

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Saida- Dr. Moulay Tahar
Faculté des Sciences
Département de Biologie



Laboratoire de biotoxicologie, pharmacognosie
et valorisation biologique des plantes



Thèse de doctorat Es-sciences

En Biologie

Spécialité: Biologie

Présenté par

M^{lle} **CHIKHI Amira**

Thème :

***Evaluation des effets biologiques de l'acide phytique
suite à une intoxication au plomb (Pb) durant la période
du développement chez les rats Wistar.
Etude biochimique, histologique et
neurocomportementale.***

Soutenu devant le jury : **1^e 02/12/2019**

| Nom et prénom | Grade | Etablissement | Qualité |
|----------------------------|--------------|-------------------------------|----------------|
| Adli Djallal Eddine Houari | MCA | Université de Saida | Président |
| Kahloula Khaled | Prof | Université de Saida | Rapporteur |
| Hachem Kadda | MCA | Université de Saida | Examineur |
| Ouabed Asmahane | MCA | Université de Tiaret | Examineur |
| Seddiki Sidi Mohamed Habib | MCA | Centre universitaire de Naama | Examineur |
| Salih Baraket Mohamed | MCA | Université de Tlemcen | Examineur |

Année universitaire : 2019-2020

Résumé:

Cette étude visait à évaluer les effets toxiques d'une exposition de rats au plomb (0,2%) sur les fonctions biochimiques, histopathologiques et neurocomportementales pendant la période de développement (gestation et lactation) et le rôle protecteur potentiel de l'acide phytique (1%) administré par voie orale.

L'exposition chronique au Pb pendant la période de développement a permis d'observer une baisse du poids corporel et cérébral comparé à ceux des témoins ($P < 0,001$). Les résultats relatifs aux tests de comportement plus précisément ceux de la dépression, de l'anxiété et de l'activité locomotrice, dévoilent clairement que l'intoxication au Pb provoque des troubles neurocomportementaux se traduisant par une hypoactivité locomotrice et une réduction du comportement d'exploration du milieu qui reflète l'instauration d'un état d'anxiété et dépression ($P < 0,001$).

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, du cholestérol, de l'urée, de la créatinine, de l'acide urique et des électrolytes (Na^+ , K^+ , Cl^-) chez les animaux contaminés au plomb ($P < 0,001$) par rapport aux animaux témoins. En effet, l'étude histologique a montré des lésions au niveau du tissu hépatique. Alors que, la concentration de l'albumine, le taux du calcium et du fer sérique ont été diminués. Cependant, les activités des transaminases (ASAT, ALAT) et PAL sérique ont présenté une augmentation remarquable ($P < 0,001$) chez les rats intoxiqués.

Les résultats obtenus révèlent également une toxicité hématologique en particulier chez les rats intoxiqués au plomb, avec une élévation non significative du nombre des globules blancs et des plaquettes, une diminution du taux des globules rouges, de la concentration d'hémoglobine, le pourcentage de l'hématocrite ($P < 0,01$) pendant l'intoxication au plomb.

Par ailleurs, l'administration de l'AP a permis d'enregistrer un regain de poids corporel et cérébral des jeunes rats comparés aux rats intoxiqués. De plus, l'utilisation des différentes techniques relatives aux tests de comportements dévoilent clairement que l'AP corrige l'état dépressif, l'anxiété et hypoactivité locomotrice. Les résultats des dosages biochimiques rénaux (urée, créatinine) et hépatique (ASAT, ALAT, PAL, albumine, cholestérol total et triglycérides) montrent une amélioration des valeurs suite à l'administration de l'AP ($P < 0,001$) comparativement à celles des animaux intoxiqués.

L'acide phytique a réduit la plombémie et la concentration du Pb cérébral par rapport aux rats intoxiqués non traités ($P < 0,001$). Les lots traités avec de l'AP ont montré une élévation significative de la teneur en fer et en calcium sérique, par contre la valeur du Mg^{+2} sérique était inchangé par rapport à celle du lot intoxiqué.

L'acide phytique confère un effet protecteur contre les perturbations induites par le plomb au cours de la période de développement qui s'avère vulnérable.

Mots clés: Acide phytique (AP), plomb, intoxication, comportement, plombémie.

Abstract:

This study is aimed at assessing toxic effects of lead exposure (0.2%) on biochemical functions, histopathological, and neurobehavioral in rats during the developmental period (pregnancy and lactation) and the potential protective role of phytic acid (1%) administered orally.

Chronic exposure to Pb during development resulted in a decrease in body and brain weights compared to control ($P < 0.001$). The results of the behavioral tests, more specifically those of depression, anxiety and locomotor activity, clearly show that Pb intoxication causes neurobehavioral disorders resulting in locomotor hypoactivity ($P < 0.001$) and a reduction in environmental exploration behavior that reflects the development of a state of anxiety and depression.

The results indicate also changes in biochemical parameters, which are characterized by an increase in serum glucose, triglycerides, cholesterol, urea, creatinine, uric acid and electrolytes (Na^+ , K^+ , Cl^-) of animals contaminated with lead compared to the control animals ($P < 0.001$). Indeed, the histological study showed lesions in the liver tissue. While, the concentration of albumin, the rate of calcium and serum iron were decreased. However, transaminase (AST, ALT) and serum ALP activities showed a remarkable increase ($P < 0.001$) in intoxicated rats.

The results obtained also reveal hematological toxicity, especially in lead intoxicated rats, with a non significant increase in the number of white blood cells and platelets, a decrease in the rate of red blood cells, hemoglobin concentration, the percentage of hematocrit ($P < 0.01$) during lead intoxication.

Otherwise, the administration of PA resulted in an increase in body and brain weight in young rats compared to poisoned rats. In addition, the use of different techniques related to behavioral testing clearly shows that PA corrects depression, anxiety and locomotor hypoactivity.

The results of the renal biochemical assays (urea, creatinine) and hepatic (AST, ALT, ALP, albumin, total cholesterol and triglycerides) show a improvement of the values following administration of PA ($P < 0.001$) compared to those of intoxicated animals.

Phytic acid reduced blood lead levels and brain Pb concentration compared to untreated poisoned rats. Batches treated with PA showed a significant increase in serum iron and calcium content, but the serum Mg^{+2} value was unchanged compared to the intoxicated batch. Phytic acid provides protection against lead induced disturbances during the development period which is vulnerable.

Keywords: Phytic acid (PA), lead, intoxication, behavior, blood lead level.

الملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم آثار حمض الفيتيك ضد التسمم بالرصاص. تم إعطاء حمض الفيتيك (1%) إلى فئران فتية معرضة للرصاص (0.2%) خلال فترة الحمل والرضاعة. أدى التعرض المزمن للرصاص (Pb) خلال فترة التطوير إلى انخفاض وزن الجسم والدماغ مقارنةً بالفئران الشاهدة ($P < 0.001$). نتائج الاختبار السلوكي من الاكتئاب والقلق والنشاط الحركي تكشف بوضوح أن تسمم الرصاص يسبب اضطرابات سلوكية عصبية تؤدي إلى فرط النشاط وانخفاض النشاط الحركي ($P < 0.001$) وتراجع في اكتشاف الوسط وهذا يعطي صورة عن حالة القلق والكآبة لدى الفئران المسممة.

النتائج بينت أيضا تغييرات ملموسة في المؤشرات البيوكيميائية، والتي تتميز بزيادة في مصل الجلوكوز، والدهون الثلاثية، الكوليسترول، اليوريا، الكرياتينين، حمض اليوريك، والشوارد (Cl^- ، K^+ ، Na^+) بالنسبة للفئران المسممة مقارنة بالحيوانات الضابطة ($P > 0.001$)، بينما انخفض تركيز الألبومين، انخفض معدل الكالسيوم وحديد المصل، بينما نشاط الترانسمينازات (ALT، AST) ومصل ALP عرف زيادة ملحوظة ($P > 0.001$) عند الفئران المسممة بالرصاص.

كما كشفت النتائج أيضا التأثير السمي على المؤشرات الدموية حيث سجلت زيادة في عدد الكريات الدم البيضاء، وانخفاض في معدل خلايا الدم الحمراء، وتركيز الهيموغلوبين، ونسبة الهيماتوكريت ($P > 0.01$) أثناء التسمم بالرصاص.

بالإضافة إلى ذلك، سمح تأثير حمض الفيتيك (PA) على تسجيل إعادة الوزن الجسم والدماغ لدى الفئران الفتية مقارنةً بالفئران المسممة. بالإضافة إلى ذلك، بالإضافة إلى ذلك، يكشف استخدام تقنيات اختبار السلوك المختلفة بوضوح أن AP يصحح حالة الاكتئاب والقلق ونقص النشاط الحركي. نتائج فحوصات الكيمياء الحيوية الكلوية (اليوريا، الكرياتينين) والكبد (ALT، AST)، ALP، الألبومين، الكوليسترول الكلي والدهون الثلاثية) تُظهر تصحيحًا للقيم بعد معالجة ب AP ($P > 0.001$) مقارنةً بالحيوانات السامة.

يقلل حمض الفيتيك من الرصاص في الدم وتركيز الرصاص في المخ مقارنةً بالفئران السامة غير المعالجة. أظهرت الفئران المعالجة ب AP زيادة كبيرة في محتوى الحديد والكالسيوم في المصل، في حين أن قيمة المغنيسيوم لم تتغير مقارنةً بالقيمة لدى الفئران المسممة.

يوفر حمض الفيتيك تأثير وقائي ضد الاضطرابات الناجمة عن الرصاص خلال فترة التطور عند الفئران والتي هي عرضة للخطر.

الكلمات المفتاحية: حمض الفيتيك (AP)، الرصاص، التسمم، السلوك، الرصاص في الدم.

Table des matières:

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS

Introduction 1

Chapitre. I: Le plomb

| | |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Généralités..... | 3 |
| 2. Les propriétés physico-chimiques du plomb..... | 3 |
| 3. Les sources d'exposition au plomb..... | 4 |
| 3.1 Poussières..... | 4 |
| 3.2 Peinture..... | 4 |
| 3.3 Activité professionnelle et loisirs..... | 5 |
| 3.4 Cosmétiques et médicaments..... | 5 |
| 4. La toxico-cinétique du plomb..... | 5 |
| 4.1 Absorption :..... | 5 |
| 4.1.1 Absorption digestive..... | 5 |
| 4.1.2 La voie respiratoire..... | 6 |
| 4.1.3 La voie cutanée:..... | 6 |
| 4.2 Distribution..... | 7 |
| 4.2.1 Transport sanguin..... | 7 |
| 4.2.2 Transfert aux organes..... | 7 |
| 4.3 Excrétion..... | 9 |
| 5. La toxicité du plomb..... | 9 |
| 5.1 Intoxication aiguë..... | 9 |
| 5.2 Intoxication chronique..... | 9 |
| 5.2.1 Effets hématologiques..... | 10 |
| 5.2.2 Toxicité hépatique du plomb..... | 10 |
| 5.2.3 Effets du plomb sur la fonction rénale :..... | 11 |
| 5.2.4 Effets du plomb sur le système nerveux central (SNC)..... | 12 |
| 5.2.5 Effets sur le système nerveux périphérique..... | 13 |
| 5.2.6 Effets cancérogènes..... | 14 |
| 5.2.7 Effets sur le système cardiovasculaire et hypertension..... | 14 |
| 5.2.8 Effets sur l'appareil reproducteur..... | 15 |
| 5.3 Autres effets..... | 16 |
| 5.3.1 Troubles digestifs..... | 16 |
| 6. Le plomb et le stress oxydatif..... | 17 |
| 6.1 Définition du stress oxydant..... | 17 |
| 6.2 Marqueurs du stress oxydant..... | 18 |
| 6.3 Plomb et le stress oxydatif..... | 19 |
| 6.4 Traitement thérapeutique de l'intoxication par le plomb..... | 20 |

| | | |
|-------|----------------------------------------|----|
| 6.4.1 | Toxicité au plomb et antioxydants..... | 20 |
| 6.4.2 | La thérapie par chélation | 20 |

Chapitre. II: Acide phytique

| | | |
|-----|-------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. | Généralités..... | 25 |
| 2. | Structure chimique de l'acide phytique..... | 25 |
| 3. | Localisation de l'acide phytique..... | 26 |
| 4. | Fonctions et biosynthèse | 28 |
| 5. | La dégradation du phytate | 30 |
| 5.1 | Interaction chimique du phytate dans le tractus gastro-intestinal | 30 |
| 5.2 | Dégradation enzymatique du phytate | 30 |
| 5.3 | Phytases..... | 30 |
| 6. | Méthodes de préparations d'acide phytique | 31 |
| 6.1 | La synthèse..... | 31 |
| 6.2 | Hydrolyse..... | 31 |
| 7. | Pharmacocinétique l'acide phytique | 32 |
| 7.1 | L'absorption et distribution..... | 32 |
| 7.2 | L'excrétion de l'IP6..... | 34 |
| 8. | Les effets négatifs de l'acide phytique | 35 |
| 9. | L'utilisation thérapeutique de l'acide phytique:..... | 36 |
| 9.1 | Effet anti-cancéreux | 36 |
| 9.2 | Effet antimicrobien..... | 38 |
| 9.3 | Contre le Diabète | 40 |
| 9.4 | Biodisponibilité des minéraux et la thérapie par chélation | 40 |
| 9.5 | Les propriétés antioxydantes | 41 |
| 9.6 | Rôle dans la prévention des calculs rénaux | 41 |
| 9.7 | L'utilisation dermatologique | 42 |
| 9.8 | Effets sur les mycotoxine | 42 |
| 10. | L'acide phytique et stress oxydatif | 42 |

Chapitre.III: Matériel et méthodes

| | | |
|-----|-------------------------------------------------------------------|----|
| 1. | L'objectif..... | 43 |
| 2. | Animaux d'expérimentation | 43 |
| 3. | Répartition des groupes..... | 43 |
| 4. | Evolution du poids corporel et poids des organes | 45 |
| 5. | Tests neurocomportementaux | 45 |
| 5.1 | Test de la nage forcée (Forced Swimming Test) | 45 |
| 5.2 | Le test du compartiment obscurité/lumière (Light Dark Test) | 46 |
| 5.3 | Meure l'activité locomotrice (Open Field) | 47 |
| 5.4 | La piscine de Morris (Labyrinthe aquatique) | 48 |
| 6. | Le sacrifice et le prélèvement des organes | 49 |
| 7. | Dosage du plomb sanguin et cérébral : | 49 |
| 7.1 | Plombémie : | 49 |

| | | |
|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----|
| 7.2 | Dosage du plomb dans le cerveau | 50 |
| 7.3 | Dosage biochimique | 50 |
| 7.4 | Dosage du glucose..... | 50 |
| 7.5 | Dosage des lipides | 51 |
| 7.5.1 | Dosage des triglycérides | 51 |
| 7.5.2 | Dosage de Cholestérol | 51 |
| 7.5.3 | Dosage des HDL et LDL..... | 52 |
| 7.6 | Evaluation de la fonction rénale | 52 |
| 7.6.1 | Dosage de la créatinine et l'urée | 52 |
| 7.6.2 | Dosage de l'acide urique..... | 53 |
| 7.7 | Evaluation de la fonction hépatique | 53 |
| 7.7.1 | Dosage des transaminases..... | 53 |
| 7.7.2 | Dosage de la phosphatase alcaline..... | 53 |
| 7.7.3 | Dosage de la bilirubine | 54 |
| 7.7.4 | Dosage de lactate déshydrogénase | 54 |
| 7.7.5 | Le dosage d'albumine | 54 |
| 7.7.6 | Dosage de fer sérique | 54 |
| 7.8 | Dosage de calcium..... | 55 |
| 7.9 | Dosage du magnésium sanguin..... | 55 |
| 7.10 | Dosage du sodium, du potassium et du chlore..... | 55 |
| 8. | Détermination des paramètres hématologiques | 55 |
| 9. | Étude histologique des organes..... | 55 |
| 9.1 | La fixation | 55 |
| 9.2 | L'observation macroscopique des organes fixés | 56 |
| 9.3 | La réalisation des blocs de paraffine..... | 56 |
| 9.4 | La microtomie et confection des coupes | 57 |
| 9.5 | La coloration des coupes..... | 58 |
| 9.6 | Le montage des lames..... | 59 |
| 9.7 | L'observation microscopique | 60 |
| 10. | Analyse statistique | 61 |
| Chapitre. IV: Résultat et interprétation | | |
| 1. | L'effet du plomb et l'acide phytique sur la croissance pondérale..... | 62 |
| 2. | Tests neurocomportementaux | 63 |
| 2.1 | Evaluation de l'état de résignation (Test d'anxiété) | 63 |
| 2.2 | Evaluation du comportement dépressif (Test de la nage forcée) | 64 |
| 2.3 | Evaluation de l'activité locomotrice (Open Field)..... | 67 |
| 2.4 | Evaluation de l'apprentissage spatial (Piscine de Morris) | 69 |
| 2.4.1 | Lot préventif..... | 69 |
| 2.4.2 | Lot curatif..... | 71 |
| 3. | Evaluation du taux de plomb sanguin et cérébral | 73 |
| 3.1 | La Plombémie..... | 73 |

| | | |
|-------|----------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.2 | Dosage du plomb dans le cerveau | 75 |
| 4. | Evaluation des paramètres hématologiques | 76 |
| 4.1 | Lot préventif | 76 |
| 4.2 | Lot curatif | 77 |
| 5. | Dosage biochimique..... | 78 |
| 5.1 | Evaluation lipidique..... | 78 |
| 5.2 | Evaluation de la fonction rénale | 80 |
| 5.2.1 | Dosage de l'urémie | 80 |
| 5.2.2 | Dosage de la créatinine..... | 81 |
| 5.2.3 | Dosage de l'acide urique..... | 83 |
| 5.3 | Evaluation de la fonction hépatique | 84 |
| 5.3.1 | Dosage des transaminases ASAT et ALAT | 84 |
| 5.3.2 | Dosage de phosphatase alcalin (PAL) | 86 |
| 5.3.3 | Dosage de la bilirubine, l'albumine, fer sérique et du LDH | 87 |
| 6. | Etude histologique | 88 |
| 6.1 | Effet du Plomb et AP sur l'histologie du foie | 88 |
| 6.2 | Effet du Plomb et AP sur l'histologie du cerveau..... | 88 |
| | Discussion..... | 91 |
| 1. | Effet du Pb et l'AP sur la croissance pondérale | 91 |
| 2. | Effets du Plomb et l'acide phytique sur le comportement cognitif..... | 92 |
| 3. | Dosage du plomb sanguin et cérébral | 95 |
| 4. | Effet du plomb et l'acide phytique sur les paramètres hématologiques | 97 |
| 5. | Effet du plomb et l'acide phytique sur les paramètres lipidiques..... | 98 |
| 6. | Effet du plomb et l'acide phytiques sur les fonctions rénale | 98 |
| 7. | Effets du plomb et l'acide phytique sur les fonctions hépatiques | 99 |
| 8. | Dosage du taux de l'albumine et LDH | 99 |
| | Conclusion..... | 101 |
| | Références bibliographiques..... | 104 |
| | Publications..... | 124 |

Remerciements

Ce travail de recherche a pu aboutir grâce à la contribution de nombreuses personnes. Je désire ici leur témoigner ma sincère gratitude via ces quelques lignes.

*J'exprime mes plus sincères remerciements au **Pr. Khaled KAHLOULA** qui a veillé à mon encadrement. Je suis ravie d'avoir travaillé en sa compagnie car outre ses indubitables compétences scientifiques et académiques, son assiduité, sa générosité, il a toujours été là pour me soutenir et me conseiller. Durant toute ma thèse, ses discussions scientifiques, sa richesse d'esprit, sa rigueur professionnelle et ses précieux conseils ont été pour moi une source d'inspiration et d'encouragement. Merci pour ta disponibilité, ta compréhension et ta gentillesse. Merci aussi pour la confiance que tu m'as apportée et dont j'avais besoin pour continuer à parcourir cette aventure de rêve et de défi. Qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect et de mon éternelle gratitude.*

*Mes sincères remerciements et ma gratitude vont aussi au **Dr. Djatal Eddine ADLI** pour avoir accepté de juger ce travail et d'en présider le jury de soutenance. Que vous soyez assuré de mon entière reconnaissance.*

*Je remercie **Dr. OUABED Asmahane** de l'université de Tiaret qui a bien voulu honorer de sa présence, qui accepter de participer au jury et d'examiner ce travail qu'elle trouve ici l'expression de notre gratitude.*

*Je tiens également à remercier **Dr. Kadda HACHEM** a accepté de juger ce travail en tant qu'examineur. Je lui adresse mes sentiments les plus respectueux.*

*Que Monsieur **Dr. SEDDIKI Sidi Mohamed Habib** trouve ici l'expression de mes sincères remerciements pour l'intérêt qu'il a bien voulu apporter à ce travail en acceptant de participer à cette Commission d'examen.*

*Je veux exprimer, ici, ma respectueuse gratitude à Monsieur le **Dr. Salih Barakat Mohamed** pour avoir bien voulu participer à examiner ce travail.*

*Un grand merci aux doctorants: **Wafae Arabi, Narimene Taibi, Mustapha Brahimi, Fideh**. Je remercie également **Asma Amari** et tout particulièrement **Amal Akhlef** pour sa gentillesse et sa disponibilité à chaque fois que j'ai eu besoin de son aide.*

Enfin, mes plus vifs remerciements sont également adressés à tous mes collègues et le Personnel du département de biologie pour leur gentillesse et leur serviabilité et à tous qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chères sœurs pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A mes chers frères pour leur appui et leur encouragement,

A mes amies : Yasmina, Amina, Hafida, Soria, Nora.

Merci d'être toujours là pour moi.

LISTE DES TABLEAUX

| | Pages |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Tableau.01: Contenu en phytates (mg/g de matière sèche) dans la nourriture humaine dérivée des plantes..... | 27 |
| Tableau.02: Action de l'IP6 sur plusieurs conditions pathologiques..... | 39 |
| Tableau.03: Temps nécessaires pour chaque type de bain..... | 58 |
| Tableau.04: Evaluation des paramètres pondéraux chez les différents groupes. | 62 |
| Tableau.05 : Evaluation des paramètres hématologiques chez les différents groupes testés. | 77 |
| Tableau.06: Les électrolytes du sang chez les différents groupes testés. | 78 |
| Tableau.07: Effet du plomb et AP sur le taux de bilirubine, albumine, fer sérique et LDH. ... | .88 |

LISTE DES FIGURES

| | Pages |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Figure.01: Représentation schématique du métabolisme et de la distribution du plomb dans l'organisme..... | 8 |
| Figure.02: Structure chimique de l'acide phytique | 26 |
| Figure.03: Illustration schématique de l'acide phytique | 29 |
| Figure.04: Transport de l'acide phytique..... | 33 |
| Figure.05: Le potentiel chimiopréventeur et thérapeutique de l'IP6 | 37 |
| Figure.06: Mécanisme d'action de l'IP6 | 38 |
| Figure.07: Un mécanisme de protection proposé par l'acide phytique dans le cerveau de souris..... | 42 |
| Figure.08: Schéma récapitulatif du protocole expérimental..... | 44 |
| Figure.09: Test de la nage forcée..... | 46 |
| Figure.10 : Test de l'anxiété chez le rat | 47 |
| Figure.11: Le test de l'Open Field. | 48 |
| Figure.12 : La piscine de Morris | 49 |
| Figure. 13 : La réalisation des coupes par le microtome | 57 |
| Figure.14 : l'automate de coloration utilisé..... | 59 |
| Figure.15 : Le montage des lames. | 60 |
| Figure.16: Les lames préparées pour l'analyse microscopique | 60 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure.17: l'examen microscopique des sections histologiques..... | 60 |
| Figure 18 : Le temps de séjour passé dans le compartiment éclairé chez les différents lots, témoins, intoxiqués, témoins traités(AP) et traités intoxiqués (AP-Pb)..... | 63 |
| Figure.19: Le temps de séjour passe dans le compartiment éclairé chez les différents lots témoins, intoxiqués, témoins traités(AP) et intoxiqués traités (Pb-AP)..... | 64 |
| Figure.20: Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée chez les rats témoins(T), intoxiqués(Pb), témoins traités(AP) et traités intoxiqués (AP-Pb)..... | 65 |
| Figure.21: le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée chez les rats témoins(T), intoxiqués(Pb), témoins traités (AP) et intoxiqués traités (Pb –AP)..... | 65 |
| Figure.22: le taux de la glycémie chez les rats témoins(T), intoxiqués(Pb), témoins traités(AP) et traités intoxiqués (AP-Pb)..... | 66 |
| Figure.23: Le taux de la glycémie chez les rats témoins(T), intoxiqués(Pb), témoins traités(AP) et intoxiqués traités (Pb-AP)..... | 67 |
| Figure.24: La comparaison des différents paramètres du test Open Field entre les rats témoins(T), intoxiqués(Pb), témoins traités (AP) et traités intoxiqués (AP-Pb)..... | 68 |
| Figure.25 : La comparaison des différents paramètres du test Open Field entre les rats témoins(T), intoxiqués(Pb), témoins traités(AP) et intoxiqués traités (Pb-AP)..... | 68 |
| Figure.26 : Temps d'échappement durant la phase d'apprentissage de la piscine de Morris chez les rats témoins (T), les rats exposés au plomb (Pb), témoins traités (AP) et les rats traités intoxiqué (AP-Pb)..... | 70 |
| Figure. 27 : Temps passe dans le quadrant (NO) durant le probe test par les rats témoins (T), les rats intoxiqués au Pb, témoins traités (AP) et les rats traités intoxiqué (AP-Pb)..... | 70 |
| Figure.28 : Temps de latence durant la phase de la plateforme émergé de la Morris chez les rats témoins (T), intoxiqué(Pb), Témoins traités (AP) et les traités intoxiqués(AP-Pb)..... | 71 |
| Figure.29: Temps d'échappement durant la phase d'apprentissage de la piscine de Morris chez les rats témoins (T), les rats exposés au plomb (Pb), témoins traités(AP) et les rats intoxiqué traités (Pb-AP)..... | 72 |
| Figure.30: Temps passe dans le quadrant (NO) durant le probe test par les rats témoins (T), les rats intoxiqués au Pb, témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP)..... | 72 |
| Figure.31: Temps de latence durant la phase de la plateforme émergée de la piscine de Morris chez les rats témoins (T), intoxiqué (Pb), témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP)..... | 73 |
| Figure.32: La comparaison de la plombémie chez les rats témoins (T), rats intoxiqués (Pb), rats témoins traités (AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb)..... | 74 |
| Figure.33: La comparaison de la plombémie chez les rats témoins (T), rats intoxiqué(Pb), rats témoins traités (AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP)..... | 74 |
| Figure.34: la comparaison de la concentration du plomb dans le cerveau entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb)..... | 75 |
| Figure.35: la comparaison de la concentration du plomb dans le cerveau entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP)..... | 76 |
| Figure.36: la comparaison du dosage lipidique entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb)..... | 79 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure.37: la comparaison du dosage lipidique entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités (AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). | 79 |
| Figure.38 : La comparaison de la concentration de l'urémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqué (AP-Pb) | 80 |
| Fogure.39 : la comparaison de la concentration de l'urémie entre les rats témoins(T), intoxiqués (Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP)..... | 81 |
| Figure.40 : la comparaison de la concentration de la créatinémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb) | 82 |
| Figure.41: la comparaison de la concentration de la créatinémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). | 82 |
| Figure.42: la comparaison de l'uricémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb. | 83 |
| Figure.43: la comparaison de l'uricémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP)..... | 83 |
| Figure.44: la comparaison de la concentration de l'ASAT entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb). | 84 |
| Figure.45: la comparaison de la concentration de l'ALAT (TGP) entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb)..... | 85 |
| Figure.46: la comparaison de la concentration de l'ASAT entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). | 85 |
| Figure.47: la comparaison de la concentration de l'ALAT entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP)..... | 86 |
| Figure.48: la comparaison de la concentration du PAL entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb). | 86 |
| Figure.49: la comparaison de la concentration du PAL entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP)..... | 87 |
| Figure.50 : La microscopie optique du tissu hépatique..... | 89 |
| Figure.61 : La microscopie optique du parenchyme cérébral..... | 90 |

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: Acide désoxyribonucléique
ADP: Adénosine diphosphate
AG: Acide gras
ALA: Acide aminolévulinique
ALAD: Acide aminolévulinique déshydratase
ALAT: Alanine aminotransférase
AP: Acide phytique
ANOVA: Analysis of variance
APH: Acide phytique
ASAT: Aspartate aminotransférase
ATP: Adénosine triphosphate
ATPase: Adénosine triphosphatase
BAL: British anti-lewisite
BL: Bilirubine
Ca⁺²: Calcium
CaNa₂EDTA: Calcium disodium ethylenediaminetetraacetic Acide
Cl⁻: Chlore
CT: Cholesterol Total
ChAT: choline acetyltransferase
DHAP: Dihydroxyacétone phosphate
DMSA: Acide dimercaptosuccinique
DMSPs : Acide 2,3-dimercapto-1-propanesulfonique
ED : Eau distillée
EDTA : Acide éthylène diamine tétra acétique
ERN: Espèces réactive d'azote
ERO: Espèces réactive de l'oxygène
Fe: Fer
FNS: Numérotation formule sanguine
GB: Globules blancs
GOD: Glucose oxydase
GPx: Glutathion peroxydase
GR: Globules rouges
GSH: Glutathion
GSHase : Glutathion réductase
GSSG: Glutathion oxydé
H₂O₂: peroxyde d'hydrogène
Hb: Hémoglobine
HDL: Lipoprotéine de haute densité
Ht: Hématocrite
IP₆: Inositol hexaphosphate
InsP₄: Inositol tetraphosphate
InsP₃: Inositol triphosphate
K⁺: Potassium
LDH: Lactate déshydrogénase
LDL: Lipoprotéine de basse densité

MDA: Malondialdéhyde
MDH: Malate déshydrogénase
Mg: Magnésium
Na²⁺: Sodium
NAD⁺: Nicotine adenine dinucléotide
NADH, H⁺: Nicotine amide dinucléotide réduit
Na₂(Ca EDTA): Ethylene Diamine Tetraacetic Acid Calcium Disodium
O² : Oxygène singulet
OH : Radical hydroxyle
PAL: Phosphatase alcaline
Pb: Plomb
PLT: Plaquette
PPZ: Protoporphyrines zinc
POD : Peroxydase
ROS : Espèces réactives oxygénées
SH: Groupement thiol
SOD: Super oxyde dismutase
SNC: système nerveux central
SNP: système nerveux périphérique
T: Témoin
TG: Triglycéride
TGO: Transaminase glutamique oxaloacétique
TGP: Transaminase glutamique pyruvique
UV: Ultraviolet
Zn: Zinc
VACHT: vesicular acetylcholine transporter

INTRODUCTION

Introduction:

Les éléments traces toxiques, tels que le plomb, qu'ils soient d'origine environnementale, professionnelle ou alimentaire, continuent de menacer la santé publique. Le plomb n'a aucun rôle biologique bénéfique décelable. Au contraire, il présente des effets néfastes sur la physiologie, la biochimie et le comportement des organismes. Sa concentration élevée affecte le système nerveux central et périphérique, le système hématopoïétique, le système cardiovasculaire, les reins, le foie et le système reproducteur (**Ruff et al., 1996; Bressler et al., 1999**).

Le saturnisme a été la première maladie professionnelle reconnue. Le traitement classique contre l'intoxication au plomb repose essentiellement sur l'utilisation d'agents chélateurs chimiques, tels que l'EDTA, DMSA, DMPS, molécules permettant la mobilisation et l'élimination du plomb de l'organisme.

Une préoccupation concrète en matière de santé publique concerne l'utilisation des molécules d'origine naturelle qui peuvent être impliqués dans la chélation des métaux lourds. L'acide phytique (myo-inositol hexaphosphorique, IP6) fonctionne comme un antioxydant naturel en chélatant des métaux lourds tels que le plomb et le cadmium, empêchant la génération d'espèces réactives de l'oxygène responsables de la lésion et de la carcinogénèse (**Shamsuddin, 2002; Higuchi, 2014**). L'acide phytique se trouve en grande quantité dans la plupart des céréales, noix, graines oléagineuses et légumineuses, c'est la forme de stockage du phosphore, un minéral important utilisé dans la production d'énergie ainsi que la formation d'éléments structurels tels que les membranes cellulaires (**Jacela et al., 2010**). L'acide phytique dans les aliments a été qualifié d'indésirable ou d'antinutritionnel en raison du fait que cette substance rend les cations alimentaires limitantes comme le zinc, le fer et le cuivre indispensables pour l'homme (**Sanchis et al., 2017**).

Contrairement à ses effets antinutritifs, l'action protectrice de l'acide phytique a été associée à sa capacité de chélation, réduisant ainsi le risque du cancer du colon à médiation ferrique, réduit le cholestérol et triglycérides (**Shamsuddin et al., 2005; Kumar et al., 2010**).

Il a également été démontré que l'acide phytique protège les neurones dopaminergiques contre l'apoptose chez le rat. L'acide phytique peut offrir un traitement protecteur associé à un traitement médicamenteux traditionnel, afin de ralentir la progression et de limiter l'ampleur de la mort des cellules neurales dans la maladie de Parkinson (Xu et al., 2008).

A la lumière de ces données, notre travail de recherche consiste d'une part, d'estimer l'incidence de l'intoxication au plomb pendant la gestation et lactation chez les rats Wistar et d'autre part, évaluer l'effet des différents modes d'administration de l'acide phytique contre la toxicité du plomb.

Différentes approches expérimentales ont été développées dans l'exploration du fonctionnement des organes (foie et cerveau) :

- Une approche neurocomportementale, dans laquelle nous avons réalisé les tests relatifs au comportement (activité locomotrice, test d'anxiété, test de dépression et test d'apprentissage).
- Une approche biochimique, dans laquelle nous avons effectué les dosages de différentes paramètres marqueurs de fonctionnement des organes (dosage de la plombémie et détermination de la concentration du Pb cérébral, exploration de la fonction rénal et hépatique).
- Une étude histologique des organes : cerveau et foie.

Chapitre. I
Le plomb

1. Généralités:

Le plomb (Pb) est l'un des métaux qui a été le plus anciennement et le plus largement utilisé par l'homme, probablement en relation avec sa grande malléabilité, sa ductilité et son faible point de fusion, entre 328 et 347°C.

C'est l'un des éléments des pigments retrouvés dans les tombes néandertaliennes moustériennes (40 000 ans avant Jésus-Christ). Le plomb était utilisé par les Égyptiens et les Hébreux, 4 000 ans avant Jésus-Christ, et les Phéniciens ont commencé à l'extraire en Espagne environ 2 000 ans avant notre ère.

La connaissance de la toxicité du plomb est également très ancienne. Elle est citée par les médecins de l'Antiquité. Les premières descriptions de la colique et de la goutte saturnines sont attribuées à Hippocrate dans le livre VII *Epidémies*, près de 400 ans avant Jésus-Christ (Fussler, 2011).

Le plomb est une toxique multi-cible, capable de provoquer des altérations différentes selon le stade de développement lors de l'exposition. Sa persistance dans l'organisme présente ainsi un grand risque pour la santé humaine et animale et reste un souci important, d'autant plus que le plomb est largement présent dans notre environnement (Gargouri et al., 2015).

2. Les propriétés physico-chimiques du plomb:

Le plomb (Pb) est un métal lourd qui peut être mou, gris bleu, cristallise dans le système cubique à faces centrées. Sa densité est de 11,3. Il appartient au quatrième groupe de la classification périodique. Sa masse atomique est de 207,2 g et son nombre atomique est égal à 82.

Le plomb résiste très bien à l'action des acides sulfuriques, phosphoriques, chromiques et à de nombreux autres produits chimiques industriels. En revanche, sa résistance est imparfaite vis-à-vis de l'acide nitrique, des hydracides et des acides organiques, ainsi que les bases.

Le plomb est pratiquement insensible à la corrosion atmosphérique, grâce à la formation d'une pellicule protectrice d'oxyde, d'hydrate et de carbonate de plomb. C'est un produit difficilement inflammable et explosible, sauf sous forme pulvérulente (poussières) exposée à la chaleur ou aux flammes. Dans ce cas, les agents d'extinction recommandés sont le sable sec, de la dolomite ou du graphite (Benadda, 2002).

3. Les sources d'exposition au plomb:

Les sources les plus courantes d'exposition au Pb en cours sont la peinture au Pb dans les vieilles maisons, les sols contaminés, la poussière, l'eau potable, cristal au Pb et poterie glacée au Pb.

Tous les auteurs s'accordent pour reconnaître qu'il est souvent difficile d'identifier la source de Pb ayant intoxiqué l'animal. L'alimentation contribue à l'apport non négligeable en Pb. Mais même en absence d'une consommation de ce type, il existe une exposition de fond de la population des pays industrialisés, par accumulation du Pb dans la chaîne alimentaire et également par des techniques inappropriées de conditionnement ou de cuisson des denrées destinées à la consommation humaine ou animale (**Landrans et Paclot, 1994**).

3.1 Poussières:

La poussière est une source importante d'exposition au plomb, en particulier pour les jeunes enfants, comme cela a été démontré dans plusieurs études corrélant les concentrations de plomb dans le sang des enfants avec les émissions extérieures proviennent de la combustion des combustibles fossiles (principalement de l'essence au plomb), sources fixes telles que les fonderies, Fusion et affinage des métaux et le pelage (**WHO, 1995**). Elle est modérément influencée par la circulation automobile de proximité (elle décroît rapidement à distance des routes) (**Garnier, 2005**). Les fumées de cigarettes contiennent également de très faibles quantités de plomb. Les poussières peuvent aussi être transférées du lieu de travail au domicile par les chaussures, les vêtements, les cheveux et les mains sales des salariés. Ces poussières peuvent être remises en suspension dans l'atmosphère par balayage (et non nettoyage humide) et contaminer ainsi les surfaces et les aliments (**Amara et al., 2016**).

3.2 Peinture:

Les peintures anciennes peuvent contenir de 5 à 40 % de plomb. L'ingestion d'écailles (ou poussières) de peintures déposées par exemple sur le sol en habitat ou en extérieur constitue une voie d'exposition au plomb. Les poussières de peintures peuvent également être inhalées dans les habitats. De plus, des travaux de rénovation mal conduits (destruction ou ravalement d'immeubles anciens, ponçage de peintures dans un logement) peuvent également constituer une source de contamination pour le voisinage, et particulièrement pour les enfants (pouvant s'accompagner d'un trouble du comportement de « surconsommation » ou « pica » (**Amara et al., 2016**), C'est pourquoi des précautions doivent être prises lors des travaux de rénovation des habitats anciens, car le décapage des peintures (notamment des huisseries) peut entraîner

une contamination très forte de l'environnement et des occupants, en particulier des jeunes enfants; ceux-ci ont un risque élevé d'intoxication, du fait d'une importante activité main-bouche (Fréry et al., 2011).

3.3 Activité professionnelle et loisirs:

L'activité professionnelle et les loisirs peuvent constituer des sources d'exposition au plomb. Certaines études ont montré que l'exposition des enfants au plomb via les poussières apportées au domicile par les vêtements des travailleurs exposés de par leur activité n'était pas négligeable (Amara et al., 2016), Aussi bien le transfert de plomb au fœtus (in utero) (WHO, 1995). Les loisirs pouvant entraîner une exposition au plomb sont notamment les suivants: poterie, brûlage de vieilles peintures, fonte de soldat en plomb, imprimerie artisanale. Des cas sporadiques d'intoxication saturnine ont été rattachés à des poteries artisanales, des étains décoratifs (à forte teneur en plomb), des ustensiles de cuisine soit en plomb, soit avec une soudure riche en plomb, des plombs de pêche, de chasse, des bijoux fantaisie ou sur les stands de tir (Amara et al., 2016).

3.4 Cosmétiques et médicaments:

D'autres sources de plomb peuvent, plus rarement, être à l'origine d'intoxications extraprofessionnelles:

Certains médicaments et coutumes traditionnels utilisés dans de nombreuses régions du monde ont été trouvés dans l'exposition à des niveaux élevés de plomb. Ces Intoxications ont été identifiées chez les nourrissons, enfants et adultes ainsi que sur les femmes. Dans le monde arabe, le plomb, également appelé "Al khôl", est traditionnellement appliqué à l'état brut. Une utilisation supplémentaire de plomb, le sulfure de métal et de plomb sert à l'inhalation des vapeurs " Bokhoor « produit à partir de chauffage sur des charbons ardents, dans la croyance erronée que cela calmera les bébés et les enfants irritables (Shaltout et al., 198; Fernando et al., 1981; Sharma et al., 1990).

4. La toxico-cinétique du plomb:

4.1 Absorption :

4.1.1 Absorption 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 doit être solubilisé pour être absorbé. Le plomb ingéré est absorbé dans la région duodénale de l'intestin grêle. Chez le rat, l'absorption varie avec la forme chimique: le carbonate de plomb est 12 fois mieux absorbé que le plomb métal. L'absorption diminue avec l'âge de 83 % pour un rat de 16 j à 16 % pour un rat de 89 j et de 30-40 % chez l'enfant, à 5-15% chez l'homme adulte (**Amdur et al., 1993**).

De nombreux facteurs favorisent l'absorption du plomb, ainsi en est-il: le jeûne, la vitamine D, un régime riche en graisses, les carences en fer, calcium, phosphore, zinc, vitamine B1, magnésium, fibres végétales, probablement par compétition au niveau intestinal (**Ruff et al., 1996**). Le calcium et le plomb entrent en compétition au niveau de récepteurs communs de la paroi digestive, ainsi, toute baisse du calcium dans l'alimentation résulte en réduire de manière significative la proportion de plomb absorbée (**Hamir, 1981**).

4.1.2 La voie respiratoire:

Chez l'homme adulte, le plomb est mieux absorbé 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 inférieures à 1µm atteignent les alvéoles pulmonaires et traversent le filtre alvéole capillaire, les particules de 5 à10 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 à 0,1 µM pratiquement tout le plomb est retenu dans les voies respiratoires, et 35 à 50% du plomb total inhalé passe dans le sang. Chez l'animal comme chez l'homme, environ la moitié du plomb retenu est absorbée au niveau du tractus respiratoire inférieur (**Bonnar et al., 2006**).

4.1.3 La voie cutanée:

Le plomb inorganique ne franchit pas la barrière cutanée saine. Seuls les composés organiques du plomb, liposolubles, utilisent cette voie. Des tests in vitro réalisés sur la peau humaine ont permis de classer différents composés du plomb selon leur taux d'absorption par ordre décroissant: tétrabutyl de plomb> naphtalène de plomb>acétate de plomb>oxyde de plomb (indélectable) (**Bress et Bidanset, 1991**). L'application prolongée de cosmétique ou de pansements contenant du plomb sous acétates de plomb, ont pu provoquer un saturnisme discret (**Sprinkle, 1995**).

4.2 Distribution:

4.2.1 Transport sanguin :

Une fois absorbé, la quasi-totalité du plomb est fixée aux globules rouges, plus de 90% du plomb inorganique. Il est transporté sous forme de plomb diphosphate à la fois dans le cytoplasme pour 90% et dans la membrane pour les 10% restants (**Fig.01**). La plupart est liée aux albumines sériques, et moins de 1% est présent sous forme de plomb libre. Seule cette fraction est disponible et peut avoir une action sur l'organisme car c'est la seule à pouvoir pénétrer dans les tissus sans phénomènes de transport actif. La concentration totale de plomb dans le sang reflète son contenu dans ce compartiment et est considérée comme un indicateur fiable d'une récente exposition. Elle constitue d'ailleurs le test le plus communément utilisé pour évaluer l'intoxication par le plomb chez l'homme et les animaux (**Missoun, 2011**).

4.2.2 Transfert aux organes :

Le plomb est transporté vers les tissus mous, et tout particulièrement vers le foie et les reins où il peut être stocké. A long terme, dans l'organisme, 25% de plomb dans le foie, 4 % dans les reins, 3% dans la paroi digestive, 3% dans le système réticulo-endothélial et 4% dans les autres tissus du corps, y compris les dents et les poils, alors qu'il y aura 60% dans les os.

Dans le foie, la distribution de plomb semble assez homogène, excepté en ce qui concerne les voies biliaires où la concentration de plomb est très importante, alors que dans les reins, la plupart du plomb est dans la corticale, surtout dans les tubules proximaux.

Le plomb se concentre dans la matière grise et certains noyaux. Il semble que la concentration la plus élevée soit retrouvée dans l'hippocampe, suivi du cervelet, du cortex cérébral et de la médulla (**Ruff et al., 1996**).

La concentration du plomb dans les muscles est habituellement assez basse, mais elle est corrélée avec la quantité de plomb dans les reins.

Pendant la gestation, le plomb maternel semble être transféré dans certaine mesure, au fœtus. Il a été montré que le plomb peut traverser la barrière placentaire et s'accumule dans la plupart des organes fœtaux, incluant le foie, les reins, le cerveau, l'intestin et surtout les os (**Fig.01**).

Dans les os, le plomb est sous forme d'un composé relativement non soluble: le triphosphate de plomb. Le plomb est susceptible de continuer à s'accumuler dans les os 6mois après la fin de l'exposition. Bien que le stockage du plomb ait un impact limité sur la santé (Missoun, 2011).

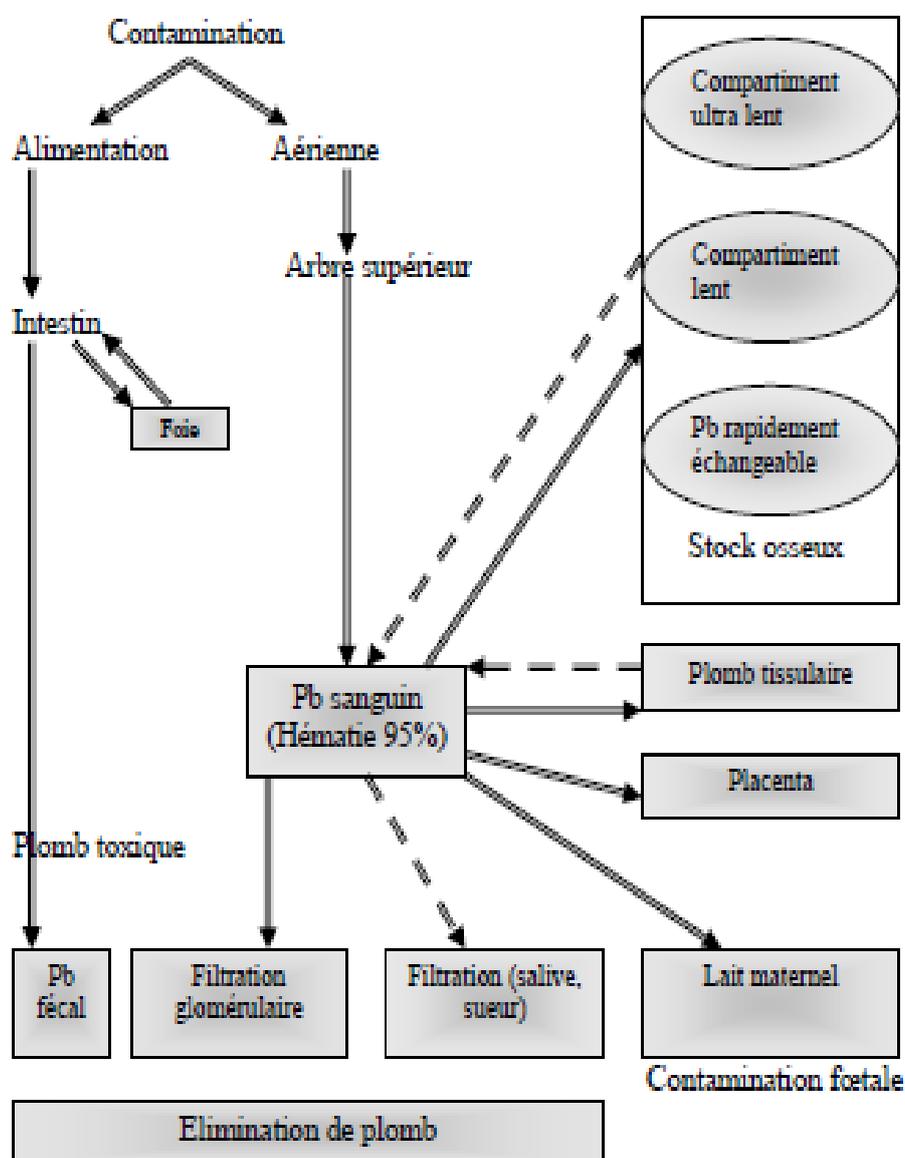


Figure.1: Représentation schématique du métabolisme et de la distribution du plomb dans l'organisme (Duc et al., 1994).

