



République Algérienne Démocratique Et Populaire  
Ministère de L'enseignement Supérieur et de La Recherche  
Scientifique



Université Dr. Moulay Taher Saida  
Faculté des Sciences  
Département De Biologie  
Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie  
Et Valorisation biologique des Plantes

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

Option : **Biochimie**

Présenté par :

M<sup>elle</sup>. Sidi Ikhlef Amel

M<sup>eme</sup>. Kandouci Amel Fedia

Intitulé:

*Evaluation des effets biologiques de l'acide phytique  
suite à une intoxication au plomb.  
Etude biochimique, neurocomportementale et  
histopathologie*

Soutenu publiquement le : 27 juin 2018

Devant le jury :

Président : Mr. Ammam Abdelkader (Maitre de conférences B) (Université de Saida)

Examinatrice : M<sup>eme</sup>. Hadjadj Hassina (Maitre assistante A) (Université de Saida)

Encadreur : Mr. Kahloula Khaled (Professeur) (Université de Saida)

Co-Encadreur : M<sup>elle</sup>. Chikhi Amira (Maitre assistante A) (Université de Saida)

Année Universitaire : 2017-2018



## *Remerciements*

*Avant toute chose, nous tenons à remercier **Dieu** le tout puissant, pour nous avons donné la force et la patience. Au thème de ce travail, il nous est agréable de remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons tout d'abord à remercier **Dr AMMAM** qui nous honoré en acceptant d'être président de ce jury et qu'il trouve ici l'assurance de notre profonde gratitude.*

***M<sup>me</sup>.HADJADJ H** qui nous fait l'honneur d'examiner ce travail qu'elle trouve ici notre profond respect*

*Nos remerciements vont particulièrement à notre encadreur **Pr KAHLOULA K** pour avoir accepté la charge d'être rapporteur de notre mémoire, pour avoir consacré du temps pour la correction de ce travail, pour ces conseils pertinents, qualités humaines.*

*Nous remercions **M<sup>elle</sup>CHIKHI A** qu'elle trouve l'expression de notre profonde reconnaissance pour son encadrement sans faille que pour ses recommandations et avis judicieux durant nos séances de travail*

*Nous remercions vivement **M<sup>elle</sup>.ARABI W** et **M<sup>elle</sup>.TAIBI N** qui ont aidé au sein de l'animalerie et pour leurs conseils précieux. Sans oublier **M<sup>elle</sup> Bouremana.S, M<sup>elle</sup> Kafï.S** et **M<sup>elle</sup> Bakadour** nous les remercions pour leurs aide.*

**Merci  
beaucoup**



## *Dédicaces*

*Avec l'aide de Dieu tout puissant, j'ai pu achever ce travail que je dédie*

*A ma mère : Avec tout mon amour pour ton soutien et tes encouragements. J'espère rester à la hauteur de tes espoirs. Que Dieu te protège et t'accorde santé et longue vie.*

*A mon père : A mon cher père qui n'a cessé de m'épauler, qu'il trouve ici ma reconnaissance à travers ce modeste travail. Que Dieu te protège et t'accorde santé et longue vie.*

*A Mes Soeurs : siham et israa Je vous remercie Avec toute mon affection. Vous êtes toujours là pour moi*

*A toute la famille et mes amis*

*A mes encadreurs*

*A tous Ceux Que J'aime.*

*A Tous Ceux Qui Eprouvent Un Sentiment D'amitié Envers Moi,*

*A Tous Ceux Dont Ma Réussite Leur Tiens A Cœur*

*SIDIKHLEF Amel*

## ***Résumé***

Le plomb est un métal présent dans l'environnement et il est considéré comme un élément non essentiel pour les fonctions vitales de l'organisme. L'exposition à ce métal, même à des doses très faible, entraîne des dysfonctionnements importants aux niveaux de différents organes (Foie, cerveau, rein). A cet effet, l'objectif de cette étude est d'évaluer les modifications d'ordre neurocomportementales, biochimiques et histologiques chez les jeunes rats wistar issues des femelles exposés à l'acétate de plomb 0,2% pendant la gestation et la lactation et de tester l'effet protecteur de l'acide phytique sur les organes cibles.

L'exposition subchronique au plomb pendant la période de développement, a engendré une baisse du poids corporel comparée aux rats témoins. L'utilisation de différents tests comportementaux plus précisément ceux de l'anxiété (Dark and Light test), de la dépression (Forced Swimming Test) et de l'activité locomotrice (Open Field test), révèle clairement que l'intoxication au Pb provoque des troubles neurocomportementaux se traduisant par une hypoactivité locomotrice, une réduction de comportement d'exploration du milieu qui reflète l'instauration d'un état de stress, d'anxiété et dépression. Par ailleurs, dans le test de la piscine de Morris nous avons enregistré une diminution de la capacité d'apprentissage spatial et de la mémorisation chez les rats intoxiqués au Pb comparée aux rats témoins.

Cette intoxication au Pb se traduit également par une perturbation des différents paramètres biochimiques notamment les biomarqueurs hématologiques, rénaux et hépatiques. De plus, l'étude histologique a montrée des lésions aux niveaux du tissu hépatique.

L'administration de l'acide phytique par voie orale à une dose de 1% durant la période de gestation (21 jours), a permis d'enregistrer un gain du poids comparé aux rats intoxiqués. De plus, les tests de comportements : Dark& light, FST, Open Field et la piscine de Morris dévoilent clairement que l'acide phytique corrige l'état d'anxiété, résignation, l'activité locomotrice et l'apprentissage spatial respectivement comparé aux rats exposés au Pb. Les résultats obtenus des dosages hématologiques et biochimique FNS, glucose, lipidique, les marqueur rénaux ( urée, créatinine, acide urique), hépatique ( TGO, TGP, PAL, BL, albumine, fer) et ionogramme montrent une régulation des valeurs de tous ces paramètres chez les rats intoxiqués suite à l'administration de l'Aph comparés aux rats intoxiqués non traités. En effets, l'étude histologique montre une protection de l'architecture principalement hépatique chez les rats traités par l'Aph comparé aux rats intoxiqués. Cette série d'expérience à montrer que l'acide phytique est doté d'un pouvoir protecteur contre les dommages causés par les effets toxiques du plomb.

**Mots clés :** Acétate de plomb, acide phytique, cerveau, comportement, foie.

## Abstract

Lead is a metal found in the environment and is considered a non-essential element for the body's vital functions. Exposure to this metal, even at very low doses, causes major dysfunctions in various organs (liver, brain, kidney). To this effect, the objective of this study is to evaluate neurobehavioral, biochemical and histological changes in young wistar rats from females exposed to lead acetate 0.2% during gestation and lactation and to test the protective effect of phytic acid on target organs.

Subchronic exposure to lead during the development period resulted in a decrease in body weight compared to the control rats. The use of different behavioural tests, more specifically the Dark and Light test, the Forced Swimming Test and the Open Field test, clearly reveals that Pb intoxication causes neurobehavioural disorders resulting in locomotor hypoactivity, a reduction in environmental exploration behaviour that reflects the onset of a state of stress, anxiety and depression. Furthermore, in the Morris maze test we recorded a decrease in spatial learning capacity and memory in Pb intoxicated rats compared to control rats.

This Pb poisoning also results in a disruption of various biochemical parameters including hematological, renal and hepatic biomarkers. In addition, the histological study showed lesions at liver tissue levels.

Oral administration of phytic acid at a dose of 1% during the gestation period (21 days) resulted in weight gain compared to intoxicated rats. In addition, the behaviour tests: Dark & light, FST, Open Field and Morris Pool clearly show that phytic acid corrects anxiety, resignation, locomotor activity and spatial learning respectively compared to rats exposed to Pb. The results obtained from hematological and biochemical assays FNS, glucose, lipid, renal markers (urea, creatinine, uric acid), liver markers (TGO, TGP, PAL, BL, albumin, iron) and ionogram show a regulation of the values of all these parameters in rats intoxicated following administration of Aph compared to untreated intoxicated rats. Indeed, the histological study shows protection of the architecture mainly hepatic in rats treated with Aph compared to intoxicated rats. This series of experiments show that phytic acid has protective power against damage caused by the toxic effects of lead.

**Keywords:** lead acetate, phytic acid, brain, behaviour, liver.

## ملخص

الرصاص هو معدن موجود في البيئة ويعتبر عنصرًا غير ضروري للوظائف الحيوية للجسم. يؤدي التعرض لهذا المعدن، حتى بجرعات منخفضة للغاية، إلى اختلال وظيفي كبير في الأجهزة المختلفة (الكبد، الدماغ، الكلى). ومن هذا فإن الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التغيرات السلوكية العصبية والكيميائية الحيوية والنسجية في فئران المولودة من اناث المعرضة لـ 0.2 ٪ من الرصاص أثناء الحمل والرضاعة. لاختبار التأثير الوقائي لحمض الفايثك على الأعضاء المستهدفة. التعرض دون المزمّن للرصاص خلال فترة النمو إلى انخفاض في وزن الجسم مقارنة بفئران الشاهد، إن استخدام اختبارات سلوكية مختلفة على وجه التحديد اختبارات القلق (اختبار الظلام والضوء)، والاكنتاب (الاختبار السباحة القسري) والنشاط الحركي (اختبار المجال المفتوح) التسمم بالرصاص يكشف بوضوح أنه يسبب اضطرابات سلوكية عصبية مما يؤدي إلى انخفاض نشاط الحركي، انخفاض في سلوك التعرف على المحيط الذي يعكس بداية التوتر والقلق والاكنتاب. علاوة على ذلك، في اختبار موريس، سجلنا انخفاضًا في قدرة التعلم المكاني والذاكرة في الجرذان المسمومة بالرصاص مقارنة بالجرذان شاهد.

هذا التسمم بالرصاص يؤدي أيضًا لاختلال في مختلف المعايير البيوكيميائية، ولا سيما المؤشرات الحيوية الدموية والكلى والكبدية. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت الدراسة النسجية بوجود جروح في مستويات أنسجة الكبد.

بلغ حمض الفايثك عبر الفم بجرعة 1 ٪ خلال فترة الحمل (21 يومًا)، يؤدي إلى زيادة الوزن مقارنة مع الفئران المسمومة. وعلاوة على ذلك، اختبارات السلوك: الظلام والضوء، السباحة القسري، الميدان المفتوحة وموريس تكشف بوضوح أن حمض الفايثك بتصحيح حالة القلق، النشاط الحركي والتعلم المكاني، على التوالي، مقارنة مع الفئران المعرضة للرصاص

النتائج التي تم الحصول عليها من فحوصات الدم والكيمياء الحيوية، الجلوكوز، الدهون، علامة الكلى (اليوريا الكرياتينين، حمض اليوريك)، الكبد (TGO, TGP, PAL, BL)، الألبومين، الحديد) والأيونوغرام تظهر اعتدال قيم هذه المعايير في الجرذان المسمومة بعد اخذها لحمض الفايثك مقارنة مع الجرذان المسمومة غير المعالجة. أيضًا، أظهرت الدراسة النسجية حماية الكبد بشكل رئيسي في الفئران التي عولجت بحمض الفايثك مقارنة مع الجرذان المسمومين. تظهر هذه السلسلة من التجارب أن حمض الفايثك له تأثير وقائي ضد الأضرار الناجمة عن التأثيرات السامة للرصاص.

