes :

A la fin de la 08 ème semaine de l'expérimentation, les animaux sont sacrifiés le matin par décapitation, après une nuit de jeûne. Le sang est récupéré dans des tubes EDTA pour l'analyse hématologique et des tubes héparines pour l'analyse biochimique. Le sang des tubes héparines est centrifugé à 3000 tours pendant 10min et le plasma est stocké à 4°C. Le foie est prélevé rapidement, rincés avec une solution de NaCl à 0.9%, puis pesés et fixés dans le formol.

.

6. Etude biochimique :

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'Ouled Brahim (Saïda). Les dosages biochimiques de transaminase TGO et TGP sont réalisés par l'utilisation des kits SPINREACT. La détermination des différentes concentrations de chaque enzyme est calculée après la lecture du spectrophotomètre.

6. 1. Evaluation des marqueurs du fonctionnement hépatique :

6. 1. 1. Dosage des transaminases :

Ces enzymes sont impliquées dans le métabolisme des acides aminés. Elles fonctionnent avec le phosphate de pyridoxal (dérivé de la vit B6) comme coenzyme qui assure le transfert réversible d'un groupement amine entre un acide α-cétonique. Elles participent ainsi à la synthèse d'acides aminés et la régulation du cycle de Krebs.

- **Dosage des transaminases Glutamino Oxaloacétique (TGO) :**

Appelée aussi L'aspartate aminotransférase (ASAT); est présente surtout dans le foie et le cœur un peu moins dans les muscles et les reins. Elle possède une isoforme cytoplasmique dont la demi-vie sanguine est d'environ 40h et une isoforme mitochondriale dont la demi-vie est de 10h **(Beraud., 2001).**

- **Intérêt et principe du dosage**

Le dosage sanguin de transaminases glutamino oxaloacétique TGO est prescrit dans les pathologies hépatiques. Le principe du dosage est basé sur la cinétique enzymatique déterminant l'activité de l'aspartate aminotransférase :

ASAT

L-Aspartate + α-Cetoglutarate ⟷ L- Glutamate + Oxaloacétate

MDH

Oxaloacétate + NADH + H^+ ⟷ L-Malate + NAD^+

L'analyse est réalisée sur du sérum recueilli sur héparine, l'hémolyse invalide le test.

- **Technique d'analyse :**

Longueur d'onde : 340 nm ; Température : 37°C ; Cuve : 1 cm d'épaisseur. On prélève à l'aide d'une micropipette dans les tubes à essai :

Solution de travail (ml)	1,0
Echantillon (µl)	100

Mélanger bien, verser dans une cuve et lire l'absorbance après 1 min d'incubation. Refaire la lecture des D.O après 3min. Calculer la moyenne des variations d'absorbance par minute (Δ_A /min) en employant cette formule :

U/l =Δ_A / min x 1750.

6. 1. 2. Dosage de la Transaminase Glutamino Pyruvique (TGP) :

Appelée aussi Alanine aminotransférase (ALAT); Le dosage de la TGP (présente en particulier dans le foie) est surtout utilisé dans le diagnostic des hépatites aiguës, toxiques, infectieuses ou virales. La TGP est souvent associée aux gammas GT et aux phosphatases alcalines dans le cadre d'un bilan hépatique.

- **Intérêt et principe du dosage**

Le principe de cette méthode est basé sur la cinétique enzymatique en suivant l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT) dont l'appréciation de la réaction indicatrice qui consomme du NADH mesurée à 340nm (**Beraud., 2001).**

ALAT

L-Alanine + α-Cetoglutarate ⟷ Pyruvate + L-Ghutamatte

LDH

Pyruvate + NADH + H^+ ⟷ L-Lactate+NAD^+

- **Technique d'analyse :**

L'analyse se fait sur du sérum recueilli sur héparine car l'hémolyse invalide l'analyse.

A une longueur d'onde : 340 nm. Température : 37 C°, à l'aide d'une micropipette on mit dans les tubes à essai :

Solution de travail (ml)	1,0
Echantillon (µl)	100

Mélanger, verser dans une cuve et lire l'absorbance après 1 min d'incubation. Refaire la lecture des D.O après 3 min. Calculer la moyenne des variations d'absorbance par minute (Δ_A /min) en employant cette formule :

U/l =Δ_A / min x 1750.

7. Détermination des paramètres hématologiques :

Les paramètres hématologiques à savoir le taux d'hémoglobine **(Hb),** le nombre des globules rouges**(GR)**, le nombre des globules blancs **(WBC) et** l'hématocrite **(HCT)** sont déterminés à l'aide d'un Coulter de type « **MEDONIC CA530 ».**

8. Étude histologique des organes :

La technique de l'étude histologique a été réalisée au laboratoire vétérinaire de Mostaganem ; ou nous avons suivie rigoureusement les différentes étapes classiques de l'histologie. Cette technique nécessite une préparation de fragments de foie pour l'examen au microscope optique. La méthode classique incluant plusieurs étapes à savoir : prélèvement,

fixation, déshydratation, l'imprégnation suivie d'une inclusion dans la paraffine pure ; ensuite une coloration par la méthode (HE) suivie d'un montage sur lame et lecture a l'aide d'un microscope optique.

8. 1. La fixation :

La fixation des tissus doit se faire dans les minutes qui suivent le prélèvement, par immersion de la pièce dans une solution saline (fixateur : mélange de Bouin). Le tissu doit être aussi proche que possible du vivant.

La fixation est importante pour éviter une autolyse, insolubiliser les constituants cellulaires, s'opposer aux distorsions et rétractions et enfin de bien préparer les structures tissulaires aux traitements ultérieurs. Une bonne et rapide fixation assure le maintien de l'intégrité des cellules et préserve les organites sensibles à la pression osmotique. Le formol et les liquides de Bouin utilisés préservent mieux la morphologie des structures et assurent meilleure immobilisation des protéines.

8. 2. L'inclusion :

C'est l'imprégnation totale de la pièce à l'échelle cellulaire dans une substance neutre chimiquement appelé milieu d'inclusion ou d'imprégnation **(Bensalem & Benjeloul., 1998).**

Elle comporte trois étapes :

8.2.1. Déshydratation :

Les trois bains d'alcool successifs et de dégrée croissant (70%, 96% et 100%) permettent au tissu de perdre l'eau qu'il contient. Une mauvaise déshydratation se répercute plus tard sur la réalisation des coupes et la conservation des blocs.

8.2.2. Eclaircissement :

L'agent déshydratant étant rarement miscible au milieu d'inclusion, il est remplacé par un liquide miscible avec le milieu, durant cette étape le tissu devient transparent, d'ou le non d'éclaircissement.

Cette étape comporte deux bains successifs de toluène, 30 minutes pour chaque bain.

8.2.3. Imprégnation par paraffine (inclusion proprement dite) :

La pièce est placée dans le milieu d'inclusion qui pénètre dans toutes les cellules, on effectue 3 bains de paraffine fondu (55 °C à 57 °C) successivement pendant 3 heures, 2 heures et 1heure pour chaque bain. L'inclusion se fait dans des moules (barre de leukart) sur une plaque en verre.

8. 3. Les coupes :

Les blocs de paraffine sont faits a l'aide d'un microtome qui permet de réaliser des coupes de 5 à 10 microns d'épaisseur sous forme du ruban sont recueillies et collées sur des lames de verre.

8. 4. La coloration (Méthode Hémalun – Eosine) :

Pour la coloration, nous avons utilisé la technique de l'hématoxylines-éosine (HE), comportant :

- Un bain de 5min d'hématoxyline (Merck) qui colore en bleu violace les structures basophiles (noyaux).
- Un bain de HCl 1% pour différencier les coupes et obtenir une coloration en rose.
- Un bain de 3min de carbonate de lithium pour colorer en bleu les coupes.
- Un bain de 5min d'éosine pour colorer les structures acidophiles (cytoplasme).

Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau courante, Le déparaffinage et l'hydratation se font à l'aide d'une plaque chauffante, après une coloration **(Hémalun De Mayer)** pendant 5-10 min les lames sont lavées rapidement a l'eau courante puis mises dans une solution aqueuse à saturation de carbonate de lithium. Une différenciation a l'eau chlorhydrique à 0,1% s'ensuit et un lavage a l'eau courante. Les lames sont ensuite colorées par une solution aqueuse d'éosine y a 1% puis lavées a l'eau courante. Enfin une déshydratation et un montage entre lames et lamelles.

8. 5. Montage :

Monter au baume de Canada **(Martoja & piérson., 1967)**.

8. 6. Observation au microscope :

- Grossissement (X 4, X 10 et X40)
- Prendre des photos à l'aide de l'appareil photo adaptée sur microscope.

9. Expression et analyse statistique des résultats :

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± ES (l'erreur standard). La comparaison de plusieurs moyennes est effectuée par une analyse de variance (ANOVA) avec le facteur intoxication (Pb, T) et/ou le facteur traitement (Solvant, MO). Les ANOVA à mesures répétées ont été utilisées pour l'analyse du facteur temps. Une probabilité $p < 0,05$ est considérée significative. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Sigma Stat (version 3,5) **(Kahloula k., 2010).**

Discussion :

Notre travail a pour but d'évaluer l'effet prophylactique de l'extrait aqueux de *Mélissa officinalis L.* vis à vis l'intoxication subchronique à l'acétate du plomb chez les jeunes rats Wistar, en se basant sur l'étude physiologique, biochimique, hématologique et histologique.

Les résultats obtenus après 08 semaines d'exposition à l'acétate de plomb ont montré une réduction de la croissance pondérale qui peut être expliquée par la diminution de la prise alimentaire. Ces résultats montrent bien que le plomb induit un effet anorexigène par une action direct sur les centres nerveux responsable de la régulation de la satiété et de la faim. Nos résultats sont en accord avec les travaux entrepris par différents auteurs **(Gautam *et al.*, 2001., kharoubi., *et al.*, 2007., Smith., *et al.*, 2008., Belahcen & Slimani., 2007)** qui ont observé une réduction dans la consommation de la nourriture chez les rats intoxiqués au plomb.

