

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE Dr. TAHER MOULAY SAIDA

FACULTE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MASTER II EN BIOLOGIE

SPECIALITE : **BIOLOGIE.**
OPTION : **BIOCHIMIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE .**

PRESENTE PAR:

- MAHI Amina
- RAGGAD Karima

THEME:

*Evaluation de l'effet de l 'huile essentielle de syzugium aromaticum
sur les rats wistars intoxiqués par le plomb et le manganèse
(étude biochimique et histologique)*

Soutenu le : 13/06/ 2015 devant la commission d'examen :

Mme HADJAJ Nassima	(Université de Saida)	Présidente
Mr. KAHLOULA Khaled	(Université de Saida)	Examineur
Mr . SLIMANI Miloud	(Université de Saida)	Encadreur
Mr. ADLI D.E.H	(Université de Saida)	Co- Encadreur

Année Universitaire 2014/2015



Remerciements



Nous devons tout d'abord remercier Allah notre créateur, pour le courage et la patience qu'il nous a donnée afin de mener ce projet à terme.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et reconnaissance à l'égard de notre encadreur Professeur SLIMANI Miloud et notre Co-encadreur Mr ADLI D.E.H pour leurs aide, leurs constante disponibilité et ses précieux conseils qui ont permis à ce travail de voir le jour.

A Madame **Hadjaj Nassima** pour avoir l'honneur de présider ce jury,

A Monsieur **Kahloula Khaled** pour avoir accepté de faire partie de ce jury

Nous remercions profondément Dr Bouzouira Service Anapath CHU Sidi Bel Abbas. Et tous les professeurs de département de biologie pour ses encouragements, son soutien et ses conseils judicieux ainsi que tous les gens qui ont attribué à l'accomplissement de ce travail.

A toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail veuillez bien accepter ici l'expression de ma gratitude.

A nos collègues et nos amies pour les sympathiques moments, qu'on a passé ensembles.

Enfin, nous tenons à remercier l'ensemble des enseignants qui ont assuré notre formation tout au long de nos années d'études.



Dédicaces



Je dédie ce mémoire :
A mon père qui a éclairé mon chemin et qui m'a encouragé
et soutenue toute au long de mes études
A ma mère je suis ta fille et je t'aime de tout mon être
A mes chers et adorable frères et sœurs
Ibrahim, Aymen Elkhalil, Nabila, et Afef.
A mes chers oncles, tantes, leurs époux et épouses
A mes chers cousins et cousines
A tout mes ami(e)s , sans exception
A toutes les personnes qui ont participé a l'élaboration de
ce travail à tous ceux que j'ai omis de citer
Une spéciale dédicace a une personne qui compte déjà
énormément pour moi, et pour qui je porte beaucoup de
tendresse et de respect.

AMINA

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier les effets éventuellement protecteurs de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* sur certains paramètres biochimiques et histologiques chez des rats exposé de façon sub-chroniques au plomb et manganèse pendant la période de développement.

À partir de l'analyse de nos résultats, on observe une diminution considérable du poids corporel des rats exposé au plomb et au manganèse et une augmentation du poids absolu et relatif des organes prélevés (foie et rein) avec une diminution du poids des testicules.

Les résultats ont montré aussi des changements notables dans les paramètres biochimiques caractérisés surtout, par une augmentation significative de la concentration sérique du glucose, des triglycérides, de l'urée, de la créatinine,....,et une diminution de la concentration du calcium et du Fer chez les rats contaminés au plomb et manganèse par apport aux témoins .

Cependant, les activités des transaminases (TGO, TGP), ont présenté une augmentation remarquable chez les rats contaminés. L'addition de l'huile essentielle *Syzygium aromaticum* a amélioré certains paramètres biochimiques et surtout celle de la fonction rénale et hépatique.

Aussi, les résultats ont montré clairement des altérations de structures des tissus étudiés en comparaison avec les témoins, des hépatocytes irrégulières, inflammation et nécrose hépatique et dégénérescences tubulaires avec nécrose des reins.

En conclusion, la présente étude a montré que l'exposition au plomb et au manganèse a des effets toxiques sur les paramètres mentionnés précédemment, ainsi que l'huile essentielle du *Syzygium aromaticum* à améliorer certains paramètres et diminuer les altérations histologiques par la protection contre les effets toxiques de ces métaux.

Mots clés : Plomb, Manganèse, l'huile essentielle du *Syzygium aromaticum*,

Résumé

Abstrat

The objective of this work is to study the possible protective effects of essential oil of *Syzygium aromaticum* on some biochemical and histological parameters of a hand and the other hand on antioxidant status in rats exposed to sub way -chroniques lead and manganese for a period of gestation-lactation.

From the analysis of our results, there was a significant decrease in body weight of rats exposed to lead and manganese, and increased absolute and relative weights of donated organs (liver and kidney) with a decrease in the absolute and relative weights testicles. The results also showed significant changes in biochemical parameters especially characterized by a significant increase in serum glucose, triglycerides, urea, creatinine, ..., and a decrease of the calcium concentration and Iron in rats contaminated with lead and manganese intake witnesses. However, activities transaminase (GOT, GPT) showed a remarkable increase in infected rats. The addition of the essential oil *Syzygium aromaticum* has improved some biochemical parameters and especially that of the renal and hepatic function. Also, the results clearly showed alterations tissue structures studied in comparison with the control, dilated, irregular hepatocytes, inflammation and liver necrosis and tubular degeneration with necrosis of the kidneys. In conclusion, this study showed that exposure to lead and manganese has toxic effects on the parameters mentioned above, and the essential oil of *Syzygium aromaticum* improve certain parameters and reduce the histological changes by protecting against the effects toxic thereof.

Keywords: Lead, Manganese, essential oil of *Syzygium aromaticum*,

Sommaire :

Chapitre I : le Plomb

- 1- historique de l'utilisation du plomb
- 2- propriétés physico-chimiques du plomb
- 3- Les sources d'exposition
 - 3-1- La voie digestive
 - 3-2- La voie respiratoire
 - 3-3- La voie cutanée
- 4- Le transport sanguin
 - 4-1- Distribution dans l'organisme
 - 4-2- Excrétion du plomb
- 5- La toxicité du plomb
 - 5-1- Intoxication aiguë
 - 5-2- Intoxication chronique

Chapitre 2 : Manganèse

- 1- Manganèse
- 2- Historique
- 3- Propriétés physico-chimiques du manganèse
- 4- Les sources d'exposition
 - 4-1 – L'air
 - 4-2 – L'eau
- 5- Les principales activités industrielles
- 6- Sources d'exposition liée aux activités médicales
- 7- La toxico-cinétique du manganèse
 - 7-1 – Absorption du manganèse
 - 7-2 – Distribution et métabolisme
 - 7-3 – Excrétion
- 8- Effets toxiques du manganèse sur la santé humaine

Chapitre 3 : Les huiles essentielles

I- Les huiles essentielles

I-1- Définition

I-2 – Répartition et sites d'accumulation des essences dans les Plantes

I-3 – Fonction des huiles essentielles

I-4 – Les propriétés des huiles essentielles

II- Les techniques d'extraction des huiles essentielles

II-1 – La distillation

II-2 – Extraction par solvant

II-3 – Les autres techniques

III- Les facteurs de variabilités des huiles essentielles

IV- La conservation des huiles essentielles

V- Les domaines d'utilisation des huiles essentielles

VI- *Syzygium aromaticum*

VI-1 – Place et distribution dans le monde

VI-2 – Aspect Botanique de la plante

VI-3 – Classification botanique de la plante

VI-4 – Composition chimique des huiles essentielles de clou de girofle

VI-5 – Utilisation et propriétés thérapeutiques

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

1- Objectif

2- Le matériel végétal

3- Extraction des huiles essentielles

4- Calcul de rendement

5- Animaux d'expérimentation

6- Répartition des groupes

7- Préparation de la solution injectable de l'huile essentielle

8- Evolution du poids corporel

9- Prélèvement des échantillons

10- Dosage biochimique

10-1 – Dosage de la plombémie

- 10-2 – Dosage de manganèse
- 10-3 – Dosage de glycémie
- 10-4 – Dosage de l'urée
- 10-5 – Dosage des transaminases (TGO ; TGP)
- 10-6 – Dosage de créatinine
- 10-7 – Dosage de protéines totales
- 10-8 – Dosage de l'albumine
- 10-9 – Dosage de triglycéride
- 10-10 – Dosage de calcium
- 10-11 – Dosage de fer sérique
- 10-12 – Dosage de potassium
- 10-13 – Dosage de phosphore
- 10-14 – Dosage de sodium
- 10-15 – Dosage de chlore
- 11- Expression et analyse statistiques des résultats
- 12- Technique de préparation des coupes histologiques
 - 12-1 – La fixation
 - 12-2 – Inclusion
 - 12-3 – Coupes, étalement des coupes et coloration

Chapitre 5 : Résultats

- 1- Le rendement d'huile essentielle
- 2- La croissance pondérale et le poids des organes
- 3- Dosage biochimique
- 4- Impact de l'intoxication au plomb et manganèse sur l'architecture histologique des organes
 - 4-1 – L'effet du plomb et manganèse sur l'architecture structurale du foie
 - 4-2 – L'effet du plomb et manganèse sur l'architecture structural du rein
 - 4-3 – L'effet du plomb et manganèse sur l'architecture structurale du testicule

Chapitre 6 : Discussion

Conclusion

Introduction

Introduction :

Depuis quelques années, la pollution de l'environnement par les métaux lourds a pris de l'importance. Ces derniers sont naturellement présents mais en quantités très faibles dans les sols, l'eau et l'air et ne sont pas biodégradables. Ils s'introduisent dans l'environnement de diverses façons: extraction minière, utilisation de combustibles fossiles, comme le charbon, combustion de déchets, feux de forêt, fumée de cigarette. Certains métaux sont indispensables aux organismes vivant comme le manganèse (Mg), Mais, il est toxique à des niveaux élevés provoqués par l'exposition excessive lors du travail. **(Sepulveda et al., 2012)**

D'autres, par contre, ne sont pas essentiels. La toxicité de certains de ces métaux non essentiels, dont le plomb (Pb) est reconnue, même à de très faibles concentrations. Cette toxicité est renforcée par un phénomène de concentration dans l'organisme qu'on appelle bioaccumulation. Dans plusieurs études menées sur des travailleurs, l'exposition aux métaux lourds dans l'air a été associée à une augmentation de la mortalité **(CIRC, 2006)**. De plus. Une fois absorbés, ces métaux sont souvent difficiles à éliminer et la demi-vie de la plupart d'entre eux dans le corps humain est plutôt longue. **(Feillet et al., 2002)**.

De ce fait, l'importance clinique des thérapeutiques à base de plantes (phytothérapie) a reçu une attention considérable c'est dernier temps car elles présentent une riche source de médicaments parce qu'elles produisent une foule de molécules bioactives. **(Small et Catling , 2000)**. Produits comme métabolites secondaires par les plantes, les huiles essentielles interviennent dans plusieurs domaines, ils ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. **(Billerbeck, 2002)**.

Depuis des décennies, le clou de girofle, *Syzygium aromaticum*, est utilisé pour ses vertus culinaires et médicinales. Depuis d'autres propriétés lui ont été découvertes, comme par exemple un effet anti-inflammatoire, un effet antibactérien, des propriétés neuroprotectrices, anesthésique, anti-anaphylactiques et anti-oxydantes **(Dashti-R et al.,2009)** .

Le mécanisme d'action de l'huile essentielle du clou de girofle n'est pas encore tout à fait élucidé. En se basant sur les travaux antérieurs, nous avons envisagé de tester et d'évaluer l'effet de l'huile essentielle de la plante *Syzygium aromaticum* sur les différents

Introduction

marqueurs liés à l'intoxication au plomb et au manganèse chez les rats Wistar pendant la période de gestation et lactation , en insistant sur :

- Le plan biochimique : dosage des marqueurs du fonctionnement rénal (urée, créatinine) et du fonctionnement hépatiques (TGO, TGP, TG) ainsi la glycémie, Ca^{+2} , K^+ , Na^+
- Le plan histologique: suivre les perturbations causées par ces métaux nocifs et l'effet de la chélation par l'huile essentielle de la plante *Syzygium aromaticum* au niveau des organes les plus exposés : le foie, le rein et les testicules.

Généralités sur le plomb :

1- historique de l'utilisation du plomb :

le plomb a été des premiers métaux utilisés par l'homme des l'âge de bronze , il y a plus de 7000 ans . Du fait de sa relative disponibilité et de ses propriétés physico-chimiques (malleabilité, ductilité, bas point de fusion, propriétés anti corrosion), le plomb a été largement utilisé par les grecs et les romains comme pigments (oxyde de plomb) ou pour réaliser des canalisations, de la vaisselle, des pièces de monnaie, des toitures (**Pourrut , 2008**).

L'utilisation du plomb a ensuite explosé au cours de la révolution industrielle pendant la première moitié du XX^{ème} siècle , le plomb a été utilisé dans l'industrie , l'imprimerie et la peinture. Dans la seconde moitié du siècle l'utilisation dominante était liée aux carburants automobiles (le plomb était ajouté dans l'essence comme antidétonant) puis aux accumulateurs de voitures et industriels .

Depuis les années 1970 , le développement de nouvelles technologies , la prise en compte des problèmes environnementaux et de santé publique , ont conduit à la diminution ou à l'arrêt de certaines utilisations du plomb (canalisation, soudures, peintures, pesticides, antidétonant dans l'essence)

Dans les pays industrialisés la production secondaire (à partir de la valorisation des déchets) ne cesse de progresser par rapport à la production primaire à partir de minerai (**Ademe, 2006**)

2- Propriétés physico-chimiques du plomb :

Le plomb, du latin plumbum est un métal mou, gris, habituellement trouvé en petite quantité dans la croûte terrestre (0,002%). Il n'a ni goût ni odeur caractéristique. Il appartient au groupe IV A de classification périodique des éléments. Ses principales propriétés physico-chimiques sont présentées dans le tableau (1).

De configuration électronique $[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^{10} 6s^2 6p^2$, il possède 2 électrons non appariés sur la dernière couche. Cette configuration électronique autorise les degrés d'oxydation (+2) et (+4), en plus de la forme métal (0) (**Cecchi, 2008**).

Le plomb

Sept isotopes du pb (^{202}Pb , ^{204}Pb , ^{205}Pb , ^{206}Pb , ^{207}Pb , ^{208}Pb , ^{210}Pb) existent mais seulement quatre se trouvent à l'état naturel : ^{204}Pb (1,4%), ^{206}Pb (26,1%), ^{207}Pb (22,1%), ^{208}Pb (52,4%) (Brunet, 2008). Le plomb est un métal difficile à détruire, et non dégradable (Morlot, 1996) .

Tableau (1) : Principales propriétés physico-chimiques du plomb (Cecchi, 2008).

symbole	Pb
numéro atomique	82
masse atomique	207,2 g .mol ⁻¹
point de fusion	327 °C
Point d'ébullition	1740 °C
Densité	11,35
Configuration électronique	[Xe] 4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ² 6p ²
Valence	0,+2, +4
Rayons ioniques	
Pb ⁺²	0,94 à 1,49 Å
Pb ⁺⁴	0.78 0.94 Å

3- les sources d'exposition :

le plomb est essentiellement absorbé par l'appareil respiratoire et le tube digestif , par contre l'absorption par voie cutanée est considérée comme étant négligeable (Saka et al.,2011).

Les différentes voie de pénétration du plomb sont résumées dans le tableau (02).

Le plomb

Alimentation	Ingestion	Plantes contaminées par des retombées atmosphériques et/ou accumulation depuis le sol Gibier Stockage des aliments
Poussières	Inhalation	Poussières fines Fumées de cigarettes Emissions automobiles
Peintures	Ingestion Inhalation	Ecailles de peintures anciennes Poussières de peintures lors des travaux de rénovation Ingestion de sol par les jeunes enfants (pica)
Activité professionnelle / loisirs	Inhalation	Métallurgie du plomb Fabrication d'accumulateurs et de batteries Récupération des métaux Soudure Décapage des vieilles peintures Manipulation des pigments Poussières Activité de poteries imprimerie artisanale

Tableau 02 : voie d'exposition au plomb chez l'homme (**BRGM ,2004**)

3.1. la voie digestive :

La biodisponibilité du plomb dépend de sa solubilité dans le tractus gastro-intestinal " le pH des muqueuses digestives est très variable: de très acide au niveau de l'estomac, il devient faiblement acide dans le jéjunum et neutre ou légèrement alcalin dans le duodénum" donc le plomb est solubilise pour être absorbe hors l'acide chlorhydrique (**Botta et al., 1976**), le plomb ingéré est absorbe dans la région duodénale de l'intestin grêle (**Amdur, 1996**). Chez le rat, l'absorption varie avec la forme chimique : le carbonate de plomb est 12 fois mieux absorbe que le plomb métal. L'absorption diminue avec l'âge de 83 % pour un rat de 16 j a 16 % pour un rat de 89 j (**IARC, 1980**) et de 30-40 % chez l'enfant a 5-15% chez l'homme adulte (**Amdur, 1996**).

3. 2. la voie respiratoire :

Chez l'homme adulte, le plomb est mieux absorbe par les poumons que par le tractus gastro-intestinal ; L'absorption par voie aérienne dépend de la taille des particules et leur solubilité, les particules inferieur a 1µm atteignent les alvéoles pulmonaires et traversent le filtre alvéolocapillaire, les particules de 5 a 10 µm, piégées dans la partie supérieure de l'arbre respiratoire, sont évacuées par les mouvements ciliaires et déversées dans le tube digestif ou elles peuvent être absorbées. Lorsque 90% des particules avaient un diamètre de 0,01 a 0,1 µm pratiquement tout le plomb est retenu dans les voies respiratoires, et 35 a 50% du plomb total inhale passe dans le sang (**Taylor, 1986 et Venugopal; 1974**).

Chez l'animal comme chez l'homme, environ la moitié du plomb retenu est absorbée au niveau du tractus respiratoire inferieur (**Bonnard et al., 2006**).

3.3. la voie cutanée :

Le plomb inorganique ne franchit pas la barrière cutanée saine (Taylor, 1986). Seuls les composes organiques du plomb, liposolubles, utilisent cette voie (Botta et al., 1976).

4- Le transport sanguin :

Après absorption pulmonaire ou digestive, le plomb passe dans le sang où il se répartit entre forme fixée aux hématies (95%) non diffusible (**Ong et Lee, 1980**), probablement du fait de son affinité pour les groupements thiols membranaires et le reste diffuse dans le sérum. Il est ensuite distribué à divers organes et tissus (**Bonnard et al., 2006**). Les études de cinétique chez l'animal et l'homme indiquent que le pool sanguin et quelques tissus à échange rapide, possède une demi-vie de 35 jours (**Saka et al., 2011**).

4.1. Distribution dans l'organisme :

Le plomb passe dans la circulation sanguine, il peut être fixé et accumulé (os et dents principalement), mais aussi être libre et échanger à d'autres tissus (**Machelon, 2000**). Il se diffuse rapidement vers les différents organes comme le système nerveux central et périphérique ainsi que le foie, les reins et les muscles. La demi-vie du plomb dans les tissus mous est de 30 jours environ, mais elle passe de 1 à 10 ans dans les os (**Pichard, 2002**).

Des études réalisées avec des rongeurs (souris et rat) suggèrent qu'environ le tiers de la charge corporelle en plomb de la mère peut être excrétée dans le lait maternel durant l'allaitement (ATSDR, 1999).

La distribution corporelle du plomb est influencée par l'âge et la nourriture (une baisse de calcium alimentaire entraîne une diminution du taux de plomb rénal) (**Falcy et al., 1998**).

4.2. Excrétion du plomb :

Le plomb inorganique n'est pas métabolisé dans l'organisme. Le plomb inhalé non absorbé est éliminé par action mucociliaire trachéo-bronchique vers le tractus gastro-intestinal puis, comme le plomb ingéré, est absorbé ou directement éliminé par la voie urinaire (environ 80 %) (**IARC, 1980**). La concentration urinaire est proportionnelle au plomb plasmatique, de sorte que la quantité de plomb filtrée reste faible puisque l'énorme majorité du plomb sanguin est fixée aux hématies (**Bismuth et al., 2000**). Le reste est éliminé par la bile (environ 16 %), les sécrétions gastro-intestinales, la sueur et les phanères (environ 8 %), les fèces, la salive, les cheveux et les ongles (**Sugita, 1978**). En raison de sa similarité avec le calcium, il est excrété dans le lait (**Bonnard et al., 2006**). La quantité de plomb contenue dans les fèces reflète plus

le plomb non absorbé par l'intestin que le plomb excrété par voie biliaire (**Rabinowitz et al., 1978**).

5- La toxicité de plomb

Le Pb ne joue aucun rôle physiologique au sein de l'organisme, (**Kahloula., 2009**) mais il est toxique pour les systèmes hématopoïétique, rénal, reproducteur, cardiovasculaire et nerveux central et périphérique. Les symptômes de l'intoxication au plomb chez les adultes, s'ils sont présents, sont non spécifiques et varient considérablement entre les individus (**Karri, 2008**), et aussi selon sa forme chimique, la fréquence, la durée et la voie d'administration (**Nabil .M Ibrahim et al., 2012**).

5-1. Intoxication aiguë

L'intoxication aiguë par le plomb est rare et s'accompagne généralement de violentes douleurs intestinales (coliques de plomb) assorties de constipation et des troubles neuropsychiques. Elle peut avoir lieu aussi après absorption volontaire d'un sel de plomb ou lors d'une intoxication accidentelle. Elle ne peut résulter que d'une ingestion massive des doses élevées, supérieures à 2 000 mg/kg ou d'une administration parentérale (**Garnier, 2005 et Falcy et al., 1998**).

5-2. Intoxication chronique

La toxicité chronique reste un problème majeur de santé publique partout dans le monde, affectant des millions d'enfants et d'adultes (**Todd et al., 1996**), les signes cliniques d'exposition répétée au plomb sont peu spécifiques car les symptômes demeurent pour la plupart du temps discrets et insidieux. Les principales pathologies sont très variées et dissemblables (**Saka et al., 2011**).

5-2 .1. Effets digestifs :

Les signes comportent des douleurs abdominales d'intensité variable « des coliques du plomb » avec une douleur très intense accompagnée de vomissements, l'apparition au niveau des gencives d'un lisère bleuté (lisère de Burton) (**Vincent et Jeandel, 2002**) ainsi que d'une altération de l'état général. Il faut insister sur des phénomènes plus rares comme une discrète cytolysé hépatique et des crises de pancréatite aiguë (**Falcy et al., 1998**).

5-2.2. Effets sur le système nerveux central :

Le Pb peut provoquer des dommages irréversibles dans le développement de système nerveux chez l'enfant (**Boeckx, 1986**). Pour l'intoxication au plomb entraînant une plombémie inférieure à 1000µg/l, des troubles d'ordre neurologiques ont été observés chez l'adulte comme chez l'enfant : Irritabilité, trouble de sommeil, anxiété, perte de mémoire, confusion et sensation de fatigue chez les travailleurs dont la plombémie entre 260 et 660µg/l, les autres ont déclaré des perturbations de la mémoire, du temps de réaction et de labilité manuelle (**INERIS, 2002**). Des troubles du comportement portant en particulier sur l'hyperactivité, l'inattention, l'impulsivité sont également souvent associés à des plombémies supérieures à 110µg/l ou le taux de plomb dentaire supérieur à 8µg/l (**INERIS, 2000**).

5-2.3. Effets sur le système nerveux périphérique :

L'exposition à des niveaux très élevés (plombémie à 1200 µg/L) peut provoquer des paralysies partielles, en particulier au niveau des membres supérieurs. Plus souvent il s'agit d'atteintes mineures représentées par une symptomatologie essentiellement subjective : paresthésie, faiblesse musculaire, crampes, etc. (**INERIS, 2003**).

5-2.4. effets hépatiques :

Le foie est un organe ayant des fonctions métaboliques nombreuses et variées et l'étude de son état de fonctionnement se base sur la capacité à effectuer une fonction métabolique déterminée.