**الكلمات المفتاحية:** الرصاص، حمض الفايثك، المخ، السلوك، الكبد.

## *Liste des Tableaux et des figures*

**Tableau 1 :** Contenu en phytates (mg/g de matière sèche) dans la nourriture humaine dérivée des plantes

**Tableau 2 :** L'effet thérapeutique de l'acide phytique

**Figure 1 :** La structure chimique de l'acide phytique

**Figure 2 :** L'acide phytique dans les graines

**Figure 3:** Protocole expérimental

**Figure 4:** Test de la nage forcé

**Figure 5:** Test de l'anxiété chez le rat (compartiment éclairé /obscur)

**Figure 6 :** Test open Field

**Figure 7:** La piscine de Morris

**Figure 8:** L'évolution du poids corporel chez les rats témoins, Pb et Aph préventif

**Figure 9:** L'évolution du poids des organes (foie et cerveau) chez les rats témoins, Pb et Aph préventif.

**Figure 10:** Le temps de séjour passe dans le compartiment éclairé chez les différents lots témoins, intoxiqués et traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 11:** Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée chez les rats témoins(T), intoxiqués(Pb) et traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 12:** Le taux de la glycémie chez les rats témoins(T), intoxiqués(Pb) et traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 13 :** La comparaison des différents paramètres du test Open Field entre les rats témoins(T), intoxiqués(Pb) et traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 14 :** Temps d'échappement durant la phase d'apprentissage de la piscine de Morris chez les rats témoins, les rats exposés au plomb et les rats traités intoxiqué

**Figure 15 :** Temps passe dans le quadrant (NO) durant le probe test par les rats témoins (T), les rats intoxiqué au Pb et les rats traités intoxiqué (Aph-Pb)

**Figure 16 :** Temps de latence durant la phase de la plateforme émergée de la piscine de Morris chez les rats témoins (T), intoxiqué (Pb) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 17:** La comparaison de la plombémie chez les rats témoins (T),rats intoxiqués (Pb),rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 18:** La comparaison de la concentration du plomb dans le cerveau entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 19 :** La comparaison des globules rouges entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 20:** La comparaison de l'hémoglobine entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 21:** La comparaison de l'hématocrite entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 22 :** La comparaison des globules blancs entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 23 :** La comparaison des plaquettes entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 24 :** La comparaison de sodium entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 25:** La comparaison de potassium entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 26:** La comparaison de chlore entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 27 :** La comparaison du dosage lipidique entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 28 :** La comparaison de la concentration de l'urémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqué (Aph-Pb)

**Figure 29:** La comparaison de la concentration de la créatinémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 30:** La comparaison de la concentration de l'uricémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 31:** La comparaison de la concentration de l'ASAT (TGO) entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 32:** la comparaison de la concentration de l'ALAT (TGP) entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 33 :** La comparaison de la concentration du PAL entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 34:** La comparaison de la bilirubine entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 35:** La comparaison de l'albumine entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 36:** La comparaison du fer sérique entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 37:** La comparaison de LDH entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 38:** La comparaison de la calcémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 39 :** La comparaison de magnésium entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

**Figure 40 :** La microscopie optique de tissu hépatique

**Figure 41:** La microscopie optique de parenchyme cérébral

**Figure 42 :** Les rats avant le sacrifice

**Figure 43 :** Sacrifice des rats

**Figure 44 :** Prélèvement de sang

**Figure 45 :** Prélèvement des organes (foie, cerveau)

**Figure 46 :** Conservation des organes

## *Liste des abréviations*

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ADP** : Adénosine diphosphate

**AG** : Acide gras

**ALA**: Acide aminolévulinique

**ALAD**: Acide aminolevulinique déshydratase

**ALAT**: Alanine aminotransférase

**ANOVA**: Analysis of variance

**APH**: Acide phytique

**ASAT**: Aspartate aminotransférase

**ATP**: Adenosine triphosphate

**ATPase**: Adénosine triphosphatase

**BAL**: British anti-lewisite

**BL**: Bilirubine

**Ca<sup>+2</sup>**: Calcium

**CaNa<sub>2</sub>EDTA**: Calcium disodium ethylenediaminetetraacetic Acide

**Cl<sup>-</sup>** : Chlore

**CT**: Cholesterol Total

**DHAP**: Dihydroxyacétone phosphate

**DMSA**: Acide dimercaptosuccinique

**EBD** : Eau bidistillée

**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

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène

**Hb** : Hémoglobine

**HDL** : Lipoprotéine de haute densité

**Ht** : Hématocrite

**IP<sub>6</sub>** : Inositol hexophosphate

**InsP<sub>4</sub>**: Inositol tetraphosphate

**InsP<sub>3</sub>**: Inositol triphosphate

**K<sup>+</sup>**: Potassium

**LDH**: Lactate déshydrogénase

**LDL**: Lipoprotéine de basse densité

**MDA**: Malondialdéhyde

**MDH**: Malate déshydrogénase

**Mg**: Magnésium

**Na<sup>2+</sup>**: Sodium

**NAD<sup>+</sup>**: Nicotine adenine dinucléotide

**NADH, H<sup>+</sup>**: Nicotine amide dinucléotide réduit

**O<sup>2</sup>** : Oxygène singulet

**OH** : Radical hydroxyle

**PAL** : Phosphatase alcaline

**Pb** : Plomb

**PLT** : Plaquette

**POD** : Peroxydase

**ROS** : Espèces réactives oxygénées

**SH**: Groupement thiol

**SOD**: Super oxyde dismutase

**T** : Témoin

**TG** : Triglycéride

**TGO** : Transaminase glutamique oxaloacétique

**TGP** : Transaminase glutamique pyruvique

**UV** : Ultraviolet

**Zn** : Zinc

## Résumé

Le plomb est un métal présent dans l'environnement et il est considéré comme un élément non essentiel pour les fonctions vitales de l'organisme. L'exposition à ce métal, même à des doses très faibles, entraîne des dysfonctionnements importants aux niveaux de différents organes (Foie, cerveau, rein). A cet effet, l'objectif de cette étude est d'évaluer les modifications d'ordre neurocomportementales, biochimiques et histologiques chez les jeunes rats wistar issues des femelles exposés à l'acétate de plomb 0,2% pendant la gestation et la lactation et de tester l'effet protecteur de l'acide phytique sur les organes cibles. L'exposition subchronique au plomb pendant la période de développement, a engendré une baisse du poids corporel comparée aux rats témoins. L'utilisation de différents tests comportementaux plus précisément ceux de l'anxiété (Dark and Light test), de la dépression (ForcedSwimming Test) et de l'activité locomotrice (Open Field test), révèle clairement que l'intoxication au Pb provoque des troubles neurocomportementaux se traduisant par une hypoactivité locomotrice, une réduction de comportement d'exploration du milieu qui reflète l'instauration d'un état de stress, d'anxiété et dépression. Par ailleurs, dans le test de la piscine de Morris nous avons enregistré une diminution de la capacité d'apprentissage spatial et de la mémorisation chez les rats intoxiqués au Pb comparée aux rats témoins. Cette intoxication au Pb se traduit également par une perturbation des différents paramètres biochimiques notamment les biomarqueurs hématologiques, rénaux et hépatiques. De plus, l'étude histologique a montrée des lésions aux niveaux du tissu hépatique. L'administration de l'acide phytique par voie orale à une dose de 1% durant la période de gestation (21 jours), a permis d'enregistrer un gain du poids comparé aux rats intoxiqués. De plus, les tests de comportements : Dark & light, FST, Open Field et la piscine de Morris dévoilent clairement que l'acide phytique corrige l'état d'anxiété, résignation, l'activité locomotrice et l'apprentissage spatial respectivement comparé aux rats exposés au Pb. Les résultats obtenus des dosages hématologiques et biochimique FNS, glucose, lipidique, les marqueur rénaux (urée, créatinine, acide urique), hépatique (TGO, TGP, PAL, BL, albumine, fer) et ionogramme montrent une régulation des valeurs de tous ces paramètres chez les rats intoxiqués suite à l'administration de l'Aph comparés aux rats intoxiqués non traités. En effets, l'étude histologique montre une protection de l'architecture principalement hépatique chez les rats traités par l'Aph comparé aux rats intoxiqués. Cette série d'expérience à montrer que l'acide phytique est doté d'un pouvoir protecteur contre les dommages causés par les effets toxiques du plomb.

**Mots clés :** acétate de plomb, acide phytique, cerveau, comportement, foie, histologique

## Abstract

Lead is a metal found in the environment and is considered a non-essential element for the body's vital functions. Exposure to this metal, even at very low doses, causes major dysfunctions in various organs (liver, brain, kidney). To this effect, the objective of this study is to evaluate neurobehavioral, biochemical and histological changes in young wistar rats from females exposed to lead acetate 0.2% during gestation and lactation and to test the protective effect of phytic acid on target organs. Subchronic exposure to lead during the development period resulted in a decrease in body weight compared to the control rats. The use of different behavioural tests, more specifically the Dark and Light test, the Forced Swimming Test and the Open Field test, clearly reveals that Pb intoxication causes neurobehavioural disorders resulting in locomotor hypoactivity, a reduction in environmental exploration behaviour that reflects the onset of a state of stress, anxiety and depression. Furthermore, in the Morris maze test we recorded a decrease in spatial learning capacity and memory in Pb intoxicated rats compared to control rats. This Pb poisoning also results in a disruption of various biochemical parameters including hematological, renal and hepatic biomarkers. In addition, the histological study showed lesions at liver tissue levels. Oral administration of phytic acid at a dose of 1% during the gestation period (21 days) resulted in weight gain compared to intoxicated rats. In addition, the behaviour tests: Dark & light, FST, Open Field and Morris Pool clearly show that phytic acid corrects anxiety, resignation, locomotor activity and spatial learning respectively compared to rats exposed to Pb. The results obtained from hematological and biochemical assays FNS, glucose, lipid, renal markers (urea, creatinine, uric acid), liver markers (TGO, TGP, PAL, BL, albumin, iron) and ionogram show a regulation of the values of all these parameters in rats intoxicated following administration of Aph compared to untreated intoxicated rats. Indeed, the histological study shows protection of the architecture mainly hepatic in rats treated with Aph compared to intoxicated rats. This series of experiments show that phytic acid has protective power against damage caused by the toxic effects of lead.

**Keywords:** lead acetate, phytic acid, brain, behaviour, liver, histological

## ملخص

الرصاص هو معدن موجود في البيئة ويعتبر عنصراً غير ضروري للوظائف الحيوية للجسم. يؤدي التعرض لهذا المعدن، حتى بجرعات منخفضة للغاية، إلى اختلال وظيفي كبير في الأجهزة المختلفة (الكبد، الدماغ، الكلى). ومن هذا، فإن الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التغيرات السلوكية العصبية والكيميائية الحيوية والنسجية في فئران المولودة من اناث المعرضة لـ 0.2% من الرصاص خلال فترة الحمل والرضاعة. لاختبار التأثير الوقائي لحمض الفانك على الأعضاء المستهدفة. التعرض دون المزمّن للرصاص خلال فترة النمو إلى انخفاض في وزن الجسم مقارنة بفئران الشاهد. إن استخدام اختبارات سلوكية مختلفة على وجه التحديد اختبارات القلق (اختبار الظلام والضوء)، والاكنتاب (الاختبار السباحة القسري) والنشاط الحركي (اختبار المجال المفتوح) التسمم بالرصاص يكشف بوضوح أنه يسبب اضطرابات سلوكية عصبية مما يؤدي إلى انخفاض نشاط الحركي، انخفاض في سلوك التعرف على المحيط الذي يعكس بداية التوتر والقلق والاكنتاب. علاوة على ذلك، في اختبار موريس، سجلنا انخفاضاً في قدرة التعلم المكاني والذاكرة في الفئران المسمومة بالرصاص مقارنة بالفئران الشاهد. هذا التسمم بالرصاص يؤدي أيضاً لاختلال في مختلف المعايير البيوكيميائية، ولا سيما المؤشرات الحيوية الدموية والكلى والكبدية. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت الدراسة النسجية بوجود جروح في مستويات أنسجة الكبد. بلغ حمض الفانك عبر الفم بجرعة 1% خلال فترة الحمل (21 يوماً)، يؤدي إلى زيادة الوزن مقارنة مع الفئران المسمومة. وعلاوة على ذلك، اختبارات السلوك: الظلام والضوء، السباحة القسري، الميدان المفتوحة وموريس تكشف بوضوح أن حمض الفانك يتصحح حالة القلق، النشاط الحركي والتعلم المكاني، على التوالي، مقارنة مع الفئران المعرضة للرصاص لنتائج التي تم الحصول عليها من فحوصات الدم والكيمياء الحيوية، الجلوكوز، الدهون، علامة الكلى (اليوريا)، الكرياتينين، حمض اليوريك، الكبد (TGO, TGP, PAL, BL, الألبومين، الحديد) و الأيونوغرام تظهر اعتدال قيم هذه المعايير في الفئران المسمومة بعد اخذها لحمض الفانك مقارنة مع الفئران المسمومة غير المعالجة. أيضاً، أظهرت الدراسة النسجية حماية الكبد بشكل رئيسي في الفئران التي عولجت بحمض الفانك مقارنة مع الفئران المسمومين. تظهر هذه السلسلة من التجارب أن حمض الفانك له تأثير وقائي ضد الأضرار الناجمة عن التأثيرات السامة للرصاص.