Nous avons observé également une anémie chez les rats intoxiqués au plomb. Cette dernière est présentée par la diminution significative des taux des globules rouges, hématocrite et l'hémoglobine comparés à celles des témoins. La diminution de ces paramètres sanguins pourraient être due à l'action inhibitrice du plomb sur les enzymes responsable de la biosynthèse de l'hème comme l'acide aminolévulinique déshydratase (ALAD) et la ferrochélatase. En conséquence, il diminue la durée de vie des hématies **(Klassen., 2001).** Nos résultats sont du même ordre que ceux de **Missoun (2010)**, qui montrent que le plomb induit une diminution significative des globules rouges, hématocrite et VGM chez les rats traités à la dose de 1g/l de l'acétate du plomb pendant 28 jours. Ces résultats suggèrent que l'anémie causée par le plomb est le résultat de l'effet direct et indirect du plomb sur l'accumulation de δ-ALA **(Helmy *et al.*, 2000)**.

Nos résultats montrent également que l'intoxication au plomb provoque une hyperleucocytose (augmentation du nombre des globules blancs) chez les rats intoxiqués comparés aux témoins ce qui peut être expliqué par une réponse immunitaire (amplification clonale des cellules immunitaire) contre les globules rouge modifié par le plomb: le cas d'altération membranaire **(Passow., 1980)**. Les résultats obtenus concordent avec les résultats d'**Ouldali *et al.*, (2011)**.

Nos résultats ont permis d'enregistrer une augmentation des aminotransferase (TGO et TGP) dans le sérum. Cette altération hépatique est interprétée par le fait que le foie constitue

une cible importante du plomb. Ce dernier possède une grande affinité pour les groupements thiols protéiques des membranes cellulaires hépatiques, ce qui conduit à des nécroses hépatiques et la sortie des aminotransferases dans le sérum. Ce résultat est confirmé par différents auteurs (**Gurer & Ercal ., 2000 ; Saxena & Flora.**, **2004)**.

Notre étude physiologique du foie a permis d'enregistré une diminution du rapport hépato-corporel observé chez les rats exposés au plomb, ceci est indirectement lié aux perturbations biochimiques et nécrose des cellules hépatiques. Notre résultat est en bon accord avec les résultats de **Kharoubi (2008).**

Les rats intoxiqués et traités présentent un poids corporel supérieur à celui des rats intoxiqués. De peut justifier ceci par l'effet prophylactique que possède *Mélissa officinalis* envers l'intoxication au plomb. Ceci est du à l'effet chélateur de cette plante d'une part et son inhibition de l'effet anorexigène d'autre part par une action direct sur les centres nerveux responsable de la régulation de la satiété et de la faim. Ce regain de poids enregistré pourrait être dû à la présence de composés terpénoïdes **(JudÞentienë & Mockutë ., 2004)** qui agissent en stimulant le transport du glucose dans les cellules. On plus *Mélissa officinalis* est un excellent diurétique ce qui peut être la cause de la diminution du poids corporel des rats traité par la plante par rapport au témoin.

En contrôlant le taux des paramètres hématologique des rats intoxiqués et traités par l'extrait aqueux de *Mélissa officinalis*, nous avous remarqué la disparition de l'état de l'anémie induite par le plomb, ce ci peut être expliqué par la diminution de la peroxydation des lipides membranaires érythrocytaire, indiquant que l'extrait de la plante est capable d'empêcher la formation du H_2O_2 qui peut causer l'hémolyse des cellules sanguines.

L'étude histologique réalisée sur le tissu hépatique chez les rats intoxiqués à l'acétate du plomb a permis de révélé la présence d'une nécrose hépatocytaire avec une dilatation et une congestion des veines intra-hépatique associée à des dépôts sous forme d'inclusions intra-cytoplasmique et intranucléaire. La destruction des cellules de cet organe a été observée également par **Abdel-razik *et al* 2007**.

L'administration de la Mélisse a empêché l'élévation sérique des activités de TGO et TGP. Ces résultats ont été renforcés par l'étude histologique, En effet, L'architecture tissulaire hépatique de ces rats apparaît très semblable à celle des rats témoins. L'effet cytoprotecteur de l'extrait de

la plante peut être due en partie à sa teneur en composants antioxydants (Flavonoïdes, acides phénoliques, terpènes, acide caféique et acide rosmariniques) ainsi que sa propriétés de piégeage des radicaux libres **(Ribeiro., *et al*., 2001).** De plus, il est démontre que l'utilisation de composés antioxydant naturel diminue de manière important la peroxydation des lipides, après une intoxication au plombet ce par la diminution de la production du l'EROs (Espèces Réactive de l'Oxygène) **(Halliwell., 1994., Jone., *et al*., 1995)**.

1. Résultats de l'extraction de la Mélisse :

1. 1. Calcul du Rendement (%) :

Les résultats relatifs au rendement révèlent une valeur de 16,03%.

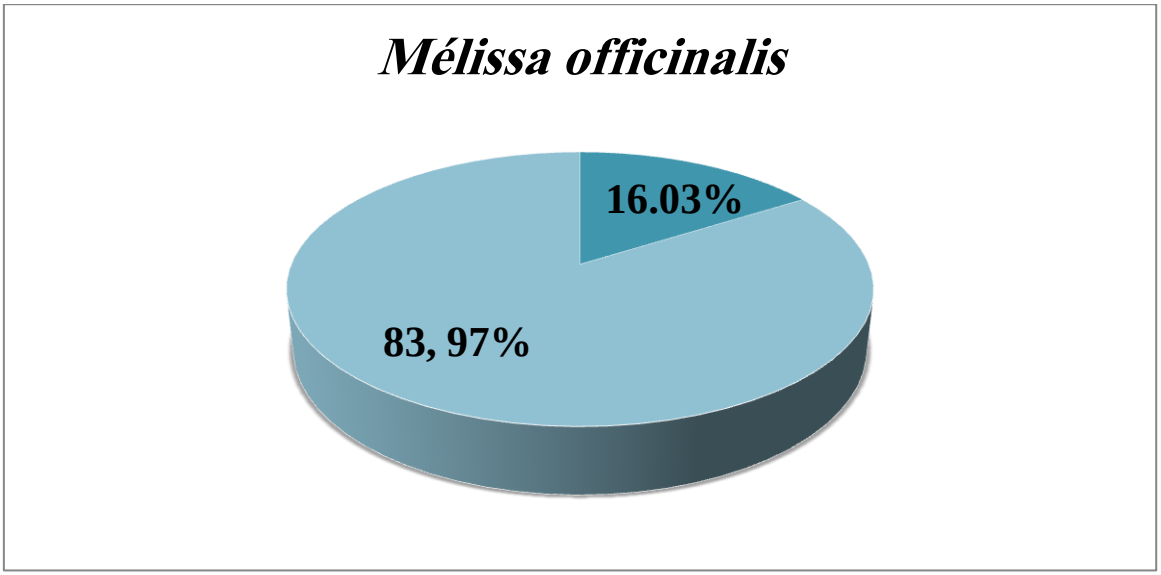

Fig. 07 : Le rendement de la plante *Mélissa officinalis* L.

2. L'effet du plomb et l'extrait de la Mélisse sur la croissance pondérale et le poids relatif du foie :

2. 1. L'effet sur la croissance pondérale :

L'expérience relative à la croissance pondérale permet d'évaluer l'effet prophylactique de l'extrait de la mélisse sur l'évolution du poids corporel des rats intoxiqués au plomb durant 08 semaines. Le poids constitue un bon indicateur de la croissance des rats de l'expérimentation. Les résultats montrent que l'exposition subchronique a L'acétate du plomb à raison de 350 mg/l induit, chez les rats, une baisse significative (P<0,001) dans leurs poids corporels.

Au début de l'expérience (S0) les trois lots d'animaux ne présentent aucune différence significative (p>0,05), le poids augmente régulièrement pour les rats témoins, cependant une diminution de la croissance corporelle a été observée chez les rats intoxiqués a partir de la quatrième semaine (S4). Ces résultats montrent bien que l'intoxication à l'acétate de plomb provoque une baisse dans la prise alimentaire (food intake), ce qui montre que le plomb provoque un effet anorexigène.

Les rats qui sont exposés au plomb et traités par l'extrait de la Mélisse présentent un poids pondéral plus élevé que celui des rats intoxiqués non traités.

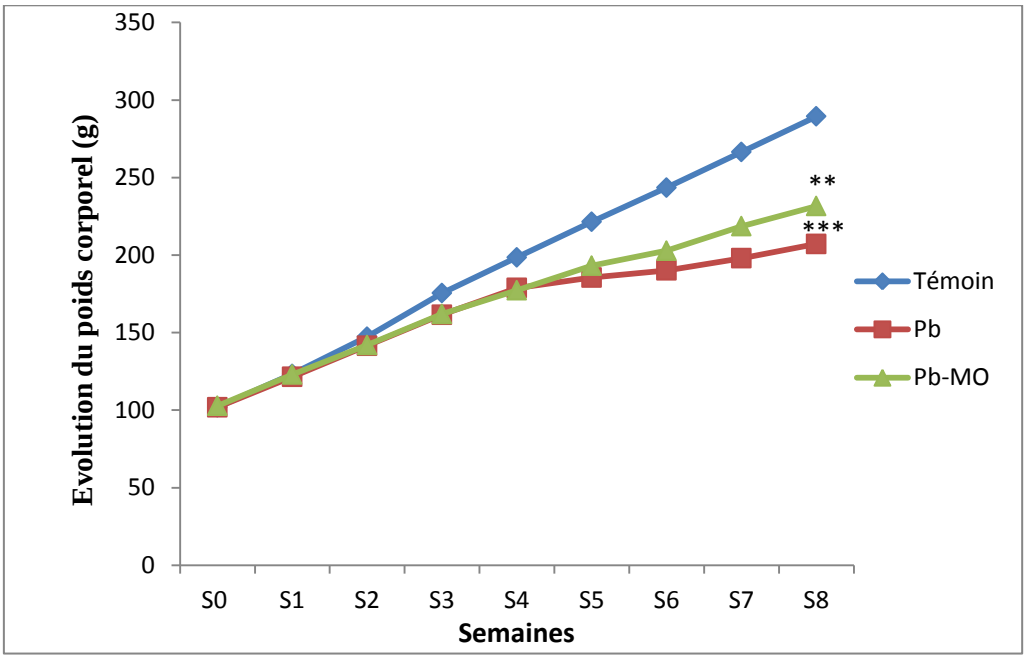

Fig. 08 : Evolution du poids corporel des trois lots des jeunes rats pendant 08 semaines d'expérimentation. Les valeurs sont exprimés en moyenne ±SEM : *** P<0,001,**P< 0,01.

