

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université « Dr. Tahar Molay » de Saida

FACULTE DES SCIENCES

Département de Biologie

Laboratoire de bio-intoxication, pharmacognosie, valorisation biologiques des plantes



Mémoire Elaboré en vue de l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Biochimie et Physiologie cellulaire

Présenté par

Melle. HAMIDI FATIHA

Melle. LABANI NAIMA

Sous le thème intitulé

**Contribution à l'étude de l'effet de l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* L.
chez les jeunes rats wistar intoxiqués au nickel : Evaluation de l'activité
hépatique**

Soutenu le:28/06 /2016

Devant la commission du jury, composée par :

Président :Mr AMMAM .K

Examinatrice :Mme Alioui.L

Encadreur :Mme Dahani.M

« M.A.A »Université de Saida.

« M.A.A »Université de Saida.

« M.A.A » Université de Saida.

Année universitaire : 2015-2016

Remerciements :

Nos remerciements vont tout d'abord à **DIEU** le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donné pour terminer ce modeste travail.

On souhaite tout d'abord remercier notre encadreur Madame **Dahani. M** pour avoir bien accepté de diriger notre travail, pour son orientation, pour la confiance qu'elle nous a donné.

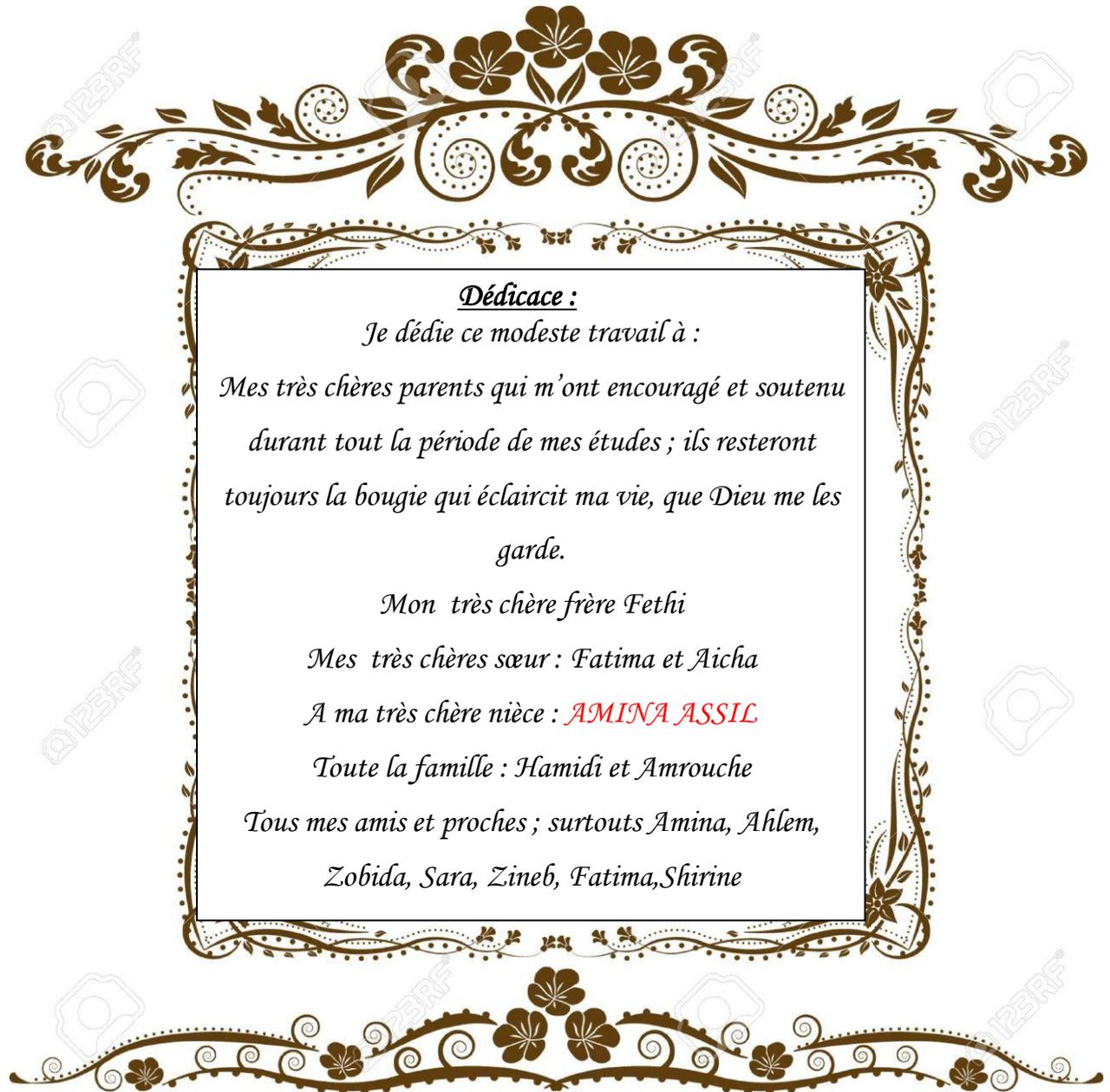
Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury :

A Monsieur **AMMAM. K** le président du jury qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de mémoire.

A Madame **AIIOUI. L** pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail et d'avoir accepté de le juger.

Nous exprimons nos remerciements les plus profondes encore une fois à **Mr AMMAM** pour son aide précieuse dans l'expérimentation animale et au moment des prélèvements.

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 Saïda.



Dédicace :

Je dédie ce modeste travail à :

*Mes très chères parents qui m'ont encouragé et soutenu
durant tout la période de mes études ; ils resteront
toujours la bougie qui éclaire ma vie, que Dieu me les
garde.*

Mon très chère frère Fethi

Mes très chères sœur : Fatima et Aicha

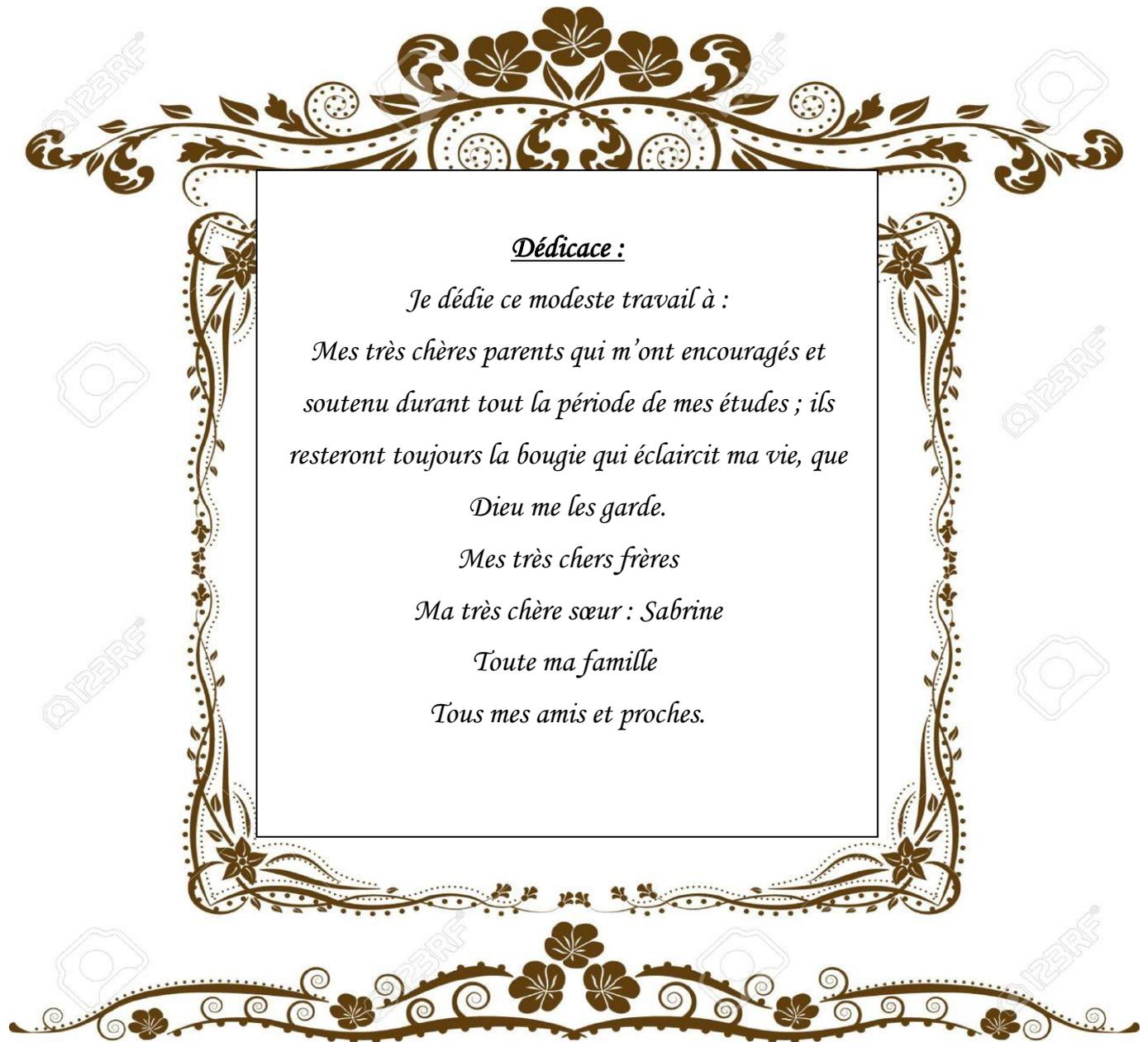
*A ma très chère nièce : **AMINA ASSIL***

Toute la famille : Hamidi et Amrouche

Tous mes amis et proches ; surtout Amina, Ahlem,

Zobida, Sara, Zineb, Fatima, Shirine

HAMIDI Fatiha



LABANI Naima

Résumé :

Le Nickel est un métal lourd considéré comme un agent toxique, les mécanismes à l'origine de la toxicité du Nickel 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 au chlorure de nickel a raison de 0,2% sur le système hématopoïétique et hépatique d'une part, et d'explorer la capacité préventive de l'extrait aqueux de la Mélisse d'autre part.

L'exposition subchronique au chlorure de Nickel a permis d'enregistrer une baisse significative ($*p<0.05$) du poids corporel, ce qui prouve que le Ni a un effet anorexigène. Cependant l'administration de l'extrait aqueux de la mélisse aux doses de 25mg/kg et 50mg/kg chez ces rats a permis de conserver un poids corporel normal.

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 intoxiqués par ce métal lourd comparés aux rats témoins. Nos résultats montrent également une augmentation hautement significative ($***p<0,001$) du nombre des leucocytes. Cette hyperleucocytose est expliquée par l'effet stimulateur du Nickel sur le système immunitaire. L'exploration de la fonction hépatique a révélé que l'intoxication subchronique au nickel provoque une augmentation significative ($***p<0,001$) dans l'activité des enzymes connus comme marqueurs du fonctionnement hépatique (AST et ALAT) avec une baisse significative ($***p<0,001$) du poids relatif du foie.

Cependant, l'administration de l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* L à des doses 25 et 50 mg/Kg par voie (ip) concomitante aux rats intoxiqués par le chlorure de nickel a permis d'empêcher l'apparition des perturbations des paramètres hématologiques et hépatiques observés précédemment. Nos résultats montrent également que la Mélisse est dotée d'un pouvoir protecteur contre les dommages hématologique et hépatique causés par les effets toxique du nickel.

Mots clés : Chlorure de nickel, *Melissa officinalis*, Extrait aqueux, Rats Wistar, Foie, Transaminases AST et ALAT. Paramètres hématologiques.

Abstract :

Nickel is a heavy metal considered a toxic agent, the mechanisms underlying the toxicity of Nickel are multiple and potentially affect all body cells. To this end, we were interested to assess the influence of the sub-chronic poisoning of nickel chloride of 0.2% on the hematopoietic system and liver first, and explore the preventive capacity of aqueous extract of Lemon balm other.

The sub-chronic exposure to nickel chloride allowed to record a significant decrease (* $p < 0.05$) in body weight, which proves that Ni has an anorectic effect. However, administration of the aqueous extract of melissa at doses of 25mg / kg and 50mg / kg in these rats allowed to maintain a normal body weight.

The results show haematological disturbances such as anemia evaluated by the significant (***) $p < 0,001$) of hemoglobin, hematocrit and the number of red blood cells in rats intoxicated by this heavy metal compared to control rats. Our results also show a highly significant (***) $p < 0,001$) the number of leukocytes. This leukocytosis is explained by the stimulatory effect of nickel on the immune system. Exploration of liver function revealed that sub-chronic poisoning nickel causes a significant increase (***) $p < 0,001$) in the activity of enzymes known as markers of liver function (ALT and AST) with a significant (***) $p < 0,001$) the relative liver weight.

However, administration of *Melissa officinalis* L aqueous extract at doses 25 and 50 mg / kg per route (ip) with concomitant rats intoxicated by nickel chloride has prevented the occurrence of haematological disturbances and liver observed previously. Our results also show that Melissa has a protective power against the haematological and liver damage caused by toxic effects of nickel.

Keywords: Nickel chloride, *Melissa officinalis*, Aqueous extract, Wistar Rats, Liver, transaminases AST and ALT. haematological parameters.

النيكل هو معدن ثقيل يعتبر عنصر سام, و الاليات الكامنة وراء سميته متعددة من المحتمل ان تؤثر على جميع خلايا الجسم. لهذا الغرض نحن مهتمون بتقييم تأثير التسمم الشبه المزمن من كلوريد النيكل بنسبة 0,2% على نظام الدم و الكبد من جهة و معرفة القدرات الوقائية لمستخلص نبات الترناجان من جهة اخرى.

التعرض الشبه المزمن لكلوريد النيكل يسمح بتسجيل انخفاض ملحوظ ($p < 0,05$) في وزن الجسم. هذا ما يثبت ان لنيكل تأثير على بعض الأنظمة العصبية التي تساعد على المراقبة مما يؤدي الى الاحساس بالشبع.

و مع ذلك تناول المستخلص المائي لترناجان بجرعات 25مغ/كغ و 50مغ/كغ عند هؤلاء الفئران يسمح للحفاظ على الوزن الطبيعي للجسم.

أظهرت النتائج المتحصل عليها اضطرابات في الدم مثل فقر الدم متمثلة في انخفاض محسوس ($P < 0,001$).

الهيملتوكجيت و عدد خلايا الدم الحمراء عند الفئران المسممة بهذا المعدن الثقيل مقارنة مع الفئران الشاهدة .

نتائجنا تظهر ايضا ارتفاع في عدد كريات الدم البيضاء ($p < 0,001$) مما يفسر

وجود استجابة مناعية .

أظهرت دراسة الوظيفة الكبدية بان التسمم بالنيكل قد أدى الى ارتفاع ($P < 0,001$) في نشاط الانزيمات الخاصة

بالوظيفة الكبدية AST و ALAT مع تزامن في انخفاض ($p < 0.001$) في الوزن النسبي للكبد.

غير أن تناول المستخلص المائي لترناجان بجرعات 25مغ/كغ و 50مغ/كغ عبر الحقن داخل الصفاق بالتزامن مع فئران

مسممة بكلوريد النيكل يمنع من ظهور اضطرابات في مؤشرات الدم و الكبد .

تظهر نتائجنا كذلك أن الترناجان لديها خاصية وقائية ضد تلف مكونات الدم والكبد الناتجة عن التأثيرات السامة للنيكل

الكلمات المفتاحية : كلوريد النيكل , الترناجان , المستخلص المائي , فئران وستار, الكبد , ترنزميناز ALA و T

AST, مؤشرات الدم .