**الكلمات المفتاحية:** الرصاص، حمض الفانك، المخ، السلوك، الكبد، النسجي

# *Table des matières*

**Remerciements**

**Dédicace**

**Résumé**

**Liste des tableaux et des figures**

**Liste des abréviations**

**Introduction** .....1

**Chapitre I : le plomb**

1. Généralité .....5

2. Les propriétés physico-chimiques de plomb .....5

3. Les sources d'exposition au plomb.....6

4. La toxico-cinétique du plomb.....6

4.1. Absorption .....6

4.1.1. Absorption digestive .....6

4.1.2. La voie respiratoire..... 6

4.1.3. La voie cutanée.....7

4.2. Distribution .....7

4.2.1. Transport sanguin .....7

4.2.2. Transfert aux organes.....7

4.3. Excrétion.....8

5. La toxicité du plomb .....8

5.1. Intoxication aiguë.....8

5.2. Intoxication chronique.....9

5.2.1. Effet du plomb sur le système hématopoïétique.....9

5.2.2. Effet du plomb sur la fonction rénale .....9

5.2.3. Effet du plomb sur le système nerveux .....10

5.2.4. Autres effets.....	10
6. Le plomb et le stress oxydatif .....	12
6.1. Définition du stress oxydant.....	12
6.2. Marqueurs du stress oxydant.....	12
6.3. Plomb et le stress oxydatif.....	13
6.4. Toxicité au plomb et antioxydants .....	14
6.5. La thérapie par chélation .....	16

## **Chapitre II : Acide phytique**

1. Introduction .....	18
2. Structure et propriétés chimique de l'acide phytique .....	18
3. Localisation de l'acide phytique.....	19
4. Phytases.....	20
5. Mécanisme d'extraction de l'acide phytique .....	20
5.1. La synthèse.....	20
5.2. Hydrolyse .....	20
5.3. Méthodes préparatoires.....	21
6. Pharmacocinétique de l'acide phytique .....	22
6.1. L'absorption et distribution.....	23
6.2. La dégradation.....	25
7. Les effets négatifs de l'acide phytique.....	26
8. Les propriétés thérapeutiques de l'acide phytique .....	26

## **Chapitre III : Matériels et Méthodes**

1. L'objectif.....	32
2. Animaux d'expérimentation .....	32
3. Répartition des groupes .....	32
4. Evolution du poids corporel et poids des organes .....	34
5. Tests neurocomportementaux .....	34

5.1. Test de la nage forcée (Forced Swimming Test).....	34
5.2. Le test du compartiment obscurité/lumière (Light Dark test).....	35
5.3. Mesure l'activité locomotrice : Open field.....	35
5.4. La piscine de Morris(Labyrinthe aquatique).....	36
6. Prélèvement des échantillons.....	38
7. Dosage du plomb sanguin et cérébral .....	38
7.1. Plombémie .....	38
7.2. Dosage du plomb dans le cerveau .....	38
8. Détermination des paramètres hématologiques.....	39
9. Dosage biochimique.....	39
9.1. Dosage du glucose .....	39
9.2. Dosage des lipides .....	40
9.2.1. Dosage des triglycérides.....	40
9.2.2. Dosage de cholestérol .....	40
9.2.3 Dosage des HDL et LDL.....	41
9.3. Evaluation de la fonction rénale.....	41
9.3.1 Dosage de la créatinine et l'urée.....	41
9.3.2. Dosage de l'acide urique .....	42
9.4. Evaluation de la fonction hépatique.....	42
9.4.1 Dosage des transaminases.....	42
9.4.2. Dosage de la phosphatase alcaline .....	42
9.4.3. Dosage du bilirubine .....	43
9.4.4 Dosage de lactate déshydrogénase .....	43
9.4.5 Dosage d'albumine.....	43
9.4.6. Dosage de fer sérique .....	43
9.5. Dosage de calcium .....	43
9.6. Dosage du magnésium sanguin .....	44

9.7 Dosage du sodium, du potassium et du chlore.....	44
10. Étude histologique des organes .....	44
10.1 La fixation.....	44
10.2 l'inclusion.....	45
10.3. Déshydratation .....	45
10.4. Eclaircissement .....	45
10.5. Imprégnation .....	45
10.6. Les coupes .....	45
10.7. la coloration .....	45
11. Analyse statistique .....	46

#### **Chapitre IV: Résultats et interprétation**

1. L'effet du plomb sur la croissance pondérale.....	48
2. Tests neurocomportementaux .....	49
2.1 Evaluation de comportement anxieux(Light Dark Test).....	49
2.2 Evaluation de comportement dépressif (Test de la nage forcée).....	50
2.3. Evaluation de l'activité locomotrice( Open Field).....	52
2.4. Evaluation apprentissage spatial(piscine de Morris).....	53
3. Evaluation du taux de plomb sanguin et cérébral .....	55
3.1 La plombémie .....	55
3.2. Dosage du plomb dans le cerveau .....	56
4. Evaluation des paramètres hématologique .....	57
5. Dosage biochimique .....	62
5.1 Evaluation lipidique .....	62
5.2 Evaluation de la fonction rénale .....	63
5.2.1. Dosage de l'urémie .....	63
5.2.2. Dosage du créatinine .....	64
5.2.3. Dosage de l'acide urique .....	65

5.3. Evaluation de la fonction hépatique .....	66
5.3.1 Dosage des transaminases (TGO et TGP).....	66
5.3.2 Dosage de la phosphatase alcaline (PAL).....	68
5.3.3 Dosage de la bilirubine .....	68
5.3.4 Dosage de l'albumine.....	69
5.3.5 Dosage du fer sérique .....	70
5.4 Evaluation du lactate déshydrogénase.....	71
5.5. Evaluation de la calcémie .....	72
5.6. Evaluation du magnésium.....	73
6. Etude Histologique .....	74
6.1. Histologie hépatique .....	74
6.2. Histologie du cerveau .....	75
<b>Chapitre V : Discussion</b>	
1. Effet du Pb et Aph sur la croissance pondérale .....	78
2. Effets du plomb et l'acide phytique sur le comportement cognitif.....	79
3. Dosage du plomb sanguin et cérébral .....	83
4. Effet du plomb et l'acide phytique sur les paramètres hématologiques .....	85
5. Effet du plomb et l'acide phytique sur les paramètre lipidique .....	85
6. Effet du plomb et l'acide phytique sur les fonctions rénale .....	86
7. Effet du plomb et l'acide phytique sur les fonctions hépatique .....	87
8. Dosage du taux de LDH, calcium et magnésium.....	89
9. Etude histologique .....	90
<b>Conclusion.....</b>	<b>92</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>95</b>
<b>Annexe.....</b>	<b>113</b>

# *Introduction*

## Introduction

---

Les divers effets nocifs sur la santé publique associés à l'exposition à des métaux lourds toxiques dans l'environnement sont un sujet de grave préoccupation et un problème mondial. Parmi ces métaux lourds on note le plomb considéré le plus abondant dans l'environnement (**Patra et al., 2011**).

Les sources de plomb sont diverses, y compris les processus naturels et anthropiques tels que la combustion du charbon et de l'huile minérale, les fonderies, les unités de traitement des minerais et des alliages, les industries de la peinture (**Patra et al., 2007**).

Ce métal n'a aucun rôle biologique bénéfique détectable. Au contraire, son effet néfaste sur les dysfonctionnements physiologiques, biochimiques et comportementaux a été documenté chez l'animal et chez l'homme par plusieurs chercheurs. Le niveau plus élevé affecte le système nerveux central et périphérique, le système hématopoïétique, le système cardiovasculaire, les reins, le foie, et systèmes reproducteurs (**Khalil et al 1993 ; Ruff et al., 1996 ; Dressier et al., 1999**).

Récemment, les dommages tissulaires induits par le plomb ont été attribués, au moins en partie, au stress oxydatif induit par la substance toxique. Il stimule la formation des métallothionéines et des espèces réactives de l'oxygène (ROS), causant ainsi des dommages oxydatifs aux érythrocytes et à divers tissus entraînant une perte des fonctions membranaires. L'exposition à long terme au Pb augmente la peroxydation lipidique inhibition de l'activité Super Oxyde Dismutase (SOD) indiquant des dommages oxydatifs dans le foie, les reins et les testicules (**Patra et al., 2001**).

Le traitement du saturnisme repose essentiellement sur l'administration d'agents chélatants, molécules destinées à fixer le plomb in-vivo, à le mobiliser puis à faciliter son élimination de l'organisme. La thérapie nutritionnelle est une composante de la prévention et le traitement des complications à court et à long terme d'intoxication et des troubles qui y sont associés (**Pfeiffern AF., Weickert MO, 2003**).

L'hexaphosphate d'inositol (IP6), également connu sous le nom d'hexaphosphate de myo-inositol et d'acide phytique, est un composé naturel se trouve en quantités substantielles dans les grains entiers, céréales, légumineuses, noix et graines.

## Introduction

---

La structure unique d'acide phytique lui offre la capacité de chélater des cations divalents tels que le plomb, le cuivre et le fer. Fonctionne comme un antioxydant, empêchant la génération d'espèces réactives de l'oxygène responsables des lésions cellulaires et de la cancérogenèse (**Thorne., 2002 ; Vikas., 2009**).

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 des rats wistar et d'autre part, évaluer l'effet du traitement préventif de l'acide phytique selon une approche neurocomportementales, biochimique et histopathologique.

# *Chapitre I : Le plomb*

## 1. Généralité:

Le plomb 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 (**Bagur, 2011**)

Le plomb est un 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. Le foie est considéré comme le premier organe cible du plomb. C'est un organe central dans la régulation du métabolisme. C'est aussi un organe important dans les processus de défense (**Gargouri et al.,2015**).

## 2. les propriétés physico-chimiques de plomb :

Le plomb (Pb) est un métal mou, gris bleu, cristallise dans le système cubique à faces centrées. Sa densité est de 11,3. C'est un métal lourd appartient au quatrième groupe de la classification périodique. Sa masse atomique est de 207,2 g et son nombre atomique est égal à 82.il 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. Cet élément chimique est pratiquement insensible à la corrosion atmosphérique, grâce à la formation d'une pellicule protectrice d'oxyde, d'hydrate et de carbonate de plomb. Ce métal lourd 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. En fonction de l'origine des aliments consommés. L'alimentation contribue pour une part parfois non négligeable à l'apport 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 (**Adli, 2015**).

## **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 est solubilisé pour être absorbé hors l'acide chlorhydrique. 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 (**Lakel et al., 2012**).

#### **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 1 µm atteignent les alvéoles pulmonaires et traversent le filtre alvéole capillaire, les particules de 5 à 10 µm, piégées dans la partie supérieure de l'arbre respiratoire, sont évacuées par les mouvements ciliaires et déversées dans le tube digestif ou elles peuvent être

absorbées. Lorsque 90% des particules avaient un diamètre de 0,01 à 0,1  $\mu\text{M}$  pratiquement tout le plomb est retenu dans les voies respiratoires, et 35 à 50% du plomb total inhale 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 (Lakel et al., 2012).

#### **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 (Lakel et al., 2012).

## **4.2. Distribution**

### **4.2.1. Transport sanguin**

Une fois absorbé, la quasi-totalité du plomb est fixée aux globules rouges, plus 90% du plomb inorganique. Il est transporté sous forme de plomb diphosphate à la fois dans le cytoplasme pour 90% et dans la membrane du stroma pour les 10% restants. 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 le tissu sans phénomènes de transport actifs. Ils ont montré que les composés de plomb organiques sont distribués d'une manière quelque peu différente puisque la proportion de plomb dans le plasma est supérieure. 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 (Missoun, 2011).