4.3 Excrétion :

L'excrétion du plomb est principalement urinaire (> 75 %) et fécale (15-20 %). Le reste est éliminé dans les phanères, la sueur et les sécrétions bronchiques. Il existe aussi une excrétion lactée, la concentration de plomb dans le lait est de 2 à 30 µg/l. A l'arrêt de l'exposition, la décroissance de la plombémie est polyphasique:

- En cas d'exposition unique massive, la première période à une demi-vie très brève (30 minutes à quelques heures), elle correspond à une phase de distribution; pendant la seconde phase, la demi-vie d'élimination est d'environ 30 jours.
- Elle est supérieure à 10 ans pendant la phase terminale et est très augmentée, en cas d'insuffisance rénale (**Bismuth et al., 2000**).

5. La toxicité du plomb:

5.1 Intoxication aiguë :

Elle est rare en milieu de travail, mais a pu survenir par exemple, lors d'inhalation massive de poussières ou de fumées dont les victimes ignoraient le contenu en plomb. L'intoxication aiguë au plomb se manifeste différemment selon qu'elle survient chez l'enfant ou chez l'adulte. Chez l'enfant, elle est caractérisée par l'anorexie, les vomissements, l'irritabilité et les troubles de comportement, alors que chez l'adulte, elle se manifeste par des troubles digestifs essentiellement œsophagite, gastrite entraînant des vomissements, des douleurs épigastriques, abdominales mais aussi des selles noires et une constipation. Ces symptômes se manifestent généralement lorsque la plombémie est de l'ordre de 30-50 mg/dl. Par ailleurs, une intoxication plus sévère peut provoquer des convulsions, un coma et parfois la mort (**Kahloula, 2010**).

5.2 Intoxication chronique :

Après une exposition chronique, le Pb induit chez l'homme et l'animal des effets hématologiques, digestifs, immunologiques, rénaux, cardiovasculaires et neurologiques.

L'effet toxique du plomb relève de trois phénomènes:

- Une affinité particulière pour les groupements thiols qui explique la distribution dans les phanères mais aussi l'altération de l'activité de nombreuses enzymes dont celles entrant en jeu dans la biosynthèse de l'hème.
- Une ressemblance de l'ion de Pb^{2+} et de l'ion de Ca^{2+} .
- Une affinité pour le groupement phosphate des acides nucléiques.

Nous allons voir comment ceci explique l'action toxique et cellulaire :

5.2.1 Effets hématologiques:

Le plomb a deux principaux effets toxiques sur le système hématologique: réduction de la durée de vie des érythrocytes et une diminution de la biosynthèse d'hémoglobine. La diminution de la durée de vie des globules rouges est due à la fragilité mécanique accrue de la membrane cellulaire. La base biochimique de cet effet n'est pas encore connue mais l'effet peut être accompagné d'une inhibition de l'activité de sodium et de potassium ATP ases dépendantes (**Apostoli et al., 1988**).

Le plomb est disponible pour induire des changements dans la composition lipidique et protéique de la membrane des globules rouges pour inhiber la synthèse de l'hémoglobine. L'hème est synthétisé à partir de succinyl-COA et de la glycine au terme de huit réactions enzymatiques. Les précurseurs des porphyrines, δ -aminolevulinate(ALA) et porphobilinogène (PBG) sont d'abord formés, puis les porphobilinogènes et porphyrines IX. L'enzyme la plus sensible au plomb est l'acide δ -aminolévulinique déshydratase (ALAD) qui catalyse la condensation de deux molécules d'ALA pour donner le PBG. L'ALAD est la cible privilégiée du plomb dans l'érythrocyte, alors qu'il a longtemps été considéré que cette cible était l'hémoglobine (**Bergdahl et al., 1997b**). Pour son activité, cette enzyme requiert du zinc (Zn P^{2+}) qui empêcherait l'autooxydation des groupements thiols du site actif. En prenant la place du Zn P^{2+} , le Pb^{2+} permettrait cette oxydation, empêchant ainsi la condensation des deux molécules d'ALA (**Goering, 1993**). En résumé, les effets du plomb sur le métabolisme de l'hème entraînent une augmentation de l'ALA et de la coproporphyrine urinaires, ainsi que de la protoporphyrine érythrocytaire. L'arrêt de l'exposition au plomb se traduit par une diminution rapide des taux de coproporphyrine urinaires et une diminution lente de la protoporphyrine érythrocytaire (**Sassa et al, 1975; Munoz et al., 1993**).

5.2.2 Toxicité hépatique du plomb :

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 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 xénobiotique. Plusieurs études ont rapporté que le plomb induit une

forte hépatotoxicité et provoque des changements dans le métabolisme du cholestérol, une prolifération des cellules de foie et de synthèse d'ADN indiquent une hyperplasie hépatique (**Dini et al., 1999**).

L'accumulation des quantités significativement élevée du plomb au niveau du foie est impliquée dans l'induction d'un effort oxydant important, et ce par une peroxydation de lipides avec l'inhibition concomitante de plusieurs enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), catalase, glutathion peroxyde, le glutathion réductase (GSSG) et d'une réduction du rapport GSH/GSSG (**Sandhir et Gill, 2003**).

Les mécanismes de l'effort oxydant induit par le plomb au niveau des hépatocytes contribuent dans la production de lipoperoxyde (LPO) et l'expression des médiateurs de cytokine, y compris α -TNF. Ces médiateurs sont également associés au déclin significatif dans la concentration intracellulaire en triphosphate des différents d'adénosine observée dans les cultures d'hépatocytes de rat (**Sieg et Billings, 1997**) et dans les dommages oxydants de l'ADN et puis finalement suivie d'une apoptose d'hépatocytes (**Milosevic et Maier, 2000**). Par ailleurs, d'autres études ont rapporté que le plomb a un rôle dans la mort cellulaire des hépatocytes par protéolyse (**Pagliara et al., 2003**). L'utilisation chez les animaux de laboratoire de thérapie par les antioxydants a été explorée dans le but de comprendre les différents mécanismes impliqués dans la protection du tissu hépatique contre le stress oxydant générée par le plomb. Ainsi, l'administration de composés antioxydants (acide ascorbique, vitamine E, N-acétylcystéine, les acides lipiques et les méthionines) seul ou dans des combinaisons avec chélateurs conventionnels se sont avérés efficace pour conférer une protection contre l'effort oxydant induit par le plomb et pour réduire la toxicité de ce métal (**Patra et al., 2001**).

Tous ces effets sont associés à l'amélioration des fonctions cellulaires par réactivation des différents types d'enzymes à pouvoir antioxydants et à la protection des différents structures cellulaires contre l'agression radicalaire (**Patra et al., 2001; Xie et al., 2003**).

5.2.3 Effets du plomb sur la fonction rénale :

Le rein n'est généralement pas considéré comme une cible pour le manganèse, mais des études spécifiques sont rares. Aucune anomalie dans la chimie des urines ont été détectés chez les travailleurs exposés de façon chroniques à des poussières de manganèse en milieu de

travail, mais d'autres tests plus sensibles de la fonction rénale n'ont pas été effectuées (Coles *et al.*, 2012).

En cas d'intoxication aiguë par le plomb, des lésions tubulaires proximales caractérisées par une aminoacidurie, une hypophosphatémie avec hyperphosphaturie relative et glycosurie (syndrome de Fanconi). La toxicité aiguë est caractérisée par une réduction de la capacité de résorption des composés de faible poids moléculaire, tels que les acides aminés, le glucose et le phosphate. Une exposition chronique intense au plomb est associée à des altérations de néphrosclérose et à une atrophie corticale. La toxicité chronique est quant à elle caractérisée chez le rat par l'accumulation, au sein des cellules rénales, de structures microscopiques particulières (inclusion bodies) qui contiennent, dans une matrice protéique, la majeure partie du plomb rénal; des altérations des mitochondries. Progressivement, 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 (Missoun, 2011).

5.2.4 Effets du plomb sur le système nerveux central (SNC):

L'encéphalopathie saturnine est la manifestation la plus grave surtout chez l'enfant qui est particulièrement sensible à l'action neurotoxique du plomb, représentée par des symptômes peu spécifiques : anorexie, irritabilité, douleur abdominale vague, constipation, vomissements, anémie puis surviennent des manifestations encéphalopathiques: stupeur, léthargie ou convulsions.

Les troubles neurocomportementaux associées à faible exposition au plomb dans le jeune âge seraient susceptibles de persister à l'âge adulte. Un éventail d'études a été effectué chez l'enfant pour préciser le niveau d'imprégnation au plomb susceptible d'entraîner des troubles du comportement (hyperréactivité); des performances psychomotrices (mémoire, temps de réaction), et une réduction du quotient intellectuel. Une polynévrite essentiellement motrice résultant d'une dégénérescence axonale, la forme classique est la paralysie radiale puis devient bilatérale. Elle peut être généralisée provoquant un état d'asphyxie par paralysie laryngée et des muscles respiratoires (Ouldali, 2012).

5.2.4.1 Effets sur les systèmes neurotransmetteurs :

Le plomb interfère avec la libération de neurotransmetteurs, les produits chimiques utilisés par les neurones d'envoyer des signaux à d'autres cellules (**Dart et al., 2004**).

- **Système glutamatergique :**

Le Pb interfère avec la libération de glutamate, un neurotransmetteur important dans de nombreuses fonctions, y compris l'apprentissage, en bloquant les récepteurs N-Méthyl D-aspartate (NMDA), le ciblage de ces récepteurs est considéré comme l'une des principales causes de plomb de la toxicité pour les neurones (**Xu et al., 2008**).

- **Système cholinergique :**

L'acétylcholine (ACH), est un neurotransmetteur qui joue un rôle important aussi bien dans le système nerveux central, où elle est impliquée dans la mémoire et l'apprentissage, notamment dans l'activité musculaire et les fonctions végétatives. Une courte exposition périnatale au plomb est responsable à la fois d'une perte de neurones cholinergiques septaux et d'une réduction de l'expression des gènes ChAT et VACHT (**Cory-Slechta, 1995**).

- **Système dopaminergique :**

C'est les cellules capables de libérer de la dopamine, ce sont surtout des neurones soit dans le SNC soit dans SNP comme pour tout système, il y a des familles de récepteurs qui vont contrôler le tonus de muscles striés. L'effet du plomb consiste à une défaillance dans la régulation de la synthèse de la dopamine et de sa libération (**Croy-slechta, 1995**), accompagne d'une inhibition de la transmission synaptique dans les nerfs périphériques (**Tong et al., 1995**).

5.2.5 Effets du plomb sur le système nerveux périphérique :

Le système nerveux périphérique (SNP) est plus important chez les adultes et le système nerveux central est plus important chez les enfants (**Bellinger et al., 2004**)

Une atteinte sur SNP caractérise par une baisse de la conduction nerveuse se traduit sur le plan histologique par un changement pathologiques dans ces fibres comprennent démyélinisation segmentaire et dégénérescence des axones (**Dart et al., 2004**).

5.2.6 Effets cancérogènes:

En 1980, le groupe d'expert réunis par le centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a conclu que le plomb et ses dérivés inorganiques étaient potentiellement cancérogènes pour l'homme (groupe 2B) (IARC, 1980). Ce jugement était principalement fondé sur la connaissance du pouvoir cancérogène des sels de plomb chez la souris (rein et gliomes). La plupart des études humaines étaient jugées insuffisamment documentées. Une réactualisation de ces données en 1987 n'a pas modifié le classement au sein du groupe 2B (IARC, 1987). Les chromates et arsénates de plomb sont considérés séparément et classés dans le groupe 1 (carcinogènes pour l'homme). Quant aux composés organiques du plomb, comme tétraéthyle contenu dans l'essence, ils ne sont pas classifiables comme cancérogènes et sont donc placés dans le groupe 3 (Nordberg et al., 2014)

Certains composés comme le plomb exercent une faible activité génotoxique dans les cellules de mammifères, par des mécanismes indirects reposant sur la perturbation de l'activité d'enzymes impliqués dans la synthèse, la réparation ou le maintien de la structure hélicoïdale de l'ADN. En outre, certains composés du plomb peuvent contribuer à un effet cancérogène en agissant au niveau de protéines nucléaires, où ils exerceraient une activité promotrice ou induiraient une stimulation de la prolifération cellulaire (Zelikoff et al., 1988, Fowler et al., 1993). En particulier, il a été montré que l'ion Pb^{+2} peut, à faible concentration, stimuler l'activité de la protéine kinase C. Cela indiquerait un potentiel co-cancérogène et/ou promoteur (Markovac et Gildstein, 1988a; 1988b). La formation d'inclusions nucléaires composées de protéines acides complexées au Pb^{+2} peut également influencer la croissance et la division cellulaire (Beck, 1992).

5.2.7 Effets du plomb sur le système cardiovasculaire et hypertension :

Les effets cardiotoxiques sont liés à des effets inotropes et dromotropes négatifs; le plomb a un effet arythmogène sur le myocarde et peut produire des modifications dégénératives au niveau cardiaque. Cet effet serait dû à sa capacité à former des complexes avec les macromolécules intracellulaires et à s'opposer au calcium. De plus, il a été observé chez des animaux intoxiqués au plomb par voie orale, l'affection de leur système rénine-angiotensine ainsi une augmentation de la stimulation cardiaque et la sensibilité des récepteurs adrénergiques et dopaminergiques vasculaire (Carmignani et al., 1988; Victery, 1988; Gidlow, 2004).

Dans le cadre des intoxications aiguës par le plomb, les épisodes d'hypertension paroxystique, souvent associés aux coliques saturnismes. Une hypertension permanente pouvait survenir chez des travailleurs exposés pendant de longues années à des niveaux élevés de plomb et après plusieurs épisodes d'intoxication franche (**Hajem et al., 1990**).

Une abondante littérature expérimentale rapporte une action hypertensive du plomb dans plusieurs espèces animales, mais pas dans d'autres (**Staessen et al., 1994**). Plusieurs mécanismes physiopathologiques possibles ont été évoqués pour rendre compte d'un effet du plomb sur le système vasculaire (**Hajem et al., 1988**) Interférence avec le transport transmembranaire d'ions (par exemple Na K); Interaction avec l'homéostasie calcique et/ou certains processus contrôlés par le calcium; action vasomotrice directe; potentialisation des stimulations orthosympathiques. Le rôle éventuel d'une interférence du plomb avec les systèmes rénine angiotensine aldostérone et kallikréine-kinine reste controversé (**Staessen et al., 1995**).

Staessen et al. (1996) n'ont pas trouvé d'association significative entre la pression sanguine ou le risque de développer une hypertension artérielle et le niveau d'exposition au plomb (plombémie moyenne 87 µg/l et la PPZ 1,0µg/g. Hb). De la même manière, une étude effectuée à Taiwan sur un groupe de plus de 200 travailleurs des deux sexes professionnellement exposés au plomb (plombémie 569±255 µg/l), n'a pas trouvé de relation entre l'exposition récente et la tension artérielle (**Wu et al., 1996**).

5.2.8 Effets sur l'appareil reproducteur :

Les sels de plomb diminuent la fertilité, ils sont capables de traverser la barrière placentaire. Des effets tératogènes ont également été montrés chez certaines espèces. Chez le rat mâle, le plomb induit une stérilité et des anomalies fonctionnelles et morphologiques du sperme, une dégénérescence testiculaire et une hyperplasie prostatique; chez la souris mâle, des anomalies du sperme sont également observées (**Amdur et al., 1996**).

L'altération par le plomb de la spermatogénèse, qui se déroule dans les tubes séminifères, peut résulter d'une toxicité au niveau du testicule, mais elle peut aussi être médiée par une perturbation du système neuroendocrinien. Chez l'homme et l'animal, l'effet du plomb a été évalué sur la spermatogénèse par l'inflammation, la motilité, la forme des spermatozoïdes et leur fécondant *in vitro*, sur la fonction leydigienne (stéroïdogénèse) par la mesure des

concentrations de testostérone et sur le système neuroendocrinien (axe hypothalamo-hypophysaire) par la mesure de concentrations d'hormone lutéinisante (LH, luteining hormone) et d'hormone stimulante (FSH, follicule stimulating hormone) (**Assennato et al., 1987; McGregor et Masson, 1990**).

Les effets du plomb sur l'ovulation, la fécondation et la gestation ont été surtout examinés chez l'animal à travers les études de fertilité. Chez la femme, les études épidémiologiques ont principalement porté sur le déroulement de la grossesse (mise en évidence d'avortement spontané), le développement et les malformations fœtales. En résumé, il apparaît que chez l'homme la concentration de testostérone est diminuée pour des intoxications prolongées provoquant des plombémies élevées > 600 µg/l. Cette diminution est probablement associée à une perturbation du fonctionnement de l'axe l'hypothalamo-hypophysaire. Pour des plombémies <400ug/l le système endocrinien semble peu ou pas affecté, seule une augmentation transitoire de LH été observée (**Alexander et al., 1996; Aribarg et Sukcharoen, 1996**).

Dans l'étude de Singh et al., 1993, le plomb a affecté l'ultrastructure du testicule, après une intoxication de la naissance à l'âge de 9 ans ou à l'âge de 300 jours à 9 ans (plombémie de 190 à 260 µg /l) ou de la naissance à l'âge de 400 jours . Un épaississement de la membrane basale des tubes séminifères et de l'épithélium séminifère, similaire pour les trois groupes, a été observé ainsi qu'un nombre accru de gouttelettes lipidiques et de lysosomes dans les cellules de Sertoli pouvant refléter une phagocytose accrue de cellules en dégénérescence.

En revanche, une altération de la structure de la chromatine des spermatozoïdes a été observée dans les deux groupes, cette altération mesurée par cytométrie en flux augmentait avec la plombémie (**Johansson et Wide , 1986**).

5.3 Autres effets:

5.3.1 Troubles digestifs :

Les effets du plomb sur l'appareil digestif s'observent à la suite d'une exposition élevée au plomb (plombémie = 100 mg/dl ou plus). Les troubles digestifs sont parmi les symptômes les plus précoces, ces effets sont principalement: anorexie, nausées, vomissements, perte de poids, douleurs et crampes abdominales, constipation tenace ou parfois des épisodes diarrhéiques et des ballonnements (**Dorman et al., 2005b**).

5.3.1.1 Effets respiratoires :

L'exposition au plomb provoque une augmentation de la fréquence d'apparition des maladies respiratoires chez les sujets dont la plombémie dépasse 60 mg/100ml de sang. Ces sujets exposés présentent certaines affections respiratoires comme tuberculose, emphysème, bronchite et asthme. L'inhalation des dérivés de plomb insolubles (PbO) peut provoquer une diminution du macrophage alvéolaire chez le rat alors que les dérivés solubles (PbCl₂) ne provoquent pas de modifications significatives (**Bingham, 1972**).

5.3.1.2 Effets sur le développement du système osseux :

L'os est le principal lieu de stockage du plomb. Des études menées chez les animaux exposés au plomb par voie orale ont montré des effets sur la croissance et le métabolisme de l'os. Une réduction de 20% du contenu en calcium et phosphore a été observée sur de jeunes animaux ayant des plombémies de 400 µg/L (exposition pré et postnatale), ainsi que pour le groupe le plus exposé (plombémie de 700 µg/L) un retard général de croissance (poids et taille) de 10 %. Le plomb a des effets sur le métabolisme osseux, en inhibant l'action parathormone sur l'adénylcyclase (**Hamilton et Oflaherty, 1994**).

5.3.1.3 Effets sur le système immunitaire :

Le plomb induit une diminution de la résistance aux germes pathogènes par suppression de l'immunité humorale. Il agit sur les cellules myéloïdes par augmentation des précurseurs dans la moelle avec diminution consécutive des cellules matures. Il provoque aussi une altération de la reconnaissance immunitaire et peut inhiber la production de l'interleukine-2 (**Ewers et al., 1982; Pinkerton et al., 1998; Sata et al., 1998**).

6. Le plomb et le stress oxydatif:

6.1 Définition du stress oxydant :

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production d'ERO. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents peroxydant d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques). Ce déséquilibre entre les systèmes de défense et de production des

radicaux libres entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organisme du fait de leurs conséquences sur le plan moléculaire, telles que les altérations au niveau des protéines, l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique (**Favier, 1997**).

6.2 Marqueurs du stress oxydant :

En absence de systèmes antioxydants suffisamment efficaces, une surproduction de radicaux libres est capable de provoquer des lésions directes de molécules biologiques telles que l'oxydation des acides nucléiques, des lipides, des glucides et des protéines, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites issus du stress oxydant, notamment de l'oxydation des lipides. Ces différentes altérations biochimiques peuvent être utilisées pour évaluer le stress oxydant (**Gutteridge, 1992; Favier, 1997**).

La peroxydation lipidique désigne l'attaque des lipides (principalement les acides gras polyinsaturés) par des radicaux libres, comme le radical hydroxyle (HO•), capables d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical pyroxyde. Il s'agit d'une réaction en chaîne qui se poursuit par la transformation du radical pyroxyde, au contact d'un autre acide gras, en un nouveau radical diène conjugué (**Esterbauer et al., 1991**).

Les protéines peuvent également être la cible de réactions radicalaires ou oxydatives et subir des modifications sous l'action des ERO et des ERN, ou des métaux de transition. Les protéines atteintes peuvent se fragmenter ou se dénaturer avec altération de leurs structures primaires et secondaires. Les dommages oxydatifs peuvent se manifester par l'apparition de groupements hydroperoxydes, l'oxydation du squelette carboné de la chaîne polypeptidique conduisant à une fragmentation des protéines et/ou à la formation de liaisons croisées intra- ou inter-chaînes et à l'apparition de groupements carbonylés ou dicarbonylés (**Stadtman, 1990**).

Certains acides aminés comme la phénylalanine et la tyrosine, deux acides aminés indispensables pour la synthèse de neurotransmetteurs au niveau cérébrale, peuvent subir un processus d'hydroxylation qui génère la formation d'ortho et de méta-tyrosine dans le cas de la phénylalanine (**Davies et al., 1999**). Les protéines comportant un pont sulfhydryle sont les plus sensibles aux attaques radicalaires. C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et

protéines de transport qui, après oxydation, deviennent inactives et beaucoup plus sensibles à l'action des protéases (**Sen, 2001**).

6.3 Plomb et le stress oxydatif :

Semblable à d'autres métaux toxiques persistants tels que l'arsenic, le cadmium et mercure, le plomb endommage les composants cellulaires par des niveaux élevés de stress oxydatif. L'effet pathogène du plomb est multifactoriel puisqu'il interrompt directement l'activité des enzymes, inhibe de manière compétitive l'absorption des oligo-éléments importants et désactive les pools de sulfhydryles antioxydants (**Patrick, 2006**).

Les dommages induits par les radicaux libres par le plomb sont accomplis par deux mécanismes indépendants bien que liés (**Ercal et al., 2001**). Le premier implique la formation directe de ROS, y compris l'oxygène singulet, les peroxydes d'hydrogène et les hydroperoxydes et le second mécanisme est atteint par l'épuisement du pool d'antioxydants cellulaires. Le glutathion représente plus de 90% du pool de soufre non tissulaire du corps humain et l'effet majeur du plomb est sur le métabolisme du glutathion (**Hunaiti et Soud, 2000**). En outre, le glutathion est un substrat important agissant dans le métabolisme de médicaments et de toxines spécifiques via la conjugaison du glutathion dans le foie. Les groupes sulfhydryle du glutathion se lient efficacement aux métaux toxiques tels que l'arsenic et le mercure. Par conséquent, un organisme exposé au plomb a considérablement abaissé les niveaux de glutathion, par rapport aux groupes témoins, ce qui peut à son tour augmenter la toxicité des autres métaux (**Sugawara et al., 1991**).

Il existe deux enzymes spécifiques, la glutathion réductase (GR) et l'acide delta-amino-lévilinique déshydrogénase (ALAD) qui sont toutes deux inhibées par le plomb (**Hoffman et al., 2000**). Une corrélation directe entre les taux de plomb dans le sang, l'activité de l'ALAD et les concentrations érythrocytaires de MDA a été observée chez les travailleurs exposés au plomb. L'inhibition de l'ALAD par le plomb augmente les niveaux du substrat acide delta-aminolévilinique (ALAD) qui est connu pour stimuler la formation de ROS justifiée par les niveaux élevés de MDA (**Ahamed et al., 2005**).

Le glutathion réductase (GR) est une enzyme responsable du recyclage du glutathion oxydé (GSSG) en glutathion réduit (GSH) et il a été démontré que le plomb interfère avec ce cycle, entraînant une diminution des taux de GSH (**Sugawara et al., 1991**).

6.4 Traitement thérapeutique de l'intoxication par le plomb :

6.4.1 Toxicité au plomb et antioxydants:

La méthionine est connue pour réagir avec le ROS formant de la méthionine sulfoxyde. L'administration de méthionine a conduit à des augmentations des molécules contenant des groupes thiol (principalement des protéines avec des groupes-SH) agissant comme des antioxydants empêchant les processus de peroxydation des lipides dans les reins et le foie. La N-acétylcystéine s'est également révélée efficace non seulement pour réduire, mais aussi pour inverser l'effet oxydant des taux accrus d'acide aminolévulinique augmentés par suite de l'effet de plomb (**Jomova et al., 2010**).

L'acide alpha-lipoïque est un antioxydant efficace aux propriétés chélatrices. Dans les études sur la toxicité induite par le plomb, l'acide alpha-lipoïque a supprimé l'effet nocif du plomb sur le glutathion hépatique et rénal et les marqueurs du stress oxydatif (**Pande et Flora, 2002**). Des études in vitro utilisant des cultures de cellules traitées au plomb ont montré une amélioration de la survie cellulaire et une diminution des taux de MDA après le traitement à la taurine (**Selvaraj et al., 2006**).

6.4.2 La thérapie par chélation:

La toxicité des métaux lourds est une condition sérieuse et peut entraîner de nombreuses complications, y compris des lésions graves des organes et du cerveau. La thérapie par chélation des métaux toxiques implique l'utilisation de chélates injectés dans le sang, les muscles ou par voie orale pour lier les métaux qui sont présents dans des concentrations toxiques de sorte qu'ils peuvent être excrétés du corps, le plus souvent dans l'urine (**Rogan et al., 2001**).

Les agents chélateurs forment des complexes avec les métaux lourds empêchant ainsi la liaison du cation métallique avec son ligand. L'efficacité de l'agent chélateur pour traiter une intoxication par un métal lourd dépend de :

- l'affinité relative du chélateur pour le métal
- l'adéquation entre la distribution du métal et celle du chélateur dans l'organisme
- la capacité du chélateur à mobiliser le métal dans le corps

L'agent chélateur idéal doit avoir les propriétés suivantes :

- importante hydrosolubilité.
- résistance aux biotransformations.

- capacité à diffuser dans les sites de stockage du métal.
- excrétion rapide du chélate.
- maintien de la chélation au pH du corps.
- formes des complexes avec les métaux moins toxiques que les ions métalliques libres
- faible affinité pour le calcium afin d'éviter une hypocalcémie.

Les agents chélateurs les plus utilisés sont DMSA, EDTA, le Dimercaprol et la D pénicillamine.

6.4.2.1 DMSA (l'acide méso 2,3 dimercaptosuccinique):

Ce composé a été agréé par l'administration américaine en janvier 1991. DMSA est un chélateur oral disponible, il favorise préférentiellement l'excrétion de plomb à partir des tissus mous. La tolérance clinique est satisfaisante, sa forte affinité pour le plomb explique que la faite urinaire en oligoéléments (Ca, Zn, Cu) est moindre que celle induite par les autres chélateurs. L'acide dimercaptosuccinique (DMSA); peut être substitué à $\text{Na}_2\text{Ca}(\text{EDTA})$, il est administré à la dose 30 mg/m³/J en trois prises quotidiennes par cures de 5 jours pour les enfants dont la plombémie est comprise entre 450 et 699 µg/l (**Walker et al., 1992**).

6.4.2.2 EDTA (éthylène diamine tétra-acide monoclique):

Ils sont administrés par voie intraveineuse ou intramusculaire, permettent efficacement le plomb de l'organisme et contribuent en particulier à résorber le plomb sanguin et osseux par excrétion via les urines. Néanmoins, le manque de sélectivité de ce ligand provoque une déplétion importante d'oligo-éléments (Cu, Zn, ...etc.). De plus, la neurotoxicité de l'espèce (Pb(EDTA) formée constituée un obstacle certain à son utilisation clinique, en particulier chez les patients présentant une forte plombémie ou des symptômes d'une encéphalopathie (**Berlin et al., 1995**).

6.4.2.3 BAL (La British anti lewisite) ou dimercaprol :

Dimercaprol a été mise au point comme antidote d'un gaz de combat vésicant à base d'Arsenic. Cette molécule favorise par les enzymes riches en résidus soufrés. Cette molécule est administrée exclusivement par voie intramusculaire et mobilise préférentiellement le plomb contenu dans les tissus mous par formation d'un complexe apolaire et l'élimine par voie urinaire et biliaire. Son utilisation est préconisé dans le traitement des formes de saturnisme les plus sévères notamment en cas d'atteinte neurologique et généralement en association avec le EDTA- CaNa_2 (**Vilensky et Redman, 2003**).

6.4.2.4 La D-pénicillamine:

La D-pénicillamine a été initialement utilisée pour traiter des patients atteints de la maladie de Wilson, troubles caractérisés par des surcharges en cuivre, administré par voie orale et offre ainsi une alternative intéressante au traitement du saturnisme chez l'enfant, l'utilisation de ce médicament est recommandé dans les cas symptomatiques et lorsque la plombémie se situe entre 500 et 800 µg/l la posologie est 30 à 40mg/kg/j chez l'enfant et 900 à 1500 mg/j chez l'adulte par une durée de traitement comprise entre 4 et 12 semaines (**Peisach et Blumberg, 1969**).

6.4.2.5 Les minéraux chélateurs:

- **Le Calcium :**

L'interaction entre le plomb et le calcium se produit à plusieurs emplacements dans le corps y compris les mécanismes cellulaires qui règlent le transport d'ion à travers des membranes. Une augmentation significative du plomb de tissu, de l'acide delta amino-lévulinique (ALAU) urinaire et des corps intramusculaires rénaux des rats exposés par le plomb consomment une faible quantité de calcium (**Six et al., 1972**).

Le calcium semble empêcher l'absorption de plomb en concurrence pour les accepteurs communs sur les propriétés obligatoires intestinales (**Fullmer, 1997**).

- **Le fer :**

Le fer fonctionne principalement dans le contrôle des processus oxydant. Les sujets consommant un bas régime de fer ont une concentration en plomb de tissu sensiblement plus haut que des sujets à fer proportionné; en outre, la diminution de fer dans le sang provoque une augmentation de plomb.

- **Le cuivre :**

La supplémentation en cuivre a été également montrée pour avoir quelques effets bénéfiques. Le cuivre est un composant de la chaîne de transport d'électrons mitochondriale, maintenant les neurotransmetteurs dans le cerveau (**Campbell-Brown et al., 1985**). A prise proportionnée de cuivre assure la protection contre le plomb, tandis qu'une prise plus élevée de cuivre empêche l'absorption du plomb GD (**Miller et al., 1990; Kalia et al., 1984**).

- **Le Zinc :**

Le plomb et le zinc concurrent pour les accepteurs semblables in vitro qui pourraient partiellement être responsable d'effet protecteur du zinc sur la toxicité de plomb (**Flora et al., 1989**). Par conséquent l'effet protecteur du zinc contre la toxicité de plomb peut être à une diminution d'absorption en métal dans l'appareil gastro-intestinal. Plusieurs études suggèrent que ces micronutriments jouent un rôle important en empêchant l'absorption toxique en métal et pourraient également être co-administré pendant la thérapie de chélation (**Tamio et al., 1987**).

Les animaux exposés au plomb supplémentés en zinc présentaient un niveau restauré de SOD et d'ALAD (**Batra et al., 1998**). Il a été proposé que le zinc agisse comme un antioxydant et éventuellement comme un agent chélateur dans la toxicité du plomb. Il a été démontré que la supplémentation en sélénium a un effet protecteur lorsqu'elle est administrée aux animaux avant l'exposition au plomb (**Othman et El Missiry, 1998**).

- **Le sélénium :**

Le sélénium est élément essentiel pour la santé à des faibles doses, il active la glutathion peroxydase pour la neutralisation des espèces oxygénée actives (AEO). **Cerklewski et Forbes (1976)** ont suggère que des faibles doses de sélénium pourraient protéger des organes des effets toxiques du plomb. Le sélénium a augmenté les niveaux de SOD, GSH et GPx dans les tissus rénaux et hépatiques. Le sélénium crée un complexe plomb-sélénium stable qui a été proposé pour jouer un rôle protecteur contre la toxicité du plomb.

Flora et al. (1983) ont montré que l'administration orale de sélénium pouvait empêcher la toxicité du plomb et cela au cours d'une administration simultanée. L'injection intramusculaire de sélénium avant l'exposition su plomb a fourni l'action prophylactique contre l'effet toxique du plomb et a augmenté la capacité d'antioxydant dans les cellules en activant la peroxyde dismutase et la glutathion réductase (**Othman et al., 1998**).

L'application de divers agents chélateurs présentait une gamme d'effets secondaires. Un nombre important de patients traités par BAL ont présenté des vomissements, de la fièvre, des nausées et des complications cardiologiques. Au cours du traitement par chélation de DMSA chez des patients souffrant d'intoxication chronique au plomb, une anémie hémolytique a été observée. Après l'arrêt du traitement, les valeurs hématologiques sont revenues à la normale (**Andersen et Aaseth, 2002**).

Une corrélation positive est démontrée entre la supplémentation en végétaux et certaines parties de plantes médicinales et la réduction des effets toxiques de plusieurs agents environnementaux toxiques, incluent les métaux lourds (**Gupta et Flora, 2004**). Toutes les parties de plantes sont considérées comme une bonne source de substances bioactives. Les fruits mûrs sont considérés comme source riche en vitamines E, C, A, caroténoïdes et en acides organiques (**Kallio et al., 2002**). Plusieurs études ont démontré que l'utilisation des plantes ayant des pouvoirs antioxydant peut contribuer de manière efficace contre les dommages induit par l'exposition aux métaux lourds, plus particulièrement en luttant contre le stress oxydant (**Geetha et al., 2003; Gupta et Flora, 2004**).

Chapitre. II

Acide phytique

1. Généralités:

L'acide phytique (IP6, myo-inositol hexakisphosphate) est un composé naturel utilisé dans le règne végétal comme forme de stockage du phosphore dans les grains alimentaires entiers non transformés, les légumes et les fruits et comme molécule clé de signalisation dans les cellules de mammifères (**Anekonda, 2011**).

Bien que l'acide phytique soit souvent décrit comme un chélateur de métaux, de plus en plus d'études indiquent qu'il influence sur de nombreux processus, notamment les fonctions antioxydantes, les effets anti-apoptotiques, la réparation de l'ADN, et exportation d'ARNm à partir du noyau. L'acide phytique réduit également le cholestérol sérique et les triglycérides. Des études suggèrent aussi que l'acide phytique possède des fonctions beaucoup plus larges que les propriétés de liaison au métal présumées à l'origine (**Anekonda, 2011**).

2. Structure chimique de l'acide phytique:

L'acide phytique est découvert en 1855 à 1856, date à laquelle Hartig a signalé pour la première fois de petites particules rondes dans diverses graines de plantes de taille similaire aux grains d'amidon de pomme de terre. C'est une forme organique de P. c'est un sucre myoinositol attaché à 6 molécules de phosphate dont la nomenclature chimique est le *myo*-inositol-1,2,3,4,5,6-hexakisphosphate (InsP₆) et de formule brute C₆H₁₈O₂₄P₆ (**Fig.02**) (**Shunmugam et al., 2014**). Le groupement des phosphates aux positions 1, 2 et 3 (axial-équatorial-axial) est unique à l'IP6, générant une structure responsable d'interactions spécifiques avec le fer, qui inhibe sa capacité à catalyser la formation de radicaux hydroxyles (réaction de Fenton). Cette inhibition rendant l'IP6 un antioxydant physiologique puissant. De plus, l'IP6 présente une forte affinité pour les cations polyvalents, la chélation dépend de plusieurs facteurs, dont la proportion de minéraux du phytate, métal et le pH (**Graf et Eaton, 1990**).

Malgré l'énorme énergie potentielle inhérente aux six liaisons ester phosphorique, l'acide phytique est inerte et très stable. Il peut être stocké en tant que solide pendant des années et dans des solutions aqueuses neutres ou alcalines à 50% à 5 °C pendant plusieurs mois avant de générer des produits de décomposition (**Graf et al., 1987**).

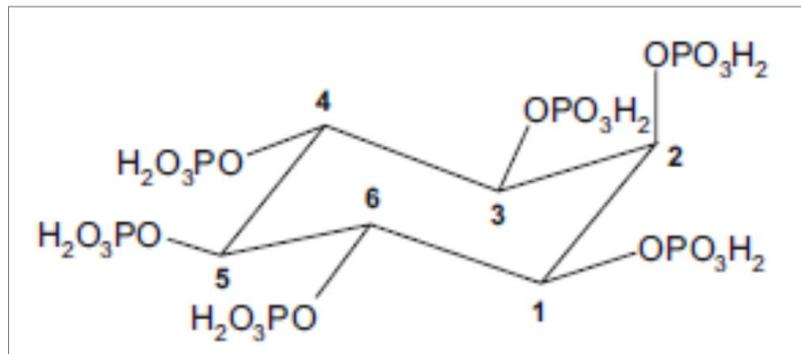


Figure.02: Structure chimique de l'acide phytique.

Acide phytique: myo-inositol hexakisphosphate (InsP6) (Shunmugam *et al.*, 2014).

3. Localisation de l'acide phytique :

L'acide phytique est un constituant des plantes qui représente 1 à 5 % du poids sec des grains de céréales, de plantes oléagineuses et des légumineuses (Vucenik *et al.*, 2006).

Selon Reddy *et al.*, (2001), l'InsP6 existe principalement sous forme de complexe peu soluble de sel de calcium, de potassium ou de magnésium appelé phytate et s'accumule dans des corps protéiques (globoïdes). Dans les graines, les phytates représentent la principale réserve de P (≈ 75 à 85% de la quantité totale du P), de minéraux et d'énergie utilisée par la plantule lors de la germination.

Selon l'espèce, la quantité et la distribution des phytates dans les graines peuvent être très variables (Tab.01). Dans le cas de l'orge, du blé et du riz, les phytates sont majoritairement (80%) présents dans la couche d'aleurone et le son (téguments maternels) alors qu'une faible quantité s'accumule dans l'embryon. Au contraire dans les grains de maïs, les phytates sont surtout présents dans l'embryon et le scutellum (O'Dell *et al.*, 1972). Dans le cas des graines de légumineuses, telles que le haricot, plus de 95% des phytates sont stockés dans les cotylédons (Ariza-Nieto *et al.*, 2007). Chez l'espèce modèle *Arabidopsis*, celles-ci se concentrent le plus souvent dans l'embryon (Otegui *et al.*, 2002). Au cours de la germination, l'AP est dégradé par des phosphatases spécifiques, dont les phytases, permettant la libération du Pi afin de soutenir la croissance des jeunes plantules (Gibson et Ullah, 1990; Raboy, 2003).

La présence de myo-inositol hexakisphosphate dans les tissus et les fluides biologiques (sang, urine, salive, liquide interstitiel) des mammifères est bien connue mais à des quantités significativement faibles. De plus, les concentrations trouvées dans les cellules des

mammifères dépendaient clairement de l'apport alimentaire (Perello et al., 2005).

Tableau.1 : Contenu en phytates (mg/g de matière sèche) dans la nourriture humaine dérivée des plantes. (Greiner et al., 2006).

| Types d'aliments | Acide phytique |
|------------------------------------|----------------|
| Les céréales | |
| • Riz (polie, cuit) | 1,2-3,7 |
| • Riz (brute) | 12,7-21,6 |
| • Pain de Mais | 12,2-19,3 |
| • Pain de maïs sans levain | 3,2-10,6 |
| • Pain de seigle | 1,9-4,3 |
| • pain de seigle au levain | 0,1-0,3 |
| • pain français | 0,2-0,4 |
| • pain de farine (70%,30% seigle). | 0,4-1,1 |
| • Corn flakes | 0,4-1,5 |
| • Flocons d'avoine | 8,4-12,1 |
| • Pâtes | 0,7-9,1 |
| • Sorgho | 5,9-11,8 |
| • bouillie d'avoine | 6,9-10,9 |
| Aliments à base de légumes | |
| • Pois verts | 1,8-11,5 |
| • fèves de soja | 9,2-16,7 |
| • lentilles (cuits) | 2,1-10,1 |
| • cacahuètes | 9,2-19,2 |
| • pois chiche (cuits) | 2,9-11,9 |
| • niébé (cuits) | 3,9-13,2 |
| • haricots noirs (cuits) | 8,5-17,3 |
| • haricots blancs | 9,6-13,9 |
| • haricots rouges | 8,3-13,4 |
| Divers | |
| • graines de sésame | 39,3-57,2 |
| • isolat de protéine de soja | 2,4-13,1 |
| • concentré de protéines de soja | 11,2-23,4 |
| • sarrasin | 9,2-16,2 |

4. Fonctions et biosynthèse:

L'acide phytique ubiquitaire chez les eucaryotes, avec ces dérivés, il est impliqué dans de nombreuses fonctions cellulaires (**Shears, 2001**). Au niveau des graines, ce composé constitue non seulement la forme majeure de stockage du P dans les grains mais aussi une source de minéraux et de *myo*-inositol, un important facteur de croissance (**Maga, 1982; Harland et al., 1995**). Les intermédiaires phosphorylés issus de l'hydrolyse de l'AP tels que le *myo*-inositol- 1,4,5-trisphosphate (Ins(1,4,5)P₃) agit comme messenger secondaire dans la transduction des signaux cellulaires par la mobilisation du calcium des compartiments intracellulaires (**Sakamoto et al., 1992**), d'autres dérivés sont impliqués dans la régulation de la structure de la chromatine (**Shen et al., 2003; Steger et al., 2003**), dans l'apoptose (**Gu et al., 2009**), piègent efficacement les radicaux hydroxyyles en se complexant avec le fer (ce qui confère à l'AP son rôle d'antioxydant naturel dans les graines en période de dormance (**Graf et al., 1987**), et sont impliqués dans la réponse aux stress (**Munnik et Vermeer, 2010**).

Deux voies de biosynthèse d'InsP₆ ont été rapportées chez les plantes; une voie dépendante des lipides et une autre entièrement indépendante des lipides (**Brearley et Hanke, 1996a, 1996b**). Il a été spéculé que le phytate présent dans les graines dérive de la voie indépendante des lipides et sert comme source de Pi, de *myo*-inositol et de minéraux pour les tissus en développement (**Raboy, 2003**) alors que la voie dépendante des lipides opère dans tous les tissus de la plante pour générer le phytate (InsP₆) et ses dérivés qui sont impliqués dans la signalisation (**York, 2006; Alcazar-Roman et Wentte, 2008; Letcher et al., 2008**).

Ces deux voies diffèrent principalement par leurs étapes précoces menant à la synthèse du *myo*-inositol-trisphosphate (InsP₃) à partir du *myo*-inositol (Ins). Sachant que la synthèse du Ins commence par la conversion du D-glucose-6-phosphate en *myo*-inositol-3-phosphate (Ins (3)P₁) (**Fig.03**). Cette réaction est catalysée par une D-*myo*-inositol-3-phosphate synthase (MIPS) (**Loewus et Loewus, 1983; Loewus et Murthy, 2000**). L'Ins(3) P₁ ainsi formé est ensuite déphosphorylé pour donner l'Ins par une *myo*-inositol monophosphatase (IMP) qui est capable aussi de déphosphoryler le L-galactose 1-phosphate (L-Gal 1-P), un précurseur de la biosynthèse de l'acide ascorbique (**Torabinejad et al., 2009, Laing et al., 2004**). La réaction catalysée par IMP est réversible, une *myo*-inositol kinase (MIK) catalyse la réaction de phosphorylation (**Shi et al., 2005; kim et al., 2008**).

Dans la voie dépendante des lipides, l'Ins est converti sous l'action d'une phosphatidylinositol synthase (PtdIS) en phosphatidylinositol (PtdIns), qui va être séquentiellement phosphorylé par des phosphatidylinositol kinases pour produire le phosphatidyl inositol-4,5-bisphosphate PtdIns (4,5) P ou (PIP₂). Cette molécule constitue le substrat d'une phospholipase C (PLC) conduisant à la libération du diacylglycérol (DAG) et d'Ins(1,4,5)P₃, une molécule centrale dans la transduction des signaux, qui va se fixer sur ses récepteurs, situés sur la membrane du réticulum endoplasmique (RE), contribuant ainsi à intensifier le signal Ca²⁺ en activant les canaux calcium au niveau du tonoplaste et permettant aussi de libérer le calcium d'origine intracellulaire dans le cytoplasme (**Fig.03**) (**Belgaroui et al., 2014**).

Concernant la voie indépendante des lipides, elle comprend une série d'étapes de phosphorylation aboutissant à la synthèse d'InsP₆ à partir d'Ins, grâce à des inositol phosphate kinases spécifiques. Comme déjà mentionné, la première étape de phosphorylation est celle catalysée par MIK qui consiste à convertir l'Ins en Ins(3) P₁. La production d'InsP₂ à partir d'Ins(3) P₁ nécessite une monophosphate kinase (**Belgaroui et al., 2014**).