SOMMAIRE :

Résumé
Abstract
الملخص
Liste des figures
Liste des tableaux
Liste des abréviations
Introduction

CHAPITRE I : Le Nickel

I-1Définition.....03
I-2 Historique et l'origine.....03
I-3 Les sources d'exposition de Nickel.....03
I-4 Propreités physico-chimique.....04
I-4-1Propreités physique..... 04
I-4-2 Propreités chimique..... 05
I-5 Métabolisme05
I-5-1Absorbtion06
I-5-2 Distribution.....07
I-5-3 Excrétion et élimination.....07
I-6 La Toxicité du Nickel.....07
I-6-1 Toxicité aigue07
I-6-2 Toxicité subchronique, chronique.....07
I-7 Les effets du Nickel sur l'organisme08
I-7-1 Effets du Nickel sur les fonctions Hépatique08
I-7-2 Effets du Nickel sur les reins08
I-7-3 Effets du Nickel sur le système immunitaire.....09
I-7-4 Effets du Nickel sur l'appareil respiratoire10
I-7-5 Effets du Nickel sur la reproduction10
I-7-5-1 Effets du Nickel sur la reproduction chez le male.....10
I-7-5-2 Effets du Nickel sur la reproduction chez la femelle.....11
I-7-6 Effets génotoxiques11
I-7-7 Effets cancérigènes.....12
I-7-8 Effets sur l'environnement12

CHAPITRE II : *La Mélissa officinalis L.*

II-1 Classification.....13
II-2 Description botanique.....13
II-3 Habitat.....14
II-4 propreités thérapeutiques de la *Mélissa officinalis L.*14
II-4-1-1Antalgiques dans les douleurs d'origines digestives.....14

II-4-1-2 Effets antispasmodique.....	15
II-4-2 Effets sur le système nerveux central.....	15
II-4-2-1 Effets anxiolytique.....	15
II-4-2-2 Effets antidépresseur.....	15
II-4-2-3 Effets sédatif et inducteur.....	16
II-4-3 Antioxydant.....	16
II-4-4 Virucides.....	16
II-4-4-1 Activité de la Mélissa officinalis L. sur le VIH.....	16
II-4-4-2 Activité de la Mélissa officinalis L. sur l'HSV.....	16
II-5 Composition chimique de la Mélissa officinalis L.	17
II-5-a Acide phénolique.....	17
II-5-b Dérivés de l'acide benzoïques.....	17
II-5-c- Dérivés de l'acide cinnamique.....	17
II-5-d- Acide carnosique.....	18
II-5-e- Flavonoïde.....	18
II-5-f- Autres.....	18
MATERIEL ET METHODES :	
Objectif.....	19
1- Animaux d'expérimentations.....	19
1-1 Répartition des lots.....	19
2- Préparation du matériel végétal	21
2-1 Extraction des résidus de plante.....	21
2-2 Calcul du rendement.....	21
2-3 Préparation de la solution injectable.....	22
3- Evolution du poids corporel et le poids relatif des organes.....	22
4- Sacrifice et récolte du sang.....	22
5- Détermination des paramètres hématologiques.....	22
6- Etudes biochimiques.....	22
6-1 Evaluation de l'activité hépatique.....	23
6-1-1 Dosages des transaminases AST et ALAT.....	23
7 Expression et analyse statistique des résultats.....	25
Résultats et interprétation	
1- Résultats de l'extraction.....	26
1-1 Calcul de rendement.....	26
2- L'effets du chlorure de Nickel et l'extrait aqueux de la Mélisse sur la croissance pondérale et le poids relatif du foie.....	26
3- Effets du chlorure de Nickel et l'extrait aqueux de la Mélisse sur les paramètres sanguins	27
3-1 Effet sur le taux d'hématocrites.....	27
3-2 Effet sur le taux d'hémoglobine.....	28
3-3 Effet sur le nombre des globules rouges	28

3-4 Effet sur le nombre des globules blancs.....	29
4 -Effets de chlorure de Nickel et l'extrait aqueux de la Mélisse sur les paramètres biochimiques du foie.....	30
4-1 AST.....	30
4-2 ALAT.....	30
Discussion	33
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	35
Références bibliographiques	37

Liste des tableaux :

Tableaux	Titres	Pages
Tableau 01	Propriétés physique du Nickel	04
Tableau 02	Classification phylogénétique de la Mélisse	13
Tableau 03	Évolution du poids corporel moyen en grammes des4 lots.	28

Liste des figures :

Figures	Titres	pages
Fig.01	Les voies de pénétration de Nickel dans l'organisme	06
Fig.02	Les feuilles et fleurs de la Mélisse	14
Fig.03	Les compositions chimiques de la Mélisse	18
Fig.04	Schéma simplifié le protocole expérimental	20
Fig.05	Préparation l'extrait aqueux de la Mélisse par infusion	21
Fig.06	spectrophotométrie pour lecture la densité optique du AST et ALAL	24
Fig.07	Le rendement de la plante Mélisse	26
Fig.08	Effets du chlorure de nickel et l'extrait aqueux de la Mélisse sur le taux d'hématocrites	27
Fig.09	Effets du chlorure de nickel et l'extrait aqueux de la Mélisse sur le taux d'hémoglobine	28
Fig.10	Effet du nickel et l'extrait aqueux de la Melissa sur le nombre des globules rouge	29
Fig.11	Effet du nickel et l'extrait aqueux de la Melissa sur le nombre des globules blancs	30
Fig.12	Effets du chlorure de nickel et de la Mélisse sur la fonction hépatique : paramètre plasmatique AST	31
Fig.13	Effets du chlorure de nickel et de la Mélisse sur la fonction hépatique : paramètre plasmatique ALAT	31

Liste des abréviations :

- 5-HT** : 5-hydrox tryptamine, appelée sérotonine
- ABA** : Acide Gamma-AminoButyrique
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- ALAT** : Alanine aminotransférase
- APG** : Angiosperm Phylogeny Group = groupe phylogénétique des Angiospermes
- AST** : Aspartate aminotransférase
- ATPase** : Adénosine triphosphatases
- AVC** : Accident Vasculaire Cérébral
- BoNi** :Borure de nickel
- CI50** : Concentration Inhibitrice 50*
- CL50** : Concentration létale médiane
- DO** : Densité Optique
- DPPH** :1,1-DiPhényl-2-PicrylHydrazyle
- EDTA** : Ethylène Diamine Tétra Acétique
- EFSA** : European Food Safety Authority = Autorité Européenne de sécurité alimentaire
- F.D .M** :
- FSH** : Hormone Folliculo-Stimulante
- GABA-T** : GABA transaminase
- GB** : Globules blanc
- GR** : Globules rouge
- HB** : Hémoglobine
- HCT** : Hématocrites
- HEp-2** : Human epithelial type 2HEp-2 : Human epithelial type 2
- Hsp 72** : Hot choc protein 72
- HSV** : Herpes simplex virus
- IgA** : Immunoglobulines de type A
- IgE** : Immunoglobulines de type E
- IgG** : Immunoglobulines de type G
- IgM** : Immunoglobulines de type M
- IP** : Intrapéritoniale
- KOH** : Hydroxyde de potassium
- LOAEL** : Lowest-Observed -Advers -Efect Level

Liste des abréviations :

LH	: Hormone lutéinisante)
MDA	: Malondialdéhyde
Mg²⁺	: ion de magnésium
MT	: Métallothionéines
NAG	:N-acetyl- -D-glucosaminidase
Ni	: Nickel
NiCl₂	: Chlorure de Nickel 2
Ni(CO)₄	:Tétracarbonyle de nickel
NIMO	:
NiO	: Oxyde de nickel(II)
NK	: Natural killer
PC12	: Phéochromocytomes cells 12
ROS	: Reactive Oxygen Species = dérivés réactifs de l'oxygène
SOD	: Superoxide dismutase
VIH	: Virus de l'Immunodéficience Humaine

Unités :

°C	: Degré Celsius
g	: Gramme
g/l	: Gramme / litre
h	: Heure
kg	: Kilogramme
l	: Litre
mg	: Milligramme
mg/l	: Milligramme / litre
ml	: Millilitre
min	: Minute
nm	: Nanomètre
U/l	: Unité internationale / litre
µg	: Microgramme
sem	: semaine
ΔDO	: la différence de densité optique

Introduction

Introduction

Des études toxicologiques ont mis en évidence que l'ensemble des systèmes physiologiques (respiratoire, digestif, vasculaire, hématopoïétique, immunitaire, reproducteur et nerveux) pouvait alors être concerné par les effets toxiques des métaux lourds tel le Nickel, le plomb et d'autres éléments. De plus, l'intensité et l'ampleur des effets de ces métaux sur la santé dépendent, comme tout toxique, de la voie de contamination, de la quantité reçue, de la répétition de l'intoxication et de la nature chimique du contaminant. **(Sabbar 2013)**.

La présence du nickel dans l'environnement résulte, pour plus de 84 % des émissions, de son utilisation dans la production d'acier et divers alliages, dans les batteries, les circuits électriques. Outre les gisements, le nickel existe également naturellement dans l'environnement. **(INERIS, 2005b)**

Le nickel est un polluant environnemental potentiellement carcinogène. il est utilisé plus ou moins dans les industries, il a de ce fait, des impacts néfastes sur les végétaux, les produit de consommations courantes et notamment sur la santé animale et humaine. L'exposition au nickel peut provoquer des effets toxiques sur de nombreux tissus en l'occurrence les reins, le foie, les poumons, le cerveau, l'hématopoïèse, et sur la reproduction.

Dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité. Aujourd'hui, le savoir des tradipraticiens est de moins en moins transmis et tend à disparaître. C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et valider les usages. La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethnopharmacologiques. Cette approche permet de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'augmenter significativement le nombre de découvertes de nouveaux actifs (**Gurib-Fakim A. (2006)**

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique **(Majinda et al., 2001)**. De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle. Cependant, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles.

Introduction

Dans le cadre de nos travaux relatifs aux plantes aromatiques et médicinales, nous nous sommes intéressés à l'exploration de l'effet de la plante Mélisse officinalis L. vis à vis l'intoxication chronique au chlorure de nickel chez les jeunes rats Wistar.

L'objectif de cette étude est d'évaluer expérimentalement les conséquences toxicologiques de l'exposition à une eau potable contaminée par le chlorure de nickel et d'étudier la potentialité de la Mélisse à réduire l'effet de l'hépatotoxicité.

Pour cela, des paramètres : physiologique, biochimiques et hématologiques, ont été mesurés.

Chapitre I

LE NICKEL

Chapitre I : Le Nickel

I-1- Définition :

Le Ni est le cinquième élément le plus abondant en poids après le fer, l'oxygène, le magnésium et le silicium et est le 24^e élément le plus abondant dans la croûte terrestre. Il est présent de façon naturelle dans les roches ignées ainsi que dans les combustibles fossiles (CNRC, 1982; WHO, 1991). Ce métal est utilisé dans plusieurs secteurs industriels incluant la production d'alliages et la fabrication de piles (CNRC, 1982).

--Nickel est une substance que l'on trouve dans le milieu naturel, essentiellement dans les minerais sulfurés se trouve en surface (Duke 1980a).

Le nickel est un élément de trace utilisé dans l'organisme comme cofacteur ou effecteur enzymatique (EMC2007).

I-2- Historique et l'origine :

Le chimiste suédois **Alex Cronstedt** a été le premier à isoler le nickel en **1721**, le nickel est connue de l'homme depuis des millénaires. Les hommes préhistoriques se servaient déjà du nickel contenu dans les météorites pour réaliser des objets usuels. Avant le début de notre ère, il entraînait dans la fabrication de pièces de monnaie sous la forme de cupronickel.

Le mot de nickel vient de l'allemand. Il se décompose en fait en deux termes : nickel qui se rapporte directement au métal et Kupfer dont la traduction littérale est : " petit nain de légende ". Le nickel a reçu cette dénomination des mineurs saxons qui le découvrirent. Il fut dans le même temps, qualifié de cuivre du diable car ces mineurs ne parvinrent pas à le traiter, le confondant avec l'oxyde de cuivre qui lui ressemble beaucoup.

I-3- les sources d'exposition du nickel :

Le nickel est une substance que l'on retrouve dans le milieu naturel, essentiellement dans les minerais sulfurés extraits des sous-sols et dans les minéraux silicatés se trouvant en surface. La croûte terrestre contient environ 0,009 % de nickel dans les minerais sulfurés, arséniurés, antimoniurés, oxydés et silicatés. De plus, le nickel est présent dans l'air, dans les particules en suspension, après avoir été rejeté par des activités humaines ou des phénomènes naturels, comme les éruptions volcaniques, les incendies de forêts et les météorites provenant de la haute atmosphère (Duke, 1980a).

- L'eau et les aliments sont les principales sources d'exposition environnementale de la population canadienne au nickel. (Gouvernement de l'Ontario, 2001).

- La quasi-totalité des sources d'approvisionnement en eau du Canada et des aliments vendus au Canada contiennent une faible quantité de nickel. Le chocolat, le soja, les noix et le gruau

Chapitre I : Le Nickel

contiennent naturellement des concentrations élevées de nickel. (**Gouvernement de l'Ontario, 2001**).

- La population peut aussi être exposée au nickel en inhalant des de nickel ou en étant en contact avec des objets contenant du nickel, tels que des bijoux. (**Gouvernement de l'Ontario, 2001**).

- Le nickel se trouve à l'état naturel dans les sols et les météorites. Il peut être rejeté dans l'atmosphère lors d'éruptions volcaniques, et les poussières qui en contiennent sont transportées par le vent. (**l'ATSDR 2004**).

- Parmi les sources anthropiques de nickel figurent l'exploitation minière, la production d'alliages ou de composés du nickel, la combustion du pétrole et du charbon dans les centrales thermiques et l'incinération des ordures. (**l'ATSDR 2004**).

Le type de composé du nickel qui est libéré dans l'atmosphère dépend de la source d'émission. (**l'ATSDR 2004**).

- Les concentrations de nickel dans les sols varient selon les régions; par exemple, celles qui ont été mesurées dans les sols ontariens peuvent atteindre 43 parties par million. (**Gouvernement de l'Ontario, 2001**).

I-4- caractéristiques physico-chimique :

I-4-1 : propriétés physique :

Tableau 1: Propriétés physiques du Nickel. (D'après l'INRS : Institut national de recherche et de sécurité). **Robert C - CRC Handbook of Chemistry and Physics ; 1988**

Nom substances	Détails	
NICKEL	N° CAS	7440-02-0
	Etat physique	Solide
	Solubilité	Insoluble dans l'eau (1,13 mg/l à 37 °C) et dans les solvants organiques. Se dissout lentement dans les acides forts.
	Masse molaire	58,69
	Point de fusion	1455 °C
	Point d'ébullition	2730 °C
	Densité	8,9
	Pression de vapeur	133 Pa à 1810 °C

Chapitre I : Le Nickel

Le nickel peut se présenter sous la forme massive d'un métal blanc-bleuâtre, brillant, malléable et ductile ou sous la forme d'une poudre grise (nickel chimique). C'est un bon conducteur électrique et thermique, doué de propriétés magnétiques. Il possède aussi la propriété de fixer les gaz et notamment l'hydrogène (**J Wiley Interscience ; 2006**).

I-4-2 : propriétés chimiques :

Le nickel est inaltérable à l'air sec, à la température ordinaire. À l'air humide, il subit une très faible altération superficielle qui le colore en jaune pître.

À température élevée, il prend diverses colorations, comme l'acier, et s'oxyde lentement, en se recouvrant d'oxyde de couleur verdâtre. Le nickel obtenu par réduction de l'oxyde, par l'hydrogène à 240°C, est pyrophorique, et brûle dans l'air à la température ordinaire, mais avec fort peu d'éclat (**H. Moissan, 1896**). Si l'on opère la réduction avec de l'oxyde de carbone à la température de 300°C et qu'on laisse refroidir dans le courant d'oxyde de carbone, on obtient alors une combinaison de nickel et d'oxyde de carbone, le nickel-carbonyle, $Ni(CO)_4$ volatile à 43°C (**Mond, Langer et Quincke, 1896**).

Le nickel est oxydé par l'azotate de potassium fondu au rouge. Il s'unit directement à l'arsenic, au phosphore, au chlore, au brome et à l'iode. Avec le bore il fournit un borure de nickel cristallisé de formule $BoNi$ (**H. Moissan, 1896**).

Le nickel se combine avec l'aluminium, l'antimoine, l'argent, le bismuth, le cobalt, le cuivre, l'étain, le fer, le mercure, l'or, le platine, le palladium, le plomb et le zinc. Le poids atomique du nickel est 58,6.