Dans le foie, la distribution du 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 dans la corticale, surtout dans les tubules proximaux (Missoun, 2011).

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 (**Missoun, 2011**).

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 (**Missoun, 2011**).

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 6 mois après la fin de l'exposition. Bien que le stockage du plomb ait un impact limité sur la santé (**Missoun, 2011**).

### **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: chez les femmes qui sont exposées, 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

Si l'exposition par ingestion prédomine dans la population générale, et l'inhalation en milieu professionnel. Ces deux voies sont le plus souvent indiscernables l'une de l'autre.

Pour pallier la difficulté qui consiste à identifier ces différentes voies et sources d'exposition. Les effets du plomb sur l'homme sont identifiés à partir de la dose interne de plomb mesurée dans le sang (plombémie) (**Seddik, 2014**).

### 5.2.1. Effet du plomb sur le système hématopoïétique :

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 du sang 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.

Le plomb est disponible pour induire des changements dans la composition lipidique et protéique de la membrane des globules rouge pour inhiber la synthèse de l'hémoglobine. Par ailleurs, acide amino lévulinique déshydratase (ALAD) est la cible privilégiée du plomb dans l'érythrocyte. En prenant la place du zinc, le plomb permettrait cette oxydation. Empêchant ainsi la condensation des deux molécules d'ALA.

Le plomb libre ionisé modifie les propriétés de nombreuses protéines cytosoliques et membranaires, on se liant de façon réversible avec les groupements thiols. Il inhibe ainsi l'activité de nombreuses enzymes. Un point d'impact majeur se situe au niveau des enzymes de la biosynthèse de l'hème (**Bendada, 2002**).

### 5.2.2. Effet du plomb sur la fonction rénale

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). Une exposition chronique intense au plomb est associée à des altérations de néphrosclérose et à une atrophie corticale.

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. 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**).

### **5.2.3. Effet du plomb sur le système nerveux**

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 : 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 respiratoire (**Ouldali, 2012**).

### **5.2.4. Autres effets**

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. Aux niveaux

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 qu'une augmentation de la stimulation cardiaque et la sensibilité des récepteurs adrénergiques et dopaminergiques vasculaire **(Kahloula, 2010)**.

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'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 (plombémies de 700 µg/L) un retard général de croissance (poids et taille) de 10 % **(Kahloula, 2010)**.

Le plomb a des effets sur le métabolisme osseux, en inhibant l'action parathormone sur l'adénylcyclase. 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. De même, les sels de plomb diminuent la fertilité. Ils sont capables de traverser la barrière placentaire et de provoquer un embryon et une foetoletalité. 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 **(Kahloula, 2010)**.

L'acétate de plomb et le phosphate de plomb ont été testés chez le rat par voie orale, sous-cutanée ou intra-péritonéale. Des tumeurs rénales ont été observées chez les rats suite à une intoxication par les différentes voies d'administration. L'induction

de carcinomes rénaux est en fonction de la dose ingérée et n'apparaît qu'à des doses néphrologiques. L'acétate de plomb administré par voie orale chez le rat entraîne également l'apparition de gliomes. D'autres types de tumeurs ont été rapportés: surrénales, testicules, prostate chez le rat, poumons chez la souris de souche «A», leucémies chez la souris suite à une intoxication à l'acétate de plomb (**Kahloula, 2010**).

## **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 peroxydants 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 singlet, 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 sulfhydrile 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.

Il existe deux enzymes spécifiques, la glutathion réductase (GSH-Rase) et l'acide delta-amino-levulinique 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-aminolévulinique (ALAD) qui est connu pour stimuler la formation de ROS justifiée par les niveaux élevés de MDA (**Ahamed et al., 2005**).

Le GSH-Rase 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 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**).

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 agit 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 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.

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**). Dans ces expériences, la taurine présentait des propriétés antioxydantes et stabilisatrices de la membrane.

Il est clair aujourd'hui que les différents types d'agents chélateurs ont un effet toxique ou des désavantages. Ainsi, la possible intervention alimentaire ou la supplémentation par des nutriments naturels pour prévenir les effets toxiques des métaux chez les populations à risque est d'intérêt (**Mehta et Shaha, 2004**). 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, incluant les métaux lourds (**Mandy et al., 1997 ; Richa et Flora, 2004**).

Toutes les parties de plantes sont considérées comme une bonne source en de larges 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 antioxydants peut contribuer de manière efficace contre les dommages induits par l'exposition aux métaux lourds, plus particulièrement en luttant contre le stress oxydant (**Geetha et al., 2003 ; Richa et Flora, 2004**).

### 6.5 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 de 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**). L'un des chélateurs les plus fréquemment utilisés dans le traitement de la toxicité des métaux lourds est le dimercaprol ((RS) -2,3-disulfanylpropan-1-ol, BAL) (**Blanusa et al., 2005**). Le BAL est un composé contenant deux groupes -SH et est utilisé comme agent préféré pour la toxicité de plomb, du mercure, du cadmium et d'autres métaux. Le dimercaprol entre en compétition avec les groupes thiol d'enzymes pour lier le plomb ou d'autres métaux pour former un chélate métallique stable qui est ensuite excrété du corps dans l'urine.

Un autre chélateur efficace utilisé dans le traitement de la toxicité du plomb c'est CaNa<sub>2</sub>EDTA (**Patrick, 2006**). Puisque ce médicament ne chélate que du plomb extracellulaire (pas intracellulaire), il est fréquemment utilisé conjointement avec le BAL pour augmenter son efficacité.

L'acide dimercaptosuccinique (DMSA) est un analogue du dimercaprol et est indiqué pour le traitement de l'empoisonnement au plomb ou à l'arsenic chez les enfants (**Bradberry et Vale, 2009; Andersen et Aaseth, 2002**). Le DMSA peut traverser la barrière hémato-encéphalique de certains animaux de laboratoire, mais pas celle des humains, limitant ainsi son utilisation dans le traitement de la maladie.

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**).

***Chapitre II :***  
***Acide phytique***

### 1. Introduction :

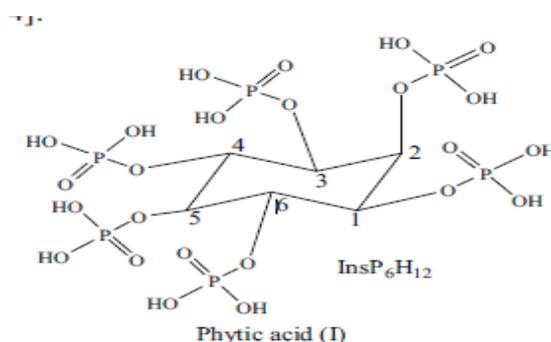
L'acide phytique (IP6, myo-inositol hexakisphosphate) est un composé naturel utilisé dans le règne végétal comme forme de stockage du phosphore, il représente environ 75% du phosphore total dans les grains des plantes, mais surtout les céréales, les légumineuses et les noix sont les principales sources alimentaires de l'IP6 (Sanchis et al., 2017).

L'acide phytique est généralement considéré comme un antinutriment en raison de sa capacité à chélater les minéraux divalents et réduire leur absorption et est également considéré comme bénéfique pour la même propriété (Graf et al., 1984).

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 (Schlemmer et al., 2009).

### 2. Structure et propriétés chimique de l'acide phytique.

L'acide phytique (InsP6) ( $C_6H_{18}O_{24}P_6$ ), a été isolé de la graine de blé par Hartig en 1872 et identifié comme un ester de myo-inositol et d'acide phosphorique par Winterstein en 1897. Et dans des conditions de type physiologique, adopte une conformation de chaise préférée avec 1 groupe phosphate équatorial et 5 groupes phosphate axial (Sanchis et al., 2017). Huit des douze groupes hydroxyle portent des charges négatives qui, avec sa petite taille, se transforment en IP6 en une molécule à forte densité de charge négative (Fig.1).



**Figure 1** : La structure chimique de l'acide phytique (Diouf et al 2017)

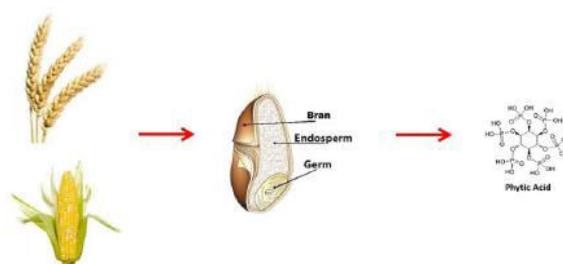
(Conformation: 5 axiale / 1 équatoriale)

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.*, 1990).

### 3. Localisation de l'acide phytique :

Acide phytique est un composé végétal naturel formé au cours de la maturation des graines et des céréales, contribue environ 1 à 7% de leur poids sec, Il peut représenter plus de 70% du phosphore total des graines. Généralement, dans de nombreuses espèces végétales, 90% de l'acide phytique est localisé dans la couche d'aleurone et seulement 10% dans l'embryon (Vucenik *et al.*, 1993).

Graphical abstract



**Figure 2** : l'acide phytique dans les graines (Sidorova *et al.*, 2015)

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. L'existence d'InsP6 intracellulaire dans les cellules de mammifères a également été établie (Grases *et al.* 2005). De plus, les concentrations trouvées dans les fluides biologiques (sang, urine, liquide interstitiel) et dans les tissus des mammifères dépendaient clairement de l'apport alimentaire. (Perello *et al.*, 2005)

Des études récentes ont démontré que l'effet antinutritif de l'acide phytique ne peut se manifester que lorsque de grandes quantités d'acide phytique sont consommées en combinaison avec un régime pauvre en oligoéléments (Shamsuddin *et Vucenik*,

2005). 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 avec plasma induit ( **Saad et al., 2011**).

#### 4. 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**), mais elles hydrolysent les phytates ainsi que d'autres phosphates organiques comme les phosphates inositol (**Schlemmer et al., 2009**). Le clivage des groupes phosphate conduit à des inositolphosphates phosphorylés et au phosphate inorganique et s'arrête 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., 2009**).

#### 5. Mécanisme d'extraction de l'acide phytique :

##### 5.1. La synthèse :

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. Le myo-inositol peut être phosphorylé avec de l'acide polyphosphorique à 160 ° C et purifié par chromatographie d'échange d'ions (**Frank, 2013**).

##### 5.2. Hydrolyse :

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 (Frank, 2013).

### 5.3. Méthodes préparatoires :

L'acide phytique peut être isolé des graines d'une variété d'espèces végétales par extraction avec de l'acide. Certaines des sources pour lesquelles des procédures détaillées ont été décrites sont énumérées dans le **tableau 1**.

Malgré la disponibilité de plusieurs méthodes de synthèse, l'acide phytique est rarement préparé par synthèse chimique, car il est si facilement disponible à partir de sources naturelles. Les solutions d'acide phytique contenant des sels peuvent être dessalées par chromatographie d'échange d'ions ou plus commodément par dialyse (Frank, 2013).