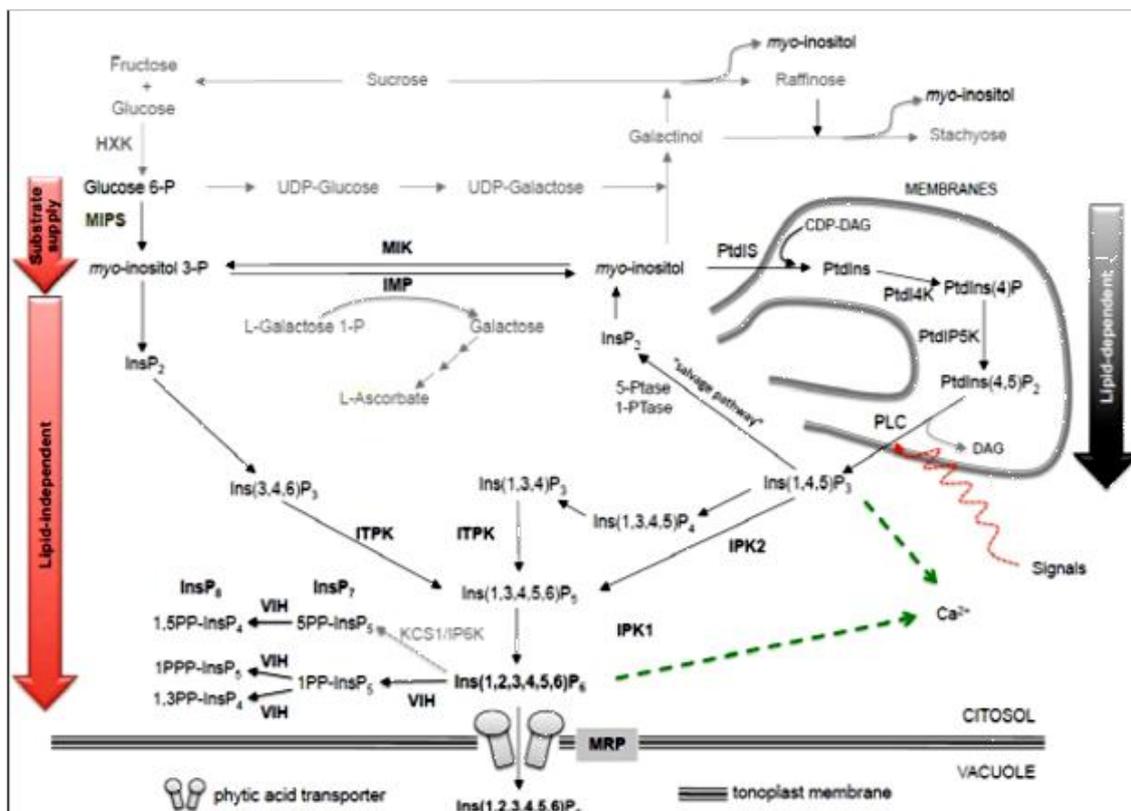


Figure.03: Illustration schématique de l'acide phytique
(Sparovli and Coinelli, 2015).

5. La dégradation du phytate :

5.1 Interaction chimique du phytate dans le tractus gastro-intestinal:

L'interaction du phytate avec les minéraux et autres substances diététiques dépend du pH. Dans le corps humain, la digestion de la nourriture passe d'un pH faible dans l'estomac à un pH neutre, prédominant dans la partie supérieure de l'intestin grêle. Pendant le mouvement de la digestion, les aliments diététiques phytate-minéraux peuvent se dissocier et former d'autres complexes dans le tractus gastro-intestinal. Dans la partie supérieure de l'intestin grêle, qui se caractérise par une minéralité maximale, les complexes insolubles sont très peu susceptibles de fournir une absorption d'éléments essentiels résorbables. Ainsi, les interactions chimiques de phytate dans le tractus gastro-intestinal supérieur sont particulièrement préoccupantes. Étant donné que le site et le degré de dégradation du phytate peuvent affecter la valeur nutritive d'un régime riche en phytates (**Reddy, 2001**).

5.2 Dégradation enzymatique du phytate :

Chez l'homme, l'hydrolyse principale des phytates se produit dans le grand intestin au moyen de phytases générées de façon endogène par la muqueuse intestinale grêle et la microflore associée au gros intestin. L'activité générale et endogène de la phytase chez l'homme et l'animal est insignifiante par rapport à la phytase végétale et microbienne (**Kumar, et al., 2010**).

Plus les inositol phosphates phosphorylés sont élevés, plus la solubilité de leurs complexes métalliques dans le chyme gastro-intestinal est faible. En conséquence, les inositol phosphates hautement phosphorylés, et en particulier l'acide phytique, se lient fortement aux minéraux et aux oligo-éléments dans les conditions acides du chyme gastrique et forment des complexes solubles. Au cours du passage de l'estomac à l'intestin grêle et avec un pH croissant, ils précipitent. Ainsi, la disponibilité des oligo-éléments liés et des minéraux est réduite, (**Schlemmer et al., 2009**).

5.3 Phytases :

Les phytases sont connues sous le nom de myo-inositol (1, 2, 3, 4, 5,6) hexakisphosphate phosphohydrolase. Les phytases sont présentes dans les plantes, les microorganismes et les tissus animaux (**Schlemmer et al., 2009**) et catalysent la libération séquentielle du phosphate du phytate. La phytase séquestre les groupes orthophosphate du cycle inositol de l'acide phytique pour produire du phosphore inorganique libre, ainsi qu'une chaîne de phosphates de

myo-inositol intermédiaires (du pentaphosphate d'inositol au monophosphate d'inositol) (**Kumar, et al., 2010**). Le clivage des groupes phosphate conduit finalement au myo-inositol. Les humains sont aussi une puissante source de phytases qui sont générées de manière endogène par la petite muqueuse intestinale et microflore associée au gros intestin. L'activité du phytase endogène générale des humains et des animaux est insignifiante contrairement à la phytase végétale et microbienne (**Kumar, et al., 2010**). La phytase ne libère pas seulement le phosphore des régimes à base de plantes, mais elle rend également disponibles le calcium, le magnésium, les protéines et les lipides. Ainsi, en libérant du phosphore lié dans les aliments d'origine végétale, la phytase rend plus de phosphore disponible pour la croissance osseuse et protège l'environnement contre la pollution au phosphore (**Baruah et al., 2007**).

6. Méthodes de préparations d'acide phytique:

6.1 La synthèse :

Malgré la disponibilité de plusieurs méthodes de synthèse, l'acide phytique est rarement préparé par synthèse chimique, car il est facilement disponible à partir de sources naturelles. La phosphorylation de myo-inositol avec de l'acide phosphorique / pentoxyde de phosphore à 130°C donne un mélange de polyphosphates de myo-inositol à partir duquel l'acide phytique peut être isolé par cristallisation fractionnée des sels de baryum (BaCl₂) (**Loewus et al., 2000**).

6.2 Hydrolyse :

L'acide phytique peut être isolé des graines de différentes espèces végétales par extraction avec de l'acide. Plusieurs méthodes sont disponibles pour déterminer les concentrations d'acide phytique dans les produits céréaliers. Ces méthodes sont la détection par chromatographie en phase liquide avec suppression ionique et détection d'indice de réfraction, détection ultraviolette (UV), chromatographie liquide-spectrométrie de masse, chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse et spectrométrie d'émission atomique (**Saad et al., 2011**).

L'hydrolyse de l'acide phytique à pH 4,0 et 110 ° C pendant 100 min dans un tube scellé donne une fraction pentakisphosphate qui peut être séparé en ses composants individuels par chromatographie d'échange d'ion ou électrophorèse sur papier mobile. L'hydrolyse acide et le traitement enzymatique avec la phytase entraînent un mélange de myo-inositol, de phosphate inorganique et de mono-, di-, tri-, tétra-, penta- et hexaphosphate de myo-inositol. De même,

pendant la germination des graines, l'acide phytique se déphosphorylé successivement pour donner du myo-inositol et du phosphate inorganique (**Kumar et al., 2010**).

7. Pharmacocinétique l'acide phytique :

La pharmacocinétique de l'IP6 administré par voie exogène n'a pas été bien caractérisée. Lorsque des rats ont été traités par [3H]-myo-IP6 par voie intragastrique, 79% de la radioactivité a été absorbée et largement distribuée aux tissus, cependant, la plus grande partie de la radioactivité dans le plasma et l'urine était sous la forme d'inositol ou d'inositol monophosphate, suggérant une déphosphorylation de l'IP6 (**Eiseman et al., 2011**). In vitro, [3H]-IP6 a été rapidement absorbé et métabolisé par des cellules malignes murines et humaines. Dans un essai clinique où les sujets ont été maintenus pendant 2 semaines avec un régime restreint d'IP6, l'ingestion de 1 g de phytate de Na a entraîné des concentrations plasmatiques d'IP6 maximales à 4 heures trois fois plus élevées que les concentrations initiales. Lorsque des rats soumis à un régime restreint en IP6, les concentrations cérébrales d'IP6 ont augmenté de façon spectaculaire; mais les concentrations d'inositols inférieurs n'ont pas été affectées. Les concentrations d'IP6 dans la lignée cellulaire du cancer du sein humain, n'ont pas été modifiées après une exposition à l'IP6 pendant 1 heure dans le milieu, mais les concentrations d'inositols inférieurs ont augmenté d'environ deux fois plus (**Eiseman et al., 2011**).

L'IP6 peut être transportée à l'intérieur de la cellule (pinocytose, endocytose), ou peut interférer avec le récepteur couplé à la phospholipase C (PLC) et le récepteur de la tyrosine kinase (**Fig.04**).

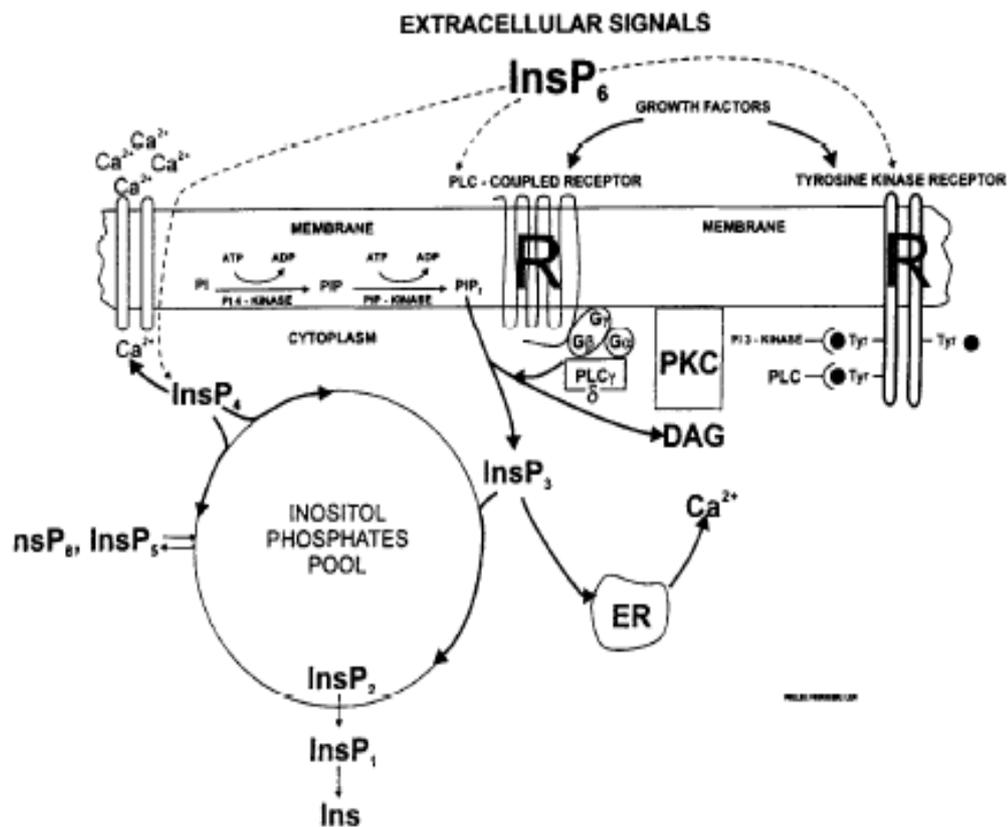
7.1 L'absorption et distribution :

L'inositol, un nutriment essentiel, fait partie de la famille de la vitamine B, qui généralement se conjugue avec les lipides et se trouve principalement dans les membranes cellulaires sous forme de phosphatidylinositol. À l'intérieur des cellules, l'IP3 peut servir de précurseur pour la formation d'autres phosphates d'inositol, tels que l'IP4, IP5 et IP6 (**Shamsuddin, 1999**).

L'IP6 est récupéré dans le sang, les organes (principalement dans le cytosol cellulaire), les os et l'urine (**Vucenik et al., 2006**). IP5 et IP6 sont présents à l'intérieur de la cellule à des niveaux plus élevés que les autres esters phosphoriques (IP4, IP3, IP2 et IP1), ce qui indique une grande capacité de chélation des minéraux (**Sandberg et al., 1989**). IP3 et IP4 jouent un rôle important dans la signalisation cellulaire et la régulation de la fonction, de la croissance

et de l'activité cellulaire (Berridge et Irvine, 1989).

Des fonctions extracellulaires et intracellulaires significatives de cette molécule ont été trouvées. La relation entre l'ingestion d'InsP6 et la distribution d'InsP6 dans divers tissus de mammifères est discutée. Il a été constaté que la majorité de l'InsP6 extracellulaire trouvé dans les organes, les tissus et les fluides biologiques des mammifères ont une origine alimentaire et n'est pas une conséquence de la synthèse endogène, alors qu'InsP intracellulaire provient probablement de la cellule. Les avantages pour la santé liés à InsP6 extracellulaire doivent être liés à InsP6 alimentaire (Grases et al., 2005).



(Shamsuddin et al., 1997)

Abréviations : R, receptor; PI, phosphatidylinositol; PIP, phosphatidylinositol phosphate; PIP₂, phosphatidylnositol 4,5-diphosphate; PI 3-kinase, phosphatidylinositol-3'-kinase; PI 4-kinase, phosphatidylinositol-4'-kinase; PIP-kinase, phosphatidylinositol-5'-kinase; G, G protein; PLC, phospholipase C; PKC, protein kinase C; Ins, inositol; I₃^t, inositol(1,4,5)-triphosphate; I₁^t, inositol monophosphate through hexaphosphate; DAG, diacylglycerol; ER, endoplasmic reticulum; Tyr, tyrosine residue; 0, indicates phosphorylated form of kinase

Il est clair que les concentrations d'InsP6 sont élevées dans certaines cellules (30 ± 100

mmol /L), mais on ne sait pas quelle quantité est facilement soluble; il est certain qu'une fraction importante de l'InsP6 n'est pas en solution car elle est liée aux membranes cellulaires (**Grases, 2000**).

Des composés d'inositol ont également été trouvés jouer un rôle important en tant que second messager intracellulaire. Une membrane stimulée par un récepteur agoniste active la phospholipase C, ce qui augmente l'hydrolyse du phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate produit du diacylglycérol et de l'inositol 1,4,5-triphosphate (InsP3). Le premier active la protéine kinase C, et ce dernier mobilise le calcium intracellulaire (Ca^{2+}) de plusieurs compartiments. L'inositol triphosphate est phosphorylé à l'inositol 1, 3, 4,5-tétrakisphosphate (InsP4), qui est considéré comme interchangeable avec l'inositol hexakisphosphate (InsP6) via l'inositol 1, 3, 4, 5,6-pentakisphosphate (InsP6) (**Fig.04**) (**Sakamoto et al., 1993**).

7.2 L'excrétion de l'IP6 :

Les niveaux urinaires d'InsP6 sont liés à son absorption orale. Considérant le rôle important de l'InsP6 urinaire comme inhibiteur de la cristallisation des sels de calcium (oxalate et phosphate). Il est clair qu'une faible consommation d'InsP6 entraînera un déficit urinaire de cet inhibiteur de cristallisation et par conséquent augmenter le risque de développer des calculs de calcium (**Grases et al., 2000**).

Il a été constaté que le phytate était absorbé à travers la peau en utilisant à la fois un gel ou une crème, démontrant que son absorption est indépendante de la matrice utilisée pour le traitement topique. Cependant, les valeurs d'InsP6 urinaires étaient légèrement plus élevées lors de l'utilisation du gel, mais dans tous les cas, les valeurs étaient beaucoup plus élevées que celles trouvées lors de la formation d'espèces insolubles dans le tractus gastro-intestinal lorsque InsP6 est administré par voie orale (**Grases et al., 2005**).

Bien qu'il existe encore des incertitudes sur la synthèse d'IP6 in vivo dans les cellules de mammifères, des études pharmacocinétiques suggèrent que l'IP6 peut être un promédicament pour l'inositol, qui n'est pas chargé et peut traverser les membranes cellulaires. L'inositol peut être responsable des actions antitumorales observées à la fois dans la chimioprévention et études d'efficacité d'IP6 (**Eiseman et al., 2011**).

De toute évidence, l'administration de doses élevées d'InsP6, comme dans la manipulation des vitamines, doit être contrôlée de manière adéquate et la teneur en minéraux du régime correspondant doit être également considérée. En fait, plusieurs études démontrent que si les apports minéraux sont adéquats et que les apports de céréales ou de son sont maintenus à des niveaux modérés, il ne devrait pas y avoir d'effets négatifs sur la biodisponibilité minérale. Ainsi, les apports de 2 g d'InsP6 et de 32 g de fibres alimentaires par jour n'ont généralement pas affecté les bilans minéraux lorsque la consommation de minéraux était suffisante (**Grases et al., 2001**). Dans tous les cas, la capacité de chélation notoire de l'IP6 s'est traduite dans son application comme agent détoxifiant contre des métaux comme le Cd ou le Pb (**Sanchis et al., 2017**).

8. Les effets négatifs de l'acide phytique :

IP6 est un chélateur métallique puissant, en particulier le Fe, Zn, Mg, et Ca. Ceci a permis de considérer l'IP6 comme un antinutriments, puisque la formation de complexes IP6-métal était supposée exclure leur absorption intestinale causant des déficiences en Ca, Fe ou Zn. (**Sanchis et al., 2017**).

Les régimes riches en acide phytique peuvent provoquer une carence en zinc et que la teneur en phytates est négativement corrélée à l'absorption du zinc. Il a été démontré que l'état sous-optimal du zinc provoque une morbidité accrue, une altération de la croissance et de la fonction cognitive, ce qui souligne la nécessité d'optimiser la biodisponibilité du zinc. (**Lönnerdal, 2002**).

Le phytate forme un complexe fort avec quelques protéines. En général, l'interaction du phytate avec la protéine dépend du pH, à un pH inférieur au point isoélectrique des protéines. Les groupes d'acide phosphorique de phytate se lient au groupe cationique de l'acide aminé basique, par exemple, arginine, histidine, lysine et forment des complexes binaire protéine-phytate. Ce sont des complexes insolubles qui ne se dissolvent que plus bas pH 3,5. De telles formations complexes peuvent affecter les structures protéiques qui peuvent entraver l'activité enzymatique, la solubilité des protéines et la digestibilité des protéines (**Kumar, et al., 2010**).

9. L'utilisation thérapeutique de l'acide phytique:

De nombreuses études ont montré que l'InsP6 a un large spectre d'activités biologiques, tel que l'antioxydant (Ahn *et al.*, 2004), anticancéreux (Norazalina *et al.*, 2010; Schröterová *et al.*, 2010), la neuroprotection (Xu *et al.*, 2008), la prévention l'athérosclérose (Grases *et al.*, 2007) et antidiabétiques (Kumar *et al.*, 2010). Il peut également protéger contre le développement de la maladie de Parkinson, des calculs rénaux (Grases *et al.*, 2000) et la diminution des triglycérides hépatiques (Tab.02) (Szkudelski, 1998).

9.1 Effet anti-cancéreux:

L'hexaphosphate d'inositol (IP6) est omniprésent. L'IP6 et ses formes phosphorylées inférieures (IP1-5) ainsi que l'inositol (Ins) sont contenus dans la plupart des cellules de mammifères, où ils sont importants dans la régulation des fonctions cellulaires vitales telles que la transduction des signaux, la prolifération et la différenciation des cellules. Une action anticancéreuse frappante de l'IP6 a été démontrée *in vivo* et *in vitro*, basée sur l'hypothèse que l'IP6 administré de manière exogène, déphosphorylé à l'IP1-5 diminue la prolifération cellulaire et l'apoptose des cellules néoplasiques. IP6 cause également la différenciation des cellules malignes entraînant souvent un retour à un phénotype normal. Ces données mettent fortement en évidence l'implication des voies de transduction du signal, des gènes régulateurs du cycle cellulaire, des gènes de différenciation, des oncogènes et peut-être des gènes suppresseurs de tumeurs dans l'action antinéoplasique observée de l'IP6 (Vucenik *et Shamsuddin*, 2006).

Une prospective a montré que l'IP6, en tant que traitement d'appoint, améliore l'efficacité de l'insuline et préserve la qualité de vie des patientes atteintes d'un cancer du sein recevant une chimiothérapie. Certaines études cliniques ont suggéré que l'IP6 améliore l'action des médicaments chimiothérapeutiques et minimise les effets secondaires chez les sujets atteints d'un cancer du sein ou du côlon (Druzijanic *et al.*, 2004; Bacic *et al.*, 2010). L'apport quotidien de 1 à 2 g d'IP6 a eu un effet prophylactique sur le développement du cancer, et l'apport de 8 à 12 g/j peut être utilisé dans le traitement antitumoral (Vucenik *et Shamsuddin* 2006).

Après l'ingestion rapide et la déphosphorylation, L'IP6 entre dans le pool de phosphates d'inositol et d'interagit avec les processus cellulaires impliqués dans le cancer. Le potentiel chimiopréventif et chimiothérapeutique de l'IP6 a été liée à ses fonctions antioxydantes, et la

capacité de bloquer l'activation de divers agents cancérigènes et/ou pour stimuler leur détoxification, pour renforcer les défenses immunitaires et anti-inflammatoires, à son influence sur le cycle cellulaire, à l'induction de l'apoptose, à sa capacité de bloquer les processus angiogénique et métastatique de la progression tumorale, à son synergisme avec des agents chimiothérapeutiques et à l'amélioration de la résistance chimique (**Fig.05**) (**Vucenik et Stains, 2010**).

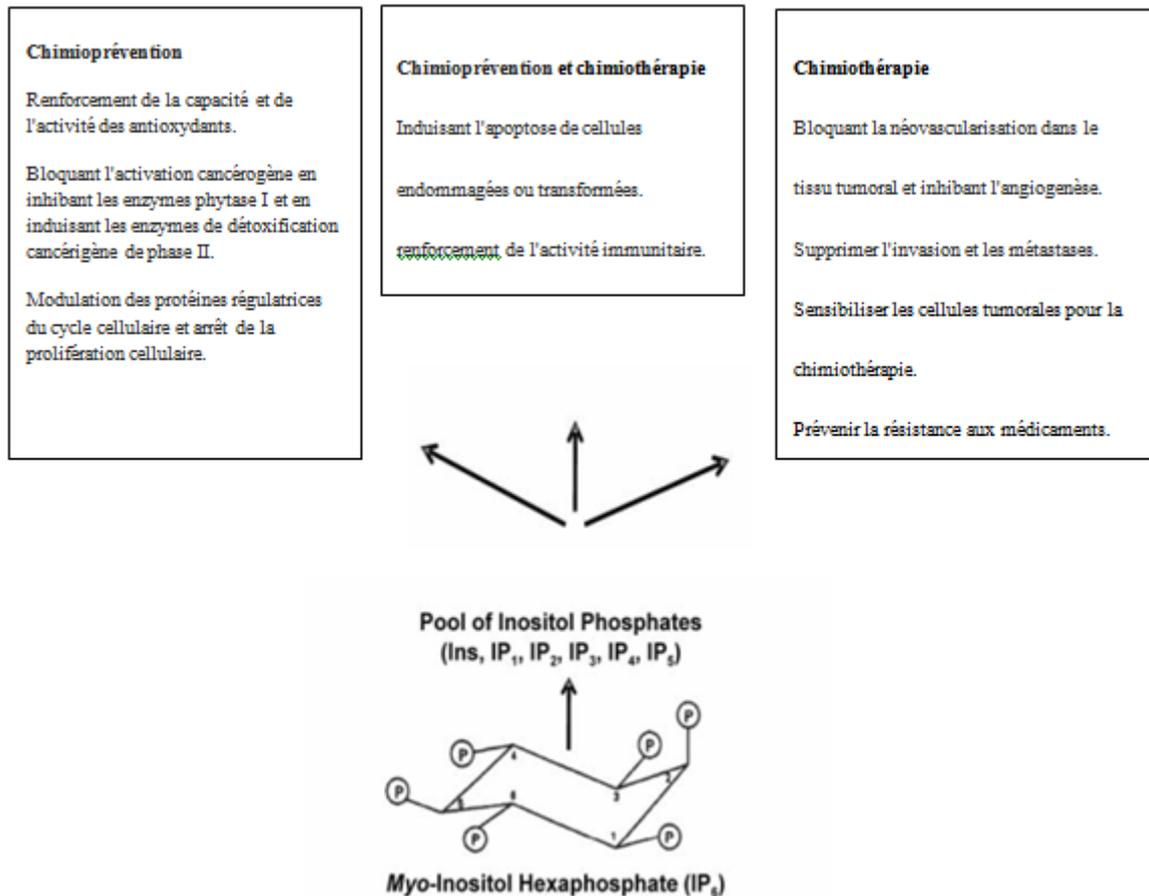


Figure.05: Le potentiel chimiopréventeur et thérapeutique de l'IP6
(**Vucenik et Stains, 2010**).

L'IP6 peut moduler les événements biochimiques présumés mécaniquement liés à la cancérogenèse et aux activités de blocage des cancérigènes, en modifiant les enzymes impliquées dans l'activation métabolique des cancérigènes chimiques, comme les enzymes de détoxification de phase I et de phase II en inhibition de certaines enzymes hépatiques et en réduisant l'activité ornithine décarboxylase de 12 otétradécanoylphorbol-13 acétate-induite d'acide folique (**Fig.06**).

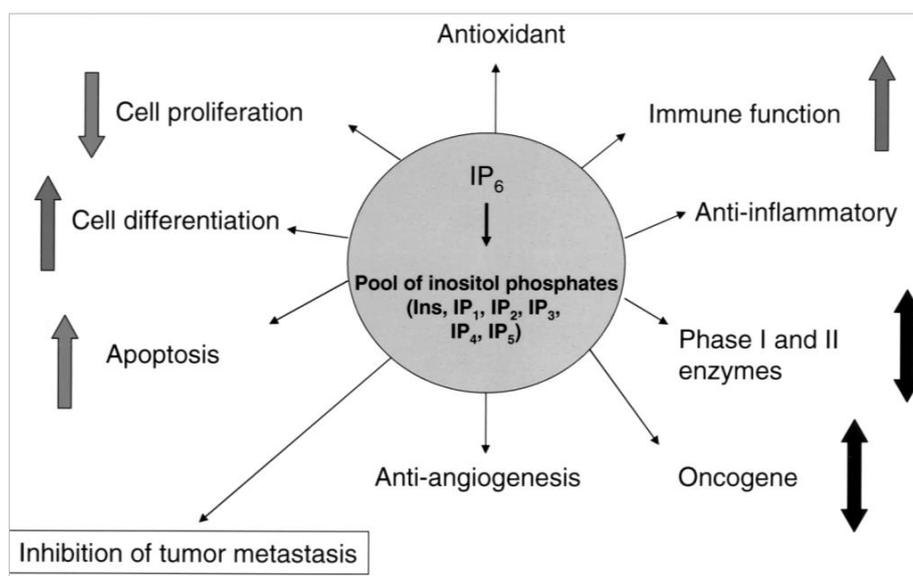


Figure.06: Mécanisme d'action de l'IP6
(Vucenik et Shamsuddin, 2006).

Les effets protecteurs de l'IP6 dans la prévention et le traitement des maladies inflammatoires et métaboliques ont été confirmés, comme le montre le tableau 2. L'IP6 module les fonctions du système immunitaire en augmentant l'activité des cellules tueuses naturelles, en régulant l'action des neutrophiles et en diminuant l'expression des cytokines et des interleukines pro-inflammatoires (Cholewa *et al.*, 2008)

Il est intéressant de noter que chez les patients atteints de la maladie de Parkinson, IP6 diminue l'apoptose des neurones, par opposition à son action sur les cellules tumorales. Ces résultats ont démontré que l'IP6 module l'apoptose pour protéger les cellules et prévenir le développement de la maladie (Xu *et al.*, 2008).

9.2 Effet antimicrobien :

L'acide phytique n'a pas été largement étudié en tant qu'agent naturel antimicrobien. Le mécanisme par lequel les acides organiques exercent son action antimicrobienne, est généralement expliqué par la théorie de l'acide faible, c'est-à-dire que seules les formes non dissociées de l'acide peuvent pénétrer dans le cytoplasme, où ils inactivent les bactéries en se dissociant progressivement dans ions chargés qui perturbent l'homéostasie du pH cytoplasmique. Le mécanisme sous-jacent aux propriétés antimicrobiennes de l'acide phytique est probable être très différent de celui des autres acides organiques, car l'acide phytique à une structure unique, 12 protons remplaçables sur six réactifs des groupes phosphate liés à un

cycle cyclique à six carbones, c'est-à-dire une large plage d'acidité (pKa de 1,9 à 9,5) (Kim et Rhee, 2016).

Tableau.2: Action de l'IP6 sur plusieurs conditions pathologiques (Silva et Bracarense, 2016).

| Pathological condition | Model | Effect of IP6 | Reference |
|-------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Alzheimer's disease | <i>In vitro</i> : MC65 cells | Protection against cytotoxicity caused by β amyloid precursor | Anekonda and others 2011 |
| | <i>In vivo</i> : mouse (drink-water) | Decreased lipidic peroxidation | Anekonda and others |
| Cholesterol | <i>In vivo</i> : rat (diet) | Decreased serum triglyceride | Onomi and others 2004 |
| Cardiovascular disease | <i>In vivo</i> : rat (diet) | Decreased arterial and cardiac calcification | Grases and others 2006 |
| Diabetes | <i>In vitro</i> : HIT15 cells | Stimulates insulin secretion - Regulation of Ca ² channels | Efanov and others 1997 |
| | <i>In vivo</i> : mouse, rat (diet) | Insulin secretion regulation - Reduction of hyperglycemia | Kim and others 2010 |
| | Clinical: human prospective diet study | Decreased kidney stone development | Curhan and others 2004 |
| Gastric ulcer | <i>In vivo</i> : rat (diet) | Decreased erosion, necrosis, congestion and hemorrhage | Sudheer and others 2004 |
| Intestinal inflammation (colon) | <i>In vitro</i> : Caco-2 cells | Regulation of IL-8 and IL-6 expression | Weglarz and others 2007 |
| Parkinson's disease | <i>In vitro</i> : mesencephalic/dopaminergic cells from mice | Decreased apoptosis - Increased cell viability | Xu and others 2008 |
| Pulmonary inflammation and fibrosis | <i>In vivo</i> : rat (tracheal instillation) | Decreased inflammation - Decreased fibrosis | Kamp and others 1995 |
| Intestinal inflammation (colon) | <i>In vitro</i> : Caco-2 cells | Regulation of IL-8 and IL-6 expression | Weglarz and others 2007 |
| Soft tissue calcification | <i>In vivo</i> : rat (diet) | Decreased soft tissue calcification | Grases and others 2008 |
| Thrombosis and Atherosclerosis | <i>In vitro</i> : human blood cells | Decreased platelet aggregation | Vucenik and others 1999 |

9.3 Contre le Diabète:

Chez les humains, l'apport en phytates réduit la réponse de la glycémie, retardant ainsi le début du diabète et de l'hyperlipidémie. Cela peut être que le phytate forme des complexes avec des hydrates de carbone réduisant ainsi leur solubilité et nuire à la digestibilité et l'absorption du glucose. Le phytate peut se lier avec de l'amidon soit directement, via des liaisons hydrogène, ou indirectement via des protéines associées à l'amidon. Une consommation de céréales et de légumineuses peut aider les diabétiques à contrôler le glucose dans le sang (**Kumar et al., 2010**).

L'acide phytique et les polyphénols ont montré jouer un rôle dans la réduction in vitro du taux de la digestibilité de l'amidon et éventuellement la réponse de la glycémie. Les études réalisées par Yoon et al. 1983 montrent également que l'acide phytique peut affecter la digestibilité de l'amidon par interaction avec l'amylase, la protéine et / ou la liaison avec des minéraux salivaires tels que le calcium.

9.4 Biodisponibilité des minéraux et la thérapie par chélation:

Il est tout à fait possible, par exemple, de trouver des individus des communautés urbaines, en particulier des jeunes, mangeant des régimes presque totalement dépourvus de phytates. Une préoccupation concrète en matière de santé publique, cependant, est la modification du profil d'absorption des ions inorganiques par l'ingestion de phytates, y compris les métaux lourds. Il est intéressant de noter que les caractéristiques physicochimiques responsables des effets antinutritionnels bien connus peuvent également être impliquées dans la chélation de métaux lourds présents dans la nourriture ou dans l'intestin. Les deux, phytates de calcium et la fibre insoluble alimentaire, lorsqu'ils sont incorporés individuellement au régime alimentaire des animaux d'expérience, ont montré des effets bénéfiques mesurés par des niveaux réduits de dépôt de plomb dans divers organes. Les métaux toxiques, tels que le plomb, qu'il soit d'origine environnementale, professionnelle ou alimentaire (**Cúneo et al., 2006**).

La thérapie par chélation est une méthode optimale pour réduire les risques liés aux radionucléides, Les recherches ont montré une forte affinité de l'hexaphosphate d'inositol pour l'uranium, suggérant qu'il pourrait être un agent chélateur efficace pour l'uranium in vivo. (**Cebrian et al., 2007**). Son administration peut produire une translocation et/ou élimination du cuivre dans divers tissus (**Kotsaki-Kovatsi et al., 2001**), L'acide phytique donc peut aussi

adsorber des ions de métaux lourds, tels que le cadmium, cuivre, plomb, nickel et zinc, à partir de solutions aqueuses (Tsao et al., 1997).

9.5 Les propriétés antioxydantes :

L'IP6 c'est un puissant antioxydant. Ceci est basé sur sa capacité à chélater le fer, qui se produit à travers les trois groupes phosphate en positions 1, 2 et 3 (Graf et Eaton, 1990). Ces groupes phosphate sont flexibles et lient le fer de la même façon que tous les six sites sont occupés par des groupes hydroxyles, ce qui donne un complexe très stable. La formation de radicaux libres nécessite au moins un site de coordination libre de Fe. Par conséquent, la formation du complexe IP6-Fe, où le fer est complètement chélaté, inhibe la formation des radicaux OH • via la réaction de Fenton (Sanchis et al., 2017).

Dans les fruits et légumes, l'acide phytique aide à prévenir le brunissement oxydatif en inhibant les polyphénols oxydase, et lorsqu'il est ingéré par les humains, Il est largement utilisé comme supplément nutritionnel. Certaines recherches ont abordé son activité antioxydante en ce qui concerne les dommages oxydatifs dans l'application d'additifs alimentaires; on observe une augmentation de la durée de conservation des produits en émulsion; prolonger la stabilité des lipides des poissons pendant le stockage, en inhibant la peroxydation, et conserver les graines (Diouf-Lewis et al., 2017).

L'inhibition de la peroxydation des lipides par l'acide phytique dans le côlon des rats (Nelson et al., 1989), des souris (Singh et al., 1997) et des porcs (Porres et al., 1999) a affecté l'activité de la glutathion peroxydase et de la catalase.

9.6 Rôle dans la prévention des calculs rénaux :

L'acide phytique a été utilisé avec succès pour empêcher la formation de calculs rénaux en empêchant la formation des cristaux d'oxalate de Ca. L'action du phytate comme un inhibiteur de cristallisation a lieu à la fois dans le tissu papillaire et urine (Dost et Tokul, 2006).

Au dessus de tous effets bénéfiques, l'InsP6 peut agir sur l'abaissement du cholestérol et des triglycérides et la réduction du risque de développer une maladie cardiovasculaire (Grases et al., 2007).

9.7 L'utilisation dermatologique :

Certaines de ces propriétés sont liées à l'utilisation dermatologique comme agent décolorant, sur la prévention de la calcinose cutanée ou en raison de son rôle important sur le vieillissement prématuré. D'autres études semblent également démontrer une capacité d'InsP6 à inhiber le cancer de la peau (Grases et al., 2005).

9.8 Effets sur les mycotoxines:

Les mycotoxines sont des contaminants des aliments, principalement les céréales, qui entraînent des pertes économiques importantes et des risques pour la santé humaine et animale (Rodrigues et al., 2012). El-Saad et al. (2009) ont observé que l'ajout d'acide phytique à l'alimentation des rats diminuait significativement les troubles histologiques et reproducteurs causée par l'aflatoxine B1 dans les testicules (Silva et Bracarense, 2016).

10. L'acide phytique et stress oxydatif :

L'augmentation de l'AP cérébral atténue le stress oxydatif et ce qui peut conduire à une augmentation de la fonction SIRT1 et à une augmentation de PAMPK / AMPK, menant à une régulation à l'élévation des fonctions autophagie et mitochondriale, qui peut atténuer une pathologie. L'autophagie est impliquée dans l'augmentation du nombre de mitochondries (Fig.07)

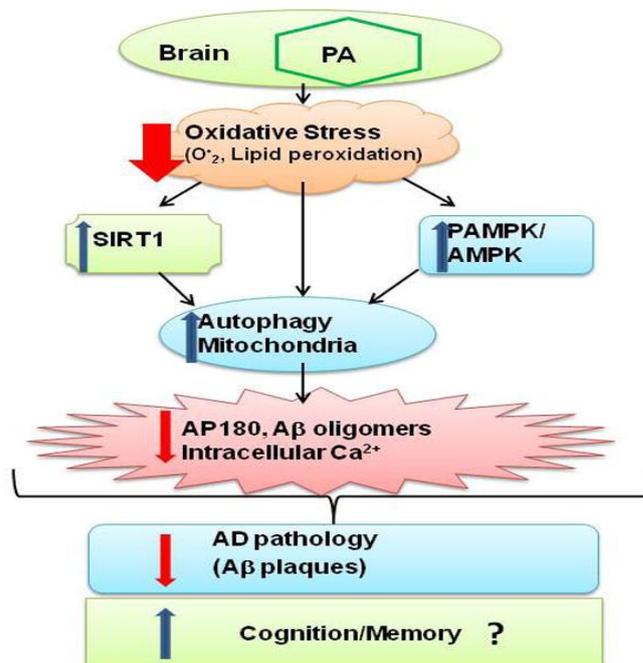


Figure.07: Un mécanisme de protection proposé par l'acide phytique (AP) dans le cerveau de souris. Le diagramme schématisé montre les effets moléculaires en aval de l'AP.

(Anekonda et al., 2011).

Chapitre.III

Matériel et méthodes

1. L'objectif:

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biotoxicologie, pharmacognosie et valorisation biologique des plantes de l'université de Saida, consiste à évaluer l'effet de l'acide phytique face à une intoxication chronique au Pb selon des approches expérimentales à savoir; neurocomportementale, biochimique et histopathologique et cela durant la période de développement (gestation et lactation) chez les rats Wistar.

2. Animaux d'expérimentation:

Les expériences sont effectuées sur des rats albinos de la souche Wistar, pesant $181 \pm 4,45$ g. Ils ont été accouplés une semaine après leur arrivée à raison de trois femelles et un mâle par cage. Les animaux ont accès libre à l'eau et à la nourriture, avec un cycle lumière/obscurité de 12/12 heures, et à une température de 22 ± 2 °C.

3. Répartition des groupes:

Après l'accouplement, les femelles sont divisées en cinq lots (n=07):

Lot T: Renferme les animaux qui reçoivent de l'eau distillée.

Lot Pb: Constitué par les animaux qui reçoivent par voie orale de l'acétate de plomb à raison de 0.2% dans l'eau distillée du premier jour de la gestation jusqu'au jour de sevrage (Kahloula, 2010).

Lot AP: Constitué d'animaux qui reçoivent par voie orale l'acide phytique à raison de 1% (Daley et al., 2013) dans l'eau distillée du premier jour de gestation jusqu'au jour de sevrage.

Lot AP-Pb: Constitue le lot préventif qui reçoit par voie orale l'acide phytique de premier jour de gestation jusqu'au la mise bas. Dès la naissance (postnatale), les rats nouveaux nés sont exposés à l'acétate de plomb pendant une durée de 21jours (période de lactation).

Lot Pb-AP: Constitue le lot curatif qui reçoit l'acétate de plomb de 1^{er} jour de gestation jusqu'à la mise bas. Dès le 1^{er} jour postnatale, les ratons reçoivent l'acide phytique jusqu'au jour de sevrage.

Le résumé de notre partie expérimentale est représenté par la figure.08.

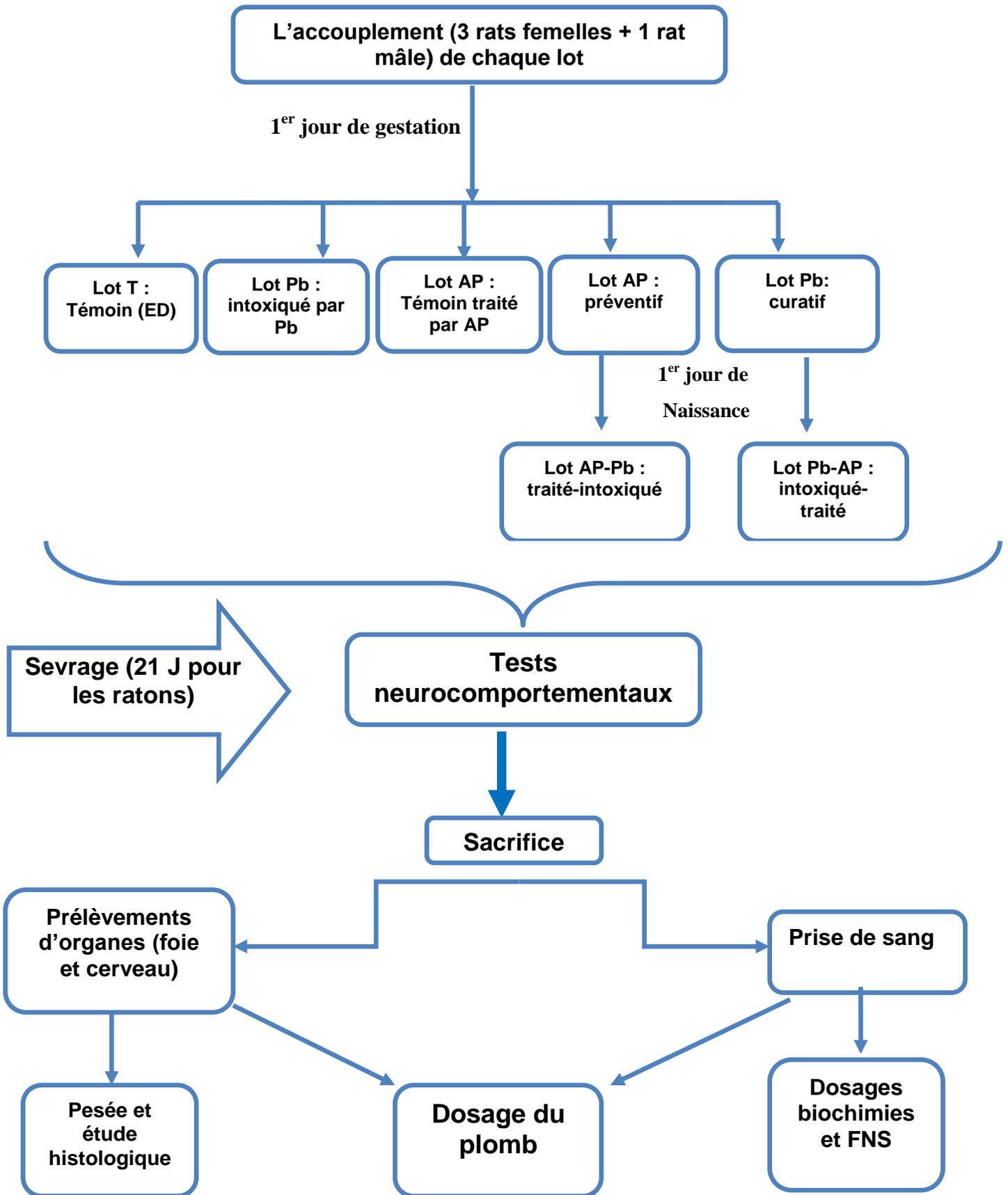


Figure.08: Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

4. Evolution du poids corporel et poids des organes :

Le poids corporel de chaque rat a été noté chaque semaine durant la durée de l'expérimentation (42 jours). De même, le poids hépatique et cérébral a été enregistré après sacrifice des animaux.

5. Tests neurocomportementaux:

Plusieurs paramètres neurocomportementaux ont été évalués y compris: l'activité locomotrice, le niveau d'anxiété et de dépression, les capacités d'apprentissage et de mémorisation à travers des divers dispositifs (Open Field, Dark and Light, Forced Swimming Test, Morris maze). On outre que les cages d'hébergements des rats ont été placées une demi-heure préalablement au test dans la salle d'expérimentation permettant par la suite l'adaptation de ces rongeurs à cet nouvel environnement, de plus, tout les dispositifs ont été nettoyés après chaque passage de l'animal à tester par une solution d'éthanol (70%- 90%) de façon à masquer tout indice olfactif perturbateur.

L'ensemble des tests ont été filmés et enregistrés permettant ultérieurement l'analyse des différentes variables comportementales.

5.1 Test de la nage forcée (Forced Swimming Test) :

Ce test permet d'évaluer l'état de résignation qui est un comportement dépressif chez le rongeur (**Fig.09**), il se traduit par une immobilité importante selon son premier fondateur (**Porsolt, 1977**).

Le dispositif expérimental est un cylindre en plexiglas transparent de 20,7 cm de diamètre et de 39 cm de hauteur remplie en 3/4 d'eau à une température de $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ dans lequel les rats sont soumis successivement à cette épreuve de nage forcée pendant 6 minutes , les paramètres à mesurer sont:

- Le temps de mobilité où l'animale nage activement avec ses quatre pattes.
- Le temps d'immobilité durant laquelle l'animal flotte seulement (des mouvements à faible amplitude) ce qui reflète un désespoir comportemental.



Figure.09: Test de la nage forcée.

5.2 Le test du compartiment obscurité/lumière (Light Dark Test):

Selon **Crawley et Goodwin (1980)**; **Belzung et al., (1989)**, ce test est couramment utilisé dans les études comportementales où il s'appuie sur les propriétés aversives du rongeur vis à vis la lumière afin d'évaluer son état d'anxiété (**Fig.10**).

Ce dispositif est constitué d'une boîte à double compartiments qui sont égaux (L= 22 cm; l = 16 cm; H= 23 cm) séparés par une petite ouverture de 6 cm de haut et de 5 cm de large, l'un des deux est noir l'autre est blanc fortement éclairée.