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

De plus, l'accumulation des quantités significativement élevée du Pb au niveau du foie est impliquée dans l'induction d'un effort oxydant importante ; et ce par une peroxydation de lipide avec l'inhibition concomitante de plusieurs enzymes antioxydants telles que la

superoxyde dismutase (SOD), catalase, glutathion peroxydase, le glutathion réductase. Ceci a été accompagné d'une augmentation simultanée en bisulfure de glutathion (GSSG) et d'une réduction du rapport GSH/GSSG (**Sandhir et Gill, 1995 ; Aykin et al., 2003**). L'exposition au Pb chronique augmente également l'activité de la phosphatase alcaline et α -glycérophosphate déshydrogénase qui pourrait être une adaptation aux changements métaboliques, structuraux et fonctionnels dans les organites des cellules hépatiques en raison de Pb (**Bashir et Taib, 2012**).

5-2.5. effets hématologiques :

Le plomb intervient à plusieurs points du métabolisme de l'hémoglobine, protéine essentielle au transport de l'oxygène dans le sang. Certains de ses effets s'observent à des niveaux très bas de plombémie (100 mg/L ou 0,48 mol/L) (**CSST, 2003**). Un de ces effets classiques du plomb est l'anémie avec des hématies à granulations basophiles avec ou sans hémolyse liée, d'une part, à l'inhibition de la synthèse de l'hème et d'autre part, à la réduction de la durée de vie des érythrocytes (**INERIS, 2003 et El kettani et Azzouzi, 2009**).

5-2.6. effets respiratoires :

Le PbO inhalé peut avoir des effets sur les macrophages pulmonaires. Des études ont montré que le nombre de macrophages pulmonaires était sévèrement réduit chez des rats inhalant du PbO en aérosols (**Cohen et al., 1994**). Le plomb a montré une incidence accrue de cancers pulmonaires (**Chanel et al., 1999**).

5-2.7. effets rénaux :

L'atteinte rénale de l'intoxication aiguë par le plomb se caractérise par une réduction de la capacité de résorption des composés de faible poids moléculaire, tels que les acides aminés, le glucose et le phosphate (**INSERM, 1999**).

La néphropathie provoquée par le plomb évolue vers une néphrite chronique interstitielle et une réduction de la filtration glomérulaire. Ces altérations apparaissent similaires à celles observées chez l'homme intoxiqué par le plomb se caractérise par une atteinte progressive de la fonction rénale et elle est souvent accompagnée d'hypertension. Dans certains cas, elle peut aller jusqu'à l'insuffisance rénale. Chez le rat, le seuil d'apparition des manifestations de néphrotoxicité se situerait à un niveau de plombémie de 600mg/l (**Goyer, 1979**).

5-2.8. effets sur la reproduction :

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

Chez les femmes ayant une plombémie moyenne de 150 µg/l, plusieurs études n'ont montré aucune augmentation du risque d'avortement spontané comparativement à un groupe témoin (**Murphy et al., 1990**). Cependant, une baisse de fécondité a pu être associée à un groupe de femmes qui présentait des plombémies comprises entre 290 et 500 µg/l (**Sallmen et al., 1995 ; Greenlee, 2003**).

Chez le rat in vitro, le plomb interrompt les liaisons cellules germinales-cellules de Sertoli et entraîne une perte des cellules germinales. In vivo, il est responsable de la fragmentation des noyaux spermatiques et d'un gonflement de l'acrosome des spermatides rondes. Une vacuolisation du cytoplasme des cellules de Sertoli avec gonflement du noyau (**Murthy et al., 1995**).

5-2.9. effets sur le développement osseux :

Les sels de plomb se fixent dans les différents tissus et en particulier au niveau de l'os ou entrant en compétition avec les ions calcium (Ca^{2+}) ils sont majoritairement stockés (80 à 90 % du plomb total) (**Wedeen, 1988**). Il se dépose à raison de 90% sous la forme de phosphates insolubles ou il s'insère dans le réseau cristallin de l'hydroxyapatite ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), le principal constituant du tissu osseux (**Moore et al., 1977**). Donc, le plomb pourrait augmenter la déminéralisation osseuse en inhibant l'activation de la vitamine D, diminuant la fixation du calcium et également en interférant avec la régulation hormonale du métabolisme osseux (**Silbergeld, 1991**).

Cela peut représenter un total de plus de 200mg pour individu sa demi vie dans l'os est très longue, de l'ordre de 1 an dans l'os trabéculaire et de 10 à 20ans dans l'os compact. Ainsi, l'os représente un intégrateur de l'exposition passé au plomb siège de l'accumulation du toxique. Ce dernier inhibe la production d'ostéocalcine par les ostéoblastes et suite à son absorption par l'hydroxyapatite par déplacement du calcium de ces sites de fixation sur l'ostéocalcine (**Rosem et al, 1994**).

5-2.10. effets cancérogènes :

Un certain nombre d'études menées sur l'animal ont montré que l'exposition à des sels de Pb est capable d'induire le cancer (**Waalkes et al., 1995**). Des tumeurs rénales ont été induites chez des rats exposés par voie orale à des concentrations élevées de certains sels de Pb (**Marcus, 1986**). La cancérogénicité du Pb chez l'humain a fait l'objet de plusieurs études épidémiologiques portant sur l'exposition professionnelle (**Kang, 1980**). Une étude réalisée chez des personnes ayant travaillé pendant au moins un an dans une fonderie ou une fabrique de batteries concluait à une proportion plus élevée de décès par cancer de l'appareil respiratoire (**IARC, 1982**).

1. Manganèse :

Le manganèse (Mn) est naturellement présent dans un certain nombre de formes physiques et chimiques dans la croûte terrestre, dans les particules de l'atmosphère et dans l'eau (**Prabhakaran et al., 2009**). C'est un oligoélément indispensable au fonctionnement normal d'un grand nombre de processus physiologique. Il joue un rôle fondamental comme cofacteur pour de nombreuses enzymes comme décarboxylase, hydrolase et kinase (**Aschner et al., 2007**) Ainsi au niveau cérébral, c'est un cofacteur important de la superoxide-dismutase et d'enzymes impliquées dans la synthèse et le métabolisme de neurotransmetteurs (**Gunter et al., 2006**). Il est aussi impliqué dans le métabolisme des lipides, protéines et carbohydrates (**Erikson et al., 2005**). Mais à des taux très élevés, il devient toxique pour l'organisme, bien qu'il soit un élément indispensable au bon fonctionnement de celui-ci (**Weiss, 2006**). Cependant le Manganèse malgré son importance pour l'organisme est connu pour sa neurotoxicité depuis au moins 150 ans (**ATSDR, 2000**) causant des dégâts irréversibles sur le système nerveux central (SNC) et entraîne entre autres une asthénie, irritabilité, instabilité émotionnelle ainsi qu'un dérèglement du cycle circadien (**Verhoeven et al., 2011**)

2. Historique :

Le manganèse est connu depuis la préhistoire. Des peintures de plus de 17000 ans utilisent le dioxyde de manganèse (MnO₂) comme pigment. Les Égyptiens et les Romains utilisaient des composés de manganèse dans la fabrication du verre pour le colorer (**Matías, 2008**)

Manganèse est un élément abondant qui a été découvert en premier par le chimiste suédois Scheele en 1771 (**Chin-Chang H, 2007**), en 1774, son associé Gottlieb Gahn, isola le métal de la pyrolusite. Bien qu'utilisé dans l'Antiquité, le minerai de manganèse ne fut réellement exploité qu'à partir du XIX^e siècle lorsque l'industrie métallurgique reconnut l'intérêt de ses propriétés réductrices (**Lauwerys et al., 2001**).

Le dioxyde de manganèse est la forme la plus courante de minerai riche en Mn, les composés du manganèse sont couramment utilisés dans la production d'alliages de ferromanganèse et des autres produits industriels, telles que les piles sèches, peintures, vernis, et les produits chimiques pour les lunettes de coloration et de tuiles ; et pour la verrerie. (**Chin-Chang H, 2007**)

3. Propriétés physico-chimiques du manganèse :

Le manganèse est présent dans plus d'une centaine de composés de sels et de minéraux communs que l'on retrouve dans les roches, les sols et au fond des lacs et des océans.

Le manganèse est un élément chimique, de symbole Mn et de numéro atomique 25. C'est un métal de transition gris-blanc qui ressemble au fer. Il est dur et fragile qui fond sans difficulté, mais il est facilement oxydé (Matias, 2008). Le manganèse a été trouvé comme Mn⁺², Mn⁺³, Mn⁺⁴ dans les tissus d'animaux et des humains.

Paramètres	Valeur
Couleur	Gris-blanc
Etat ordinaire	Solide
Point de fusion	1246°C
Point d'ébullition	1985°C
Energie de fusion	12,05 kJ·mol ⁻¹
Energie de vaporisation	226 kJ·mol ⁻¹
Volume molaire	7,35×10 ⁻⁶ m ³ ·mol
Masse atomique	54,938045 ± 0,000005 u
Rayon atomique	140pm
Densité	7,47 à 20 °C

Tableau 03 : propriétés du manganèse. (Bisson et al., 2012)

4. Les sources d'exposition :

4.1. L'air :

Le manganèse présent dans l'atmosphère sous forme particulaire est principalement à 80 % associé à des particules ayant un diamètre équivalent ou inférieur à 5 µm, ce qui favorise le transport aérien de ces particules (**INERIS, 2012**).

Le manganèse élémentaire et ses différents dérivés ne sont pas ou peu volatils. Leur présence dans l'air est essentiellement particulaire. Tels que : Le manèbe (C₅H₁₀NS₂Na) ou le mancozèbe (C₈H₁₂MnN₄S₈Zn). De même, le MMT (Methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl) est également rejeté dans l'atmosphère (**Lauwerys et al., 2001**).

4.2. L'eau :

Le manganèse présent dans l'eau peut s'y trouver à différents états d'oxydation (+2 et +4), à l'état soluble ou en suspension sous forme de complexes. La solubilité du manganèse dépend du pH, de l'oxygène dissous et de la présence d'agent complexant. Le chlorure et le sulfate de manganèse présentent une bonne solubilité (**Rodier, 1996 et Pascale, 2001**).

Le manganèse se trouve naturellement dans beaucoup d'eau de surface et sources de nappe phréatique et dans les sols dont les activités humaines sont responsables pour une grande partie de la contamination du manganèse dans l'eau dans quelques régions (**Cotruvo et al., 2011**).

5. Les principales activités industrielles :

Les principales activités industrielles susceptibles de provoquer une exposition des travailleurs au manganèse sont: (**Lauwerys et al., 2001 ; Weiss, 2006**).

- Certaines opérations de soudage nécessitant l'emploi d'électrodes dont l'enrobage ou

L'alliage constitutif contient du manganèse.

- La fabrication de piles sèches (bioxyde de manganèse).
- L'industrie métallurgique, qui utilise le minerai de manganèse pour produire différents alliages et le manganèse métal. Le manganèse est aussi utilisé comme agent réducteur et désulfurant lors de la production de l'acier. Le Mn entre aussi dans la composition

de certains alliages non ferreux (cuivre-manganèse, bronze au manganèse, aluminium-manganèse, nickel-manganèse) utilisés dans des machines nécessitant une forte résistance mécanique et dans l'industrie électrique.

6. Sources d'exposition liée aux activités médicales :

Le manganèse est un élément essentiel du régime alimentaire, il peut être introduit dans certains compléments alimentaires destinés aux êtres humains ou aux animaux (notamment sous la forme de carbonate, de sulfate et d'oxyde de manganèse) pour éviter les déficits. Plus spécifiquement le sulfate de manganèse est également utilisé en médecine vétérinaire et le carbonate de manganèse est un des éléments constitutif de produits thérapeutiques (Colzel, 2008). Un autre cas ou une toxicité par le manganèse pourrait être redouté, chez des patients présentant une hépatopathie chronique, la concentration sanguine en manganèse a tendance à augmenter, ce qui a suggéré que le manganèse pourrait jouer un rôle dans la genèse de l'encéphalopathie hépatique chronique (Louvain, 1999).

7. La toxicocinétique du manganèse :

7.1 Absorption du manganèse :

Plusieurs paramètres jouent un rôle très important dans l'absorption du manganèse tels que : l'espèce chimique, la solubilité du composé dans le milieu biologique considéré, ainsi que la granulométrie du composé. La voie principale d'absorption est pulmonaire pour les fumées et les poussières, les sels de manganèse sont plus rapidement absorbés que le dioxyde. L'absorption digestive ne joue qu'un rôle secondaire (5 %). L'absorption cutanée est très négligeable seulement dans le cas des dérivés organiques (INERIS, 2012).

7.1.1 Absorption digestive :

L'absorption digestive pourrait être stimulée en cas de déficience en fer (Finley, 1999; Davis et al., 1992). Le fer joue un rôle essentiel, car on estime que l'absorption digestive du Mn pourrait être stimulée en cas de déficience en cet élément. Une alimentation pauvre en protéines augmente l'absorption du manganèse, tandis qu'un apport de calcium ou de phosphore la diminue (INERIS, 2012). Comme le manganèse est principalement excrété par voie biliaire, il pourrait exister un cycle entéro-hépatique du manganèse (Louvain, 1999)

Comme le manganèse est principalement excrété par voie biliaire, il pourrait exister un cycle entérohépatique du manganèse. Les particules éliminées par le mouvement mucociliaire peuvent secondairement être ingérées et ainsi participer à l'absorption gastro-intestinale.

Des études ont montré que chez le nourrisson, le taux d'absorption du manganèse est extrêmement élevé, à la naissance, il approche les 99% (**INERIS 2012**). Ce taux diminue peu à peu avec l'âge pour se stabiliser chez l'adulte autour de 5,5%. Tandis que chez le rat l'absorption intestinale du dichlorure de manganèse a été estimée entre 2,5 et 8,2 % (**Pollack et al., 1965 ; Davis et al., 1987**).

L'absorption gastro-intestinale du manganèse est extrêmement complexe et elle n'est pas influencée seulement par la quantité du manganèse dans le régime. Un grand nombre de facteurs alimentaires affectent l'absorption du manganèse chez les humains (**Dorman et al., 2006**). Selon la granulométrie des particules en suspension dans l'air, le manganèse se dépose au niveau des voies respiratoires ou du compartiment alvéolaire. Les particules éliminées par le mouvement mucociliaire peuvent secondairement être ingérées et ainsi participer à l'absorption gastro-intestinale (**Lauwerys et al., 2001**)

7.1.2 Absorption pulmonaire :

L'absorption pulmonaire est importante en premier lieu chez les personnes exposées à une haute concentration de manganèse essentiellement les mineurs et les soudeurs, mais également pour toutes personnes vivant sous des grands rejets atmosphériques de ce métal (**Aschner, 2005**). Chez les travailleurs exposés au manganèse, l'absorption pulmonaire et permettrait l'accumulation au niveau du système nerveux et du foie (**Louvain, 1999**). Les particules qui se sont déposées au niveau des alvéoles pulmonaires sont quasi complètement solubilisées et absorbées. Une étude pratiquée chez le rat, visant à évaluer l'influence de la voie d'administration (orale, pulmonaire) et de la forme chimique du manganèse sur l'absorption et la distribution cérébrale du manganèse, a souligné l'importance de la voie pulmonaire et a montré que les dérivés solubles du métal sont plus rapidement absorbés que le MnO₂ (insoluble) (**Gabor, 2010**). Une autre étude expérimentale suggère que le manganèse présent dans les fosses nasales peut, via les neurones olfactifs, être transporté par voie rétrograde dans le système nerveux central (**Dorman et al., 2006**).

7.2 Distribution et métabolisme :

Dans le plasma, le manganèse est principalement fixé à la transferrine. Il se distribue dans tous les tissus de l'organisme. Lors d'une entrée supplémentaire de manganèse dans l'organisme, la teneur de cet élément augmente différemment selon les organes. Les concentrations les plus élevées de manganèse sont retrouvées (par ordre décroissant) dans la moelle osseuse, le cerveau, les reins, le pancréas et le foie. (INERIS, 2012).

Le manganèse peut traverser les barrières hémato-encéphalique et placentaires.

Le transfert de l'ion Mn^{2+} du sang dans le cerveau s'effectuerait par un mécanisme de diffusion facilitée (Rabin et al., 1993) ou de transport actif (Murphy et al., 1991; Aschner and Gannon, 1994). La localisation préférentielle du manganèse dans les noyaux gris de la base du cerveau est sans doute en partie responsable des manifestations toxiques dues à l'exposition prolongée excessive. (He et al., 2006), mais une élévation de la concentration sanguine du manganèse peut provoquer chez des patients souffrant d'insuffisance hépatique chronique (Louvain, 1999).

7.3 Excrétion :

La vitesse d'élimination du manganèse dépendrait également de l'organe dans lequel il se trouve : ainsi, il est éliminé plus rapidement du foie et de la rate et plus lentement du muscle, des organes endocrines et du cerveau (Dorman et al., 2006).

Le manganèse est principalement éliminé par voie fécale suite à sa sécrétion biliaire. La quantité normalement éliminée par les urines, la sueur et les phanères est très faible par rapport à l'excrétion fécale.

Le métabolisme du manganèse est rigoureusement contrôlé par des mécanismes d'homéostasie qui s'exercent principalement sur l'absorption gastro-intestinale et l'excrétion (Lauwerijs et al., 2001). Dans le corps humain, le manganèse est extrait du sang au niveau du foie où il est ensuite conjugué avec la bile. Le tout est ensuite excrété dans l'intestin et éliminé dans les fèces (colzel, 2008). Une partie du manganèse présent dans l'intestin peut être réabsorbé par la voie entéro-hépatique (Louvain, 1999). De faibles quantités de manganèse peuvent ainsi être trouvées dans l'urine, la sueur ou le lait (Johnson, 1999).

8. Effets toxiques du manganèse sur la santé humaine :

8.1. Toxicité aiguë:

L'intoxication aiguë par voie orale est exceptionnelle résulte de l'ingestion accidentelle ou volontaire d'un sel de manganèse (par exemple des comprimés de permanganate de potassium). Cette dernière substance est un agent oxydant puissant produisant une brûlure massive des voies digestives, un œdème des voies respiratoires supérieures et un collapsus circulatoire. Une nécrose hépatique et rénale peut aussi survenir . Signalons que chez l'animal la dose létale 50 de divers composés solubles du manganèse est comprise entre 400 et 830 mg Mn/kg (**Lauwerys et al., 2001**).

L'inhalation de fumées d'oxyde de manganèse peut, comme celle des oxydes de la plupart des métaux, engendrer un syndrome pseudo-grippal similaire à celui de la fièvre des fondeurs (fièvre, frissons, transpiration, nausée, toux) survenant 2 à 12 heures après le début de l'exposition et durant environ 24 heures lorsque l'exposition a été modérée. (**Pascale, 2001**). En cas d'exposition intense (probablement plusieurs mg/m³) aux fumées ou aux poussières de divers sels de manganèse, peut survenir une pneumonie chimique sévère. Elle se caractérise par de la fièvre, de la toux, de la cyanose, de la dyspnée, une expectoration visqueuse et les signes cliniques et radiologiques habituels de la pneumonie (**Lauwerys et al., 2001**).

8.2. Toxicité chronique :

Lors d'exposition chronique au manganèse, ce sont des atteintes du système nerveux central qui prédominent (manganisme). Les symptômes sont à la fois des troubles psychiatriques et des atteintes purement neurologiques. Les troubles psychiques précèdent habituellement les déficits moteurs (**Sriram et al., 2012**). Les poumons peuvent être aussi lésés (inflammation pulmonaire, pneumonie, fonction respiratoire réduite), en cas d'exposition chronique au manganèse (**Rémillard, 2009**).

8.3. Effets neuropathologiques :

Le système nerveux central constitue l'organe susceptible d'être en premier lieu affecté en cas d'exposition chronique excessive au manganèse. Généralement, ce sont les mineurs qui présentent les symptômes neurologiques les plus sévères. Le stade avancé de la maladie se manifeste par l'apparition de symptômes neurocomportementaux et de signes neurologiques, caractérisées par une dégénérescence des ganglions de la base et plus

particulièrement du globus pallidus. Ce désordre neurologique est très proche de la maladie de Parkinson et est appelé le Parkinson manganique (Sriram et al., 2012).

Par conséquent, dans certain cas la diminution des niveaux de manganèse dans le cerveau pourraient affecter le métabolisme énergétique, le pyruvate carboxylase, une enzyme astrocytaire, est une métalloprotéine de manganèse et son activité implique la présence de cet élément (Takeda, 2003).

On distingue trois phases dans l'évaluation de l'intoxication manganique (Chang Gong, 2007):

□ **Phase prodromique, infra-clinique ou d'installation** : qui dure pendant quelques mois, et qui est caractérisée par une symptomatologie vague, subjective et non spécifique accompagnée de changements comportementaux (céphalées, fatigue, troubles de l'humeur et de la mémoire, cauchemars, hallucinations, actes compulsifs, myalgie, diminution généralisée de la rapidité des mouvements).

□ **Phase clinique précoce, ou maladie débutante** : dure quelques mois, avec une symptomatologie neurologique caractérisée par l'apparition de manifestations extrapyramidales : dystonie sévère du tronc et des extrémités, démarche caractéristique dite du coq, perte de l'équilibre, tremblement au repos s'amplifiant lors des mouvements, faciès figé (masque manganique), troubles psychomoteurs, hyperémotivité, dysarthrie, crampes musculaires très douloureuses.

□ **Phase d'état** : apparaissant 1 à 2 ans après le déclenchement de la maladie et pendant laquelle le dysfonctionnement extrapyramidal devient net (parkinsonisme et psychose Maniaco-dépressive).

8.4. Effets sur les neurotransmetteurs :

Bien que de nombreux acides aminés jouent un rôle dans la neurotransmission, le glutamate (Glu), la glycine (Gly), et g-amino-butyrique (GABA) sont parmi les plus répandue et mieux compris. Glu, le neurotransmetteur excitateur majeur, et Gly et le GABA, les principaux neurotransmetteurs inhibiteurs. Dans le système nerveux central, sont connues pour être étroitement régulée. Une exposition prolongée au manganèse, peut conduire à une dérégulation de ces produits neurochimiques (Aschner et al., 2005).

L'exposition au Mn peut diminuer la concentration de GABA cérébral, mais pas Glu ou aspartate (**Takeda et al., 2002, 2003**), en affectant la globus pallidus(GP), mais pas la substance noire (SN) ou hippocampe (**Bonilla et al, 1994.; Takeda et al, 2002, 2003;. Zwingmann et al, 2003**). une accumulation de Mn, montrent également perturbations dans les niveaux de GABA dans les régions discrètes du cerveau (**Erikson et al., 2002a**). S'adressant à un besoin d'un mécanisme pour expliquer la réduction apparente de la concentration de GABA, **Camardiel et al. (2002)** ont montré que le traitement Mn conduit à une diminution des niveaux d'acide glutamique décarboxylase(GAD), enzyme régulant la synthèse du GABA.

D'autres ont proposé que l'inhibition des mitochondries astrocytaires par le Mn et la baisse en énergie qui en résulte serait causé par une diminution de l'absorption de Glu et la synthèse de GABA (**Zwingmann et al., 2003**)

8.5. Effets sur le métabolisme énergétique mitochondrial :

L'ion Mn^{2+} analogue du calcium, peut se substituer à celui-ci dans les cellules, en particulier au niveau du système nerveux central (**Gillet et al., 2010**). En effet, l'entrée du manganèse dans les mitochondries se ferait par le système de transport uniport du calcium. A l'intérieur de la mitochondrie, le manganèse inhiberait la sortie du calcium par le système de transport Na^{+} -dépendant, qui est le principal mécanisme de sortie du calcium au niveau des mitochondries cérébrales. Ainsi, les concentrations de manganèse et de calcium augmenteraient dans la mitochondrie. L'augmentation de la concentration en manganèse aurait un effet direct sur la fonction mitochondriale, en perturbant la phosphorylation oxydative (par fixation du manganèse sur la F1ATPase, protéine responsable de la synthèse d'ATP) (**Gunter et al., 2006**)

8.6 Effets sur le système respiratoire :

Les poumons sont aussi considérés comme l'un des organes ciblés par une exposition chronique au manganèse. L'inhalation de particules de Mn peut conduire à une réponse inflammatoire au niveau du poumon. Cette situation est caractérisée par une infiltration de macrophages et de leucocytes qui phagocytent les particules déposées.

Les dommages au tissu pulmonaire ne sont normalement pas importants mais peuvent inclure des zones d'œdème. Les symptômes et les signes d'irritation pulmonaire peuvent inclure une toux, une bronchite, une pneumopathie et des réductions mineures des fonctions pulmonaires.