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

Types d'aliments	Phytate (mg/g)
Riz (poli cuit)	1,2- 3,7
Riz (non cuit)	12,7-21,6
Pain de maïs	4 ,3-8,2
Pain de maïs sans levain	12,2-19,3
Pain de blé	3,2-7,7
Pain de blé sans levain	3,2-10,6
Pain de seigle	1,9-4,3
Pain de seigle au levain	0,1-0,3
Pain de farine (70 % blé et 30 % seigle)	0,4-1,1
Pain de farine (30 % blé et 70 % seigle)	0-0,4
Pain français	0.2-04
Cornflakes	0,4-1,5
Flocons d'avoine	8,4-12,1

<b>pâtes</b>	<b>0,7-9,1</b>
<b>sorgho</b>	<b>5,9-11,8</b>
<b>Bouillie d'avoine</b>	<b>6,9-10,2</b>
<b>Pois verts</b>	<b>1,8-11,5</b>
<b>soja</b>	<b>9,2-16,7</b>
<b>tofu</b>	<b>8,9-17,8</b>
<b>lentilles</b>	<b>2,1-10,1</b>
<b>cacahuètes</b>	<b>9,2-19,7</b>
<b>Pois chiche</b>	<b>2,9-11,7</b>
<b>niébé</b>	<b>3,9-13,2</b>
<b>Haricots noirs</b>	<b>8,5-17,3</b>
<b>Haricots blancs</b>	<b>9,6-13,9</b>
<b>Haricots rouges</b>	<b>8,3-13,4</b>
<b>Graines de sésame</b>	<b>39,3-57,2</b>
<b>Isolat de protéine de soja</b>	<b>2,4-13,1</b>
<b>Concentré de protéines de soja</b>	<b>11,2-23,4</b>
<b>sarrasin</b>	<b>9,2-16,2</b>
<b>amarante</b>	<b>10,6-15,1</b>

### 6. Pharmacocinétique l'acide phytique :

Inositol hexaphosphate forme des conjugués chélatant avec des minéraux importants sur le plan nutritif tels que le calcium, le magnésium, le cuivre, le fer ( $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Fe}^{3+}$ ), le zinc, le cobalt et manganèse, et peut entraîner une biodisponibilité réduite de ces minéraux. En raison de cette propriété de chélation l'hexaphosphate d'inositol est dégradé en formes polyphosphorylées d'inositol et finalement en inositol par l'enzyme méso-inositol hexaphosphate phosphorydrolase (phytase), qui est largement distribué dans les plantes, les animaux et les champignons. L'hexaphosphate d'inositol est également déphosphorylé par la phosphatase acide dans les céréales les sons et la phosphatase alcaline intestinale (**Sakamoto et al., 1993**)

La pharmacocinétique de l'IP6 administré par voie exogène n'a pas été bien caractérisée. Lorsque les rats ont été traités par  $[3\text{H}]$ 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 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 IP6, l'ingestion de 1 g de phytate de Na a entraîné des concentrations plasmatiques IP6 maximales à 4 heures trois fois plus élevées que les concentrations initiales. L'excrétion urinaire d'IP6 était similaire après différentes préparations d'IP6 (**Eiseman et al., 2011**). 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 n'ont pas été affectées. Les concentrations d'IP6 dans la lignée cellulaire du cancer du sein humain, MDA-MB-231, n'ont pas été modifiées après une exposition à IP6 pendant 1 heure dans le milieu, mais les concentrations d'inositols inférieurs ont augmenté d'environ deux fois plus (**Robinson et al., 1996**).

L'absorption de l'IP6 extracellulaire est encore controversée. Parce que l'IP6 est une molécule fortement chargée à pH physiologique (**Eiseman et al., 2011**).

### **6.1. L'absorption et distribution :**

L'acide phytique est absorbé rapidement au niveau de tractus gastro-intestinal, il est totalement absorbé de l'estomac vers l'intestin grêle, acidité de l'estomac facilite son absorption. L'acide phytique n'est pas totalement absorbé au niveau des intestins, certaines quantités restent puis éliminées par les déchets (**Sakamoto et al., 1993**).

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'InsP6 intracellulaire provient probablement de la cellule. De ces résultats, il peut être déduit que les avantages pour la santé liés à InsP6 extracellulaire doivent être liés à InsP6 alimentaire (**Grases et al., 2005**).

Bien qu'il existe encore des incertitudes sur la synthèse d'IP6 in vivo dans les cellules de mammifères et son absorption, il est clair que l'IP6 est une molécule qui peut être rapidement déphosphorylée en IPs inférieurs. Divers IP ont été trouvés in

in vitro après l'application exogène extracellulaire de IP6 et surtout inositol et IP1 ont été trouvés après l'administration in vivo .De même, les 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)**.

Ont trouvé des preuves de son internalisation via la pinocytose, et différentes études utilisant  $^{14}\text{C}$ - et  $^3\text{H}$ -IP6 ont montré qu'il est absorbé et récupéré dans le sang, les organes (principalement dans le cytosol cellulaire), les os, l'urine **(Vucenik et al., 2006)**.

D'autres études ont indiqué que la prise de grandes quantités de IP6 (~ 2g / jour) dans un équilibre équilibré n'a pas eu d'effets négatifs sur la biodisponibilité minérale. Dans tous les cas, la capacité de chélation notoire d'IP6 s'est traduite dans son application comme agent détoxifiant contre des métaux comme le Cd ou le Pb **(Sanchis et al., 2017)**.

Il est clair que les concentrations d'InsP6 sont élevées dans certaines cellules ( $30 \pm 100$  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)**.

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 avec InsP6, en raison de la formation d'espèces insolubles dans le tractus gastro-intestinal lorsque InsP6 est administré par voie orale **(Grases et al., 2005)**.

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), et donc dans la prévention de l'urolithiase rénale [ $14 \pm 17,20$ ], 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)**

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 (**Kelsay et al., 2002**)

Des composés d'inositol ont également été trouvés jouer un rôle important en tant que second messager intracellulaire. Une membrane stimulée par un agoniste récepteur active la phospholipase C, ce qui augmente hydrolyse du phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate produire 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 ( $\text{Ca}^{2+}$ ) 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 (**Sakamoto et al., 1993**).

## 6.2 La dégradation :

Des études chez l'homme ont montré que 37 à 66% des phytates alimentaires sont dégradés lors de la digestion dans l'estomac et l'intestin grêle lorsque le régime alimentaire est riche en phytases alimentaires végétales.

Chez l'homme, l'hydrolyse principale des phytates se produit dans le grand intestin au moyen de phytases microbiennes. Même si l'activité des phosphatases alcalines est beaucoup plus élevée que celle des phytases du gros intestin, les études in vivo laissent supposer que les phosphatases alcalines ne contribuent pas à la dégradation du phosphate d'inositol et que les phytases microbiennes sont responsables de la forte hydrolyse des phytates dans le gros intestin (**Schlemmer et al., 2009**).

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**).

### **7 Les effets négatifs de l'acide phytique :**

IP6 est un chélateur métallique puissant, en particulier de Fe, Zn, Mg et Ca<sup>2+</sup>. 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, de mauvais résultats de grossesse, une altération de la croissance, une immunité et une fonction cognitive, ce qui souligne la nécessité d'optimiser la biodisponibilité du zinc (**Lonnerdal, 2002**)

Le phytate forme un complexe fort avec quelques protéines et dans la résistance de leur protéolyse. 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 forme 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 les protéines digestibilité (**Kumar et al., 2010**).

### **8. Les propriétés thérapeutiques de l'acide phytique**

De nombreuses études ont montré que l'Aph a un large spectre d'activités biologiques, tel que l'antioxydant (**Ahn et al., 2004**), anticancéreux (**Norazalina et al., 2010**), la neuroprotection 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, et des calculs rénaux (**Grases et al., 2000**) et la diminution des triglycérides hépatiques (**Szkudelski, 1998**).

Malgré des informations limitées sur les fonctions de l'IP6 chez les animaux, de nombreuses études ont démontré que l'IP6 possède une activité chimiopréventive ainsi qu'une activité anticancéreuse thérapeutique dans une grande variété de types de tumeurs, in vitro et in vivo (**Eiseman et al., 2011**).

Des études in vitro ont montré que l'IP6 inhibe la croissance et induit la différenciation et l'apoptose des cellules cancéreuses humaines du sein, du côlon, de la prostate et du foie. IP6 inverse le phénotype transformé des cellules de cancer du foie HepG2. Les concentrations d'IP6 requises pour produire des actions anticancéreuses dans la culture cellulaire tendent à se situer dans la gamme des micromoles élevées par litre ou millimole par litre (**Eiseman et al., 2011**). L'action antinéoplasique de InsP6 a été établie dans les deux modèles de cancérogenèse in vivo et in vitro ont démontré que l'InsP6 exerçait une action chimiopréventive et effets chimiothérapeutiques sur le côlon des rongeurs et que dans un modèle fibrosarcome transplanté; ces effets ont été augmentés lorsque InsP6 administré par voie orale; et InsP6 supprimé le taux mitotique autrement élevé (normalisation) dans les cryptes du côlon des animaux traités avec un agent cancérogène (**Sakamoto, 1993**). Ces résultats ont mis en évidence l'utilisation thérapeutique potentielle de l'IP6.

Chez les humains, l'apport en phytates réduit la réponse de la glycémie (indice glycémique) Cela peut être parce que le phytate forme des complexes avec des hydrates de carbone d'aliments 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. De plus, la réduction de réponse au glucose, c'est-à-dire, indice glycémique faible, Une consommation de céréales et de légumineuses peut aider les diabétiques à contrôler le glucose dans le sang (**Kumar et al., 2009**).

L'acide phytique et les polyphénols ont tous deux été montré pour jouer un rôle dans la réduction du taux in vitro de la digestibilité de l'amidon et éventuellement la réponse de la glycémie, montrent également que l'acide phytique peut affecter la digestibilité de l'amidon interaction avec l'amylase, la protéine et / ou la liaison avec minéraux salivaires tels que le calcium (**Dilworth et al., 2005**).

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 contaminants. 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, continuent de constituer une menace pour la santé publique (**Cùneo et al., 2006**).

Il a été démontré que l'acide phytique inhibe la formation d' $\text{OH}\cdot$  et diminue la peroxydation lipidique catalysée par le fer et l'acide ascorbique dans les érythrocytes humains (**Graf et Eaton, 1990**).

L'effet antiradical de l'acide phytique se produit par chélation du fer nécessaire à la génération du radical hydroxyle ( $\cdot\text{OH}$ ) via la réaction de type Fenton (**Obata, 2003**).

L'IP6 est également apparu comme un puissant antioxydant. Ceci est basé sur sa capacité à chélater fer, qui se produit à travers les trois groupes phosphate en positions 1, 2 et 3. Ces groupes phosphate sont flexibles et lient le fer de la façon dont les six sites de coordination sont occupés par des groupes hydroxyle un complexe stable. La formation de radicaux libres nécessite au moins un site de coordination libre de Fe. Ainsi, la formation du complexe IP6-Fe, où Fe est entièrement chélaté, inhibe la formation de radicaux  $\text{OH}\cdot$  via la réaction de Fenton (**Sanchis et al., 2017**).

L'acide phytique a été utilisé avec succès pour empêcher la formation de calculs rénaux (**Sakamoto et al., 1993**), l'action du phytate comme un inhibiteur de cristallisation a lieu à la fois dans le tissu intrapapillaire et urine (**Grases et al., 2007**).

Dans les fruits et légumes, l'acide phytique aide à prévenir le brunissement oxydatif en inhibant polyphénol oxydase, lorsqu'il est ingéré par les humains, il peut réduire le risque de cancer du côlon et d'autres maladies inflammatoires de l'intestin. 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**).

La thérapie par chélation est une méthode optimale pour réduire les risques liés aux radionucléides, Les résultats 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 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 solution aqueuses (**Tsao et al., 1997**).

L'Aph n'a pas été largement étudié en tant qu'antimicrobien naturel agent. Le mécanisme par lequel les acides organiques exercent leur action antimicrobienne l'activité est généralement expliquée 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'Aph est probable être très différent de celui des autres acides organiques, car Aph a une structure unique ,12 protons remplaçables sur six réactifs des groupes phosphate liés à un cycle cyclique à six carbones, et une large plage d'acidité (pKa de 1,9 à 9,5) (**Kim et al., 2014**).

Certaines de ces propriétés sont liées à 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**).

Par conséquent, compte tenu des rôles positifs de l'IP6, de ses occurrences naturelles dans notre alimentation et de sa présence omniprésente à de faibles niveaux dans les liquides et les tissus animaux, il devient clair que cette molécule pourrait être considérée comme une vitamine. De plus, bien qu'il ne nuise pas aux niveaux normaux de minéraux dans le corps, il empêche très certainement la minéralisation anormale et pathologique. À l'heure actuelle, nous ne sommes pas certains que ce soit seulement IP6 ou ses métabolites, inositol ou IP1-5, qui sont biologiquement actifs protection pour la santé humaine (**Grases et al., 2011**).