Chaque sujet a été déposé dans le coin de la paroi opposée à l'orifice central au niveau du compartiment sombre et il est autorisé à explorer ce nouvel environnement pendant 3 minutes.

Les paramètres mesurés après les trois minutes d'exploration sont le temps de séjour dans les deux compartiments durant 5 minutes d'expérimentation permettant par la suite de comparer entre les activités exploratrices de ces animaux dans les deux chambres en déterminant leurs degrés d'anxiété (**Kahloula, 2017**).



Figure.10 : Test de l'anxiété chez le rat (compartiment éclairé /obscur).

5.3 Meure l'activité locomotrice (Open Field) :

Le test de l'Open Field (OF), initialement a été décrit et développé par **Hall (1934, 1938)**, il est régulièrement employé dans de nombreuses études comme un test mesurant l'activité locomotrice et exploratoire et comme un révélateur de la réactivité émotionnelle chez les rongeurs, on considère que ces derniers préfèrent les espaces confinés, clos et peu éclairés et ils ont une tendance à éviter cet environnement stressant (**Fig.11**).

Ce dispositif est une enceinte ouverte rectangulaire en bois (Lx l x H = 90x70x60) fortement éclairée avec un fond sombre éparpillé par des lignes délimitant des carreaux (10 x 10 cm) où le rat était initialement placée dans l'un des quatre coins de l'open-field, la tête orientée vers le coin (**Kahloula, 2017**). Son comportement était observé pendant 5 minutes et les paramètres à mesurer sont :

- Temps de latence : c'est le temps mis par le rat pour sortir des quatre carreaux formant le coin;
- Nombre des carreaux traversés par le rat pendant 6 min, qui reflète son activité locomotrice;
- Nombre des visites au centre;
- Nombre de redressement ;
- Nombre de toilettage;
- Nombre défécation;



Figure.11: Le test de l'Open Field.

5.4 La piscine de Morris (Labyrinthe aquatique) :

Les capacités d'apprentissage spatial, d'orientation spatiale et de guidage visuo-moteur ont été évaluées grâce au test de la piscine de Morris (**Morris, 1984**).

Un bassin opaque de 90 cm de diamètre et de 50 cm de haut rempli d'eau à une hauteur de 30 cm maintenue à une température de 22-23°C. La plate-forme (10 cm de diamètre et 28 cm de hauteur) est recouverte d'une grille afin de faciliter l'agrippement de la part des animaux (**Fig.12**).

La piscine est divisée virtuellement en 4 quadrants : Nord-Est (NE), Sud-Est (SE), Sud-Ouest (SO) et Nord- Ouest (NO). La phase d'acquisition dure 4 jours à raison de 4 essais par jour séparés de 40 min.

La plate-forme est disposée dans le quadrant NO à 2cm sous la surface de l'eau. Le rat est placé dans le bassin, la tête dirigée contre le mur à l'un des quatre points cardinaux. Chaque essai dure 60 sec. Si le rat n'a pas trouvé la plate-forme à la fin de l'essai, il est placé dessus par l'expérimentateur pendant 20 sec.

Le probe test est effectué le 5ème jour d'apprentissage. La plate-forme est retirée du bassin et l'animal est placé au S. Le temps passe dans le quadrant où la plateforme était située au cours de la phase d'acquisition (NO) est mesuré au cours d'un seul essai de 60 secondes.

Après 2 h du probe test, se déroule la phase de la plate-forme visible, 4 essais de 60 sec maximum chacun, séparés de 40 min.



Figure.12 : La piscine de Morris.

6. Le sacrifice et le prélèvement des organes :

A la fin des différents tests neurocomportementaux, les rats ont été sacrifiés sous anesthésie au chloroforme après 12 h de jeûne, le sang a été récupéré dans des tubes à hémolyse contenant un anticoagulant, centrifugés pendant 15 minutes à 3000 tours/min puis conservés à 4°C pour le dosage biochimique, le cerveau et le foie des rats ont été soigneusement prélevés, rincés par l'eau physiologique (NaCl 0.9%) pesés et conservés dans le Formol (10%), afin de réaliser une étude histologique.

7. Dosage du plomb sanguin et cérébral :

7.1 Plombémie :

Le dosage du plomb dans le sang par absorption électrothermique a été réalisé au sein du laboratoire d'analyse de la qualité (AFAK, Oran).

- **Principe :**

La solution est injectée à l'intérieur d'un four, ou elle est séchée puis canulée et ou enfin, dans une dernière phase les sels de plomb sont dissociés à l'état de plomb atomique.

- **Mode opératoire :**

Ajouter à 10 ml (1ml de sang et 9 ml d'eau distillée) d'échantillon, 1ml d'acide nitrique et 20µl de solution d'acide phosphorique, injecté dans le four 10µl, séché à 125°C pendant 40

secondes, calciner à 450°C pendant 45 secondes puis atomiser à la température de 2000°C pendant 5 secondes, puis effectué les lectures à la longueur d'onde de 283 nm se porter à la courbe d'étalonnage.

7.2 Dosage du plomb dans le cerveau :

Le plomb étant dosé par absorption atomique avec flamme, technique nécessitant la formation de solution minérale et non organique (difficilement atomisable en flamme), toute la préparation des échantillons repose sur leur minéralisation, pour cela l'échantillon subit une calcination puis une attaque chlorhydrique et enfin une mise en solution.

- **Mode opératoire :**

250 mg d'échantillon sont pesés selon la teneur attendue en plomb (plus celle-ci est élevée, plus la masse est faible).

- **Dosage proprement dit :**

Le dosage consiste à passer l'échantillon au spectrophotomètre d'absorption atomique après l'étalonnage. Les résultats sont traduits en absorbance par l'appareil. Un simple calcul tenant compte de la concentration des étalons et de leurs absorbances, permet de déterminer la concentration de l'échantillon. Si l'absorbance fournie par l'appareil pour un échantillon donné se situe en dehors de la courbe d'étalonnage, il faut diluer l'échantillon.

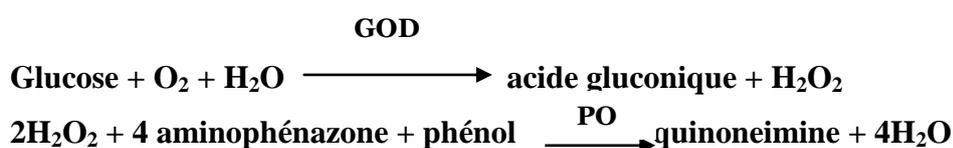
7.3 Dosage biochimique:

7.4 Dosage du glucose:

- **Principe :**

La méthode utilisée pour le dosage de la glycémie est une méthode colorimétrique (Kit Spinreact). Le glucose est mesuré après oxydation enzymatique en présence de glucose oxydase. Le peroxyde d'hydrogène formé réagit par l'action catalytique d'une peroxydase, avec le phénol et le 4-aminophénazone pour former un composé rouge violet de quinonéimine qui sert d'indicateur coloré. L'absorbance est mesurée à la spectrophotométrie à 500 nm.

La réaction enzymatique est la suivante:



- **Mode opératoire :**

Les tubes échantillons contiennent 10 μ l d'échantillon (sérum) et 1ml du mélange réactionnel, alors que le tube du standard contient 10 μ l de la solution étalon et 1ml de mélange réactionnel. Les tubes sont agités et incubés pendant 10 min à température ambiante (20-25°C). L'absorbance est mesurée à 500 nm contre le blanc réactif.

- **Calcul :**

Concentration de l'échantillon = n * A Echantillon / A Etalon

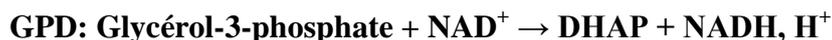
n = concentration de l'étalon = 5.5mmol/l = 100 mg/dl

7.5 Dosage des lipides :

7.5.1 Dosage des triglycérides :

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

Utilisation du Kit GK, GPD :



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

7.5.2 Dosage de Cholestérol:

Une première réaction fait en sorte que les esters de cholestérol sont hydrolysés en cholestérol libre par un cholestérol estérase. Le cholestérol qui est entièrement libre réagit avec l'oxygène en présence de cholestérol oxydase pour donner de la cholesténone (l'hydroxyle en position, devient cétone) et du H₂O₂. Le peroxyde formé est réduit en H₂O par un indicateur en présence de peroxydase (on mesure la quinone-imine produite à 500 nm) (Kit Spinreact).

Cholestérol estérase: (stérides + cholestérol libre) + H₂O → cholestérol total libre

Cholesterol oxydase: cholesterol total libre + O₂ → Cholestènone 4 one 3 + H₂O₂

Peroxydase: 2 H₂O₂ + Chromogène Incolore → 4 H₂O + Chromogène coloré.

7.5.3 Dosage des HDL et LDL :

Méthodes par précipitation: consiste à précipiter les lipoprotéines contenant de l'apoprotéine B (chylomicrons, LDL et VLDL) par le mélange phosphotungstate de sodium/chlorure de magnésium; après centrifugation 10 min à 5000g, on récupère le surnageant qui contient les HDL et on y dose le cholestérol avec la même méthode que le cholestérol total. Attention au facteur de dilution causé par les solutions précipitantes.

LDL est calculé par la formule de Friedwald :

$$\text{LDL} = \text{CT} - \left(\text{HDL} + \frac{\text{TG (g/l)}}{5} \text{ ou } \frac{\text{TG (mmol/l)}}{2,2} \right)$$

7.6 Evaluation de la fonction rénale :

7.6.1 Dosage de la créatinine et l'urée:

La créatinine a été déterminée dans le sérum par la réaction de Jaffé selon la description de **Cook (1975)**.

- **Principe:**

Test colorimétrique cinétique:

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.

L'urée dans le sérum a été déterminée en utilisant le diacétylmonoxime (**Veniamin et Varkirtzi –Lemonias, 1970**); l'urée est catabolisée par l'urease 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 diminution de la concentration de NADH, H⁺ directement proportionnelle à la concentration d'ammoniaque-

est évaluée à 340 nm (Kits Biomatériaux).

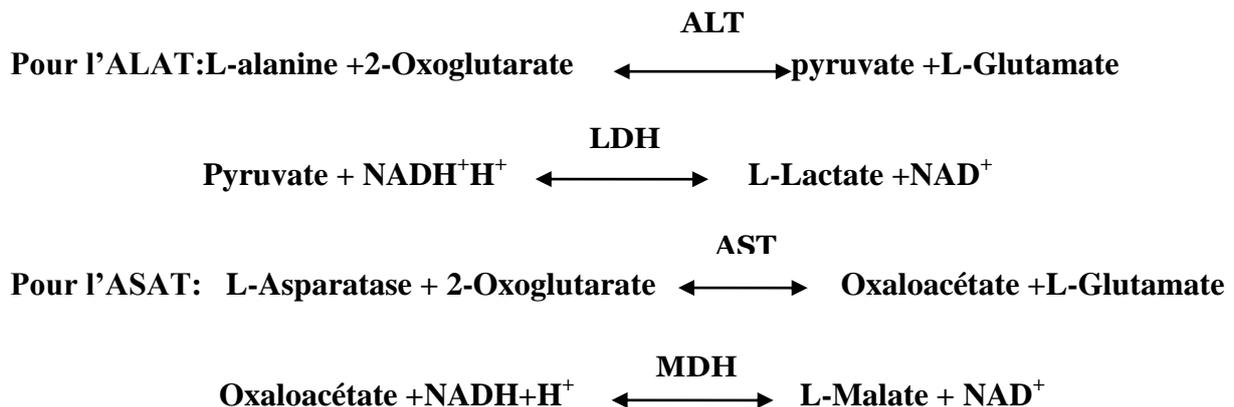
7.6.2 Dosage de l'acide urique :

L'acide urique a été dosé par une méthode colorimétrique (**Caraway, 1963**). L'acide urique est oxydé en CO₂ et en allantoïne en solution alcaline alors que l'acide phosphotungstique est réduit en un dérivé tungstényle (bleu de tungstène) de degré d'oxydation inférieur, lecture à 700 nm.

7.7 Evaluation de la fonction hépatique:

7.7.1 Dosage des transaminases:

Les activités de l'ALAT et d'ASAT sérique sont effectuées selon les schémas réactionnels suivants :



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH et NAD⁺ et proportionnelle à l'activité ALAT et ASAT dans nos échantillons est mesurée à 340nm.

7.7.2 Dosage de la phosphatase alcaline:

Nous avons utilisé la technique colorimétrique pour le dosage de la PA, avec l'utilisation du kit, cette technique est basée sur la libération de phénol. Le p-nitrophénylphosphate est scindé par les phosphates alcalins en phosphates et p-nitrophénol. La concentration en p-nitrophénol libérée est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline et est mesurée à une longueur d'onde 450 nm (**Bablok et al., 1988**). Selon la formule suivante :



7.7.3 Dosage de la bilirubine :

La concentration de la bilirubine a été déterminée par une méthode colorimétrique selon la méthode de Jendrassik-Grof (1938). L'accélérateur est un mélange de caféine et de benzoate sodium (Une partie de la bilirubine réagit immédiatement donne bilirubine directe, l'autre ne réagit que si on ajoute de l'alcool ou une solution de caféine (solvant de miscibilité) donne bilirubine indirecte) et la réaction est faite à un pH acide, mais la lecture est à un pH alcalin (en milieu alcalin, les azopigments, de rouges en milieu acide, deviennent bleu et l'intensité de la couleur augmente donc une sensibilité plus grande, l'absorbance est déterminée à 578 nm. La bilirubine est exprimée en mg/l de sérum.

7.7.4 Dosage de lactate déshydrogénase:

L'activité du LDH est mesuré en utilisant le pyruvate ou lactate comme substrat, ce réactif utilise le pyruvate et est basé sur la procédure de **Henry et al (1960)**.



La LDH catalyse la réduction du pyruvate en lactate en oxydant le nicotinamide adénine di nucléotide réduite (NADH) en NAD. L'activité de la LDH peut être déterminée par le taux de diminution de l'absorbance à 340 nm pendant la production de la NAD.

7.7.5 Le dosage d'albumine:

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

7.7.6 Dosage de fer sérique :

La méthode utilisée pour le dosage du fer est une technique colorimétrique (Kit Fer-Charonolab). L'ion ferrique présent dans l'échantillon est uni à la transferrine et libéré par l'action du guanidinium, puis réduit à l'état ferreux en présence d'acide ascorbique. L'ion

ferreux forme un complexe coloré avec la férrozine qui est quantifié par spectrophotométrie à une longue d'onde de 560 nm.

7.8 Dosage de calcium:

L'analyse de la teneur de calcium a été déterminée par une méthode colorimétrique en milieu alcalin, les ions de calcium forment un complexe violacé avec le complexe en o-crésol phataléine. l'intensité de la coloration est mesurée à 750 nm, elle est directement proportionnelle à la concentration de l'échantillon (Kit Randox Ca 590).

7.9 Dosage du magnésium sanguin:

Le dosage du magnésium est effectué par la méthode colorimétrique (Kit Chronolab). Le magnésium présent dans l'échantillon réagit avec le calmagite en milie alcalin, pour donner un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 520 nm.

7.10 Dosage du sodium, du potassium et du chlore:

La technique utilisée pour déterminer le taux de Na⁺, K⁺ et Cl⁻ est la potentiométrie utilisant une électrode sélective aux ions (ISE), spécifique de l'électrolyte dosé (mesure de la différence de potentiel créée par la solution contenant les ions de référence).

8. Détermination des paramètres hématologiques:

Les paramètres hématologiques à savoir le taux d'hémoglobine (Hb), d'hématocrite (Ht), le nombre de globules rouges, le nombre de globules blancs, le volume globulaire moyen (VGM), teneur moyen d'un globule rouge (MCH), et les plaquettes sont déterminés à l'aide d'un Coulter de type MEDONIC CA530.

9. Étude histologique des organes:

L'étude histologique a été réalisée dans le laboratoire d'anatomie et histopathologie au niveau du EHU (Etablissement Hospitalier Universitaire) 1er Novembre 1954 Oran. Cette technique nécessite une préparation de fragment des oranges (foie, cerveau) pour l'examen au microscope optique. Elle requiert plusieurs temps successifs : fixation, l'inclusion, la déshydratation, l'imprégnation suivie d'une inclusion dans la paraffine pure; ensuite une coloration suivie d'un montage sur lame et lecture à l'aide d'un microscope optique.

9.1 La fixation :

Elle a pour but d'immobiliser les constituants cellulaires dans un état voisine à l'état in vivo,

elle se fait directement après le prélèvement pour empêcher toute putréfaction (altération microbienne), autolyse (destruction tissulaire par les constituants enzymatiques) parallèlement elle entraîne un durcissement de l'organe (pour maintenir en place toute formation tissulaire), une protection contre les distorsions et les rétractions, et une préservation de la morphologie cellulaire et tissulaire en augmentant la consistance du tissu pour faciliter la coupe et de potentialiser la coloration en améliorant la captation des substances colorantes.

Elle s'effectue directement après le sacrifice en immergeant totalement les prélèvements dans le formol à 10% au moins 24 h à une température ambiante et peut durer plusieurs jours même plusieurs semaines.

9.2 L'observation macroscopique des organes fixés :

Les organes fixés ont été par la suite mesurés (détermination des dimensions) et découpés transversalement par un bistouri (en décrivant leur aspect macroscopique) puis placés dans des histo-cassettes marquées préalablement avant d'être mises dans un panier de l'appareil automate de circulation et subir un processus de déshydratation.

9.3 La réalisation des blocs de paraffine :

Il s'agit d'un passage obligatoire des tissus du formol à la paraffine pour obtenir des blocs, puis des rubans, étalés enfin sur des lames en verre.

• Première étape: l'imprégnation :

L'inclusion des échantillons en paraffine exige qu'en extraire l'eau préalablement (une déshydratation) en suivant les étapes effectuées par un automate d'imprégnation en paraffine (TP1020/Leica), pendant un cycle de 16h, où les prélèvements sont initialement plongés dans un bain de formol ensuite dans des bains successifs d'éthanol dont leurs concentrations sont croissantes puis rincés dans un bain de solvant organique; le xylène permettant une clarification (éliminer toute trace d'alcool), ils peuvent ensuite être immergés dans un bain de paraffine liquide qui va imprégner profondément ces fragments tissulaires. Toutes ces réactions ont lieu dans des 12 bacs d'automate. La fixation des tissus doit se faire dans les minutes qui suivent le prélèvement, par immersion de la pièce dans une solution saline (fixateur: mélange de Bouin). Le tissu doit être aussi proche que possible du vivant.

• Deuxième étape: l'enrobage

Elle sert à inclure totalement les fragments tissulaires déshydratés issu de la première étape

dans la paraffine pur (un mélange d'hydrocarbure saturé) placées au centre des moules et remplis au-dessous du robinet de paraffine liquide (à 58°C), puis le tout est ensuite disposé sur une plaque de refroidissement (-7°C), leurs solidifications permettent de démouler les blocs facilement qui acquièrent une consistance (durcissement de façon homogène), ils sont menés à la réalisation des sections histologiques minces au microtome.

Cette technique permet aussi la conservation des échantillons en empêchant leurs fragmentations au fil du temps (conservation durant une période illimitée), et elle avait procédé à une station d'enrobage (Tissue-Tek Dispensing Console) comprenant trois parties: la plaque chaude (65°C), le robinet de paraffine liquide et la plaque froide (-7°C).

9.4 La microtomie et confection des coupes :

Une fois les blocs de paraffine sont solidifiés, on fixe chaque bloc sur le porte -bloc devant la lame de microtome (Leica RM 2235) (**Fig.13A**) et on l'oriente convenablement pour réaliser des sections de 3µm d'épaisseur formant un ruban plissé (**Fig.13B**), ces rubans sont étalés par la suite à la surface d'un bain marie (Leica HI 1210) à 48°C (**Fig. 13C**) (pour que la coupe acquière une certaine planéité) ainsi les sections d'intérêt sont pêchées sur des lames en verre (identifiées auparavant à l'aide d'un crayon diamanté) en permettant une meilleure adhésion des coupes sur leurs supports (Figure 13D), ensuite le séchage et le déparaffinage s'effectuent au niveau de l'étuve (Drying Oven TX-11) (56°C) (**Fig. 13E**) en quelque minutes et vers la fin ces lames doit être placer dans un portoir puis immergées dans un bac de xylène(**Fig. 13F**) pour entamer le processus de coloration d'intérêt.

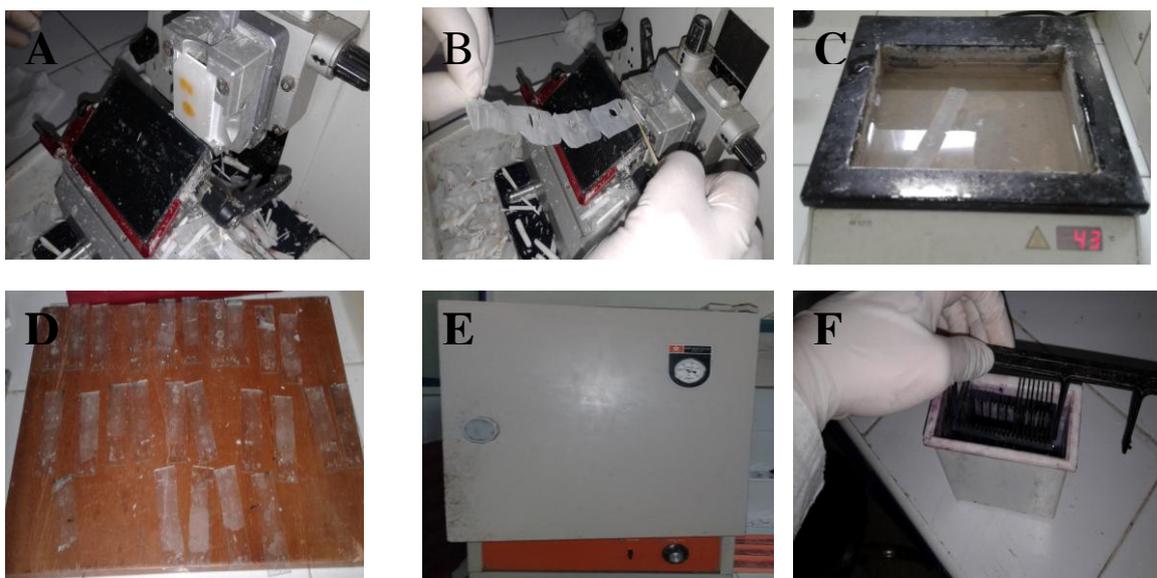


Figure. 13 : La réalisation des coupes par le microtome.

9.5 La coloration des coupes :

La coloration des lames permet de mettre en évidence et de différencier les constituants cellulaires et tissulaires, en routine la coloration à l'Hémalun Eosine (Hématoxyline et Eosine) c'est la coloration la plus répandue en histologie, mais ce processus nécessite une étape préliminaire d'hydratation.

- **L'hydratation:**

Les lames déparaffinées d'abord doivent être hydratées, elle se fait en les plongeant dans des bains successifs de xylène puis dans bains d'alcool d'ordre décroissant ensuite on rince avec l'eau.

- **La coloration:**

La coloration offre une lisibilité des sections sous l'analyse microscopique, où la technique utilisée est celle de l'hématoxyline, éosine pour renforcer le contraste des composants cellulaires, l'hématoxyline colore les structures nucléaires (basophiles) en bleu ainsi l'éosine colore les structures cytoplasmiques (acidophiles) en rose à rouge, ce procédé se termine par une déshydratation à l'aide des bains d'alcool de titre croissant suivi par des bains de xylène avant de passer au montage.

Dans ce cas, les lames sont trempées successivement dans les bains d'automate (Leica st 4040) (**Fig.14**) permettant l'hydratation, la coloration et la déshydratation en même temps.

Tableau.03: Temps nécessaires pour chaque type de bain.

| Le bac d'automate contenant : | Le temps de contact : |
|--------------------------------------|------------------------------|
| Xylène | 5 minutes |
| Alcool 100% | 1 minute |
| Alcool 95% | 1 minute |
| Alcool 75% | 1 minute |
| Eau | 1 minute |
| Hématoxyline | 4 minutes |
| Eau | 8 minutes |
| Acide chloridrique | 1 minute |
| Carbonates de lithium | 1minute |
| Eau | 1 minute |
| Alcool 95% | 1 minute |
| Eosine | 1 minute |
| Alcool 100% | 1 minute |
| Alcool 100% | 1 minute |
| Xylène | 2 minutes |

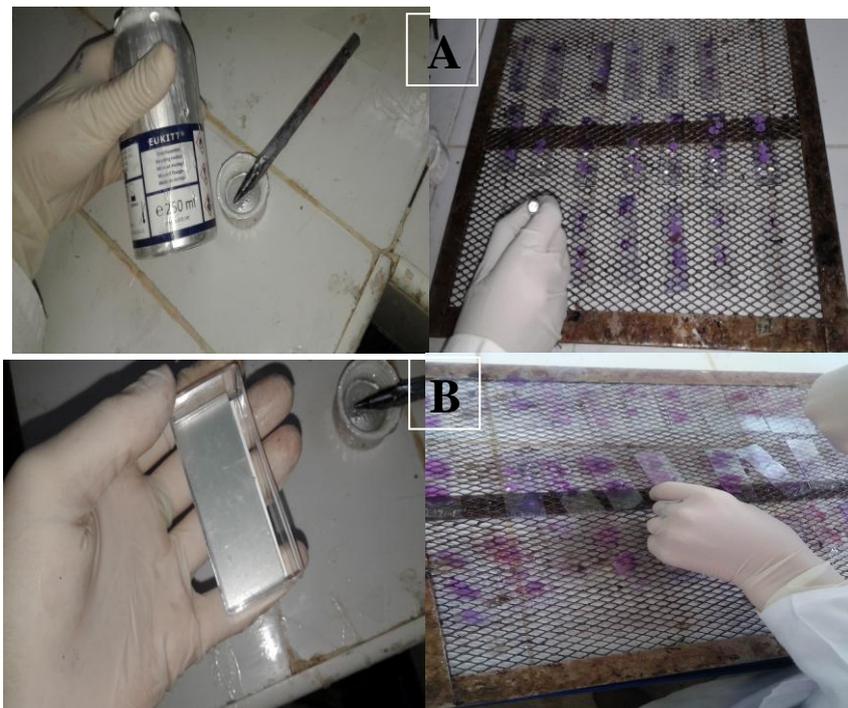


Figure.14: l'automate de coloration utilisé

9.6 Le montage des lames :

Les lames colorées doivent subir un montage où on dispose quelques gouttes d'Eukitt sur les coupes (**Fig. 15A**) et on les recouvre par des lamelles couvre-objet (**Fig. 15B**) de façon que la résine utilisée revête la totalité de la section (aucune bulle d'air ne doit s'insérer), on accélère la polymérisation de la colle biologique en plaçant les lames dans l'étuve (56°C) durant quelques minutes (**Fig. 15C**) puis un séchage à l'air libre.

Les lames ainsi préparées (**Fig.16**) peuvent se conserver sans risque d'être altérées pendant une durée illimitée.



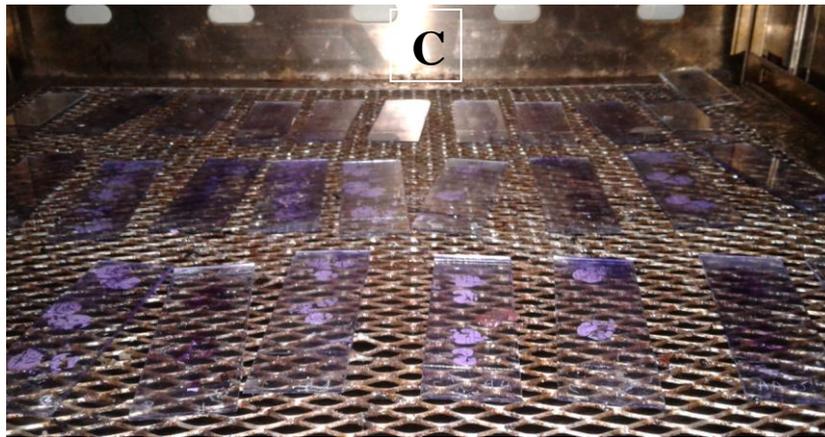


Figure.15 : Le montage des lames.



Figure.16: Les lames préparées pour l'analyse microscopique.

9.7 L'observation microscopique :

Finalement, les lames sont prêtes pour l'observation au microscope optique (Leica DM 1000) à plusieurs grossissements (x10 puis x40) (Fig.17) et les photos ont été prises pour des fins comparatives.



Figure.17: l'examen microscopique des sections histologiques.

10. Analyse statistique:

Les résultats sont exprimés par la moyenne (M) des valeurs individuelles, affectées de l'erreur standard à la moyenne (S.E.M). La comparaison de plusieurs moyennes est effectuée par une analyse de variance (ANOVA) avec le facteur intoxication (Pb, T) et/ou le facteur traitement (AP, Pb) suivie éventuellement du test Post-Hoc Student-Newman-Keuls : * $p \leq 0.05$ indique une différence significative.

** $p < 0.01$; indique une différence très significative; *** $p < 0.001$ indique une différence hautement significative comparés aux témoins. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Sigma Stat (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Chapitre. IV

Résultats et interprétation

1. L'effet du plomb et l'acide phytique sur la croissance pondérale:

Le poids constitue un bon indicateur de croissance des rats expérimentés. Les résultats montrent que l'exposition chronique à l'acétate de plomb à raison de (0,2%) induit chez les jeunes rats âgés de 21 jours issus des femelles intoxiquées une baisse significative de poids comparés aux rats témoins. Cependant les rats qui sont traités préventivement par l'acide phytique (AP-Pb) présentent une nette amélioration dans la croissance pondérale ($p < 0,01$) par rapports aux rats intoxiqués (**Tab.04**).

De même, les résultats du traitement curatif (Pb-AP) montrent aussi une augmentation significative ($p < 0,01$) du poids par rapports aux rats intoxiquées (**Tab.04**).

Tableau.04: Evaluation des paramètres pondéraux chez les différents groupes.

| Groupes | Poids corporel(g) | Poids de Foie (g) | Cerveau (g) |
|---------------|-------------------|-------------------|---------------|
| Témoin | 121,14±3,12 | 5,95±0,25 | 1,75±0,033 |
| Pb | 96,85±4,32*** | 4,35±0,30*** | 1,49±0,046*** |
| AP | 120,14±2,51 | 5,70±0,32 | 1,70±0,02 |
| AP-Pb | 112,57±2,06 ** | 5,53±0,13** | 1,66±0,03** |
| Pb-AP | 111±4,44** | 5,50±0,68** | 1,65±0,12** |

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$).

Les rats intoxiqués par le plomb révèlent également une baisse significative ($p < 0,001$) dans le poids relatifs des organes (cerveau et foie) par rapport à ceux des rats témoins. Ceci montre que le plomb induit un retard de croissance significatif chez les rats traités à la dose de 0,2%. En revanche, les rats qui sont traités par l'AP quelque soit préventif (AP-Pb) ou curatif (Pb-AP) présentent une augmentation significative ($p < 0,01$) des poids des organes étudiés par rapports aux rats intoxiqués (**Tab.04**).

2. Tests neurocomportementaux:

2.1 Evaluation de l'état de résignation (Test d'anxiété):

Les résultats enregistrés concernant ce test d'anxiété montrent que les jeunes rats Wistar issus des femelles intoxiquées au cours de la période de la lactation présentent un temps de séjour dans le compartiment éclairé significativement important ($p < 0,001$) comparé à celui des rats témoins. Ce qui reflète que les sujets exposés au Pb pendant la période de développement dévoilent un état d'anxiété élevé par rapport aux sujets témoins. Ces résultats montrent bien que le plomb induit l'instauration d'un état de stress. Le temps de séjour dans le compartiment éclairé est significativement moins important ($p < 0,001$) chez animaux qui sont traités préventivement par l'acide phytique par rapport à celui des animaux intoxiqués (**Fig.18**). Ce qui reflète que les rats exposés au Pb dévoilent un état d'anxiété élevé par rapport aux autres rats. Le même résultat est montré pour le groupe curatif (**Fig.19**).

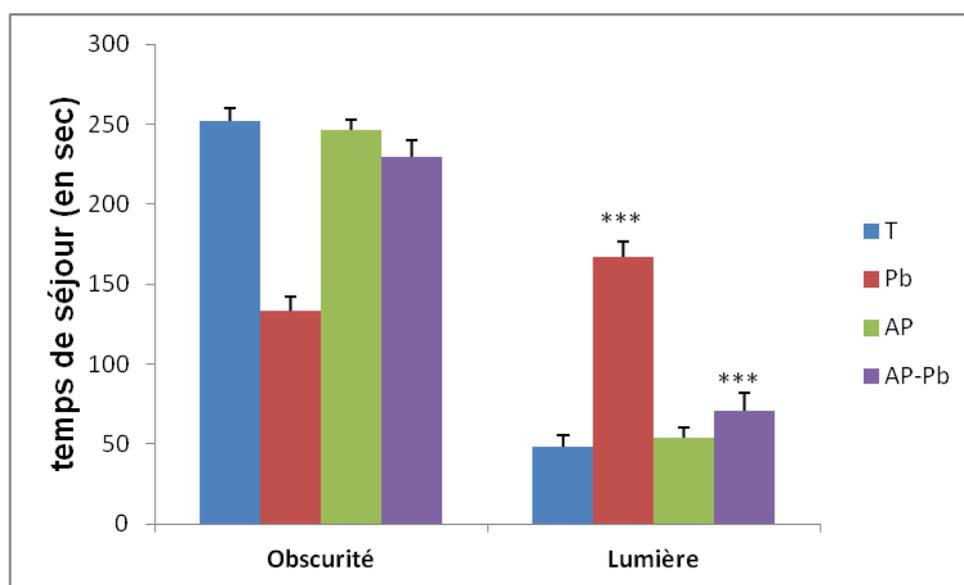


Figure.18 : Le temps de séjour passé dans le compartiment éclairé chez les différents lots, témoins, intoxiqués, témoins traités (AP) et traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM; T vs Pb (***) : $p < 0,001$; Pb vs AP-Pb (***) : $p < 0,001$.

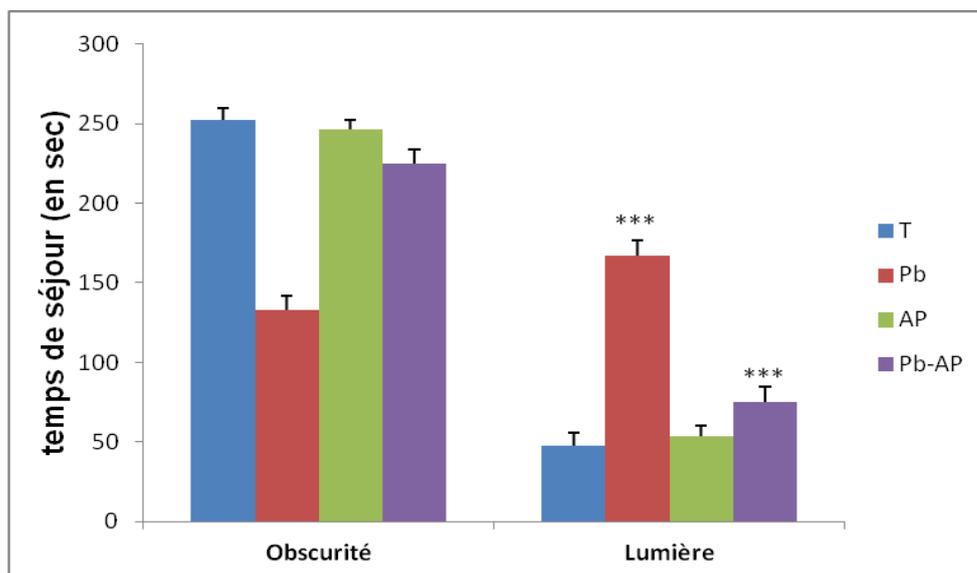


Figure.19: Le temps de séjour passe dans le compartiment éclairé chez les différents lots témoins, intoxiqués, témoins traités(AP) et intoxiqués traités (Pb-AP).Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM; T vs Pb (***: $p < 0.001$); Pb vs Pb-AP (***: $p < 0.001$).

2.2 Evaluation du comportement dépressif (Test de la nage forcée) :

L'analyse statistique révèle un temps d'immobilité chez les rats intoxiqués significativement supérieur ($P < 0,001$) à celui des rats témoins. Cette réduction dans le temps de la nage explique bien l'incapacité de l'animal à nager, ceci est due à une diminution du tonus musculaire. En revanche, nous avons observé une réduction significative ($p < 0,001$) de temps d'immobilité chez les rats traités par l'AP (préventif et curatif) par rapport à ceux des rats intoxiqués (**Fig.20;21**). Ce qui pourrait suggérer que l'AP a la capacité de diminuer et éviter l'instauration d'un comportement de désespoir.

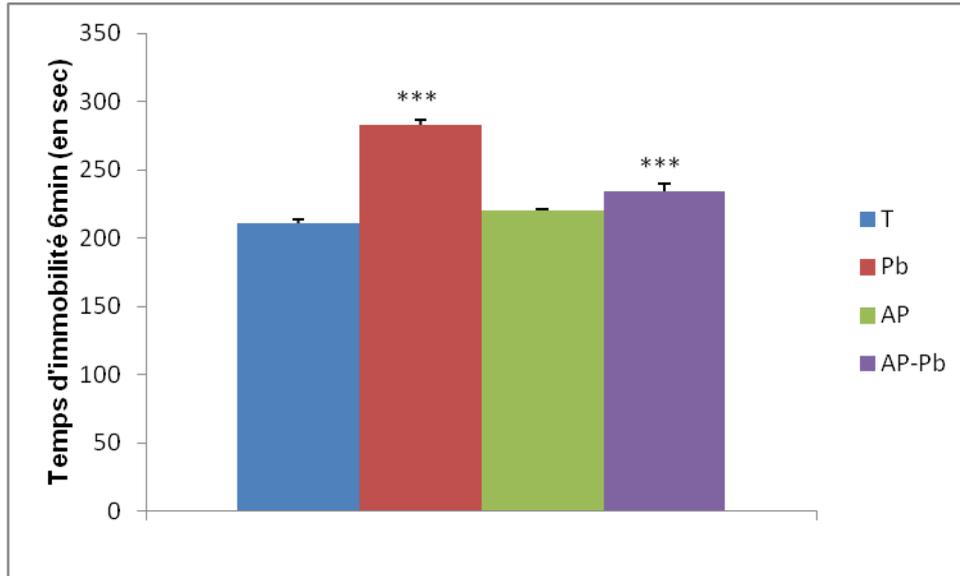


Figure.20: Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée chez les rats témoins(T), intoxiqués(Pb), témoins traités(AP) et traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM; T vs Pb (***: $p < 0.001$); Pb vs AP-Pb (***: $p < 0.001$).

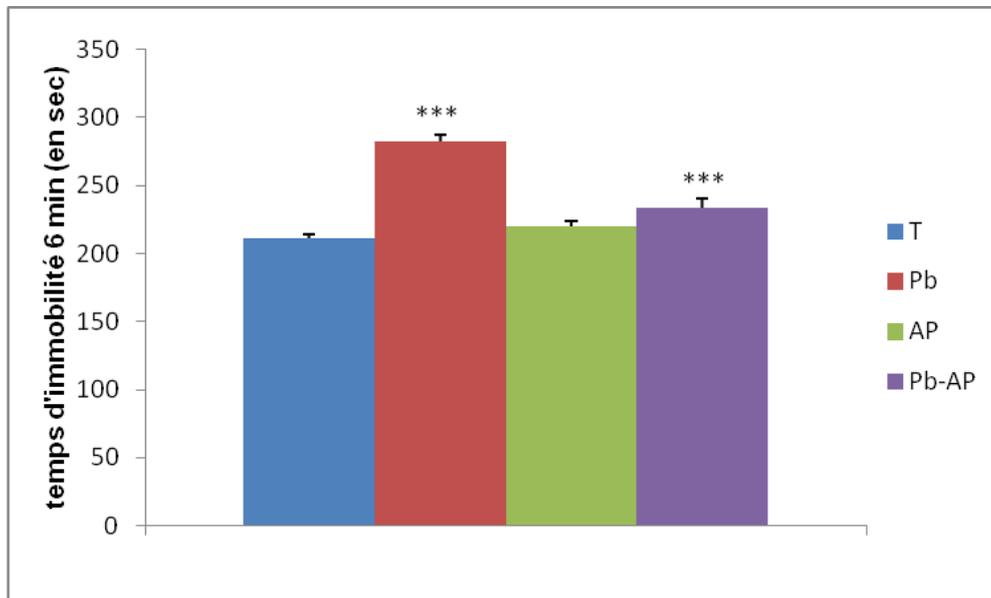


Figure.21: le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée chez les rats témoins(T), intoxiqués(Pb), témoins traités (AP) et intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM; T vs Pb (***: $p < 0.001$); Pb vs Pb-AP (***: $p < 0.001$) et AP vs Pb-AP (***: $p < 0,001$).

Pour confirmer ces résultats expérimentaux, nous avons déterminé le taux du glucose sanguin, puisqu'il est un bon marqueur de stress. Les données montrent une élévation significative de la glycémie chez les rats exposés au Pb par rapport à ceux des rats témoins. Cependant, le taux de glycémie chez les animaux traités par l'AP est significativement inférieur ($p < 0,001$) par rapport à celui des animaux intoxiqués. Aussi, il existe une différence significative entre le groupe intoxiqué traité et le groupe témoin traité, sachant que le taux du glucose est significativement élevé ($p < 0,001$) chez les rats intoxiqués traités par rapports aux témoins traités (**Fig.22;23**).

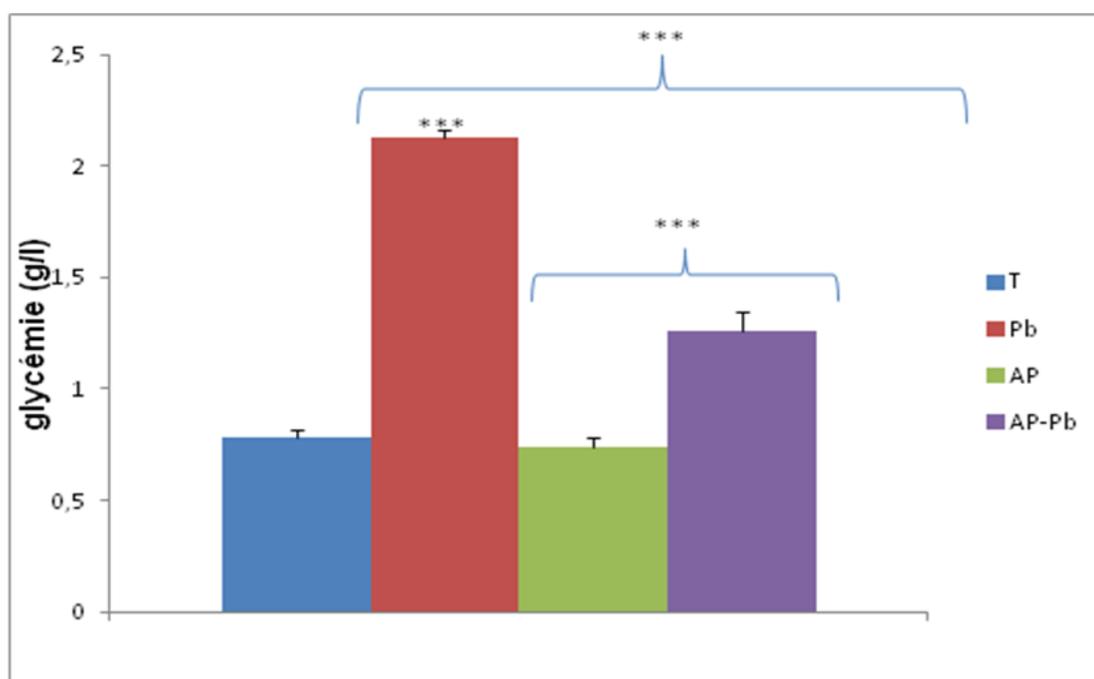


Figure.22: Le taux de la glycémie chez les rats témoins(T), intoxiqués(Pb), témoins traités(AP) et traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM; T vs Pb (***: $p < 0.001$); Pb vs AP-Pb (***: $p < 0.001$), AP vs AP-Pb (***: $p < 0.001$).

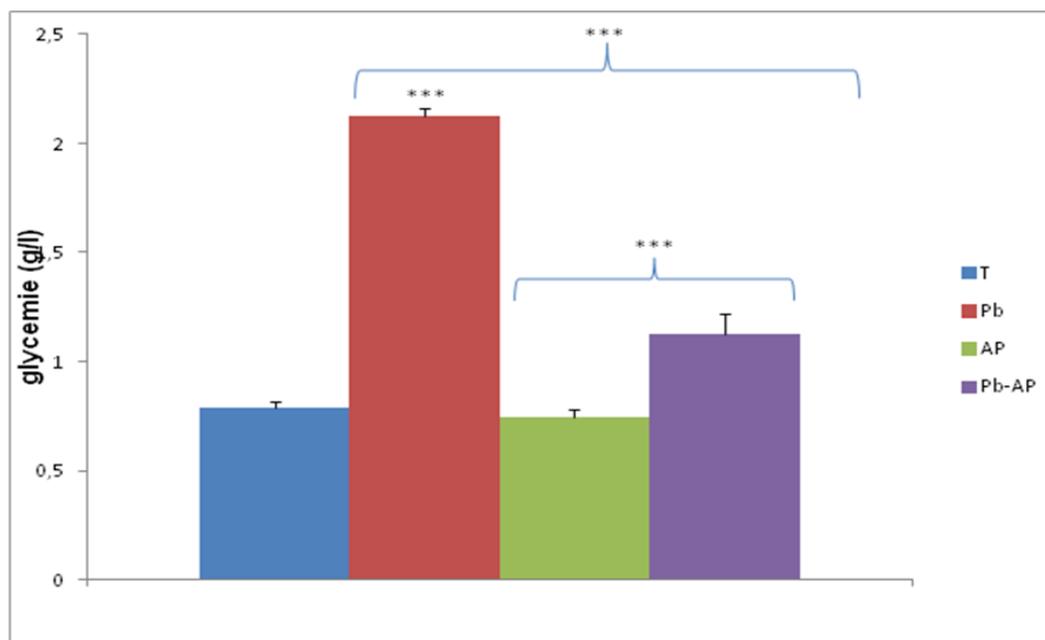


Figure.23: Le taux de la glycémie chez les rats témoins(T), intoxiqués(Pb), témoins traités(AP) et intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM; T vs Pb (***: $p < 0.001$); Pb vs Pb-AP (***: $p < 0.001$), AP vs Pb- AP (***: $p < 0.001$).

2.3 Evaluation de l'activité locomotrice (Open Field) :

Les analyses statistiques du test Open Field ont montré un comportement de type anxieux chez les rats intoxiqués au Pb qui est observé par une augmentation significative ($p < 0,001$) de temps de latence. Une diminution significative ($p < 0,001$) de nombre de visite du centre comparé aux rats témoins. Par contre les rats traités intoxiqués présentent une réduction significative ($p < 0,001$) du temps de latence et une augmentation significative ($p < 0,05$) du nombre de visite au centre qui peut expliquer que l'acide phytique réduit les effets de stress (Fig.24).