Dans certains cas, une pneumonie chimique peut être observée chez les travailleurs exposés au Mn, les usines fabriquant du ferromanganèse et du permanganate de potassium. Elle se caractérise par de la fièvre, de la toux, une expectoration souvent très visqueuse, et les signes cliniques et radiologiques habituels de la pneumonie (**Rémillard, 2009**).

8.7 Effets Tératogène :

Des études sur l'animal ont démontré que le chlorure de manganèse était tératogène chez (souris, rat, lapin et hamster) (**Louvain, 1999**).

8.8 Effets Mutagène :

Des effets mutagènes ont pu être mis en évidence in vitro sur bactéries, levures et cultures de cellules de mammifères. Selon (**Kazantzis, 1981**) L'ion Mn^{2+} diminue la fidélité de la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) in vitro. D'autres études menées par (**Wafik et al., 1984**) ont montrés que le manganèse peut se substituer au Mg^{+} dans ADN polymérase, en augmentant le taux d'erreur lors de l'incorporation d'dNTP.

8.9 Effets Cancérogène :

Toutes les études menées chez l'animal et l'homme n'ont pas pu identifier le potentiel cancérigène du manganèse, par manque de données (**Gerber et al., 2002**). C'est pourquoi il est classé en classe D (substance non classifiable quant à sa cancérogénicité pour l'homme) par l'EPA (Environmental Protection Agency) (**IRIS, 2007**)

8.10 Effets hématologique :

Différentes altérations des paramètres hématologiques ont pu être observées expérimentalement chez l'animal. Ainsi, chez la souris, ont observé une diminution du nombre de globules rouges et de globules blancs et une diminution du taux d'hématocrite. Chez le rat, des injections quotidiennes de chlorure de manganèse par voie intrapéritonéale ont conduit à une anémie microcytaire hypo-chromique. Enfin, chez l'agneau, l'exposition à

des concentrations excessives de manganèse alimentaire diminuerait la formation de Hémoglobine (**Carter et al, 1980; Pascale, 2001**).

8.11 Effet Cardiovasculaire :

L'inhalation chronique de manganèse serait également responsable de troubles cardiovasculaires et de l'hypotension dans les cohortes professionnelles. (**Mordukhovich et al., 2012**) ont ainsi observé une pression sanguine moyenne plus élevée chez des ouvriers du secteur du ferromanganèse.

8.12 Effet sur la fonction de reproduction :

Un dysfonctionnement sexuel, une impuissance et une hyposexualité ont été observés chez des travailleurs exposés au bioxyde de manganèse (0,145 mg Mn.m³) (**JIANG et al., 1996**). Ainsi qu'une altération de la fertilité, mesurée en termes de diminution du nombre d'enfants par couples mariés, chez des travailleurs exposés aux poussières de manganèse. Ces données suggèrent que l'altération des fonctions sexuelles chez l'homme pourrait être l'une des manifestations cliniques précoces du manganisme (**Colzel, 2008**). Comme il n'est pas exclu que l'action neurologique centrale du manganèse entraîne une perturbation de certains mécanismes neuroendocriniens, influant ainsi sur la fonction de reproduction. (**Lauwerys et al., 2001**).

I. Les huiles essentielles:

Chaque fois, après avoir écrasé un pétale de fleur, une branchette, ou une quelconque partie d'une plante, un parfum se dégage, cela signifie qu'une huile essentielle s'est libérée (**Padrini et Lucheroni, 1996**).

I.1 Définition:

L'huile essentielle (HE) est le métabolite secondaire synthétisé par les plantes. Il est généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Elle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse, par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (**Milpied, 2009**).

Les composants aromatiques se distinguent des huiles fixes et des principaux lipides en ce sens qu'elles se volatilisent sous l'action de l'air et de la chaleur et si l'on tache un papier blanc, la marque ainsi imprimée se dissipe au bout de quelques instants (**Bardeau, 2009**). Elles sont utilisées depuis des millénaires en Chine, en Inde, au Moyen Orient, en Egypte, en Grèce, en Amérique Latine (Azèques, Mayas, Incas) et en Afrique (**Bastien, 2008**).

I.2 Répartition et sites d'accumulation des essences dans les plantes:

Les HE ne sont pas présents dans toutes les plantes: parmi 800 000 espèces végétales recensées, seules 10% sont capables de synthétiser une essence. Ces plantes sont alors dites "aromatiques" et appartiennent aux familles suivantes: Labiées, Umbellifères, Myrtacées, Rutacées, Lauracées, Térébinthacées, Conifères (**Degryse, Delphatet al. 2008; Bardeau, 2009**). Elles sont extraites du matériel végétal de divers organes: **Racine**(Vétiver)–**bulbe**(Ail)–**rhizome**(Gingembre) **Tige**(Petits grains)–**bois**(Bois de Rose, Cèdre, Santal)–**écorce**(Cannelle)– **Feuille**(Citronnelle, Eucalyptus)–**bourgeon** (Pin)–**sève**(Encens, Myrrhe) **Fleur**(Ylang-ylang, Rose, Lavande)–**fruit**(Orange)– **graine**(Muscade, Anis) (**Pibiri, 2005**)

I.3 Fonction des huiles essentielles:

Les plantes synthétisent une gamme extraordinaire de composés aromatiques, dont la fonction est loin de faire l'unanimité (**Small et Catling, 2000; Bastien, 2008**). Ces composés sont considérés comme des moyens de défense contre les ravageurs phytophages (**Bastien, 2008**). Ils sont aussi des "antibiotiques" au sens large, car ils protègent les plantes contre les champignons, les bactéries, les animaux et même les autres plantes (**Small et Catling, 2000**).

I .4. Les propriétés des huiles essentielles:

Les huiles aromatiques sont caractérisées par leurs propriétés physicochimiques et thérapeutiques:

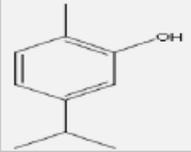
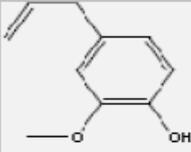
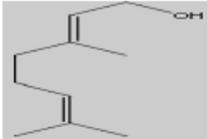
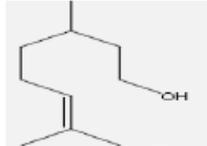
I.4.1.Les propriétés physicochimiques:

Les HE forment un groupe homogène quant à leurs propriétés physicochimiques:

- ❖ Ce sont souvent des liquides assez mobiles à quelques exceptions près (l'HE de santal est très visqueuse; celle de rose a un aspect butyreux).
- ❖ La coloration varie de l'incolore au brun clair.
- ❖ La densité est en général inférieure à celle de l'eau (de 0.850 à 0.950).
- ❖ Le point d'ébullition est supérieur à 100 C°.
- ❖ Les HE sont volatiles avec une possibilité de s'évaporer lentement à la température ordinaire et plus rapide à des températures plus élevées.
- ❖ Elles sont solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques et insolubles dans l'eau.
- ❖ Les composés des HE ont un pouvoir rotatoire définis: le D-limonène est présent dans les HE de citron et de petit-grain et le L-limonène est présent dans les HE d'*Abies alba*.
- ❖ Elles s'oxydent à la lumière et absorbent le chlore, le brome, l'iode avec dégagement de chaleur ,en outre elles se combinent avec l'eau pour former des hydrates.(**Roquebert, 2002**).

D'autres propriétés thérapeutiques sont également notées d'après plusieurs recherches entamées dans ce contexte .Il s'agit des effets figurants dans le tableau (04) :

Tableau04 :Classement et activité biologique de molécules aromatiques selon leur fonction Chimique(Mallem, 2003).

Composés aromatiques	Teneur des composants majoritaires dans quelques plantes	Formules développées	Activité biologique
<i>Phénols</i>	Thym (<i>T.vulgaris</i>) 33% Origan (<i>O.Vulgare</i>) 76%	 <i>Carvacrol</i>	Stimulantes, Toniques, Antiseptiques Bactéricides, Fongicides, Anti-virale Antiparasitaires, Irritantes
	Girofle (<i>S .aromaticum</i>) 82% Poivre (<i>P.dioica</i>) 54 %	 <i>eugénol</i>	
<i>Alcools terpéniques</i>	Palmarosa (<i>C1.martini</i>) 75-95%	 <i>Géranol</i>	Antiinflammatoire, Antiseptiques, Bactéricides, Fongicides, Anti-virale, Neurotoniques.
	Citronelle (<i>C1.winterianus</i>) 13%	 <i>Citronellol</i>	

I.4.2Composition chimique des huiles essentielles:

La composition chimique des HE est très complexe ,contient plus de 100 substances chimiques différentes avec 10 à 20 atomes de carbone qui peuvent être sous-divisées en diverses familles chimiques (**Charpentier, Hamon- Lorléac'het al. 2008**).

Il existe Trois principaux types chimiques:

- Les composés terpéniques
- Les composés aromatiques dérivés de phényl-propane
- Les composés d'origines diverses (**Charpentier ,Hamon - Lorléac'h et al.2008**).

A-Les composés terpéniques:

Les terpénoïdes (les terpènes), existent chez toutes les plantes et présentent la plus vaste catégorie de métabolites secondaires, avec plus de 22000 composés décrits. Le terpénoïde le plus simple est un hydrocarbure, l'isoprène (C₅H₈). La plupart d'entre eux sont des hydrocarbures monoterpéniques acycliques (*géraniol*) ou cycliques (*limonène*) (Voir Figure 10), des aldéhydes, des alcools monoterpéniques, des phénols et des cétones (Raven, Evert et al. 2003; Teuscher, Anton et al. 2005). Ils sont des substances importantes dans la chimie des plantes et participent à leur protection contre les agressions des champignons et autres bactéries (Collet, 2002).

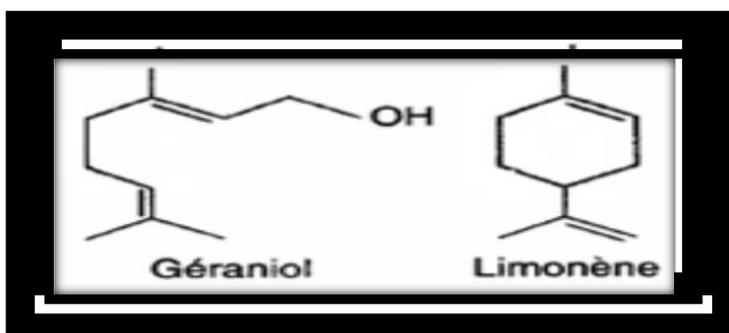


Figure 01 : Exemples des mono terpènes (Judd, Campbell et al. 2002).

B-Les Composés aromatiques:

Ce sont des composés dits: dérivés du phényl propane (C₆-C₃), qui se différencient des terpénoïdes par la présence de doubles liaisons et par leurs diverses fonctions, comme ils peuvent être accompagnés de leurs produits de dégradation par exemple des dérivés hydroxylés ou méthyles de l'alcool benzylique. (Teuscher, Anton et al. 2005).

C-Les Composés d'origines diverses:

Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles (composés issus de la dégradation d'acides gras ou de terpènes). Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruits (Bruneton, 1999).

II. Les techniques d'extraction des huiles essentielles:

La technique à employer devrait être choisie selon les caractères de la plante, apparemment il y a trois procédés principaux:

II.1. La distillation:

C'est une opération chimique qui sépare les principaux volatils de ceux qui ne le sont pas, dont il existe deux grandes méthodes. (Duraffoud et Lapaz, 2002) :

II.1.1. Hydro distillation:

Le procédé consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau avec quelque pierre poncé pour assurer le brassage de la solution, l'ensemble est porté à ébullition à pression atmosphérique dont la chaleur permet l'éclatement et libération des molécules odorantes contenus dans les cellules végétales .En passant dans un réfrigérant ;l'eau se condense et les deux phases sont récupérés dans une erlen meyer , une aqueuse (hydrolat) et l'autre organique (HE) .(Figure02) (**Bachelot,Blaise et al.,2006**). Le contenu de l'erlenmeyer est transféré dans une ampoule à décantier qui permet d'éliminer l'eau aromatique et il resèque l'HE .(**Willem, 2002**).

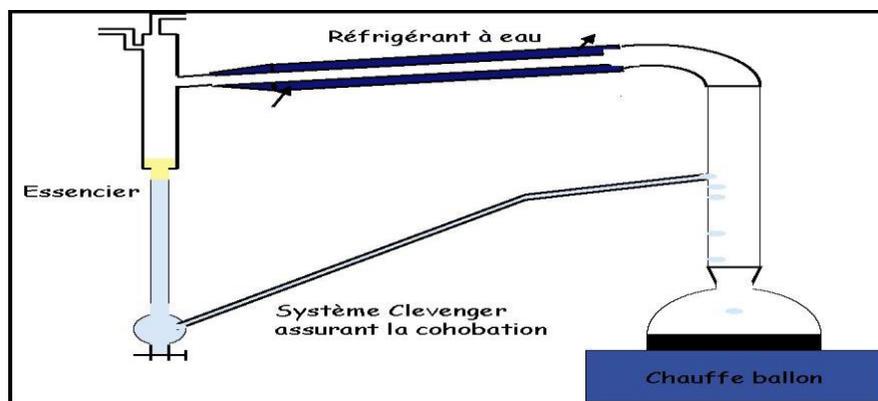


Figure02 : Schéma du montage d'hydro-distillation (**marie lucchesi 2005**)

II.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau:

Cette méthode est proche de l'hydro-distillation, la différence fondamentale est basée sur l'utilisation des aérosols de vapeur d'eau et cela représente l'avantage de ne pas mettre en contact l'eau avec des fleurs sensibles qui peuvent perdre leurs principes actifs (**Dumortier, 2006**). Une vapeur d'eau traverse une cuve (l'alambic) remplie de plantes aromatiques. A la sortie de la cuve et sous pression contrôlée, la vapeur d'eau enrichie de principes volatils, se condense et traverse un serpentin. L'eau et l'HE sont recueillis dans un essencier (va se florentin) dont la différence de densité entre les deux liquides permet une séparation aisée de l'HE. (**Zhiri et Baudoux, 2005**). (Voir Figure 03)

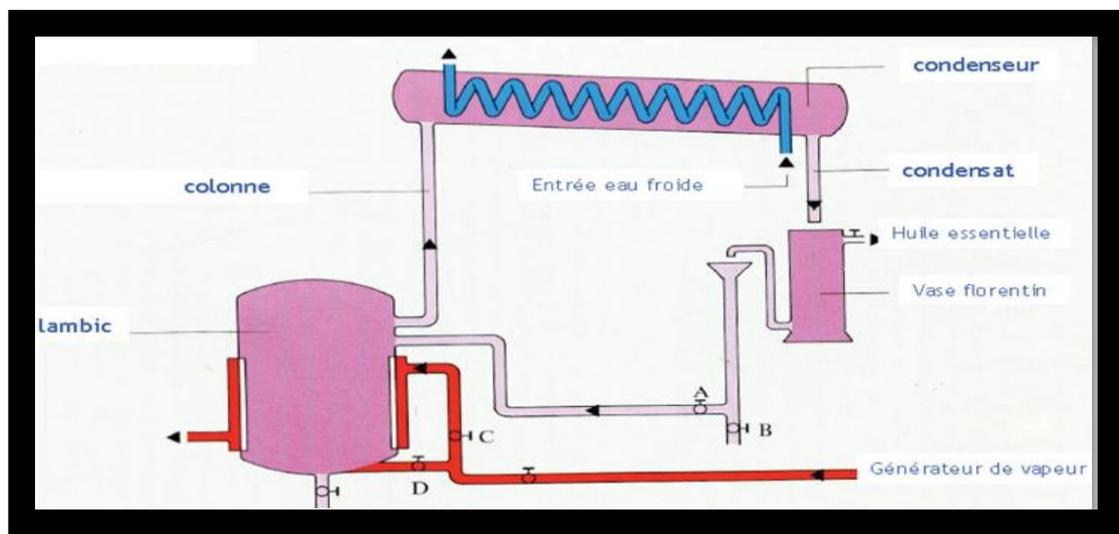


Figure 03 : la distillation des HE par entraînement à la vapeur d'eau. (**Smadja, 2009**).

II.2. Extraction par solvant:

Cette technique est utilisée pour des fleurs ne supportant pas la chaleur, elle consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil qui lave la matière première à traiter, ou il subira après décantation et concentration; une distillation partielle. Ce solvant est séparé de la concrète par filtration puis subira un glaçage de -12 à -15°C, ainsi que cette précieuse substance est à nouveau filtrée et concentrée à faible pression. (Mohammedi, 2006).

II.2.1. Extraction par Soxhlet:

L'extraction par Soxhlet permet aux vapeurs de passer dans le condenseur après avoir bouilli le solvant, cela lui permet de tomber goutte à goutte sur l'échantillon placé dans la cartouche. Notamment, un siphon permet de vidanger le réceptacle d'échantillon lorsque le solvant atteint son haut bras qui va par la suite être aspiré dans le ballon et entraîne avec lui les composés organiques extraits. Les solvants les plus utilisés sont: l'éther de pétrole, l'hexane, le dichlorométhane, le benzène, le chloroforme, l'éthanol et le méthanol (Anees, Abbas et al., 2010; Lau, Gan et al., 2010) (Voir figure 04).

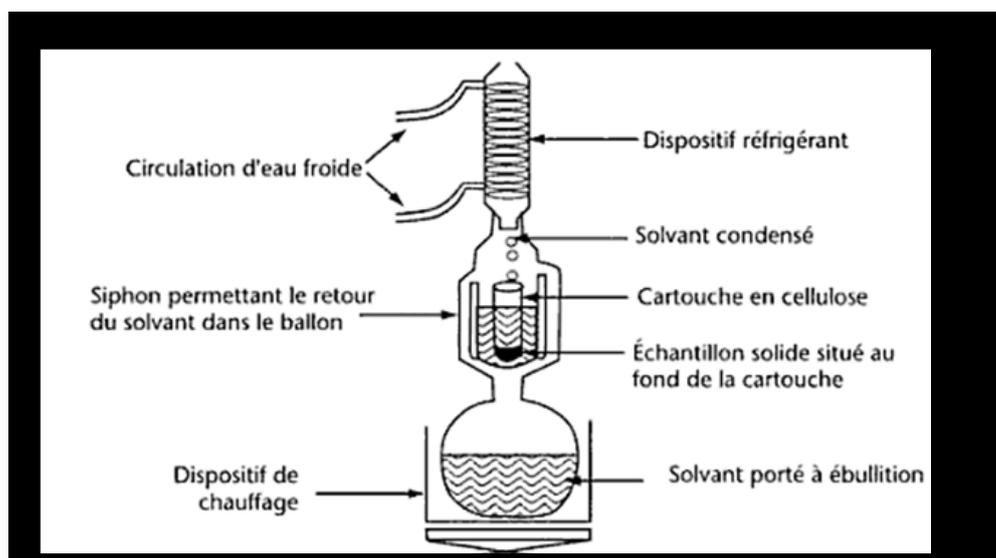


Figure 04 :L'appareil de Soxhlet(Calvet, Barriusoetal.,2005).

II.2.2. L'expression:

Cette méthode est utilisée pour les agrumes: les "zestes" sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices sont rompus et récupéré par un procédé physique qui consiste à exercer, sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface de fruit. Après élimination des déchets, l'HE est séparé par centrifugation. (DeBruneton, 1999).

II.3. Les autres techniques :

D'autres techniques peuvent être utilisées :

- la dissolution dans un corps gras. C'est la technique de l'enfleurage que l'on peut pratiquer à chaud ou à froid ;
- l'extraction à l'aide d'un solvant comme l'éther ou l'hexane.
- l'extraction par le gaz carbonique "supercritique ".

Ces techniques permettent d'obtenir des extraits de plantes qui théoriquement ne s'appellent plus HE, bien que très proches du point de vue chimique (Girard, 2010).

III. Les facteurs de variabilités des huiles essentielles:

La composition chimique et le rendement des HE varient selon: l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, lieu de séchage, la température, durée de séchage (Smallfield, 2001), ainsi que la partie de la plante utilisée, le matériel et les techniques employées pour la préparation (Duraffoud et Lapaz, 2002).

III.1. Variabilité au sein d'un même genre:

L'origine et la nature de l'HE sont deux critères de choix (Roux, 2008). Citant l'exemple des espèces de lavandes dont chacune a une composition chimique et une action thérapeutique spécifique. (Descheemaeker, 2003).

III.2. Variabilité en fonction du cycle végétal:

L'âge de la plante au moment de la cueillette est important, *Ocimum gratissimu* produit plus d'huile volatile des feuilles quand la plante est jeune (Sofowora, 2010).

III.3. Variabilité due aux caractéristiques écologiques:

Ils s'agit des facteurs de l'environnement et des pratiques culturales (L'apport d'engrais et l'influence des variations N,P,K), la température, la durée d'insolation et le régime de vents ; Ainsi les facteurs géographique et édaphiques influencent. (Bruneton, 1999).

III.4. Le polymorphisme chimique :

Le romarin renferme un composé majoritaire *cinéole* lorsqu'il est produit au Maroc ou en Tunisie par contre il contient *verbétone* lorsqu'il est produit en France ou en Corse (Degryse, Delphat et al., 2008), cela est di trace chimique ou "chimiotype" d'une même espèce botanique. (Garnéro, 1991).

III.5. Variabilité en fonction de l'organe considéré:

L'HE de cannelle de Ceylan contient du camphre, celle des feuilles contient de *l'eugénol*, celle de l'écorce est surtout formée *d'aldéhyde cinnamique* (Duraffoudet Lapaz, 2002).

III.6. Variabilité due à la transformation du matériel végétal:

Des modifications physiques et biochimiques due à l'action de l'air, soleil et l'échauffement, peuvent se révéler fâcheuse pour la qualité de l'HE, surtout s'ils' agit de fleurs (Garnéro, 1991).

III.7. Variabilité due au mode de récolte et d'extraction :

Pour un rendement optimal, les feuilles sont cueillies quand les fleurs commencent à s'ouvrir, les fleurs; juste avant leurs ouvertures et les organes souterrains (racines, rhizomes) avant que les parties aériennes commencent à ce faner et à mourir (Sofowora, 2010).

La composition finale de l'extrait huileux issue par hydro-distillation est différent de ce lui présent dans les organes sécréteurs (Menvielle-Bourg et Joanny, 2008) puis que l'eau, l'acidité et la température induisent l'hydrolyse des esters, des réarrangements, des racémisations, des isomérisations et des oxydations (Bruneton, 1999).

IV. La conservation des huiles essentielles:

Les HE se conservent parfaitement quelques années à condition qu'elles soient dans un endroit frais, à l'abri de la lumière et conditionnées dans des flacons en verre colorés ou opaques; on évitant les variations de température. Grâce a leurs qualités antiseptiques les problèmes de conservation sont moins fréquent (Grosjean, 2008).

V. Les domaines d'utilisation des huiles essentielles:

Les HE entrent dans la composition des parfums, des cosmétiques, des produits d'entretiens et le plus important dans l'aromathérapie grâce à leurs activités biologiques (OFSP, 2008).

A-L'aromathérapie:

Des HE couleures composés majoritaires sont utilisés pour tester leurs effets *in vitro* (Viollon et Chaumont,1994) et même *in vivo* sur des animaux afin de traiter certaines infections bactériennes provoquées par *Helicobacterpylori* chez la souris (Ohno ,Kita et al., 2003), ou de champignons opportunistes (Manohar, Ingram et al., 2001). Ainsi que le *géraniole* a une action sur les cellules cancéreuses du colon et sur de l'activité anti-inflammatoire. (Carnesecchi, Schneideret al., 2001).

B-Médecine dentaire:

Plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire et dans le traitement et la prévention des caries .(Chami,2005).Par exemple la *listerine*; une solution d'HE de *thymol* et d'*eucalyptol* utilisée pour le lavage de la cavité orale et des dents et qui possède une activité bactéricide au niveau de la salive et de la plaque dentaire(Kato, Lijimaet al., 1990).

C-Parfumerie et cosmétologie:

Presque 400 à 500 HE utilisées dans les parfums et les produits de toilettes dont ces essences les préservent grâce à leurs activités antiseptiques, tout en leur s'assurant une odeur agréable .(Roulier, 1992).

D-Industrie alimentaire:

Les HE sont utilisés dans la conservation des denrées alimentaire. (Hammer,Carson etal.,1999).Des travaux sur les HE de thym, de cannelle, d'origanon montrées un effet inhibiteur sur la croissance et la toxinogenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables d'infections alimentaires(Nielsen et Rios, 2000).