**Tableau 2 :** l'effet thérapeutique de l'acide phytique

<b>Effets</b>	<b>Mode d'action</b>	<b>Référence</b>
Protection contre le cancer du colon	Produire de l'acide butyrique par fermentation et conduire à une réduction du pH de l'intestin et du métabolisme des acides biliaires. Inhibe la réaction oxydative à médiation par le fer à la régulation de l'expression des gènes suppresseurs de tumeurs	Midorikawa et <i>al</i> (2001), Coradini et <i>al</i> (2000), Shamsuddine et <i>al</i> (2002), Shamsuddine and Saied(1998)
Protection contre le carcinome mammaire La prévention du carcinome hépatocellulaire	Stimule l'apoptose des cellules cancéreuses du sein humain. Effet synergique du phytate et de l'inositol sur l'arrêt de la division cellulaire. Améliore l'activité du gène suppresseur de tumeur. Favorise la différenciation des cellules malignes et la conversion des cellules cancéreuses en phénotypes moins agressifs	Vecunik et Shamsuddine (2003) Vecunik et <i>al</i> (1993) al Sherbiny et <i>al</i> (2001) Vecunik et al(1998)
Prévention des cellules cancéreuses de la prostate	Altère à la fois les récepteurs médias par les récepteurs de facteur de croissance et l'endocytose en phase liquide inhibe les signaux mitogéniques.	Zi et <i>al</i> (2000)
La prévention du cancer du rein	Supprime les cellules cancéreuses et induit la différenciation cellulaire	Vecunik et <i>al</i> (1998)
Prévention du cancer du pancréas	Agit comme adjuvant pour le traitement du cancer du pancréas et augmente la sensibilité aux thérapies conventionnelles.	Somasundar et <i>al</i> (2005)
Prévention du cancer du sang et de la moelle osseuse	Différenciation accrue des cellules de carcinome. Augmente la synthèse de l'hémoglobine	Shamsuddine et <i>al</i> (1992)
Réduction du risque de maladie coronarienne	Abaisse les taux sériques de cholestérol et des triglycides.diminue le taux sérique de zinc et stabilise le taux de cuivre zinc	Jariwalla et <i>al</i> (1990)Klevay(1975) Persson et <i>al</i> ,(1998)
Réduction de l'incidence de la stéatose hépatique	Réduit l'activité des enzymes hépatique impliquées dans la lipogénèse	Katayama (1997)
Réduction de l'incidence du diabète sucré	Baisse de la réponse de glucose sanguin. Régule la sécrétion d'insuline via son effet sur l'activité du calcium	Larsson et <i>al</i> (1997)Bareker and Berggern (1998)
Protection contre le virus de l'immunodéficience VIH	Agit sur VIH et l'antigène spécifique du VIH à un stade précoce de la réplication	Otake et <i>al</i> ,(1989-1999)
Protection contre la carie dentaire	Abaisse la solubilité du calcium, du fluorure et du phosphate, les principaux composants de l' enamel.	Kaufinan and Kleinberg (1971)
Prévention de la lithiase rénale	Stabilise le taux de nucléation des cristaux ( sels minéraux et acides) dans l'urine	Felix et <i>al</i> (2006)

# ***Chapitre III : Matériels et Méthodes***

### 1. L'objectif :

Ce travail consiste à évaluer l'effet prophylactique de l'acide phytique face à une intoxication sub-chronique (gestation, lactation) à travers une étude neurocomportementale, biochimique et histopathologique.

### 2. Animaux d'expérimentation :

Les expériences ont été réalisées sur des rats Wistar, pesant entre 170 à 300 gramme, hébergé au niveau de l'animalerie du département de biologie (université de Saïda).

Les rats sont regroupées par 4 cages de Makrolon (L x l x H=40×25×18 cm) a raison de 3 femelles et un male, disposées dans une salle ventilée, a une température de 21°C ± 1°C. Les animaux ont accès ad libitum à la nourriture (croquet pour rongeur et à un biberon rempli d'eau du robinet.

Les rats femelles gestantes (J0) sont séparées chacune dans une cage pour avoir nombre des ratons supérieur ou égale 7 de chaque lot.

### 3. Répartition des groupes :

A J0 de la gestation les femelles sont divisées en 4lots :

**Lot (T)** : constitué d'animaux reçoit de l'eau bidistillée

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

**Lot (Aph)** : constitué lot témoin ayant reçu l'acide phytique par voie orale a raison 1% (**Daley et al.,2012**) dans l'eau distillée du premier jour de gestation jusqu'au jour de sevrage

**Lot (Aph → Pb)** : constitué des rats ayant reçu l'acide phytique dès le 1<sup>er</sup> jour de gestation (21jour), ensuite exposés au plomb durant la période de lactation (21jour)

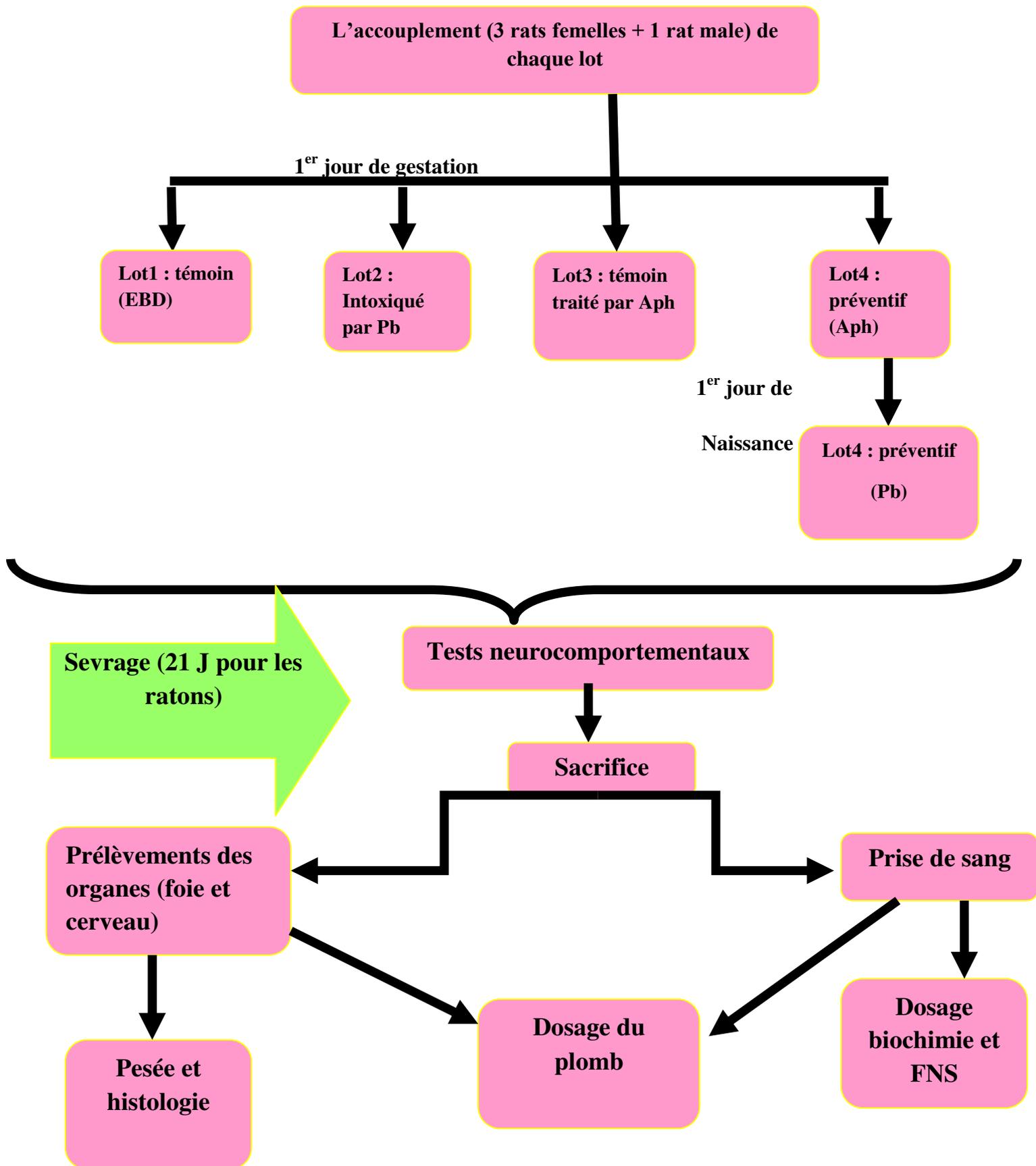


Figure 3: Protocole expérimental

#### 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 (3 semaines) ensuite, nous avons procédé au sacrifice de ces rats et le poids de cerveau et du foie des 6 lots a été enregistré. Ces organes sont utilisés pour l'étude histologique et dosage du plomb.

#### 5. Tests neurocomportementaux :

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

Cette épreuve permettant la sélection de molécules à activité antidépressive. Elle est basée sur la constatation qu'un rat est obligé de nager dans un espace restreint duquel il ne peut s'échapper (cylindre de 20 cm de diamètre et de 40 cm de hauteur) rempli de 30 cm d'eau maintenu (22 -23°C).

Après une période de nage active, les rats s'immobilisent et flottent à la surface de l'eau. Cette immobilité est vue comme un comportement dépressif. On calcule ce temps d'immobilité. La durée du test est de 6 mn (**Porsolt et al., 1977**).



**Figure 4:** Test de la nage forcé

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

Ce test permet à l'animal d'explorer une arène formée de deux compartiments : l'un éclairé, l'autre sombre. Les rats ont généralement horreur des endroits très éclairés. Ainsi, plus l'animal est anxieux, plus son exploration se réduira au compartiment sombre.

Nous avons évalué le temps de séjour dans chaque compartiment après 3 minutes d'exploration du milieu par le rat. Duré de l'expérience est de 5 mn (**Kahloula, 2010**).



**Figure 5:** Test de l'anxiété chez le rat (compartiment éclairé /obscur)

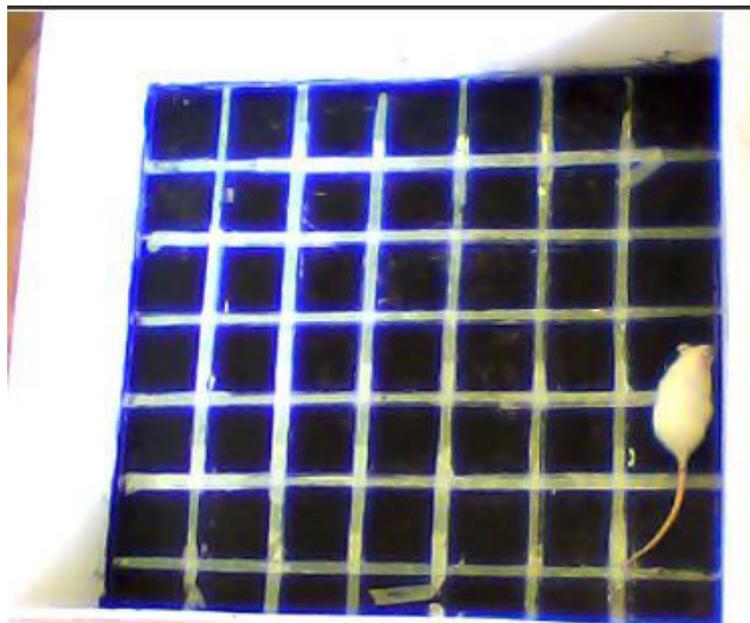
### 5.3 Mesure l'activité locomotrice : Open Field

L'activité locomotrice des rats est caractérisée par l'activité horizontale et verticale des animaux dans la cage d'expérimentation. L'observation des animaux commence quelque secondes après l'introduction des animaux dans la cage d'observation. On l'utilise avant tout pour mesurer ses fonctions motrices. Mais aussi, pour évaluer son degré d'anxiété (**Kullijako-Movits et al., 2005**).