2. 2. L'effet sur le poids relatif du foie :

Les résultats présentés dans le tableau 06 et la figure 08 montrent que le lot **intoxiqué (Pb)** présente des valeurs significativement plus faible du poids relatif du foie comparé au lot **témoin** après 08 semaine d'intoxication. L'administration de l'extrait de plante et l'exposition au plomb a permi de conserver un poids relatif normal du foie.

Tab. 06 : L'effet du plomb sur les poids des rats de l'expérience. Les valeurs sont exprimés en moyenne ±SEM : * P <0,05 ; ** P<0,01 ; *** P <0,001.

Les lots	***Témoin***	***Pb***	***Pb-MO***
Poids corporel (g)	**289,5±1,05**	**207,16 ±2,49 *****	**231,66 ± 1,28 ****
Poids relatif du foie	**4,15±0,11**	**3,36±0,15 ***	**4,06±0,11**

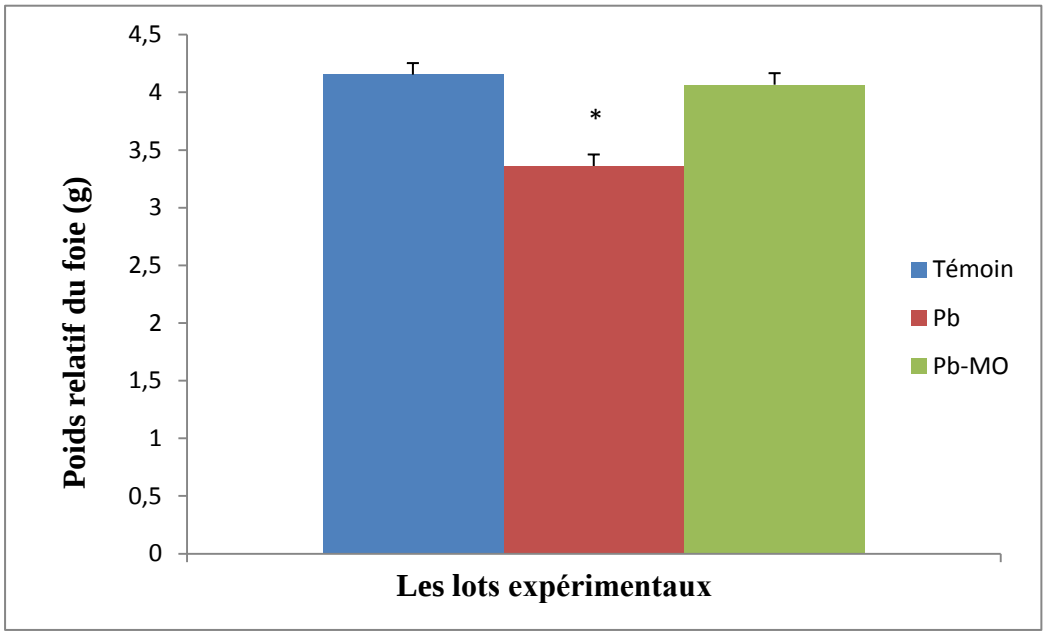

Fig. 09 : Le poids relatif du foie des trois lots expérimentaux. Les valeurs sont exprimés en moyenne ±SEM : *p<0,05.

3. Effet du plomb et de l'extrait de *Mélissa officinalis L.* sur les paramèters hématologiques :

3. 1. Effet sur le nombre de globules rouges :

L'exposition chronique à l'acétate de plomb a raison 350mg/l chez les rats Wistar, au cours de la période de croissance, a provoqué une baisse significative du nombre de globules rouges ($p<0.001$) avec un taux de -54,69% comparé aux rats témoins. Par contre, chez le lot des rats ayant reçus l'extrait de la plante, le nombre des globules rouges GR n'est pas modifié (Fig. 10).

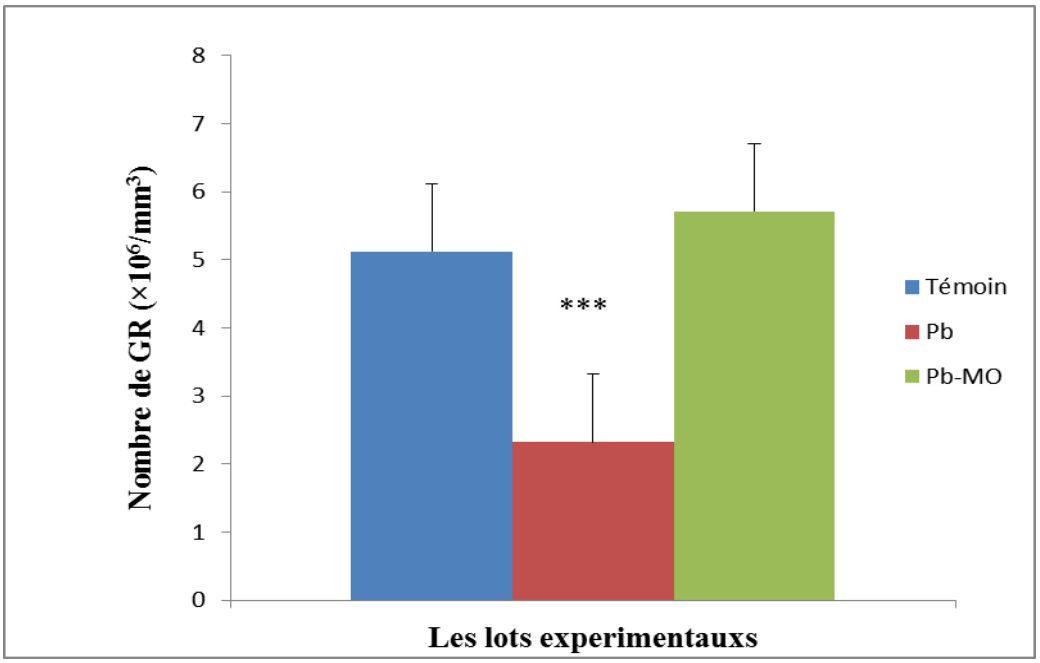

Fig. 10 : Variation du nombre des globules rouges (GR) chez les lots expérimentaux. Les valeurs sont exprimés en moyenne ±SEM : *** P<0,001.

3. 2. Variation des taux d'hémoglobine (Hb) :

D'après les résultats obtenus (Fig. 11), l'hémoglobine chez le lot intoxiqué par rapport à celui du lot témoin est nettement diminué jusqu'à la valeur de 64,72% (P<0.001), La diminution de ce paramètre sanguin pourrait être due à la diminution du nombre des érythrocytes circulantes. On peut remarquer également que cette diminution ne s'est pas produite chez les rats intoxiqués et traités par l'extrait de la Mélisse en gardant un taux d'hémoglobine de 88,95% presque identique à celui des rats témoins.

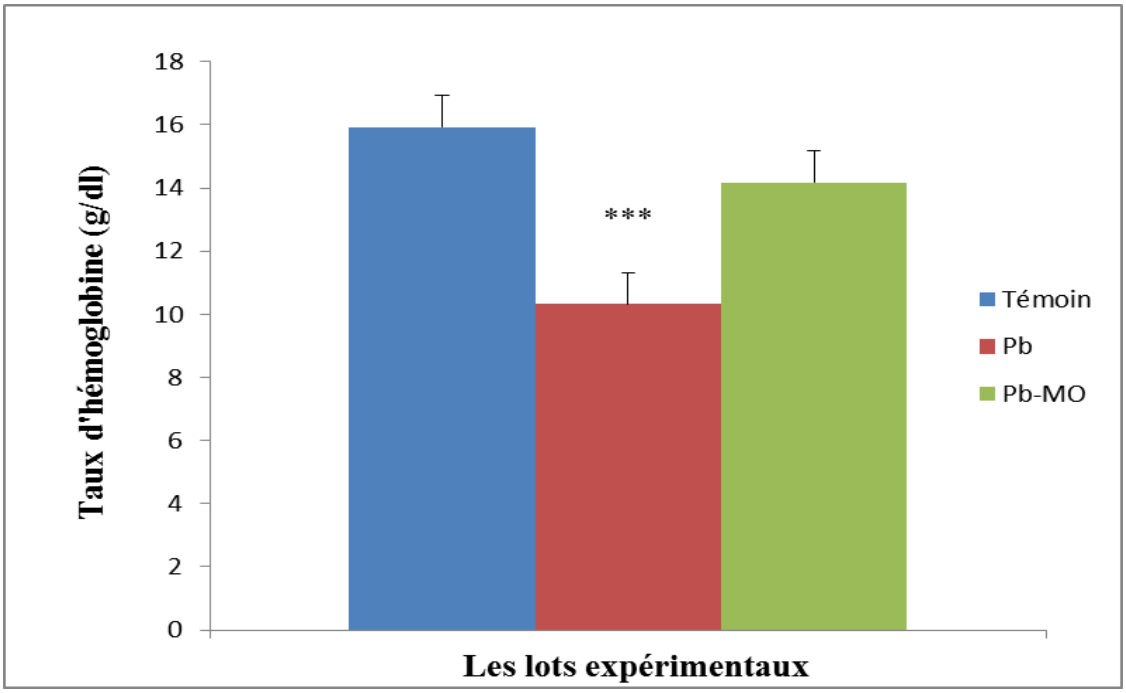

Fig. 11 : Variation du nombre des Hémoglobines chez les lots expérimentaux. Les valeurs sont exprimés en moyenne ±SEM : *** P<0,001.