E-Désinfection des locaux:

Dans les locaux, on peut aseptiser l'atmosphère tout en utilisant des aérosols d'HE, forte ment bactéricide, acaricide et fongistatique. En plus elles sont utilisées comme agents d'hygiènes de l'air des systèmes de climatisation et milieu hospitalier. (Rhayour,2002).

VI. *Syzygium aromaticum*:

VI.1 .Place et distribution dans le monde :

Son origine se situe dans la partie sud des Philippines et petites îles des Moluques. Aujourd'hui, cet arbre est cultivé à basse altitude dans de nombreux pays tropicaux ou il est maintenu à l'état arbustif pour faciliter la récolte (Ghedira *et al.*, 2010).

VI.2. Aspect botanique de la plante:

Giroflier, *Syzygium aromaticum* (*S. aromaticum*), *Eugenia caryophyllus*, *Eugenia caryophyllata* ou *Caryophyllus aromaticus* (USDA, 2010), est un arbre toujours vert de grandeur moyenne qui peut atteindre de 8 à 15 m (Bardeau, 2009;) et tolère les terres fortes, fraîches (Pierre et Lys, 2007), il appartient à la famille des myrtacées (Auzias, Labourdette *et al.*, 2008).

Ces feuilles, de 8 à 10 cm de long (Ghedira, Goetz *et al.* 2010); sont ovales, persistantes, simples, coriacées, luisantes et ponctuées. Les fruits appelés "antofles" ou "mère de girofle", renferme une seule graine dont les fleurs sont hermaphrodites, régulières, disposées en cymes terminales (Bardeau, 2009).

Les clous de girofle ne sont que les boutons floraux de bonne et agréable odeur de *S.aromaticum* non épanouie (Voir Figure 05), desséchés, séparés manuellement de leurs pédoncules "griffe" et peuvent atteindre environ 1.5 cm de long. Ils sont récoltés dès qu'ils prennent une teinture rouge et tendant au brun foncé après séchage au soleil (Teyssou, 2007).



(A)



(B)



(C)

Figure 05 : le clou de girofle (A): la partie aérienne de l'Giroflier (B): Clou de girofle épanoui (C): clou de girofle non épanoui et Séché. (Elzebroek et Wind, 2008).

L'huile essentielle du *Syzygium aromaticum*

VI.3-Classification botanique de la plante:

Le giroflier est classé comme suit:

Règne :	<i>Planta.</i>
Sous-règne :	<i>Tracheobionta.</i>
Embranchement:	<i>Magnoliophyta</i> (=phanérogames).
Sous-embranchement:	<i>Magnoliophytina</i> (=angiospermes).
Classe :	<i>Magnoliopsida</i> (dicotylédones).
Sous-classe:	<i>Rosidae.</i>
Ordre:	<i>Myrtales.</i>
Famille:	<i>Myrtaceae.</i>
Genre:	<i>Syzygium.</i>
Espèce:	<i>Syzygium aromaticum.</i> (Ghedira, Goetz et al., 2010)

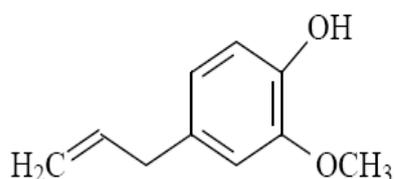
VI.4-Composition chimique des HE de clou de girofle de *S. aromaticum* :

Le clou de girofle contient de 15 à 20 % d'essence qui est incolore ou légèrement jaunâtre, à saveur piquante (Laredj, 2004). Cette huile est très importante grâce à sa composition chimique dont le constituant principal est l'eugénol de 80 à 90 % (Öztürk et Özbek, 2005).

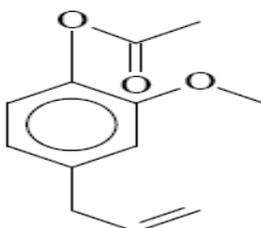
Le tableau suivant (tableau 05) présente la Composition chimique des HE de clou de girofle de *S. aromaticum* extraite par hydrodistillation (Baseri, Haghghi et al., 2008).

Tableau 05 :la composition chimique des HE de clou de girofle *S.aromaticum* extraite par hydrodistillation .(Baseri, Haghghi et al., 2008).

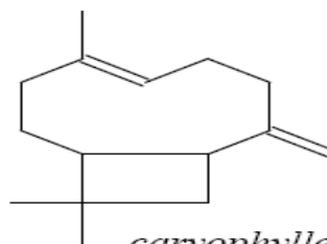
Constituants	Pourcentages
Eugénol	70-90%
Eugénol Acétate	10-15%
β - Caryophyllène	12%
Caryophyllénoxyde	12%
α - Humulen	12%



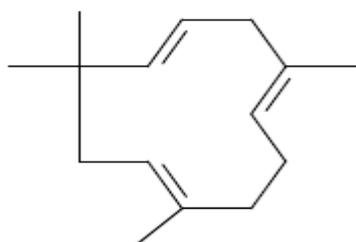
Eugénol



eugényl acétate



caryophyllène



alpha-humulène

Figure 06 : Quelques composés de l'huile essentielle des clous de girofle (Benzeggouta, 2005).

V1.5-Utilisation et propriétés thérapeutiques:

Le clou de girofle est utilisé comme une épice culinaire (Baudin, 1995) et mélangé avec d'autres épices tels que "curry" Indien, "rase el hanout" Marocain, "le galate dogga" Tunisien. Il sert à aromatiser des plats, sauces, charcuterie et pâtisseries (Bardeau, 2009) et il est également présent dans la composition de célèbres parfums (Prashar, Locke et al., 2006)

D'autres effets lui sont conférés tels que:

- **Antibactérienne :** l'huile essentielle de clou de girofle a des activités antiseptique, bactériostatique et bactéricide contre large spectre des bactéries notamment *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (Burt et Reinders, 2003)
- **Antifongique :** *Syzygium aromaticum* a une activité antifongique et inhibitrice d'élaboration de toxines de *A. Niger* et *A. flavus* (Al-Sohaibani et al., 2011).
- **Antivirale :** L'acide botulinique, l'acide oléanolique et l'eugéniine isolés de *S. aromaticum* ont des activités antivirales (Kashiwada et al., 1998).

L'huile essentielle de Syzygium aromaticum

- **Antioxydant** : l'extrait de clou de girofle a une activité de balayage comme antioxydants et a une importante activité hépato-protecteur contre les blessures du foie induite par le paracétamol chez les rats femelles (**Nassar et al., 2007**).
- **Antiparasitaire** : l'huile essentielle de *S. aromaticum* est très important pour le traitement de giardias (**Elmendorf et al., 2003**).
- **Stomachique** : clou de girofle a été utilise comme stomachique (**Yamahara et al., 1983**)
- **Les propriétés neuronale** : clou de girofle a été utilisé comme un stimulant nerveux et comme enhancer de la cognitifs, elles peuvent améliorer d'apprentissage et la capacité de la mémoire des souris (**Dashti-R et Morshedi, 2009**). L'eugénol a une action sur les récepteurs vanilloïdes. Ainsi, les effets analgésiques de l'eugénol seraient principalement expliqués par le blocage réversible des récepteurs vanilloïdes en inhibant la transmission douloureuse. De plus, l'eugénol pourrait aussi moduler la perception douloureuse grâce à son effet agoniste sur les récepteurs GABA (Acide γ -amino-butyrique) et son effet antagoniste sur les récepteurs du glutamate NMDA (N-méthyle-D-aspartate) (**Yang et al., 2003**). Étant le principal neurotransmetteur inhibiteur du SNC (système nerveux central), de plus l'eugénol inhibe les Ca_v (Canaux calciques à voltage dépendant), inhiberait aussi les canaux sodiques des neurones en périphérie ainsi que les neurones de la corne dorsale (**Park et al., 2006**) et retarderait leur activation, diminuant ainsi l'excitabilité neuronale (**Cho et al., 2008**).
- **Anti-inflammatoire** : L'HE de clou de girofle est un agent anti-inflammatoire, L'eugénol a des propriétés anti-inflammatoires, en inhibant la synthèse des prostaglandines et réduisant le chimiotactisme des globules blancs, et une action anti-agrégant plaquettaire (**Neu, 2011**).
- **sexuelle** : *Syzygium aromaticum* est bien connu pour sa propriété aphrodisiaque, et utilisé pour traiter les troubles sexuels masculins (**Jain et Defilipps, 1991**).
- **anti-cancérigènes** : l'Huile Essentielle de clou de girofle a été étudiée comme un agent potentiel anti-cancérigène (**Banerjee et al. 2006**).
- **Traitement de diabète** : le clou de girofle peut avoir des effets bénéfiques pour le traitement du diabète et indiquent un potentiel rôle comme insulino-mimétiques agents (**Prasad et al., 2005**).

L'huile essentielle du Syzygium aromaticum

- **Soin buccale :** L'huile essentielle de *S. aromaticum* est utilisée contre les bactéries de la bouche associées à la carie dentaire et les maladies parodontales (**Ueda-Nakamura et al., 2006**) et utilisée beaucoup en médecine dentaire pour sa propriété d'anesthésique local (**Kozam, 1977**) .

1.Objectif :

Notre objectif de travail consiste à extraire l'huile essentielle de la plante : *Syzygium aromaticum* ; pour but d'évaluer leur effet sur l'intoxication par le Plomb et le Manganèse sur les rats wistar au niveau des organes : rein, foie et testicules .

2. Le matériel végétal :

Syzygium aromaticum se trouve sur le marché tout au long de l'année, pour son importance majeure dans la culture Algérienne comme épice culinaire et même médicale. Les clous de girofle sont séchés et broyés à l'aide d'un broyeur électrique (à usage domestique) jusqu'à l'obtention d'une poudre qui sera conservée dans un bocal en verre hermétiquement fermé pour préserver sa qualité initiale. (Ogunka-Nnoka et Mepba, 2008)

3.Extraction des huiles essentielles :

Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation :

L'extraction des huiles essentielles des clous de girofle a été faite par la méthode de l'hydrodistillation classique au niveau du laboratoire de biologie– Université de Saida ; consiste à immerger directement le broyat de clou de girofle (50g) dans un ballon de 1 litres rempli d'eau distillée (500ml), l'ensemble est porté à l'ébullition pendant 5 à 8 heures. Les vapeurs chargées de substances volatiles traversent le réfrigérant se condensent puis elles sont récupérées dans une ampoule à décanter, l'eau et l'HE se séparent par différence de densité. (Wenqiang, Shufen et al., 2006)

Ensuite, l' H.E extraites est conservées à une température voisine de $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$, dans des tubes en verre opaque, fermés hermétiquement pour les préserver de l'air, de la lumière des variations de température qui sont des principaux agents de dégradation . (figure 07 et 08)



Figure 07: Montage d'un hydro distillateur.



Figure 08: Ampoule à décanté

4. Calcul de rendement

Le rendement en huile essentielle est déterminé comme le rapport entre le poids d'huile extraite et celui de la matière sèche utilisée (Bssaibis et al.,2009) .

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

R% :rendement en huile essentielle de matière sèche .

M :quantité d'huile récupérée exprimé en g .

M₀ :quantité de la matière sèche utilisée pour l'extraction exprimé en g .

5.Animaux d'expérimentation

Les expériences ont été réalisées laboratoire de biologie – université de Saida sur des jeunes rats albinos, souche Wistar âgés de 23 ± 3 jours (après sevrage) d'un poids corporel moyen de 45 ± 3 g .

Les animaux séjournent a une température ambiante de 22°C±4°C dans des cages conventionnelles menues d'un mangeoire et un biberon , ils ont libre accès a une nourriture standard , correspondant a un aliment standard commercialisé (al Alf) , un éclairage artificiel établit un cycle jour/ nuit (jour entre 7 et 19h) .

6. Répartition des groupes :

Lot témoin :

Constitué par des jeunes rats issus du premier accouplement qui reçoivent de l'eau de boisson dont on injecte de l'eau distillée par voie intra péritonéale pendant 15 jours après le sevrage .

Lot Pb-Mn :

Constitué par les jeunes rats issus du même accouplement qui reçoivent une solution contenant du chlorure de manganèse à raison de 4,79 mg/ml et acétate de plomb à raison de 2,84 mg/ml dans l'eau bi distillée , dont les administrent de l'eau distillée par voie intra péritonéale pendant 15 jrs après sevrage (Monila et al., 2011).

Lot Pb-Mn traité :

Constitué par les jeunes rats issus du même accouplement qui reçoivent une solution contenant du chlorure de manganèse à raison de 4,79 mg/ml et acétate de plomb à raison de 2,84 mg/ml dans l'eau bi distillée , dont les administrent la solution injectable par voie intra péritonéale pendant 15 jrs après sevrage .

7 . Préparation de la solution injectable de l'HE :

L'HE de *syzygium aromaticum* doit être diluée dans l'eau distillée stérilisée avec une goutte de tween 80 pour préparer une dose de 0.1 ml /Kg (Halder et al .,2011).

8. Evolution du poids corporel :

Le poids corporel de chaque rat a été noté chaque jour pendant la durée de l'expérimentation .

9 . Prélèvement des échantillons :

Nous avons procédé au sacrifice des jeunes rats à lieu le matin après un jeûne de 12 heures par injection intra péritonéale d'une solution de chloral ($C_2H_3Cl_3O_2$) à 10% (4 mg/kg) de poids corporel afin d'éviter tout stress , le sang est récupéré dans des tubes à hémolyse contenant un anti coagulant (héparine) ; les tubes seront conservés à 4 °C pour faire les analyses biochimiques . Ainsi que les organes (foie , rein, testicules) sont soigneusement prélevés , rincés par l'eau physiologique séchés puis pesés .

Ses organes sont destinés pour l'étude histologique , ils sont fixés dans le formol à 1/10ème salé et tamponné .

10. Dosage biochimique :

10.1. Dosage de la plombémie :

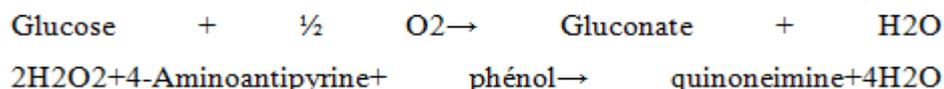
La concentration en plomb a été déterminée dans le sang par spectrophotométrie d'absorption atomique avec four de graphite Zeeman-correcté (spectres modèles A Perkin – Elmer 3030-B) et les valeurs ont été exprimées en µg /L dans le sang .

10.2. Dosage de Manganèse :

La concentration de manganèse a été déterminée dans le sang par spectrophotométrie d'absorption atomique avec four de graphite Zeeman, et les valeurs ont été exprimées en µg /L dans le sang .

10.3. Dosage de glycémie :

Le dosage du glucose est effectué sur le sérum après séparation du sang total. Le glucose sanguin est estimé en utilisant le **kit Bio Systems** selon les réactions couplées suivantes:



Un complexe coloré est estimé par spectrophotomètre à une longueur d'onde $\lambda = 500 \text{ nm}$.

10.4. Dosage de l'urée :

L'urée dans le sérum a été déterminée en utilisant le diacétylmonoxime ; l'urée est catabolisée par l'uréase en libérant de 2NH₃, le glutamate déshydrogène catalyse l'animation réductrice de l' α -cétoglutarate en présence de NH₃ et de NADH, H⁺, pour former le glutamate et le NAD⁺; la concentration de NADH, H⁺, directement proportionnelle à la concentration d'ammoniacque, est évaluée à 340 mn (Kits Biomatérieux).

10.5. Dosage des transaminases (TGO , TGP) :

Ce sont l'aspartate aminotransférase (ASAT) ou transaminase glutamoxaloacétique (TGO et l'alanine aminotransférase (ALAT) ou transaminase glutamopyruvique (TGP). Elles sont normalement présentes en faible quantité dans le plasma ou le sérum. Leur activité est élevée dans certains tissus, en particulier le foie (TGP, ou TGO à un degré moindre), le cœur

et le muscle (principalement TGO). En cas de nécrose de ces tissus, les enzymes sont libérées dans la circulation et leur activité sérique augmente (**Guyader, 2005**).

Les dosages ont été effectués à l'aide d'un spectrophotomètre de marque Mina plus

- RAC 040 Aind. C. les réactifs utilisés sont :

- TGO U.V Kinetic test code HBE06 IFCC;

-TGP U.V Kinetic test code HBE07 IFCC;

10.6. Dosage de créatinine :

La créatinine a été déterminée dans le sérum par la réaction de **Jaffé**, selon la description de **Cook (1975)**. La méthode utilisée pour le dosage de la créatinine est une méthode colorimétrique.

Créatinine + acide picrique (pH alcalin) → complexe jaune orange
La réaction s'effectue dans un milieu alcalin, et la créatinine présente dans l'échantillon réagit avec le picrate formant ainsi un complexe créatinine picrate. Le taux d'augmentation de l'absorbance à 500 nm dû à la concentration de la créatinine dans l'échantillon .

10.7. Dosage de protéines totales :

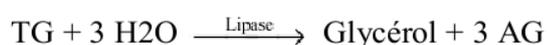
Les protéines totales sériques ont été dosés selon la méthode de (**Lowry et al, 1951**) en milieu alcalin, le complexe formé par les ions Cu +2 et les groupements tyrosine et tryptophane des protéines, est réduit par le réactif de folin . Il se développe une coloration bleue proportionnelle à la quantité des protéines de l'échantillon , celle-ci résulte à la fois de la réaction du Cu+2 sur les liaisons peptidiques et la réduction de l'acide phosphotungsto – molybdiqque pour la tyrosine , le tryptophane et la cystéine , la lecture se fait à une longueur d'onde 750 nm.

10.8. Dosage de l'albumine :

Le dosage d'albumine est effectué par la méthode colorimétrique (kit biosystem) , la réaction de l'albumine avec le vert de bromocrésol en milieu acide en donnant lieu à complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie a une longueur d'onde de 628 nm. (**Tietz et al.,1994**)

10.9. Dosage de triglycérides :

Nous avons utilisé la méthode **Fossati (1974)** pour le dosage les triglycérides dans le sérum respectivement. Elles reposent sur le dosage enzymatique du glycérol libéré après hydrolyse des triglycérides des lipoprotéines par la lipase.



Elle est effectuée à $\text{pH} = 9,4$ en présence de magnésium et d'hydrazine. On lit l'absorbance à 340nm.

10.10. Dosage de calcium :

La méthode utilisée pour le dosage du calcium est une méthode colorimétrique (**Kit Chronolab**). En milieu alcalin les ions de calcium forment un complexe violacé avec le complexon o-crésolphtaléine. L'intensité de la coloration est mesurée à 570 nm, elle est directement proportionnelle à la concentration de l'échantillon.

10.11. Dosage de fer sérique :

La méthode utilisée pour le dosage du fer, est une technique colorimétrique (**Kit Fer-Chronolab**). L'ion ferrique présent dans l'échantillon et uni à la transferrine est libéré par l'action du guanidinium, puis réduit à ferreux par l'acide ascorbique. L'ion ferreux forme un complexe coloré avec la ferrozine qui est quantifié par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 560 nm.

10.12. Dosage de potassium :

La méthode utilisée pour le dosage du potassium est une méthode colorimétrique (**Kit Chronolab**). Des ions potassium dans un milieu alcalin dépourvu de protéine réagissent avec tétraphénylboron de sodium pour produire une suspension trouble finement dispersée de tétraphénylboron de potassium. L'intensité de la coloration est mesurée à 578 nm, elle est directement proportionnelle à la concentration de l'échantillon.

10.13. Dosage de phosphore :

10.14. Dosage sodium :

10.15. Dosage de chlore :

11. Expression et analyse statistiques des résultats :

Les résultats sont exprimé par la moyenne (M) des valeurs individuelles , affectées de l'erreur standard a la moyenne (SEM) . la comparaison de deux moyennes est effectuée par un test Student (Fisher et Yates 1993) .

La comparaison de plusieurs moyennes est effectuée par une analyse de variance (ANOVA) avec le facteur d'intoxication (Pb Mn ,T) et/ou le facteur traitement (HE, solvant).

Les ANOVA a mesures répétées ont été utilisées pour l'analyse de facteur temps . une probabilité $P < 0.05$ est considérée significative ; $P < 0.01$ est considérée très significative et $P < 0.001$ est considérée hautement significative .

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SigmaStat 3.5 (SPSS.Inc., Chicago,IL, USA).

12. Technique de préparation des coupes histologiques :

Les organes prélevés sont soumis préalablement aux différentes étapes qui sont :

12.1 . la fixation :

Les organes sont rincés a l'eau physiologique (Na Cl 0,9%) puis fixés dans du formol à 1/10^{ème} salé et tamponné à pH 7 par le sulfite de sodium (Na₂So₃).

La fixation a pour but essentiel d'assurer une immobilisation des constituants cellulaires ou tissulaires dans un état aussi voisin que possible de l'état vivant (**Nzelof, 1972**).

La fixation est immédiate après le prélèvement pour empêcher une putréfaction (altération microbienne) du tissu par autolyse (destruction tissulaire par les enzymes qu'il contient en lui-même). Les organes séjournent 24 à 48 heures dans le fixateur et y seront totalement immergés.

12.2. Inclusion :

L'inclusion a pour but d'empêcher la fragmentation des tissus et d'enfermer le prélèvement dans une substance qui le pénètre et l'infiltré. Les tissus acquièrent ainsi une consistance qui permet d'obtenir des coupes minces au microtome.

La paraffine est une substance liquide a chaud , solide température ambiante , insoluble dans l'eau . il est nécessaire d'effectuer au préalable une déshydratation que l'on réalise le plus souvent avec l'alcool absolu.

La paraffine n'ayant pas davantage soluble dans les alcools, il faut ensuite passer le fragment déshydraté dans un milieu intermédiaire, soluble à la fois dans l'alcool et la paraffine (par exemple acétone, toluène, xylène, chloroforme...)

La déshydratation permet l'élimination d'eau d'organes en les plongeant dans l'alcool choisi(acétone) pendant un temps suffisant à degré croissant : alcool à 70° (acétone I) pendant 45 minutes , alcool 90° (acétone II) pendant 45 minutes et alcool absolu 100° pendant 45 minutes.

Toutes les réactions ont lieu dans des bacs fermés hermétiquement dans un lieu bien aéré ou sous haute aspirante à une température ambiante sauf le paraffinage à 56 C° ensuite les blocs sont refroidis au congélateur.

La durée de la déshydratation est en fonction du volume de fragments tissulaire

Un solvant de la paraffine est destiné à chasser l'alcool par trois bains successifs de toluène ou de xylène pendant 45 minutes.

A la sortie du dernier bain de paraffine, l'échantillon est déposé dans la paraffine fondue vierge que l'on coule dans des moules (cassettes d'inclusions ou moules d'inclusion); puis on laisse refroidir la paraffine dans le congélateur. Le refroidissement de cette paraffine amène sa solidification en un bloc prêt à être coupé. La durée totale de l'opération d'inclusion est de 24 à 48 heures suivant l'épaisseur de prélèvement .

12.3 . Coupes , étalement des coupes et coloration :

Le microtome permet d'obtenir des coupes dont l'épaisseur est de 3 à 5µm. La coupe proprement dite s'obtient par passage régulier de la pièce à couper devant la lame du microtome.

A chaque passage, celui-ci enlève une tranche d'épaisseur réglable. Les rubans de paraffine obtenus sont plissés et doivent être étalés sur un milieu liquide légèrement chauffé afin que les plis disparaissent et que la coupe acquière une planéité parfaite.

Le collage des coupes se fait sur une lame de verre qui est recouverte d'une solution d'albumine (2g d'albumine + 50ml de glycérine dans 1000 ml d'eau distillée) qui maintient la coupe sur la lame. Sur chaque lame de verre porte-objet est gravé le numéro d'identification du bloc.

L'étalement de la coupe se fait sur une platine chauffante réglée à une température de 40°C; inférieure à celle du point de fusion de la paraffine. Les coupes égouttées et mises dans des portoirs sont ensuite séchées à température ambiante jusqu'au moment de la coloration.