Le nickel métal est peu réactif car il s'oxyde facilement et l'oxyde le protège de réactions ultérieures. On peut donc s'en servir comme pièce de monnaie d'usage courant. Il est utilisé comme catalyseur de réactions d'hydrogénation (Nickel de Raney). L'ion plus répandu est l'ion Ni^{2+} de couleur verte. Le nickel est l'un des quatre éléments qui sont ferromagnétiques au voisinage de la température ambiante,

I-5 Métabolisme :

Le nickel et ses oxydes sont faiblement absorbés quelle que soit la voie d'administration. Ils sont transportés dans l'organisme via un complexe ternaire albumine-nickel-histidine.

L'élimination du nickel absorbé se réalise majoritairement par les urines. En cas d'ingestion, la plus grande partie du nickel est éliminée par les fèces. (**Pichard A 2006**).

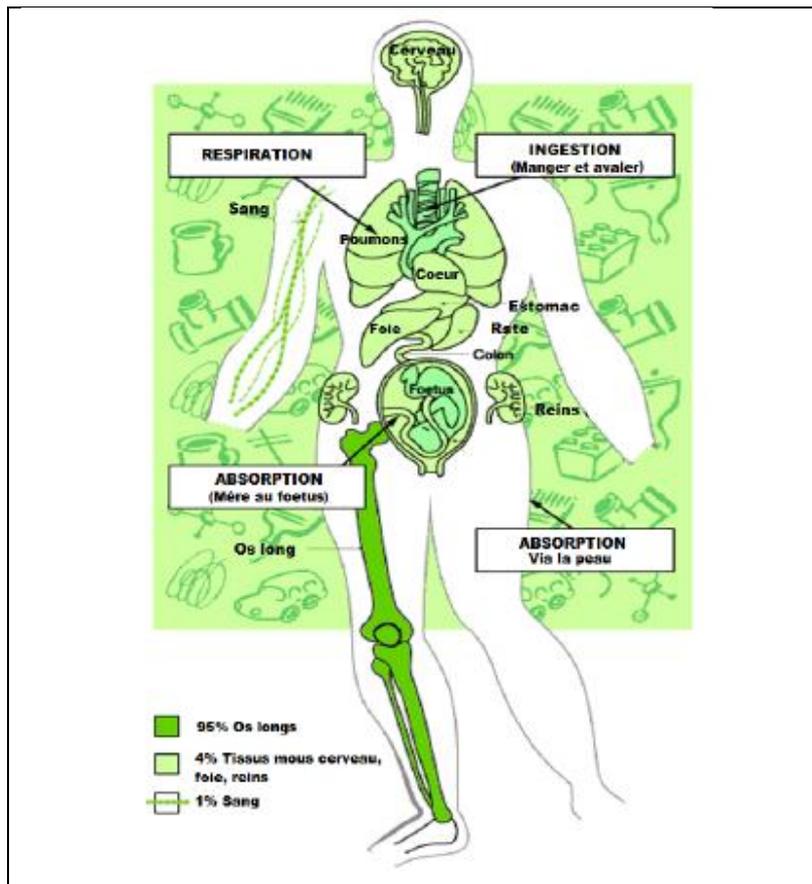


Figure 01 : Les voies de pénétration du Nickel dans l'organisme (Nielsen et al.1993).

I-5-1 Absorption :

La déposition, la rétention et l'absorption pulmonaires des composés du nickel sont régies par les propriétés physicochimiques des particules. Dans le cas du nickel métal, l'absorption respiratoire est faible. Dans le cas des oxydes, peu solubles, l'absorption pulmonaire est limitée et la clairance demande plusieurs semaines, voire plusieurs années (demi-vie de 3,5 ans trouvée chez des travailleurs ayant été exposés à du monoxyde et à du sous-sulfure du nickel et de 120 jours chez le rat exposé au monoxyde de nickel). Même en cas de dépôt pulmonaire de fortes doses de produits insolubles, la concentration de nickel dans le sang reste très faible. Après une exposition respiratoire de monoxyde de nickel, le nickel est excrété uniquement par les fèces indiquant que les macrophages interviennent dans le mécanisme d'élimination pulmonaire, plutôt qu'un phénomène de dissolution/absorption. L'absorption gastro-intestinale est également très faible pour ces composés (de 0,01 à 0,04 % pour le monoxyde de nickel et 0,09 % pour le nickel métal). L'absorption percutanée du nickel est négligeable. Les oxydes ont une absorption percutanée plus faible que les composés

Chapitre I : Le Nickel

hydrosolubles. La sueur peut contribuer à la libération de composés solubles à partir du métal, d'alliages ou de composés insolubles. **(Pichard A 2006).**

I-5-2 Distribution :

Après une exposition par voie orale, la distribution du nickel s'effectue principalement dans les reins, mais il est également retrouvé au niveau du foie, du cœur, des poumons, du tissu adipeux, du système nerveux périphérique et du cerveau. Après une exposition unique respiratoire des rats au monoxyde de nickel, pendant 70 minutes, à une dose de 9,9 mg Ni/m, la fraction inhalée déposée dans le tractus respiratoire est de 13 % avec 8 % déposé dans les voies aériennes hautes et 5 % dans les voies basses. Pendant les 180 jours de post-exposition, le nickel n'est pas détecté dans d'autres tissus. **(Pichard A 2006).**

I-5-3 Excrétion et élimination :

Le nickel absorbé est excrété rapidement dans l'urine (demi-vie d'élimination de 28 ± 9 heures) à des taux très variables et un peu également dans la sueur. Une rétention existe également au niveau des téguments. En cas d'ingestion, la plus grande partie du nickel est éliminée par les fèces (non absorbé). **(Dupas D 2008).**

I-6 La toxicité du nickel :

I-6-1 Toxicité aiguë :

Le nickel et les oxydes de nickel (NiO , NiO_2 et NiO_3) ont une faible toxicité aiguë. Le nickel métal induit une légère irritation cutanée. Ces composés peuvent être à l'origine de sensibilisations cutanées. Le nickel métal et ses oxydes ont une faible toxicité aiguë orale. La DL50 du nickel chez le rat est supérieure à 2000 mg/kg. Les données de toxicité aiguë du nickel par voie orale indiquent que les oxydes de nickel, composés pratiquement insolubles, sont moins toxiques que les formes solubles du nickel. Une CL50 de 10,2 mg/l (concentration nominale) a été déterminée chez le rat exposé à de la poudre de nickel pendant 1 heure. En raison du temps d'élimination du nickel de certains tissus (notamment pulmonaire et rénal), une administration unique peut produire des effets durables. Le nickel métal induit une légère irritation cutanée **(Toxicological Profile for Nickel. ATSDR, August 2005).**

I-6-2 Toxicité sub chronique, chronique :

Les études par voie respiratoire mettent en évidence un effet inflammatoire sur les muqueuses nasales et les bronches. Chez le rat, la dose létale par inhalation pour une exposition répétée au monoxyde de nickel (6 h/j, 5 j/sem pendant 12 jours) est supérieure à 23,6 mg Ni/m. Une réaction inflammatoire interstitielle, une hyperhémie avec évolution possible vers un emphysème ou une fibrose sont des effets qui ont été mis en évidence chez le rat par

Chapitre I : Le Nickel

inhalation d'aérosols de monoxyde de nickel à 0,1 mg/m (soit 0,08 mg Ni/m³), et par instillation intratrachéale. Ces effets sont également décrits chez la souris, le cobaye, le hamster ou le chien. Avec le monoxyde de nickel ou le nickel métal, on note chez ces animaux des effets marqués au niveau des macrophages alvéolaires. La sévérité des effets est dose dépendante.

L'exposition chronique pendant 2 ans de rats et de souris à du monoxyde de nickel, a entraîné des effets respiratoires. Ils incluaient une inflammation pulmonaire, une bronchiolisation et une protéinose pulmonaire alvéolaire (**NIH Publication No 96- 3370**), 1996.

I-7 Les effets du Nickel sur l'organisme:

I-7- 1 Effets du Nickel sur les fonctions hépatiques :

Chez le rat, l'intoxication par le Nickel témoigne d'une dégénérescence des hépatocytes. Ainsi, le sulfate de nickel administré par voie cutanée ou orale provoque chez le rat des effets hépatiques qui se traduisent par un gonflement des hépatocytes, une nécrose focale et une vacuolisation (**Dieter et al. 1988; Novelli., 1998; Pardeep Sidhu., 2004**) accompagnés d'une augmentation de l'activité enzymatique du foie notamment de la Catalase, l'Alanine aminotransférase (ALAT) et l' Aspartate aminotransférase (AST), une augmentation du taux de lipides peroxydases et de la bilirubine (**Sunderman et al., 1988; Pari et Prasath, 2008**). De plus, chez les rats mâles et chez les souris, le sulfate de Nickel administré dans l'eau de boisson provoque une chute du poids du foie (**Obone et al. 1999**), alors que par gavage il ne provoque pas de chute du poids du foie chez les rats. Le hamster traité par le Nickel par voie sous cutanée montre une augmentation de l'ATPase – Mg²⁺, de la phosphatase acide et du Glucose 6-phosphate (**Mathur et cupa., 1994**). Alors qu'une augmentation du poids du foie est observée chez des chiens exposés pendant deux ans au sulfate de Nickel (**Ambros et al.,1976**).

I-7-2 Effets du nickel sur les reins :

L'exposition au Nickel se traduit par le dysfonctionnement de la fonction rénale. Ainsi, l'exposition à de fortes doses de Nickel métallique a provoqué une nécrose des tubules rénaux chez un homme décédé suite à une détresse respiratoire (**Rendall et al., 1994**). De plus, la concentration en Nickel dans l'urine augmente notablement après plusieurs jours d'exposition au Nickel (**Sunderman et al.,1993**). Cette élévation de la teneur en Nickel dans l'urine des travailleurs dans la raffinerie de Nickel est significativement associée à l'augmentation du taux urinaire en 2 – Micro globuline (**Senderman et Horak ., 1993**). Par ailleurs, chez les femmes et les hommes professionnellement exposés au Nickel soluble, il a été noté

Chapitre I : Le Nickel

une augmentation des teneurs urinaires en protéines totales 2-microglobuline, retinol binding protein, de NAG alors que la créatinine semble être plus élevée chez les femmes que chez les hommes hautement exposés au Nickel (**Vyskocil et al., 1994 a**). Ces observations témoignent d'un dysfonctionnement tubulaire tandis que la fonction glomérulaire ne semble pas affectée par le Nickel (**Vyskocil et al., 1994**). D'autre part, une augmentation des taux de la créatininémie et de l'urémie apparaît après le traitement avec le NiCl₂ dans l'eau de boisson, ce qui témoigne de l'installation d'une insuffisance rénale transitoire, confirmée par une altération structurale du rein, ce qui rendrait difficile les fonctions rénales de filtration et de sécrétion tubulaire. Le nickel induit par ailleurs, une baisse de l'expression de la protéine de stress (Hsp72) et de la synthèse des (MT) au niveau des tissus rénaux (**Hfaïedh et al., 2005**). Chez le hamster traité par le Nickel déposé sur la peau, apparaît une augmentation de l'activité de l'ATPase – Mg⁺² dans les reins (**Mathur et cupa., 1994**) mais n'a aucun effet sur l'activité de la phosphatase acide ou de la glucose- 6-phosphatase. Chez la souris exposée au sulfate de Nickel dans l'eau de boisson, l'altération du tubule rénal se traduit par une perte des cellules épithéliales tubulaires et la présence de castes hyalines suggérant la perte des protéines. Alors qu'aucun changement n'a été noté concernant les marqueurs de la fonction tubulaire notamment, les teneurs en lactate déshydrogénase urinaire, NAG, 2-microglobuline (**Vyskocil et al., 1994b**). Ainsi, les rates exposées au sulfate de Nickel dans l'eau de boisson montrent un changement du taux urinaire en albumine à la fois chez la femelle que chez le mâle, alors que la teneur en glucose diminue (**Obone et al., 1999**), aucun changement n'a été rapporté concernant l'activité de – Glutamy transcriptase et de NAG ni les altérations histopathologiques. Par ailleurs, **Weisher et al., 1980** ont observé une chute du poids du rein chez les rats exposés au chlorure de nickel administré dans l'eau boisson.

1-7-3 Effet sur le système immunitaire :

Le Nickel a des effets sur les trois composantes du système immunitaire, à savoir l'immunité humorale (cellules B), l'immunité à médiation cellulaire cellules T, cellules tueuses naturelles NK les cellules phagocytaires du système réticulo-endothélial, les neutrophiles, les monocytes et les macrophages. Concernant l'immunité humorale, (**Bencko et al., 1983,1986**) montrent chez des travailleurs et des souris exposés au nickel, une augmentation significative des immunoglobulines sériques IgG, IgA et IgM et une diminution significative des IgE. Par ailleurs, une augmentation significative d'autres protéines sériques pouvant être impliquées dans l'immunité à médiation cellulaire α 1-

Chapitre I : Le Nickel

antitrypsine, α 2-macroglobuline, céruloplasmine a été observée. Ces modifications suggèrent que le système immunitaire a été stimulé par l'exposition au nickel. Cependant, chez la souris l'administration intramusculaire du chlorure de nickel (**Smialowicz et al., 1985, 1986; Spiegelberg et al., 1984; Dieter et al., 1988**) ou du disulfure de trinickel est rapportée une réduction significative au niveau de la rate des Lymphocytes –T, l'activité phagocytaire des macrophages alvéolaires et des cellules tueuses naturelles (NK) de la rate . Alors que chez les rats exposés pendant 4 mois par inhalation de monoxyde de nickel, est observée une diminution du nombre de macrophages alvéolaires et de la réponse humorale (**Spiegelberg et al., 1984; Dieter et al., 1988**). Par contre une augmentation du nombre de leucocytes est obtenue chez des rats après l'administration de chlorure de nickel dans l'eau de boisson (**Weischer et al., 1980**), et une augmentation du taux de réticulocytes chez des travailleurs ayant bu accidentellement de l'eau contaminée par du sulfate et du chlorure de nickel et de l'acide borique (**Sunderman et al., 1988**).

1-7-4 Effets du Nickel sur l'appareil respiratoire :

Les études chez l'homme et l'animal indiquent que le système respiratoire est la 24 cible principale de la toxicité du nickel. Le nickel qui parvient au niveau pulmonaire a tendance à persister au niveau des poumons. La rétention dépend notamment de la solubilité des composés et du captage cellulaire. La muqueuse nasale peut retenir du Ni pendant de nombreuses années (**Torjussen et al., 1978, 1979a, 1979b**). Les formes insolubles, après phagocytose par les macrophages, peuvent générer des quantités très importantes d'espèces réactives de l'oxygène, surtout avec le sous-sulfure Ni₃S₂ (**Zhong et al., 1990 ; Huang et al 1994**).

L'activité ciliaire des voies respiratoires supérieures a été réduite chez des hamsters et des souris exposés pendant 2 heures à du dichlorure de nickel en aérosol (**Adalis et al., 1978; Gardner, 1980**). Des changements histopathologiques par des dommages aux poumons (congestion, inflammation, fibrose et oedème) ont été notés chez des rats et des souris exposés au sulfate de nickel hexahydraté pendant 12 jours (**Benson et al., 1987; Dunnick et al., 1988**).

I-7-5 Effets sur la reproduction :

On ne dispose pas de donnée chez l'homme sur la toxicité éventuelle du nickel et de ses oxydes sur la reproduction (fertilité et développement).

1-7-5-1 Effets de Nickel sur la reproduction chez le mâle :

De nombreuses études indiquent une diminution du nombre et de la qualité des

cellules sexuelles mâles au cours de ces dernières années (**Jegou et al., 1996**). Chez le mâle l'exposition aux sels de Nickel induit des effets dégénératifs de l'épithélium germinatif du testicule et de l'épididyme et altère la spermatogénèse (**Benson et al., 1988**). Ainsi, chez le rat le chlorure de Nickel administré par voie sous cutanée provoque des modifications au niveau des gonadostimulines (FSH et LH) et une augmentation du taux de MDA et une diminution de l'activité du (SOD) dans les testicules ce qui entraîne des perturbations organiques directes locales caractérisées par une atteinte de la spermatogénèse, une apparition de cellules apoptotiques au niveau de la paroi des tubes séminifères et une tératospermie (**Laila et al., 2003**).