3. 3. Variation des taux d'hématocrites :

Les résultats de l'histogramme (Fig. 12) montrent une diminution apparente du taux d'hématocrite chez le lot intoxiqué jusqu'à -44,53% (P<0.001) par rapport au lot témoin. Par ailleurs, l'hématocrite chez les rats qui ont reçus l'extrait aqueux de *Mélissa officinalis* L. associé à l'intoxication au Pb, ne présente aucune différence significative vis à vis le lot Témoin.

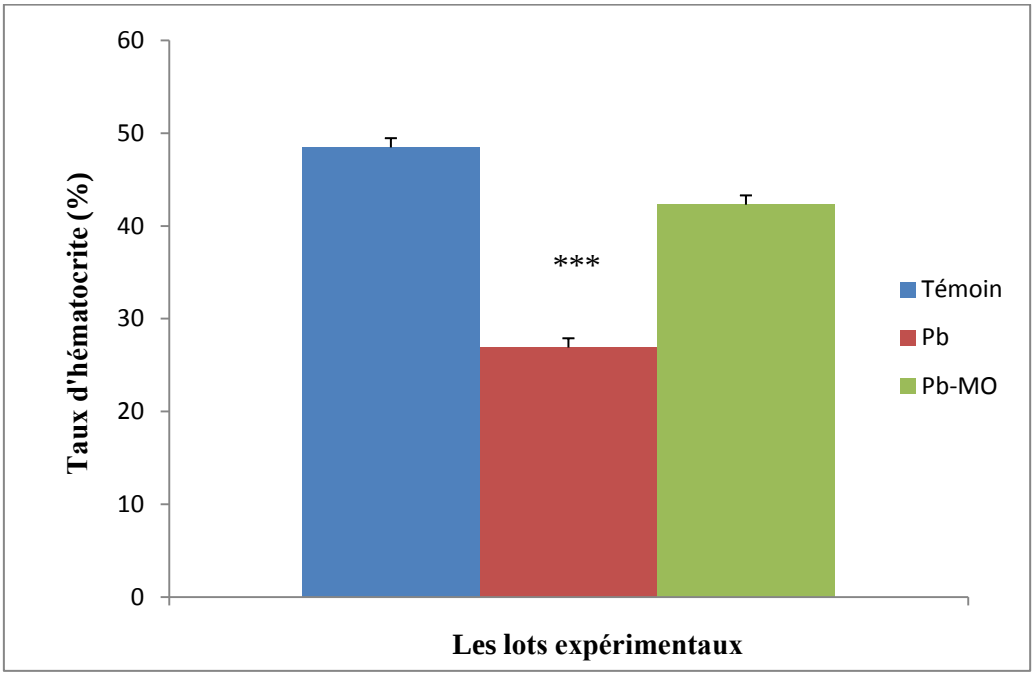

Fig. 12 : Variation du nombre des Hématocrites chez les lots expérimentaux. Les valeurs sont exprimés en moyenne ±SEM : *** P<0,001.

3. 4. Variation des taux des globules blancs :

L'intoxication au plomb pendant une durée de 08 semaines entraîne une augmentation significative du taux des globules blancs (hyperleucocytouire) (+173,73 %) par rapport aux rats témoins; ce qui peut être expliqué par une réponse immunitaire contre les globules rouges altérés par le plomb. Cependant, les rats intoxiqués au plomb et traités par l'extrait de la plante présentent un taux de leucocytes normal (Fig. 13).

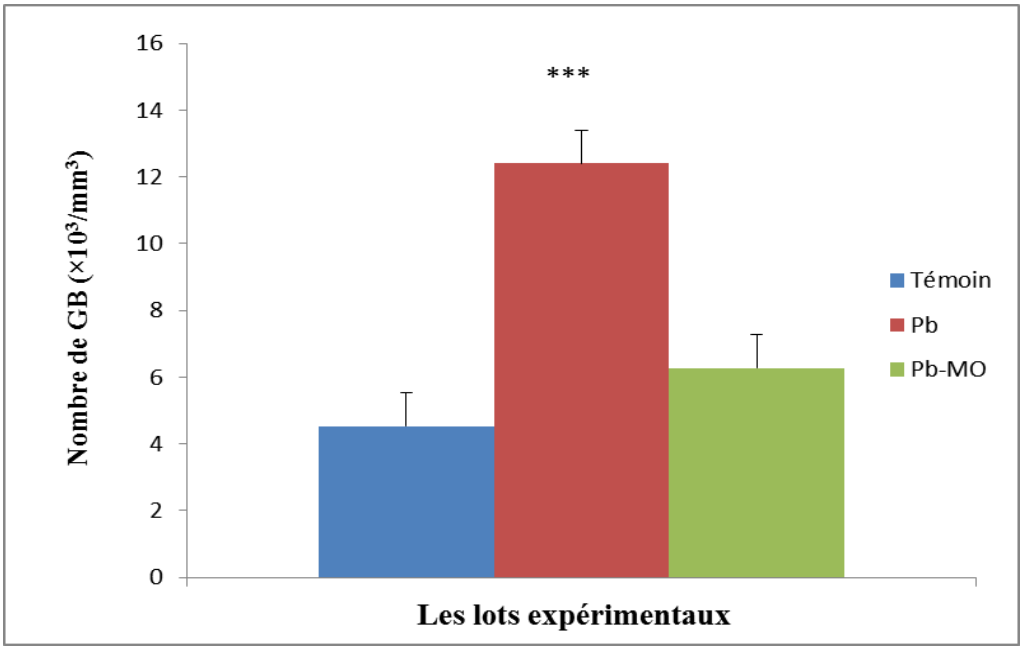

Fig. 13 : Variation du nombre des globules blancs (GB) chez les lots expérimentaux. Les valeurs sont exprimés en moyenne ±SEM : *** P<0,001.

4. Evaluation des paramètres biochimiques du foie: les transaminases (TGO et TGP)

L'analyse des marqueurs de la fonction hépatique, indique qu'au niveau sérique l'activité des transaminases TGP et TGO sont significativement plus élevées (p<0,001) chez les rats intoxiqués vis à vis des rats témoins avec +124,13% et +69,23% respectivement. L'augmentation de la liberation de ces enzymes hépatique dans le sérum montre que le plomb induit une cytolyse hépatiques.

Chez le lot intoxiqué et traité, la fonction hépatique (TGO, TGP) est préservée. Le dosage des transaminases ne présente aucune difference signéficative par rapport au lot témoin (p>0,05).(Fig. 14 et Fig. 15).

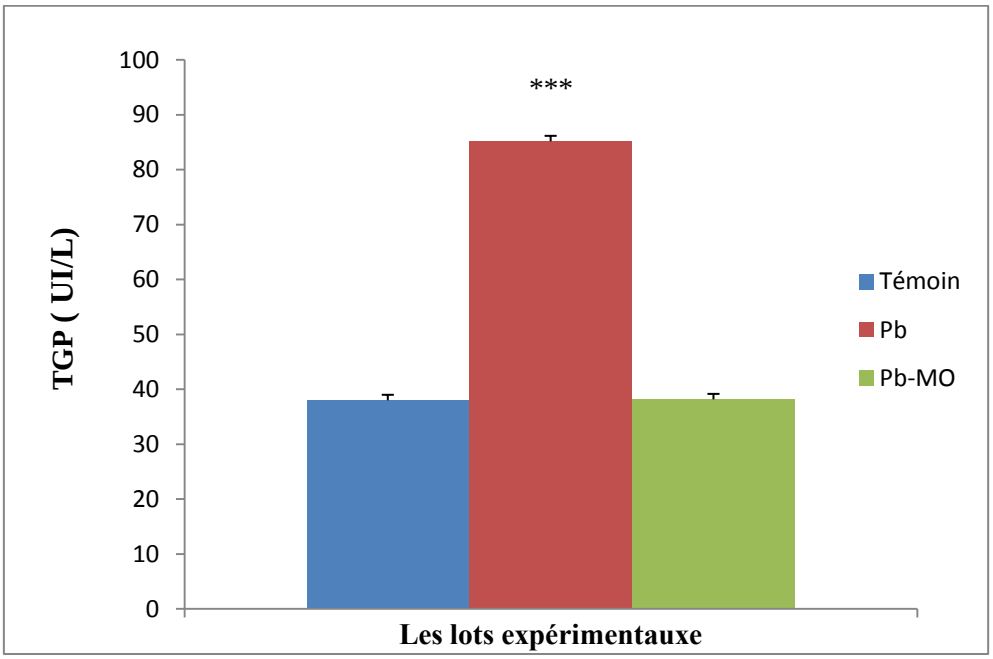

Fig. 14 : Evaluation de la TGP chez les lots expérimentaux. Les valeurs sont exprimés en moyenne ±SEM : *** P<0,001.

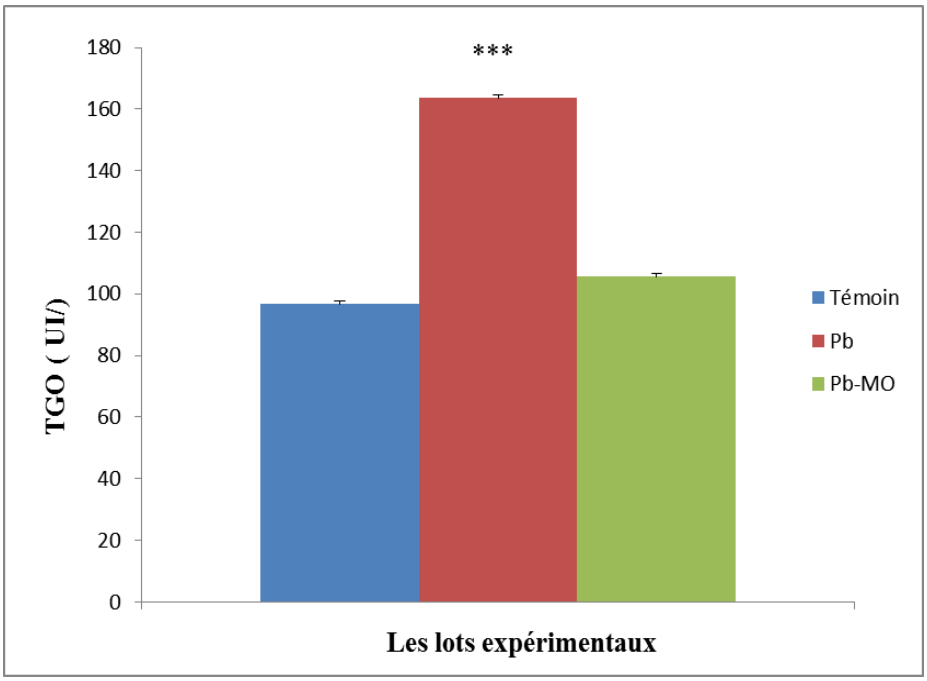

Fig. 15 : Evaluation de la TGO chez les lots expérimentaux. Les valeurs sont exprimés en moyenne ±SEM : *** P<0,001.