Chaque rat était initialement placé dans un des quatre coins de l'open Field, la tête orientée vers le coin. Son comportement était observé pendant 6 min. six paramètres étaient mesurés par l'expérimentateur :

1. Temps de latence : c'est le temps mis par le rat pour sortir des quatre carreaux formant le coin
2. Nombre des carreaux traversés par le rat pendant 6 min, qui reflète son activité locomotrice horizontale
3. Nombre des visites au centre
4. Nombre de redressement (activité locomotrice verticale)
5. Nombre de toilettage
6. Nombre défécation

Entre chaque essai on nettoie la cage par l'éthanol 10%



**Figure 6 :** Test 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 a 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 (**figure 7**).

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 effectuée après le dernier jour d'apprentissage. La plate-forme est retirée du bassin et l'animal est placé au point le plus loin de la plateforme. Le temps passé 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, pour tester la vision des rats.



**Figure 7:** La piscine de Morris

## 6. Prélèvement des échantillons :

A la fin des expériences neurocomportementales, les rats sont sacrifiés. Après 12 h de jeun, en les anesthésiant et les décapitant. Le sang est récupéré dans les tubes EDTA (FNS et plombémie) et héparine pour le dosage biochimique.

Les organes prélevés (foie et cerveau) sont rincés par l'eau physiologique (NaCl 0.9%), séchés, pesés, puis sont conservé dans le formaldéhyde dilué 9% pour histologie.

## 7. Dosage du plomb sanguin et cérébral :

### 7.1. Plombémie :

Le dosage du plomb dans le sang par absorption atomique a été réalisé au niveau 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 9ml d'eau distillé) d'échantillon. 1ml d'acide nitrique et 20ul de solution d'acide phosphorique, injecter dans le four 10ul sécher à 125°C pendant 40 secondes, calciner à 450°C pendant 45 secondes puis atomiser à la température de 2000°C pendant 5 secondes, effectuer 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, effectué au sein du laboratoire d'analyse de la qualité (AFAK , Oran), technique nécessitant la formation de solution minérales 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.

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

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.

Calcul, et expression des résultats :

Le calcul se fera par simple comparaison de la courbe et par simple règle de trois.

$$\frac{P.Ec.1000}{Dilution} = P.Es \text{ mg/l}$$

$$\frac{Abs \text{ Es, C étalon}}{Abs \text{ étalon}} \cdot \frac{1000}{P.Es \text{ mg/l}} = X \text{ ug/ de Pb}$$

Avec :

P.Es mg/l : Prise d'essais en mg/l

P.Ec : prise de l'échantillon

Abs : Absorbance

C : Concentration

## 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. dosage biochimique :

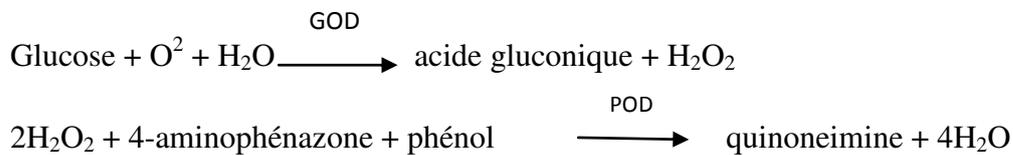
### 9.1 Dosage du glucose :

#### Principe :

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 par spectrophotomètre à 500 nm.

La réaction enzymatique est la suivante :



### Mode opératoire :

Les tubes échantillons contiennent 10 uL d'échantillon (sérum) et 1 ml du mélange réactionnel, alors que le tube du standard contient 10 uL de la solution étalon et 1 ml 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 =  $n * A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Etalon}}$

$n = \text{concentration de l'étalon} = 5.5 \text{ mmol/l} = 100 \text{ mg/dL}$

## 9.2. Dosage des lipides :

### 9.2.1. 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 :

Lipase:  $\text{TG} + 3 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Glycerol} + 3 \text{AG}$

GK:  $\text{Glycerol} + \text{ATP} \rightarrow \text{Glycerol-3-phosphate} + \text{ADP}$

GPD:  $\text{Glycérol-3-phosphate} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{DHAP} + \text{NADH}, \text{H}^+$

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

### 9.2.2. Dosage de Cholestérol:

Nous avons utilisé la méthode de Thomas (1992) :

Une première réaction fait en sorte que les esters de cholestérol sont hydrolysés en cholestérol libre par une 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Le peroxyde formé est réduit en H<sub>2</sub>O par un indicateur en présence de peroxydase (on mesure la quinone-imine produite à 500 nm).

Cholestérol estérase : (stérides + cholestérol libre) + H<sub>2</sub>O → cholestérol total libre

Cholesterol oxydase: cholesterol total libre + O<sub>2</sub> → Cholesténone 4 one 3 + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Peroxydase: 2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Chromogène Incolore → 4 H<sub>2</sub>O + Chromogène coloré.

### 9.2.3. 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 5 000 g, 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 formule de Friedwald :

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

## 9.3 Evaluation de la fonction rénale

### 9.3.1 Dosage de la créatinine et l'urée

La créatinine a été déterminée dans le sérum par Jaffé réaction 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 du a 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 2NH<sub>3</sub>, le glutamate déshydrogène catalyse l'animation réductrice de l'α-cétoglutarate en

présence de  $\text{NH}_3$  et de  $\text{NADH}$ ,  $\text{H}^+$ , pour former le glutamate et le  $\text{NAD}^+$ ; la diminution de la concentration de  $\text{NADH}$ ,  $\text{H}^+$ , directement proportionnelle à la concentration d'ammoniaque, est évaluée à 340 nm (Kits Biomatériaux).

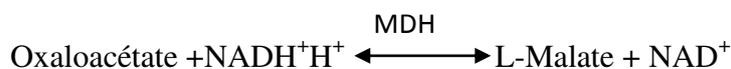
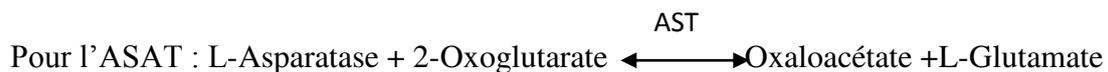
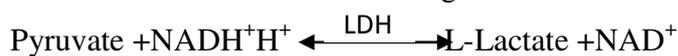
### 9.3.2 Dosage de l'acide urique

L'acide urique a été dosé par une méthode colorimétrique (**Caraway, 1963**). L'acide urique est oxydé en  $\text{CO}_2$  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.

## 9.4 Evaluation de la fonction hépatique

### 9.4.1 Dosage des transaminases :

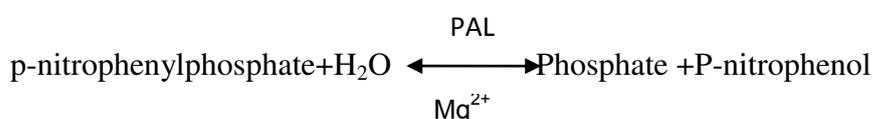
Les activités de l'ALAT et d'ASAT sérique sont effectuées selon les schémas réactionnels suivants :



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

### 9.4.2. Dosage de la phosphatase alcaline :

Nous avons utilisé la technique de colorimétriques pour le dosage de la PAL, avec l'utilisation du kit cette technique est basée sur la libération de phénol. Le p-nitrophénylphosphate est scindé par les phosphatases alcalines 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 :



#### 9.4.3 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 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 sensibilité plus grande, l'absorbance est déterminée a 578 nm. La bilirubine est exprimée en mg/l de sérum.

#### 9.4.4 Dosage de lactate déshydrogénase :

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

Pyruvate + NADH → lactate + NAD.

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

#### 9.4.5 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 a complexe colore quantifiable par spectrophotométrie a une longueur d'onde de 628nm (Tietz et *al*,1995).

#### 9.4.6 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.

#### 9.5 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

on o-crésol phthaléine. l'intensité de la coloration est mesurée à 750 nm, elle est directement proportionnelle à la concentration de l'échantillon (Kit Randox Ca 590)

### **9.6 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 milieu alcalin, pour donner un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 520 nm.

### **9.7 Dosage du sodium, du potassium et du chlore:**

La technique utilisée pour déterminer la teneur de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Cl}^-$  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)

## **10. Étude histologique des organes :**

L'étude histologique a été réalisée dans le laboratoire d'anatomie et d'histopathologie au niveau de l'EHU (Etablissement Hospitalier Universitaire) le 1er Novembre 1954 Oran. Cette technique nécessite une préparation de fragments des organes (foie, cerveau) pour l'examen au microscope optique. Elle requiert plusieurs étapes successives : 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.

### **10.1. La fixation**

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

La fixation est importante pour éviter une autolyse, insolubiliser les constituants cellulaires, s'opposer aux distorsions et rétractions et enfin de bien préparer les structures tissulaires aux traitements ultérieurs. Une bonne et rapide fixation assure le maintien en place des constituants solubles ou dépolymérisables et préserve les organites sensibles à la pression osmotique. Le formol et les liquides de Bouin utilisés préservent mieux la morphologie des structures et assurent une meilleure immobilisation des protéines, la durée de fixation est de 6 à 12 heures (Culling *et al.*, 1988).

## 10.2. L'inclusion

Pour réussir de bonnes coupes fines, la pièce doit être imprégnée à l'échelle cellulaire a ce moment, le tissu peut être capable de le durcir de manière homogène et de maintenir les éléments en place.une fois la pièce fixée, elle est mise dans le formol salin et dans le mélange de Bouin à l'alcool 70°. Ensuite vient l'étape de l'inclusion qui comporte plusieurs bains successifs de 30minutes chacun.

## 10.3. Déshydratation

Les quatre bains d'acétone successifs permettent au tissu de perdre l'eau qu'il contient. Une mauvaise déshydratation se répercute plus tard sur la réalisation des coupes et la conservation des blocs.

## 10.4. Eclaircissement

L'agent déshydratant étant rarement miscible avec le milieu, durant cette étape le tissu devient transparent, d'où le non de l'opération. Un mauvais éclaircissement donne des blocs consistance hétérogène, des rétraction ou distorsions excessives. Cette étape comporte deux bains successifs de toluène ,30minutes pour chaque bain.

## 10.5. Imprégnation

La pièce est placée dans le milieu d'inclusion qui pénètre dans toutes les cellules, imprégnation successives puis inclusions dans la paraffine pure (55 °C à 57 °C) ,bain de paraffine dure 1heure .

## 10.6. Les coupes

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

## 10.7. La coloration

Pour la coloration, nous avons utilise la technique de l'hématoxyline-éosine (HE), comportant un bain de 5min d'hématoxyline (Merck) qui colore en bleu violace les structures basophiles (noyaux),un bain de HI 1% pour différencier les coupes et obtenir une coloration en rose ;un bain de 3mn de carbonate de lithium pour colorer en bleu coupes, un bain de 5min d'éosine pour colorer les structures acidophiles (cytoplasme) .Tous ces bains sont séparés par des lavages a l'eau courante

Le déparaffinage et l'hydratation font a l'aide d'une plaque chauffante après une coloration (Hémalun de Mayer) pendant 5-10 min. Les lames sont lavées rapidement à l'eau courante puis mises dans une solution aqueuse à saturation de carbonate de

lithium .Une différenciation a l'eau chlorhydrique à 0,1% s'ensuit et un lavage a l'eau courante. Les lames sont ensuite colorées par une solution aqueuse d'éosine y a 1% puis lavées a l'eau courante. Enfin une déshydratation et un montage entre lames et lamelles.

### **11. Analyse statistique :**

Les résultats sont exprimés par la moyenne (M) des valeurs individuelles, affectées de l'erreur standard a 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 (Aph,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.