Par ailleurs, les rats exposés au Pb montrent une réduction significative de l'activité locomotrice qui est représentée par le nombre de carreaux traversés et le nombre de redressement ($p < 0,001$; $p < 0,001$ respectivement) par rapport aux rats témoins. En revanche, l'administration préventive de l'AP induit une élévation significative du nombre des carreaux traversés ($p < 0,001$) et le nombre de redressement ($p < 0,05$) par rapport au groupe intoxiqué (Fig.24).

Aucune différence significative n'est observée en termes de nombre défécation et le nombre du toilettage entre les différents lots.

Les mêmes résultats ont été observés chez le lot curatif comparé au lot intoxiqué (**Fig.25**)

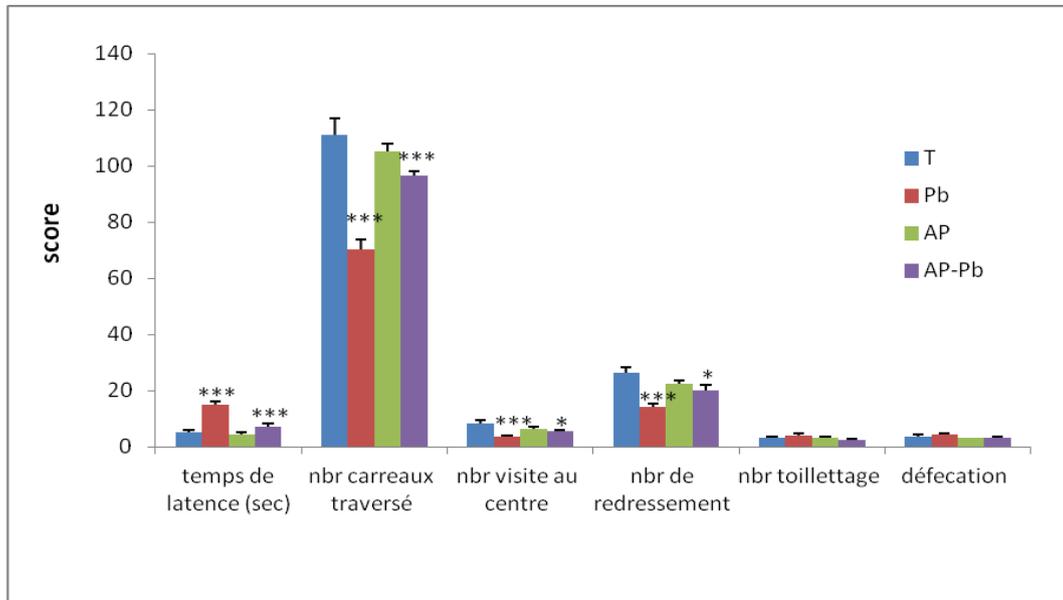


Figure.24: La comparaison des différents paramètres du test Open Field entre les rats témoins(T), intoxiqués(Pb), témoins traités (AP) et traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ; T vs Pb (***: $p < 0.001$) ; Pb vs AP-Pb (***: $p < 0.001$; *: $p < 0,05$).

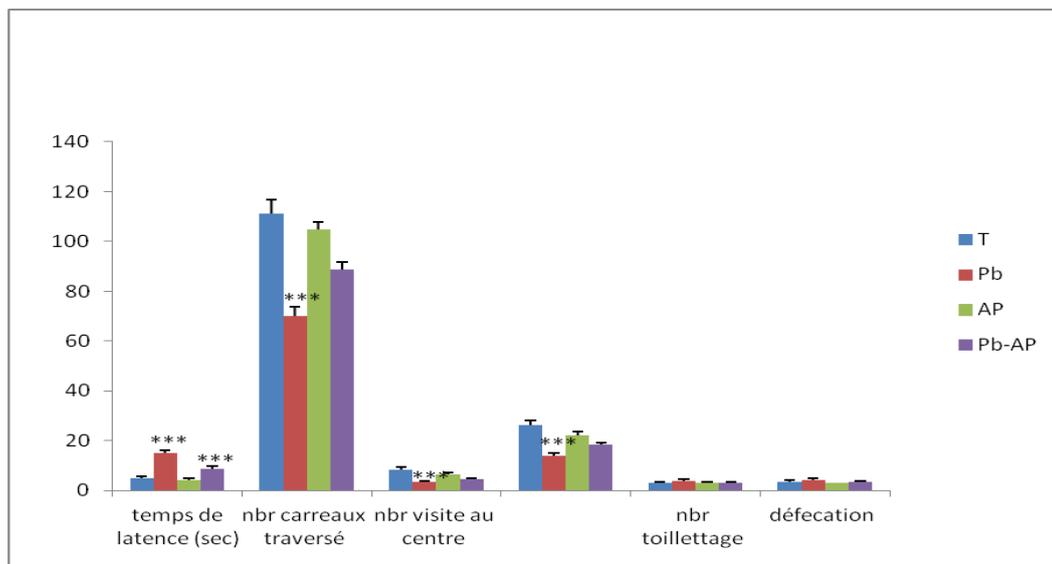


Figure.25: La comparaison des différents paramètres du test Open Field entre les rats témoins(T), intoxiqués(Pb), témoins traités(AP) et intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM; T vs Pb (***: $p < 0.001$); Pb vs Pb-AP (***: $p < 0.001$; *: $p < 0,05$).

2.4 Evaluation de l'apprentissage spatial (Piscine de Morris):

2.4.1 Lot préventif :

Pendant la phase d'apprentissage, les résultats ne révèlent aucune différence significative ($p > 0.05$) entre tous les groupes pendant le premier et le deuxième jour en termes de temps de latence.

Les données enregistrées montrent une interaction significative entre le traitement AP et l'intoxication (Pb) en termes de vitesse d'échappement ce qui signifie que les animaux apprennent différemment selon leur intoxication et traitement à travers les jours.

A partir de troisième jour d'apprentissage, les résultats montrent que le temps d'échappement chez les rats intoxiqués est significativement élevé à celui des rats témoins et les rats traités par AP ($p < 0,001$; $p < 0,01$ respectivement).

Pour le quatrième jour, aussi il existe une différence significative entre les lots sachant que les animaux exposés au Pb présentent un temps d'échappement élevé par rapport les animaux témoins et les animaux traités ($p < 0,001$; $p < 0,001$ respectivement) (**Fig.26**).

Pendant le probe test, il n'y a aucune différence significative ($p > 0.05$) entre tout les groupes pour le temps passé dans le quadrant nord ouest (**Fig.27**).

Pendant l'essai de la plateforme visible, le groupe Pb ne présente aucune différence significative ($p > 0.05$) en termes de temps de latence comparé au groupe témoin et groupe traité intoxiqué (**Fig.28**).

Donc, ces résultats indiquent que le Pb interfère avec l'induction de la potentialisation à long-terme qui est montré par une diminution des performances dans le labyrinthe de Morris, par contre l'AP augmente la mémorisation par la réduction du taux de Pb cérébrale.

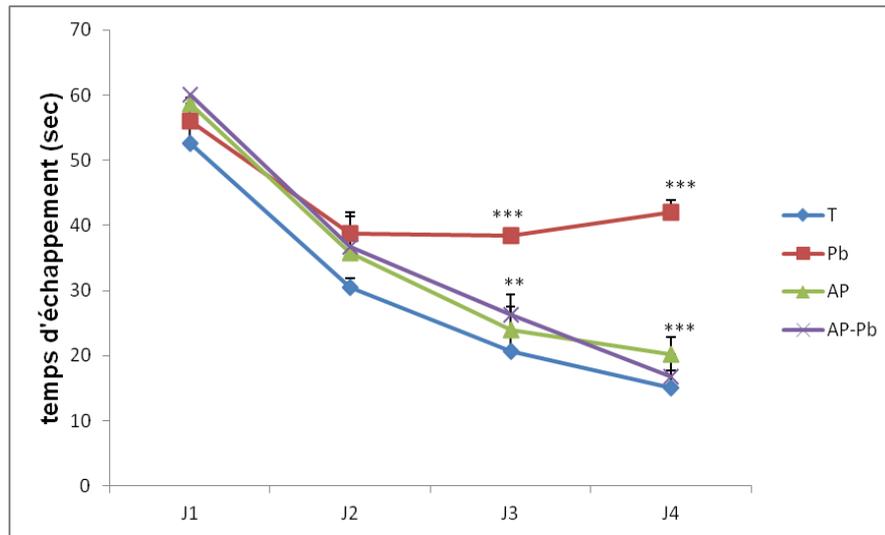


Figure.26: Temps d'échappement durant la phase d'apprentissage de la piscine de Morris chez les rats témoins (T), les rats exposés au plomb (Pb), témoins traités (AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : T vs Pb (***: $p < 0,001$); Pb vs AP-Pb (** : $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

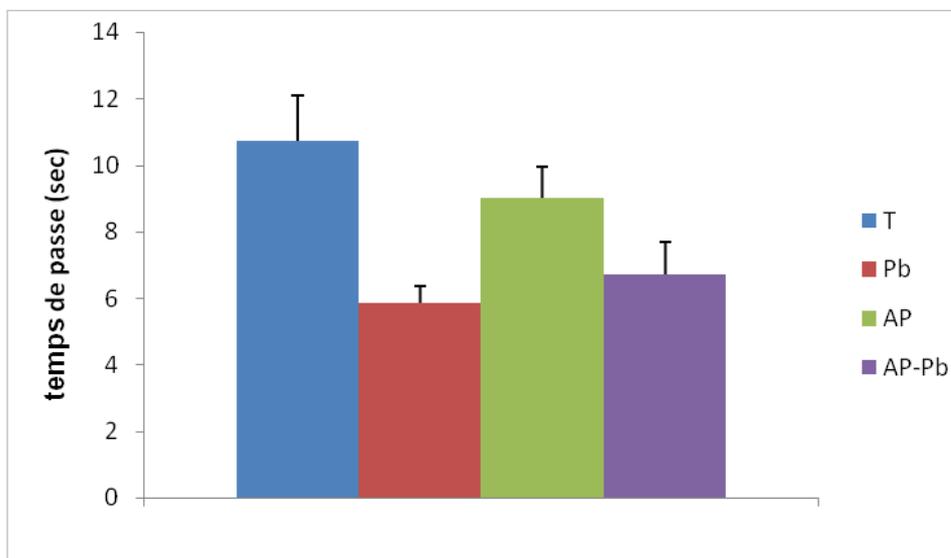


Figure.27: Temps passe dans le quadrant (NO) durant le probe test par les rats témoins (T), les rats intoxiqués au Pb, témoins traités (AP) et les rats traités intoxiqué (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Aucune différence significative n'est observée entre les différents groupes $p > 0.05$.

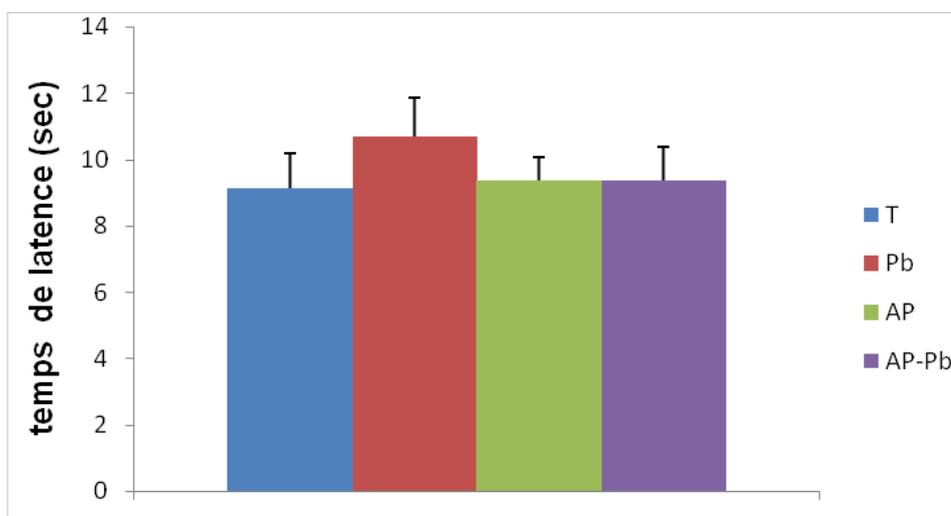


Figure.28: Temps de latence durant la phase de la plateforme émergée de la piscine de Morris chez les rats témoins (T), intoxiqué (Pb), témoins traités (AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Aucune différence significative n'est observée entre les différents groupes $p > 0.05$.

2.4.2 Lot curatif :

Pour le 1^{er} et le 2^{ème} jour du test d'apprentissage, il n'y a aucune différence significative dans le temps d'échappement entre les lots (T, Pb et Pb-AP). Dans le 3^{ème} jour les analyses statistiques révèlent que le temps d'échappement est significativement élevé ($p < 0,001$) chez les rats intoxiqués par rapports aux témoins. De même il existe une différence significative entre les rats intoxiqués traités et les rats témoins traités par AP, dont le temps d'échappement est significativement supérieur ($p < 0,01$) chez les rats intoxiqués traités à celui des animaux témoins traités. Pour le 4^{ème} jour, le temps d'échappement par les rats intoxiqués non traités est significativement supérieure à celui des rats témoins et des rats intoxiqués traités ($p < 0,001$; $p < 0,001$) respectivement (**Fig.29**).

Pour le probe test, il n'y a aucune différence significative ($p > 0.05$) entre tous les groupes pendant le temps passe dans le quadrant nord ouest (**Fig.30**).

Pour le test de la plateforme visible, le groupe Pb ne présente aucune différence significative ($p > 0.05$) en termes de temps de latence comparé au groupe témoin et groupe intoxiqué traité (**Fig.31**).

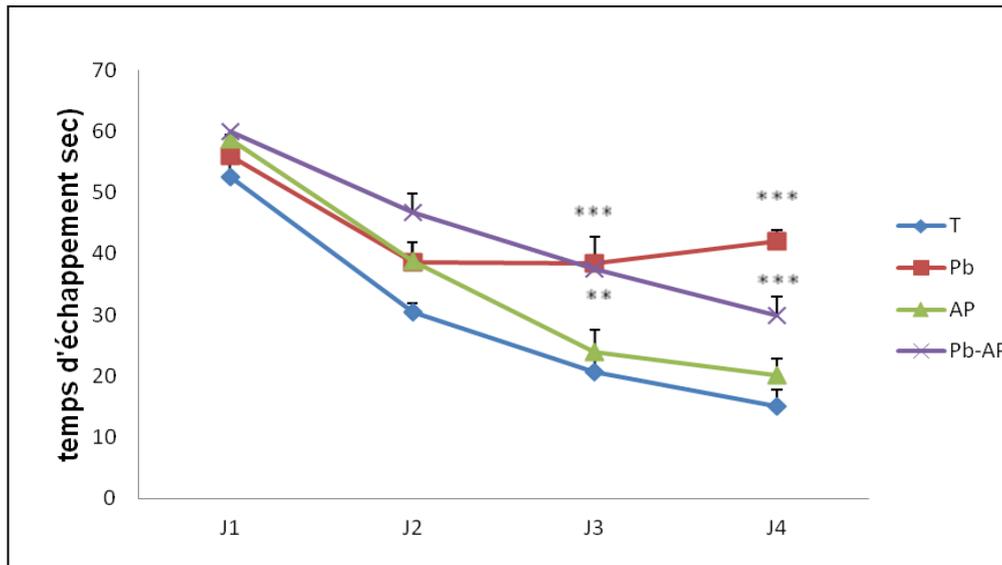


Figure.29: Temps d'échappement durant la phase d'apprentissage de la piscine de Morris chez les rats témoins (T), les rats exposés au plomb (Pb), témoins traités (AP) et les rats intoxiqué traité (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM: T vs Pb (***: $p < 0,001$); Pb vs Pb-AP ($p < ***0,001$) et AP vs Pb-AP (**: $p < 0,01$).

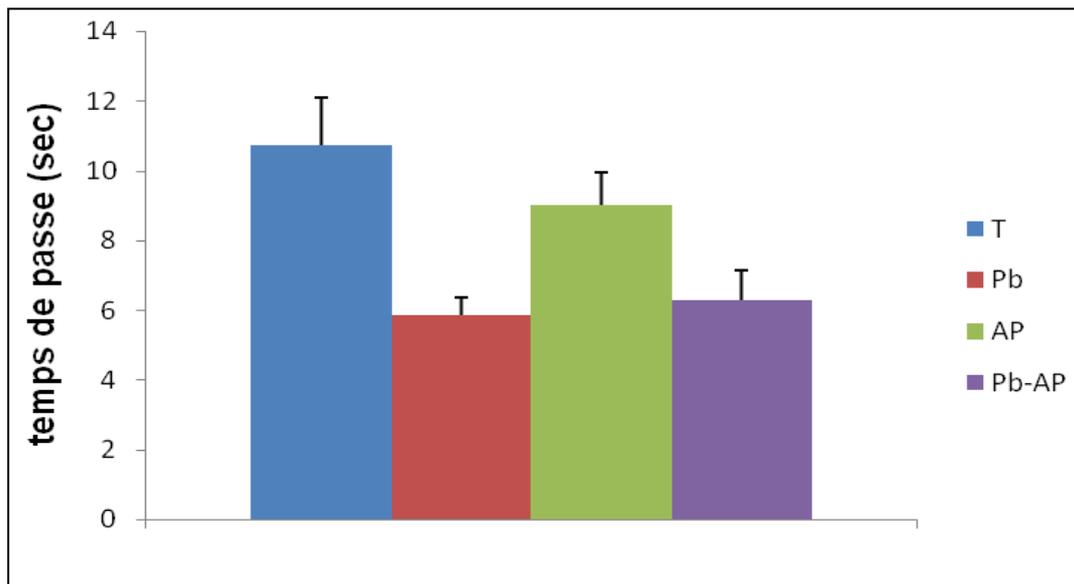


Figure.30: Temps passe dans le quadrant (NO) durant le probe test par les rats témoins (T), les rats intoxiqués au Pb, témoins traités (AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Aucune différence significative n'est observée entre les différents groupes $p > 0,05$ (Fig.30).

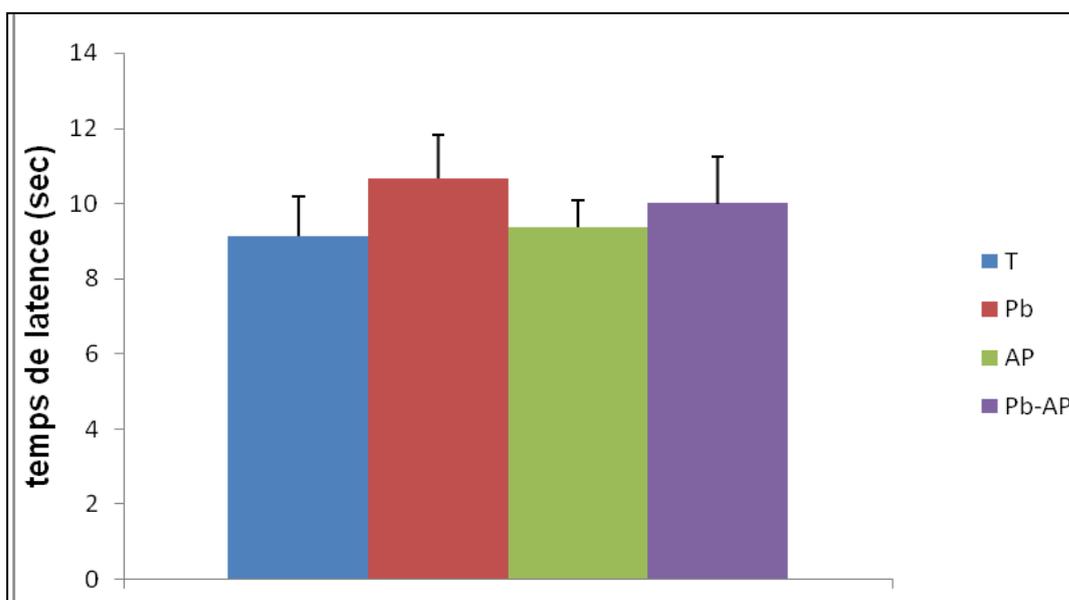


Figure.31: Temps de latence durant la phase de la plateforme émergée de la piscine de Morris chez les rats témoins (T), intoxiqué (Pb), témoins traités (AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Aucune différence significative n'est observée entre les différents groupes $p > 0,05$ (**Fig.31**).

3. Evaluation du taux de plomb sanguin et cérébral :

3.1 La Plombémie :

L'exposition des femelles gestantes et lactantes à une dose de 0,2% d'acétate de Pb pendant une durée de 42 jours, permet d'enregistrer un taux de plombémie de l'ordre $176,35 \pm 10,75$ chez les nouveaux nés. En effet, l'analyse statistique révèle une bonne imprégnation du plomb au niveau sanguin qui au cours de la période de la gestation et lactation est significativement supérieure à celle des rats témoins ($P < 0,001$) (**Fig.32**).

Les rats exposés au Pb et préalablement traités par l'AP ont montré une diminution hautement significative ($p < 0,001$) de la plombémie ($9,6 \pm 0,9$ $\mu\text{g/l}$) par rapport à celle des rats intoxiqués et non traités (**Fig.32**).

Des réductions significatives ($P < 0,001$) du taux de plombémie ($17,5 \pm 0,8$ $\mu\text{g/l}$) chez les rats traités par AP et intoxiqués au Pb par rapport à celui des rats témoins. De même, il existe une augmentation significative de la plombémie ($p < 0,05$) dans le lot curatif comparé au lot témoin traité (**Fig.33**).

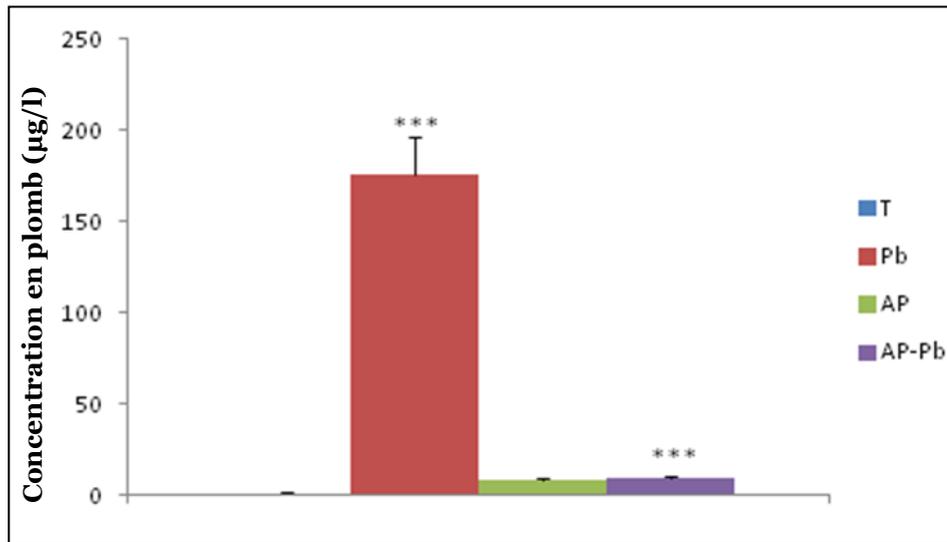


Figure.32: La comparaison de la plombémie chez les rats témoins (T), rats intoxiqués (Pb), rats témoins traités (AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb :(***: $p < 0.001$) ; Pb vs AP-Pb: (***: $p < 0,001$).

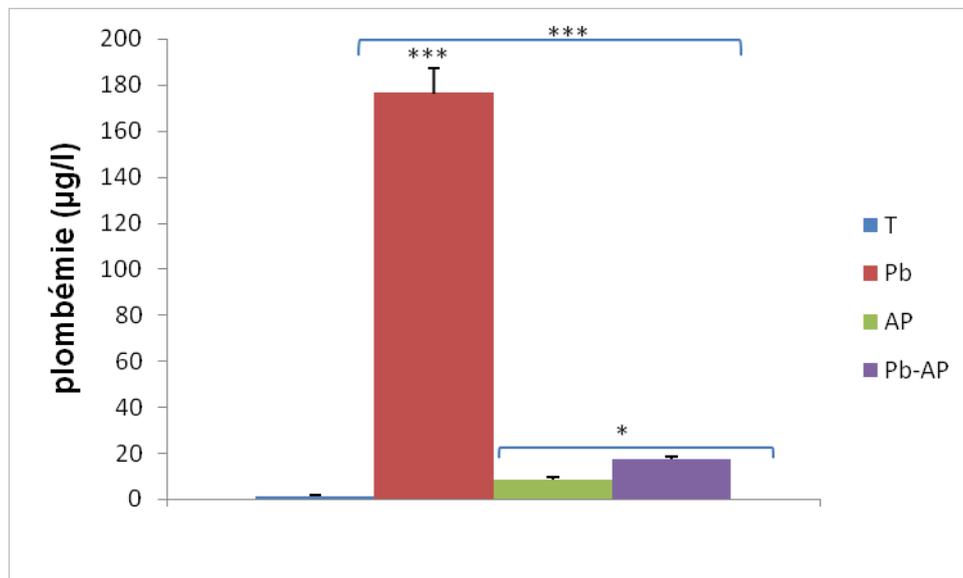


Figure.33: La comparaison de la plombémie chez les rats témoins (T), rats intoxiqué(Pb), rats témoins traités (AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb : (***: $p < 0.001$); Pb vs Pb-AP (***: $p < 0,001$); AP vs Pb (*: $p < 0,05$).

3.2 Dosage du plomb dans le cerveau:

Au niveau cérébral, nous avons enregistré un taux de plomb de l'ordre de $128,35 \pm 6,25$ $\mu\text{g/g}$ chez les rats intoxiqués par le Pb pendant la période de gestation et lactation. De ce fait, la concentration du plomb cérébral est significativement supérieure ($p < 0,001$) chez les rats intoxiqués comparés aux rats témoins, ce qui signifie que le plomb passe à travers la barrière hématoencéphalique et agit au niveau du cerveau.

Dans le traitement préventif, la concentration cérébrale du Pb est de $14,95 \pm 3,65$ $\mu\text{g/g}$, donc il est significativement inférieur ($p < 0,001$) par rapport au lot intoxiqué non traité, ce qui signifie que l'acide phytyque peut réduire le taux du Pb cérébral (**Fig.34**).

Pour le traitement curatif, on a enregistré une diminution du taux de Pb cérébral ($34,3 \pm 4,2$) qui est significativement inférieur ($p < 0,01$) à celui du groupe intoxiqué. On n'a noté que la valeur de la teneur du Pb au niveau cérébral chez le lot curatif est supérieur par rapport à celle du lot témoin traité ($p < 0,05$) (**Fig.35**).

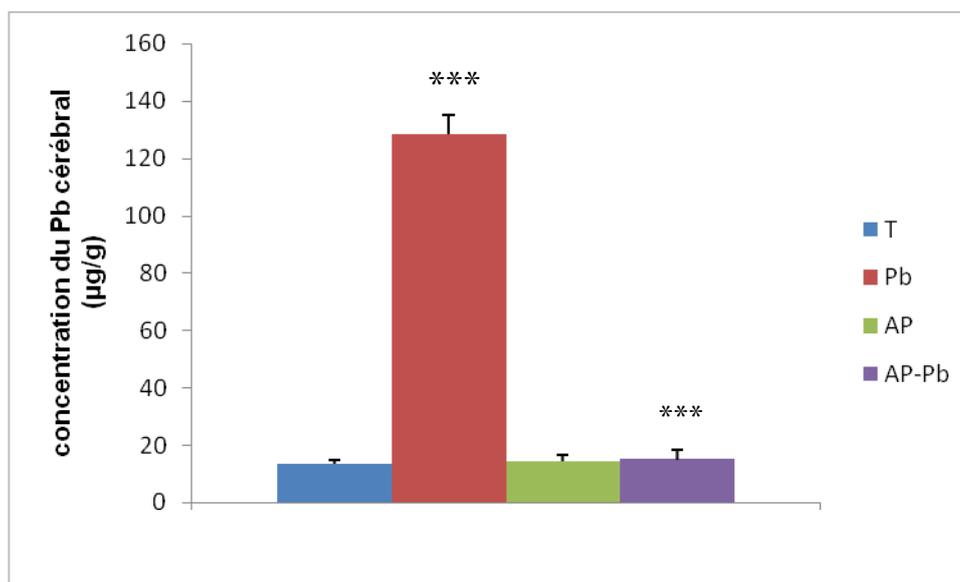


Figure.34: La comparaison de la concentration du plomb dans le cerveau entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb: (***: $p < 0,001$); Pb vs AP-Pb: (*** : $p < 0,001$).

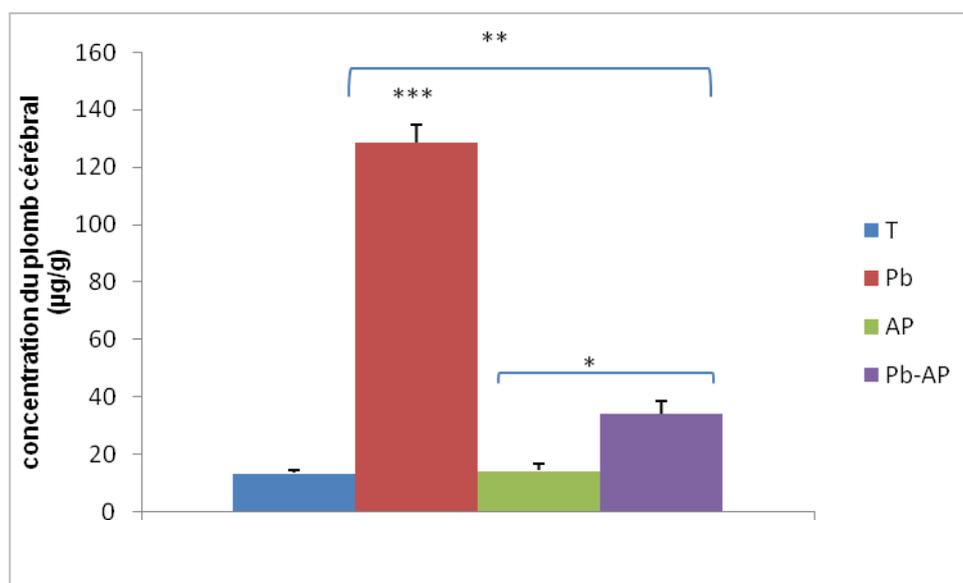


Figure.35 : La comparaison de la concentration du plomb dans le cerveau entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb :(***: $p<0.001$) ; Pb vs Pb-AP: (**: $p<0,01$) et AP vs Pb-AP: (* : $p<0,05$).

4. Evaluation des paramètres hématologiques:

La détermination des paramètres hématologiques (FNS) chez les rats intoxiqués par le Pb après 42 jours d'expérimentation a révélé une baisse significative ($p<0,01$) des globules rouges, hémocrite, hémoglobine et une augmentation non significative dans la teneur des plaquettes et les globules blanc comparée à celle des rats témoins. Ce qui indique que le Pb a provoqué une anémie et une hémolyse chez les rats intoxiqués.

4.1 Lot préventif :

Les rats traités préventivement par l'acide phytique puis exposés au Pb présentent une élévation significative ($p<0,01$) des globules rouges, hémocrite, hémoglobine (GR, HTC et HGB) et une réduction non significative des GB et PLT par rapports aux rats intoxiqués (**Tab.05**).

4.2 Lot curatif :

Les animaux intoxiqués par le Pb puis traités par l'AP, présentent les mêmes résultats les rats traités préventivement par l'acide phytique. On observe une augmentation significative ($p<0,01$) de GR, HGB, et HTC chez les rats intoxiqués traités par rapport aux rats intoxiqués (**Tab.05**).

Concernant les GB et les PLT (**Tab.05**), il existe une diminution non significative chez le groupe curatif comparé au groupe Pb.

Tableau.05: Evaluation des paramètres hématologiques chez les différents groupes testés.

| | Témoin | Pb | PA | PA-Pb | Pb-AP |
|-----|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
| GR | 6,87±0,19 | 5,11±0,16** | 6,76±0,16 | 6,07±0,26** | 5,80±0,29** |
| HGR | 120,71±2,87 | 108,71±1,94** | 120,57±1,88 | 115,28±2,30** | 115,71±1,06 |
| HTC | 35,07± 0,74 | 26,7±1,15** | 34,01±0,56 | 30,6±0,79** | 31,27±0,85** |
| GB | 6,18±0,24 | 6,88±0,24 | 6,07±0,31 | 6,57±0,34 | 6,57±0,25 |
| PLT | 407,14±25,97 | 440,42±21,81 | 407,71±23,59 | 418,14±10,91 | 419,42±9,16 |

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***: $p<0.001$; **: $p<0.01$).

A partir de ces analyses, on observe une diminution non négligeable des GR chez les rats intoxiqués. En revanche, L'AP joue un rôle de protection et de réparation des GR. Pour confirmer ces résultats, nous avons procédé à la détermination des concentrations des ions principalement Na^+ , K^+ et Cl^- chez les différents lots, sachant que les ions sont de bons marqueurs de l'hémolyse. Les résultats montrent une élévation significative du taux de sodium, potassium et chlore ($p<0.05$, $p<0.01$ et $p<0,05$ respectivement) chez le lot intoxiqué par rapport au lot témoin. Par contre une diminution significative du taux de sodium, potassium et chlore a été enregistrée chez les groupes préventif et curatif comparée au groupe intoxiqué ($p<0.05$, $p<0.01$ et $p<0.05$ respectivement) (**Tab.06**).

L'analyse du sérum montre une diminution hautement significative ($P<0.001$) de la calcémie chez les rats exposés au Pb par rapport aux rats témoins. Ces résultats indiquent bien l'effet compétiteur du Pb sur les autres oligo-éléments (particulièrement le calcium) indispensable au bon fonctionnement de l'organisme. Tandis qu'on remarque que chez le groupe recevant de l'AP préventivement, le taux du calcium sanguin est significativement haut ($p<0.001$) par rapport au groupe intoxiqué, ce qui peut être expliqué par le rôle de l'acide phytique dans la régulation de l'homéostasie du calcium (**Tab.06**).

Le taux de la calcémie chez le groupe curatif est significativement supérieur ($p<0,01$) par

rapport au groupe intoxiqué. Par contre, il est significativement inférieur ($p < 0,05$) comparé au groupe témoin traité (AP) (**Tab.06**).

Cependant, les données enregistrées montrent une diminution non significative du taux de magnésium sanguin chez les rats intoxiqués par rapport aux rats témoins et une augmentation non significative chez les rats traités préventivement et curativement par AP par rapport aux rats intoxiqués (**Tab.06**).

Tableau.06 : Les électrolytes du sang chez les différents groupes testés.

| | Témoin | Pb | PA | PA-Pb | Pb-AP |
|--------------------------|-------------|---------------|-------------|----------------|----------------|
| Sodium (mEq/l) | 122,37±2,61 | 129,08±2,14* | 123,48±0,84 | 124,85±1,10* | 125,85±1,33* |
| Potassium (mEq/l) | 6,16±0,28 | 8,01±0,25** | 6,42±0,11 | 6,65±0,13** | 6,83±0,30** |
| Cl ⁻ (mEq/l) | 106,32±0,36 | 111,97±2,39* | 106,88±0,89 | 105,77±0,71* | 107,1±1,58* |
| Mg ⁺² (mEq/l) | 24,16±0,94 | 20,23±2,19 | 24,81±1,11 | 22,9±1,19 | 23,52±1,28 |
| Ca ⁺² (mg/l) | 118,50±2,59 | 90,19±3,32*** | 109,93±1,96 | 103,43±1,91*** | 101,67±1,93 ** |

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$; * $p < 0,05$).

5. Dosage biochimique:

5.1 Evaluation lipidique :

L'analyse des marqueurs de la fonction lipidique, indique qu'au niveau sérique, l'activité du cholestérol et triglycérides sont significativement plus élevées ($p < 0,01$) chez les rats intoxiqués comparés aux rats témoins. Le traitement préventif par l'AP a permis d'observer une diminution significative dans le cholestérol total et triglycérides comparés aux rats intoxiqués (**Fig.36**). De même, le traitement curatif a réduit significativement les teneurs du cholestérol total et triglycérides chez les rats intoxiqués traités comparés aux rats intoxiqués (**Fig.37**).

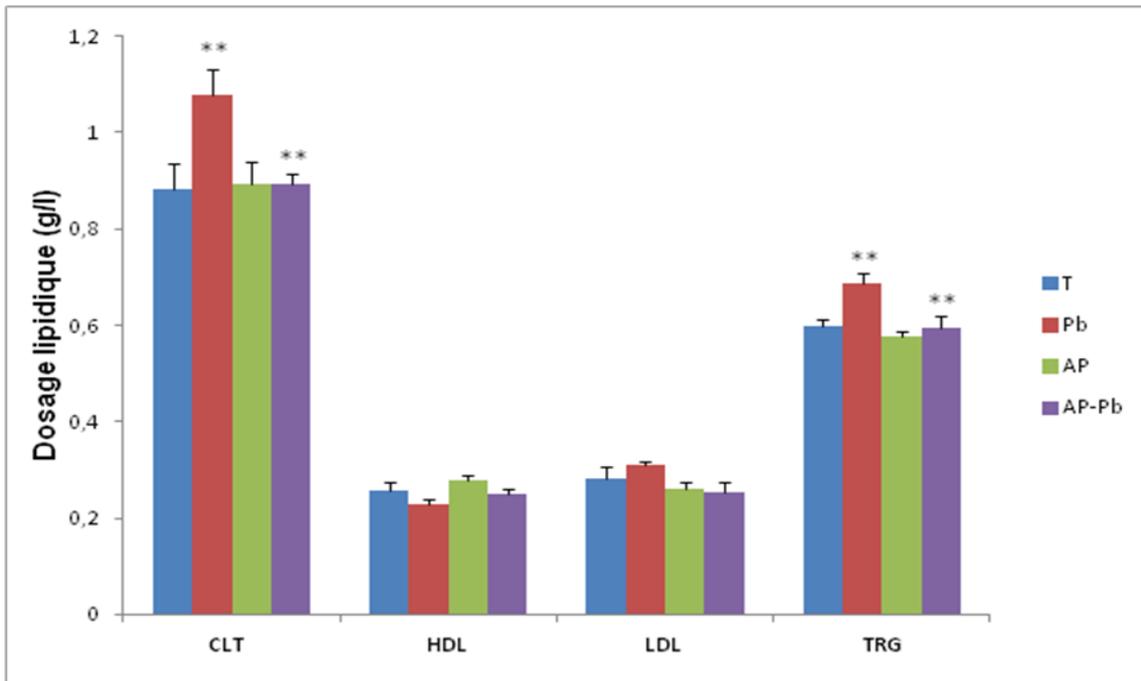


Figure.36: La comparaison du dosage lipidique entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb: (**: $p < 0.01$) ; Pb vs AP-Pb: (**: $p < 0.01$).

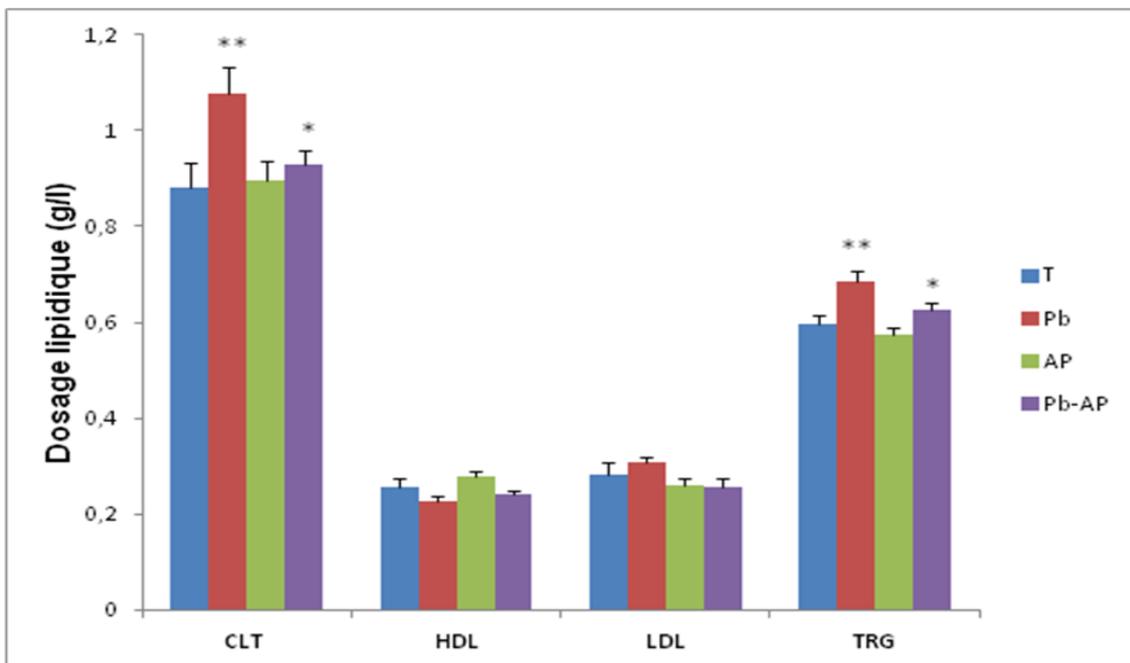


Figure.37: La comparaison du dosage lipidique entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités (AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb: (**: $p < 0.01$) ; Pb vs Pb-AP: (*: $p < 0.05$).

5.2 Evaluation de la fonction rénale:

5.2.1 Dosage de l'urémie :

Les données obtenues montrent une urémie significativement élevée chez les rats exposés. Ces résultats montrent bien que le Pb peut provoquer un dysfonctionnement rénal, en agissant sur la filtration glomérulaire en induisant des troubles au niveau de la concentration de l'urée dans le sang.

Les résultats du lot préventif montrent une réduction significative ($p < 0,01$) de l'urémie par rapport à celle du lot intoxiqué (**Fig.38**).

Pour le groupe curatif (Pb-AP), le taux de l'urée sanguin est significativement important ($p < 0,05$) comparé à celui du groupe intoxiqué (**Fig.39**).

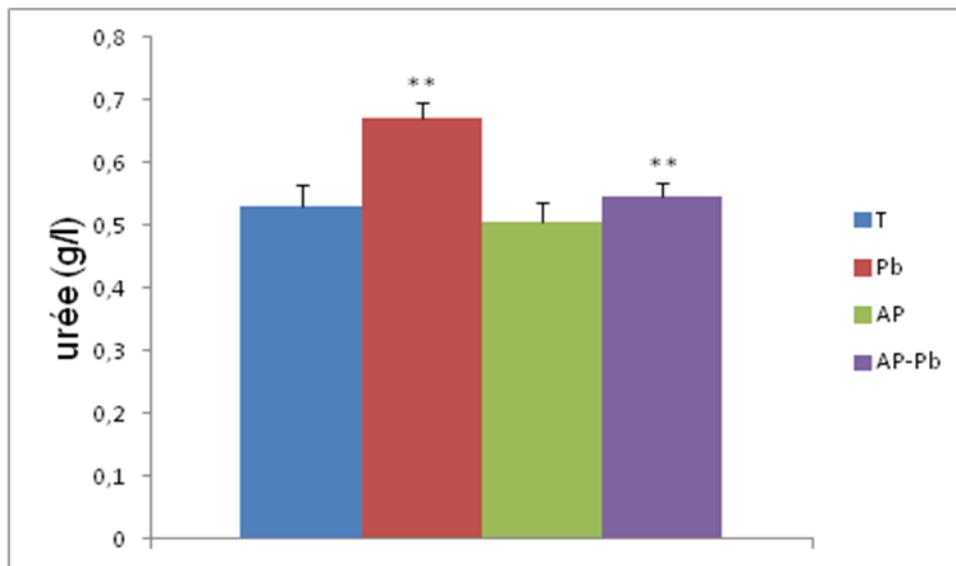


Figure.38 : La comparaison de l'urémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqué (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb :(**: $p < 0.01$); Pb vs AP-Pb: (** : $p < 0,01$).

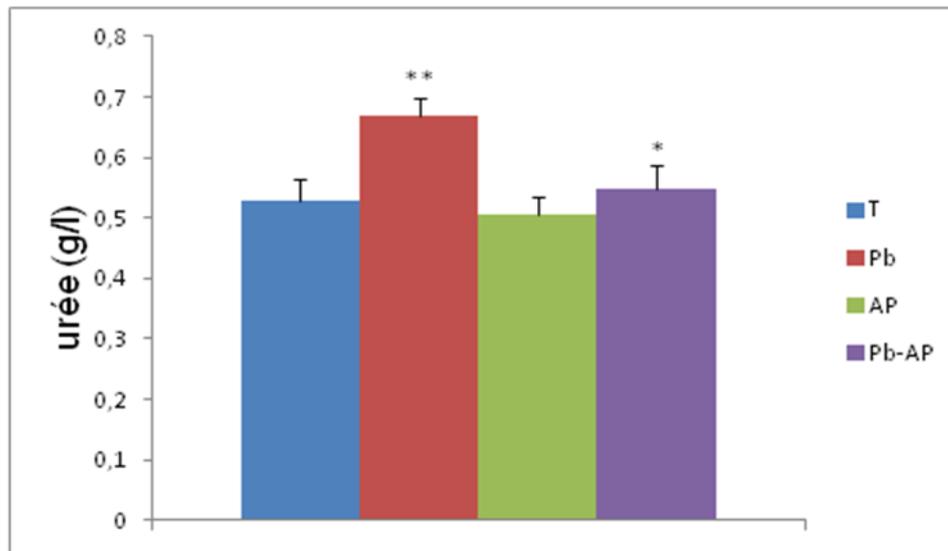


Figure.39: La comparaison de l'urémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb :(**: $p < 0.01$) ; Pb vs Pb-AP: (** : $p < 0,05$).

5.2.2 Dosage de la créatinine:

La créatinine présente des valeurs significativement élevées chez les rats exposés au Pb comparativement avec celles des rats témoins. Cependant, chez les animaux traités par l'AP puis intoxiqués par le Pb présentent une diminution hautement significative ($p < 0,001$) de la créatinine par rapport aux intoxiqués (**Fig.40**).

Le lot curatif montrent un taux de créatinémie significativement inférieur ($p < 0,01$) à celui du lot intoxiqué non traités. D'autre part, on observe une élévation significative de la concentration de la créatinine chez le lot curatif par rapport au lot témoins traités par l'AP ($p < 0,01$) (**Fig.41**).