5. Etude histologique du foie :

L'examen histologique est conçu dans le but de compléter nos précédents résultats biochimiques d'une part, et de voir si l'administration simultanée de l'extrait de la Mélisse et de l'acétate de plomb préserve ou non l'architecture tissulaire normale d'autre part. Pour cela, nous avons réalisé des coupes histologiques des foies de nos rats.

La réalisation des coupes histologiques du tissu hépatique chez les rats intoxiqués au plomb à 350mg/l a permis d'observer sur le plan microscopique, après coloration à l'hématoxyline-Eosine, des dépôts sous forme d'inclusions intra-cytoplasmique et intranucléaire. On note également une congestion des veines intra-hépatique associée à une nécrose hépatocytaire Fig. 16 (B). Par contre, les dépôts d'acétate de plomb, chez les rats intoxiqués et traités, sont quantitativement moins présentes que chez les rats intoxiqués Fig. 16 (C). L'architecture tissulaire hépatique de ces rats est très semblable à celle des rats témoins.

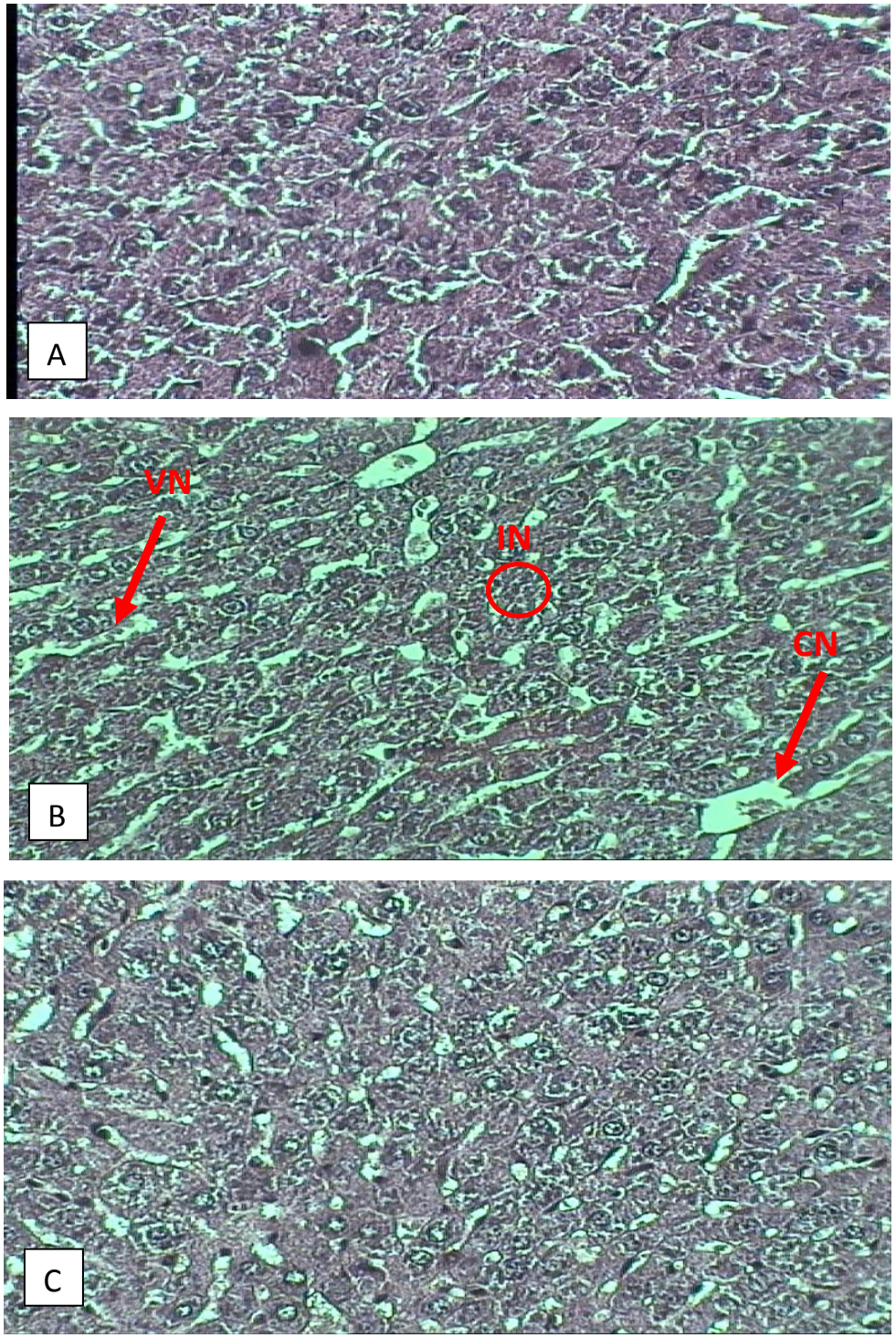

Fig. 16: Examen microscopique du tissu hépatique chez les rats étudiés : rats témoins (A), rats intoxiqués à 350mg/l de plomb (B), rats intoxiqués et traités (C). (Hématoxyline-Eosine X 40 X10).

VC : vaisseau congestif, CN : cellule nécrosée, IN : dépôts d'inclusions.

Conclusion et perspectives:

L'intoxication chronique au plomb est un problème d'une importance considérable et qui n'est pas encore résolu. En effet, les différents travaux entrepris chez le rat et l'homme ont montrés que le plomb est toxique même à des doses relativement faibles; les effets délétères du plomb touchent tous les compartiments de l'organisme vivant et les organes les plus vulnérables aux effets toxiques du plomb sont essentiellement le système hématopoïétique, le système rénal et le système nerveux central plus particulièrement.

Notre travail porte sur l'étude de l'effet préventif de l'extrait aqueux de *Mélissa officinalis L.* vis à vis l'intoxication subchronique à l'acétate du plomb chez les jeunes rats Wistar. Cette exposition au cours de la période de développement entraine une diminution significative du poids corporel due à la diminution de la nourriture consommée par les rats à cause de l'effet du plomb sur le système de contrôle de la satiété et de faim.

De plus, on note des perturbations hématologiques telles que l'anémie évaluée par la diminution significative de l'hémoglobine, d'hématocrite et du nombre de globule rouge chez les rats intoxiques par le plomb comparé aux rats témoins. L'anémie est induite par l'inhibition de la production d'hème et de globine d'une part et l'effet toxique direct sur les érythrocytes d'autre part. Cette toxicité est remarquée autrement par une hyperleucocytose suite à la réponse immunitaire contre les globules rouge altérés.

Les effets du plomb au niveau hépatique ont été également explorés. Nous avons observé que l'administration de plomb chez les jeunes rats provoque une diminution du poids relatifs de l'organe. Les résultats montrent également une augmentation des enzymes TGP et TGO au niveau sérique. Cette perturbation de l'activité du foie a été confirmé par une étude histologique qui a permis de révélé la présence d'une nécrose hépatocytaire avec une dilatation et une congestion des veines intra-hépatique associée à des dépôts sous forme d'inclusions intra-cytoplasmique et intranucléaire.

L'administration de l'extrait aqueux de *Mélissa officinalis* utilisé a la concentration de 50mg/Kg simultanément avec l'acétate de plomb chez les jeunes rats, a permis d'empêché l'apparition de plusieurs perturbations hématologique et biochimique.

En effet, les paramètres hématologiques chez ces rats sont identiques aux rats témoins. De plus, L'administration de la Mélisse a empêché l'élévation sérique des aminotransférases (TGP et TGO), ces résultats sont renforcés par l'étude histologique, En effet, L'architecture tissulaire hépatique de ces rats apparaît très semblable à celle des rats témoins. Donc on peut dire que la plante possède un effet hypato-protecteur dû à son pouvoir protecteur des membranes contre l'attaque radicalaire et la diminution de la peroxydation des lipides et l'oxydation des protéines.

En conclusion, ce travail a permis d'évaluer l'efficacité prophylactique de l'extrait aqueux de *Mélissa officinalis* sur les systèmes hématopoïétique et hépatique contre le dysfonctionnement généré par le plomb.

Outre cette perspective générale, plusieurs expérimentations peuvent être menées pour répondre à certaines questions spécifiques soulevées au cours de ce travail :

- Définir le rôle de l'extrait de la Mélisse dans la régulation du système anti-oxydant de glutathion chez le rat.
- Etudier l'effet protecteur de la plante sur d'autres organes ciblés par le plomb comme le rein et le cerveau.
- Etudier l'effet curatif de la plante contre l'intoxication à l'acétate du plomb.
- La réalisation d'une étude phytochimique approfondie de la plante qui consiste à la purification et l'identification de ces composés actifs

AFSSAPS., (1998): Les médicaments à base de plantes (avis aux fabricants) - Cahiers de l'Agence n°3 - Saint-Denis., 81 p.

Aït Youssef M., (2006): “ Plantes médicinales de Kabylie ”, Editions Ibis Press, Paris., 349p.

Alexander B. H., checkoway H., Vannetten C., Muller C. H., Ewers T. G., Kaufman J. D., Mueller B. A., Vaughan T. L & Faust man E. M., (1996): semen quality of men employed at a lead smelter. Occup environ med., **53**(6): 411-416.