La paraffine est hydrophobe tandis que les colorants sont hydrophiles. C'est pourquoi la coloration des coupes comporte une étape de déparaffinage et de réhydratation. Cette étape est assurée par une succession de bains, d'abord dans deux bains d'un solvant permettant l'élimination de la paraffine (toluène ou xylène) et ceci durant 10 minutes à chaque bain. Puis

dans des alcools (éthanol) de titre décroissant, de 96° jusqu'à 50° durant 30 secondes à chaque bain, enfin rinçage à l'eau courante (1 minute) assurant la réhydratation finale.

Après réhydratation, la coupe est colorée, le but de la coloration est de renforcer le contraste et de rendre plus évidents les différents constituants cellulaires et tissulaires ainsi que les substances extrinsèques. Les lames ont été colorées à la coloration de l'émalunéosine, c'est la plus simple des colorations.

Il faut alors procéder à la déshydratation, opération inverse de celle menée au début, avant de pouvoir faire le montage, la déshydratation (éclaircissement) est réalisée en plongeant successivement les lames dans deux bains de toluène pendant 10 minutes.

Après coloration une goutte d'Eukitt de montage est disposée sur les coupes, une lamelle est appliquée de façon à ce que la résine recouvre l'ensemble de la coupe. Lors de la manipulation, aucune bulle d'air ne doit s'insérer entre la lame et la mamelle. L'Eukitt polymérise en une vingtaine de minutes mais on peut accélérer le processus en plaçant la lame sur une plaque chauffante à 50°C ou simplement sur un radiateur.

Après le montage, les lames sont rangées dans des boîtes spécifiques à l'abri de la poussière. L'observation des lames se fait au microscope optique.

1 . le rendement en huile essentielle :

L'huile essentielle a été extraite par la technique de l'hydro distillation à partir de la matière sèche de *S.aromaticum* . En effet, le rendement en HE a été calculé par le rapport entre la masse de l'HE obtenue et la masse de la matière sèche traitée , le rendement obtenu est 10.60% .

2. la croissance pondérale et le poids des organes :

Les résultats montrent une baisse significative (*P<0.05) des poids corporels chez les rats intoxiqués par le plomb et le manganèse comparativement aux rats témoins . de plus ils révèlent également une baisse significative (*P<0.05) des poids relatifs des organes (cerveau, foie , rein) chez les rats intoxiqués par rapport aux rats témoins .

Groupes	Témoin	Pb-Mn	Pb-Mn-HEC
Poids corporel (g)	93,03 ±2,30	66,88±2,25	77,17 ±1,28
testicule(g)	1,59±0,04	1,46 ±0,03*	1,53 ±0,01
foie(g)	8,66±0,4	6,33±0,9 *	6,63±0,2
Reins(g)	1,30±0,01	1,12±0,03*	1,19±0,1

Tableau 06 : Evaluation des paramètres pondéraux des quatre lots. Les valeurs sont exprimées en moyenne ±SEM :(*P<0.05)

3 . dosage biochimique :

3.1. Dosage de plombémie :

Les résultats obtenus de dosage de plombémie par l'utilisation de la spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA) montrent une augmentation significative (**P<0.01) du taux de plomb sanguin chez les rats intoxiqués par le plomb et manganèse par rapport aux rats témoins et une diminution chez les rats intoxiqués traités comparativement aux rats intoxiqués non traités .

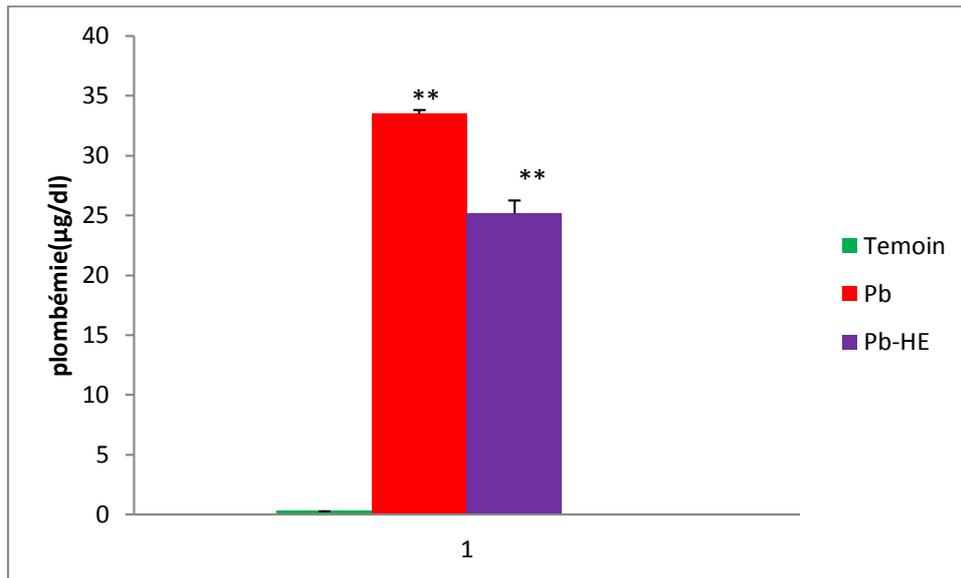


Figure 09 : comparaison entre le taux de plomb sanguin chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (**P<0.01).

3.2. Dosage de manganèse :

Les résultats obtenus de dosage de manganèse sanguin montrent une augmentation significative (**P<0.01) du taux de manganèse chez les rats intoxiqués par rapport aux rats témoins et une diminution chez les rats intoxiqués traités comparativement aux rats intoxiqués non traités .

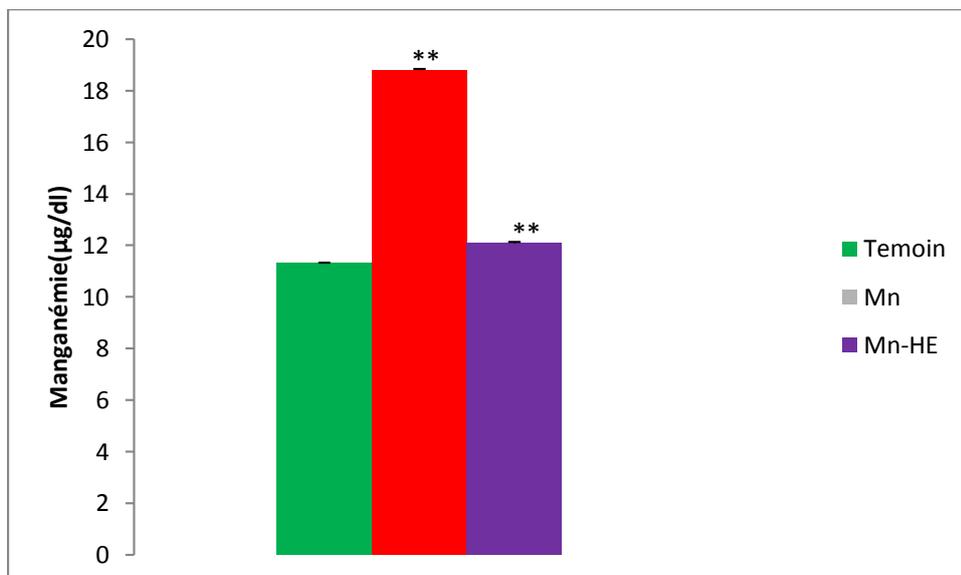


Figure 10 : comparaison entre le taux de manganèse sanguin chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (**P<0.01).

3.3 dosage de la glycémie :

Les résultats ont montré une augmentation significative de taux de la glycémie chez les rats intoxiqués au Pb Mn par rapport au témoins. Cependant, les rats intoxiqués et traités par l'HE ont présenté une augmentation significative (** P<0.01) de la glycémie

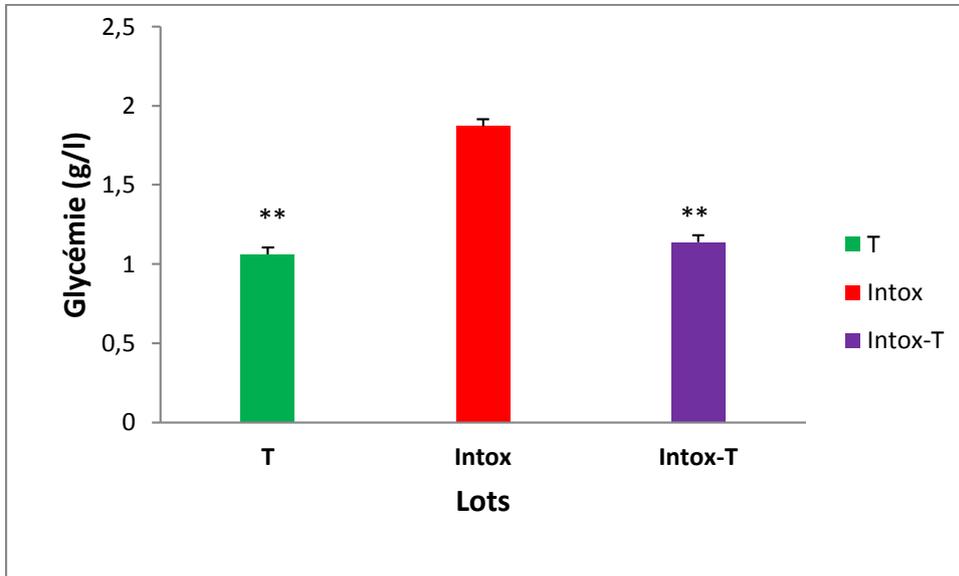


Figure 11 : comparaison entre le taux de glycémie chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (**P<0.01)

3.4.Dosage de l'urée :

Les résultats montrent une augmentation significative (*P<0.05) de l'urée sérique des rats intoxiqués par le plomb et manganèse par rapport aux rats témoins. D'autre part, le taux de l'urée est significativement diminué chez les rats intoxiqués traités par rapport aux rats intoxiqués non traités .

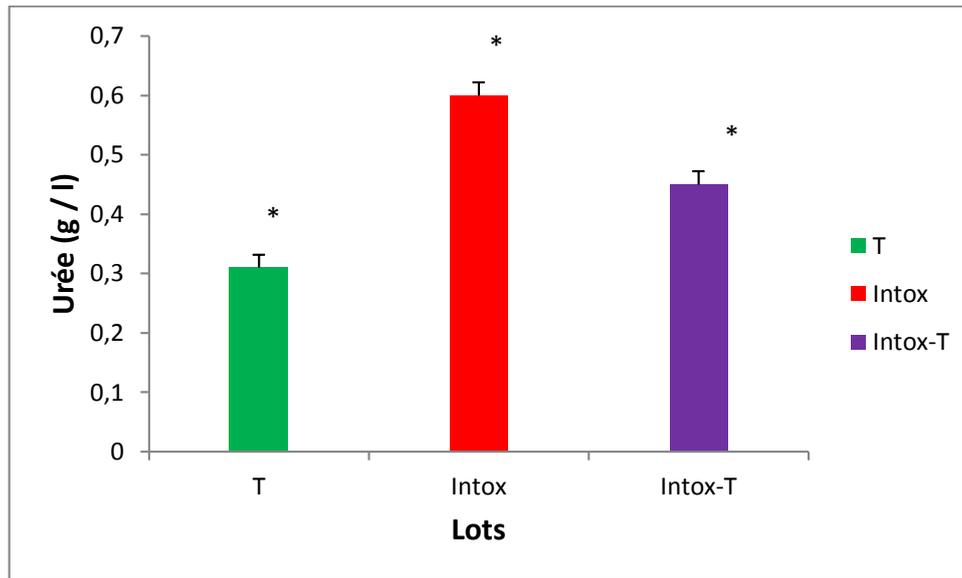


Figure 12 : comparaison entre le taux de l'urée chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P<0.05)

3.5. Dosage de TGO et TGP :

L'analyse des marqueurs de la fonction hépatique (figure 00 et 00) , indique qu'au niveau sérique l'activité de TGO et TGP est significativement élevée chez les rats intoxiqués au plomb et manganèse en comparaison avec les rats témoins (**P<0.01). Par contre , on remarque une diminution significative du taux de transaminases chez les rats intoxiqués traités par rapport aux rats intoxiqués .

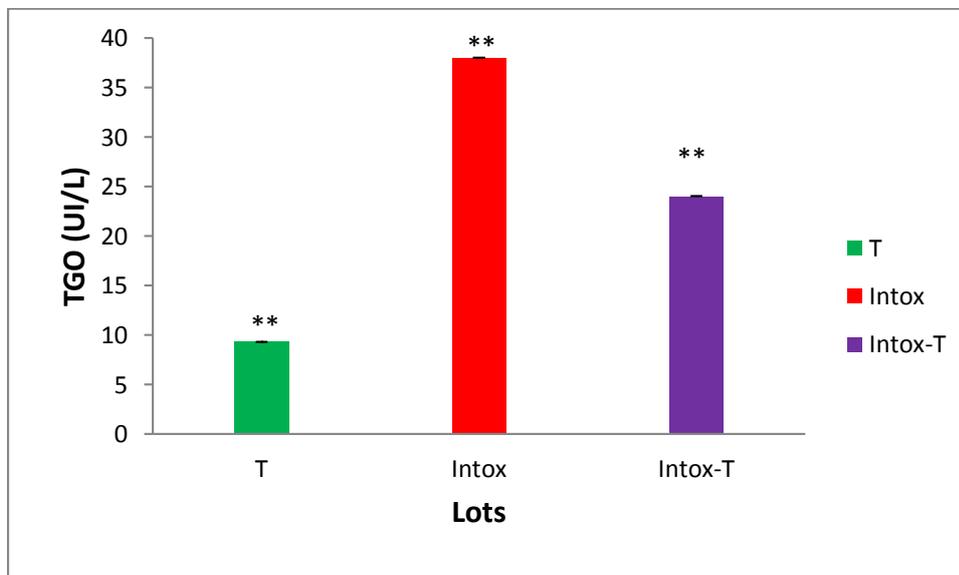


Figure 13 : comparaison entre le taux de la TGO chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (**P<0.01)

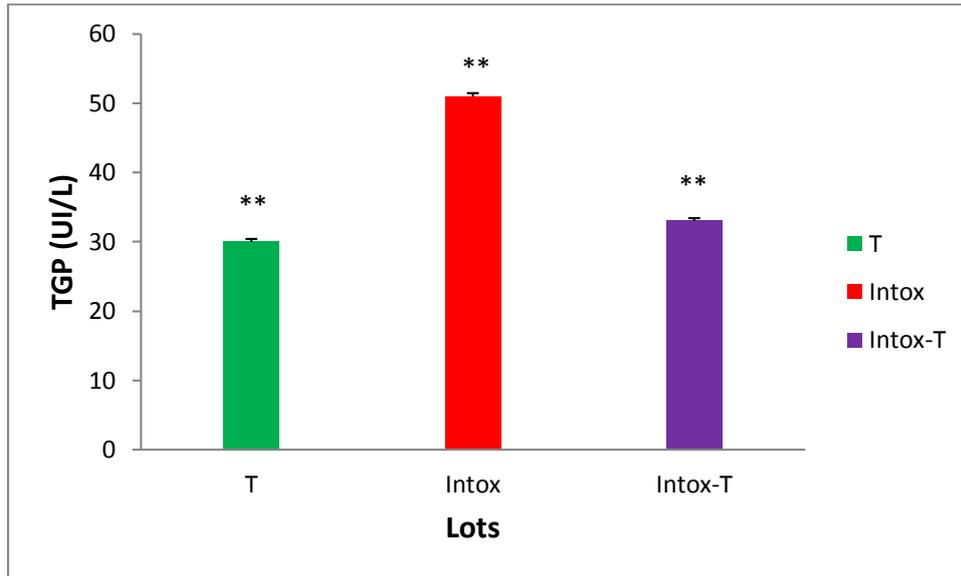


Figure 14 : comparaison entre le taux de la TGP chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (**P<0.01)

3.6. Dosage de créatinine :

Les résultats obtenus indiquent une augmentation significative (**P<0.01) de la créatinine chez les rats intoxiqués par le Pb et Mn par rapport aux rats témoins .En effet , ils montrent une diminution significative du taux de créatinine chez les rats intoxiqués traités comparativement aux rats intoxiqués non traités .

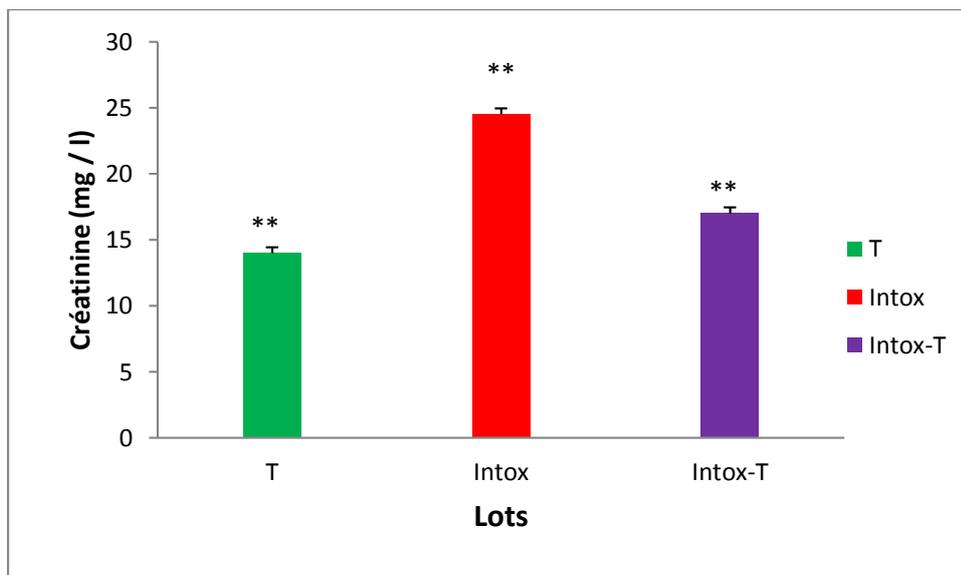


Figure 15 : comparaison entre le taux de la créatinine chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (**P<0.01).

3.7. Dosage des protéines :

Les résultats d'analyse montrent une diminution très significative (** $P < 0.01$) des protéines totales chez les rats intoxiqués au plomb et manganèse par rapport aux rats témoins et une augmentation significative chez les rats intoxiqués traités par l'HE de *S.aromaticum* par rapport aux rats intoxiqués .

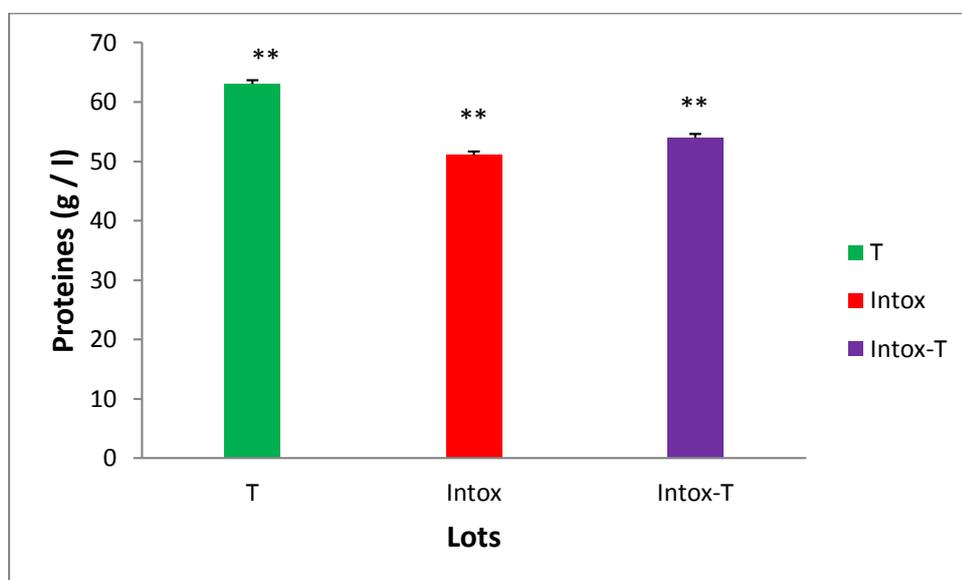


Figure 16 : comparaison entre le taux des protéines chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (** $P < 0.01$)

3.8. Dosage de l'albumine :

Les résultats indiquent une diminution significative (** $P < 0.01$) de l'albumine dans le sang des rats intoxiqués et intoxiqués traités par rapport aux rats témoins .En outre , ils révèlent une augmentation significative (** $P < 0.01$) du taux d'albumine chez les rats intoxiqués traités par rapport aux rats intoxiqués.

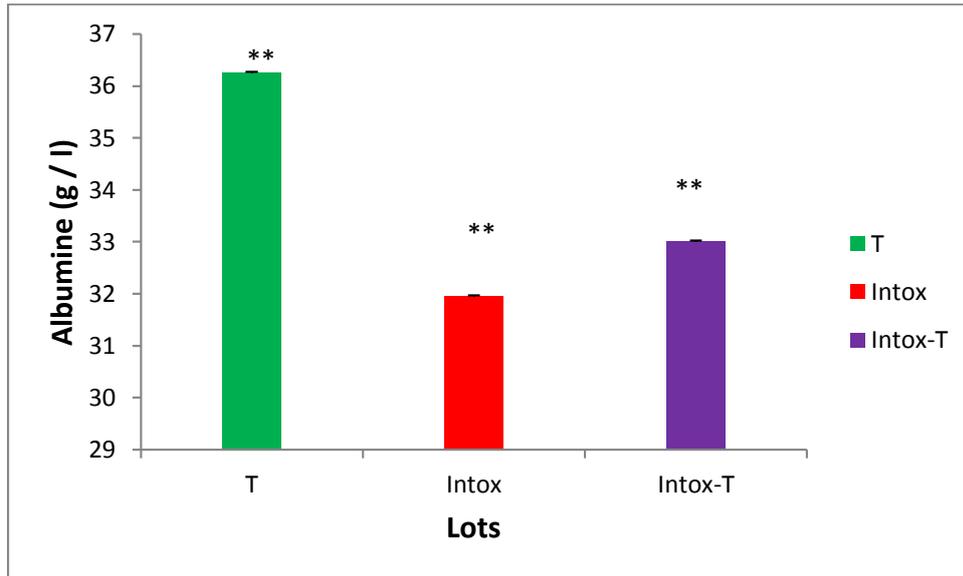


Figure 17 : comparaison entre le taux de l'albumine chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (**P<0.01)

3.9. Dosage de triglycérides :

Les analyses montrent une augmentation hautement significative (***P<0.001) du taux de triglycérides dans le sang des rats intoxiqués par le Pb et Mn et de rats intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* comparativement au rats témoins .De plus, ils indiquent une diminution significative du taux de triglycérides chez les rats intoxiqués traités comparativement aux rats intoxiqués non traités.

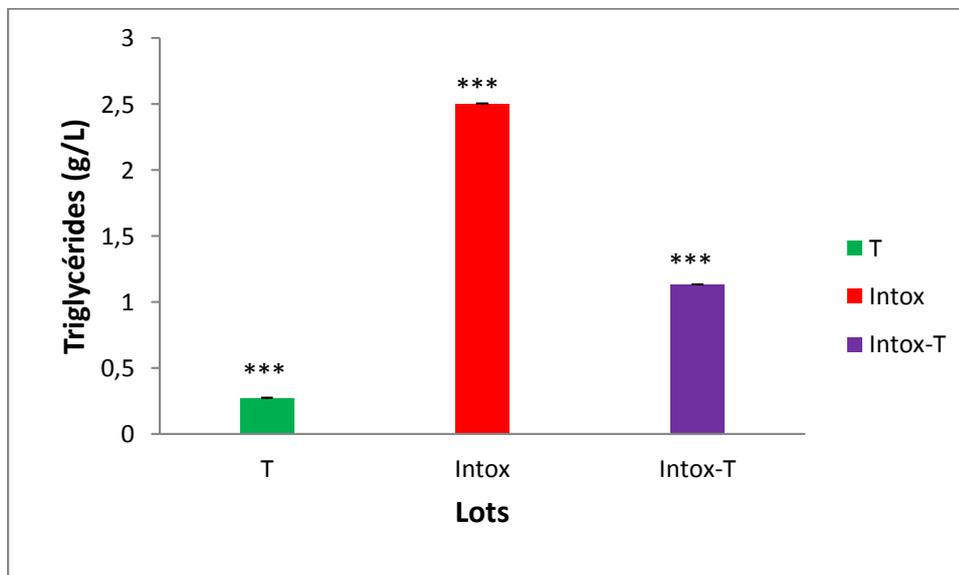


Figure 18 : comparaison entre le taux de triglycérides chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***P<0.001)

3.10. Dosage de calcium :

Les analyses indiquent une diminution très significative (**P<0.01) du taux de calcium sanguin des rats intoxiqués par rapport aux rats témoins qui reçoit seulement l'eau distillée. D'autre part, ces résultats montrent une augmentation significative (**P<0.01) du taux de calcium chez les rats intoxiqués traités par rapport au rats intoxiqués.