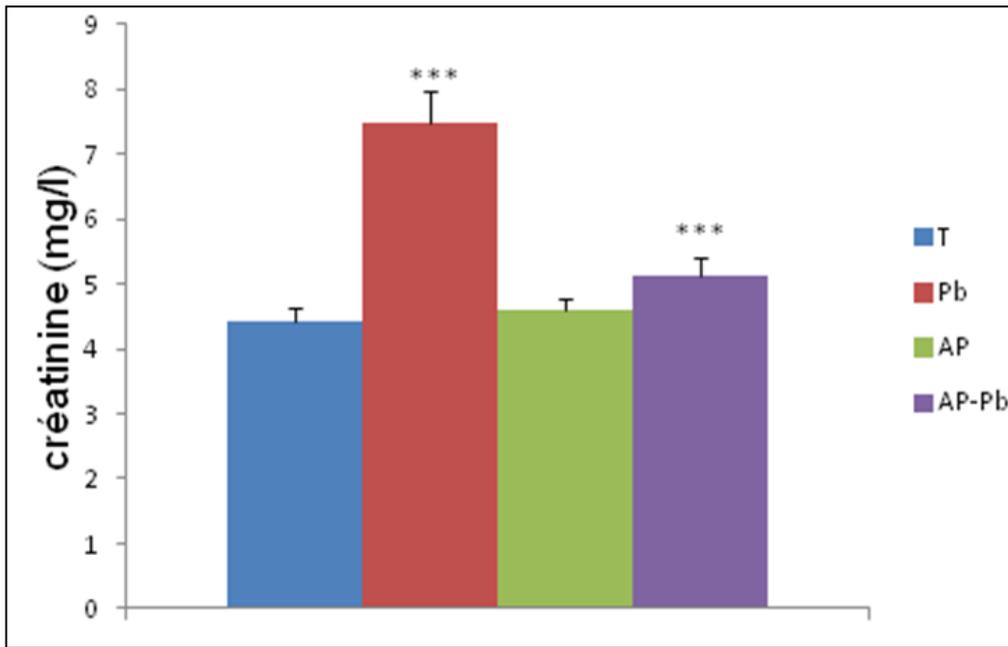


Figure.40: la comparaison de la créatinémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb :(***: $p < 0.001$) ; Pb vs Aph-Pb (***: $p < 0,001$).

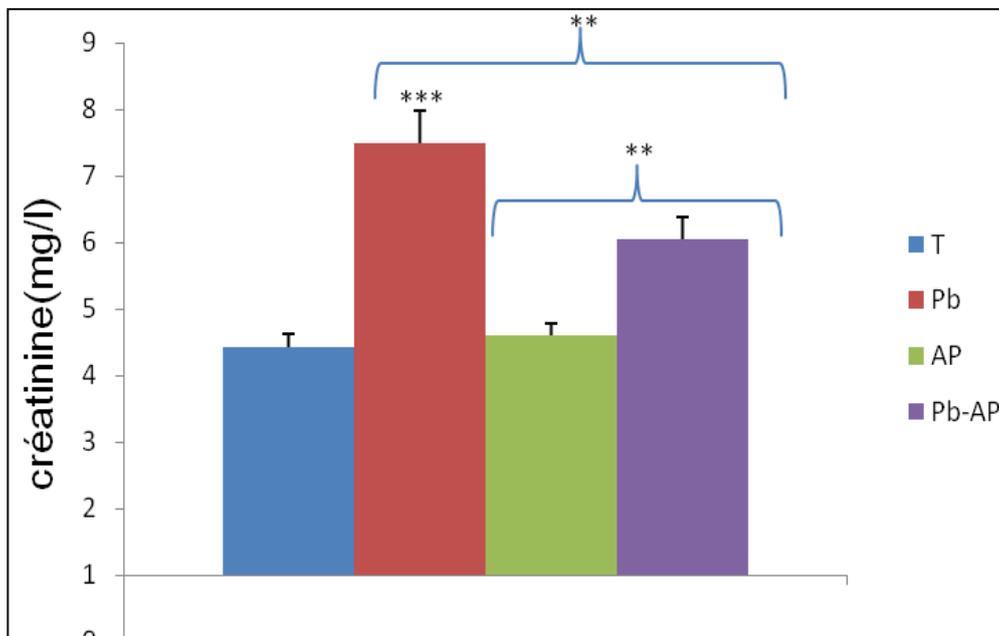


Figure.41: la comparaison de la créatinémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb :(***: $p < 0.001$) ; Pb vs Pb-AP (**: $p < 0,01$) ; AP vs Pb-AP (**: $p < 0,01$).

5.2.3 Dosage de l'acide urique :

L'analyse du taux de l'acide urique sanguin chez les rats intoxiqués présente une augmentation significative ($p < 0,05$) par rapports a celui des rats témoins. D'autre part, il existe une diminution non significative de l'uricémie chez le groupe préventif comparé groupe exposé au Pb ($p > 0,05$) (**Fig.42**). Le même résultat à été observé chez les rats traités curativement par AP par rapport aux rats intoxiqués (**Fig.43**).

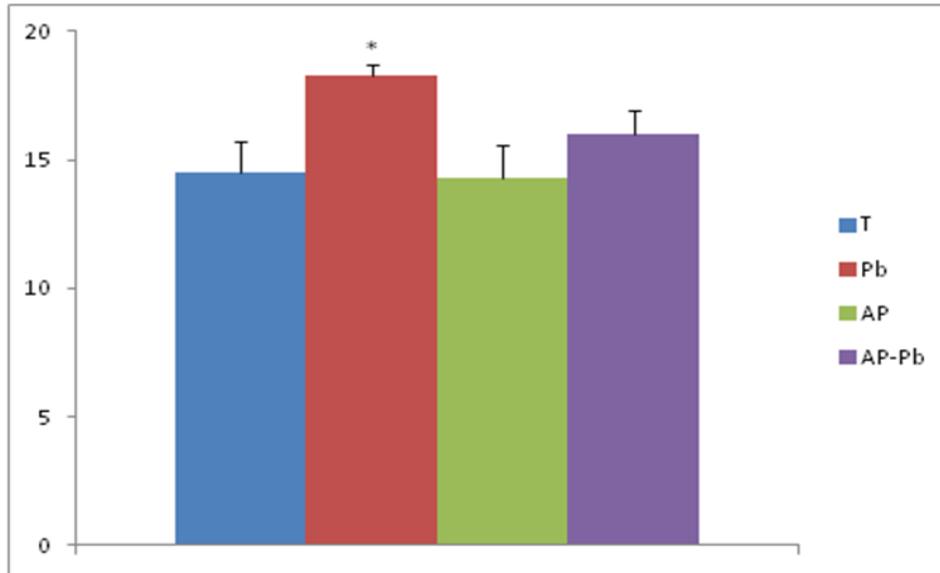


Figure.42: la comparaison de l'uricémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb :(*: $p < 0.05$).

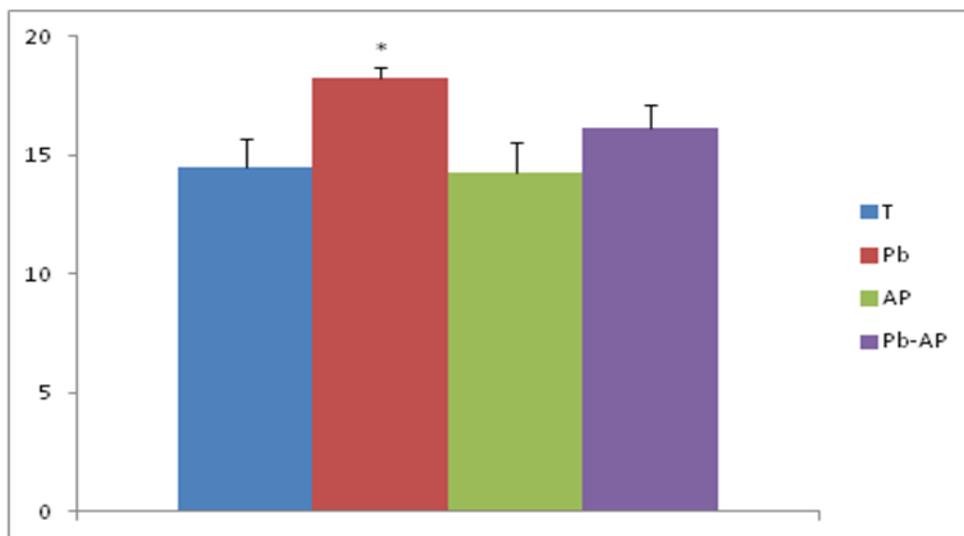


Figure.43: la comparaison de l'uricémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb :(*: $p < 0.05$).

5.3 Evaluation de la fonction hépatique :

5.3.1 Dosage des transaminases ASAT et ALAT:

L'analyse des marqueurs de la fonction hépatique indique que le niveau sérique de l'activité de ASAT et ALAT est significativement plus élevé ($p < 0.001$) chez les rats intoxiqués au Pb comparé aux rats témoins. Ce qui reflète que l'exposition au Pb provoque une atteinte hépatique. Cependant le traitement par l'AP permet d'observer une réduction significative ($p < 0.001$) dans le taux des transaminases (ASAT et ALAT) chez les rats traités intoxiqués (Fig.44, 45), même chez les rats intoxiqués traités par rapport à celui des rats intoxiqués (Fig.46, 47).

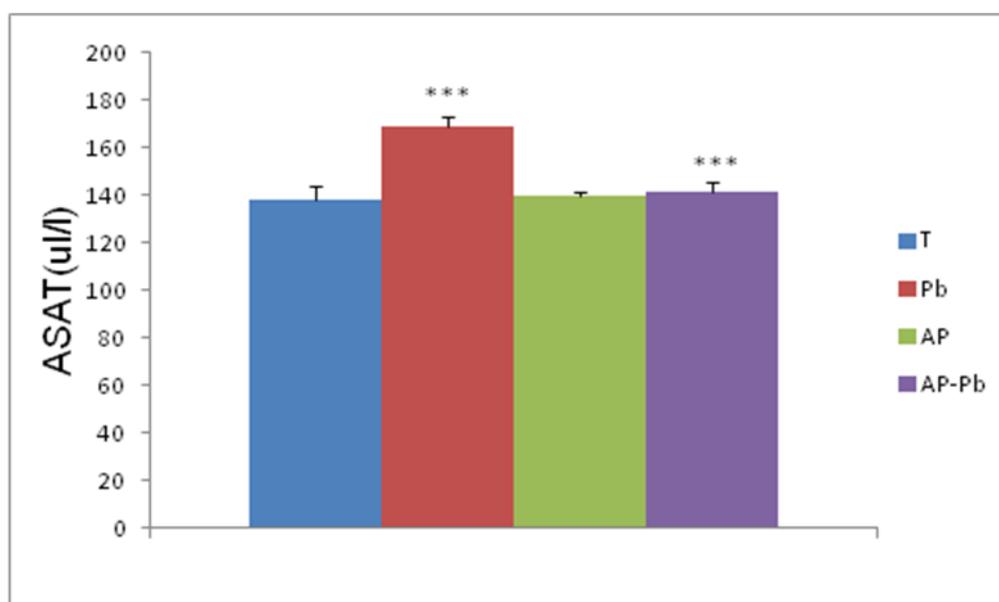


Figure.44: La comparaison de la concentration de l'ASAT entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb :(***: $p < 0.001$); Pb vs AP-Pb : (***: $p < 0,001$)

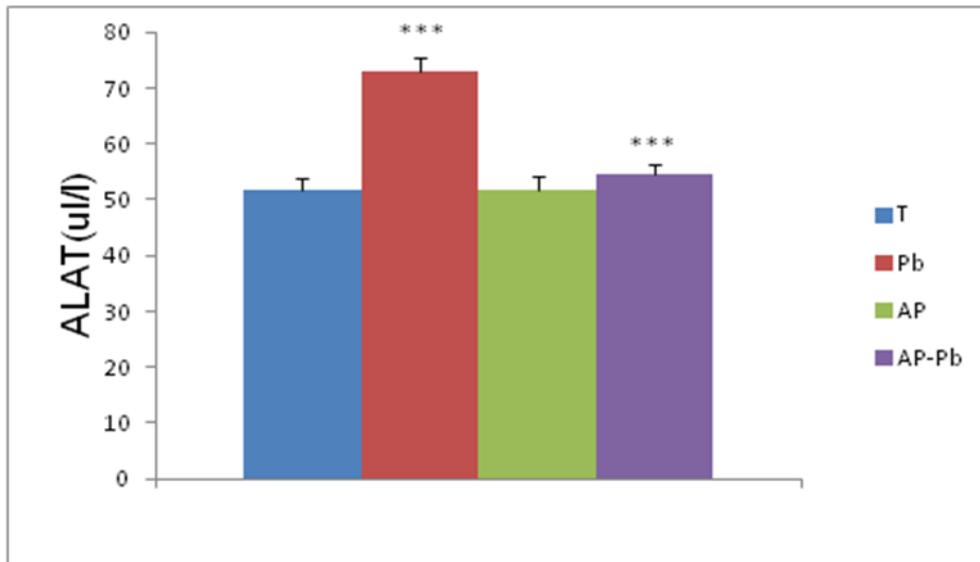


Figure.45: La comparaison de la concentration de l'ALAT entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb: (***: $p < 0.001$); Pb vs AP-Pb: (***: $p < 0,001$)

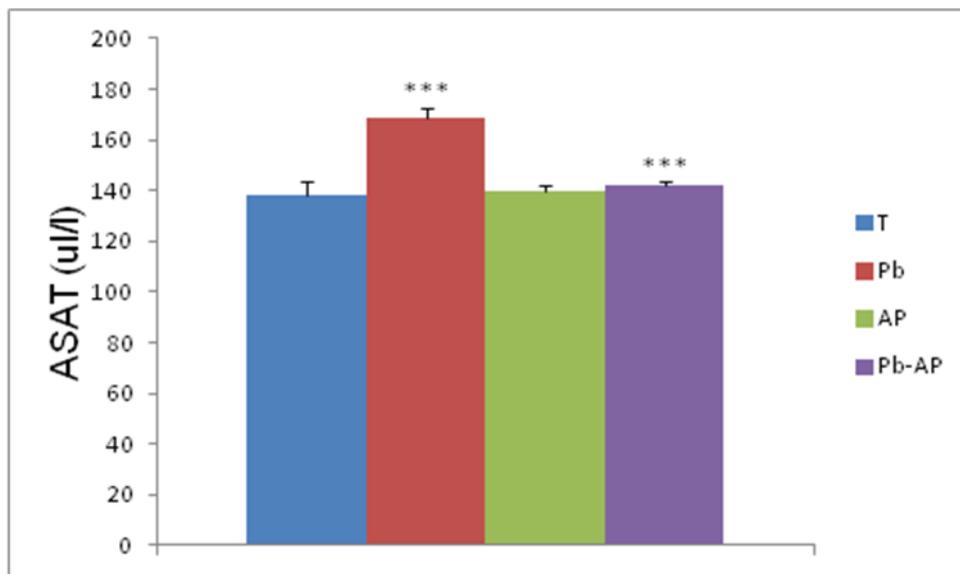


Figure.46: La comparaison de la concentration de l'ASAT entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb :(***: $p < 0.001$) ; Pb vs Pb-AP : (***: $p < 0,001$)

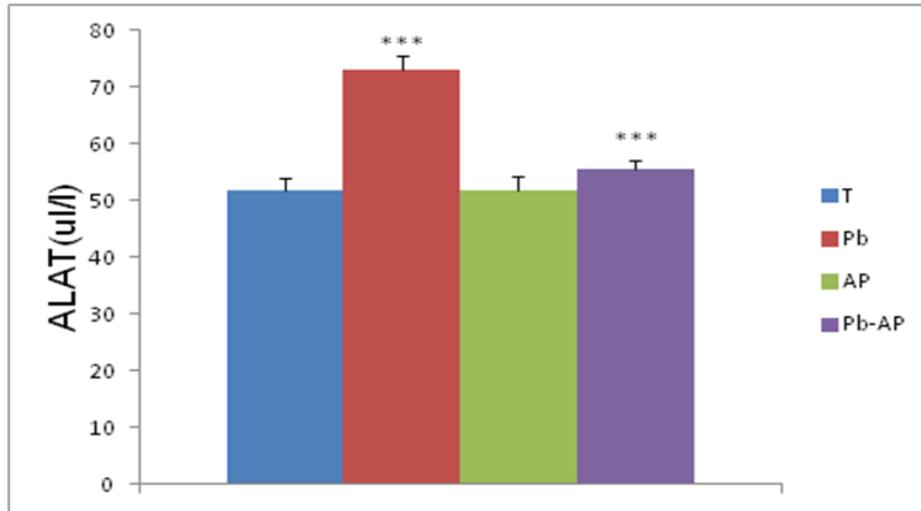


Figure.47: La comparaison de la concentration de l'ALAT entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb :(***: $p<0,001$); Pb vs Pb-AP : (***: $p<0,001$).

5.3.2 Dosage de phosphatase alcalin (PAL):

L'intoxication par l'acétate de plomb induit une élévation significative ($p<0,01$) du taux de PAL chez les rats intoxiqués par rapports aux témoins. Toutefois, une baisse significative ($p<0,01$) chez les rats traités préventivement par l'AP par rapport aux rats intoxiqués (Fig.48). La concentration sérique de la PAL chez les rats traités et préalablement intoxiqués présentent une diminution significative ($p<0,05$) comparés aux rats intoxiqués par le Pb (**Fig.49**).

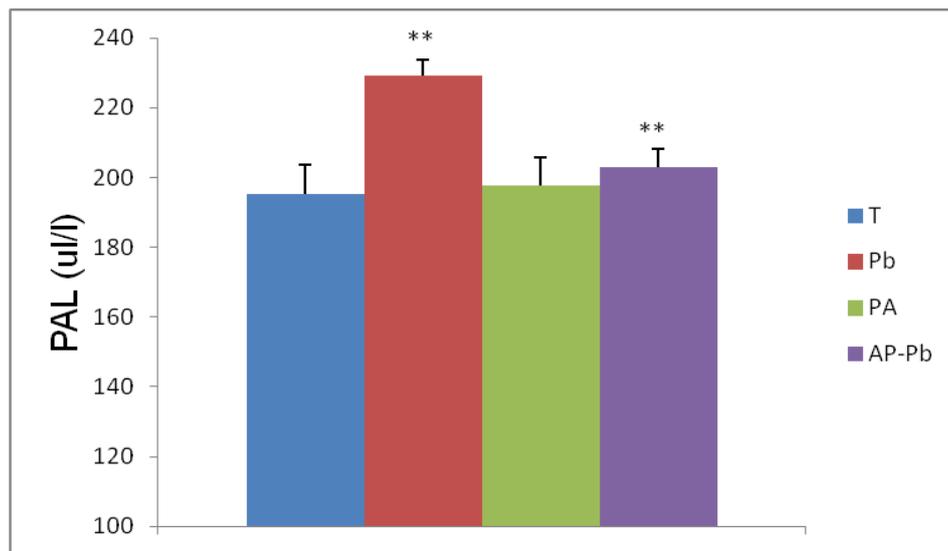


Figure.48: La comparaison de la concentration du PAL entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats traités intoxiqués (AP-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb :(**: $p<0,01$); Pb vs AP-Pb : (**: $p<0,01$).

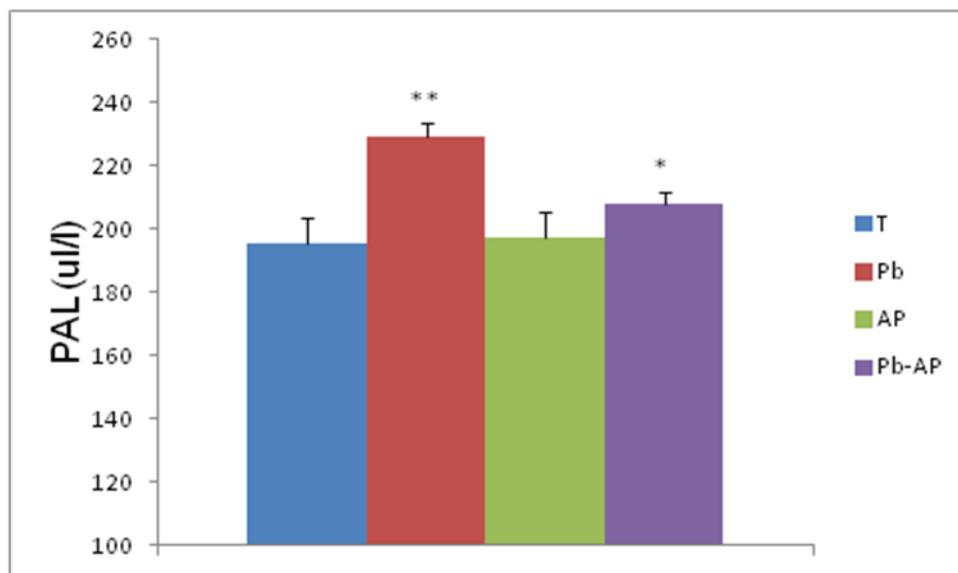


Figure.49: La comparaison de la concentration du PAL entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(AP) et les rats intoxiqués traités (Pb-AP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Pb: (**: $p < 0.01$); Pb vs Pb-AP: (*: $p < 0,05$).

5.3.3 Dosage de la bilirubine, l'albumine, fer sérique et du LDH:

Les résultats des autres paramètres biochimiques (Albumine, fer sérique, LDH, bilirubine totale) sont illustrés dans le tableau 07.

Les résultats concernant le dosage de l'albumine montre qu'il y a une diminution significative ($p < 0,001$) chez les rats intoxiqués par rapport aux rats témoins. Cette hypoalbuminémie reflète un dysfonctionnement hépatique.

De plus, les données enregistrées montrent que le plomb induit chez les animaux exposés au Pb durant la période de gestation et la lactation une baisse significative ($P < 0,001$) du taux du fer sérique par rapport aux témoins.

L'analyse statistique révèle que la teneur en LDH et en bilirubine totale est significativement supérieure ($P < 0,01$) chez les rats intoxiqués au Pb comparée aux témoins (**Tab.07**).

Par ailleurs, l'administration de l'AP soit curativement ou préventivement ont montré une augmentation significative ($P < 0,01$) des paramètres biochimiques (Albumine, fer total) et une réduction significative du LDH et bilirubine totale ($p < 0,05$; $P < 0,01$) comparés aux rats intoxiqués (**Tab.07**).

Tableau.07 : Effet du plomb et AP sur le taux de bilirubine, albumine, fer sérique et LDH.

| | Témoin | Pb | PA | AP-Pb | Pb-AP |
|---------------------|--------------|-----------------|---------------|----------------|----------------|
| Bilirubine | 3,15±0,16 | 3,98±0,09*** | 3,04±0,14 | 3,29±0,17*** | 3,33±0,07*** |
| albumine | 41,83±1,22 | 28,48±0,67*** | 39,32±1,47 | 36,47±0,72*** | 34,14± 1,11** |
| Fer serique (µg/dl) | 465,78±12,09 | 370,58±14,94*** | 457,43±12,02 | 444,75±6,28*** | 436,91±13,52** |
| LDH(UI/l) | 493,57±15,37 | 562,57±12,15** | 496,28±11,26* | 501,28±13,17* | 518±14,97* |

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (***: p<0.001; **: p<0.01; *p<0.05).

6. Etude histologique :

6.1 Effet du Plomb et AP sur l'histologie du foie :

Les coupes histologiques du foie des rats intoxiqués par le plomb montrent une nécrose et le parenchyme hépatique siège d'un gonflement avec une diminution de nombre des hépatocytes (**Fig.50, A et C**) par rapport du foie des rats témoins.

Par ailleurs, l'étude histopathologique des échantillons hépatiques des rats exposés au Pb et préalablement traités par l'AP a montré des signes de régénérations: hépatocytes de grande taille binucléés au cytoplasme granuleux (**Fig.50, D**).

Toutefois, le groupe curatif a révélé un parenchyme hépatique sans particularité histologique. De plus, aucune nécrose ni de lésions épithéliale n'est observé (**Fig.50, E**).

La figure (**Fig.50, B**) a permis d'observer au niveau des tissus hépatiques, prélevés des rats traités uniquement avec de l'AP des agencements cellulaires normaux ou une architecture cellulaire bien préservées, ainsi que des hépatocytes avec un cytoplasme bien préservé et un important noyau. De même, il n'a été observé aucune lésion tissulaire ni de foyers inflammatoires.

6.2 Effet du Plomb et AP sur l'histologie du cerveau :

L'étude histologique sur le cerveau a montré un parenchyme cérébral normal, sans particularité histologique chez les différents lots testés (**Fig.51**).

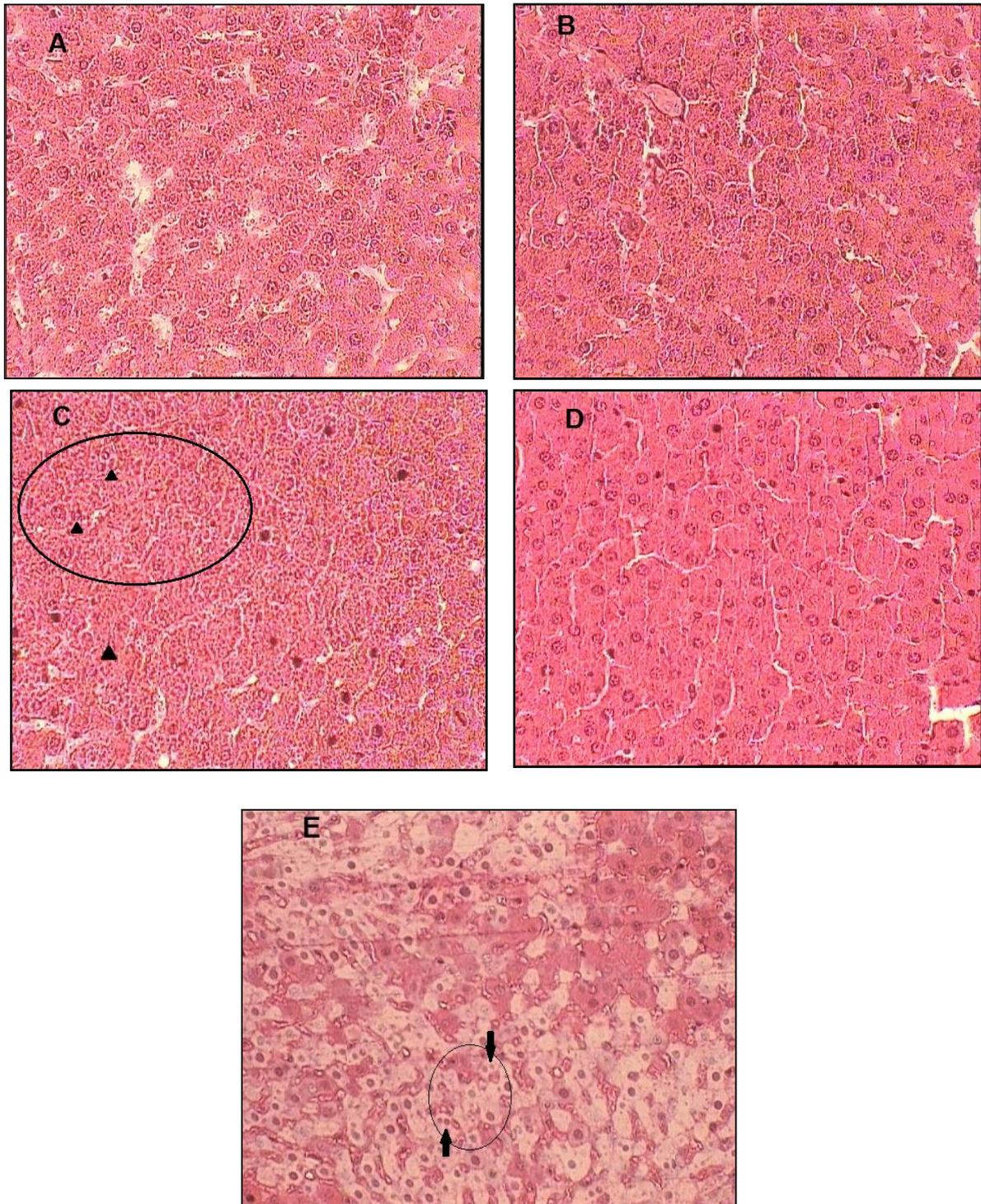


Figure.50: la microscopie optique de tissu hépatique G:(x 40). (A) : une coupe hépatique des rats témoins est apparue avec l'architecture normale. (B) : section de foie normal des rats témoins traités (C) : les rats exposés au Pb montré une nécrose hépatique (**flèche noire**) (D) : parenchyme hépatique normal des rats traités intoxiqués. (E) : les rats exposés au Pb puis traités avec l'AP montré une régénération hépatocytaires (**flèche noire**).

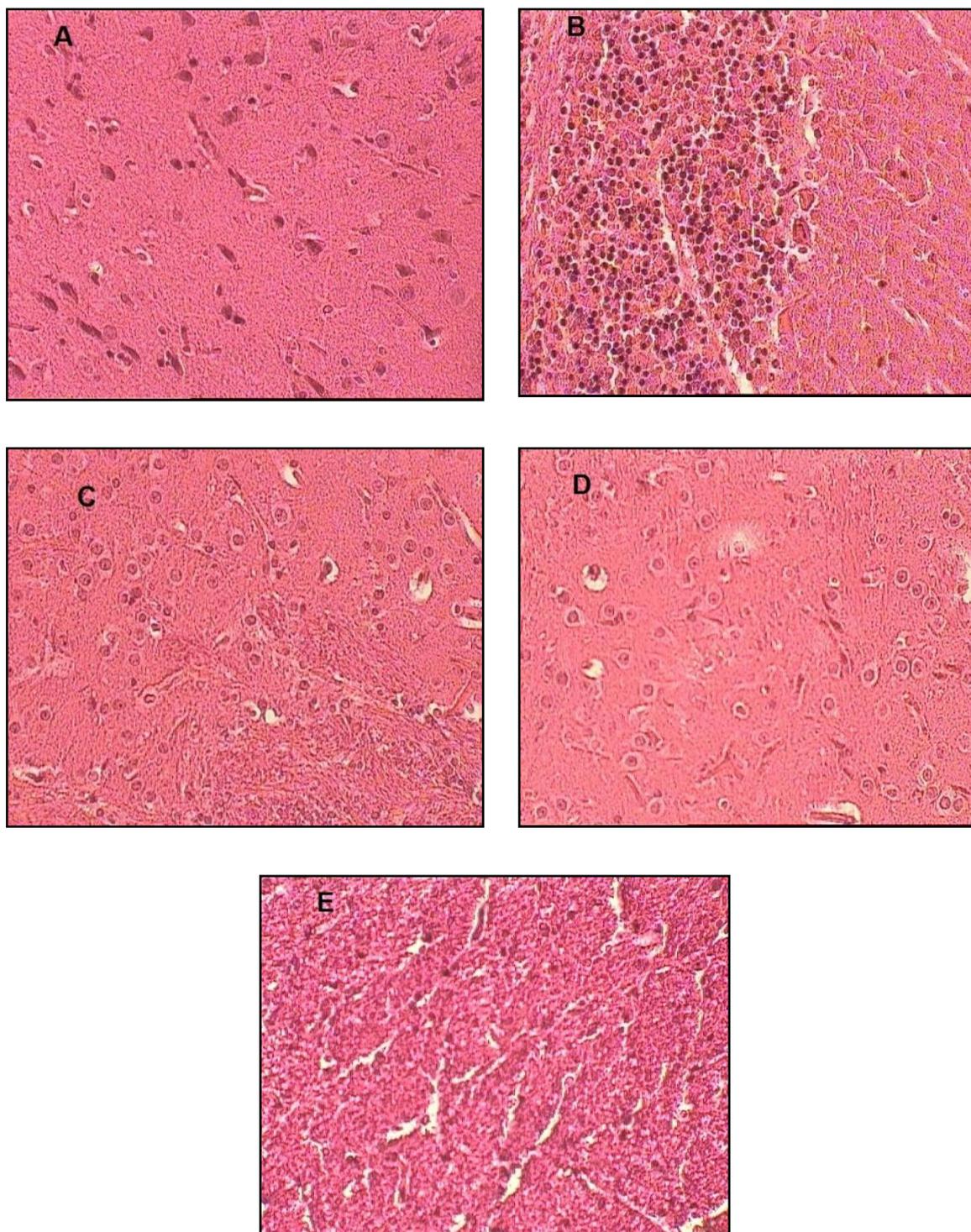


Figure. 51: La microscopie optique de parenchyme cérébral G (x40). (A): les rats témoins, (B): les rats témoins traités(AP), (C): les rats intoxiqués(Pb) (D): les rats taités intoxiqués (AP-Pb) (E): les rats intoxiqués traités (Pb-AP).

Discussion

Discussion:

L'exposition chronique au plomb conduit à son accumulation dans les organismes où dénué de toute fonction physiologique, il exerce uniquement des effets toxiques qui constituent une menace permanente pour la santé des populations. Il modifie le fonctionnement cellulaire en perturbant de nombreuses voies métaboliques et différents processus physiologiques (**Liu et al., 2008**).

La détoxification par un chélateur semble être efficace et peut éliminer de manière préférentielle le plomb des os et des tissus mous. Ces agents chimiques tel que l'EDTA doit absolument être évité, non seulement, il chélate des éléments essentiels comme le Ca^{+2} et le Mg^{+2} , mais le complexe qu'il forme avec le mercure est toxique. Cependant une nouvelle approche thérapeutique contre l'intoxication aux métaux lourds est basée sur l'utilisation d'agent naturel à pouvoir chélateur important.

L'objectif de la recherche d'aujourd'hui est de mettre en relief les questions liées aux chélateurs naturels. Outre l'intérêt de la provenance naturelle de ces substances, une attention particulière sera portée sur leur identification, leurs mécanismes d'actions et leurs activités biologiques. L'acide phytique (AP) est une substance présente dans de nombreux types d'aliments d'origine végétale. L'AP a un effet antiagrégant plaquettaire et réduit le cholestérol sérique et les triglycérides, suggérant un rôle potentiel dans les maladies cardiovasculaires, modulation de la sécrétion d'insuline dans les cellules bêta du pancréas et inhibition de la cristallisation de l'oxalate de calcium urinaire empêchant ainsi le développement de calcul rénal (**Vucenik et al., 1999** et **Grases et al., 2000**).

Notre étude consiste à évaluer d'une part, les effets pathologiques induits par le plomb selon différentes approches: neurocomportementales, biochimiques et histologiques. D'autre part, tester l'efficacité de l'acide phytique vis-à-vis l'intoxication chronique à l'acétate du plomb chez les rats Wistar en période de développement.

1. Effet du Pb et l'AP sur la croissance pondérale:

Les résultats obtenus après l'exposition à l'acétate de plomb ont montré une nette diminution dans le gain du poids chez les rats exposés au plomb comparés aux témoins. Nous avons observé également une réduction dans le poids relatif des organes étudiés (foie et cerveau), ce

qui est justifiée par la perturbation dans leurs fonctionnements. Ces résultats montrent bien que le plomb induit un effet anorexigène par une action directe sur les centres nerveux responsable de la régulation de la satiété et de la faim. Nos données sont en accord avec les travaux entrepris par différents auteurs qui ont observé une réduction dans la consommation de la nourriture chez les rats intoxiqués au plomb (**Antonio et al., 2003; Smith et al., 2008**).

Par conséquent, l'administration préventive et curative de l'acide phytique était protectrice contre la perte du poids résultant de l'addition du Pb, ceci comparé aux rats exposés au plomb et non traités. Ce regain de poids enregistré pourrait être dû à l'effet de l'acide phytique sur la microflore intestinale en stimulant l'absorption des nutriments et régulier l'élimination fécale (**Sekita et al., 2016**). Nos observations sont aussi en accord avec ceux de **Daley et al., 2013; Norazalina et al., 2010** qui ont indiqué que l'acide phytique permis d'enregistrer un regain de poids chez les rats intoxiqués.

2. Effets du Plomb et l'acide phytique sur le comportement cognitif :

Plusieurs paramètres neurocomportementales ont été évalués y compris: l'activité locomotrice, le niveau d'anxiété, dépression, les capacités d'apprentissage et de mémorisation.

Concernant le test du compartiment obscurité / lumière (dark and light test) qui est utilisé pour déterminer l'état de stress chez les rats, sachant que ces derniers ont généralement horreur des endroits très éclairés. Ainsi, plus l'animal est anxieux, plus son exploration se réduira au compartiment sombre (**Langen et al., 2005**). En effet, nous avons noté que le temps de séjour des rats issus de femelles exposées au plomb pendant la gestation et la lactation dans le compartiment lumineux est plus important que celui des rats témoins. Nos résultats sont en accord avec **Kahloula et al., 2009**. Ce qui confirme que l'administration du Pb à une dose de 0,2% durant la période prénatale engendre un effet anxieux. L'élaboration de l'état anxieux correspond à des perturbations qui sont associées au système dopaminergique et cholinergique (**Bear et al., 2007**) et pourraient être traduit par une interaction du Pb avec les neurones sérotoninergiques et dopaminergiques de l'hippocampe (**Leret et al., 2003**). Etant donné que tout comportement dépend d'une commande cérébrale, les désordres comportementaux observés chez l'animal anxieux orientent la réflexion vers l'existence d'un dysfonctionnement dans la circulation ou le traitement de l'information au sein du système nerveux central (**Slimani et al., 1997**).

Le test de la nage forcée (Forced Swimming Test: FST) a permis d'observer un temps d'immobilité (TIM) significativement élevé chez le groupe intoxiqué au Pb par rapport à celui du groupe témoin. Ces résultats prouvent bien que l'exposition au Pb entraîne un état de désespoir chez l'animal intoxiqué qui se manifeste par une réduction dans la nage et l'installation d'un état de désespoir. Ces observations s'accordent avec d'autres chercheurs (**Leret et al., 2003; Soeiro et al., 2007; kahloula et al., 2009**). Le stress métallique répété altère les capacités plastiques de l'hippocampe et une carence en BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor), un facteur permettant la survie et la croissance neuronale (**Maletic et al., 2007**).

Afin de justifier ces données expérimentales, nous avons procédé à un dosage de glucose qui est un bon indicateur de stress. Une élévation significative de la glycémie a été enregistrée chez les rats exposés au Pb par rapport à celle des rats témoins, ceci est dû à l'inhibition de la plupart des enzymes glycolytiques et ceux intervenants dans le cycle de Krebs comme l'hexose kinase, pyruvate kinase et aussi suite au stress oxydatif et l'inflammation des tissus qui s'ensuit pourraient être responsable de cette hyperglycémie (**Mastrocola et al., 2005; Somfai et al., 2006**).

De même, l'exposition à l'acétate de plomb pendant une durée de 6 semaines avec une dose de 0,2% a provoqué une diminution significative dans l'activité locomotrice chez les rats exposés aux Pb. Ce comportement engendré par une altération de l'activité dopaminergique associé à une perte des récepteurs post-synaptique dans le corps strié, conduisant à une déplétion des neurones dopaminergiques dans la substance noire qui a pour conséquent une atteinte dans la structure des récepteurs au niveau des noyaux caudés et le putamen, la principale région visée par l'intoxication au Plomb (**Racette et al., 2012**). Cette hypoactivité locomotrice significative qui se traduit par une baisse de nombres des carreaux traversés, de plus, l'installation d'un état de stress qui est représenté par une baisse significative du nombre de visites dans le centre chez les sujets exposés au Pb. Ces données sont en accord avec ceux de **Fordhal et al., 2012; He et al., 2015**).

De plus, les résultats relatifs au test d'apprentissage spatial ont permis d'observer que l'exposition au Pb pendant le période de gestation et de lactation cause une perturbation cognitive. Cette perturbation se traduit par une augmentation du temps de latence avant de trouver la plateforme immergée durant le test. Par contre, on note aucune différence significative en termes de temps passe dans le quadrant nord ouest entre tous les groupes

pendant le probe test. Ces observations concordent avec celles de certains auteurs qui démontrent bien, une altération des performances d'apprentissage dans le test du labyrinthe aquatique chez les rats exposés au Pb pendant la gestation et la lactation (**Li et al., 2014; Kahloula et al., 2009**). Il a été reporté que la période de gestation et lactation est une période très sensible à l'intoxication au Pb qui altère le développement fœtal (**Kim et al., 2002**) et cause des déficits cognitifs à long terme (**Lanphear et al., 2000; Rumbeiha et al., 2001**).

En revanche, nous avons observé que l'administration de l'acide phytique améliore les perturbations causés par l'intoxication au Pb. Dans le test du compartiment obscurité/lumière (dark and light), les rats qui sont traités préventivement et curativement par l'acide phytique présentent une baisse significative dans le temps passé dans le compartiment éclairé par rapports aux rats intoxiqués et non traités, ce qui signifie que l'acide phytique diminue l'état d'anxiété chez les animaux. De même, le test de la nage forcée montre une diminution significative du temps d'immobilité chez les rats traités intoxiqués comparés à celui des rats intoxiqués non traités. De ce fait, le traitement par l'acide phytique diminue l'effet dépressif chez les animaux exposés au Pb. De plus, la glycémie était plus basse dans les groupes recevant de l'AP par rapport à ceux des groupes sans supplémentation de l'AP. Il ralentit le taux de digestibilité de l'amidon in vitro et la réponse glycémique, retardant ainsi l'apparition du diabète (**Kmuar et al., 2010; Eisma et al., 2011**). **Lee et al., 2006** ont trouvé des taux de glycémie réduits sur la base de phytates alimentaires chez des souris diabétiques.

Ainsi, l'AP, peut être un élément clé modulé la sécrétion d'insuline par son effet sur l'activité des canaux calciques (**Lee et al., 2006; Sinchis et al., 2017**). Le mécanisme d'action n'est pas entièrement compris, mais il apparaît que l'IP6 inhibe spécifiquement la sérine thréonine, l'activité de la protéine phosphatase, qui à son tour ouvre les canaux du calcium intracellulaire, entraînant la libération d'insuline (**Larsson et al., 1997**).

L'abaissement observé de la glycémie dans cette étude est bénéfique pour les diabétiques qui consomment un régime riche en glucides. L'AP serait capable d'inhiber la glycation, il apparaîtrait comme une thérapie sucré donnant sa synergie probable entre son potentiel en tant qu'inhibiteur de glycation et en tant que modulateur dans les niveaux de glucose dans le sang.

Le test de l'open Field a montré une augmentation de l'activité locomotrice (nombre des carreaux traversées, redressement) et une diminution de stress (par augmentation de nombre de visite au centre et une diminution du temps de latence) chez les lots préventifs, curatifs par

rappports à celle du lot intoxiqué, ce qui reflète que l'AP régule l'activité locomotrice et réduit l'état de stress provoqué par le Pb.

D'autre part, on observe une augmentation des performances l'apprentissage et la mémorisation par une baisse significative du temps de latence durant les quatre jours d'apprentissage chez les rats traités intoxiqués, intoxiqués traités comparés aux intoxiqués non traités. L'AP offrait une protection complète contre la cytotoxicité induite par la béta-amyloïde en atténuant les niveaux d'augmentation du Ca^{+2} intracellulaire, du H_2O_2 et des oligomères Béta-amyloïdes. Des souris de type sauvage ont été traitées par l'AP pendant 70 jours, il y avait une augmentation significative des niveaux de cytochromes oxydases dans le cerveau et une diminution de la peroxydation lipidique. L'AP stimule la Sirtuine 1 (SIRT)1 et l'AMPK (AMP-activated protein kinase) qui provoquent l'autophage des plaques d'amyloïdes par diminution des radicaux libres (**Thimmappa et al., 2010**). L'AP restaure la concentration de la dopamine dans les fentes synaptique ainsi qu'une diminution de l'auto-oxydation de la dopamine par la neutralisation des radicaux libres qui sont à l'origine du stress oxydatif et par conséquent l'altération de neurones dopaminergiques (**Xu et al., 2008**).

3. Dosage du plomb sanguin et cérébral :

Les données enregistrées ont montré une plombémie nettement supérieure chez les animaux exposés au Pb comparés à celle des animaux témoins. Ceci signifie que le sang constitue des sites préférentiels de fixation du plomb. Ces résultats confirment ceux de **Bellinger et al., 2000** qui rapportent que cette augmentation s'expliquerait par le fait que le Pb ne s'accumule pas dans le placenta et que la concentration du Pb dans le sang maternel est presque identique que celle dans le sang fœtal. Il a été démontré aussi qu'une forte corrélation entre la plombémie maternelle et celle du cordon ombilical indiquant le transfert du Pb à partir de la mère au fœtus (**Yang et al., 2003**). Ce transfert peut être le résultat d'une immobilisation du Pb emmagasiné dans le squelette des femelles intoxiquées étant jeune ou bien à partir des sources environnementales courantes (**Kahloula et al., 2010**).

La concentration cérébrale du Pb était significativement élevée chez les rats intoxiqués par rapport à celle des rats témoins. Il est généralement connu que le plomb s'accumule principalement dans le système nerveux central qui est la cible principale de l'exposition au plomb et le cerveau en développement semble être particulièrement vulnérable à la neurotoxicité du Pb (**Reddy et Zawia, 2000; Basha et al., 2003**). Le plomb a une forte affinité pour les SH libre dans les enzymes et les protéines et sa liaison peut modifier leur

fonction (**Cangelosi et al., 2017.**). Les travaux indiquent que le plomb est capable de traverser la barrière hématoencéphalique et agit principalement au niveau de l'hippocampe et les autres structures. Sachant que l'hippocampe et l'amygdale jouent un rôle important dans le processus d'apprentissage et de la mémorisation et pourraient être ainsi la structure cible de l'effet neurotoxique provoqué par une intoxication au plomb (**Steenland, 2001; Sharifi, 2002.**).

L'étude histologique sur le cerveau des rats intoxiqués, intoxiqués traités, traités intoxiqués et témoins n'a révélé aucune altération cérébrale ou cytolysse dans tous les groupes testés. Cela signifie que l'administration chronique au Pb durant la période de développement provoque un dysfonctionnement du métabolisme et une diminution des performances cognitives sans qu'il y est des dommages cérébraux tissulaires et aussi peut être due à la courte durée d'exposition au Pb.

L'efficacité prophylactique de l'acide phytique peut attribuer à sa capacité de se complexer avec les cations multivalents. Les rats traités préventivement et curativement par l'AP ont présenté des niveaux de plomb dans le sang et dans le cerveau très réduit. Une autre raison que l'IP6 peut chélater les ions des métaux lourds, que ce dernier possède douze groupes hydroxyles portent des charges négatives rend l'AP une molécule à forte charges négatives (**Ferry et al., 2002; Daley et al., 2013.**). Cela suggère que l'AP peut traverser la barrière hématoencéphalique et agit au niveau cérébral. **Sanchis et al., 2017** ont montré que l'AP se lie à la surface des organes et récupéré dans le sang. **Cúneo et al., (2006)** ont montré que l'accumulation de plomb dans les os, les reins et le foie était inversement proportionnelle à la quantité de phytate ingérée. Ces données corroborent l'hypothèse selon laquelle l'acide phytique pourrait prévenir l'absorption intestinale excessive et l'accumulation de plomb dans les tissus des animaux de laboratoire. Des travaux ont montré que l'AP réduit la toxicité induite par le cadmium chez les rats mâles (**Tsao et al., 1997; Rimbach et al., 1998; Mohamed et al., 2015.**). Dans tous les cas, la capacité de chélation notoire de l'AP s'est traduite dans son application comme agent détoxifiant contre les métaux lourds comme le Cd et le Pb (**Sanchis et Adrover, 2017; Reddy et al., 2007.**).