Amdur M. O., Doull J., Ktaassen C. D., (1996): Lead .Cabaret and Doll’s Toxicology. New and cell surface expression of NMDAR complexes.Brainres Mol Brainres.

Araujo C., Sousa M. J., Ferreira M. F., Leao C., (2003): Activity of essential oils from Mediterranean Lamiaceae species against food spoilage yeasts. J. Food Prot., **66** (4): 625-632.

Assayama M., Ogawa T., Morimuto T., (1975): excretion of heauy metals in sweat. Jaichi med uniassoc **3**(4): 230-235.

Audesirk G., Audesirk T., (1993) : The effects of inorganic lead ou voltage sensitive calcium channels ifferramong tell types and among channel sub types-Neurotoxicology., **14**: 259-65.

Auf’mkolk M., Amir K., Kubota K., Ingbar S. H., (1985): The active principles of plants extracts with antithyrotropic activity: oxidation products of derivatives of 3,4-dihydroxycinnamic acid. Endocrinology., **116**: 1677-1686.

Baba Aissa F., (1999) : “ Encyclopédie des plantes utiles, flores d’Algérie et du Maghreb ”, copyright librairie, Alger., 368 p.

Beck B. D., (1992): An update on exposure and effects of lead fundam appl toxicol., **18**(1): 1-16.

Bel oued A., (09-2005) : “ Plantes médicinales d’Algérie ”, Edition office des publications universitaires ., 284p.

Belahcen K., Slimani M., (2007): The effect of the safe lead on the behaviour of the wistar rat., *Egypt journal of appl sciences*, p 22 (11B).

Beliles R. P., (1994): The Metals.IN: Claytong.d., Clayton F.e (eds)-Patty's industrial hygiene and toxicology, 4eéd, vol II , part c nev, John Wiley & sons., p: 2065-2087.

Benedetto D. I., (1997): Axe Génie des procédés, Centre SPIN, Ecole des Mines des Saint-Etienne .

Bennett W. M., (1985): Lead nephropathy kidneyintern **28**: 212-220.

Bensalem Benjeloul M., (1998): Techniques hitologiques. Théorie et pratique, office des publications universitaires, Alger.

Blum W. E., (1990) : Pollution des sols par métaux lourds. Sixième conférence ministérielle européenne sur l'environnement. Bruxelles.

Botta A., Poyen D., Sigouret M., Mathias A., (1976) : les différents tests de dépistage d'une imprégnation saturnine applicables en médecine du travail. Arch mal prof., **37**:437-443.

Bourrelier P., Berthelin J., (1998) : "Contamination des sols par les éléments traces : les risques et leur gestion." Rapport de l'Académie des sciences Ed. Lavoisier, Paris. 42 p.

Boyadzhiev L & Dimitrova V., (**2006):** Extraction and Liquid Membrane Preconcentration of Rosmarinic Acid from Lemon Balm (Melissa Officinalis L.), Separation Sciene and Technology. **41**: 877 -886.

Bress W. C., bidanset J. H., (1991): percutaneous in vivo and in vitro absorption of lead. Vet hum toxicol., **33**(3) : 212-214.

Brgm., (2004): Guide méthodologique du plomb appliqué agestion des sites et des solspollués., rapport final BRGM/RP-52881-FR.

Bruneton J., (2009) : Pharmacognosie : Photochimie, Plantes médicinales - 4ème édition-Paris : Editions Tec & Doc., 1269 p.

Califonia Environnemental Protection Agency., (1997): Public health goal for lead .

Carnat A. P., Carnat A., Fraisse D., Ricoux L & Lamaison J. L., (1998): The Aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (Melissa officinalis L. subsp. Officinalis) tea, Pharmaceutical Acta Helvetiae., **72** (5): 301-305.

Cecchi M., (2008): Devenir le plomb dans le système sol- plante .cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères(fève et tomate). Thèse présentée pour obtenir le titre de docteur de l'institut national polytechnique de toulouse., P 12-16.

Couplan F., Styner E., (1994) : Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques, Editions Del chaux et Niestlé.

Delille L., (**2007) :** " Les plantes médicinales d'Algérie ", Berti éditions, Alger ., 24

Demichele S. G., (1984): Nutrition of lead. Comp Biochem physiology., **78**:401-408.

Deng W., Mccinnon R. D & Poretz R. D., (2001): Lead exposure delays the differentiation of oligodendroglial progenitors in vitro. Toxicol Apple pharmacol. **147**: 235-44.

Descotes J., Testud F ., Frantz P., (1992): Les urgencies de toxicologie.Ed Molonie, Paris.

Di Benedetto (1997): "Axe genie des procédés", Centre SPIN, Ecole des Mines des Saint-Etienne.

Dikshit A., Husain A., (1984): Antifungal action of some essential oils against animal pathogens. Fitoterapia., **55**: 171-176.

Dimitrova Z., Dimov B., Manolova N., Pancheva S., Ilieva D., Shishkov S., (1993): Antiherpes effect of Melissa officinalis L. extract. Acta. Microbiol. Bulg., **29**: 65-72.

Dini L., Guidetti A. M., Ruzittu M & Gnoni G. V., Zara V., (1999): Citrate carrier and mlipoginic enzyme activities in lead nitrate induced proliferative and apoptic phase in rat liver. Biochem Mol Boil Int., **47**: 607-14.

Dossing M., Paulev P. E., **(1983):** Blood and hair lead concentrations during five years of occupational exposure: the effectiveness of an occupational hygiene program and problems due to welding operations. *Ann Occup* Hyg, **27**: 367-372.

Eau des Carmes Boyer ., (2011) : Eau de mélisse [En ligne] –(consulté le 20 juillet 2011).

EFSA., (2008) : Utilisation d'extraits de romarin en tant qu'additif alimentaire : Avis du groupe scientifique sur les additifs alimentaires, les arômes, les auxiliaires technologiques et les matériaux en contact avec les aliments - The EFSA Journal ., **721** : 1-4.

Elssler M. A., (1988): Lead and lead poisoning from antiquity to modern times. Othio J Sic., levels and exfolaitedtoothdentin lead levels: models of tooth lead Kinetics. Cacif tissue INT., **3**: 78-84.

Ercal N., Treeratphan P., Hammond T. C., Matthews R. H., Grannemann N. H., Spitz D. R., (1996): In vivo indices of oxidative stress in lead-exposed C57BL/6 mice are reduced by treatment with meso-2,3-dimercaptosuccinic acid or N-acetylcysteine. *Free Radical Biol Med* ; **21**: 157-61.

Filho C. A., Silva C. M., Quadri M. B & Macedo E. A., (2003): Tracer diffusion coefficients of citral and d-limonene in supercritical carbon dioxide, Fluid Phase Equilibria., **204**: 65-73.

Fowler B. A., Duval G., (1994): Effects of lead an the kidney, roles of High-affinité lead binding protéines. Environ health perspect., **19**: 77-80.

Friberg L., Nordberg G. F., Vouch V. B., (1986): Handbook on the toxicology of metals-2 nd edition, Elsevier pub, Amsterdam.

Fu H & Boffcta P., (1995): Cancer and occupational exposure to inorganic lead.

Gartside P. S., Buncher C. R., Lerners S., **(1982):** Relationships of air lead and blood lead for workers at an automobile battery factory. *Int Arch Occup Environ Health.*, **50**: 1-10.

Gautam A. K., Agarwal K., Shah B. A., Kumar S., Saiyed H. N., (2001): Lead induced spermatoxy in mouse and MPG treatment .*Envion Bio.*, **22**(4):287-91.

Géosciences., (2007): plomb et la santé : importance de la spéciation., p: **42**.

Goger R. A., (1993): lead toxicity: current concerns .Environmental Heath perspectives.

Goyer R. A., (1989): Mechanism of lead cadmiun nephrotoxicity. Toxical. Lett 46-153.

Greenlee., (2003): are risk factors for female infertility in an agricultural region. Epidemiology., **14**(4) : 429-43.

Guignard J. L., Cosson L & Henry M., (1985) : Abrégé de photochimie - Paris : Masson., 224 p.

Gurer H., Ercal N., (2000): Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? Free Radical Biol Med., **29**(10): 927–945.

Haguenoer J. M., Furon D., (1982): Toxicicologie et hygien industrielles. Les derives minéraux, 2e partie. Paris. Technique et documentation, tome ii.

Haje Ammar A., Zagrouba F., Romdhane., Abderrabba M., (2009) : extraction de l'huile essentielle de myrte (myrtus communis l.) provenant de la Tunisie par hydro distillation .international symposium on médicinal and aromatic plants.

Halliwell B., **(1994):** Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause and consequence. *Lancet.,* **344**: 721–724.

Heilmeyer., (1986): Disturbances in heme synthesis.cethomas spinglied.Hill M.J.,1997 :cereals, cereal fiber and colorectal cancer risk : a review of the epidemiological literature .Eur J cancer prev., 219-25 .

Helmy M. A., Elnaga N. I & Hela S. M., (2000): Effect of administration of milk and kareish cheese on hematological values and histopathological changes in liver and brains of rat treated with lead. *Alexandria J. Agril. Res*., **45**(2): 103-115.

Hohmann J., Zupko I., Redei D., Csanyi M., Falkay G., Mathe I., Janicsak G., (1999): Protective effects of the aerial parts of Salvia officinalis, Melissa officinalis and Lavandula angustifolia and their constituents against enzyme-dependent and enzyme-independent lipid peroxydation. Planta Med., **65**: 576-578.

Http://www.eaudemelisse.com.

Http://www.herbierimages.be

Http://www.hydrologie.org/MISC/geog/monde.gif.

IARC., (1980): Monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans. Somes métal and metallic compound. Lyon, Centre international de recherche sur le cancer., **23**: 325-415.

INESIS., (2003): institut national de l'environnement industriel et des risques. Plomb, et ses dérivés., 04-10.

INRS., (1998): Institut National de Recherche et de sécurité .plomb et composés minéraux .Fiche toxicologique., **59**: 01-05.