1-7-5-2 Effets de Nickel sur la reproduction chez la femelle :

Chez la femelle le Nickel affecte le développement et la maturation des follicules de l'ovaire, réduit également la stéroïdogénèse ovarienne et perturbe la fonction hypophysaire (**Wang et Zhu, 2003**). L'exposition des femelles gestantes est associée à une diminution de l'implantation, à un développement embryonnaire retardé, une augmentation des résorptions et à une augmentation des malformations structurales.

I-7-6- Effets génotoxiques_:

Le nickel et ses oxydes ne sont pas considérés comme mutagènes. Comme il est habituel avec les métaux, les résultats des essais de mutagénèse sont très discordants, variant largement selon le composé utilisé et les conditions expérimentales ; il n'est pas possible de généraliser les résultats obtenus. Les données disponibles suggèrent que le nickel n'est pas mutagène sur cellules autres que cellules de mammifères. Le nickel métal et le monoxyde de nickel donnent des résultats positifs in vitro dans les tests de mutations géniques sur cellules de mammifères, d'aberrations chromosomiques et dans les essais de transformations cellulaires. Des résultats similaires pour d'autres composés du nickel, solubles et insolubles, suggèrent un mécanisme d'action similaire pour l'ensemble des composés nickel et l'hypothèse selon laquelle les ions nickel seraient responsables des effets observés. En effet, alors que l'ion nickel des composés solubles peut atteindre le noyau cellulaire par solubilisation et diffusion ou par les systèmes de transport des ions métalliques, les composés peu solubles sont phagocytés et les vacuoles libèrent les ions nickel dans le noyau cellulaire, qui peuvent altérer l'ADN. Dans un essai de micronoyaux in vivo, par administration intrapéritonéale chez la souris, le monoxyde de nickel n'induit pas de mutation. En revanche, des résultats positifs ou équivoques sont décrits dans les essais in vivo d'aberrations chromosomiques, de micronoyaux et d'échange de

Chapitre I : Le Nickel

chromatides sœurs chez le rat par administration unique intratrachéale de 2,5 mg Ni/rat. (Zhong BZ, Li ZQ, Ma GY, Wang BS ; 1990).

I-7-7 Effets cancérigènes :

Les études de cancérogénicité des sels de nickel chez l'animal sont peu nombreuses. Toutefois, le nickel est reconnu comme ayant un potentiel cancérigène chez l'animal de laboratoire (Denkhaus et al., 2002).

Chez l'homme, les études épidémiologiques mettent en avant une augmentation du risque de cancer des voies aériennes supérieures et des poumons chez des sujets exposés professionnellement par voie respiratoire (Doll et al., 1970 - Doll, 1984). C'est principalement l'inhalation de composés solubles qui est associée avec le risque le plus élevé de cancer des voies aériennes. D'autres types de cancers ont été associés avec une exposition au nickel, notamment dans des études en milieu professionnel mais aucune conclusion solide ne peut en être tirée.

En 1990, le nickel et les composés du nickel ont été classés par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) dans le groupe 1 « cancérogène potentiel pour l'homme ». Les études expérimentales disponibles pour juger de la cancérogénicité du nickel par voie orale sont peu nombreuses (OMS, 2005 ; Haber et al., 2000).

Concernant plus spécifiquement l'exposition par l'eau de boisson : deux études épidémiologiques de type écologique ont cherché à établir un lien entre l'ingestion d'eau de boisson contenant des sels de nickel et certaines formes de cancer. (Isacson et al 1985) ont constaté un lien statistique entre les teneurs en nickel dans l'eau de boisson et le taux d'incidence du cancer de la vessie et des poumons. Après analyse de leurs résultats, ils en ont conclu que le nickel n'était pas un facteur de risque mais peut être un indicateur de contamination.

1-7-8 Effets du nickel sur l'environnement :

- a) sur les plantes : toxique sur la majorité des plantes. provoque des changements de la composition des algues à partir de 0,002mg Ni/L.
- b) sur les poissons : la réduction de la calcification du squelette, l'augmentation de l'hématocrite et d'hémoglobine et la diminution de la capacité de diffusion des ouïes qui donne l'asphyxie. concentration létale est supérieure à 1mg/L.
- c) sur les invertébrés : la concentration létale typique est de l'ordre de 0,5 à 20mg/l et plus, il peut causer une incapacité de régulation osmotique (James W. Moore ,1991)

Chapitre II

La Mélissa

Officinalis.L

Chapitre II : La Mélisse

II-1 Classification:

La Place de la mélisse dans la classification phylogénétique APG III* (2009) est la suivante (Perrot & Paris, 1971; Meyer *et al.*, 2008; Thoby, 2009); (Sari & Ceylan, 2002) mais c'est la sous-espèce *officinalis* qui est utilisée en thérapeutique (Carnat *et al.*, 1998).

Règne	Vegetal	Ordre	Lamiales
Embranchement	Spermaphytes	Famille	Lamiacées
Sous embranchement	Angiosperms	Genre	Mélissa
Classe	Eudicotylédones	Espèce	Officinalis
Sous classe	Astérides	Sous espèce	Officinalis, inodora et altissima

II-2 Description botanique:

La Melissa est. une plante herbacée vivace à la tige carrée, dressée et ramifiée, poussant en touffe, mesurant le plus souvent entre 30 et 80 centimètres de haut (Perrot & Paris, 1971 ; Thoby, 2009). Les feuilles , pétiolées, sont réparties de façon opposée et décussée sur la tige (Wichtl & Anton, 2003). Leurs bords sont fortement crénelés. Elles sont de forme ovale et cordiforme, aux nervures réticulées très saillantes sur la face inférieure, donnant cet aspect gaufré à la face supérieure. La surface est. recouverte de fins poils courts (Perrot & Paris, 1971).

Les fleurs sont regroupées par douzaine ou demi-douzaine, en verticille, à la base des feuilles. De couleur blanche à rosée, elles sont formées d'une corolle tubulaire constituée de deux lèvres inégales. La lèvre supérieure est. dressée (Perrot & Paris, 1971) et celle inférieure est. divisée en trois lobes. Quatre étamines didynames s'insèrent sur le tube formé par la corolle, elles sont courbées et tendent ainsi les unes vers les autres. Le pistil, quant à lui, est. constitué de quatre loges et possède un long style terminé par un stigmate. Le calice est. bilabié et pubescent (Wichtl & Anton, 2003).



Figure 2 : Feuilles et Fleurs de la Mélisse (*Melissa officinalis*.L)

II-3 Habitat:

La Melissa est. présentée à l'état sauvage dans le sud de l'Europe et de l'Amérique du Nord, et en Asie Mineure (**Sari & Ceylan, 2002**) dans des endroits légèrement ombragés tels que le bord d'une haie, un bois ou un lieu non cultivé et frais (**Perrot & Paris, 1971 ; Wichtl & Anton, 2003**). Elle est. cultivée en Europe centrale et occidentale, ainsi qu'aux Etats-Unis (**OMS, 1999a**).

II.4 Propriétés thérapeutique de la mélisse :

II-4-1. Antalgique dans les douleurs d'origine digestive:

L'usage de la plante pour soulager les douleurs abdominales est. propre à *M. officinalis*, Cette propriété antalgique serait due à une composante antispasmodique associée à une stimulation de la digestion, notamment par un effet cholérétique.

II-4-1-1 Origine de la spasticité intestinale :

Le péristaltisme intestinal est. assuré par des fibres musculaires lisses circulaires, douées d'un automatisme contrôlé par le système nerveux autonome, qui en se contractant permettent la progression du bol alimentaire dans la lumière du tube digestif. Le transit est. ainsi régulé par les récepteurs à la 5-hydroxytryptamine de type 3 et 4 (5-HT3 et 5-HT4) qui, s'ils sont stimulés par un agoniste, entraînent une accélération du transit par augmentation du péristaltisme et production de mucus, ce qui peut parfois occasionner des douleurs. Il existe aussi un contrôle par des récepteurs muscariniques et adrénergiques. La sérotonine provient

dans ce cas en majorité des cellules entérochromaffines, situées exclusivement au niveau du tube digestif. Une possibilité de traitement pourrait donc être assurée par un antagoniste des récepteurs 5-HT₃ et 5-HT₄ (Ahn & Ehrenpreis, 2002 ; Johanson, 2004 ; Beattie & Smith, 2008).

II-4-1-2. Effet antispasmodique de la mélisse :

Il a été montré qu'un extrait hydro-éthanolique (éthanol 45 % v/v) de mélisse a un effet inhibiteur des acétylcholinestérases équivalent à $1,72 \pm 0,16$ µg de physostigmine/mg (PHY/mg) d'extrait après dix minutes d'exposition des enzymes à cet extrait *in vitro*. Cela s'exprime par une diminution de l'hydrolyse de l'acétylcholine par les acétylcholinestérases. Une fraction de cet extrait est apparue plus efficace par une activité équivalent à $25,36 \pm 1,63$ µg PHY/mg. Celle-ci contient de l'acide rosmarinique et deux de ses dérivés qui pourraient être à l'origine de l'activité observée (Dastmalchi *et al.*, 2009).

II-4-2 Effets sur le système nerveux central:

II-4-2-1 Effet anxiolytique:

La GABA-transaminase, GABA-T, est l'enzyme responsable de la dégradation du GABA. Son inhibition entraîne donc une augmentation du GABA au niveau cérébral. Dans une étude de 2007, Awad et son équipe ont montré sur des cerveaux de rat qu'un extrait de mélisse possédait une activité inhibitrice de la GABA-T *in vitro*, $CI_{50} = 0,35$ mg/ml (Awad *et al.*, 2007). Cette activité serait due à l'acide rosmarinique, à l'acide ursolique et à l'acide oléanolique (Awad *et al.*, 2009). Cependant, une étude *in vivo* serait nécessaire pour savoir si l'inhibition de la GABA-T par ces composés a un effet sur la fonction GABAergique.

II-4-2-2 Effet antidépresseur:

Il a été montré chez la souris qu'un extrait aqueux de mélisse présentée une activité, apparentée à une activité antidépressive chez l'homme, similaire à celle observée chez les animaux traités par imipramine⁷. Le test de la nage forcée permet d'évaluer les effets des traitements antidépresseurs sur la souris. L'animal est placé dans un récipient en verre cylindrique rempli à moitié d'eau. Alors soit il essaie d'escalader les parois pour s'échapper (escalade ou fuite), soit il nage, soit il se laisse flotter sans bouger (immobilisme). Ainsi, une activité antidépressive d'un produit se caractérisera dans ce test par une augmentation de l'activité locomotrice de la souris (temps de nage et escalade). L'étude d'Emamghoreishi et Talebianpour (2009) révèle que 25 mg/kg d'extrait aqueux de mélisse administrés par voie intra-péritonéale réduisent de 46 % l'immobilité de la souris, augmentent de 170 % les tentatives de fuite sans modifier le nombre de fois où la souris nage. Cette activité possède un

effet au profil semblable à celui observé pour 15 mg/kg d'imipramine, mais est différent de celui observé pour 20 mg/kg de fluoxétine (Emamghoreishi & Talebianpour2009).

II-4-2-3 Sédatif et inducteur du sommeil :

Il semble que ni un extrait méthanolique ni un extrait aqueux de mélisse ne déplace le flumazenil8 de son récepteur GABA-A. Ceci suggère que ces extraits n'agissent donc pas sur les sites récepteurs aux benzodiazépines (Lopez *et al.*, 2009). Ces extraits n'induiraient donc peut-être pas les mêmes effets secondaires que les benzodiazépines.

II-4-3 Antioxydant :

Les antioxydants sont des agents protecteurs des cellules. Ils leur permettent de lutter contre le stress oxydatif provoqué par les rayonnements, ou les agents chimiques par exemple. Certains antioxydants sont naturellement synthétisés par les cellules, ils sont endogènes. Ils peuvent être enzymatiques (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase et hème oxygénase) ou non (glutathion et acide urique). A cela s'ajoutent les antioxydants exogènes apportés par l'alimentation. Il s'agit notamment des vitamines C et E (Nadji, 2010). La mélisse présente des propriétés antioxydantes importantes (Dastmalchi *et al.*, 2008).

Or, un de ces constituants majeurs est l'acide rosmarinique. Il possède une forte activité antioxydante. Celle-ci a été mesurée par réduction d'un radical libre : le DPPH (1,1-DiPhényl-2-PicrylHydrazyle). La CE50* de l'acide rosmarinique est de 3,1 µg/ml alors que celle de l' α -tocophérol – une forme de la vitamine E – est de 10,1 µg/ml (Mencherini *et al.*, 2007).

II-4-4 Virucide :

II-4-4-1 Activité de la mélisse sur le VIH:

La mélisse, ainsi que d'autres plantes de la famille des Lamiaceae, possède une activité sur le virion du VIH. En effet, l'efficacité d'un extrait aqueux de mélisse a été étudiée *in vitro*. Celui-ci n'a d'effet que sur les particules virales libres, en inhibant le mécanisme de fusion. L'extrait n'est cytotoxique qu'à des concentrations relativement haute par rapport à la CI50* (Geuenich *et al.*, 2008).

II-4-4-2 Activité de la mélisse sur l'HSV :

L'activité anti-herpétique de l'huile essentielle* de *M. officinalis* sur HSV13 de types 1 et 2, a été étudiée sur des cellules rénales de singe. A très haute dilution (pour lesquelles la cytotoxicité est très faible), c'est-à-dire pour des concentrations inférieures à 0,002 %, il a été observé une inhibition de la formation de plaques virales de 98,8 % pour HSV-1 et 97,2 % pour HSV-2 (Schnitzler *et al.*, 2008). L'efficacité de l'huile essentielle* de mélisse a aussi été montrée sur HSV 2 par Allahverdiyev et son équipe en 2004, pour des concentrations non-

cytotoxiques inférieures à 100 µg/ml. La cytotoxicité envers les cellules HEP-2 apparaissait dès 100 µg/ml (**Allahverdiyev et al., 2004**). Il semblerait que l'huile essentielle* empêche la pénétration du virus dans les cellules mais n'aurait aucune activité une fois le virus dans la cellule-hôte (**Schnitzler et al., 2008**).

En Allemagne, une spécialité à base de mélisse est déjà commercialisée dans le traitement de l'herpès labial : Lomaherpan® du laboratoire Lomapharm (**Wichtl & Anton, 2003**).

II-5 Composition chimique de la mélisse :

La mélisse possède une composition chimique très variée. Les constituants de la drogue entière et ceux de l'huile essentielle diffèrent. La mélisse dérivent de la même sous-classe : les Astéridées. Il n'est donc pas surprenant de trouver des similitudes dans leur composition (eugénol, pinène, β -caryophyllène, etc.)

II-5-1 Composition chimique de la mélisse:

Les feuilles de mélisse sont riches en acides-phénols (ou acides phénoliques) et en flavonoïdes .

a) 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).

Ils peuvent être extraits par les solvants organiques en milieu légèrement acide. Les acides-phénols sont des molécules instables qui ont tendance à s'oxyder, notamment en milieu alcalin (**Bruneton, 2009**).

b) Dérivés de l'acide benzoïque :

Les dérivés de l'acide benzoïque (**1**) sont des acides-phénols en C6-C1 (**Bruneton, 2009**). Il y en a trois identifiés dans les feuilles de mélisse. Il s'agit de l'acide *para*-hydroxybenzoïque (**2**), de l'acide protocatéchique (**3**) et de l'acide gentisique (**4**) (**Guignard et al., 1985**).

c) Dérivés de l'acide cinnamique :

Les acides-phénols dérivés de l'acide cinnamique (**5**) un composé en C6-C3, le plus souvent estérifiés (**Bruneton, 2009**). Les feuilles de mélisse contiennent ce type d'acides-phénols, l'acide caféique (**6**), et des composés qui en sont dérivés : l'acide rosmarinique (**7**), l'acide chlorogénique (**8**) et les acides A et B mélitriques (**9** et **10**).