Pour plus d'investigation sur l'effet de l'acide phytique sur la toxicité induite par le Pb, nous avons entrepris une série d'expérience d'ordre biochimique et histologique.

4. Effet du plomb et l'acide phytique sur les paramètres hématologiques:

Nous avons observé que le Pb a induit une anémie par la réduction significative des globules rouges, hématocrite, hémoglobine (GR, HTC et HGB) comparés aux rats témoins. Le plomb entre en compétition avec le fer au niveau de l'enzyme ferrochélatase (FECH) (**Rous et al., 2000**). Ces résultats suggèrent que l'anémie causé par le Pb est le résultat de l'effet direct et indirect du Pb sur l'accumulation de L'acide δ -aminolévulinique (δ -ALA) (**Helmy et al., 2000**). Le plomb libre ionisé inhibe l'activité de certaines enzymes et en particulier de l'acide Delta-aminolévulinique déshydratase (ALAD) dans l'érythrocyte qui intervient en présence de Zinc dans la synthèse de l'hème. Cette carence en hème affecte donc non seulement la synthèse de l'hémoglobine au niveau du système hématopoïétique, mais aussi des processus cellulaires au niveau de tous les tissus, l'activité respiratoire mitochondriale ou le métabolisme oxydatif (**Bonnar et al., 2006**)

Donc le plomb peut conduire à un effet hémolytique car sa fixation sur la membrane des globules rouges provoque le blocage du groupement SH de la pompe à potassium et entraîne une hémolyse et une diminution de la durée de vie des érythrocytes. La toxicité à long terme au plomb perturbe le développement des cellules rouges dans la moelle osseuse (**Al Saleh, 1994**). La réduction de la calcémie peut être dû à l'interaction antagoniste du Pb et du Ca^{+2} avec l'élimination ultérieure de calcium.

Il existe une augmentation significative des GR, HTC et HGB chez les rats traités intoxiqués, intoxiqués traités par rapports aux rats intoxiqués et non traités. L'acide phytique se fixe au niveau des GR et empêche l'effet du plomb et s'est récemment révélé inhiber les cancers expérimentaux in vitro. Etant donné que les formes phosphorylées de l'AP jouent un rôle important dans la croissance cellulaire de mammifères. Il a été observé que l'AP a prouvé son efficacité dans la réduction de la croissance des cellules d'érythroleucémie humaine K-652 in vitro et une augmentation de la synthèse de l'hémoglobine (**Kumar et al., 2010; Bhowmik, 2016**).

L'administration de l'acide phytique a réduit de manière significative le taux sérique de Na^{+2} , K^{+} et Cl^{-} . Tandis que les niveaux de Ca^{+2} et en Fe^{+2} ont augmenté. L'AP ne supprime pas le calcium des os ni le fer des globules rouges (**Tridip et al., 2016**). La consommation quotidienne de 1-2 g d'AP avec des régimes équilibrés n'a pas d'incidence sur le statut minéral chez l'homme et n'altère pas la régénération de l'hémoglobine bien que pour les rats anémiques (**Hunter, 1981, Grases et al., 2004; Vucenik et Shamsuddin, 2006**). **Cúneo et**

al., 2012 ont montré que le phytate de calcium et la fibre alimentaire, lorsqu'ils sont incorporés au régime alimentaire des animaux d'expérience présentent des effets bénéfiques mesurés par des niveaux réduits du plomb dans divers organes. Cependant, **Rimbach et Pallauf, (1998)** ont trouvé que l'AP diminue l'absorption du magnésium et du calcium.

5. Effet du plomb et l'acide phytique sur les paramètres lipidiques:

Le cholestérol total et les triglycérides ont présenté des valeurs significativement supérieures chez les rats exposés au Pb comparativement avec celles des rats témoins. L'acétate de Plomb induit une altération du métabolisme des lipides (**Hami et al., 2006; Ademuyiwa et al., 2005; Sharma et al., 2013**). Pour mieux approfondir les analyses biochimiques, nous avons procédé à une étude histologique. Nous avons observé sur des coupes histopathologiques du foie de rats intoxiqués une désorganisation des cellules hépatiques et une nécrose modérée comparés aux témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Jarrar et al., 2012** qui suggèrent que l'exposition au plomb produit des lésions hépatiques chez les rats, ceci est due à une perturbation du système de défense antioxydant par génération des radicaux libres et le stress oxydatif.

En revanche, l'acide phytique a régulé les teneurs élevés en cholestérol et en triglycérides. Le mécanisme de cet effet hypolipidémies dans le foie semble être liée à l'inhibition des enzymes hépatiques dans la lipogénèse (**Vucenik et al., 1998; Yuangklang et al., 2004**). Bien que les niveaux physiologiques de phytates ralentissent l'accumulation des lipides sériques élevés (**Lee et al., 2005 et Okazki et al., 2014**). Cependant, **Daley et al., 2013** ont montré une baisse du taux de cholestérol chez les rats intoxiqués au cadmium et l'acide phytique, mais une augmentation des triglycérides est observée. l'examen histologique au niveau du foie de rats intoxiqués traités par l'AP a illustré une amélioration dans le tissu hépatique. Des études suggèrent que l'AP a conservé l'intégrité structurale de la membrane plasmique des cellules hépatiques par une chélation du Pb soutenue par son activité antioxydant (**Bhowmik et al., 2017**).

6. Effet du plomb et l'acide phytiques sur les fonctions rénale :

L'élévation observée de l'acide urique et l'urée peut indiquer une insuffisance rénale ou une déshydratation et cela est généralement associé à une augmentation du taux de créatinine qui reste un indicateur fiable pour évaluer la fonction rénale. L'élévation du taux d'acide urique était évidente chez le groupe exposé au Pb par rapport à celle des autres groupes. **Fowler et**

al., 1993 ont confirmé que l'insuffisance rénale chez les rats traités par le plomb peut être interprétée par l'augmentation des concentrations d'urée et de la créatinine. Ces résultats sont en accord avec des travaux de **Sivaprasad et al., 2004** qui ont montré que les cellules rénales ne sont plus capable de contrôler le processus d'excretion urinaire car les reins parmi les organes les plus sensibles au plomb (**Saka et al., 2011**).

L'acide phytique a réduit les effets toxiques du plomb liés à la fonction rénale, des diminutions significatives dans le taux de l'urée, créatinine et l'acide urique ont été enregistrées. Les mêmes observations ont été reporté par **Daley et al., 2013** et **Bhownik et al., 2017**. L'ingestion de phytate alimentaire réduit significativement le risque de développement des calculs calciques chez l'homme. Par conséquent, tous les résultats in vivo et in vitro indiquent clairement que le phytate joue un rôle important en tant qu'inhibiteur de cristallisation des sels de calcium dans les fluides biologiques et constitue d'une alternative dans le traitement de la lithiase rénale (**Schlemmer et al., 2009; Grases et al., 2007**).

7. Effets du plomb et l'acide phytique sur les fonctions hépatiques:

Les tests utilisés pour mesurer la capacité fonctionnelle du foie dépendent finalement de nombreuses activités enzymatiques ayant lieu à l'intérieur des cellules hépatiques. Les changements dans l'activité enzymatique du foie sont généralement détectables avant que les symptômes physiques et dommages soient apparents. L'activité accrue des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT et PAL) reflète le dysfonctionnement causé par l'intoxication au plomb. Cependant, un traitement préventif à l'acide phytique réduit considérablement l'activité des enzymes hépatiques. Les chercheurs ont également signalé une diminution de l'activité de l'aspartate et des transaminases dans le sang des groupes de rats recevant de l'AP (**Daley et al., 2013; Bhownik et al., 2017**).

Des taux élevés de bilirubine indique une atteinte des cellules hépatiques. La bilirubine dérive de l'hémoglobine, peut exister sous deux formes: substance liée aux protéines du plasma et sous forme conjuguée appelé glucuronate de bilirubine. La bilirubine est considéré aussi comme un antioxydant, il peut jouer un rôle scavenger du ROS in vivo (**Neužil et al., 1993**).

8. Dosage du taux de l'albumine et LDH :

Le foie est le principal site de synthèse des protéines plasmatiques, en particulier l'albumine. le changement dans la concentration de ces protéines n'apparaissent généralement pas, sauf

dans le cas d'un dysfonctionnement hépatique chronique ou sévère qui peut être mis en évidence par une diminution de la teneur en albumine. Nous avons observé une tendance à la réduction de l'albumine chez les animaux intoxiqués par rapport à celle des animaux témoins (**Benyamina, 2017**). Cependant, la supplémentation en AP a légèrement augmenté le niveau de l'albumine comparée au groupe témoin et intoxiqué.

La concentration en LDH a présenté des valeurs significativement élevées chez les rats exposés au Pb comparativement avec celles des rats témoins, ce qui signifie que le plomb agit aux différents tissus, sachant que le LDH est un bon marqueur de lésions tissulaire (**Bouafia et al., 2004**).

Conclusion

Conclusion:

Les différents travaux entrepris chez le rat et l'homme ont montré que le plomb est toxique même à des doses relativement faibles. De plus, il s'avère que les sujets les plus vulnérables sont les jeunes enfants et les femmes gestantes, sont des populations à très haut risque. Les effets délétères du plomb touchent tous les compartiments de l'organisme vivant, essentiellement, le système hématopoïétique, le système rénal et le système nerveux central plus particulièrement.

Donc l'idée d'intervenir en amont, éliminer les sources d'exposition au plomb, est presque impossible, la solution logique est d'agir en aval, c'est-à-dire de trouver des substances naturelles adaptées à tous les niveaux de vie et qui pourraient bloquer, inactiver et éliminer ce métal des organismes vivants.

C'est dans ce contexte inscrit notre étude, d'évaluer l'efficacité de l'acide phytique à rétablir les différentes perturbations engendrées au niveau des différents paramètres biochimiques et histologiques causés par l'intoxication au plomb.

Les résultats trouvés ont montré que l'exposition des rats au plomb à une dose journalière de 0,2% durant la période de gestation et de lactation a entraîné une baisse significative dans le poids relatifs des organes : foie, cerveau, ce qui traduit par un dysfonctionnement métabolique. De plus nous avons observé des perturbations importantes dans le comportement; une hypoactivité locomotrice, un état anxieux et dépressif chez les rats intoxiqués par rapport aux témoins suite aux expériences relatives au stress. Cet état de stress a été également confirmé par l'hyperglycémie chez les rats intoxiqués comparés à celle des rats témoins. Ceci qui est en faveur d'une implication directe de ce métal sur les différents systèmes de transmissions nerveuses impliqués dans la régulation de ces comportements. Dans notre travail, il ressort à travers le test de la piscine de Morris que l'exposition au Pb s'accompagne d'une atteinte des performances d'apprentissage spatial et la mémorisation chez les jeunes rats traités au Pb pendant la gestation et la lactation comparés à ceux des jeunes rats témoins. Cependant, l'étude histologique entreprise n'a révélé aucune altération cérébrale ou cytolysé chez tous les groupes testés.

Par ailleurs, la mesure de la plombémie et le Pb cérébral a confirmé la capacité du plomb à passer à travers la barrière hématoencéphalique et son accumulation au niveau du cerveau. En effet, l'exposition prénatale au Pb est extrêmement dangereuse sur divers aspect de

développement cérébral.

L'exploration de la fonction hépatique a porté sur deux approches : biochimiques et histologiques. En effet, des augmentations des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT, PAL) au niveau sérique ont été enregistrées chez les rats intoxiqués, ce qui a été confirmé par l'étude histologique montrant que le plomb cause des altérations du tissu hépatique. Le dosage de la bilirubine sérique montre une élévation significative de ce pigment, ce qui est en faveur d'une atteinte hépatique. De même, L'exposition au Pb a permis d'enregistrer des teneurs élevées de cholestérol et des triglycérides.

Nous avons constaté un déséquilibre de la balance minérale traduite par une réduction du Fer sérique et du Calcium. Les résultats montrent aussi une augmentation de la créatinine et de l'urée dans le sérum. Ces résultats sont en faveur d'un dysfonctionnement rénal.

L'exposition chronique au Pb a permis d'observer une anémie par une baisse significative des globules rouges, hématocrite, VGM, hémoglobine comparés à celle des rats témoins

En revanche, l'administration de l'acide phytique a permis d'observer une nette amélioration dans les différents tests comportementaux. On suggère que l'acide phytique peut réduire les troubles comportementaux tels que la dépression et le stress. Il peut être un bon correcteur de syndrome psycho-organique causé par le plomb.

De plus, l'AP a permis d'induire une nette amélioration des perturbations entraîné par le Pb, en régulant le taux de glycémie, la réduction de l'activité de l'ASAT et ALAT, la diminution du taux de l'urée, créatinine et l'augmentation du fer et calcium sanguin induits par le plomb. Le résultat hématologique révèle une augmentation des GR, HGB et HCT chez les rats traités, ce qui signifie que l'acide phytique empêche l'hémolyse. Sur le plan histologique, l'acide phytique a conservé l'intégrité structurale de la membrane plasmique des cellules hépatiques chez les rats exposés au Pb et traités par l'AP.

En général, l'effet de l'AP administré préventivement était considérablement supérieur à celui administré curativement. On peut en conclure que, en plus d'autres propriétés fonctionnelles, l'ingestion régulière de moyennes quantités d'acide phytique peut être bénéfique comme moyen naturel de protection du corps contre le saturnisme, en particulier dans un environnement pollué. Des efforts devraient être faits pour déterminer les apports moyens et suffisants en AP pour l'homme.

En termes de perspectives, il serait envisageable d'entreprendre un ensemble de protocoles expérimentaux plus approfondi portant sur:

- Réaliser des dosages biochimiques plus poussés le taux des différents biomarqueurs de l'activité neurologique et d'autres activités ciblées par l'intoxication et réhabilitées par le traitement à l'acide phytique.
- Explorer l'effet protecteur de l'AP contre le stress oxydatif et l'apoptose causé par l'intoxication par les métaux lourds.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Ademuyiwa, O., Ugbaja, R. N., Idumebor, F., & Adebawo, O. (2005). Plasma lipid profiles and risk of cardiovascular disease in occupational lead exposure in Abeokuta, Nigeria. *Lipids in Health and Disease*, 4(1), 19.

Ahamed, M., Verma, S., Kumar, A., & Siddiqui, M. K. J. (2005). Environmental exposure to lead and its correlation with biochemical indices in children. *Science of the total environment*, 346(1-3), 48-55.

Ahn, H. J., Kim, J. H., Jo, C., Kim, M. J., & Byun, M. W. (2004). Comparison of irradiated phytic acid and other antioxidants for antioxidant activity. *Food Chemistry*, 88(2), 173-178.

Alcázar-Román, A. R., & Wente, S. R. (2008). Inositol polyphosphates: a new frontier for regulating gene expression. *Chromosoma*, 117(1), 1-13.

Alexander, B. H., Checkoway, H., van Netten, C., Muller, C. H., Ewers, T. G., Kaufman, J. D., ... & Faustman, E. M. (1996). Semen quality of men employed at a lead smelter. *Occupational and environmental medicine*, 53(6), 411-416.

Al-Saleh, I. A. (1994). Effect of lead on hematological profile in Saudi Arabia. *Trace elements in medicine*, 11(1), 9-11.

Amara, A., Bisson, M., Hulot, C., Marescaux, N. (2016). Plomb et ses dérivés inorganiques. Ineris - Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. 170 pp.

Amdur, M. O., Doull, J., & Klaassen, C. D. (1993). Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 35(1), 76.

Andersen, O., & Aaseth, J. (2002). Molecular mechanisms of in vivo metal chelation: implications for clinical treatment of metal intoxications. *Environmental health perspectives*, 110(suppl 5), 887-890.

Anekonda, T. S., Wadsworth, T. L., Sabin, R., Frahler, K., Harris, C., Petriko, B., ... & Quinn, J. F. (2011). Phytic acid as a potential treatment for alzheimer's pathology: evidence from animal and in vitro models. *Journal of Alzheimer's Disease*, 23(1), 21-35.

Antonio, M. T., Corredor, L., & Leret, M. L. (2003). Study of the activity of several brain enzymes like markers of the neurotoxicity induced by perinatal exposure to lead and/or cadmium. *Toxicology letters*, 143(3), 331-340.

Apostoli, P., Romeo, L., De Matteis, M. C., Menegazzi, M., Faggionato, G., & Vettore, L. (1988). Effects of lead on red blood cell membrane proteins. *International archives of occupational and environmental health*, 61(1-2), 71-75.

- Aribarg, A., & Sukcharoen, N. (1996). Effects of occupational lead exposure on spermatogenesis. *Journal of the Medical Association of Thailand= Chotmaihet thangphaet*, 79(2), 91-97.
- Ariza-Nieto, M., Blair, M. W., Welch, R. M., & Glahn, R. P. (2007). Screening of iron bioavailability patterns in eight bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes using the Caco-2 cell in vitro model. *J. of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7950-7956.
- Assennato, G., Paci, C., Baser, M. E., Molinini, R., Candela, R. G., Altamura, B. M., & Giorgino, R. (1987). Sperm count suppression without endocrine dysfunction in lead-exposed men. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 42(2), 124-127.
- Bablok, W., Passing, H., Bender, R., & Schneider, B. (1988). A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 26(11), 783-790.
- Bačić, I., Družijanić, N., Karlo, R., Škifić, I., & Jagić, S. (2010). Efficacy of IP 6+ inositol in the treatment of breast cancer patients receiving chemotherapy: prospective, randomized, pilot clinical study. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 29(1), 12.
- Baruah, K., Sahu, N. P., Pal, A. K., Debnath, D., Yengkokpam, S., & Mukherjee, S. C. (2007). Interactions of dietary microbial phytase, citric acid and crude protein level on mineral utilization by rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38(2), 238-249.
- Basha, P. S., & Rani, A. U. (2003). Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Ecotoxicology and environmental safety*, 56(2), 218-221.
- Batra, N., Nehru, B., & Bansal, M. P. (1998). The effect of zinc supplementation on the effects of lead on the rat testis. *Reproductive toxicology*, 12(5), 535-540.
- Bear, M. F., Connors, B. W., & Paradiso, M. E. (2007). *Neurosciences. A la découverte du cerveau-3e édition*.
- Beck, B. D. (1992). An update on exposure and effects of lead. *Fundamental and applied toxicology*, 18(1), 1-16.
- Belgaroui, N., Zaidi, I., Farhat, A., Chouayekh, H., Bouain, N., Chay, S., ... & Berthomieu, P. (2014). Over-expression of the bacterial phytase US417 in *Arabidopsis* reduces the concentration of phytic acid and reveals its involvement in the regulation of sulfate and phosphate homeostasis and signaling. *Plant and Cell Physiology*, 55(11), 1912-1924.
- Bellinger, L., Lilley, C., & Langley-Evans, S. C. (2004). Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. *British journal of Nutrition*, 92(3), 513-520.

Belzung, C., Misslin, R., & Vogel, E. (1989). Behavioural effects of the benzodiazepine receptor partial agonist RO 16-6028 in mice. *Psychopharmacology*, 97(3), 388-391.

Benadda, B., (2002). Mesure des émissions et le traitement des métaux dans les fumées Cas du cadmium, du mercure et du plomb Etat de l'art. Record n°00-0220/1A 199.

Benlahcen, K., Sansar, W., Belhabri, L., & Slimani, M. (2009). Lead in Water: Neurotoxicity and Stressful Effect on Wistar Rat. *Global Journal of Environmental Research*, 3(1), 52-60.

Benyamina, A. (2017). Etude des effets de l'extrait d'Artemisia absintium L. chez les rats intoxiqués au plomb, Etude neurocomportementale, biochimique et in silico de composées d'Artemisia absintium L. à potentiel thérapeutique ciblant les récepteurs du système nerveux centrales, université d'Oran. Thèse doctorat. 209p

Bergdahl, I. A., Grubb, A., Schütz, A., Desnick, R. J., Wetmur, J. G., Sassa, S., & Skerfving, S. (1997). Lead binding to δ -aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) in human erythrocytes. *Pharmacology & toxicology*, 81(4), 153-158.

Berlin, K., Gerhardsson, L., Börjesson, J., Lindh, E., Lundström, N., Schütz, A., ... & Edling, C. (1995). Lead intoxication caused by skeletal disease. *Scandinavian journal of work, environment & health*, 21(4), 296-300.

Berridge, M. J., & Irvine, R. F. (1989). Inositol phosphates and cell signalling. *Nature*, 341(6239), 197.

Bhowmik, A., Ojha, D., Goswami, D., Das, R., Chandra, N. S., Chatterjee, T. K., ... & Chattopadhyay, D. (2017). Inositol hexa phosphoric acid (phytic acid), a nutraceuticals, attenuates iron-induced oxidative stress and alleviates liver injury in iron overloaded mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, 443-450.

Bingham, E., Barkley, W., Zerwas, M., Stemmer, K., & Taylor, P. (1972). Responses of alveolar macrophages to metals. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 25(6), 406-414.

Bismuth, C., Baud, F., Conso, F., & Dally, S. (2000). Fréjaville JP, Garnier R., Jaeger A. Toxicologie Clinique 5^e édition. *Médecine-Sciences, Flammarion*, 516-24.

Bonnar N., Facley M., Hesbert A., Jargot D., Pillière F., Schneider O. and Serre P (2006). Plomb et composés minéraux. Fiche toxicologique INRS.

BOUAFIA, F., Jocelyne, D. R. A. I., BIENVENU, J., THIEBLEMONT, C., ESPINOUSE, D., SALLES, G., & COIFFIER, B. (2004). Profiles and prognostic values of serum LDH isoenzymes in patients with haematopoietic malignancies. *Bulletin du cancer*, 91(7), 10229-10240.

BREARLEY, C. A., & HANKE, D. E. (1996). Inositol phosphates in barley (*Hordeum vulgare* L.) aleurone tissue are stereochemically similar to the products of breakdown of InsP6 in vitro by wheat-bran phytase. *Biochemical Journal*, 318(1), 279-286.

- BREARLEY, C. A., & HANKE, D. E. (1996). Metabolic evidence for the order of addition of individual phosphate esters in the myo-inositol moiety of inositol hexakisphosphate in the duckweed *Spirodela polyrhiza* L. *Biochemical Journal*, 314(1), 227-233.
- Bress, W. C., et Bidanset, J. H. (1991). Percutaneous in vivo and in vitro absorption of lead. *Veterinary and human toxicology*, 33(3), 212-214.
- Bressler, J., Kim, K. A., Chakraborti, T., & Goldstein, G. (1999). Molecular mechanisms of lead neurotoxicity. *Neurochemical research*, 24(4), 595-600.
- Campbell-Brown, M., Ward, R. J., Haines, A. P., North, W. R. S., Abraham, R., McFadyen, I. R., ... & King, J. C. (1985). Zinc and copper in Asian pregnancies—is there evidence for a nutritional deficiency?. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 92(9), 875-885.
- Carmignani, M., Boscolo, P., & Preziosi, P. (1988). Cardiovascular actions of lead in rats as related to the level of chronic exposure. In *The Target Organ and the Toxic Process* (pp. 326-329). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Caraway, W. T. (1963). Macro and micro methods for the determination of serum iron and iron-binding capacity. *Clinical chemistry*, 9(2), 188-199.
- Cebrian, D., Tapia, A., Real, A., & Morcillo, M. A. (2007). Inositol hexaphosphate: a potential chelating agent for uranium. *Radiation protection dosimetry*, 127(1-4), 477-479.
- Cerklewski, F. L., & Forbes, R. M. (1976). Influence of dietary selenium on lead toxicity in the rat. *The Journal of nutrition*, 106(6), 778-783.
- Cholewa, K., Parfiniewicz, B., Bednarek, I., Swiatkowska, L., Jezienicka, E., Kierot, J., & Weglarz, L. (2008). The influence of phytic acid on TNF-alpha and its receptors genes' expression in colon cancer Caco-2 cells. *Acta poloniae pharmaceutica*, 65(1), 75-79.
- Coles, C., Crawford, J., McClure, P. R., Roney, N., & Todd, G. D. (2012). Toxicological profile for manganese.
- Cangelosi, V., Ruckthong, L., & Pecoraro, V. L. (2017). Lead (II) Binding in Natural and Artificial Proteins. *Metal ions in life sciences*, 17.
- Cook, J. G. H. (1975). Factors Influencing the Assay of Creatinine: Prepared for the Association of Clinical Biochemists' Scientific and Technical Committee. *Annals of clinical biochemistry*, 12(1-6), 219-232.
- Cory-Slechta, D. A. (1995). Relationships between lead-induced learning impairments and changes in dopaminergic, cholinergic, and glutamatergic neurotransmitter system functions. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 35(1), 391-415.

Crawley, J., & Goodwin, F. K. (1980). Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 13(2), 167-170.

Cúneo, F., Amaya-Farfan, J., & Morgano, M. A. (2006). Dietary phytates protect the rat against lead toxicity. *JOURNAL OF FOOD AGRICULTURE AND ENVIRONMENT*, 4(3/4), 45.

Daley, T., Omoregie, S. N., Wright, V., & Omoruyi, F. O. (2013). Effects of phytic acid and exercise on some serum analytes in rats orally exposed to diets supplemented with cadmium. *Biological trace element research*, 151(3), 400-405.

Dart, R. C. (Ed.). (2004). *Medical toxicology*. Lippincott Williams & Wilkins.

Davies, M. J., Fu, S., Wang, H., & Dean, R. T. (1999). Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(11-12), 1151-1163.

Dini, L., Giudetti, A. M., Ruzittu, M., Gnoni, G. V., & Zara, V. (1999). Citrate carrier and lipogenic enzyme activities in lead intrate-induced proliferative and apoptotic phase in rat liver. *IUBMB Life*, 47(4), 607-614.

Diouf-Lewis, A., Commereuc, S., & Verney, V. (2017). Toward greener polyolefins: antioxidant effect of phytic acid from cereal waste. *European Polymer Journal*, 96, 190-199.

Dorman, D. C., McElveen, A. M., Marshall, M. W., Parkinson, C. U., James, R. A., Struve, M. F., & Wong, B. A. (2005). Maternal–fetal distribution of manganese in the rat following inhalation exposure to manganese sulfate. *Neurotoxicology*, 26(4), 625-632.

Dost, K., & Tokul, O. (2006). Determination of phytic acid in wheat and wheat products by reverse phase high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 558(1-2), 22-27.

Druzijanic, N., Juricic, J., Perko, Z., & Kraljevic, D. (2004, September). IP6+ Inositol as adjuvant to chemotherapy of colon cancer: our clinical experience. In *Anticancer Research* (Vol. 24, No. 5 D, pp. 3474-3475). EDITORIAL OFFICE 1ST KM KAPANDRITIOU-KALAMOU RD KAPANDRITI, PO BOX 22, ATHENS 19014, GREECE: INT INST ANTICANCER RESEARCH.

Duc M, Kaminsky P, Klein M(1994). Intoxication par le plomb et ces sels. Edition technique Encyc . Med, chi (paris-France). Toxicologie pathologie profession. A 10: 16-007.

Eiseman, J., Lan, J., Guo, J., Joseph, E., & Vucenic, I. (2011). Pharmacokinetics and tissue distribution of inositol hexaphosphate in C. B17 SCID mice bearing human breast cancer xenografts. *Metabolism*, 60(10), 1465-1474.

El-Saad, A., Abdelaziz, S., & Mahmoud, H. M. (2009). Phytic acid exposure alters aflatoxinB1-induced reproductive and oxidative toxicity in albino rats (*Rattus norvegicus*). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 6(3), 331-341.

Ercal, N., Gurer-Orhan, H., & Aykin-Burns, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current topics in medicinal chemistry*, 1(6), 529-539.

Esterbauer, H., Schaur, R. J., & Zollner, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free radical Biology and medicine*, 11(1), 81-128.

Ewers, U., Stiller-Winkler, R., & Idel, H. (1982). Serum immunoglobulin, complement C3, and salivary IgA levels in lead workers. *Environmental research*, 29(2), 351-357.

Favier, A. (1997, February). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 55, No. 1, pp. 9-16).

Fernando, N. P., Healy, M. A., Aslam, M., Davis, S. S., & Hussein, A. (1981). Lead poisoning and traditional practices: the consequences for world health. A study in Kuwait. *Public Health*, 95(5), 250-260.

Ferry, S., Matsuda, M., Yoshida, H., & Hirata, M. (2002). Inositol hexakisphosphate blocks tumor cell growth by activating apoptotic machinery as well as by inhibiting the Akt/NFκB-mediated cell survival pathway. *Carcinogenesis*, 23(12), 2031-2041.

Flora, S. J. S., Singh, S., & Tandon, S. K. (1983). Role of selenium in protection against lead intoxication. *Acta pharmacologica et toxicologica*, 53(1), 28-32.

Flora, S. J., & Pachauri, V. (2010). Chelation in metal intoxication. *International journal of environmental research and public health*, 7(7), 2745-2788.

Fordahl, S., Cooney, P., Qiu, Y., Xie, G., Jia, W., & Erikson, K. M. (2012). Waterborne manganese exposure alters plasma, brain, and liver metabolites accompanied by changes in stereotypic behaviors. *Neurotoxicology and teratology*, 34(1), 27-36.

Fossati, P., & Prencipe, L. (1982). Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical chemistry*, 28(10), 2077-2080.

Fowler, B. A. (1993). Mechanisms of kidney cell injury from metals. *Environmental Health Perspectives*, 100, 57-63.

Fullmer, C. S. (1990). Intestinal lead and calcium absorption: effect of 1, 25-dihydroxycholecalciferol and lead status. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 194(3), 258-264.

Fussler, E. (2011). Rituels et intoxication au plomb chez l'adulte Thèse de doctorat.

Fréry, N., Saoudi, A., Garnier, R., Zeghnoun, A., & Falq, G. (2011). Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. *Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire*, 201158.

Gargouri Manel, Ibtissem Ben Amara, Riadh Ksouri, Khaled Mounir Zeghal, Abdelfattah El Feki, Christian Magne Et Ahmed Hakim.,2015 impact de deux plantes halophytes sur l'hépatotoxicité induite par le plomb chez le rat male adulte J.I. M. Sfax, N°21 / 22 ; Juin / Déc 15 : 72 – 80 p73

Garnier, R. (2005). Toxicité du plomb et de ses dérivés. *EMC-Toxicologie-pathologie*, 2(2), 67-88.

Geetha, S., Ram, M. S., Mongia, S. S., Singh, V., Ilavazhagan, G., & Sawhney, R. C. (2003). Evaluation of antioxidant activity of leaf extract of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) on chromium (VI) induced oxidative stress in albino rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 87(2-3), 247-251.

Gibson, D. M., & Ullah, A. B. J. (1990). Phytases and their action on phytic acid. *Plant biology (USA)*.

Gidlow, D. A. (2004). Lead toxicity. *Occupational Medicine*, 54(2), 76-81.

Goering, P. L. (1993). Lead-protein interactions as a basis for lead toxicity. *Neurotoxicology*, 14(2-3), 45-60.

Graf, E., & Eaton, J. W. (1990). Antioxidant functions of phytic acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(1), 61-69.

Graf, E., Empson, K. L., & Eaton, J. W. (1987). Phytic acid. A natural antioxidant. *Journal of Biological Chemistry*, 262(24), 11647-11650.

Grases, F., Costa-Bauza, A., & Prieto, R. M. (2005). Intracellular and extracellular myo-inositol hexakisphosphate (InsP6), from rats to humans. *Anticancer research*, 25(3C), 2593-2597.

Grases, F., March, J. G., Prieto, R. M., Simonet, B. M., Costa-Bauzá, A., García-Raja, A., & Conte, A. (2000). Urinary phytate in calcium oxalate stone formers and healthy people: dietary effects on phytate excretion. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 34(3), 162-164.

Grases, F., Perelló, J., Isern, B., & Costa-Bauzá, A. (2007). Myo-inositol hexakisphosphate (phytate) inhibits calcium carbonate crystallisation in hard water. *Water SA*, 33(5).

Grases, F., Simonet, B. M., March, J. G., & Prieto, R. M. (2000). Inositol hexakisphosphate in urine: the relationship between oral intake and urinary excretion. *BJU international*, 85(1), 138-142.

Grases, F., Simonet, B. M., Perello, J., Costa-Bauza, A., & Prieto, R. M. (2004). Effect of phytate on element bioavailability in the second generation of rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 17(4), 229-234.

Grases, F., Simonet, B. M., Vucenik, I., Prieto, R. M., Costa-Bauzá, A., March, J. G., & Shamsuddin, A. M. (2001). Absorption and excretion of orally administered inositol hexaphosphate (IP6 or phytate) in humans. *Biofactors*, *15*(1), 53-61.

Greiner, R., & Konietzny, U. (2006). Phytase for food application. *Food Technology & Biotechnology*, *44*(2).

Gu, M., Roy, S., Raina, K., Agarwal, C., & Agarwal, R. (2009). Inositol hexaphosphate suppresses growth and induces apoptosis in prostate carcinoma cells in culture and nude mouse xenograft: PI3K-Akt pathway as potential target. *Cancer research*, *69*(24), 9465-9472.

Gupta, R., & Flora, S. J. (2005). Protective value of Aloe vera against some toxic effects of arsenic in rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *19*(1), 23-28.

Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (1993). Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free radical research communications*, *19*(3), 141-158.

Hajem, S., Moreau, T., Hannaert, P., Lellouch, J., Huel, G., Hellier, G., ... & Garay, R. P. (1990). Influence of environmental lead on membrane ion transport in a French urban male population. *Environmental research*, *53*(2), 105-118.

Hami, J. (2006). The relationship between high dose lead exposure and serum lipids and lipoprotein levels. *Shiraz E-Medical Journal*, *7*(2), 1-7.

Hamilton, J. D., Oflaherty, E. J., Ross, R., Shukla, R., & Gartside, P. S. (1994). Structural equation modeling and nested ANOVA: effects of lead exposure on maternal and fetal growth in rats. *Environmental research*, *64*(1), 53-64.

Hamir, A. N. (1981). Lead poisoning of dogs in Australia. *Veterinary Record*, *108*(20), 438-439.

Hall, C. S. (1934). Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative psychology*, *18*(3), 385.

Hall, C. S. (1938). The inheritance of emotionality. *Sigma Xi Quarterly*, *26*(1), 17-37.

Harland, B. F., & Morris, E. R. (1995). Phytate: a good or a bad food component?. *Nutrition research*, *15*(5), 733-754.

He, Y., von Lampe, K., Wood, L., & Kurti, M. (2015). Investigation of lead and cadmium in counterfeit cigarettes seized in the United States. *Food and Chemical Toxicology*, *81*, 40-45.

Helmy, M. A., El-Naga, N. I. A., & Helal, S. M. F. (2000). Effect of administration of milk and Kareish cheese on hematological values and histological changes of liver and brain in rats treated with lead. *Alexandria Journal of Agricultural Research*, *45*(2), 103-118.

Henry, R. J., Chiamori, N., Golub, O. J., & Berkman, S. (1960). Revised spectrophotometric methods for the determination of glutamic-oxalacetic transaminase, glutamic-pyruvic transaminase, and lactic acid dehydrogenase. *American journal of clinical pathology*, 34(4_ts), 381-398.

Higuchi, M. (2014). Antioxidant properties of wheat bran against oxidative stress. In *Wheat and Rice in Disease Prevention and Health* (pp. 181-199). Academic Press.

Hoffman, D.J., Heinz, G.H., Sileo, L., Audet, D.J., Campbell, J.K., LeCaptain, L.J., Obrecht, H.H., 2000. *J. Toxicol. Environ. Health A* 59, 235–252.

Hu, H., Shih, R., Rothenberg, S., & Schwartz, B. S. (2006). The epidemiology of lead toxicity in adults: measuring dose and consideration of other methodologic issues. *Environmental health perspectives*, 115(3), 455-462.

Hunaiti, A. A., & Soud, M. (2000). Effect of lead concentration on the level of glutathione, glutathione S-transferase, reductase and peroxidase in human blood. *Science of the total environment*, 248(1), 45-50.

Hunter, J. E. (1981). Iron availability and absorption in rats fed sodium phytate. *The Journal of nutrition*, 111(5), 841-847.

Harland, B. F., & Morris, E. R. (1995). Phytate: a good or a bad food component?. *Nutrition research*, 15(5), 733-754.

Hoffman, D. J., Heinz, G. H., Sileo, L., Audet, D. J., Campbell, J. K., & LeCaptain, L. J. (2000). Developmental toxicity of lead-contaminated sediment to mallard ducklings. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 39(2), 221-232.

IARC (International Agency for Research on Cancer). (1980). IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans: some metals and metallic compounds.

International Agency for Research on Cancer, & International Agency for Research on Cancer. (1987). *Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs volumes 1 to 42* (p. 53). Lyon, France:: IARC.

Jacela, J. Y., DeRouchey, J. M., Tokach, M. D., Goodband, R. D., Nelssen, J. L., Renter, D. G., & Dritz, S. S. (2010). Feed additives for swine: Fact sheets—prebiotics and probiotics, and phytogenics. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, (10), 132-136.

Jarrar, B. M., & Taib, N. T. (2012). Histological and histochemical alterations in the liver induced by lead chronic toxicity. *Saudi journal of biological sciences*, 19(2), 203-210.

Johansson, L., & Wide, M. (1986). Long-term exposure of the male mouse to lead: effects on fertility. *Environmental research*, 41(2), 481-487.

Jomova, K., Vondrakova, D., Lawson, M., & Valko, M. (2010). Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Molecular and cellular biochemistry*, 345(1-2), 91-104.

Kahloula, K., Slimani, M., Dubois, M., & Bonnet, J. J. (2009). D-cycloserine enhances spatial learning performances of rats chronically exposed to lead during the developmental period. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 20, 48-57.

Kahloula, K. (2012). Effet de l'exposition chronique au plomb pendant la période de la gestation et la lactation sur les fonctions neurocomportementales chez les jeunes rats Wistar. Impact sur les récepteurs glutaminergiques. Université d'Oran. Thèse de doctorat, 153p.

Kahloula, K., Adli, D. E., & Slimani, M. (2017). *Le précis des techniques neurocomportementales du petit rongeur*. Éditions universitaires européennes.

Kalia, K., CHANDRA, S. V., & Viswanathan, P. N. (1984). Effect of 54Mn and lead interaction on their binding with tissue proteins: in vitro studies. *Industrial health*, 22(3), 207-218.

Kallio, H., Yang, B., & Peippo, P. (2002). Effects of different origins and harvesting time on vitamin C, tocopherols, and tocotrienols in sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6136-6142.

Kim, J. N., Han, S. N., & Kim, H. K. (2014). Phytic acid and myo-inositol support adipocyte differentiation and improve insulin sensitivity in 3T3-L1 cells. *Nutrition research*, 34(8), 723-731.

Kim, S. A., & Rhee, M. S. (2016). Highly enhanced bactericidal effects of medium chain fatty acids (caprylic, capric, and lauric acid) combined with edible plant essential oils (carvacrol, eugenol, β -resorcylic acid, trans-cinnamaldehyde, thymol, and vanillin) against *Escherichia coli* O157: H7. *Food Control*, 60, 447-454.

Kim, S. I., Andaya, C. B., Newman, J. W., Goyal, S. S., & Tai, T. H. (2008). Isolation and characterization of a low phytic acid rice mutant reveals a mutation in the rice orthologue of maize MIK. *Theoretical and applied genetics*, 117(8), 1291.

Kotsaki-Kovatsi, V. P., Kovatsi, L., Koehler-Samouilidou, G., Karavanis, M., & Bacoyanni, E. (2001). Influence of inositolhexaphosphoric acid (phytic acid) on the copper distribution in tissues and the excretion of copper in rats. *Journal of trace elements in medicine and biology*, 14(4), 193-197.

Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P., & Becker, K. (2010). Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chemistry*, 120(4), 945-959.

Laing, W. A., Bulley, S., Wright, M., Cooney, J., Jensen, D., Barraclough, D., & MacRae, E. (2004). A highly specific L-galactose-1-phosphate phosphatase on the path to ascorbate biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(48), 16976-16981.

Landrans M., and Paclot C. (1994) Le saturnisme infantile. *Change sante sociale* ; 74 :23-28.

- Langen, B., Egerland, U., Bernöster, K., Dost, R., Unverferth, K., & Rundfeldt, C. (2005). Characterization in rats of the anxiolytic potential of ELB139 [1-(4-chlorophenyl)-4-piperidin-1-yl-1, 5-dihydro-imidazol-2-on], a new agonist at the benzodiazepine binding site of the GABAA receptor. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 314(2), 717-724.
- Lanphear, B. P., Dietrich, K., Auinger, P., & Cox, C. (2000). Cognitive deficits associated with blood lead concentrations < 10 microg/dL in US children and adolescents. *Public health reports*, 115(6), 521.
- Larsson, O., Barker, C. J., Sjöholm, Å., Carlqvist, H., Michell, R. H., Bertorello, A., ... & Berggren, P. O. (1997). Inhibition of phosphatases and increased Ca²⁺ channel activity by inositol hexakisphosphate. *Science*, 278(5337), 471-474.
- Lead, W. I. (1995). Environmental health criteria 165. International Programme on Chemical Safety. Geneva: World Health Organization.
- Lee, H. J., Lee, S. A., & Choi, H. (2005). Dietary administration of inositol and/or inositol-6-phosphate prevents chemically-induced rat hepatocarcinogenesis. *Asian Pac J Cancer Prev*, 6(41), 7.
- Lee, S. H., Park, H. J., Chun, H. K., Cho, S. Y., Cho, S. M., & Lillehoj, H. S. (2006). Dietary phytic acid lowers the blood glucose level in diabetic KK mice. *Nutrition Research*, 26(9), 474-479.
- Leret, M. L., San Millán, J. A., & Antonio, M. T. (2003). Perinatal exposure to lead and cadmium affects anxiety-like behaviour. *Toxicology*, 186(1-2), 125-130.
- Letcher, A. J., Schell, M. J., & Irvine, R. F. (2008). Do mammals make all their own inositol hexakisphosphate?. *Biochemical Journal*, 416(2), 263-270.
- Li, C., Pan, Z., Xu, T., Zhang, C., Wu, Q., & Niu, Y. (2014). Puerarin induces the upregulation of glutathione levels and nuclear translocation of Nrf2 through PI3K/Akt/GSK-3 β signaling events in PC12 cells exposed to lead. *Neurotoxicology and teratology*, 46, 1-9.
- Liu, H. T., Niu, R. Y., Wang, J. M., He, Y., Wang, J. D., & China, S. (2008). Changes caused by fluoride and lead in energy metabolic enzyme activities in the reproductive system of male offspring rats. *Fluoride*, 41(3), 184-191.
- Loewus, F. A., & Loewus, M. W. (1983). Myo-inositol: its biosynthesis and metabolism. *Annual Review of Plant Physiology*, 34(1), 137-161.
- Loewus, F. A., & Murthy, P. P. (2000). myo-Inositol metabolism in plants. *Plant science*, 150(1), 1-19.
- Lönnerdal, B. (2002). Phytic acid–trace element (Zn, Cu, Mn) interactions. *International journal of food science & technology*, 37(7), 749-758.
- Maga, J. A. (1982). Phytate: its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(1), 1-9.

Maletic, V., Robinson, M., Oakes, T., Iyengar, S., Ball, S. G., & Russell, J. (2007). Neurobiology of depression: an integrated view of key findings. *International journal of clinical practice*, 61(12), 2030-2040.

Markovac, J., & Goldstein, G. W. (1988). Picomolar concentrations of lead stimulate brain protein kinase C. *Nature*, 334(6177), 71.

Mastrocola, R., Restivo, F., Vercellinatto, I., Danni, O., Brignardello, E., Aragno, M., & Boccuzzi, G. (2005). Oxidative and nitrosative stress in brain mitochondria of diabetic rats. *Journal of Endocrinology*, 187(1), 37-44.

McGregor, A. J., & Mason, H. J. (1990). Chronic occupational lead exposure and testicular endocrine function. *Human & experimental toxicology*, 9(6), 371-376.

Miller, G. D., Massaro, T. F., & Massaro, E. J. (1990). Interactions between lead and essential elements: a review. *Neurotoxicology*, 11(1), 99-119.

Milosevic, N., & Maier, P. (2000). Lead stimulates intercellular signalling between hepatocytes and Kupffer cells. *European journal of pharmacology*, 401(3), 317-328.

Missoun F (2011) Impact d'une intoxication au plomb au niveau hépatique, rénal et cérébral chez le rat wistar jeune et adulte. Etude histologique, biochimique et neurocomportementale. Université d'Oran. Thèse de doctorat, 172p

Missoun, F., Slimani, M., & Aoues, A. (2010). Toxic effect of lead on kidney function in rat Wistar. *African Journal of Biochemistry Research*, 4(2), 021-027.

Mohamed, T. M., Salama, A. F., Nimr, T. M. E., & Gamal, D. M. E. (2015). Effects of phytate on thyroid gland of rats intoxicated with cadmium. *Toxicology and industrial health*, 31(12), 1258-1268.

Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of neuroscience methods*, 11(1), 47-60.

Munnik, T., & Vermeer, J. E. (2010). Osmotic stress-induced phosphoinositide and inositol phosphate signalling in plants. *Plant, cell & environment*, 33(4), 655-669.

Muñoz, J. J., Roca, C., Santos, J. L., Arroyo, M., & de Salamanca, R. E. (1993). Effect of Zinc or S-Adenosyl-l-methionine on Long Term Administration of Low Doses of Lead to Rats. *Pharmacology & toxicology*, 73(4), 189-191.

Nelson, R. L., Yoo, S. J., Tanure, J. C., Andrianopoulos, G., & Misumi, A. (1989). The effect of iron on experimental colorectal carcinogenesis. *Anticancer research*, 9(6), 1477-1482.

Neužil, J., & Stocker, R. (1993). Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. *FEBS letters*, 331(3), 281-284.

- Norazalina, S., Norhaizan, M. E., Hairuszah, I., & Norashareena, M. S. (2010). Anticarcinogenic efficacy of phytic acid extracted from rice bran on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(3), 259-268.
- Nordberg, G. F., Fowler, B. A., & Nordberg, M. (Eds.). (2014). Handbook on the Toxicology of Metals. Academic press.
- O'Dell, B. L., De Boland, A. R., & Koirtiyohann, S. R. (1972). Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 20(3), 718-723.
- Okazaki, Y., & Katayama, T. (2014). Dietary phytic acid modulates characteristics of the colonic luminal environment and reduces serum levels of proinflammatory cytokines in rats fed a high-fat diet. *Nutrition research*, 34(12), 1085-1091.
- Otegui, M. S., Capp, R., & Staehelin, L. A. (2002). Developing seeds of Arabidopsis store different minerals in two types of vacuoles and in the endoplasmic reticulum. *The Plant Cell*, 14(6), 1311-1327.
- Othman, A. I., & El Missiry, M. A. (1998). Role of selenium against lead toxicity in male rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 12(6), 345-349.
- Othman, A. I., Al Sharawy, S., & El-Missiry, M. A. (2004). Role of melatonin in ameliorating lead induced haematotoxicity. *Pharmacological research*, 50(3), 301-307.
- Ouldali, O. (2012). Etude de l'effet des pectines de carottes sur les marqueurs hématologiques, hépatiques et rénales d'intoxication au plomb chez le rat wistar, université d'Oran. Thèse de doctorat, 155p
- Pagliara, P., Chionna, A., Carla, E. C., Caforio, S., & Dini, L. (2003). Lead nitrate and gadolinium chloride administration modify hepatocyte cell surfaces. *Cell and tissue research*, 312(1), 41-48.
- Pande, M., & Flora, S. J. S. (2002). Lead induced oxidative damage and its response to combined administration of α -lipoic acid and succimers in rats. *Toxicology*, 177(2-3), 187-196.
- Patra, R. C., Swarup, D., & Dwivedi, S. K. (2001). Antioxidant effects of α tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicology*, 162(2), 81-88.
- Patrick, L. (2006). Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Alternative medicine review*, 11(2).
- Peisach, J., & Blumberg, W. E. (1969). A mechanism for the action of penicillamine in the treatment of Wilson's disease. *Molecular pharmacology*, 5(2), 200-209.