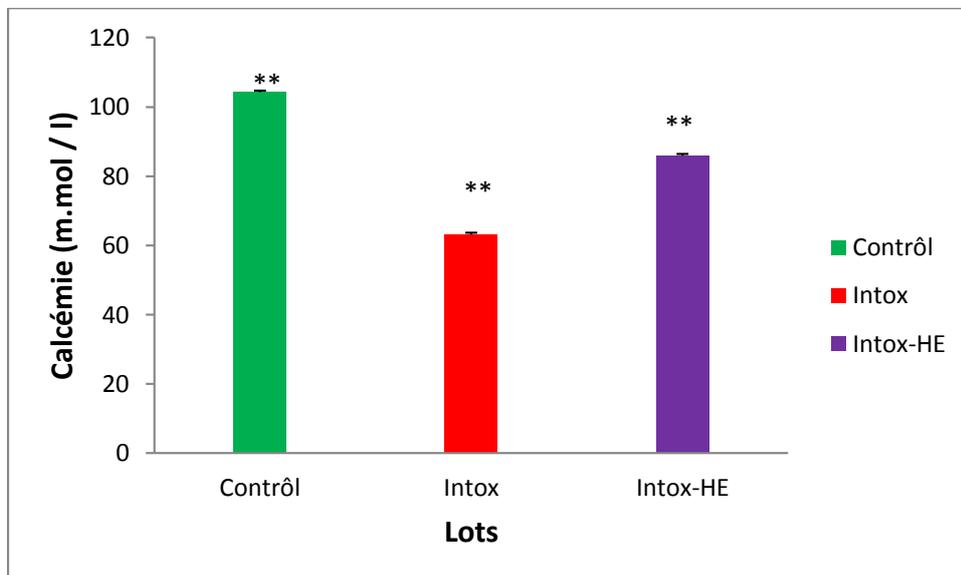


Figure 19 : comparaison entre le taux de calcium chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (**P<0.01)

3.11. Dosage de Fer sérique :

Les résultats d'analyse montrent une diminution significative (*P<0.05) du taux de fer sérique des rats intoxiqués et rats intoxiqués traités par l'HE *S.aromaticum* comparativement au rats témoins .en effet, ils indiquent une augmentation significative (*P<0.05) du taux de fer sanguin chez les rats intoxiqués traités par rapport aux rats intoxiqués non traités .

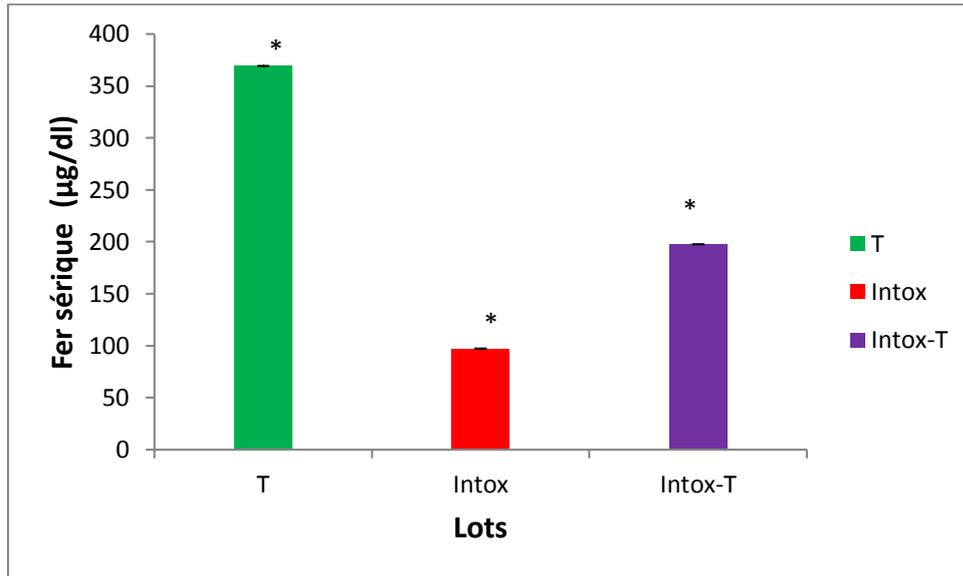


Figure 20 : comparaison entre le taux de fer sérique chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* $P<0.05$).

3.12. Dosage de potassium :

Les analyses indiquant une diminution hautement significative (***) du taux de potassium sanguin des rats intoxiqués et rats intoxiqués traités par rapport au témoins reçoivent par voie intra péritonéale l'eau distillée .

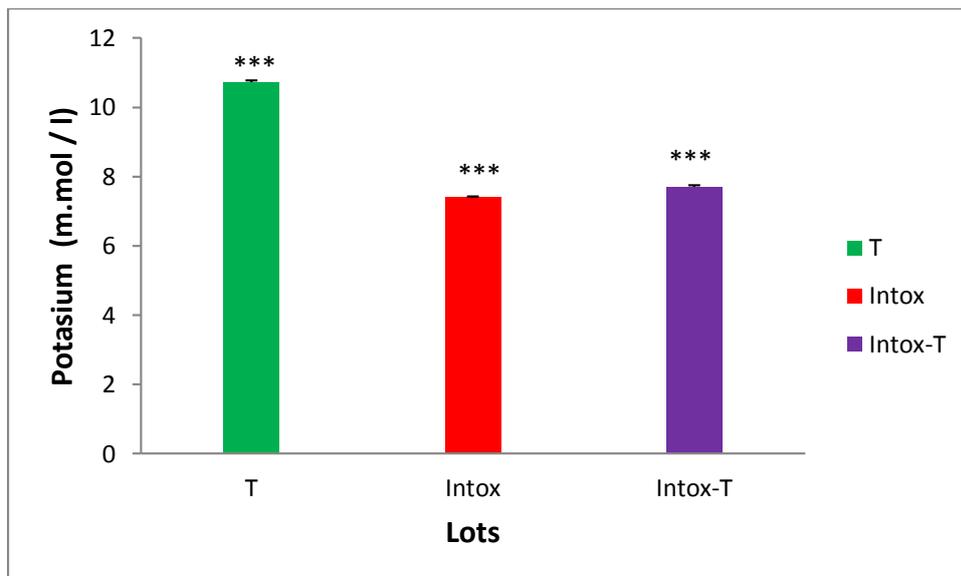


Figure 21 : comparaison entre le taux de potassium chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***) $P<0.001$)

3.13. Dosage de phosphore :

Les résultats montrent une augmentation significative ($*P<0.05$) de taux de phosphore des rats intoxiqués comparativement au rats témoins et aux rats intoxiqués par le plomb et manganèse et traités par l'HE *S.aromaticum* .

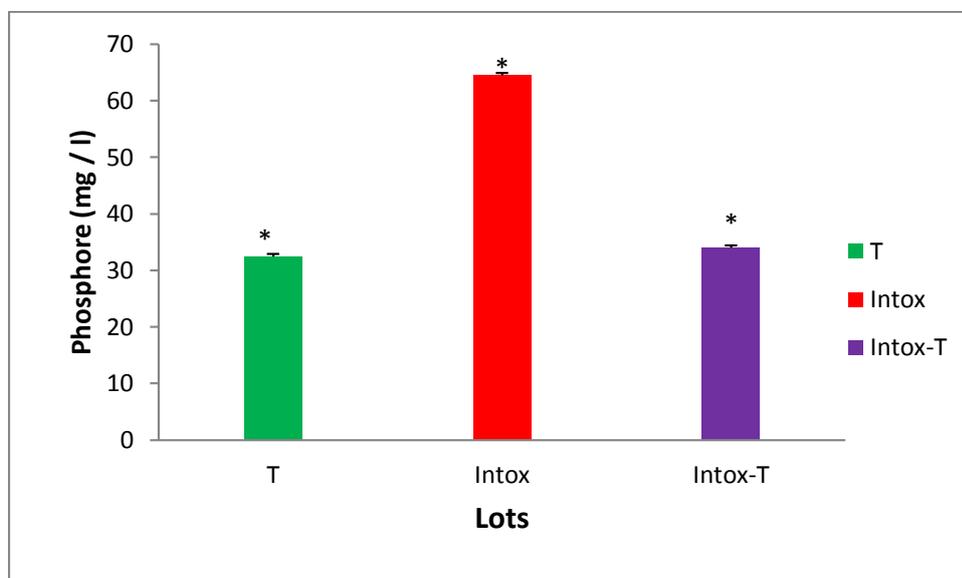


Figure 22 : comparaison entre le taux de phosphore chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($*P<0.05$).

3.14. Dosage de sodium :

Les résultats obtenus du dosage de sodium sanguin montrent une diminution significative ($*P<0.05$) du taux de sodium des rats intoxiqués par le plomb et manganèse en les comparant avec ceux des rats témoins. par contre , on remarque une augmentation significative du taux de sodium chez les rats intoxiqués traités par rapport au rats intoxiqués

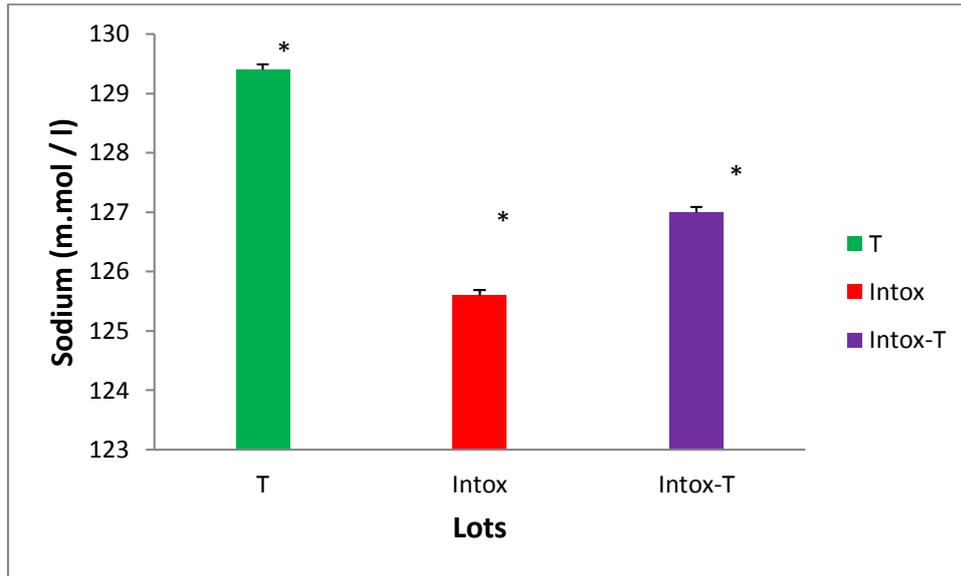


Figure 23 : comparaison entre le taux de sodium chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P<0.05).

3.15. Dosage de chlore :

Les résultats d'analyse indiquent une augmentation significative (**P<0.01) du taux des ions de chlore chez les rats intoxiqués par rapport au rats témoins .d'autres part , ces résultats montrent une diminution significative du taux de chlore sanguin chez les rats intoxiqués traités comparativement aux rats intoxiqués non traités .

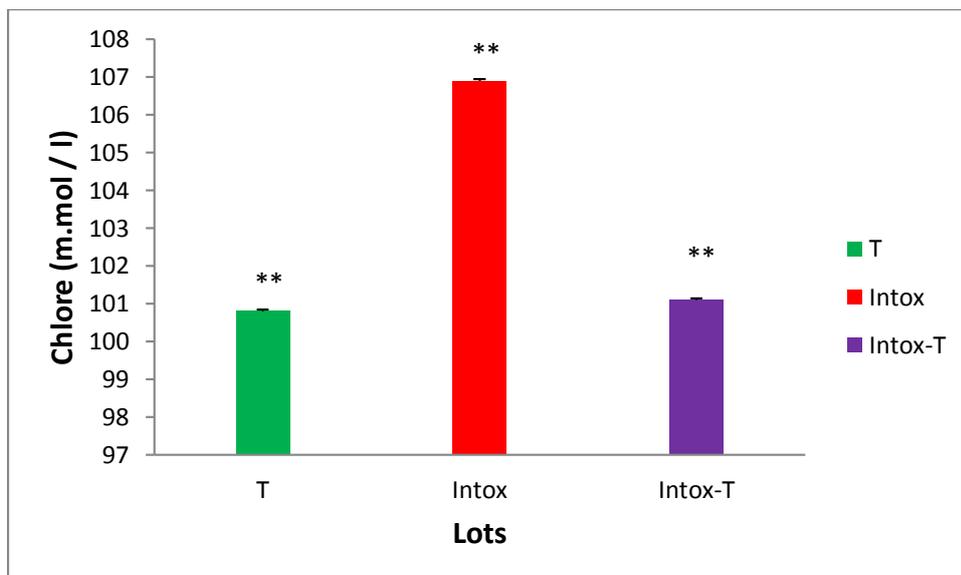


Figure 24 : comparaison entre le taux de chlore chez les différents lots intoxiqués et traités par l'HE *S.aromaticum* . les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (**P<0.01).

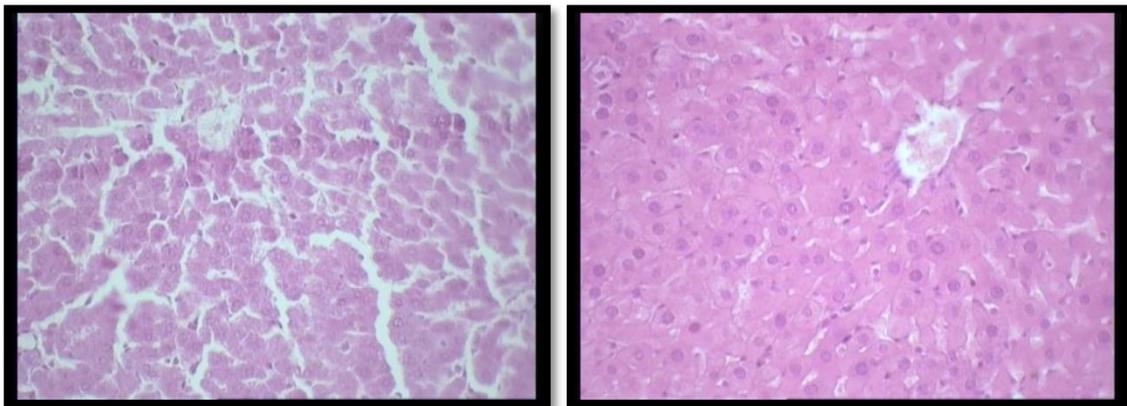
4. Impact de l'intoxication au plomb et manganèse sur l'architecture histologique des organes :

L'observation microscopique des tissus a permis de révéler certaines altérations suite à l'exposition au Pb-Mn.

4.1. l'effet du plomb et manganèse sur l'architecture structurale du foie :

Au niveau du foie, l'intoxication par le plomb et manganèse a indiqué une perturbation du dosage des paramètres indiquant le fonctionnement hépatique telle que les protéines totales, l'albumine, la glycémie, les transaminases (TGO,TGP) et les triglycérides au niveau sanguin ce qui montre un dysfonctionnement hépatique .

En effet , l'étude histologique des tissus hépatiques montre une architecture normale du foie chez les rats témoins et les rats intoxiqués traités par HEC .Par contre , elle révèle une réaction inflammatoire au niveau des espaces portes et intra lobulaire avec congestion vasculaire chez les sujets intoxiqués non traités (**figure 25**).



(A)

(B)



(C)

Figure 25: Vues au microscope photonique d'un tissu hépatique colorées à l'hématoxyline et de l'éosine G:(x 40). (A) sections dans le foie d'un rat témoin sont apparus avec une architecture normale. (B) coupes histologiques d'un tissu hépatique chez les rats intoxiqué, Sections est apparu avec une réaction inflammatoire au niveau des espaces portes et intra lobulaire . (C) coupes histologiques d'un tissu hépatique chez les rats intoxiqué traités apparus avec architecture plus au oins normale .

4.2. l'effet du plomb et manganèse sur l'architecture structurale du rein :

Au niveau rénal , l'intoxication par le plomb et manganèse a montré une perturbation importante dans le dosage biochimique des paramètres marqueurs de la fonction rénale (urée, créatinine) au niveau sanguin . ces résultats sont en faveur d'un dysfonctionnement rénal .

En outre, l'étude histologique des tissus rénaux des rats intoxiques révèlent une dilatation tubulaire avec nécrose tubulaire et glomérulaire (figure 26 (c)).

D'autre part, l'observation microscopique des tissus des rats témoins et les rats intoxiqués traites par l'HEC a montré une structure normale des tubules rénaux et des glomérules (figure00)

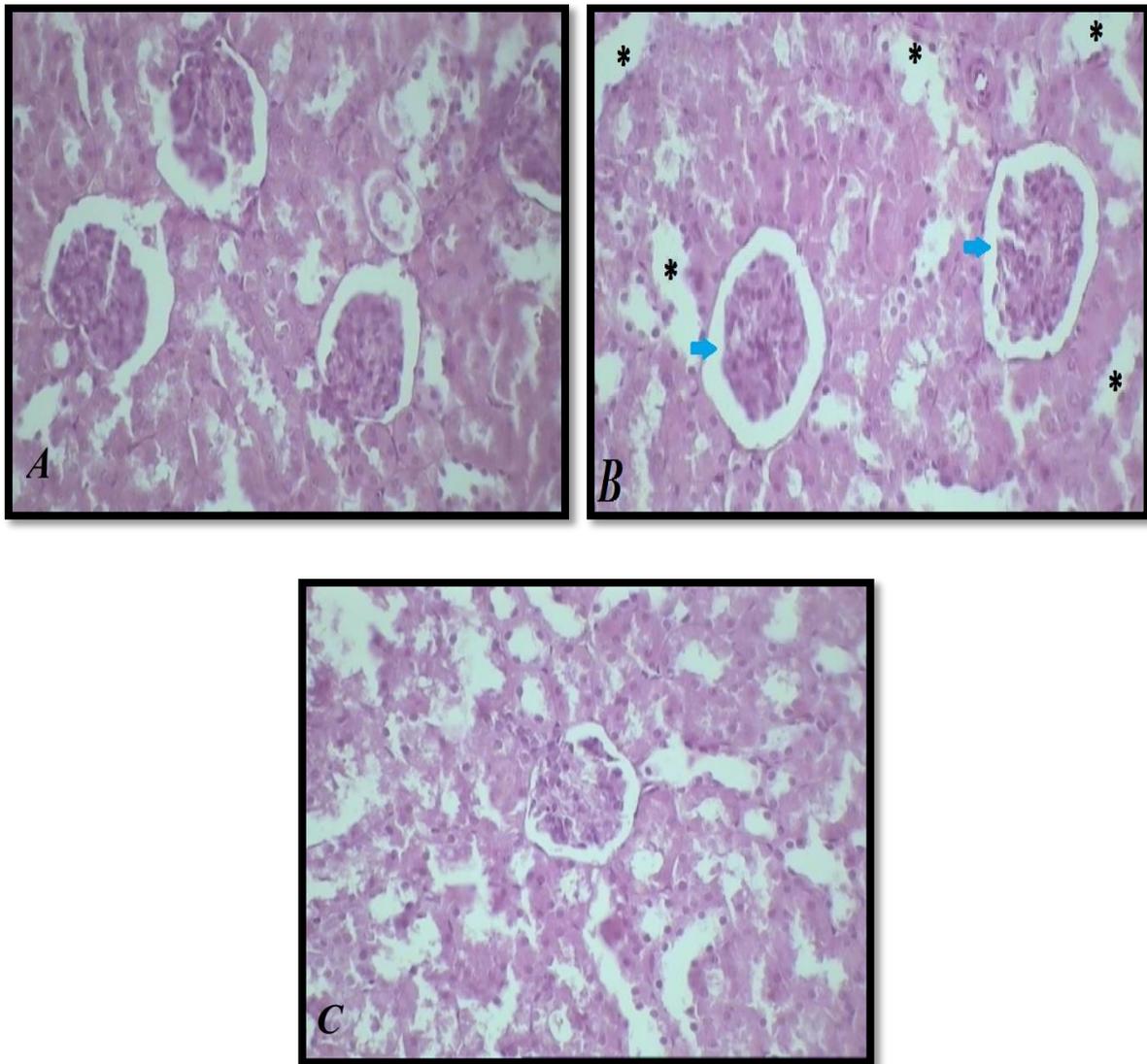


Figure 26: Vues au microscope photonique d'un tissu rénal colorées à l'hématoxyline et de l'éosine G:(x 40). (A) sections dans les reins des rats témoins sont apparus avec une architecture normale. (B) coupes histologiques d'un tissu rénal chez les rats intoxiqué, Sections est apparu avec nécrose et une dilatation tubulaire (étoile), et nécrose glomérulaire (flèche bleue). (C) coupes histologiques d'un tissu rénal chez les rats intoxiqués traités ;

4.3. l'effet du plomb et manganèse sur l'architecture structurale du testicule :

L'étude histologique réalisé au niveau de testicule révèle une architecture normale chez les rats témoins par contre une atrophie testiculaire chez les rats intoxiqués et cette dernière disparaît chez les rats intoxiqués traités et la réapparition de la spermatogenèse.

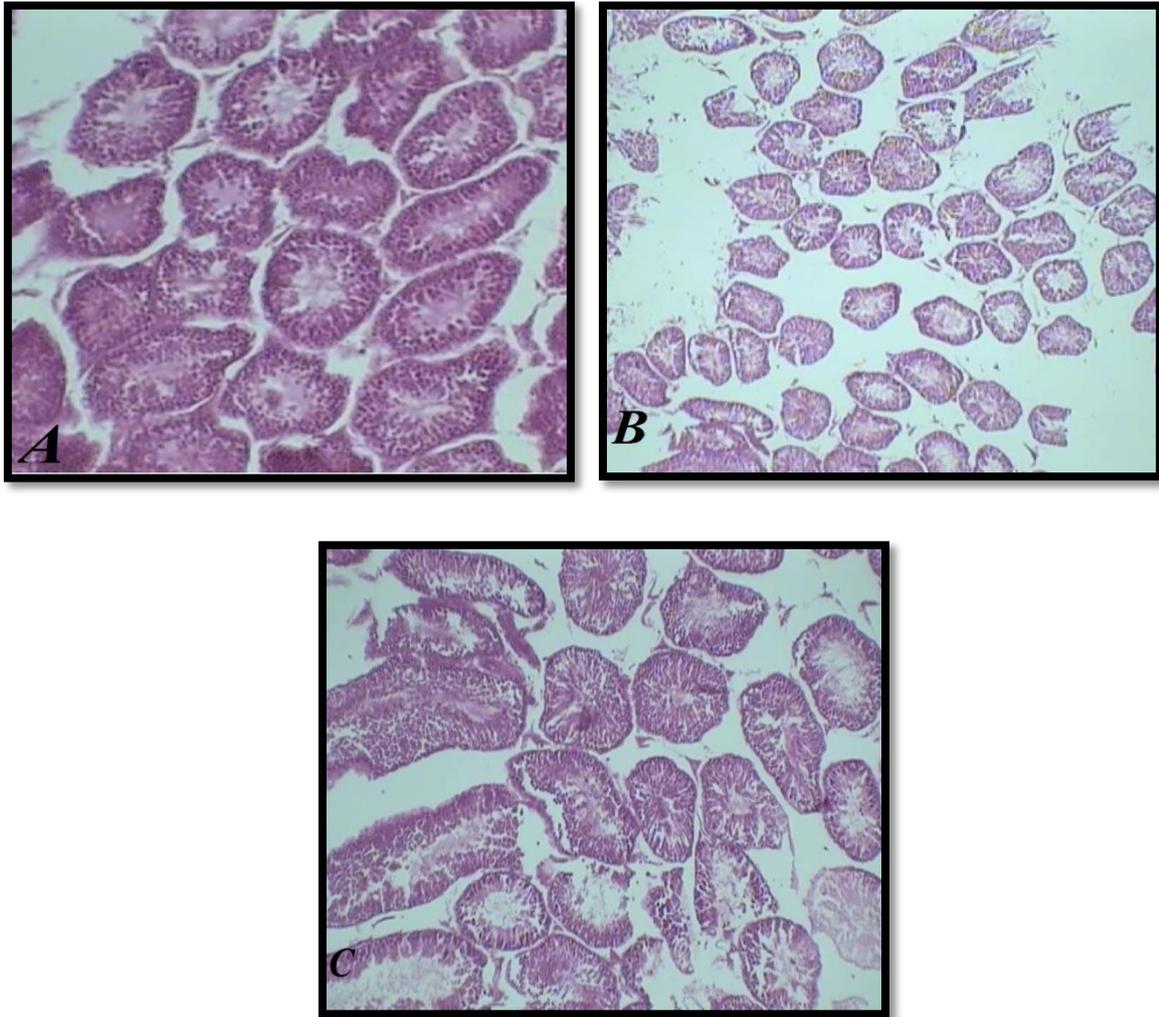


Figure 27: Vues au microscope photonique d'un tissu testiculaire colorées à l'hématoxyline et de l'éosine G:(x 10). (A) sections dans les testicules des rats témoins sont apparus avec une architecture normale. (B) coupes histologiques d'un tissu testiculaire chez les rats intoxiqué G: (x 4) , (C) coupes histologiques d'un tissu testiculaire chez les rats intoxiqués traités.