Inserm., (1999) : Institut National de la santé et de la recherche Médicale. Plomb, d'années biologiques et cliniques., 07-168.

Institut de vieille Sam taire., (2005): guide d'investigation environnementale des cas de saturnisme de l'enfant .Autour des sources industrielles de plomb .Tome1., p : 15-19.

Institut de vieille sanitaire., (2002): dépistage du saturnisme infantile., 15-19.

Ito Y., Niiya Y., Otani M., Sarai S., Shima S., (1987): Effect of food intake on blood lead concentration in workers occupationally exposed to lead. Toxicol let., **37**:105-144.

Jones D. P., Kagan V. E., Aust S. D., Reed D. J., Omaye S. T (1995): Impact of nutrients on cellular lipid per oxidation and antioxidant defense system. *Fund Appl Toxicol.,* **26**: 1–7.

Judpentienë A & Mockutë D., (2004): Chemical composition of essential oils of *Artemisia absinthium* L. (wormwood) growing wild in Vilnius. *CHEMIJA.*, **15** (*4*): 64–68.

Kahloula K., (2010) : Effets des l'exposition chronique au plomb pendant la période de la gestation et lactation neurocomportementales chez les jeunes rats wistar-Impact sur les récepteurs glutaminergiques.

Kamensky., Duc M., Klein M., (1994) : intoxication par le plomb et ses sels .Edition Tech .Encycl. .Med .chie .paris-France. Toxicologie pathologie professionnelle. **16** (7) :1-10.

Karri S. K., Saper R. B., Kates S. N., (2008) : Encéphalopathie plomb raison de médecines traditionnelles .L'innocuité des médicaments actuelle **3**(1): 549 dois :10.2174\157488608783333907-Pmc 2538609-Pmid 18690981.

Kasprzak K. S., Hoover K. L., Poirier L. A., (1985): Effects of dietary cakium acetate on lead sub acetate carcinogenicity in kidneys of male Sprague –Dawley rats. Carcinogenesis., **6**(2) : 279-282.

Kharoubi O., (2008) : Effet prophylactique de l'extrait aqueux d'Absinthium Artémisia L. sur le pouvoir pro oxydant du plomb chez le rat Wistar en croissance. Thèse de doctorat en biochimie appliquée. *Univ* d'Oran.

Kharoubi O., Slimani M., Aoues A., Seddik L., (2008): Prophylactic effects of wormwood on lipid per oxidation in an animal model of lead intoxication.*indian neohrology*.

Klassen C. D., (2001): Casarett and Doll's Toxicology: The basic Science of poisons. 6 th edn. *McGraw-Hill Medical publishing division.,* p. 812-841.

Koch-heitzmann I., Schultze W., (1988): Jahre Melissa officinalis. Von derBienenpflanze zum Virustatikum. Z. fur Phytother., **9**: 77-85.

Koytchev R., Alken R. G., Dundarov S., (1999): Balm mint extract (Lo-701) for topical treatment of recurring herpes labialis. Phytomedicine., **6** (4): 225-30.

Lamaison J. L., Petitjean-Freytet C., Carnat A., (1990): Rosmarinic acid, total hydroxycinnamic derivatives and antioxidant activity of Apiaceae, Borraginaceae and Lamiceae medicinal, Ann Pham Fr., **48**(2) :103-8.

Lamaison J. L., Petitjean-Freytet C., Carnat A., (1991): Medicinal Lamiaceae with antioxidant properties, a potential source of rosmarinic acid, Pharm Acta Helv., **66**(7): 185-8.

Landrans M., (1994): "le saturnisme infantile" change sante sociale., **74**:23-28.

Landrans M., Kuenel P., Jouan M., (1989): Evaluation des risques sanitaires lies a la population émise par une fonderie de métaux non ferreux a bourg-fidel, bilan des données disponibles et propositions, Saint-Maurice, mst., P20 et annexes.

Landrigan P. J., Buffeta P & Apostoli P., (2000): « The Reproductive Toxicity and Carcinogenicity of Lead: A Critical Review », dans *American Journal of Industrial Medicine*, September., **38**(3): 231- 243.

Laurewys R. R (1983): Biological monitoring of exposure to inorganic and organ metallic substances. Lead industrial chemical exposure guidelines for biological monitoring Davis, biomedical publ., p: 27-38.

Lauwerys R. R., (1990) : Toxicologie industrielle et intoxication professionnelles, 3éme édition. Masson p **198-228**.

Lessler M. A., (1988): Lead and lead poisoning from antiquity to modern times. Othio J Sci., levels and exfoliatedtoothdentin lead levels: models of tooth lead kinetics. Cacif tisse Int 3: 78-84.

Liu J., (1995): Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid - J Ethnopharmacol., **49**: 57-68.

Majhenic L., Kerget M. S & Knez (2007): Antioxidant and Antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food chemistry. **104**: 1258-1268.

Malcom D., (1970): The effects of lead on the kidney, trans soc occup med., **2**(2): 50.

Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L., (2004): Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.*, **79**: 727-47.

Mantle D., Pickering A. T., Perry E. K., (2000): Medicinal plant extracts for the treatments of dementia. A review of their pharmacology, efficacy and tolerability. CNS Drugs., **13**: 201-213.

Marcovac J & Goldstein G. W., (1988): Lead activates protein kinase c in immature rats brain microvessels.Txicol appl pharmacol., **96**(1): 14-23.

Marcovac J & Goldstein G. W., (1988): picomolar concentration of lead stimulate brain protein kinase c nature., **334**(6177): 71-73.

Martoja R & Martaja-pierson M., (1967): Initiation aux techniques de l'histologie animale. Marson et cie. France, P:3345.

Meyer S., Reebc & Bosde Veix R., (2008) : Botanique : Biologie et physiologie végétales – 2éme édition – paris : Editions Maloine., 490 p.

Milosevic N., Maier P., (2000): lead stimulates intercellular signalling between hepatocytes and kupffer cells. Eur J pharmacol., **401**:317-28.

Murphy M. J., Graziano J. H., Popovac D., Kline J. K., Mehmeti A., Factor-litvak P., Ahmedi G., Shroud P., Rajovic B & Nenezic D. U., (1990) : past pregnancy outcomes among women living in the vicinity of a lead smelter in Kosovo, yugoslavia. am j public health., **80**(1): 33-35.

Needleman H. L., Riess J. A., tobin M. J., Biesecker G. E., greenhouse J. B., (1996): Bone lead levels and delinqueut behavior. JAMA **275**: 3639.

Observatoire régional de la santé Rhône-Alpes., (2007): le plomb –Tableau de bord santé –environnement, région Rhône-Alpes., 02-04.

OMS., (1999) : WHO mono graphs on selected médicinal plants – Volume 2 – Genève: organisation Mandiale de la santé (OMS) : 357 P.

Onawunmi G. O., (1989): Evaluation of the antimicrobial activity of citral. Lett. Apple. Microbial., **9** : 105-108.

Osawa T., **(1999):** Protective role of dietary polyphenols in oxidative stress. *Mech Ageing Dev.*, **111**:133-9.

Ouldali O., Aoues A., Medddah B., Slimani M., Nicolas A., Kharoubi O., (2011): Beneficical effects of carrot pectin against lead intoxication in wistar rats. Int J Green Pharm., **5**: 126-130.

Pagliara P., Chionna A., Carla E. C., Caforio S., Dini L., (2003): lead nitrate and gadolinium chloride administration modify hepatocyte cell surfaces. Cell Tissue Res., **312**:41-8.

Passow Z., (1980): Effects of metals in cells sub cellular elements and macromolecules THOMAS. Springled (ILINCIS) 291.

Patra R. C., Swarup D., Dwidedi S. K., (2001): Antioxidant effects of α-tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead-induced oxidative stress of the liver, kidney and brain in rats. *Toxicology.,* **162**: 81-8.

Penchev P. I., (2010) : Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions - Thèse de doctorat : Génie des Procédés et de l'Environnement, Université de Toulouse., 239 p.

Perrot E & Paris R., (1971) : Les plantes médicinales - Tome 2 - France : Presses Universitaires de France., 117 p.

Post ténèbres Lux., (2009) : République et Canton de Genève. Plomb de mesure 2009-2013 sur les substances dangereuses dans l'environnement bâti. p: 18.

Ribeiro M. A., Bernardo-Gil G & Esquıvel M. M., (2001): Melissa officinalis, L.: Study of antioxidant activity in supercritical résiduels, Journal of Supercritical Fluids, **21**: 51-60.

Rozzi N. L., Phippen W., Simon J. E., (2002): Singh, Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil Components from Lemon-Scented Botanicals, Lebensm.-Wiss. U.-Technol., **35**: 319-324.

Sadraei H., Ghannadi A & Malekshahi k., (2003): Relaxant effect of essential oil of Melissa officinalis and citral on rat ileum contractions, Fitoterapia., **74** (5) :445-452. .

Sallmen M., Attila A., Lind ohm M. L., kyyronen P., Taskinen H., Hemminki k., (1995): Time to pregnancy among women occupationally exposed to lead. J occupe environ méd., **37** (8): 931-934.

Sandhir R., Gill K. D., (1995): Effect of lead on lipid per oxidation in liver of rats. Boil Trace Elem .Res., **48**: 91-7.

Sari A. O & Ceylan A., (2002): yield characteristics and Essential Oil composition of lemon Balm (Melissa officinalis L.) Grown in the Aegean Region of Turkey – Turk J Agric For., **26**: 217- 224.

Saxena G., Flora S. J., (2004): Lead-induced oxidative stress and hematological alterations and their response to combined administration of calcium disodium EDTA with a thiol chelator in rats. J Biochem Mol Toxicol., **18**(4): 221–233.

Schultze W., König W. A., Hilkert A., Richter R., (1995): Melissenöle. Dtsch. Apoth. Z., **135**: 557-577.

Sieg D. J & Billings R. E., (1997): lead cytokine-mediated oxidative DNA damage in cultred mouse hepatocytes. Toxicol Appl pharmacal., **142**: 106-15.