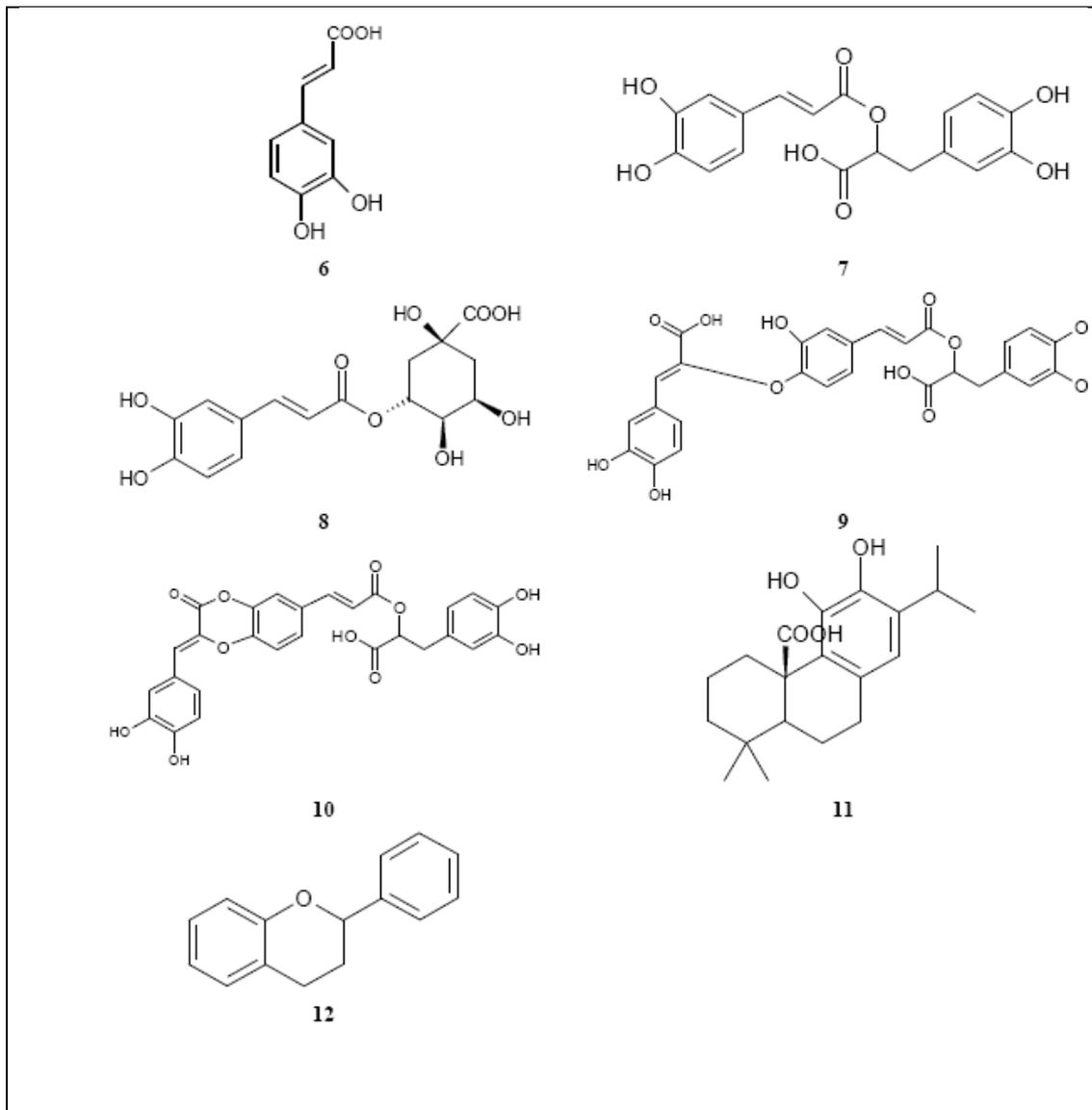


Figure 03 : Les compositions chimiques de la plante *Mélisse officinalis* L.

L'acide caféique (**6**) est un acide-phénol dérivé de l'acide cinnamique (**Bruneton, 2009**). Il peut être oxydé en quinone à l'occasion d'une blessure infligée à la plante (**Guignard et al., 1985**).

L'acide rosmarinique (**7**), comme son nom l'indique, a été isolé et identifié pour la première fois à partir du romarin (*Rosmarinus officinalis*) par Scarpati et Oriente, en **1958** (**Pereira et al., 2005**). Pourtant, il est présent en plus grande quantité dans les feuilles de mélisse, où sa concentration est de 3,9% contre 2,5% dans le romarin *Rosmarinus officinalis* (**Geller et al., 2010**). Sa teneur peut toutefois atteindre les 4,7 % (**Gruenwald et al., 2007**). L'acide rosmarinique est un ester de l'acide caféique et de l'acide 3,4-hydroxyphényllactique (**Pereira et al., 2005**). C'est une molécule polaire (ce qui explique sa solubilité dans l'eau et l'éthanol).

Chapitre II : La Mélisse

Il est présent chez les Lamiacées, les Borraginacées et les Apiacées (**Penchev, 2010**) et est supposé participer aux mécanismes de défense de la plante (**Petersen & Simmonds, 2003**).

L'acide chlorogénique (**8**), ou acide 5-caféoyl-quinique est un ester de l'acide quinique et de l'acide caféique. C'est une molécule très représentée dans le règne végétal qui a été détectée pour la première fois dans le café, en **1837 (Petersen et al., 2009)**. Il s'isomérisse par rapport à la position de l'ester en milieu alcalin ou acide et forme ainsi un mélange d'isomères de position, ce sont les acides chlorogéniques. Du fait de la présence de nombreux hydroxyles, l'acide chlorogénique est soluble dans l'eau (**Bruneton, 2009**).

Les acides A (**9**) et B (**10**) mélitriques, dérivant de l'acide rosmarinique, peuvent être considérés comme des "trimères" de l'acide caféique (**Agata et al., 1993**).

d)Acide carnosique :

L'acide carnosique (**11**) ou rosmarinicine est un diterpène phénolique (**Penchev, 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)*.

e)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 (**12**) puisque qu'ils ont une origine biosynthétique commune. Leur teneur, dans les feuilles de mélisse, varie de 0,2 % à 0,7 % (**Bruneton, 2009**).

Ils ont un rôle dans le renouvellement de l'espèce car ils participent à la pollinisation en attirant les insectes. Au niveau des feuilles, ils constituent un filtre protecteur par rapport au rayonnement ultraviolet (**Simmonds, 2003 ; Bruneton, 2009 ; Miller et al., 2011**).

f)Autres :

Les feuilles de mélisse possèdent également des tanins catéchiques qui correspondent aux proanthocyanidols. Ils possèdent des propriétés sur l'éréthisme* cardiaque (**Thoby, 2009**).

Comme beaucoup de plantes, la mélisse contient des vitamines, notamment B1 et B2 (**Thoby, 2009**), de la chlorophylle, des cires et des stérols, ainsi que de l'acide succinique (**Penchev, 2010**).

Matériels

&

Méthodes

Matériels et Méthodes :

L'objectif de cette étude est d'évaluer expérimentalement les conséquences toxicologiques de l'exposition à une eau potable contaminée par le chlorure de nickel et étudier la potentialité de la Mélisse à réduire l'effet de traité le foie en évaluant son pouvoir pharmacologique.

Pour cette fin, des paramètres : biochimiques, hématologiques, ont été mesurés. Une étude histologique sur le foie est effectuée.

Animaux d'expérimentations :

Les animaux d'expérience sont des rats albinos variété Wistar; de sexe mâle et femelle âgés de 4 ± 1 semaine ayant un poids 100 ± 10 g. L'élevage des animaux ont été réalisés au sein de l'animalerie de département de biologie(université de Saïda) dans des cages adaptées. 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.

1. 1. Répartition des lots :

Les rats sont repartis en quatre lots homogènes :

- **Lot témoin** : composé de 6 rats qui reçoivent de l'eau du robinet sans chlorure de nickel.
- **Lot Ni (intoxiqué)** : composé de 6 rats qui reçoivent par voie orale une eau contenant 0.2% de chlorure de nickel durant une période de 08 semaine.
- **Lot Ni-M25 (intoxiqué et traité)** : composé de 6 rats qui reçoivent simultanément une eau contenant 0.2% de chlorure de nickel par voie orale et l'extrait aqueux de la Mélisse a une dose de 25mg/kg par voie intrapéritoniale (IP).
- **Lot Ni-M50 (intoxiqué et traité)** : composé de 6 rats qui reçoivent simultanément une eau contenant 0.2% de chlorure de nickel par voie orale et l'extrait aqueux de la Mélisse a une dose de 50mg/kg par voie intrapéritoniale (IP).

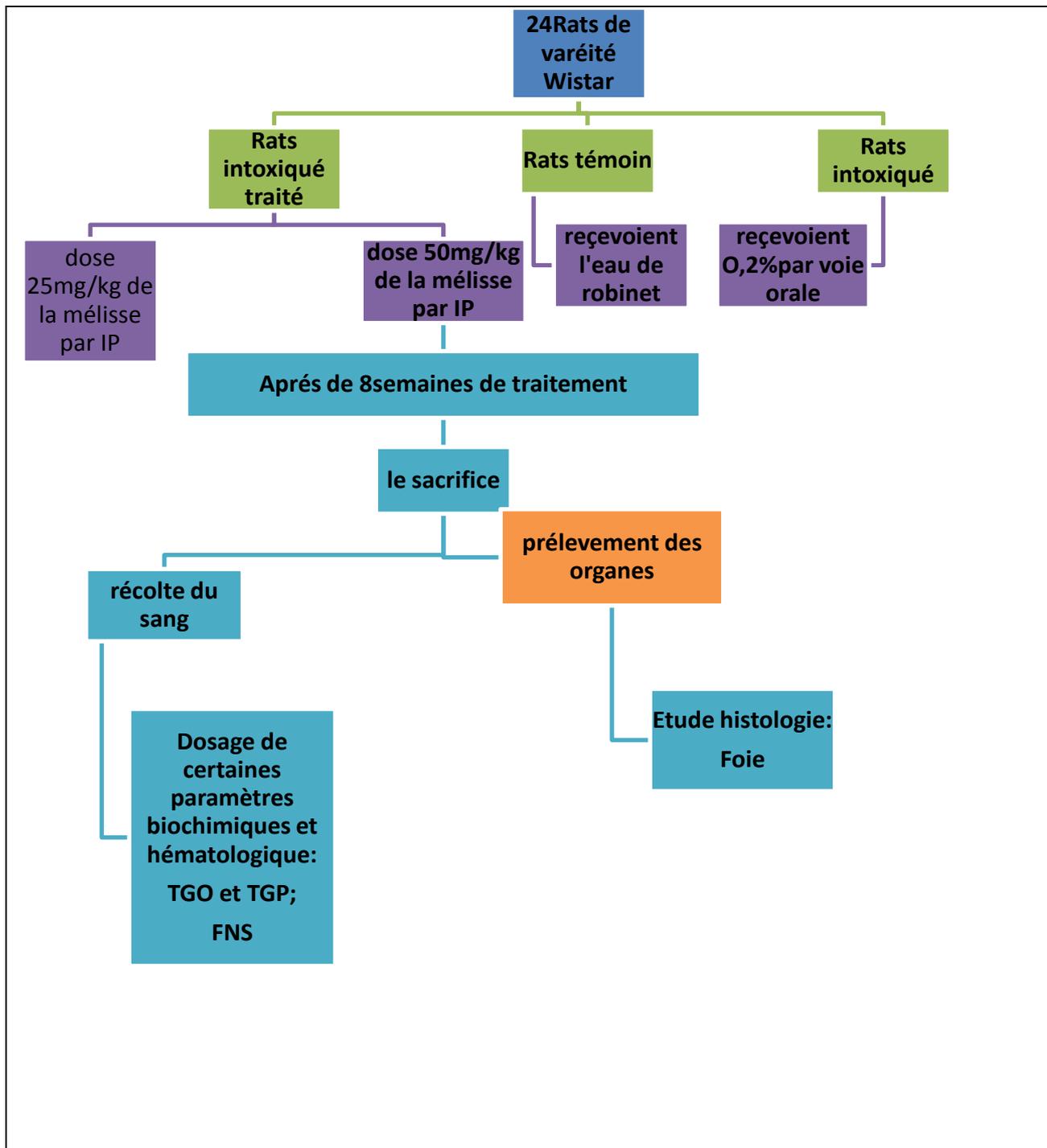


Figure 04: schéma simplifié du protocole expérimental

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 juin. 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.

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 reprises afin d'obtenir la quantité nécessaire pour notre expérimentation et le filtrat a été séché à l'étuve. Le résidu ainsi obtenu a été stocké à -20°C, jusqu'au moment de son utilisation.

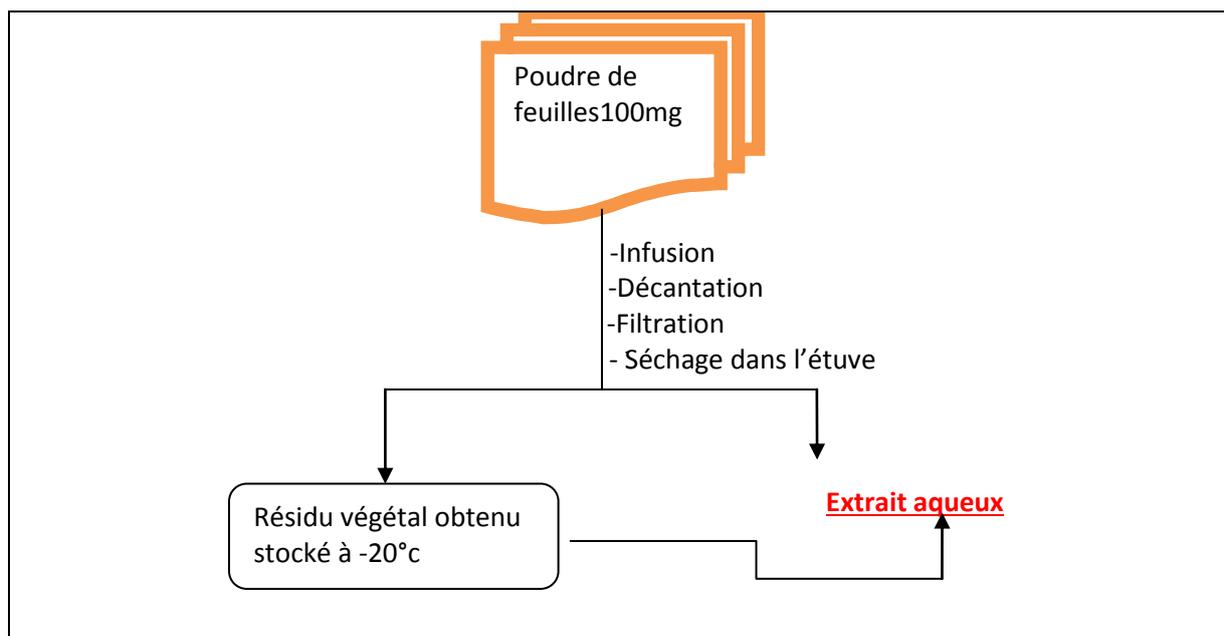


Figure 05: schéma simplifié préparation de l'extrait aqueux de la Mélisse par infusion

2. 2. Calcul du rendement :

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

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

Matériels et Méthodes :

- R (%) : Rendement en extraits secs de matière sèche.
- M : quantité d'extrait récupérée exprimée en g.
- M₀ : quantité de matière sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

2. 3. Préparation de la solution injectable :

Notre produit a été obtenu par dilution de l'extrait sec et solubilisé dans l'eau distillée à une dose de 50 mg /kg et 25 mg / kg et utilisé pour les injections (Zerei A et al. 2014).