L'exposition humaine aux métaux lourds tels que le plomb (Pb) et le manganèse (Mn) est un problème mondial de santé publique. Ces métaux s'accumulent et se transforment dans les organismes vivants en provoquant des toxicités au niveau de différents tissus tout dépend la nature et la durés d'exposition. Le plomb est un élément naturellement présent en petites quantités dans la croûte de la terre. Il peut être toxique pour les humains et les animaux en causant des effets sur la santé. Ces effets sont de longue durée et persistent à l'âge adulte, même après l'exposition réduite ou éliminée (Neal et al., 2013). Alors que le Mn est un élément essentiel de l'alimentation humaine et sert de nombreuses fonctions cellulaires dans le corps humain (Aschner et al. , 2005), il est toxique à des niveaux élevés provoqués par l'exposition excessive lors du travail (Sepulveda et al., 2012)

Notre étude s'appuie sur le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), l'une des épices les plus précieuses qui a été utilisé pendant des siècles comme conservateur alimentaire et à de nombreuses fins médicinales. Cette plante représente l'un des sources les plus riches en composantes phénoliques tels que l'eugénol, l'acétate d'eugénol et l'acide gallique et possèdent un grand potentiel pour l'industrie pharmaceutique, cosmétique, alimentaire et les applications agricoles .(Cortés-Rojas et al. 2014)

1. Effet du plomb et manganèse sur la croissance pondérale :

Les résultats obtenus après l'exposition à l'acétate du plomb a raison de 2.84 mg/ml et le chlorure de manganèse a raison de 4.79 mg/ml durant la période expérimentale révèlent une diminution dans le gain du poids corporel enregistrés chez les rats intoxiqués comparativement aux rats témoins. De plus, nous avons observé une réduction dans le poids des organes étudiés (foie, rein , testicules) ce qui en faveur d'une perturbation dans leurs fonctionnement respectif . Nos résultats sont en accord avec les travaux entrepris par différents auteurs Lakshmi et al., (2013) qui ont observé une diminution significative du poids corporel et poids des organes chez les rats exposés au plomb , de plus les travaux de Ajibade et al.,(2011) indiquent une baisse significative des poids des organes des rats exposés a des concentrations de 5 , 15 à 25 mg Mn / kg par voie orale . Néanmoins , les métaux lourds sont connus pour agir sur le poids corporel des animaux même lorsque les niveaux d'intoxications restent faibles (Shailesh et Desiragu ,1990 ; Auclair et al., 2004)

2. Effet du plomb et manganèse sur la fonction hépatique :

Nous avons observé une augmentation des enzymes TGO et TGP dans le sang a la suite de l'intoxication par le Pb-Mn qui pourrait être due a la désorganisation des cellules hépatiques par la nécrose ou a la suite d'une altération de la perméabilité membranaire. **Sharma et al., (2013)** ont montré que les niveaux des marqueurs hépatiques et rénaux tels que TGO, TGP, triglycérides, le cholestérol, urée et l'acide urique augmentent significativement après l'administration de l'acétate de plomb.

Lambardi et al., (2008) ont montré que les activités élevées de TGO et TGP dans le plasma sont indicateurs de la fuite et la perte cellulaire d'intégrité fonctionnelle de membrane des cellules dans le foie.

En effet, **Lebda et al.,(2012)** ont rapporté que le Mn induit une altération histopathologique par une nécrose et apoptose periportale , ce qui pourrait compromettre la fonction détoxifiante du foie a savoir éliminer le manganèse (**Zhang et al., 2002**).

Mehana et al. (2012) montrent que l'administration du manganèse chez les rats provoque une augmentation significative des transaminases (TGO, TGP) qui s'explique par une hépatotoxicité.

Nos résultats ont montré aussi une augmentation significative des triglycérides qui pourrait être due a une action du plomb et manganèse sur le système cardiovasculaire. ils expliquent une hypertriglycéridémie, cela élucide que les métaux participe à l'induction ou l'accélération de l'athérosclérose en inhibant de la superoxyde dismutase qui entraine la formation d'athérome et des plaques sclérosées et en inhibant aussi l'activité de cytochrome P-450 qui permet l'accumulation des taux de lipides sériques dans les parois des vaisseaux.(**Hami et al. , 2006**).

En outre , les résultats obtenus ont permis d'observer une baisse significative dans les protéines totales et l'albumine . l'hypoprotéïnémie s'accompagne le plus souvent avec une alimentation insuffisante ou une mauvaise absorption intestinale des éléments nutritifs (**Bhaacharya et al.,1993**)

Au niveau sanguin , nos résultats ont montré qu'il y a une augmentation dans le taux du glucose chez les rats co-exposés au plomb et au manganèse par rapport aux rats témoins , ceci est dû selon **Maltankhar et al. (2006)** à l'inhibition de la plupart des enzymes

glycolytiques et ceux intervenants dans le cycle de Krebs comme l'hexose kinase, pyruvate kinase, LDH et déshydrogénase et aussi suite au stress oxydatif engendré par le Mn (**Mastrocola et al., 2005; Somfai et al., 2006**). Cette augmentation de glycémie est probablement le résultat de la glycogénolyse hépatique et musculaire pour couvrir les besoins énergétiques cérébraux. **Kasdallah et al., (2005)** confirment que l'exposition à l'acétate de plomb engendre un effet stressant qui se traduit par hyperglycémie sous l'action des hormones de stress.

Ainsi, ces métaux lourds (Pb – Mn) augmentent considérablement la production de radicaux libres par divers mécanismes, ceci explique le stress oxydant qui accompagne l'hyperglycémie. (**Ladouari et al. , 2012**)

Pour approfondir les analyses biochimiques, nous avons procédé à une histologie de foie chez les rats intoxiqués, les traités et les témoins. Nos résultats indiquent une réaction inflammatoire au niveau des espaces portes et intralobulaire avec congestion vasculaire. Ces résultats sont d'accord avec celles d'**Abdel-razik et al., (2007)** qui ont montré une nécrose hépatique causée par le plomb. De plus, le foie est considéré comme l'organe cible principal pour la toxicité du plomb. L'activité de ALAT et ASAT est indicateur sensible de la nécrose hépatique aiguë (**Modesto et al. , 2013**)

3. Effet du plomb et manganèse sur la fonction rénale :

Les résultats obtenus ont permis d'observer une augmentation significative de la créatinine et l'urée dans le sang chez les rats intoxiqués par Pb-Mn comparativement aux rats témoins. Ces résultats montrent que l'intoxication au plomb et le manganèse agit sur la filtration glomérulaire en provoquant des troubles au niveau de la concentration de l'urée et la créatinine dans le sang et les urines. Toute élévation marquée du taux de la créatinine de sérum indique une atteinte fonctionnelle ou lésionnelle grave du néphron (**Cook et al.,1975**)

Donc, cette augmentation est due à l'effet néphrotoxique de ces métaux, qui peut être expliquée par l'effet antagoniste du manganèse sur les ions calciques (Ca^{+2}) durant les processus de filtration glomérulaire. Dans ce même contexte les études de **Dudek, (1991)**, confirment l'effet inhibiteur de Mn^{+2} sur les canaux calciques lents.

Ainsi, le plomb passe dans le milieu sanguin puis au niveau du glomérule et pénètre par le tubule contourné proximal (TCP) où il exerce sa toxicité au niveau des mitochondries, ainsi lors de son élimination par les urines, peut être réabsorbé et s'accumuler au niveau des

tubules rénaux sous forme de granules intra-nucléaires et y produire des modifications physiologique. Néanmoins, c'est surtout au cours des intoxications aiguës que ces lésions se manifestent avec apparition d'un syndrome de Fanconi (amino-acidurie, hypophosphatémie, glucosurie). (**Haguenoer, 2009**).

De plus, Il existe d'une relation étroite entre la concentration de plomb et du manganèse sanguin et le taux du calcium et du fer, généralement l'intoxication par ces deux métaux est aggravée par une carence en calcium et en fer. Ce manque se produit lorsque le corps n'ingère pas les quantités de calcium et du fer indispensables à son bon fonctionnement. (**Guillaume, 2006**). Ceci est exprimé par une diminution significative chez les rats intoxiqués.

Le plomb altère l'homéostasie calcique et interfère sur les processus cellulaires et moléculaires médiés par le calcium aux niveaux membranaire et cytoplasmique.

Au niveau de la membrane cellulaire, le plomb entre en compétition avec le calcium au niveau des systèmes de transports membranaires comme les canaux calciques voltage dépendants, (**Busselberg et al, 1994**) et les Ca²⁺ ATPases membranaires (**Bettaiya et al, 1996**) qui sont des éléments importants dans le maintien de l'homéostasie calcique.

Au niveau intra cytoplasmique, le calcium ionisé joue un rôle majeur de messenger intracellulaire en se liant sur divers récepteurs et effecteurs. Le plomb interfère avec ces processus dépendants du calcium en prenant sa place sur des sites spécifiques au niveau de protéines liant spécifiquement le calcium (**Simons, 1986**). Le plomb active la calmoduline (**Goldstein, 1993**) et la protéine kinase C (**Goldstein, 1993; Schanne et coll., 1997**) et pourrait ainsi altérer les mécanismes de signalisation intracellulaire (**Simons, 1993**).

De plus, le plomb inhibe les mécanismes de captation et de stockage mitochondrial du calcium qui sont également des éléments régulateurs de l'homéostasie calcique (**Pounds et coll., 1991**).

La diminution en fer pourrait être le résultat de la concurrence entre Fe²⁺ et Mn²⁺ pour les mêmes transporteurs transcellulaires (**Arnich et al., 2004**).

La carence en fer, le corps réagit en envoyant des quantités croissantes des transporteurs DMT1 [The divalent metal transporter 1] du fer dans l'intestin, Il intervient dans le transport transmembranaire apical du fer à partir de la lumière digestive vers le cytoplasme entérocytaire et son expression est accrue au cours de l'hémochromatose HFE-1

(Brissot, 2004). Contrairement au calcium, le fer a une forte affinité pour ses sites de liaison et donc peu susceptibles d'être déplacées par le plomb si les niveaux de fer sont suffisantes (Robert et al. , 2010).

Il est démontré que le bilan en fer a une incidence sur l'homéostasie du manganèse dans le corps, le fer entrant en concurrence avec le manganèse pour se lier aux molécules de transport qui traversent le tractus gastro-intestinal, qui voyagent dans le sang et, peut-être traverser la barrière hémato-encéphalique. (Mena, 1969; Finley, 1999). Des études mettent en évidence l'importance de l'anémie ferriprive en tant que facteur de risque important dans le développement des effets toxiques du manganèse (Malecki , 1999), (Herrero-Hernandez, 2002; Yoshikawa, 2003).

Nous avons remarquons aussi une baisse significative du taux de sodium et de potassium par rapport aux témoins cela signifié que l'intoxication par le plomb semble causer la perte de sodium rénale. En plus de l'interférence avec la résorption de sodium par le rein, le plomb semble altérer le mécanisme dépendant de l'énergie de globules rouges du sang pour commander l'échange de sodium et de potassium. (Cah. Nutr. Diét, 2001)

Ainsi, nous détectons une hyperphosphorémie se rencontre surtout au cours de l'insuffisance rénale avancée. Celle-ci est due à une baisse de l'excrétion urinaire de phosphore qui est le résultat de la diminution du débit de filtration glomérulaire. Au cours de l'insuffisance rénale progressive, l'excrétion rénale du phosphore est assurée par les glomérules sains restants. En outre, quand l'insuffisance rénale progresse et le nombre de néphrons sains diminue, l'homéostasie ne peut plus être assurée et l'hyperphosphorémie s'installe. (Cah. Nutr. Diét, 2001)

L'insuffisance rénale et les nécroses cellulaires étendues sont les principales causes d'hyperphosphorémie. (Encyclopédie Santé, 2011)

Donc, ce phénomène est aggravé par les mal absorbions du calcium et l'accumulation de phosphore dans le sang.

Pour confirmer nos analyse biochimiques nous avons réalisé une histologie des reins chez les rats intoxiqués et temoins, les résultats de l'étude histologique révèlent une dilatation tubulaire avec nécrose tubulaire chez les rats intoxiqués par le Pb-Mn .

Nos résultats sont d'accord avec les résultats de **Abdel-razik et al.,(2007)** qui ont montré que les lésions qui se développent se caractérisent notamment par la présence de tissu interstitiel fibrotique , une atrophie glomérulaire et tubulaire qui conduisent aune altération irréversible de la fonction rénale.

4- effet du plomb et manganèse sur les testicules :

L'étude histologique des testicules a montré une perturbation des différents stades de la spermatogenèse , nos résultats sont en accord avec ceux de **Haito et al., (2008)**, **Ait hamadouche et al., (2009)** qui rapportent que l'exposition au plomb de rats et lapins a des tombés tissulaires délétères .

Effet du clou de girofle :

L'administration de HEC par les rats intoxiqués par le Pb- Mn a permis d'observer une nette augmentation dans le gain corporel par rapport aux rats intoxiqués non traités , ce gain peut être du a la présence de composés terpénoïdes qui agissent en stimulant le transport du glucose dans les cellules . Nos résultats sont en accord avec ceux de **Don chan choi et al., (2014)** qui ont montré que le poids corporel des hamsters a graduellement augmentés après l'administration de l'extrait de *S. aromaticum* .

Les rats qui ont traités par l'HEC ont montré une amélioration dans le taux de glucose proche de la valeur des rats témoins grâce au potentiel anti-hyperglycémiant de l'eugénol qui est le composant majeur du clou de girofle, l'eugénol a un potentiel pour améliorer les enzymes clés du métabolisme du glucose tels que : l'hexokinase, la pyruvate kinase, la glucose-6- phosphate déshydrogénase, la glucose-6- phosphatase et le fructose-1, 6- bisphosphatase. (**Srinivasan et al. , 2014**) .De plus, l'administration de l'engenol aux rats diabétiques a modulé le glucose principal métabolisant les enzymes de fois , ont comme conséquence l'homoestisie normale de glucose sanguin (**Subramani et al.,2013**). **Sadiq et al.,(2012)** montrent que le clou de girofle a un effet antihyperglycemiant en réduisant les niveaux de glucose sanguin chez les rats diabétiques .

Après un traitement par l'HEC, nous remarquons une réduction significative du taux d'urée et de créatinine comparativement aux non traités, cette diminution est due aussi au l'eugénol, qui est un inhibiteur de l'enzyme cyclo-oxygénase (COX), ce qui induit une diminution de la synthèse des prostaglandines (molécules impliquées dans les processus

inflammatoires), cela peut être le résultat de sa concurrence avec l'acide arachidonique (**Hamdard, 2014**).

Eugénol (EUG) agit comme un antagoniste du calcium, (**Damian et al. ,2004**) il améliore aussi la néphrotoxicité et en piégeant les radicaux libres d'oxygène, ce qui réduit la peroxydation des lipides et l'amélioration de la défense antioxydant intracellulaire.(**Said, 2011**).

Le traitement par l'HEC chez les rats intoxiqués présente une amélioration dans la valeur de cholestérol et les triglycérides, ces résultats sont similaires avec le travail de (**Anbu et Anuradha., 2012**), qui montre que l'eugénol pourrait être efficace pour la prévention aux effets toxiques qui provoque l'augmentation des taux de lipides induite par l'éthanol. de plus, il présente un effet d'abaissement du taux de triglycérides (**Anbu et Anuradha., 2012**).

Nous avons observé aussi une baisse significative des transaminases suite à l'administration de HE de *S.aromaticum* ce qui indique une action protectrice des tissus hépatiques qui pourrait s'expliquer par l'effet chélateur et antioxydant des composants phénoliques que contient l'HEC, qui réduit considérablement les radicaux libre générés par l'intoxication qui provoque la mort cellulaire dans le tissu hépatique. (**Ola El-Segaey et al., 2007**) . **Yogolakshmi et al., 2010** ont signalé que les enzymes de marquages hépatique sont améliorées par l'eugénol chez les rats présentent une hepatotoxicité .

L'administration de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* aux rats préalablement intoxiqués par l'acétate de plomb et le chlorure de manganèse a permis d'observer une régénération importante de la majorité des tubes séminifères avec un bon déroulement de la spermatogénèse traduite par des lumières des tubes séminifères remplis de spermatozoïdes , ce qui peut être expliqué par l'effet thérapeutique de HEC. Ces résultats concordent avec ceux de **Mishra et al., (2008)** qui signalent que l'administration de l'HEC à raison de 15mg/kg du poids corporel des souris pendant 35 jours indique une augmentation de l'activité des enzymes ($\Delta 5,3\beta$ -HSD and 17β -HSD) ainsi que le taux de testostérone sanguine .

Enfin les études de **Tensher et al.,(2005)**, **Lee et al.,(2005)** indiquent que le clou de girofle étant riche en poly phénols constitue donc un puissant antioxydant inhibant la peroxydation lipidique qui empêche les dommages causé par le stress oxydatif au niveau des spermatozoïdes.

Conclusion

Les résultats obtenus montrent que la co-exposition au plomb et au manganèse sont responsables à l'apparition d'atteintes tissulaires causées au niveau métabolique et excréteur, associée à une perturbation des paramètres biochimiques qu'on peut les résumer dans les points suivantes :

- L'étude physiologique, montre que le plomb et le manganèse induit un déficit pondéral avec une diminution des poids des organes : foie, rein et testicule par rapport au lot témoin.

- Une perturbation du métabolisme biochimique, le plomb et le manganèse a induit une augmentation de la concentration du glucose, des triglycérides, de l'urée, de la créatinine, ceci s'accompagne par une augmentation de l'activité enzymatique des marqueurs hépatiques TGO, TGP, une diminution du taux du fer sérique et du calcémie qui a été signalé aussi, ces changements sont corrigés par l'addition de l'huile essentielle du *S.aromaticum* en comparaison avec les témoins.

- L'étude histologique, montre que la toxicité du plomb et le manganèse s'est manifesté par des atteintes tissulaires. En effet les résultats illustrent l'apparition des nécroses hépatiques, dilatation, inflammation et par des altérations glomérulaires où la plus part des glomérules sont nécrosés et une atrophie. Il semble donc que le plomb et le manganèse sont cytotoxique au niveau du foie, du rein et du testicule. Notons que ces signes histopathologiques sont moins importantes chez le lot intoxiqué par ces deux métaux et traité par l'huile essentielle du *S.aromaticum*.

A la lumière de ces résultats trouvés : il serait envisageable d'entreprendre un protocole expérimental plus approfondi portant sur différents volets :

- Il serait nécessaire d'orienter notre recherche vers la mise au point de techniques permettant de vérifier l'effet thérapeutique de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* sur le système nerveux et sur le plan hématologique.
- Il serait nécessaire de réaliser de nouvelles expérimentations portant sur la définition des rôles de chaque constituant de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*, à rétablir les dommages induits par ce métal.

□ Face à l'intérêt croissant porté à l'étude des radicaux libres (RLO) dans les domaines de la physiologie et la pathologie, il est nécessaire de orienté nos recherches vers la mise au point de techniques permettant de détecter le stress oxydatif radicalaire aux niveaux des différents tissus.

92

□ Elargissement de la période du traitement par l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* pour une plus grande efficacité dans les tissus qui nécessitent une période de convalescence plus longue « exemple tissus hématopoïétique ».

- **ABDEL-RRAZIK H .FARRG,k AMahdy,GAMAL H ,ABDEL RAHMAN MOSTAPHA M (2007).**protective effect of nigella sativa seeds against lead induced hepatorenal damage in male rats,*Pakistan journal of biological sciences* 2809-2816.
- **Ademe (2006)** « bilan de recyclage 1996-2005 partie 1 synthèse générale et analyse par filière rapport final ».
- **AIT HAMADOUCHE N , SLIMANI M and AOUES AEK,(2009).** Biochemical Parameters Alterations Induced by Chronic Oral Administration of Lead Acetate in Albinos Rat .*American Journal of Scientific Research* ,4 (2009), pp 5-16 .ISSN 1450-223X © *EuroJournals Publishing, Inc.*
- **Ajibade A. J.*, Fakunle P. B., Fatoba O. O. and Olayemi O. T. (2011)** Some effects of manganese dichloride administration on the body weight, Purkinje cell population, brain, and cerebellar weights of adult Wistar rats ; *Journal of Neuroscience and Behavioural Health* Vol.3(7), pp. 87-90, July 2011
- **Alexander b.h., checkoway h., van netten c., muller c.h., ewers t.g., kaufman j.d., mueller b.a., vaughan t.l. And faustman e.m.(1996)** - semen quality of men employed at a lead smelter.*occup environ med*, 53, 6, 411-416.
- **AMDUR M.O., DOULL J., KLAASSEN C.D.** - Lead. In : Casarrett and Doull's *Toxicology*, 5e ed. New York, McGraw-hill, 1996.
- **Aschner M (2005)** The importance of glutamate, glycine, and gamma-aminobutyric acid transport and regulation in manganese, mercury and lead neurotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 204: 343–354.
- **Aschner, M., Gannon, M., 1994.** Manganese (Mn) transport across the rat blood–brain barrier: saturable and transferring-dependent transport mechanisms. *Brain Res. Bull.* 33, 345–349
- **Aschner, M., Shanker, G., Erikson, K., Yang, J., Mutkus, L., 2002.** The uptake of manganese in brain endothelial cultures. *Neurotoxicology* 23, 165–168
- **AUCLAIR A,DROUIN C,COTECCHIA C (2004).**5-HT and α 1b-adrenergic receptors entirely mediate dopamine release ,locomotor response and behavioural sensitization to opiates and psychostimulants ;*Eur J neurosci* ;20 :3037-84.
- **AUZIAS DOMINIQUE., LABOURDETTE JEAN-PAUL., LAFONT ELODIE et METENIER ETIENNE. (2008)**- Petit futé. Tanzanie, Zanzibar. 4^{ème} édition, P : 288.
- **Aykin burns n, laegeler a, ellog g, ercal n.** Oxidative effects of lead in young and adult fisher 344 rats. *Arch environ contam toxicol* 2003; 44: 417-20.
- **BARDEAU FABRICE. (2009)**- Les huiles essentielles. Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Santé pratique. Collection dirigé par Alic Machado. Edition Lanore, P : 161-162-164.
- **BARDEAU FABRICE. (2009)**- Les huiles essentielles. Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Santé pratique. Collection dirigé par Alic Machado. Edition Lanore, P : 161-162-164
- **BASERII H ; HAGHIGHI ASL A., LOTFOLLAHI M .N and MOHAMMADBIGI N. (2008)**- Extraction of CloveBuds Essential Oil by

- Hydrodistillation and Supercritical Fluid. 5th International Chemical Engineering Congress and Exhibition, Kish Island.
- **BASTIEN FANNY. (2008)**- Effet Larvicide Des Huiles essentielles Sur Stomoxys Calcitrans à la Réunion. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, p :25.
 - **BAUDIN PIERRE. (1995)**- Les maladies des plantes à plantes à parfums tropicales, mises au point phytopathologiques.
 - **BAUDIN PIERRE. (1995)**- Les maladies des plantes à plantes à parfums tropicales, mises au point phytopathologiques.
 - **BHACHARYA YA, SMUKLA R, DIERICH KN, MILLER J , BAGCHE A (1993)** . Functional application of postural disequilibrium due to lead exposure . neurotoxicology ;14 :197 - 190.
 - **Bismuth C, Baud F, Conso F, Dally S, Frejaville J, Garnier R et al.** Toxicologie clinique. Paris: Flammarion Medecine Sciences, 2000.
 - **Boeckx R L. 1986.** Lead poisoning in children. Anal. Chem. 58 : 275-285
 - **BONNARD N, FALCY M., HESBERT A, JARGOT D, PILLIERE F, SCHNEIDER O, SERRE P.(2006).** Plomb et composés minéraux. FT n° 59.
 - **BOTTA A, POYEN D, SIGOURET M, MATHIAS A. (1976).** Les différents tests de dépistage d'une imprégnation saturnine applicables en médecine du travail. Arch Mal Prof , 37: 437-443.
 - **BRGM. (2004).** Guide méthodologique du plomb appliqué à la gestion des sites et des sols pollués. Rapport final, BRGM/RP-52881-FR.
 - **Brunet J, Reppelin A, Varrault G, Terry N et Zuily Fodil Y 2008** « lead accumulation in the roots of grass pea (*Lathyrus sativus L.*) C.R.Biologies 331: 859-864.
 - **CALVET RAOUL ; BARRIUSO ENRIQUE ; BEDOS CAROLE. BENOIT PIERRE. CHARNAY MARIE-PAULE et COQUET YVES. (2005)**- Les pesticides dans le sol. Conséquences agronomiques et environnementales. Edition France Agricole. France, 637p.
 - **CARNESECCHI S., SCHNEIDER Y., CERALINE J. , DURANTON B., GOSSE F., SEILER N and RAUL F. (2001)**-Géraniol, a Component of plants essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. J. Pharmacol. Exp. Ther. 298(1) : 197-200.
 - **Cecchi M(2008)**, « Devenir du plomb dans le système sol-plante cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (fève et tomate).Thèse de doctorat , Institut national polytechnique de Toulouse 226 P .
 - **CHAMI F ; CHAMI N ; BENNIS S ; BOUCHIKHI T and REMMAL A .(2005)**- Oregano and clove essential oils induce surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae*. PhytotherRes 19 : 405-408.
 - **CHANEL O. DOLLFUS C. HAGUENOER J-M. HARTEMANN P. HUEL G. LARROQUE B. LISON D. MARRET S. PINON-LATAILLADE G. PREMONT J. DE VERNEUIL H. ZMIROU D. (1999).** Plomb dans l'environnement : quels

risques pour la sante ? groupement de recherche en economie quantitative d'Aix-Marseille (GREQAM), CNRS UMR 6579, Marseille.