Smith D. M., Mielke H. W., Heneghan J. B., (2008): Subchronic lead feeding study in male rats *.Arch Envion Contam Toxicol* .

Sposito G., Lund L. J., change A. C., (1982): Trace metalhemistry in arid-zone fieldsoilsamendedwithsewagesludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Cd and Pd in solid phases, soil science society of America Journal., **46**: 260-264.

Steen land K & Boffetta P., (2000): « Lead and Cancer in Humans: Where are we now? », *American Journal of Industrial Medicine.*, **38**: 295-299.

Stipe., (2006): République et contons de Genève département du territoire. Service cantonal de toxicologie industrielle et de protection contre les pollutions intérieures. Le plomb dans les peintures, Etat de la situation dans les habitations Genevoise., p : 04.

Stokiger H. E., (1981): The metals patsy's industrial hygiene and toxicology john Wiley sons, 3^{e}éd. New York, II., p-1687-1728.

Suradkr S. G., Ghodasara D. J., Priti V., Jatin P ., Vikas J & Prajapati K. S., (2009) : Haemato-Biochemical Alterations induced by lead acetate toxicity in Wistar Rats, *Veterinary World*, Vol., **2**(11):429-431.

Testud F., (1998): pathologie en toxique en milieu de travail eska la cassa gue, 2éme partie le plomb, thtluim, vanadium, zinc ; 169-178.

Thoby C., (2009) : la mélisse officinale, Melissa officinales L. Thèse d'exercice : pharmacie, université de Nantes., n°18-136p.

Thompson J. A., 1971., Balance between intake and output of lead in normal individuals. Br J Ind Med., **28**:189-194.

Vyskocil A., Viau C & Brodeu J. R., (1992) : Recherche, validation et mesure de certains indicateurs pouvant permettre l'amélioration du projet de règlement pour le retrait préventif des travailleurs exposés au plomb», Rapport présenté à la commission de la santé et de la sécurité du travail(CSST) et déposé le 2 septembre.

Wichtl M & Anton R., (2003) : Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique - 2éme édition - Paris : Editions Tec&Doc., 691 p.

Wobling R. H., Leonhardt K., (1994): Local therapy of herpes simplex with dried extract from Melissa officinalis. Phytomedicine., **1**: 25–31.

Wuyts D., (1993): Melissa officinalis, mélisse citronnelle. Asclepios, **2**(93): 41-44.

Xie L., Gao Q., XU H., (2003): Ameliorative effect of L-methionine on Pb-exposed mice. *Biol Trace Elem Res*., **93**: 227-36.

Xing k., You K., Yin D., Yuan Z & Mao L., (2009): A simple and efficient approach for synthesis of pseudo ionone from citral and acetone catalyzed by powder LiOH-H2O, Catalysis Communications., **11**:236-239.

Yamasaki K., Nakano M., Kawahata T., Mori H., Otake T., Ueba N., Oishi I., Inami R., Yamane M., Nakamura M., Murata H., Nakanishi T. (1998): Anti-HIV-1 activity of herbs in Labiatae. Biol. Pharm. Bull., **21** (8), 829-833.

Zarei A., Changizi Ashtiyani S., Taheri S., Rasekh F., (2014): Comparison between effects of different doses of *Melissa officinalis* and atorvastatin on the activity of liver enzymes in hypercholesterolemia rats Avicenna Journal Phytomedecine., **4**(1): 15-23.

Zelicoff J. T., Li J. H., Hartwig A., Wang X. W., Costa M., Rossman T. G., (1988): Toxicology of lead compounds. Carcinogesis., **9**: 1727-1732.

Ziakova A., Brandsteterova E & Blahova E., (2003): Matrix solid-phase dispersion For The liquid chromatographic determination of phenolic acids in Melissa officinalis, Journal of Chromatography A., **983**: 271-275.

Résumé :

Le plomb étant un élément non essentiel à la vie des cellules eucaryotes, les mécanismes à l'origine de la toxicité du plomb sont multiples et touchent potentiellement toutes les cellules de l'organisme. A cet effet, nous nous sommes intéressés d'évaluer l'influence de l'intoxication subchronique à l'acétate de plomb sur le système hématopoïétique et hépatique, et la capacité préventif de l'extrait de la Mélisse à cet effet.

L'administration de l'acétate de plomb à la dose de 350 mg/l par voie oral, aux jeunes rats Wistars, pendant une durée de 08 semaines, a permis d'observer une baisse significative ($p<0,001$) dans le poids corporel comparé à des rats témoin. Ceci montre que le plomb a un effet anorexigène. Les résultats obtenus montrent des perturbations hématologiques telles que l'anémie évaluée par la diminution significative ($p<0,001$) des taux d'hémoglobine, d'hématocrite et du nombre de globule rouge chez les rats intoxiques par le plomb comparé aux rats témoins. Nos résultats montrent également une hyperleucocytouire expliquée par une réponse immunitaire contre les globules rouge modifié par le plomb. L'exploration de la fonction hépatique a révélé que l'intoxication subchronique à l'acétate de plomb cause une augmentation significative ($p<0,001$) dans l'activité des enzymes connus comme marqueur de fonctionnement hépatique (TGO et TGP) avec une altération de l'architecture structurale très marquée au niveau des hépatocytes. Ces résultats obtenus sont en faveur d'un dysfonctionnement hépatique.

Cependant, l'administration de l'extrait aqueux de *Mélissa officinales* L., riche en composés antioxydant, à une dose de 50 mg/Kg par voie intrapéritoniale simultanément à l'exposition des rats au plomb a permis d'empêché l'apparition des perturbations au niveau des paramètres hématologiques et hépatiques précédentes. Not résultats montrent que la Mélisse est douée d'un pouvoir protecteur des dommages hématologique et hépatique causés par les effets toxique du plomb.

Mots clés : Acétate de plomb, *Mélissa officinalis* L, foie, transaminase (TGP, TGO), paramètres hématologiques, extrait aqueux.

Abstract :

Lead is not an essential element to eukaryotic cells; the mechanisms behind the toxicity of lead are multiple and potentially affect all cells in the body. In this study, we were interested to evaluate the influence of intoxication sub acute of lead acetate to the level of hematopoïetique and hepatic system, and the capacity deterrent of balm extract to this effect.

Administration of lead acetate at the dose of 350 mg / l in drinking water to young rats, for 08 weeks, showed a significant ($p<0,001$) decrease in food intake compared with controls. This shows that lead has an anorexigenic effect. The obtained results show hematological disruptions as anemia valued by the meaningful significant ($p<0,001$) reduction of the rates of hemoglobin, hematocrit and the number of red blood cells in the rats intoxicated compared with controls. Our results also show a hyperleucocytouire explained by an immune answer to the red blood cells modified by lead. The exploration of liver function showed that subchronic exposure to lead causes a significant ($p<0,001$) increase in the activity of enzymes known as markers of liver function (TGO and TGP) with an alteration of the structural architecture of hepatocytes. These results confirmed a dysfunction of this organ.

However, administration of aqueous extract of *Melissa officinalis* L, rich in antioxidant compounds, with intraperitoneal injections at dose of 50mg/Kg in even time that the exhibition of rats to lead, prevented the apparition of disruptions in level of previous hematological and hepatic parameters. Our results show that the balm is gifted of a protective power of the hepatic and hematological damages caused by the toxic effects of lead.

Key words: Lead acetate, *Melissa officinalis* L, liver, transaminase (TGP, TGO), hematological parameter, aqueous extract.

Introduction générale

CHAPITRE I

Plomb

CHAPITRE II

La mélisse (Mélissa officinalis L.)

CHAPITRE III

Matériels et méthodes

CHAPITRE IV

Résultats et Interprétation

Conclusion

et

Perspectives

Références Bibliographiques

Discussion

ملخص:

الرصاص ليس عنصر اساسى لخلايا الكائنات الحية و اليات سميته متعددة و للرصاص تاثيرات على كل خلايا الجسم. لذا قمنا في هذا العمل بدراسة تأثير سمية الرصاص على نظام الدم و الكبد, و القدرة الوقائية لمستخلص نبات Mélisse من هذا التأثير.

إن تناول الرصاص بجرعة تساوي 350مغ/لترمن طرف صغار الجرذان لمدة 8 أسابيع اظهرت انخفاض كبير (P<0,001)في وزن الجسم مقارنة بالجرذان الشاهدة. هذه النتيجة تشير الى ان الرصاص يؤثر على بعض الانظمة العصبية التي تساعد على المراقبة مما يؤدي الى الاحساس بالشبع .

النتائج المتحصل عليها اظهرت وجود خلل في مؤشرات الدم مثل الانيميا متمثلة في انخفاض محسوس (P<0,001) في نسبة الهيموغلوبين و الإمتوكريت و نقص في عدد كريات الدم الحمراء لدى الجرذان المتسممة بالرصاص مقارنة بالجرذان الشاهدة.

كما اظهرت النتائج ايضا ارتفاع في عدد الكريات الدم البيضاء مما يفسر وجود استجابة مناعية ضد الكريات الحمراء المتغيرة بفعل الرصاص .

دراسة الوظيفة الكبدية اظهرت بان التسمم بالرصاص قد أدى الي ارتفاع محسوس في نشاط الانزيمات الخاصة بالوظيفة الكبدية (TGO و TGP) مع حدوث تغيير في البنية النسيجية خاصة على مستوى الخلايا الكبدية. هذه النتائج تعبر عن وجود خلل في الوظيفة الكبدية .

في حين حقن الجرذان بمستخلص نبات *Mélisse officinalis* , الغني بمضادات الأكسدة, بتركيز 50مغ /كغ و المتزامن مع تعرض هذه الجرذان لسمية الرصاص, أدى الي منع ظهور الخلل السابق في معايير الدم و الكبد.

نتائجها اظهرت ان نبات *Mélisse* يتمتع بخاصية وقائية ضد سمية الرصاص على معايير الدم و الكبد .

الكلمات المفتاحية : أستات الرصاص , *Mélisse officinalis* , الكبد, ترنسميناز (TGO و TGP), معايير الدم مستخلص النبات.