3. 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:

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

4. Sacrifice et récolte du sang :

À la fin des 08 semaines de l'expérimentation, les rats sont sacrifiés le matin après une nuit de jeun par décapitation, après une légère anesthésie. Le sang est récupéré dans des tubes héparinés pour les dosages biochimiques et EDTA pour le dosage hématologiques. Ensuite, le sang de tube héparinés subissent une centrifugation à 3000 tours pendant 10 min et le plasma est stocké à 4°C. Le foie est prélevé rapidement, rincés avec l'eau distillée, et pesé pour calculer leur poids relatif.

5. Détermination des paramètres hématologique :

Les paramètres hématologiques à savoir le nombre des globules rouges (GR), le nombre de globules blancs (GB), l'hémoglobine (HB), l'hématocrite (HCT), et le taux de plaquette ont été déterminés à l'aide d'un Coulter de type « MEDONIC CA 530 ».

6. Etudes biochimique :

Cette étude a été réalisée dans un laboratoire d'analyse au niveau du centre de santé à Saida

Matériels et Méthodes :

Les dosages biochimiques ASAT et ALAT sont réalisés par l'utilisation des Kit SPINREACT. La détermination des différentes concentrations de chaque enzyme est calculée après la lecture des densités optique(DO) au spectrophotomètre.

6.1. Evaluation de l'activité 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 du vit B6) comme coenzyme qui assure le transfert réversible d'un groupement amine entre un acide alfa Cétonique. Elles participent ainsi aux synthèses d'acides aminés et la régulation du cycle de Krebs.

❖ Dosage de transaminase Glutamine Oxaloacétique (TGO) :

Appelée aussi L'aspartame aminotransférase (AST), est présente surtout dans le dans le foie et le cœur un peu moins dans les muscle et les reins.

- Intérêt et principe du dosage :

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



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

- Technique d'analyse :

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

- Mode opératoire :

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon (μ l)	100

Mélanger bien, verser dans une cuve et lire l'absorbance après d'incubation .Refaire la lecture des D.O exactement après 3min.

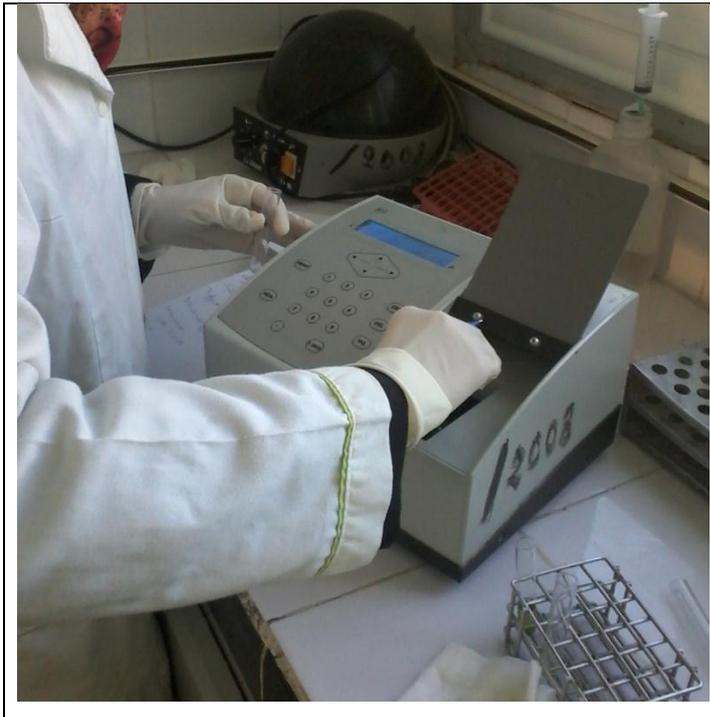


Figure 06 spectrophotométrie pour lecture la densité optique du AST et ALAL

- Calcul de la concentration :

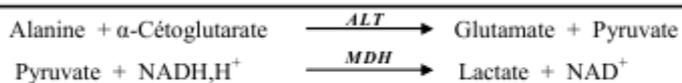
La concentration d'aspartateaminotransférase calculée par la formule suivante :

$$\text{ASAT (U/L)} = \Delta\text{DO}/\text{min} \times 1750$$

❖ Dosage de la transaminase Glutamino pyruvique(TGP) :

- Intérêt et principe du dosage :

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. 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 340 nm (**BERAUD, 2001**)



Matériels et Méthodes :

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

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

Mode opératoire :

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon (µl)	100

Mélanger inverser dans une cuve et lire l'absorbance après 1 min d'incubation .Refaire la lecture des D.O exactement après 3 min.

- Calcul de la concentration :

La concentration d'alanine aminotransférase est calculée par la formule suivante :

$$\text{ALAT (U/L)} = \Delta\text{DO}/\text{min} \times 1750$$

7. Expression et analyse statistique des résultats :

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins (Moy ± SEM) l'écart type moyen, la comparaison entre les différents groupes sont effectuées après une analyse de la variance (ANOVA) avec le facteur intoxication (Ni, T) et/ou le facteur de traitement (Solvant/ MO). Une probabilité $p < 0,05$ est considérée significative. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Sigma Stat 3.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Significatives lorsque (*P < 0,05).

Hautement significative comparant au témoin (** P <0,01).

Très hautement significative comparant au témoin (***) P < 0,001).

Avec P : Seuil de signification.

Résultats

&

Interprétation

Résultats et Interprétation:

1. Résultats de l'extraction :

1. 1. Calcule du rendement (%) :

Les résultats relatifs au rendement révèlent une valeur de 14,76 %.

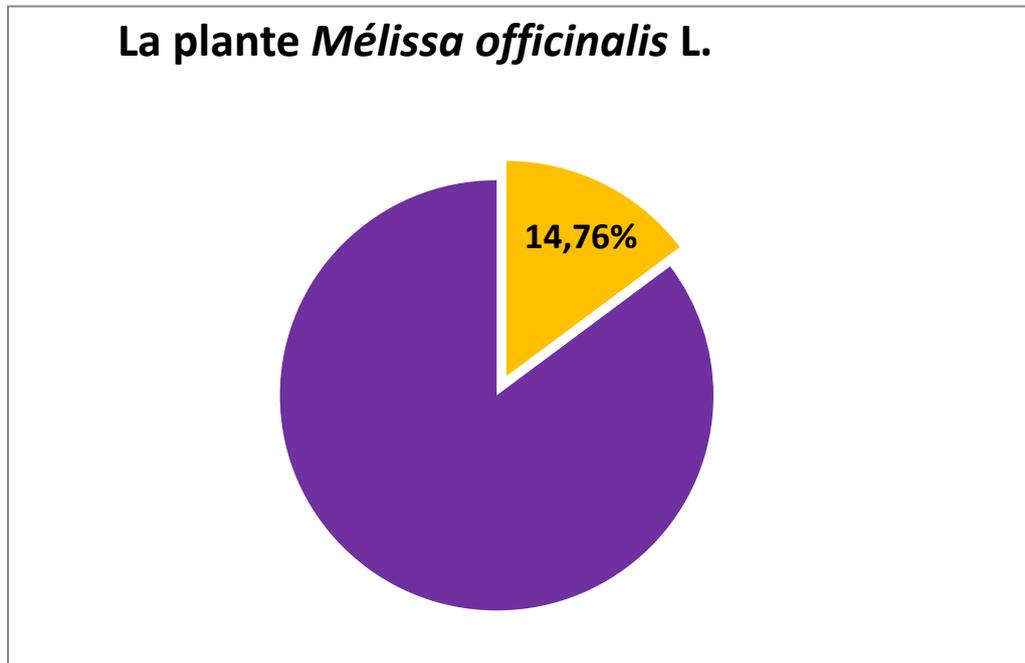


Figure 07 :Le rendement de la plante *Mélissa officinalis* L.

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

Les variations du poids corporel des rats constituent un paramètre très important. Le poids des animaux a été suivi tout au long de notre étude. Au terme de l'expérience le poids corporel moyen des rats des 4 lots est représenté avec le poids relatif du foie dans le tableau (03).

Tableau03: L'effet du chlorure de nickel et l'extrait de la mélisse sur le poids corporel et le poids relatif du foie des quatre lots de l'expérience. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : *P<0,05 ; ** P<0,01 ; *** P<0,001.

Lots	Lot témoin	Lot Ni	Lot NiM25	Lot NiM50
Poids corporel	252,33 \pm 24,69	187,33 \pm 6,22*	192,66 \pm 10,87	214,17 \pm 15,63
Poids relatif	4,12 \pm 0,18	2,95 \pm 0,23***	3,38 \pm 0,11*	3,81 \pm 0,16

Résultats et Interprétation:

Les résultats montrent que l'exposition subchronique au 0,2% de chlorure de nickel diminue respectivement de manière significative (* $P < 0,05$) et hautement significative (***) $P < 0,001$) le poids corporel et le poids relatif du foie par comparaison au lot témoin. Ceci montre que le nickel induit un retard de croissance significatif chez les rats. Cependant les lots Ni-M25 et Ni-M50 ne présentent aucune différence significative par rapport au lot témoin.

3. Effets du Chlorure de Nickel et l'extrait aqueux de *Mélissa officinalis* L. sur les paramètres sanguins :

3.1. Effet sur le taux d'hématocrite :

Dans l'histogramme (figure 08) montrent une nette diminution du taux d'hématocrite des rats intoxiqués par le nickel avoisinant 33% ($p < 0,001$) par rapport au lot témoin. Par ailleurs, l'hématocrite des lots NiM25 et NiM50 est de 34,55% ($p < 0,01$) et 39,60% ($p < 0,05$) successivement. Ceci indique que l'administration de la Mélisse s'oppose à l'effet toxique du nickel sur l'hématocrite.

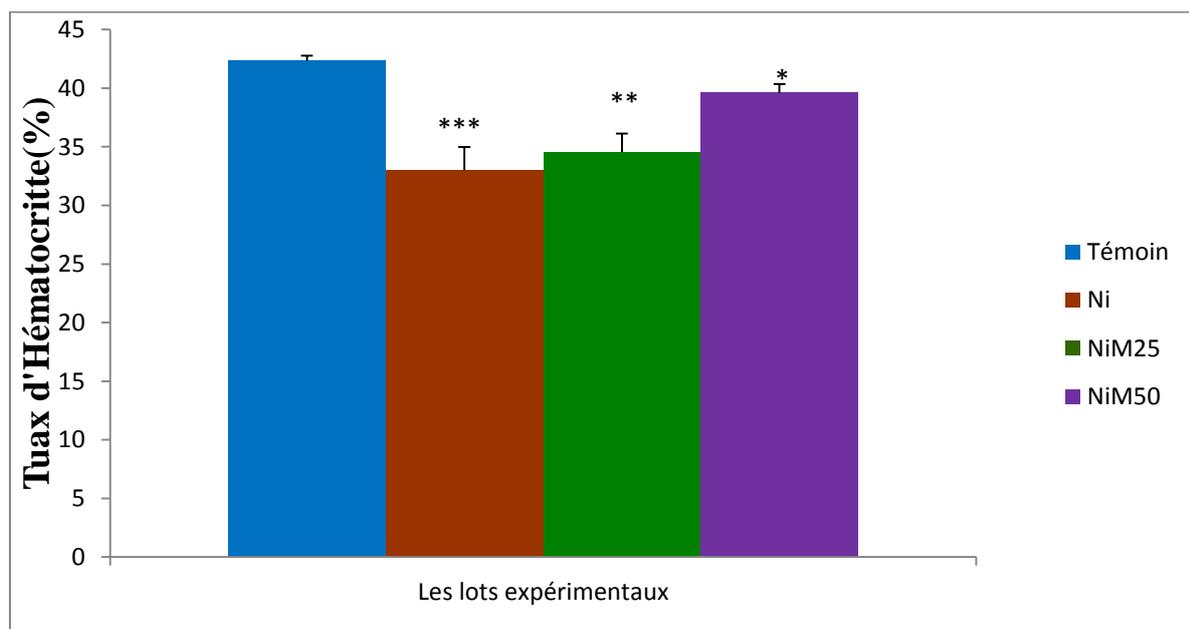


Figure 08 : Effet du chlorure de nickel et l'extrait aqueux de la Melissa sur le taux d'Hématocrite chez les jeunes rats wistar. Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Résultats et Interprétation:

3.2. Effet sur le taux d'hémoglobine :

D'après les résultats obtenus (Figure 09), l'hémoglobine du lot intoxiqué par rapport à celui du lot témoin est diminuée de manière hautement significative ($P < 0.001$). 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 proche de celui des rats témoins.

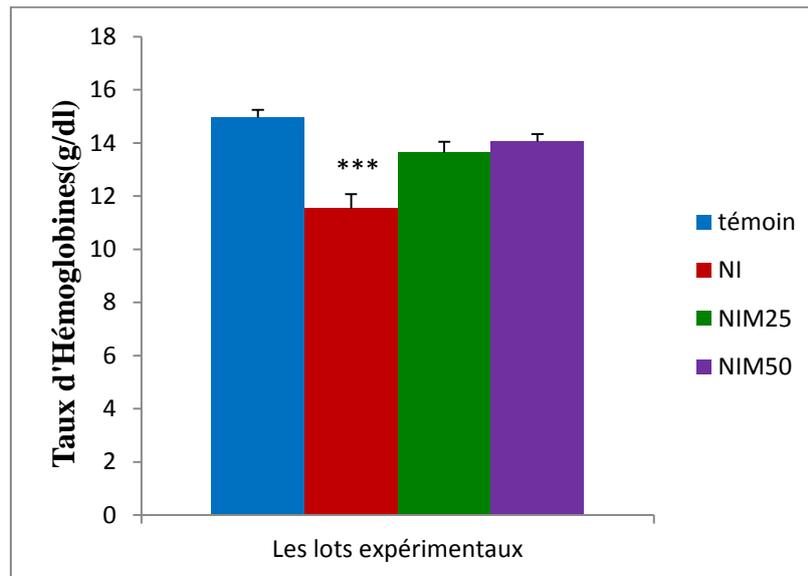


Figure 09: Effet du chlorure de nickel et l'extrait aqueux de la Melissa sur le taux d'Hémoglobine chez les jeunes rats wistar. Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : *** $P < 0,001$.

3.3. Effet sur le nombre des globules rouge :

L'exposition subchronique au chlorure de nickel a provoqué une baisse hautement significative ($p < 0,001$) du nombre de globules rouges comparé au lot témoin. Par contre, dans le lot NiM50 le nombre des GR reste au voisinage de celui du témoin ce qui montre que la melisse protège contre la diminution sévère (25%) de ce nombre observée chez le lot intoxiqué.

Résultats et Interprétation:

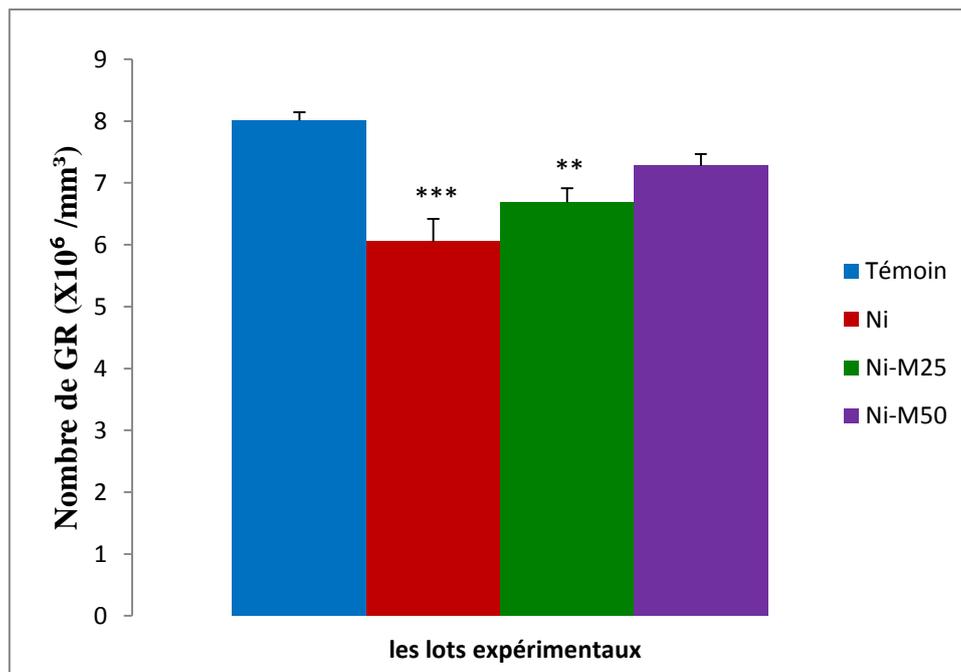


Figure 10: Effet du chlorure de nickel et l'extrait aqueux de la Melissa sur le nombre des globules rouge chez les divers lots, les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM :*** $p < 0,001$ et ** $p < 0,01$

3. 4. Effets sur le nombre de globules blancs

L'intoxication au Nickel pendant une durée de 08 semaines entraîne une augmentation hautement significative du taux des globules blancs (hyperleucocytose) par rapport aux rats témoins. La dose NiM25 n'a pas d'effet sur l'hyperleucocytose provoqué par Ni. Par contre le lot NiM50 présente un taux de leucocytes normal. Ceci peut être expliqué par un effet chélateur de la Mélisse.