- **CHARPENTIER BRIGITTE ; HAMOU-LORLEAC'H FLORENCE ; HARLAY ALAIN ; HUARD ALAIN ; RIDOUX LIONEL et CHANSELLE SERGE. (2008)**- Guide du préparation en pharmacie. Toutes les matières du programme. Cours détaillés et complets. Entraînement aux épreuves. Préparation à l'épreuve pratique. 3eme édition. Edition Elsevier Masson, 1358p.
- **Cohen MD, Yang Z, Zelikoff JT. 1994.** Immunotoxicity of particulate lead: in vitro exposure alters pulmonary macrophage tumor necrosis factor production and activity. *J Toxicol. Environ. Health.* 42 : 377-392.
- **COOK JGH (1975).** Factors influencing the assay of creatinine. *Ann. Clin Bioch.* 12: 219-232.
- **COOK JGH (1975).** Factors influencing the assay of creatinine. *Ann. Clin Bioch.* 12: 219-232.
- **Cortés-Rojas DF, De Souza CRF, Pereira Oliveira W (2014)** Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4: 90-96.
- **Davis, C., Wolf, T., Greger, J., 1992.** Varying levels of manganese and iron affect absorption and gut endogenous losses of manganese by rats. *J. Nutr.* 122, 1300–1308.
- **DEGRYSE A ; DELPHAT I et VOINIER M.(2008)**- Atelier santé environnement. Ingénieur de génie sanitaire. Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. EHESP.
- **DINI L, GIUDETTI AM, RUZITTU M, GNONI GV, ZARA V.(1999).** Citrate carrier and lipogenic enzyme activities in lead nitrate-induced proliferative and apoptotic phase in rat liver. *Biochem Mol Biol Int*9; 47: 607-14.
- **Donchan choi, hyun soo roh, dong wong kang, and jong soek lee ,2014,** the potential regressive role of syzygium aromaticum on the reproduction of male golden hamsters
- **Dorman, D.C., Struve, M.F., James, R.A., Marshall, M.W., Parkinson, C.U., Wong, B.A., 2001.** Influence of particle solubility on the delivery of inhaled manganese to the rat brain: manganese sulfate and manganese tetroxide pharmacokinetics following repeated (14-day) exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 170, 79–87.
- **EL KETTANI S. AZZOUZI EM. (2009).** Prevalence De L'anemie Chez Une Population Rurale Utilisant Les Eaux Uses A Des Fins Agricoles (Settat, Maroc). *Biomatec Echo | Volume 3 | Number 6 | pp. 31 – 38 |*
- **ELZEBROEK A.T.G and WIND K . (2008)**- Guide to Cultivated Plants. P : 274.
- **Erikson, K., Aschner, M., 2002.** Manganese causes differential regulation
- **Erikson, K., Shihabi, Z., Aschner, J., Aschner, M., 2002a.** Manganese accumulates in iron-deficient rat brain regions in a heterogeneous fashion and is associated with neurochemical alterations. *Biol. Trace Elem. Res.* 87, 143 – 156.

- **Falcy M. Hesbert A. Jargot D. Protois J C. Reynier M.Schneider O. Serre P.(1998).** Plomb et composés minéraux. FT n° 59.
- **FOSSATI P. PRINCE L ,(1982)** serum triglycérides déterminés colorimétriquement avec une enzyme qui produit du peroxyde d'hydrogène. *Clin,Chem. , 28/2077-2080 .*
- **GARNERO JEAN. (1991)-** Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Edition Technique-Encyclopédie des médecines naturelles, Paris, France. Phytothérapie, Aromathérapie, C-2, 20p.
- **GARNIER R. (2005).** Toxicité du plomb et de ses dérivés. EMC-Toxicol Pathol. 2: 67–88.
- **Gerber GB, Le´onard A, and Hantson PH (2002)** Carcinogénicité, mutagénicité et tératogénicité des composés de manganèse. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*42: 25–34.
- **GHEDIRA K ; GOETZ P et LE JEUNE R. (2010)-** *Syzygiumaromaticum(L.)Merr& Perry(Myrtaceas), Giroflier. Formation continue. Matière médicale pratique. Springer- Verlag France.*
- **GOYER RA.** Effet de facteurs toxiques, chimiques, et environnementaux sur le rein. *Monogr Pathol* 1979, 20: 202-217.
- **Greenlee ar risk factors for female infertility in an agricultural region. Epidemiology 2003 ; 14(4) : 429-436.**
- **Gunter TE, Gavin CE, Aschner M, Gunter KK (2006)** Spéciation du manganèse dans les cellules et mitochondries: à la recherche de la cause proximale de la neurotoxicité du manganèse. *Neurotoxicol* 27: 765–776.
- **GUYADER.D.(2005).** sémiologie biologique hépatique. P ; 27
- **HAITO LIU, RUIYAN NIU, JINMING WANG, YING HF(2008).** Changements causés par le fluorure et le plomb sur les activités enzymatiques métaboliques dans le système reproductif de rats mâles. *Research report fluoride ;41 (3) :184- 191.*
- **Halder S, A K Mehta, R Kar, M Mustafa, P K Mediratta, K K Sharma.(2011)** L'huile de clou de girofle inverse les déficits d'apprentissage et de mémoire dans les souris traitées à la scopolamine. *Planta Med ; 77: 830–834*
- **HAMI J, DASHTI Gh R, NEMAT-BAKHSH M, AFSHAR M, GHAFARI HR (2006).** La relation entre l'exposition à haute dose de plomb et les lipides sériques et les niveaux de lipoprotéines. *Shiraz -Medical Journal ;Vol. 7, No. 2 .*
- **HAMMER K.A ; CARSON C.F and RILEY T.V.(1999)-** Activité antimicrobienne des huiles essentielles et d'autres extraits végétaux. *J. Appl Microbiol, 86(6) : 985-990.*
- **HONG C.H. et al.;** Évaluation de produits naturels sur l'inhibition de l'enzyme cyclooxygénase (COX-2) et de la synthase d'oxyde nitrique (iNOS) dans des cellules de macrophages de souris. *J.Ethnopharmacol.;* 2002; 83 (1-2): 153-9.
- **IARC :** Centre international de recherche sur le cancer. 1982. Produits chimiques, industries et processus industriels associés au cancer chez l'homme. *Eva\ Carcinog. Risk. Chem. Hum. Suppl. 4: 149.*
- **IARC.** Monographies sur l'évaluation des risques cancérogènes des produits chimiques pour l'homme. Certains métaux et composés métalliques. Lyon, 1980, vol. 23, pp. 325-415

- **Jain, S.K., DeFilipps, R.A., 1991.** Medicinal Plants of India, vol. 2. Reference Publication Inc., Michigan. pp. 243.
- **JUDD WALTER S ; CAMPBELL CHRISTOPHERD ; KELLOGG ELIZABETH A et STEVENS PETER F. (2002)-** Botanique systématique : Une perspective phylogénétique. Biologie végétale. Traduction et révision scientifique de la 1ere édition américaine par Jules Bouharmont et Charles-Marie Evrard. Edition De Boeck Université, Paris, P86-87.
- **KAHLOULA K, SLIMANI M, DUBOIS M, BONNET JJ. (2009).** D-cycloserine enhances spatial learning performances of rats chronically exposed to lead during the developmental period. African journal of neurological sciences 28.
- **Kang HK, Infante PR, Carra JS. 1980.** Occupational lead exposure and cancer. Science. 20 : 935-936.
- **Kashiwada, Y., H. K. Wang, T. Nagao, S. Kitanaka, I. Yasuda, T. Fujioka, T. Yamagishi, L. M. Cosentino, M. Kozuka, K. Okabe, Y. Ikeshiro, C. Q. Hu, E. Yeh, and. Kozam G. 1977.** The effect of eugenol on nerve transmission. Oral Surg Oral Med O44:799. Pages 799–805
- **KATO T ; LIJIMA H ; ISHIHARA K ; KANEK T ; HIRAI K ; NAITO Y and OKUDA K. (1990)-** Antibacterial effect of listerine on oral bacteria. Bull. Tokyo Dent. Coll. 31(4) : 301-307.
- **Kozam G. 1977.** The effect of eugenol on nerve transmission. Oral Surg Oral Med O44:799. Pages 799–805
- **Lakshmi,B.V,Sudhakar,M., Aparna,M.,2013** protective potential of black grapes against lead induced oxidative stress in rats . Environ.toxicol. pharmacol. 35,361-368
- **Lambardi,M.E.,Ladman,B.S, Alphin ,R.L,Benson , E.R,2008** ,inactivation of avian influenza virus using common detergents and chemicals , Avian Dis .52,118-123 .
- **Lee S.J Umano K, shibamoto T, Lee K.G/** Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties food chemistry, Vol 91 ;pp 131-137. 2005.
- **LOWRY OH, ROSEBROUGH NJ, FARR AL, RANDALL RJ, (1951).** Protein measurement with folin phenol reagent .*J Biol Chem*; 193 :265- 75.
- **Lucchesi. M.(2005).** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes Conception et application a l'extraction des huiles essentielles these en vue de l'obtention du grade de docteur. Université de la Réunion.p ;17.
- **M. R. Sepúlveda, T. Dresselaers , P. Vangheluwe , W. Everaerts ,U. Himmelreich , A. M. Mata and F. Wuytack** Evaluation of manganese uptake and toxicity in mouse brain during continuous MnCl₂ administration using osmotic pump, 2012 , 426
- **M. Reshma anjuma,1, s.b. Sainatha,1, y. Suneeth, p. Sreenivasula reddy 2011 ;** lead acetate induced reproductive and paternal mediated developmental toxicity in rats.
- **MACHELON V.(2000).** Toxicité du plomb et fonctions ovariennes. Reproduction Humaine et Hormones; XIII:552-557.

- **Mahmoud I. Nassar, Ahmed H. Gaara, Ahmed H. El-Ghorab, Abdel-Razik H. Farrag, HuiShen, EnamulHuq and Tom J. Mabry.(2007).** Chemical Constituents of Clove (*Syzygium aromaticum*, Fam. Myrtaceae) and their Antioxidant Activity. *Rev. Latinoamer. Quím.* 35/3
- **MALLEM TIBA.(2003)-** Etude phytochimique de l'exsudat et des huiles essentielles de l'espèce *Inulacrithmoides*. Thèse de magister en Sciences, Domaine : chimie organique Option : phytochimie. Université Mentouri Constantine, Faculté Des Sciences Exactes. Département de Chimie.
- **Marcus WL. Lead health effects in drinking water. 1986.** *Toxicol. Ind. Health.* 2 : 363-407.
- **Matías Miguel Salvarredy Aranguren (2008).** THESE DOCTARAT UNIVERSITE DE TOULOUSE/ Contamination en métaux lourds des eaux de surface et des sédiments du Val de Milluni (Andes Boliviennes) par des déchets miniers. Approches géochimique, minéralogique et hydrochimique
- **Mehana., Abdel Raheim M.A. Mekib , Khalid Majid Fazili ;2012.** Ameliorated effects of green tea extract on lead induced liver toxicity in rats
- **Milpied Homs.(2009)-** Progrès en dermato-Allergologie. p123mRNA in the Minder broeders straat 10 B-3000 Leuven, Belgium.
- **Modesto .dos Santos,V.,Dacosta Arruda jr.,Z, De farias Polcheira , M., Dasilva De souza ,D.W, rodrigues oliveira santos , A.M., Santos correa Dacosta M.,2013 ,** Acute hepatitis due to infectious mononucleosis in 21 –year-old man .*Rev.med,chil.*141,917-921
- **MOHAMMEDI ZOHRA. (2005- 2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère en Biologie. Option : Produits Naturels, Activités biologiques et synthèses. Université Abou BakrBelkaid Tlemcen. Faculté des sciences, Département de biologie. Laboratoire P produits Naturels.
- **Molina RM, Phattanarudee S, Kim J, Thompson K, Wessling-Resnick M, Maher TJ, Brain JD.** Ingestion of Mn and Pb by rats during and after pregnancy alters iron metabolism and behavior in offspring. *Neurotoxicology.* 2011 Aug;32(4):413-22. doi: 10.1016/j.neuro.2011.03.010. Epub 2011 Mar 31. Monde entier .Editions Konemann.
- **Moore M. R, B. C. Campbell, A. Goldberg,** *The Chemical Environment* (Editeurs : J. Lenihan, W. W. Fletcher), Academic Press, New York, 1977, Vol. 6, p. 64.
- **Morlot M (1996)** “ AGHTM Aspects analytiques du plomb dans l'environnement “ Ed Lavoisier TEC&DOC.
- **Murphy m.j., graziano j.h., popovac d., kline j.k., mehmeti a., factor_litvak p., ahmedi g., shrou p., rajovic b. And nenezic d.u.(1990)** - past pregnancy outcomes among women living in the vicinity of a lead smelter in kosovo, yugoslavia. *am j public health,* 80, 1, 33-35.
- **MURTHY RC, GUPTA SK, SAXENA DK (1995).** Nuclear alterations during acrosomal cap formation in spermatids of lead-treated rats. *Reprod Toxicol.* Sep-Oct;9(5):483-9.

- **NILSEN P.V and RIOS R.(2000)**- Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food. Microbiol.* 60 : 219-229.
- **NZELOF N.** Technique microscopique. *Ed Flammarion Médecine Science.* 1972 ; 1-3: 35-70.
- **OFSP. (2008)**- Office fédéral de la santé publique. Les huiles essentielles. Département fédéral de l'intérieur DFI. Unité de direction Protection des consommateurs.
- **OGUNKA-NNOKA C.U and MEPBA H.D. (2008)**- Proximate composition and antinutrient contents of some common spices in Nigeria. *The open food science journal*, 2, 62-67.
- **OHNO T ; KITA M ; YAMAOKA Y ; IMAMURA S ; YAMAMOTO T ; MITSUFUJI S ; KODAMA T ; KASHIMA K and IMANISHI J. (2003)**- Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter.* 8 : 207-215.
- **ONG C, NET LEE WR. (1980)**. Distribution of lead-203 in human peripheral blood in vitro. *Br J Ind Med.* 37 (1): 78-84.
- **OZTURK ABDURRAHMAN et OZBEK HANEFI. (2005)**-The anti-inflammatory activity of *Eugenia Caryophyllata* essential oil : an animal model of anti-inflammatory activity. *Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Van, Turkey ; 2(4) :159-163*
- **PICHARD A. (2002)**. Plomb et ses dérivés. Fiche INERIS.
- **Pourrut (2008)**. Implication de stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle *Vicia Faba* , Thèse doctorat, univ de Toulouse .177 P.
- **Prasad R C, B Herzog, B Boone, L Sims, M Waltner-Law.(2005)**. An extract of *Syzygium aromaticum* represses genes encoding hepatic gluconeogenic enzymes. *Journal of Ethnopharmacology* 96 295–30
- **PRASHAR A ; LOCKE I.C and Evans C .S.(2006)**-Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. Volume 39, Number 4, pp. 241-248(8).
- **R.K. Mishra, S.K. Singh / Food and Chemical Toxicology** 46 (2008) 3333–3338 Safety assessment of *Syzygium aromaticum* flower bud (clove) extract with respect to testicular function in mice.
- **Rabin, O., Hegedus, L., Bourre, J.M., Smith, Q.R., 1993**. Rapid brain uptake of manganese(II) across the blood–brain barrier. *J. Neurochem.* 61, 509–517
- **Rabinowitz M, Wetherhill G, Kopple I.** Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. *J Clin Invest.* 1978; 58: 260– 270
- **RHAYOUR KHADIJA. (2002)**-Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat National. UFR : Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des sciences Dhar Mehraz-fès.

- **ROULIER G. (1992)**- Les huiles essentielles pour votre santé ; Traité pratique d'aromathérapie
- **ROUX-SITRUK DANIELLE AVEC LA COLLABORATION DE CHAUMONT JEAN-PIERRE CIEUR CHRISTINE ; MILLET JOELLE ; MOREL JEAN-MICHEL et TALLEC DANIELLE. (2008)**- Conseil en aromathérapie. 2eme édition. Edition Wolters Kluwer, France. P : 13-14-15-16.
- **Sadiq S, Rasheed Z, Sadiq R**, antihyperglycaemic and antihyperlipidemic effects of ethanolic extract of *Syzygium aromaticum* (clove) in streptozotocin induced diabetics rats . british pharmacological society , BPS winter meeting , 2012, London , 18-20 december 2012.
- **SAKA S. BAH I A. AOUACHERI W. (2011)**. The effect of oxidative stress induced by lead acetate on the glutathione enzymatic system in rats. *Ann Toxicol Anal.* 23(3): 139-145
- **Sallmen m, anttila a, lindbohm ml, kyyronen p, taskinen h, hemminki k**. Time to pregnancy among women occupationally exposed to lead. *J occup environ med.* 1995; 37 (8): 931-934.
- **Sandhir r, gill kd**. Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats. *Biol trace elem res*1995; 48: 91-7.
- **SHAILESH KUMAR M, DESIRAJUUT (1990)** . Regional alterations of brain biogenic amines and GABA /glutamate levels in rats following chronic lead exposure during neonatal development .*Archives of toxicology ,ISSN 0340-5761 coden ARTON* ,vol 64 PP 305-314.
- **Sharma,S. Sharivastava,S., Shunkla,S.,2013**, reversal of lead induced toxicity due to the effect of antioxidants *J. Environ .pathol.toxicol.oncol.*32,177-187
- **Silbergeld E.K. (1991)** - Lead in bone: implications for toxicology during pregnancy and lactation. *Environ Health Perspect*, 91, 63-70.
- **SMADJA JACQUELINE.(2009)**- Les huiles essentielles. Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments (LCSNSA). Université de la Réunion. Colloque GP3A- Tananarive.
- **SOFOWORA ABAYOMI.(2010)**- Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Edition Karthala, Académie suisse des sciences naturelles, Ibadan, Nigeria. 371p.
- **Subramani S., Gajendren S.,Mahaddevan J., Jayachandran M.,Udaiyar M.,Vinayagam R., 2013** ; ameliorating effect of eugenol on hyperglycemia by attenuating the key enzymes of glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetics rats
- **SUGITA M.(1978)**. The biological half-time of heavy metals. the existence of a third " slowest "component. *Int Arch Occup Environ Health* 41: 25-40.
- **Takeda A (2003)** Manganese action in brain function.*Brain Research Reviews*41: 79–87.
- **Taylor A.(1986)**. Metabolism and toxicology of lead. *Rev Environ Health.* 6: 1–83.
- **TEUSHER E. et al.** ; Plantes aromatiques. Editions TEC&DOC; 2005

- **TEYSSOU ROGER . (2007)**- Dictionnaire mémorables des remèdes d'autrefois. Editions Harmattan, Paris. P : 85. Thérapeutiques. Médecine thérapeutique ; 3.hs: 103-11.
- **TIETZ NW, PRUDEN EL, SIGGARD-ANDERSEN O (1995)**. In: Tietz textbook of Clinical Chemistry (Burtis CA and Ashwell ER eds.) *WB Saunders Company London*. pp. 1354-1374.
- **Todd A, Wetmur J, Moline J, Godbold J, Levin S., Landrigan P. 1996**. Unraveling the chronic toxicity of lead: an essential priority for environmental health. *Environ. Health. Perspect.* 104: 141-146.
- **USDA. (2010)**- United State Département of Agriculture. Agricultural Research Service, Beltsville Area.
- **VENUGOPAL B., LUCKEY T.D.(1974)** Toxicology of nonradioactive heavy metals and their salts. In : Coulston F., Korte F. (eds) - Heavy metal toxicity safety and hormonology, vol 1. Stuttgart, suppl., pp. 4-74.
- **Vincent R., B. Jeandel**. Exposition professionnelle au plomb Analyse des resultats archives dans la base de données COLCHIC , - N° 187, 2etrimestre 2002
- **VIOLLON C and CHAUMONT J .P. (1994)**-Antifungalproperties of essential oils and their main compnentsuponCrytococcusneoformans. Laboratory of Botany, Faculty of Medecine and Pharmacy, Besanfon, France. *Mycopathologia* 128 : 151-153.
- **Waalkes M, Diwan B, Ward J, Devor D, Goyer R. 1995**. Renal tubular tumors and atypical hyperplasias in B6C3Fl mice exposed to lead acetate during gestation and lactation occur with minima! chronic nephropathy. *Cancer.Res.* 55 : 5265-5271.
- **Wedeen R.P. (1988)** - Bone lead, hypertension, and lead nephropathy. *Environ Health Perspect*, 78, 57-60. VA Medical Center, East Orange, NJ 07019.
- **WENQIANG GUAN; SHUFEN LI; RUIXIANG YAN; SHAO KUN TANG and CAN QUAN. (2006)**- Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. China.
- **WILLEM P.A(2002)**- Les huiles Essentielle, Médecine d'avenir, 318p.
- **Xiaobo Zhang*, Gitonga Munene*, Golam Mostafa*, Shaluk Biswas*, Michael McCormack*, Kyle R. Eberlin*, John T. Nguyen, Hamit S. Tatlidede, H. Shaw Warren†, Sonoko Narisawa, Jose L. Milla´n, and Richard A. Hodin,(2007) /** Intestinal alkaline phosphatase is a gut mucosal defense factor maintained by enteral nutrition Department of Surgery, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02114;
- **Yogalakshmi B, Viswanathan P, anuradha CV (2010)** investigation of antioxidant , anti-inflammatory and DNA protective properties of eugenol in thioacetamide induced liver injury in rats .*toxicology* 268:204-212.
- **ZHIRI A et BAUDOUX D, (2005)**. Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. *Aromathérapies scientifique*. ISBN : 2-919905-27-9. Edition InspirDevelopment- rue Goethe, 1- L-1637 Luxembourg. P 14-15.