- Perello, J., Isern, B., Costa-Bauza, A., & Grases, F. (2004). Determination of myo-inositol in biological samples by liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 802(2), 367-370.
- Pinkerton, L. E., Biagini, R. E., Ward, E. M., Hull, R. D., Deddens, J. A., Boeniger, M. F., ... & Luster, M. I. (1998). Immunologic findings among lead-exposed workers. *American journal of industrial medicine*, 33(4), 400-408.
- Porres JM, Stahl CH, Cheng WH, Fu Y, Roneker KR, Pond WG, Lei XG. 1999. Dietary intrinsic phytate protects colon from lipid peroxidation in pigs with a moderately high dietary iron intake. *Proc Soc Exp Biol Med* 221:80–6.
- Porsolt, R. D., Le Pichon, M., & Jalfre, M. L. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266(5604), 730.
- Raboy, V. (2003). myo-Inositol-1, 2, 3, 4, 5, 6-hexakisphosphate. *Phytochemistry*, 64(6), 1033-1043.
- Racette, B. A., Aschner, M., Guilarte, T. R., Dydak, U., Criswell, S. R., & Zheng, W. (2012). Pathophysiology of manganese-associated neurotoxicity. *Neurotoxicology*, 33(4), 881-886.
- Reddy, G. R., & Zawia, N. H. (2000). Lead exposure alters Egr-1 DNA-binding in the neonatal rat brain. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 18(8), 791-795.
- Reddy, N. R. (2001). Occurrence, distribution, content, and dietary intake of phytate. In *Food phytates* (pp. 41-68). CRC Press.
- Rimbach, G., & Pallauf, J. (1998). Phytic acid inhibits free radical formation in vitro but does not affect liver oxidant or antioxidant status in growing rats. *The Journal of nutrition*, 128(11), 1950-1955.
- Rimbach, G., Walter, A., Most, E., & Pallauf, J. (1998). Effect of microbial phytase on zinc bioavailability and cadmium and lead accumulation in growing rats. *Food and chemical toxicology*, 36(1), 7-12.
- Rodrigues, I., & Naehrer, K. (2012). Prevalence of mycotoxins in feedstuffs and feed surveyed worldwide in 2009 and 2010. *Phytopathologia Mediterranea*, 51(1).
- Rogan, W. J., Dietrich, K. N., Ware, J. H., Dockery, D. W., Salganik, M., Radcliffe, J., ... & Rhoads, G. G. (2001). The effect of chelation therapy with succimer on neuropsychological development in children exposed to lead. *New England Journal of Medicine*, 344(19), 1421-1426.
- Rous, P., & Jelínek, P. (2000). The effect of heavy metals boundary contaminated soil on haematological and selected biochemical parameters in blood plasma of rabbits. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 48(3), 93-99.

- Ruff, H. A., Markowitz, M. E., Bijur, P. E., & Rosen, J. F. (1996). Relationships among blood lead levels, iron deficiency, and cognitive development in two-year-old children. *Environmental Health Perspectives*, 104(2), 180-185.
- Rumbeiha, W. K., Braselton, W. E., & Donch, D. (2001). A retrospective study on the disappearance of blood lead in cattle with accidental lead toxicosis. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 13(5), 373-378.
- Saad, N., Esa, N. M., Ithnin, H., & Shafie, N. H. (2011). Optimization of optimum condition for phytic acid extraction from rice bran. *African Journal of Plant Science*, 5(3), 168-175.
- Saka, S., Bahi, A., & Aouacheri, W. (2011). L'effet du stress oxydant induit par l'acétate de plomb sur le système enzymatique du glutathion chez les rats. In *Annales de Toxicologie Analytique* (Vol. 23, No. 3, pp. 139-145). EDP Sciences.
- Sakamoto, K., Vucenik, I., & Shamsuddin, A. M. (1993). [³H] Phytic acid (inositol hexaphosphate) is absorbed and distributed to various tissues in rats. *The Journal of nutrition*, 123(4), 713-720.
- Sanchis, P., & Adrover, M. (2017). Phytate: a pharmacological swiss army knife with potential against protein glycation. *Current Trends in Biomedical Engineering & Biosciences*, 5.
- Sandberg, A. S., & Svanberg, U. (1991). Phytate hydrolysis by phytase in cereals; effects on in vitro estimation of iron availability. *Journal of Food Science*, 56(5), 1330-1333.
- Sandhir, R., & Gill, K. D. (1995). Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats. *Biological trace element research*, 48(1), 91.
- Sassa, S., Granick, S., & Kappas, A. (1975). Effect of lead and genetic factors on heme biosynthesis in the human red cell. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 244(1), 419-440.
- Sata, F., Araki, S., Tanigawa, T., Morita, Y., Sakurai, S., Nakata, A., & Katsuno, N. (1998). Changes in T cell subpopulations in lead workers. *Environmental research*, 76(1), 61-64.
- Satija, N. K., & Vij, A. G. (1995). Preventive action of zinc against lead toxicity. *Indian journal of physiology and pharmacology*, 39, 377-382.
- Schlemmer, U., Frølich, W., Prieto, R. M., & Grases, F. (2009). Phytate in foods and significance for humans: food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Molecular nutrition & food research*, 53(S2), S330-S375.
- Schröterová, L., Hasková, P., Rudolf, E., & Cervinka, M. (2010). Effect of phytic acid and inositol on the proliferation and apoptosis of cells derived from colorectal carcinoma. *Oncology reports*, 23(3), 787-793.
- Sekita, A., Okazaki, Y., & Katayama, T. (2016). Dietary phytic acid prevents fatty liver by reducing expression of hepatic lipogenic enzymes and modulates gut microflora in rats fed a high-sucrose diet. *Nutrition*, 32(6), 720-722.

- Selvaraj, N., Bobby, Z., & Sathiyapriya, V. (2006). Effect of lipid peroxides and antioxidants on glycation of hemoglobin: an in vitro study on human erythrocytes. *Clinica Chimica Acta*, 366(1-2), 190-195.
- Sen, S., & Bhattacharya, C. B. (2001). Does doing good always lead to doing better? Consumer reactions to corporate social responsibility. *Journal of marketing Research*, 38(2), 225-243.
- Shaltout, A., Yaish, S. A., & Fernando, N. (1981). Lead encephalopathy in infants in Kuwait: A study of 20 infants with particular reference to clinical presentation and source of lead poisoning. *Annals of tropical paediatrics*, 1(4), 209-215.
- Shamsuddin, A. M. (1999). Metabolism and cellular functions of IP6. A review. *Anticancer Research*, 19(5), 3733-3736.
- Shamsuddin, A. M., Vucenik, I., & Cole, K. E. (1997). IP6: a novel anti-cancer agent. *Life sciences*, 61(4), 343-354.
- Shamsuddin, A. M. (2002). Anti-cancer function of phytic acid. *International journal of food science & technology*, 37(7), 769-782.
- Shamsuddin, A. K., & Vucenik, I. (2005). IP6 & inositol in cancer prevention and therapy. *Current Cancer Therapy Reviews*, 1(3), 259-269.
- Sharifi, A. M., Baniasadi, S., Jorjani, M., Rahimi, F., & Bakhshayesh, M. (2002). Investigation of acute lead poisoning on apoptosis in rat hippocampus in vivo. *Neuroscience letters*, 329(1), 45-48.
- Sharma, R. R., Chandy, M. J., & Lad, S. D. (1990). Transient hydrocephalus and acute lead encephalopathy in neonates and infants. Report of two cases. *British journal of neurosurgery*, 4(2), 141-145.
- Sharma, S., Shrivastava, S., & Shukla, S. (2013). Reversal of lead-induced toxicity due to the effect of antioxidants. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 32(2).
- Shears, S. B. (2001). Assessing the omnipotence of inositol hexakisphosphate. *Cellular signalling*, 13(3), 151-158.
- Shen, X., Xiao, H., Ranallo, R., Wu, W. H., & Wu, C. (2003). Modulation of ATP-dependent chromatin-remodeling complexes by inositol polyphosphates. *Science*, 299(5603), 112-114.
- Shi, J., Wang, H., Hazebroek, J., Ertl, D. S., & Harp, T. (2005). The maize low-phytic acid 3 encodes a myo-inositol kinase that plays a role in phytic acid biosynthesis in developing seeds. *The Plant Journal*, 42(5), 708-719.
- Shunmugam, A., Bock, C., Arganosa, G., Stonehouse, R., Georges, F., Gray, G. R., ... & Warkentin, T. D. (2014). *Biochemical and molecular characterization of two low-phytate pea lines* (Doctoral dissertation, University of Saskatchewan).

Sieg, D. J., & Billings, R. E. (1997). Lead/cytokine-mediated oxidative DNA damage in cultured mouse hepatocytes. *Toxicology and applied pharmacology*, 142(1), 106-115.

Silva, E. O., & Bracarense, A. P. F. (2016). Phytic acid: from antinutritional to multiple protection factor of organic systems. *Journal of food science*, 81(6), R1357-R1362.

Singh, A., Cullen, C., Dykeman, A., Rice, D., & Foster, W. (1993). Chronic lead exposure induces ultrastructural alterations in the monkey testis. *Journal of submicroscopic cytology and pathology*, 25(4), 479-486.

Singh, A., Singh, S. P., & Bamezai, R. (1997). Modulatory influence of arecoline on the phytic acid-altered hepatic biotransformation system enzymes, sulfhydryl content and lipid peroxidation in a murine system. *Cancer letters*, 117(1), 1-6.

Sivaprasad, T. R., Malarkodi, S. P., & Varalakshmi, P. (2004). Therapeutic efficacy of lipoic acid in combination with dimercaptosuccinic acid against lead-induced renal tubular defects and on isolated brush-border enzyme activities. *Chemico-biological interactions*, 147(3), 259-271.

Six, K. M., & Goyer, R. A. (1972). The influence of iron deficiency on tissue content and toxicity of ingested lead in the rat. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 79(1), 128-136.

Slimani.M Bensahla Talet A., et Boutiba.Z(1997).Effet du lindane sur le fonctionnement hépatique et cerebral chez le rat, Maghreb Médical.N°319,Novembre,pp50-53 (Le contenu de cette revue est analysé dans le fichier du centre de Documentation Scientifique et technique du C.N.R.S,PARIS-France,ISSN 0330-258X).

Smith, D. M., Mielke, H. W., & Heneghan, J. B. (2008). Subchronic lead feeding study in male rats. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 55(3), 518-528.

Soeiro, A. C., Gouvêa, T. S., & Moreira, E. G. (2007). Behavioral effects induced by subchronic exposure to Pb and their reversion are concentration and gender dependent. *Human & experimental toxicology*, 26(9), 733-739.

Somfai, G. M., Knippel, B., Ruzicska, É., Stadler, K., Tóth, M., Salacz, G., ... & Somogyi, A. (2006). Soluble semicarbazide-sensitive amine oxidase (SSAO) activity is related to oxidative stress and subchronic inflammation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurochemistry international*, 48(8), 746-752.

Sprinkle, R. V. (1995). Leaded eye cosmetics: a cultural cause of elevated lead levels in children. *Journal of family practice*, 40(4), 358-363.

Stadtman, E. R. (1990). Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radical Biology and Medicine*, 9(4), 315-325.

Staessen, J. A., Bulpitt, C. J., Fagard, R., Lauwerys, R. R., Roels, H., Thijs, L., & Amery, A. (1994). Hypertension caused by low-level lead exposure: myth or fact?. *Journal of cardiovascular risk*, 1(1), 87-97.

Staessen, J. A., Roels, H., Fagard, R., Amery, A., Bieniaszewski, L., Bulpitt, C. J., ... & Thijs, L. (1996). Lead exposure and conventional and ambulatory blood pressure: a prospective population study. *Jama*, 275(20), 1563-1570.

Staessen, J. A., Roels, H., Lauwerys, R. R., & Amery, A. (1995). Low-level lead exposure and blood pressure.

Steenland, K., & Boffetta, P. (2000). Lead and cancer in humans: where are we now?. *American journal of industrial medicine*, 38(3), 295-299.

Steger, D. J., Haswell, E. S., Miller, A. L., Wentz, S. R., & O'Shea, E. K. (2003). Regulation of chromatin remodeling by inositol polyphosphates. *Science*, 299(5603), 114-116.

Sugawara, E., Nakamura, K., Miyake, T., Fukumura, A., & Seki, Y. (1991). Lipid peroxidation and concentration of glutathione in erythrocytes from workers exposed to lead. *Occupational and Environmental Medicine*, 48(4), 239-242.

Szkudelski, T. (1998). Phytic acid affects lipid metabolism in the rat. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 7(4), 429-436.

Tamio, M., Nobuko, S., Mayumi, A., Sadao, U., & Yukio, S. (1987). Chemical form-dependent induction of hepatic zinc-thionein by arsenic administration and effect of co-administered selenium in mice. *Toxicology letters*, 39(1), 63-70.

Thimmappa, B., & Girod, S. C. (2010). Principles of implant-based reconstruction and rehabilitation of craniofacial defects. *Craniofacial trauma & reconstruction*, 3(01), 033-040.

Tong, G., Shepherd, D., & Jahr, C. E. (1995). Synaptic desensitization of NMDA receptors by calcineurin. *Science*, 267(5203), 1510-1512.

Torabinejad, J., Donahue, J. L., Gunesequera, B. N., Allen-Daniels, M. J., & Gillaspay, G. E. (2009). VTC4 is a bifunctional enzyme that affects myo-inositol and ascorbate biosynthesis in plants. *Plant physiology*, 150(2), 951-961.

Tridip, C., Annesha, D. (2016). Natural agents with iron chelation potential: a new hope and promise for cheaper supplement of costly iron chelating medicines for transfusion dependent thalassaemics. Institute of Genetic Medicine and Genomic Science, 30A Thakuthat Road, Kokata-700128, West Bengal, India

Tsao, G. T., Zheng, Y., Lu, J., & Gong, C. S. (1997). Adsorption of heavy metal ions by immobilized phytic acid. *Applied biochemistry and biotechnology*, 63(1), 731.

Tietz, N. W., Burtis, C. A., & Ashwood, E. R. (1994). *Tietz textbook of clinical chemistry* (pp. 1211-1235). Philadelphia:: Saunders.

Veniamin, M. P., & Vakirtzi-Lemonias, C. (1970). Chemical basis of the carbamidodiacetyl micromethod for estimation of urea, citrulline, and carbamyl derivatives. *Clinical chemistry, 16*(1), 3-6.

Victory, W. (1988). Evidence for effects of chronic lead exposure on blood pressure in experimental animals: an overview. *Environmental Health Perspectives, 78*, 71-76.

Vilensky, J. A., & Redman, K. (2003). British anti-Lewisite (dimercaprol): an amazing history. *Annals of emergency medicine, 41*(3), 378-383.

Vucenik, I., & Shamsuddin, A. M. (2006). Protection against cancer by dietary IP6 and inositol. *Nutrition and cancer, 55*(2), 109-125.

Vucenik, I., & Stains, J. (2010). Cancer preventive and therapeutic properties of IP6: efficacy and mechanisms. *Periodicum biologorum, 112*(4), 451-458.

Vucenik, I., Podczasny, J. J., & Shamsuddin, A. M. (1999). Antiplatelet activity of inositol hexaphosphate (IP6). *Anticancer research, 19*(5A), 3689-3693.

Vucenik, I., Zhang, Z. S., & Shamsuddin, A. M. (1998). IP6 in treatment of liver cancer. II. Intra-tumoral injection of IP6 regresses pre-existing human liver cancer xenotransplanted in nude mice. *Anticancer research, 18*(6A), 4091-4096.

Walker, D. L., & Gold, P. E. (1992). Impairment of spontaneous alternation performance by an NMDA antagonist: attenuation with non-NMDA treatments. *Behavioral and neural biology, 58*(1), 69-71.

Wu, T. N., Yang, K. C., Wang, C. M., Lai, J. S., Ko, K. N., Chang, P. Y., & Liou, S. H. (1996). Lead poisoning caused by contaminated Cordyceps, a Chinese herbal medicine: two case reports. *Science of the total environment, 182*(1-3), 193-195.

Xie, L., Gao, Q., & Xu, H. (2003). Ameliorative effect of L-methionine on Pb-exposed mice. *Biological trace element research, 93*(1-3), 227-236.

Xu, Q., Kanthasamy, A. G., & Reddy, M. B. (2008). Neuroprotective effect of the natural iron chelator, phytic acid in a cell culture model of Parkinson's disease. *Toxicology, 245*(1-2), 101-108.

Yang, B. H., Piao, Z. G., Kim, Y. B., Lee, C. H., Lee, J. K., Park, K., ... & Oh, S. B. (2003). Activation of vanilloid receptor 1 (VR1) by eugenol. *Journal of dental research, 82*(10), 781-785.

Yoon, J. H., Thompson, L. U., & Jenkins, D. J. (1983). The effect of phytic acid on in vitro rate of starch digestibility and blood glucose response. *The American Journal of Clinical Nutrition, 38*(6), 835-842.

York, J. D. (2006). Regulation of nuclear processes by inositol polyphosphates. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1761(5-6), 552-559.

Yuangklang, C., Wensing, T., Lemmens, A. G., Jittakhot, S., & Beynen, A. C. (2005). Effect of sodium phytate supplementation on fat digestion and cholesterol metabolism in female rats. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 89(11-12), 373-378.

Zelikoff, J. T., Li, J. H., Hartwig, A., Wang, X. W., Costa, M., & Rossman, T. G. (1988). Genetic toxicology of lead compounds. *Carcinogenesis*, 9(10), 1727-1732.

Zhou, J. R., & Erdman Jr, J. W. (1995). Phytic acid in health and disease. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 35(6), 495-508.

PUBLICATIONS

**REGULAR ARTICLE**

Preventive effect of phytic acid against lead toxicity in growing rats: biochemical assays and measuring of blood and brain lead levels

Amira Chikhi*, Khaled Kahloula, Djallal Eddine Houari Adli, Amel Sidi Ikhelef, Miloud Slimani

Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation Biologique des Plantes (LBPVBP), Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Dr. Tahar Moulay de Saida, BP 138 cité ENNASR, Saida 20000, Algeria

ARTICLE INFO*Article History:*

Received: 18 Jan 2019

Revised: 12 Apr 2019

Accepted: 15 Apr 2019

**Corresponding Author:*

Email: amirabiotech@live.com

Telephone: +213771294069

Keywords: Phytic acid (IP6), lead, intoxication, preventive, treatment

ABSTRACT

Phytic acid (Inositol hexaphosphate; IP6) is a natural plant antioxidant, it is found in most grain and legumes. Although much attention has been focused on the preventive effect during critical periods of development in lead poisoned rats. Phytic acid (1%) was administered to Wistar rats during the gestation period and then exposed them to lead acetate (0.2%) during the lactation period. We observed a decrease in body weight in the lead intoxicated group. Phytic acid treatment reduces blood lead levels and brain lead ($P < 0.001$) compared to untreated poisoned rats. The group exposed to lead and not treated with IP6 showed an increase in liver enzyme activity (ALAT, ASAT and PAL) and electrolyte levels (Na^+ , K^+ , Cl^-). While the values of fere-mia and calcium levels decreased compared to those of control rats, batches treated with IP6 showed a significant increase in serum iron and calcium levels, whereas the value of serum Mg^{+2} was unchanged compared to that of the intoxicated batch. Similarly, the values of urea, creatinine and uric acid rise significantly in poisoned animals that receive only lead. Preventive treatment with IP6 showed a significant decrease in total cholesterol and triglycerides ($P < 0.001$) compared to the intoxicated lot. IP6 provides a protection against lead-induced disturbances.

1. Introduction

The exposure to trace metallic is associated with a variety of toxic effects on the environment and it presents an important preoccupation for public health. Among these heavy metals, lead is considered the most abundant in the environment (Patra et al., 2011). These sources are diverse; including the natural and human-made processes, such as the combustion of carbon and mineral oil, smelters, the treatment units of ores, alloys and paint industry (Patra et al., 2007). This metal has no detectable beneficial biological role. On the contrary, it has adverse effects on the physiology, biochemis-

try and behaviour of organisms, the high levels affect the central and peripheral nervous system, hematopoietic system, cardiovascular system, kidneys, liver and reproductive systems (Khalil et al., 1993; Ruff et al., 1996; Bressler et al., 1999).

The classic treatment against lead poisoning is essentially based on the administration of chelating agents, molecules that allow the subsequent mobilization of its elimination from the body. However, a new therapeutic approach to this exposure is being undertaken based on the use of a natural agent which phytic acid (myo inositol hexaphosphoric, IP6). IP6 is found in large quantities in most cereals,

nuts, oilseeds and legumes (0.4%-6.4%) (Reddy et al., 1982; Sanchis et al., 2017). It is generally considered an antinutrient because of its ability to chelate divalent cations and reduce their absorption (Schelemmer et al., 2009). Contrary to its antinutritive effects, the potential beneficial effects of IP6 on human health are numerous, preventing excessive joint mineralization, reduction of plasma cholesterol and triglycerides (Yuangklang et al., 2004), as well as the bioavailability of heavy metals such as Cd (Rimbach et al., 1998). IP6 plays as an antioxidant, preventing the generation of reactive oxygen species responsible for cell damage and carcinogenesis (Vucenic et al., 1993; Shamsuddin et al., 2005; Kumar et al., 2010). The IP6 has also been shown to protect dopaminergic neurons against 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺)-induced apoptosis in rats. IP6 may offer protective therapy, in combination with traditional drug therapy, in order to slow down the progress the progression and limit the extent of neural cells death in Parkinson's disease (Xu et al., 2008).

2. Material and Method

2.1. Animals and Treatment

The experiments were performed on Wistar rats weighing 181 ± 4.45 g. The animals were housed with free access to water and food, with a light/dark cycle of 12/12 hours, at $22 \pm 2^\circ\text{C}$. They were mated one week after their arrival (three females and one male per cage). The animals are divided into 4 groups:

Control Group (C): Females received distilled water orally.

Lead Group (Pb): Females received an oral solution of 0.2% lead acetate in distilled water from the first day of pregnancy until the day of weaning (Kahloula, 2010).

Phytic acid group (PA): Females orally received 1% phytic acid in distilled water from the first day of pregnancy until the day of weaning (Daley, 2013).

Phytic acid-Lead Group (PA-Pb): Females orally received phytic acid (1%) from the first day of pregnancy until parturition. From the birth (postnatal), the newly born rats are exposed to lead acetate during 21 days (lactation period).

Number and suffering of animals were minimised in accordance with the guidelines of the European Council Directive (86/609/EEC).

After weaning, the animals were sacrificed by decapitation after 12 hours of fasting. Blood samples were recovered. Lipid function and renal function, liver activity, electrolyte levels were evaluated by the kits (Bio Systems).

2.2. Determination of lead in blood and brain tissue

After blood and brain sampling, blood lead levels and brain lead levels were estimated by atomic absorption spectrophotometry (S.A.A.A Perkin Elmer 3030).

In the blood:

To 10 ml (1 ml blood and 9 ml distilled water) of sample, 1 ml nitric acid and 20 μl phosphoric acid solution are added, 10 μl dried at 125°C for 40 seconds, calcined at 450°C for 45 seconds and then atomised at 2000°C for 5 seconds, after quantified by atomic absorption spectrometry at the wavelength of 283 nm to go to the calibration curve. The results are expressed in micrograms of lead per liter.

In brain tissue:

The raw sample was introduced into a capsule to be incinerated and placed in a muffle at 500°C until white ash is obtained. The contents of the capsule are transferred to a 100 or 200 ml vial, into which lanthanum is added (based on 1% vial volume), then passed through the sample to the atomic absorption spectrophotometer after calibration. The results are translated into absorbance by the device.

2.3. Statistical analyses

The results are expressed as the average (M) of the individual values, assigned from the standard error to the average (SEM). The difference between several means is carried out by an analysis of variance (Two Way ANOVA) with the intoxication factor (Pb, T) and/or the treatment factor (AP, Pb) followed possibly by the Post-Hoc Student-Newman-Keuls test: * $p \leq 0.05$ indicates a significant difference. The statistical analyses were carried out using Sigma Stat software.

3. Results

The results showed a significant decrease ($p < 0.001$) in body weight in young rats from lead poisoned females compared to control rats during gestation and lactation. However, rats that are treated pre-

| | | | | |
|-----------------|-------------|---------------|-------------|---------------|
| Body weight (g) | 121,14±3,12 | 96,85±4,32*** | 120,14±2,51 | 112,57±2,06** |
| Liver (g) | 5,95±0,25 | 4,35±0,30*** | 5,70±0,32 | 5,53±0,13** |
| Brain (g) | 1,75±0,033 | 1,49±0,046*** | 1,70±0,02 | 1,66±0,03** |

Table 1: Body weight and organ weights in the different groups.
The values are expressed as an average ± SEM (***: p<0.001; **: p<0.01).

| Parameter | Control | Pb | PA | PA-Pb |
|------------------|--------------|-----------------|--------------|----------------|
| Calcium (mg/l) | 118,50±2,59 | 90,19±3,32*** | 109,93±1,96 | 103,43±1,91*** |
| Chlore (mEq/l) | 106,32±0,36 | 111,97±2,39* | 106,88±0,89 | 105,77±0,71* |
| Mg+2 (mEq/l) | 24,16±0,94 | 20,23±2,19 | 24,81±1,11 | 22,9±1,19 |
| Potassium(mEq/l) | 6,16±0,28 | 8,01±0,25** | 6,42±0,11 | 6,65±0,13** |
| Iron (ug/dl) | 465,78±12,09 | 370,58±14,94*** | 457,43±12,02 | 444,75±6,28*** |
| Sodium (mEq/l) | 122,37±2,61 | 129,08±2,14* | 123,48±0,84 | 124,85±1,10* |

Table 2: Blood electrolytes in the different groups.
The values are expressed as an average ± SEM (***: p<0.001; **: p<0.01; *: p<0.05).

| Parameter | Control | Pb | PA | PA-Pb |
|-------------------------|-------------|----------------|-------------|----------------|
| Total cholesterol (g/l) | 0,88±0,05 | 1,07±0,05** | 0,89±0,04 | 0,89±0,01** |
| HDL (g/l) | 0,25±0,01 | 0,22±0,01 | 0,27±0,01 | 0,25±0,01 |
| LDL (g/l) | 0,28±0,02 | 0,30±0,01 | 0,26±0,01 | 0,25±0,02 |
| Triglycerides (g/l) | 0,59±0,01 | 0,68±0,02** | 0,57±0,01 | 0,59±0,02** |
| ASAT (U/l) | 138,35±5,44 | 168,61±4,17*** | 139,71±2,16 | 141,72±3,54*** |
| ALAT (U/l) | 51,77±2,22 | 72,91±2,56*** | 51,88±2,30 | 54,75±1,65*** |
| PAL (U/l) | 195,31±8,32 | 229,28±4,51** | 197,64±7,98 | 202,95±5,34 |
| Uric acid (mg/l) | 14,48±1,22 | 18,25±0,48* | 14,26±1,31 | 16,01±0,90 |
| Urea (g/l) | 0,53±0,03 | 0,67±0,02** | 0,50±0,02 | 0,54±0,02** |
| Creatinine (mg/l) | 4,42±0,20 | 7,49±0,49*** | 4,60±0,18 | 5,14±0,26*** |

Table 3: Effect of phytic acid on some biochemical parameters in developing rats.
The values are expressed as an average ± SEM (***: p<0.001; **: p<0.01; *: p<0.05).

ventively with phytic acid have a significant increase (P<0.01) in body weight compared to those of poisoned rats (Tab.01).

The results found in rats exposed to lead also show a significant decrease (p<0.001) in brain and liver weight compared to those of control rats. In contrast, the rats treated with phytic acid have a significant increase in organ weights (P<0.01) compared to those of poisoned rats (Tab.01).

Figures 1 and 2 show that rats exposed to lead have significantly higher blood lead levels than control rats. However, animals treated with AP showed a significant reduction (P<0.001) in blood lead levels and brain lead.

The results observed indicate that rats exposed to lead have significantly higher blood glucose levels (p<0.001) than control rats (Fig.03). In addition, rats treated prophylactically with phytic acid showed a significant decrease in blood glucose levels (p<0.001).

Serum levels of K⁺, Na⁺ and Cl⁻ are significantly elevated (p<0,001) in the lead intoxicated group compared to control. On the other hand, feremia and calcium levels are significantly lower in the lead group (Tab.01). While it is noted that in animals intoxicated and previously treated with phytic acid, blood calcium levels are significantly elevated com-

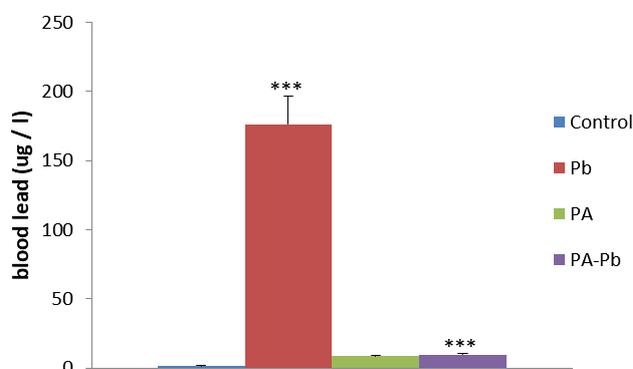


Figure 1: Blood lead levels in control rats (Control), intoxicated rats (Pb) and treated control rats (PA) and treated-intoxicated rats (AP-Pb). The values are expressed on average ± SEM C vs Pb: (*: p <0.001); Pb vs AP-Pb: (***: p <0.001).**

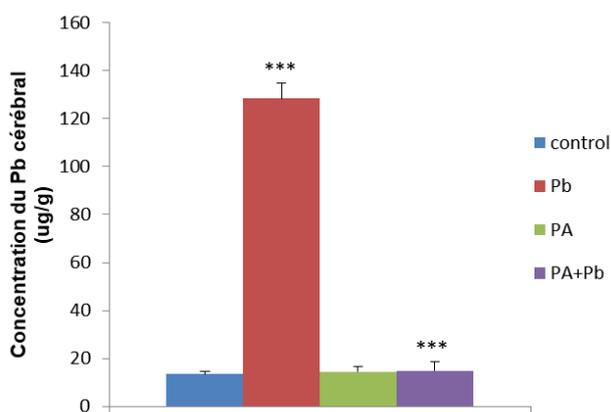


Figure 2: Lead concentration in the brain between control (C) rats, intoxicated rats (Pb), treated control rats (PA) and treated intoxicated rats (PA-Pb). The values are expressed on average \pm SEM C vs Pb: (***: $p < 0.001$); Pb vs PA-Pb: (***: $p < 0.001$).

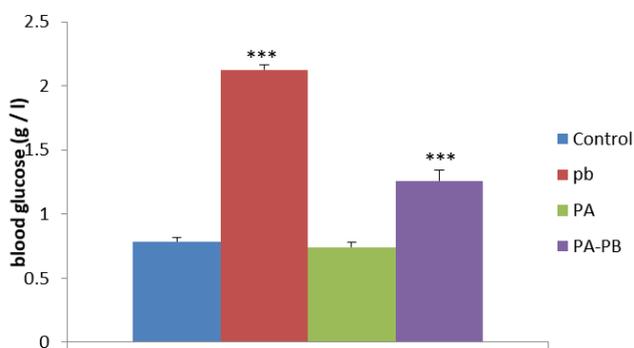


Figure 3: Blood glucose level in control rats (C), intoxicated (Pb), treated intoxicated (PA-Pb). Values are expressed as mean \pm SEM; T vs Pb (***: $p < 0.001$); Pb vs PA-Pb (***: $p < 0.001$), PA vs PA-Pb (***: $p < 0.001$).

pared to those of the intoxicated group ($p < 0.001$). No significant difference in magnesium levels between the different groups. However, iron levels were significantly reduced ($p < 0.001$) in lead-only rats compared to control rats (Tab.01). In addition, exposure to this heavy metal in rats under development previously treated with phytic acid resulted in a significant increase ($p < 0.001$) in iron compared to that of poisoned rats (Tab.02).

Statistical analysis revealed a significant increase in total cholesterol and triglyceride values ($p < 0.01$) in the batch exposed to lead compared to the other groups. We noted a significant reduction in serum triglycerides and total cholesterol levels in rats treated preventively with phytic acid (Tab.03).

Serum concentrations of urea and uric acid were significantly higher ($p < 0.01$; $p < 0.05$) in lead poisoned rats compared to control rats. However, animals treated with phytic acid showed a significant decrease in renal function markers compared to

animals exposed to lead. The results show a significant increase in serum creatinine value in the Pb group compared to the group treated preventively with phytic acid (Tab.03).

The activities of ALAT, ASAT and PAL are considered to be good markers of liver function. In this context, a significant increase in these enzymes was observed in the intoxicated group ($p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.01$) respectively compared to the other groups (Tab.03). On the other hand, treatment with phytic acid significantly reduces the activity of these biomarkers ($p < 0.001$; $p < 0.01$).

4. Discussion

The use of lead poisoning treatment methods such as chelating agent administration appear to be effective and may preferentially remove lead from bones and some soft tissues. These chelating agents have disadvantages when administered orally. In addition, IP6 is a molecule considered beneficial because it is a natural component of plant origin (Vucenic and Shamsuddin, 2006).

The results of this study showed that phytic acid intake has a remarkable effect against weight loss induced by lead exposure. Our observations are also in agreement with those of Norazalina et al. (2009) et Daley et al. (2013) who indicated that this natural compound improves weight in rats poisoned by lead.

The data obtained revealed an accumulation of lead in the brain that is particularly vulnerable during brain development (Reddy and Zawia, 2000; Basha et al., 2003). However, preventive treatment with IP6 has reduced blood lead levels and brain lead. Phytic acid is a molecule with a high negative charge density and can adsorb heavy metal ions, such as Cu^{+2} , Ni^{+2} , Zn^{+2} and Cd (Tsao et al., 1997; Daley et al., 2013). Sanchis et al. (2017) showed that IP6 binds to the surface of organs and is recovered in the blood. Cúneo et al. (2006) showed that the accumulation of lead in bone, kidneys and liver was inversely proportional to the amount of phytate ingested. These data support the hypothesis that phytic acid or phytate could prevent excessive intestinal absorption and accumulation of dietary lead in the tissues of laboratory animals. In addition, work on heavy metals such as cadmium has shown that IP6 reduces cadmium-induced toxicity in male rats (Tsao et al., 1997; Rimbach et al., 1998; Mohamed et al., 2013).

Lead has caused hyperglycemia, which is mainly

due to the inhibition of most glycolytic enzymes and those involved in the Krebs cycle such as hexose kinase, pyruvate kinase, LDH and dehydrogenase and also to oxidative stress caused by this chemical element, according to Mastrocola et al. (2005) and Somfai et al. (2006). IP6 slows down the digestibility rate of starch in vitro and the glycemic response, thus delaying the onset of diabetes (Larsson et al., 1997; Kmuar et al., 2010; Eismann et al., 2011). Lee et al. (2006) found reduced blood glucose levels based on dietary phytates in diabetic KK mice. Thus, IP6 can be a key element modulating insulin secretion by its effect on calcium channel activity (Barkes et al., 1999).

Administration of phytic acid significantly decreased serum Na^+ , K^+ and Cl^- levels, while Ca^{+2} and Fe^{+2} levels were increased. We have found that this compound is effective in preventing the reduction of calcium caused by Pb poisoning. Daily consumption of 1-2 g of IP6 with balanced diets does not affect mineral status in humans (Grases et al., 2004; Vucenik and Shamsuddin, 2006).

Cúneo et al. (2012) have shown that calcium phytate and dietary fibre, when incorporated into the diet of experimental animals, have beneficial effects as measured by reduced levels of lead in various organs. However, Rimbach and Pallauf (1998) found that IP6 decreases the absorption of magnesium and calcium.

Through our experiments, we have found that IP6 causes a decrease in serum cholesterol and triglyceride levels. Daley et al. (2013) justify the blood cholesterol-lowering effects of IP6 in blood may be partly related to increased bile acid and lipid excretion and reduced hepatic cholesterol synthesis. The mechanism of the lipid-lowering effect appeared to be related to the inhibition of hepatic enzymes from lipogenesis (Okazki et al., 2014). IP6 inhibits the increase in total liver lipids and triglycerides (Lee et al., 2005; Yuangklang et al., 2004). Although physiological levels of phytates slow the accumulation of high serum lipids.

Significant decreases in urea, creatinine and uric acid levels were observed in animals treated with phytic acid. The increase in creatinine levels due to lead exposure remains a reliable indicator for assessing kidney function. The same observations were found by Grases et al. (2000), Grases et al. (2007), Daley et al. (2013) and Bhowmik et al. (2017). Therefore, all in vivo and in vitro results clearly indicate that phytate plays an important

role in inhibiting the crystallization of calcium salts in biological fluids and is an alternative in the treatment of calcium oxalate renal lithiasis (Grases and Costa-Bauza 1999; Schlemmer et al., 2009).

The increased activity of liver enzymes (ASAT, ALAT and PAL) reflects the dysfunction caused by lead poisoning. However, preventive treatment with phytic acid significantly reduces the activity of liver enzymes. Researchers have also reported decreased aspartate and transaminase activity in the blood of groups of rats receiving phytic acid (Pincus et al., 1996; Daley et al., 2013; Bhowmik et al., 2017).

5. Conclusion

In conclusion, this work made it possible to evaluate the chelating power of phytic acid in the face of lead poisoning and its interesting prophylactic effect on liver and kidney function, which can be explored for possible therapy.

References

- Antonio MT, Corredor L, Leret ML (2003) Study of the activity of several brain enzymes like markers of the neurotoxicity induced by perinatal exposure to lead and/or cadmium. *Toxicology letters* 143 (3): 331-340.
- Basha MR, Wei W, Brydie M, Razmiafshari M, Zawia NH (2003) Lead-induced developmental perturbations in hippocampal Sp1 DNA-binding are prevented by zinc supplementation: in vivo evidence for Pb and Zn competition. *International Journal of Developmental Neuroscience* 21(1): 1-12
- Bhowmik A, Ojha D, Goswami D, Das R, Chandra NS, Chatterjee TK, Chattopadhyay D (2017) Inositol hexa phosphoric acid (phytic acid), a nutraceuticals, attenuates iron-induced oxidative stress and alleviates liver injury in iron overloaded mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 87: 443-450
- Bressler J, Kim KA, Chakraborti T, Goldstein G (1999) Molecular mechanisms of lead neurotoxicity. *Neurochemical Research* 24(4): 595-600
- Cúneo F, Amaya-Farfan J, Morgano MA (2006) Dietary phytates protect the rat against lead toxicity. *Journal of Food Agriculture and Environment* 4(3/4):45
- Daley T, Omoregie SN, Wright V, Omoruyi FO (2013) Effects of phytic acid and exercise on some serum analytes in rats orally exposed to diets supplemented with cadmium. *Biological trace element research* 151(3): 400-405
- Eiseman J, Lan J, Guo J, Joseph E, Vucenik I (2011) Pharmacokinetics and tissue distribution of inositol hexaphosphate in C. B17 SCID mice bearing human breast cancer xenografts. *Metabolism* 60(10):1465-1474
- Grases F, Costa-Bauza A (1999) Phytate (IP6) is a powerful agent on preventing calcification in biological fluids. Usefulness in renal lithiasis treatment. *Anticancer research* 19(5):3717-3722

- Grases F, Isern B, Sanchis P, Perello J, Torres JJ, Costa-Bauza, A (2007) Phytate acts as an inhibitor in formation of renal calculi. *Frontiers in Bioscience* 12(1): 2580-2587
- Grases F, March JG, Prieto RM, Simonet BM, Costa-Bauzá A, García-Raja A, Conte, A (2000) Urinary phytate in calcium oxalate stone formers and healthy people: dietary effects on phytate excretion. *Scandinavian journal of urology and nephrology* 34(3): 162-164
- Grases F, Simonet BM, Perello J, Costa-Bauza A, Prieto RM (2004) Effect of phytate on element bioavailability in the second generation of rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 17(4): 229-234
- Kahloula K, Slimani M, Aoues A (2009) Behavioural and neurochemical studies of perinatal lead exposed in rat wistar. *European Journal of Scientific Research* 35: 603-614
- Khalil-Manesh F, Gonick HC, Weiler EWJ, Prins B, Weber MA, Purdy RE (1993) Lead-induced hypertension: possible role of endothelial factors. *American Journal of Hypertension* 6(9): 723-729
- Kumar V, Sinha AK, Makkar HP, Becker K (2010) Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chemistry* 120(4):945-959
- Larsson O, Barker CJ, Sjöholm Å, Carlqvist H, Michell RH, Bertorello A, Berggren PO (1997) Inhibition of phosphatases and increased Ca²⁺ channel activity by inositol hexakisphosphate. *Science* 278(5337):471-474
- Lee SH, Park HJ, Cho SY, Jung HJ, Cho SM, Cho YS, Lillehoj HS (2005) Effects of dietary phytic acid on serum and hepatic lipid levels in diabetic KK mice. *Nutrition Research* 25(9):869-876
- Lee SH, Park HJ, Chun HK, Cho SY, Cho SM, Lillehoj HS (2006) Dietary phytic acid lowers the blood glucose level in diabetic KK mice. *Nutrition Research* 26(9): 474-479
- Mastrocola R, Restivo F, Vercellinato I, Danni O, Brignardello E, Aragno M, Boccuzzi G (2005) Oxidative and nitrosative stress in brain mitochondria of diabetic rats. *Journal of Endocrinology* 187(1):37-44
- Mohamed TM, Salama AF, Nimr TME, Gamal DM E (2015) Effects of phytate on thyroid gland of rats intoxicated with cadmium. *Toxicology and industrial health* 31(12):1258-1268
- Norazalina S, Norhaizan ME, Hairuszah I, Norashareena MS (2010) Anticarcinogenic efficacy of phytic acid extracted from rice bran on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 62(3):259-268
- Okazaki Y, Katayama T (2014) Dietary phytic acid modulates characteristics of the colonic luminal environment and reduces serum levels of proinflammatory cytokines in rats fed a high-fat diet. *Nutrition research* 34(12):1085-1091
- Patra R, Rautray AK, Amiya K, Swarup D (2011) Oxidative stress in lead and cadmium toxicity and its amelioration. *Veterinary medicine international* 2011: 457327
- Patra RC, Swarup D, Naresh R, Kumar P, Nandi D, Shekhar P, Ali SL (2007) Tail hair as an indicator of environmental exposure of cows to lead and cadmium in different industrial areas. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66 (1):127-131
- Pincus MR, Schaffner JR (1996) Assessment of liver function in clinical diagnosis and management by laboratory methods. *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*. WB Saunders Company
- Reddy GR, Zawia NH (2000) Lead exposure alters Egr-1 DNA-binding in the neonatal rat brain. *International Journal of Developmental Neuroscience* 18(8):791-795
- Reddy NR, Sathe SK, Salunkhe DK (1982) Phytates in legumes and cereals. *Advances in food research* 28:1-92
- Rimbach G, Walter A, Most E, Pallauf J (1998) Effect of microbial phytase on zinc bioavailability and cadmium and lead accumulation in growing rats. *Food and chemical toxicology* 36(1): 7-12
- Ruff H A, Markowitz ME, Bijur PE, Rosen JF (1996) Relationships among blood lead levels, iron deficiency, and cognitive development in two-year-old children. *Environmental Health Perspectives* 104(2): 180-185
- Sanchis P, Adrover M (2017) Phytate: a pharmacological swiss army knife with potential against protein glycation. *Current Trends in Biomedical Engineering and Biosciences* 5(4): CTBEB.MS.ID.555667
- Schlemmer U, Fröllich W, Prieto RM, Grases F (2009) Phytate in foods and significance for humans: food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Molecular nutrition and food research* 53: S330-S375
- Shamsuddin AK, Vucenik I (2005) IP6 & inositol in cancer prevention and therapy. *Current Cancer Therapy Reviews* 1(3): 259-269
- Somfai GM, Knippel B, Ruzicska É, Stadler K, Tóth M, Salacz G, Somogyi A (2006) Soluble semicarbazide-sensitive amine oxidase (SSAO) activity is related to oxidative stress and subchronic inflammation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurochemistry international* 48(8): 746-752
- Tsao GT, Zheng Y, Lu J, Gong CS (1997) Adsorption of heavy metal ions by immobilized phytic acid. *Applied biochemistry and biotechnology* 63(1): 731
- Vucenik I, Sakamoto K, Bansal M, Shamsuddin AM (1993) Inhibition of rat mammary carcinogenesis by inositol hexaphosphate (phytic acid). A pilot study. *Cancer letters* 75(2):95-102
- Vucenik I, Shamsuddin AM (2006) Protection against cancer by dietary IP6 and inositol. *Nutrition and cancer* 55(2): 109-125
- Xu Q, Kanthasamy AG, Reddy MB (2008) Neuroprotective effect of the natural iron chelator, phytic acid in a cell culture model of Parkinson's disease. *Toxicology* 245(1-2), 101-108
- Yuangklang C, Wensing T, Lemmens AG, Jittakhot S, Beynen AC (2005) Effect of sodium phytate supplementation on fat digestion and cholesterol metabolism in female rats. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 89(11-12): 373-378

ABOUT THE JOURNAL: SAJEB (eISSN: 2230-9799) is a peer-reviewed, open-access and online journal aimed at advancement and rapid dissemination of scientific knowledge generated by the highly motivated researchers in the field of biological sciences through publication of high-quality original research and critical up-to-date review articles covering all the aspects of biological sciences. Every year, it publishes six issues. SAJEB has received Global Impact Factor (GIF)-2015, 0.765; Index Copernicus Value-2015, 93.0 and NAAS (ICAR)-India 2017 rating, 4.79. SAJEB has been included in the ISI master list of journals of Thomson Reuters under Zoological Record. The SAJEB is also covered by CABI (UK), AGRICOLA, NLM catalogue, CAS (ACS, USA), DOAJ, Journal TOCs (ICBL, Edinburgh), Directory of research Journals Indexing (DRJI) and Indian Science Abstracts (ISA, NISCAIR).