Résultats et Interprétation:

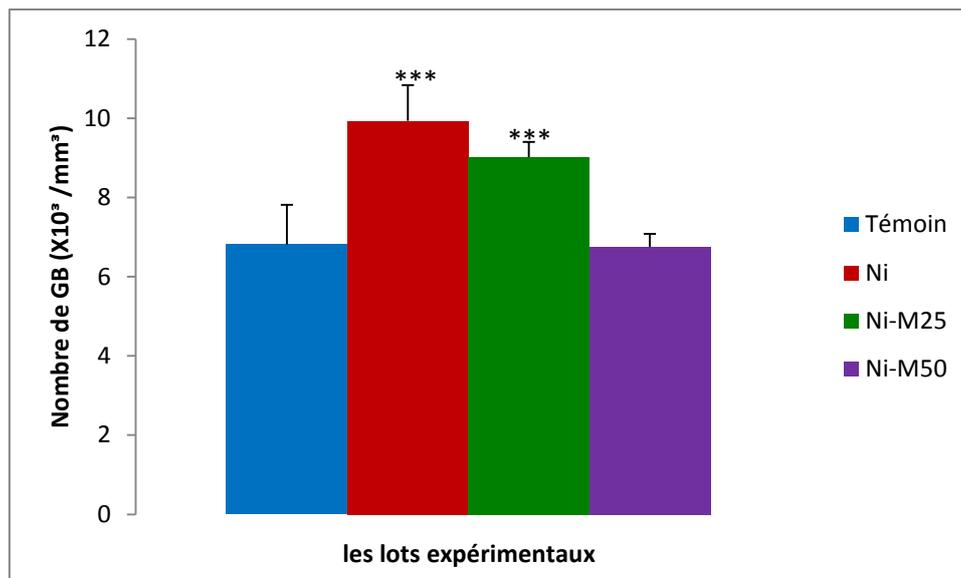


Figure 11 : Effet du chlorure de nickel et l'extrait aqueux de la Melisse sur le nombre des globules blancs chez les divers lots, les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM :***
 $p < 0,001$.

4. Effets du chlorure de Nickel et l'extrait aqueux de *Mélissa officinalis* L. sur les paramètres biochimiques du foie

4.1 AST :

L'analyse des marqueurs de la fonction hépatique, indique qu'au niveau sérique l'activité des transaminases présente une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux d'ASAT chez les jeunes rats ayant reçu le chlorure de Nickel comparé au lot témoin et lots intoxiqués traités (NiM25 et NiM50). Le lot NiM25 montre une perturbation moins importante que le lot Ni, par contre le lot NiM50 présente des AST nettement meilleur que le lot NiM25 et le lot Ni. Ce résultat peut être expliqué par le fait d'administrer l'extrait aqueux de la mélisse en même temps que le chlorure de Nickel réduit d'une manière significative l'effet toxique de celui-ci sur la fonction hépatique (paramètre biochimique AST). Cette protection hépatique est d'autant plus apparente que la dose de la Mélisse est supérieure à 50mg/l.

Résultats et Interprétation:

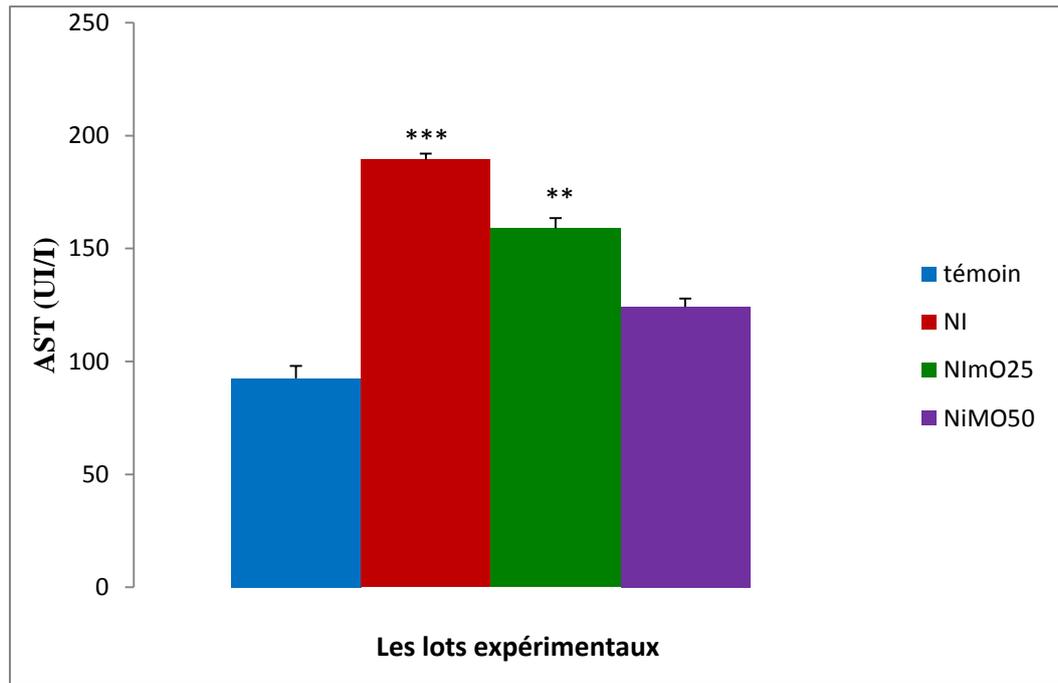


Figure 12 : Effets du chlorure de nickel et de la Mélisse sur la fonction hépatique : paramètre plasmatique AST (moyenne \pm SEM, $p < 0,001$), (Ni et Mo: $p < 0,001$)

4.2 ALAT :

Les résultats enregistrés relatives au taux d'ALAT montrent une augmentation significative ($p < 0,001$) chez les rats ayant reçus le chlorure de Nickel comparés aux rats témoins et intoxiqués traités. Le taux d'ALAT du lot NiMo25 est moins perturbé que le lot Ni, par contre le taux d'ALAT du lot NiMo50 est nettement proche de celui du lot témoin.

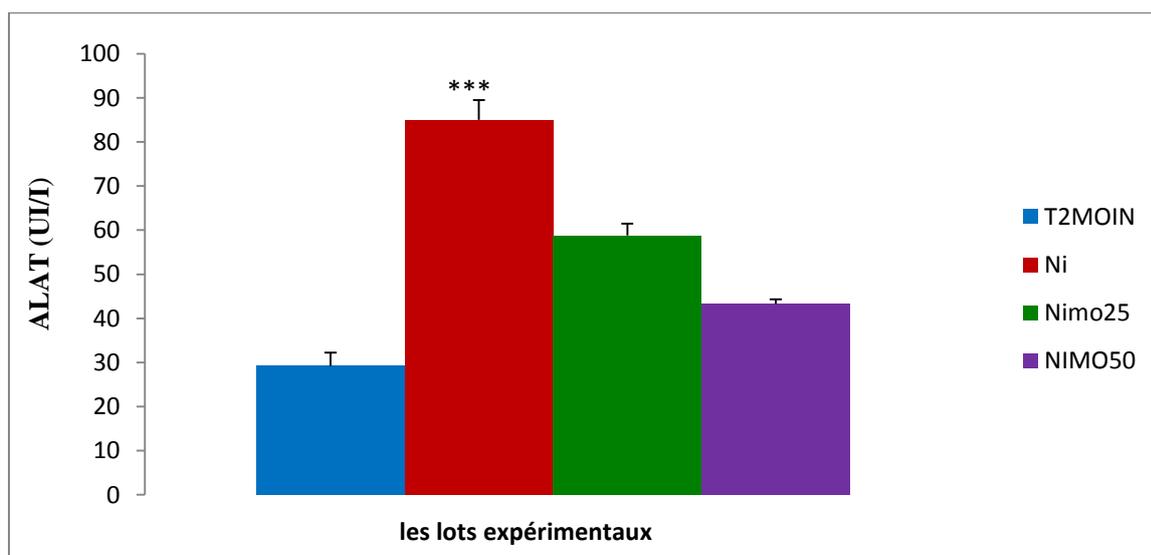


Figure 13 : Effets du chlorure de nickel et de la Mélisse sur la fonction hépatique : paramètre plasmatique ALAT (moyenne \pm SEM, *** $p < 0,001$)

Résultats et Interprétation:

Au total, l'augmentation de la libération de ces enzymes hépatique (AST, ALAT) dans le sérum est due probablement à la cytolysse hépatique induite par le chlorure de nickel, d'une part. D'autre part, l'administration simultanée de l'extrait aqueux de la mélisse et du chlorure de Nickel préserve la fonction hépatique (AST, ALAT) contre cette perturbation de la fonction hépatique provoqué par le Ni.

Discussion

Discussion

Les sels de métaux lourds sont généralement plus toxiques que les formes «métalliques»; c'est l'accumulation de petites doses dans le corps qui provoque à long terme des effets indésirables. Ces produits sont estimés comme des substances chimiques peuvent causer des difficultés pour la santé humaine par une large gamme de propriétés toxicologiques (**Zarn et al .,2003 ;EPA,2009**) Ils modifient le fonctionnement des cellules en troublant de nombreuses voies métaboliques (**Nesnow et al . ,2011**). Le foie a été considéré comme le principal organe cible intervenant dans la détoxification de l'organisme chez les rats exposés de façon chronique au Nickel (**EFSA ,2009**).

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

Les résultats enregistrés concernant le poids corporel. Montrent clairement que le poids des rats exposés au Nickel après 08 semaines est significativement inférieur à celui des rats témoins, Ces résultats obtenus est similaire à celui de (**Gautam et al .,2001 .,smith ., et al .,2008**) qui présente que le Nickel avec une dose de 2g /kg entraîne une baisse de poids corporel qui due une diminution de la prise alimentaire suite à une hépatotoxicité. La réduction de poids corporel est utilisée comme indicateur de la détérioration de l'état de santé générale du rat. Cependant, le poids corporel des rats intoxiqués par le nickel et traités par l'extrait aqueux de la mélisse reste normale aucune différence significative n'a été trouvée par rapport au lot témoin ce qui démontre l'absence de signe de toxicité.

Nous avons observé également une anémie chez les rats intoxiqués au chlorure de nickel. Cette dernière est présentée par la diminution significative des taux des globules rouges, hématocrite et l'hémoglobine comparés aux celles des témoins. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par **De Luca et al 2007**, lesquels ont montré que le nickel provoque une perturbation hématologique. La diminution de ces paramètres sanguins pourrait être due à l'action inhibitrice du nickel sur la ligne érythroïde. En effet, L'anémie une manifestation clinique de l'intoxication par les métaux lourds résulte à la fois de l'inhibition de l'activité de nombreuses enzymes. Les mêmes résultats ont été observés par plusieurs travaux menés sur des rats intoxiqués par le plomb (**Misoun 2010**).

Discussion

Nos résultats montrent également que l'intoxication au nickel provoque une hyperleucocytose (augmentation du nombre des globules blancs) chez les rats intoxiqués comparés aux témoins. Nos résultats concordent avec ceux de **(Weischer et al., 1980)**. L'effet hyperleucocytaire du nickel semble lié à son effet stimulateur du système immunitaire. L'augmentation des leucocytes par le nickel a été observé in vitro chez les allergiques **(Bucheval et Lundberg 2004 ; Minang et al 2005 et 2006)** et une augmentation du taux de réticulocytes chez des travailleurs ayant bu accidentellement de l'eau contaminée par du sulfate et du chlorure de nickel et de l'acide borique **(Sunderman et al., 1988)**.

On ce qui concerne les dosages biochimique de l'activité hépatique ; une augmentation claire de l'alanine aminotransférase (ALAT) et l'aspartate aminotransférase (ASAT) a été enregistré chez les rats intoxiqués par le nickel. Ces enzymes représentent les biomarqueurs de la viabilité des hépatocytes, confirmant ainsi l'effet destructif du nickel sur la membrane cellulaire par augmentation de la perméabilité cellulaire et par l'infiltration des enzymes intracellulaire. En accord avec nos résultats, **Dieter et al.1988 ;Novelli., 1998 ;Pardeep Sidhu.,2004 ; Sunderman et al.,1988 ;Pari et Prasath, 2008** ont montré que l'intoxication des rats par le nickel témoigne d'une dégénérescence des hépatocytes. Ainsi, le sulfate de nickel administré par voie cutanée ou orale provoque chez le rat des effets hépatiques qui se traduisent par un gonflement des hépatocytes, une nécrose focale et une vacuolisation accompagnés d'une augmentation de l'activité enzymatique du foie notamment de la Catalase, l'ALAT et l'AST, une augmentation du taux de lipides peroxydases et de la bilirubine.

De plus, les résultats obtenus révèlent que le nickel provoque une baisse significative du poids relatif du foie. Ceci est indirectement lié aux perturbations biochimiques et nécrose des cellules hépatiques. **Obone et al., 1999** montres que chez les rats males et chez les souris, le sulfate de nickel administre dans l'eau de boisson provoquent une chute du poids du foie.

En contrôlant le taux des paramètres hématologique des rats intoxiqués et traités par l'extrait aqueux de *Mélissa officinalis*, nous avant remarqué la disparition de l'état de l'animée induit par le nickel, ce ci peut être expliqué par l'effet chélateur de la plante ce qui induit la disparition de l'état de toxicité de nickel.

Discussion

L'administration de la Mélisse a empêché l'élévation sérique des activités des transaminases (AST et ALAT). L'effet cytoprotecteur de l'extrait de *Melissa officinalis* L. 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 M. A et al., 2001**). De plus, il est démontré que l'utilisation de composés antioxydant naturel diminue de manière importante la peroxydation des lipides, après une intoxication aux métaux lourds ce par la diminution de la production des EROs (Espèces Réactive de l'Oxygène) (**Halliwell B., 1994, Jone D. P., et al. 1995**).

Conclusion

&

Perspectives

Conclusion et perspectives

Le nickel est un polluant environnemental potentiellement carcinogène, il est utilisé plus ou moins dans les industries, il a de ce fait, des impacts néfastes sur les végétaux, les produit de consommations courantes et notamment sur la santé animale et humaine. L'exposition au nickel peut provoquer des effets toxiques sur de nombreux tissus en l'occurrence les reins, le foie, les poumons, le cerveau, l'hématopoïèse, et sur la reproduction. Actuellement le rôle joué par les antioxydants naturels dans la prévention contre le stress oxydatif généré par les métaux lourds et différentes pathologies a été clairement établie par différentes études.

Ce travail visait à élucider l'effet préventif de l'extrait aqueux de *Mélissa officinalis* L. vis à vis l'intoxication subchronique de chlorure de nickel chez les jeunes rats Wistar. Cette exposition au cours de la période de développement entraîne une chute de poids corporels des rats. Ce ci est dû à une diminution de la prise alimentaire.

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 intoxiqués par le nickel comparé aux rats témoins. La diminution de ces paramètres sanguins pourrait être due à l'action inhibitrice du nickel sur la ligne érythrocytaire. Nos résultats montrent également que l'intoxication au nickel provoque une hyperleucocytose chez les rats intoxiqués comparés aux témoins. L'effet hyperleucocytaire du nickel semble lié à son effet stimulateur du système immunitaire.

Les effets du chlorure de nickel au niveau hépatique ont été également explorés. Nous avons observé que l'administration de chlorure de nickel par voie orale chez les jeunes rats provoque une diminution du poids relatifs de foie. Les résultats montrent également une augmentation des enzymes ALAT et AST au niveau sérique, ce qui confirme l'effet destructif du nickel sur la membrane cellulaire des hépatocytes par augmentation de la perméabilité cellulaire et par l'infiltration des enzymes intracellulaire.

L'administration de l'extrait aqueux de *Mélissa officinalis* concomitante au rat intoxiqué par le chlorure de nickel tout au long de l'expérimentation, module de façon significative les effets nocifs de ce métal.

Conclusion et perspectives

En effet, la mélisse a permis d'empêcher l'apparition de plusieurs perturbations hématologiques. De plus, l'administration de la Mélisse a empêché l'élévation sérique des aminotransférases (ALAT et AST). Donc on peut dire que la plante possède un effet hépato-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 dévoile le pouvoir de l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* à préserver les systèmes hématopoïétique et hépatique contre le dysfonctionnement généré par le nickel.

Cependant, notre travail laisse entrevoir de nombreuses perspectives d'expérimentation afin de pouvoir approfondir la compréhension des mécanismes impliqués dans les effets protecteurs de la Mélisse contre l'intoxication au nickel, il serait intéressant d'étudier les modifications histologiques au niveau du tissu hépatique causé par le Nickel.

Il serait souhaitable de doser d'autres paramètres comme les enzymes antioxydantes comme la catalase, Superoxyde dismutase, le glutathion peroxydase.

Il serait intéressant de réaliser une étude phytochimique approfondie de la plante qui consiste à la purification et l'identification de ses composés actifs.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques :

A :

- _ **Adalis d, gardner de & miller fj (1978)** 'Cytotoxic Effects of Nickel on Ciliated Epithelium'. Am Rev Respir Di 118 : 347-354 .
- _ **Ahn j. et ehrenpreis e.d. (2002)** - Emerging treatments for irritable bowel syndrome - Expert Opin Pharmacother, 3 (1) - p. 9-21
- _ **Agata i., kusakabeh., hatano t., nishibes. et okuda t. (1993)** - melitric acids A and B, new trimeric caffeic acid derivatives from *Melissa officinalis* - Chem. Pharm. Bull, 41 (9) - p. 1608- 1611
- _ **Akhondzadeh s., noroozian m., mohammadi m.,ohadinia s., jamshidi a.h. et khani m . (2003)** - *Melissa officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease : a double blind, randomised, placebo controlled trial - J Neurol Neurosurg Psychiatry, 74 -p. 863-866
- _ **Allahverdiyev a., duran n., ozguven m. et koltas s. (2004)** - Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against Herpes simplex virus type-2 - Phytomedicine, 11 - p. 657-661
- _ **Awad r., muhammd a.,durst t., trudeau v. L. et arnason j. T. (2009)** - Bioassay-guided fractionation of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) using an in vitro measure of GABA transaminase activity - Phytother Res, 23 - p. 1

B

- Benson jm, carpenter rl, hahn ff, haley PJhanson rl, hobbs ch, Pickrell ja& dunnick jk (1987)** 'Comparative Inhalation Toxicity of Nickel Subulfide to F344/N Rats and B6C3F1 Mice Exposed for 12 days'. Fund. Appl. Toxicol., 9: 251-265.
- _ **Bolkent s yanardag r.,karabilut –bulan o. et yesilyaprak b. (2005)** - Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats : a morphological and biochemical study - J Ethnopharmacol, 99 - p. 391- 398
- _ **Beattied d.t. et smith J.a. (2008)** - Serotonin pharmacology in the gastrointestinal tract : a review - Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 377 - p. 181-203
- _ **Babulka P. (2005)** - La mélisse (*Melissa officinalis* L.) - Phytothérapie, 3 - p. 114-117
- _ **Borg k& tjalve h (1988)** 'Effect of thiram and dithiocarbamate pesticides on the gastrointestinal absorption and distribution of nickel in mice'. Toxicol Lett 42 : 87-98.

Références bibliographiques :

C

_ **Carnat a.p., carnat a., fraisse d. et lamaïsson j.l. (1998)** - The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea - *Pharm Acta Helv*, 72 - p. 301-305

_ **Chakrabarti sk & Chengjiang b.i (1999)** 'Role of oxidative stress in nickel chloride-induced cell injury in rat renal cortical slices'. *Biochem. Pharmacol.* 58: 1501– 1510.

_ **Christensen ob & lagesson v(1981)** 'Nickel concentration of blood and urine after oral administration'. *Ann Clin Lab Sci* 11: 2, 119-125.

_ **Choi.j.s. (1991)** - Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Prunus Davidiana* - *J nat prod*, 54 - p. 218-224

-**Chromium, nickel and welding.** In : IARC. monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol 49. Lyon : IARC ; **1997** : 1-16.

D

_ **Dastmalchi k., ollilainen v.,lachman p., boijeafgennas., dorman h.j., jarvinen p.p., ylikauhaluoma j. et hiltunen r. (2009)** - Acetylcholinesterase inhibitory guided fractionation of *Melissa officinalis* L - *Bioorg Med Chem*, 17 - p. 867-871

_ **Dastmach k., dorman h.j.d., oinonen p.p., darwis y., laakso i. et hiltunen r. (2008)** - Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract - *LWT*, 41 - p. 391–400

_ **Das kk & dasgupta s(2002).** 'Effect of nickel sulfate on testicular steroidogenesis in rats during protein restriction'. *Environ Health Perspect* 110 (9):923-6.

_ **Dieter mp, Jameson cv, Tucker an, Luster mi, frenchje, hong hl & boorman ga (1988)** 'Evaluation of tissue disposition, myelopoietic, and immunologic responses in mice after long-term exposure to nickel sulfate in the drinking water'. *J Toxicol Environ Health* 24 : 356-372.

_ **Dunnick jk, Benson jm, hobbs ch, hahn ff, Cheng ys & Eidson af(1988)** 'Comparative Toxicity of Nickel Oxide, Nickel Sulfate Hexahydrate, and Nickel Subsulfide after 12 Days of Inhalation Exposure to F344/N Rats and B6C3F1 Mice'. *Toxicology* 12: 145-156.

_ **Dupas d-** Allergie respiratoire professionnelle au nickel. Fiche d'allergologie- pneumologie professionnelle TR 41. Documents pour le médecin du travail. Paris : INRS ; **2008** : 6 p.

Références bibliographiques :

E

_ **Eau des carmes boyer (2011)** - Eau de mélisse [En ligne] - <http://www.eaudemelisse.com> (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 - p. 1-4

_ **Emamghoreishi m. et talebiyanpour m.s. (2009)** - Antidepressant effect of Melissa officinalis in the forced swimming test - DARU J Pharm Sci, 17 (1) –

_ **English jc , Parker rdr Sharma rp(1981)** 'Toxicokinetics of nickel in rats after intratracheal administration of a soluble and insoluble form'. Am Ind Hyg Assoc J 42: 486- 492.

F

_ **Fiche toxicologique** élaborée par l'ATSDR sur le nickel (2004) [en anglais]

G

_ **Gardner de(1980)**'Dysfunction of Host Defenses Following Nickel Inhalation Nickel Toxicology, S.S. Brown et F.W. Sunderman F W Jr (éd.), Academic Press, Londres (Angleterre).

_ **Geueniches., goffinet c., venzek s., nolkers.,baumann i., plinkert preichlingj. et keppler o.t. (2008)** - Aqueous extracts from peppermint, sage and lemon balm leaves display potent anti-HIV-1 activity by increasing the virion density - Retrovirology, 5 - p. 27

_ **Glaseru, hochrainer d, oldiges h et takenaka S (1986)** 'Long-term Inhalation Studies with NiO and As2O3 Aerosols in Wistar Rats', Proceedings of the International Conference on Health Hazards and Biological Effects of Welding Fumes and Gases, Copenhagen.

_ **Gouvernement de l'ontario, ministère de l'environnement.** « Le nickel dans l'environnement » (2001)

_ **Gruenwald j., brendler t. et jaenicke c. (2007)** - Physician's Desk Reference (PDR) for herbal medicines - 4 ème édition - Montval : Thompson - 1026 p

_ **Gruenwald j., brendler t. et jaenicke c. (2007)** - Physician's Desk Reference (PDR) for herbal medicines - 4 ème édition - Montval : Thompson - 1026 p

H

_ **Huangx, zhuang zx, frenkelk, klein Cb& osta m(1994)** 'Role of nickel and

Références bibliographiques :

nickelmediated reactive oxygen species in the mechanism of nickel carcinogenesis'. Environ Health Perspect 02: 281-284.

_ **Haley pj, shopp gm, benson jm, cheng ys, bice de, luster mi, dunnick jk& hobbs ch (1990)** 'The Immunotoxicity of Three Nickel Compounds Following 13-week Inhalation Exposure in the Mouse'. Fund. Appl. Toxicol15: 476-487.

_ **Haratakej, horie a , kodama y & tanaka i(1992)** 'Histopathologic Examinations of Rats Treated by Inhalations of Various Types of Nickel Compounds'.Inhal Toxicol 4: 67-79.

-**Henri moissan et léon victor rené ouvrard** .le nickel gauthier –villars et fils , Masson et Cie , 1896 (pp .8-13)

J

_ **Jegou c(1996)** 'Les hommes deviennent-ils moins fertiles? Moins de spermatozoïdes et de qualité moindre ? L'environnement en question'. La Recherche 288 : 60- 65.

_ **Johanson j.f. (2004)** - Options for patients with irritable bowel syndrome: contrasting traditional and novel serotonergic therapies - Neurogastroenterol Motil, 16 (6) - p. 701-711

L

_ **Lopes v., martins., gomez-serranillos m.p., carretero m.e., JAGER A. K. et calvo m.i. (2009)** - Neuroprotective and neurological properties of Melissa officinalis - Neurochem Res, 34 - p. 1955-1961

M

_ **Meter s., reeb c. et bosdeveix r. (2008)** - Botanique : Biologie et physiologie végétales - 2ème édition - Paris : Editions Maloine - 490 p.

_ **Millerr.,j.owe nss. et rorslett b. (2011)** - Plants and colour : Flowers and pollination - Opt Laser Technol, 43 - p. 282-294

_ **Mencherine t., piceron p., scesac. et aquino r. (2007)** - Triterpene, antioxidant, and antimicrobial compounds from Melissa officinalis - J Nat Prod, 70 - p. 1889-1894

-**Mond langer et quincke ; Métallurgie du nickel** .Rew .ind . 22, 434

N

_ **Nadjib. (2010)** - Dérivés phénolique à activités antiathérogènes - Thèse de doctorat : Chimie - Biologie - Santé, Université de Toulouse - 244 p.

-**Nielsen gd, andersen o& jensen m(1993)** 'Toxicokinetics of nickel in mice studied with the gamma-emitting isotope 57Ni'. Fundam Appl Toxicol 21:236-243.

Références bibliographiques :

O

_ **Oms (1999a)** - WHO monographs on selected medicinal plants - Volume 2 - Genève : Organisation Mondiale de la Santé (OMS) - 357 p.

_ **Ollier c. (2011)** - Le conseil en phytothérapie - 2ème édition - Reuil-Malmaison : Editions ProOfficina - 178 p.

P

_ **Penchevpi. (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.

_ **Petersen m., abdullah y., bennerj., eberld., gehlenk., hucherig s., janiek v., kimk.hh., sanderm., weitzelc. et wolters s. (2009)** - Evolution of rosmarinic acid biosynthesis - Phytochemistry, 70 - p. 1663-1679

_ **Petersen m. et simmonds m. S.j. (2003)** - Rosmarinic acid - Phytochemistry, 62 - p. 121-125

_ **pereira p., tyskad., oliveira p., da silvabruml.f.,picadaj.n. et ardenghi p. (2005)** - Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid - Pharmacol Res, 52 - p. 199-203

- **Pichard a-** Nickel et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Verneuil en Halatte : INERIS ; **2006** : 71 p.

_ **Reijo kk, anne kk& heikkii h (1998)** 'Effects of nickel chloride on reproduction of the rat and possible antagonistic role of selenium. Comparative Biochemistry and Physiology Part C 123: (1999) 27-37 .

_ **Rezuke wn, knight ja& sunderman fw jr (1987)** ' Reference values for nickel concentrations in human tissues and bile'. Am J Ind Med 11: 4, 419-426.

Robert C - CRC Handbook of Chemistry and Physics ; **(1988)**

S

_ **Schntzler p., schuhmacher A., astani a. et reichLing J. (2008)** - Melissa officinalis oil affects infectivity of enveloped herpesviruses - Phytomedicine, 15 - p. 734-740

_ **(Smialowicz et al.,1985, 1986; Spiegelberg et al., 1984; Dieter et al., 1988) Smialowicz RJ, Rogers RR & Riddle MM (1986)** 'Immunological studies in mice following in utero exposure to NiCl₂'. Toxicology 38:293-303.

Sobti RC& Gill RK. (1989) 'Incidence of micronuclei and abnormalities in the head of

Références bibliographiques :

spermatozoa caused by the salts of a heavy metal nickel'. Cytologia 54:249-254.

_ **Solomons nw, viteri f, Shuler tr & Nielsen fh (1982)** 'Bioavailability of nickel in man: Effects of food and chemically defined dietary constituents on the absorption of inorganic nickel'. J Nutr 112 :3 9-50 .

_ **Spiegelberg th, kordel w & hochrainer d (1984)** 'Effects of NiO Inhalation on Alveolar Macrophages and the Humoral Immune Systems of Rats '. Ecotoxicol. Environ. Saf 8: 516-525.

_ **Sunderman f w jr fw Jr (1993)** 'Search for molecular mechanisms in the genotoxicity of nickel. Scand J Work Environ Health 19:75-80.

T

_ **Thobuc. (2009)** - La mélisse officinale, *Melissa officinalis* L. - Thèse d'exercice : Pharmacie, Université de Nantes, n°18 - 136 p.

_ **Torjussen w, haug f & Andersen i (1978)** 'Concentration and distribution of heavy metals in nasal mucosa of nickel exposed workers and of controls, studied with atomic absorption spectrometry and with Timms' sulphide silver method. Acta Otolaryngol, 86 : 449-463.

_ **Torjussen, w, solberg ls & hogetveit AC (1979a)** 'Histopathologic Changes of Nasal Mucosa Nickel Workers: A Pilot Study Cancer 44: 963-974.

_ **Torjussen w, solberg la & hogetveit ac. (1979b)** 'Histopathological Changes of the Nasal Mucosa in Active and Retired Nickel Workers' Br J Cancer 40: 568- 579.

_ **Takenaka S, dochrainer d et oldiges h (1985)** 'Alveolar Proteinosis Induced in Rats by Long-term Inhalation of Nickel Oxide, Proceedings of the Third International Conference on Nickel Metabolism and Toxicology, Paris 88-92.

W

_ **Wang xx & zhu yz (2003)** 'Effect of nickel sulfate on gonad of female rats'. Chung- Kuo Kung Kung Wei Sheng ; China Public Health 19 : 946-7

_ **Weischer ch, kordel w & hochrainer d (1980)** 'Effect of NiCl₂ and NiO in Wistar rats after oral uptake and inhalation exposure respectively'. Zentrqbl Bakteriol Mikrobiol Hyg 171 (4-5) : 336 -51.

_ **Wehner ap, dagle ge & milliman em (1981)** 'Chronic Inhalation Exposure of Hamsters to Nickel-enriched' Fly Ash Environ Res., 26: 195-216.

Références bibliographiques :

Z

_ **Zhong z, troll w, koenig k& frenkel k. (1990)**'Carcinogenic sulfide salts of nickel and cadmium induce H₂O₂ formation by human polymorphonuclear leukocytes'
Cancer Res 50 : 5764-5770.