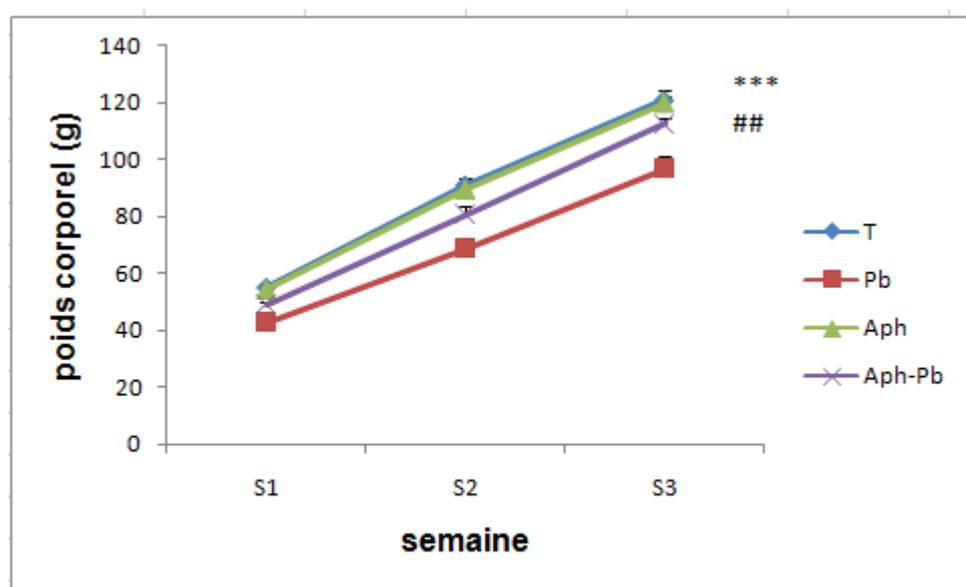
Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Sigma Stat

# ***Chapitre IV : Résultats et interprétation***

## 1. L'effet du plomb sur la croissance pondérale

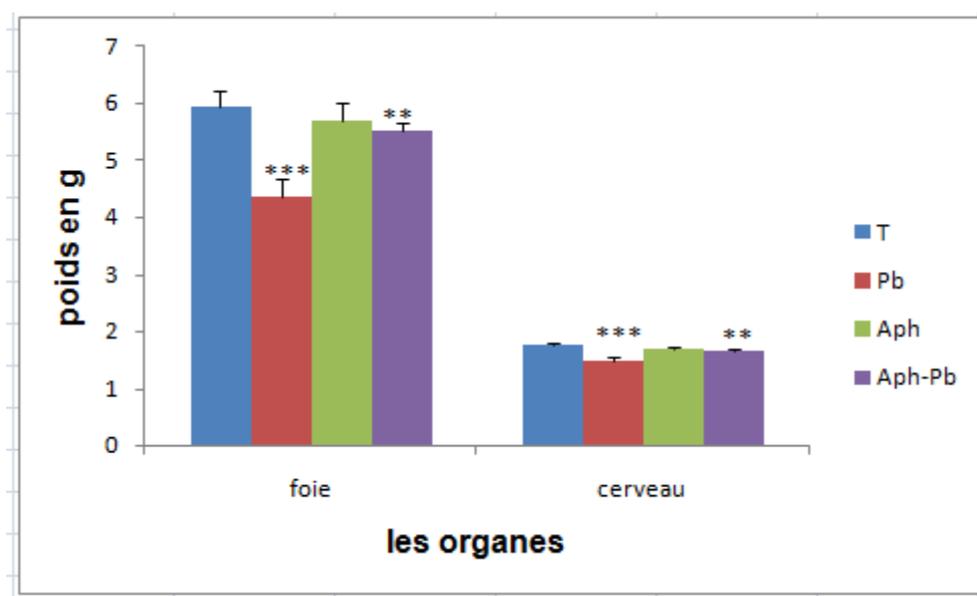
Les résultats enregistrés montrent une diminution significative (\*\*\*) ( $P < 0,001$ ) du poids corporel chez les jeunes rats issus de femelles intoxiquée au plomb pendant la gestation et lactation par rapport aux rats témoins.

Cependant les rats qui sont traités préventivement par Aph (présentent une augmentation significative (## :  $< 0,01$ ) du poids corporel par rapports a celui des rats intoxiqués (Figure 8).



**Figure 8:** L'évolution du poids corporel chez les rats témoins, Pb et Aph préventif. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ( $n = 7$ ) (\*\*\*) :  $p < 0,001$ ; ## :  $p < 0,01$ )

Les résultats trouvés chez les rats intoxiqué révèlent également une baisse significative ( $p < 0,001$ ) dans le poids des organes (cerveau et foie) par rapport a ceux des rats témoins. Contrairement, les rats qui sont traités par l'Aph (Figure 9), présentent une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) des poids des organes étudié par rapports a ceux des rats intoxiqués.

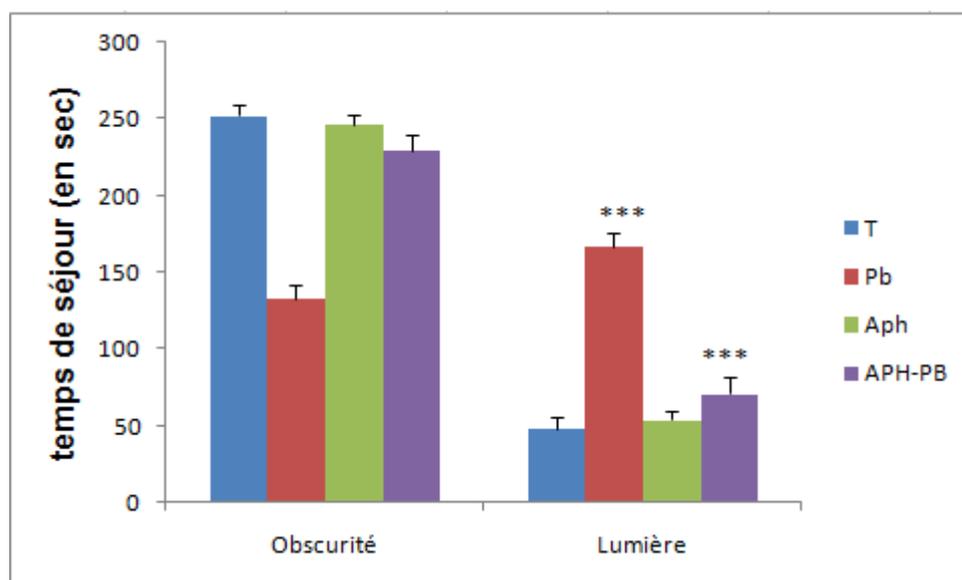


**Figure 9:** L'évolution du poids des organes (foie et cerveau) chez les rats témoins, Pb et Aph préventif. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (\*\*\*:  $p < 0.001$ ; \*\*:  $p < 0.01$ )

## 2. Tests neurocomportementaux:

### 2.1 Evaluation du Comportement anxieux (Light Dark Test) :

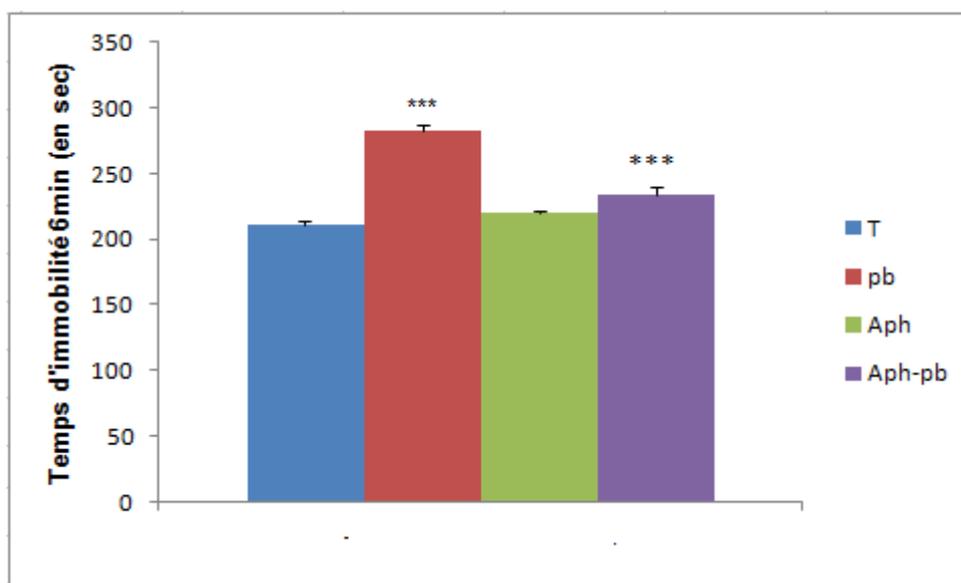
Dans ce test d'anxiété les résultats montrent que il existe une différence significatif entre les animaux intoxiqués (pb) et les animaux témoins, et aussi entre les rats intoxiqués et les rats traité intoxiqué (Aph-Pb), en terme de temps passé dans le compartiment éclairé par les intoxiqué est significativement supérieure à celui des rats témoins et les rats traités intoxiqués ( $p < 0.001$ ) (Figure 10), Ce qui reflète que les rats exposé au Pb dévoilent un état d'anxiété élève par rapport des autres lots.



**Figure 10:** Le temps de séjour passe dans le compartiment éclairé chez les différents lots témoins, intoxiqués et traités intoxiqués (Aph-Pb) Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ; T vs Pb (\*\*\*:  $p < 0.001$ ) ; Pb vs AphPb (\*\*\*:  $p < 0.001$ )

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

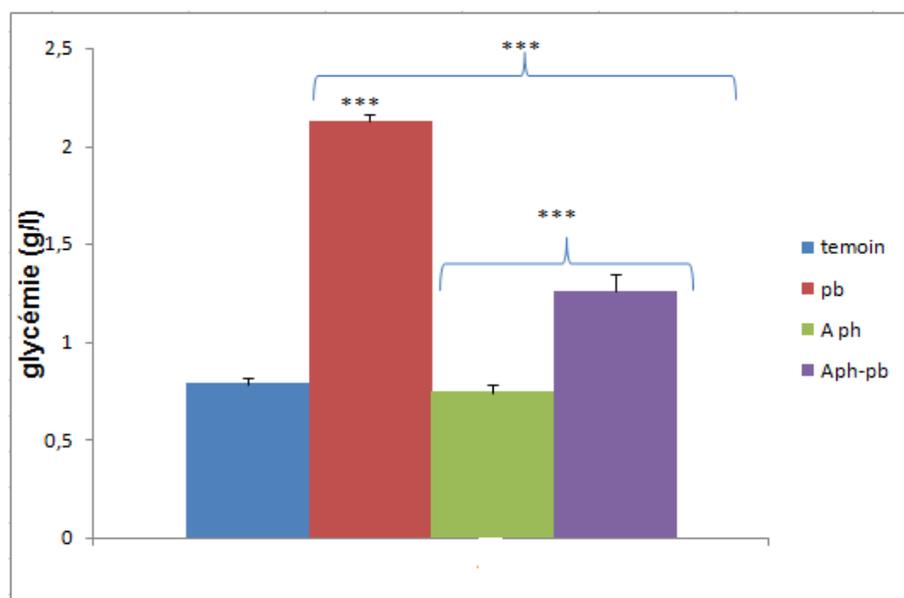
Pour ce l'analyse statistique révèle un temps d'immobilité chez les rats exposé au Pb au cours du développement est significativement supérieur a celui des rats témoins ( $P < 0,001$ ). Cette réduction de la durée de la nage active explique bien l'incapacité de l'animal à nager ceci est due à l'instauration d'un comportement de désespoir. Cependant on a observé chez les animaux traités intoxiqués au Pb une amélioration significative de temps d'immobilité ( $p < 0,001$ ) par rapport les animaux intoxiqués (Figure 11).



**Figure 11:** Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée chez les rats témoins(T), intoxiqués(Pb)et traités intoxiqués (Aph-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ; T vs Pb (\*\*\*:  $p < 0.001$ ) ; Pb vs Aph-Pb (\*\*\*:  $p < 0.001$ )

Pour confirmer ces résultats expérimentaux nous avons déterminé le taux du glucose sanguin, puisqu'il est un bon marqueur de stress. Les résultats montrent une élévation significative de la glycémie chez les rats exposés au Pb par rapport à celle des rats témoins.

Le taux de glycémie chez les animaux traités par l'Aph est significativement inférieur ( $p < 0,001$ ) par rapport à celui des animaux intoxiqués. De plus, il existe une différence significative entre le groupe intoxiqué traité et le groupe témoin traité (Aph), sachant que le taux du glucose est significativement élevé chez le lot intoxiqué traité par rapports au lot témoin traité ( $p < 0,001$ ) (Voir la figures 12).



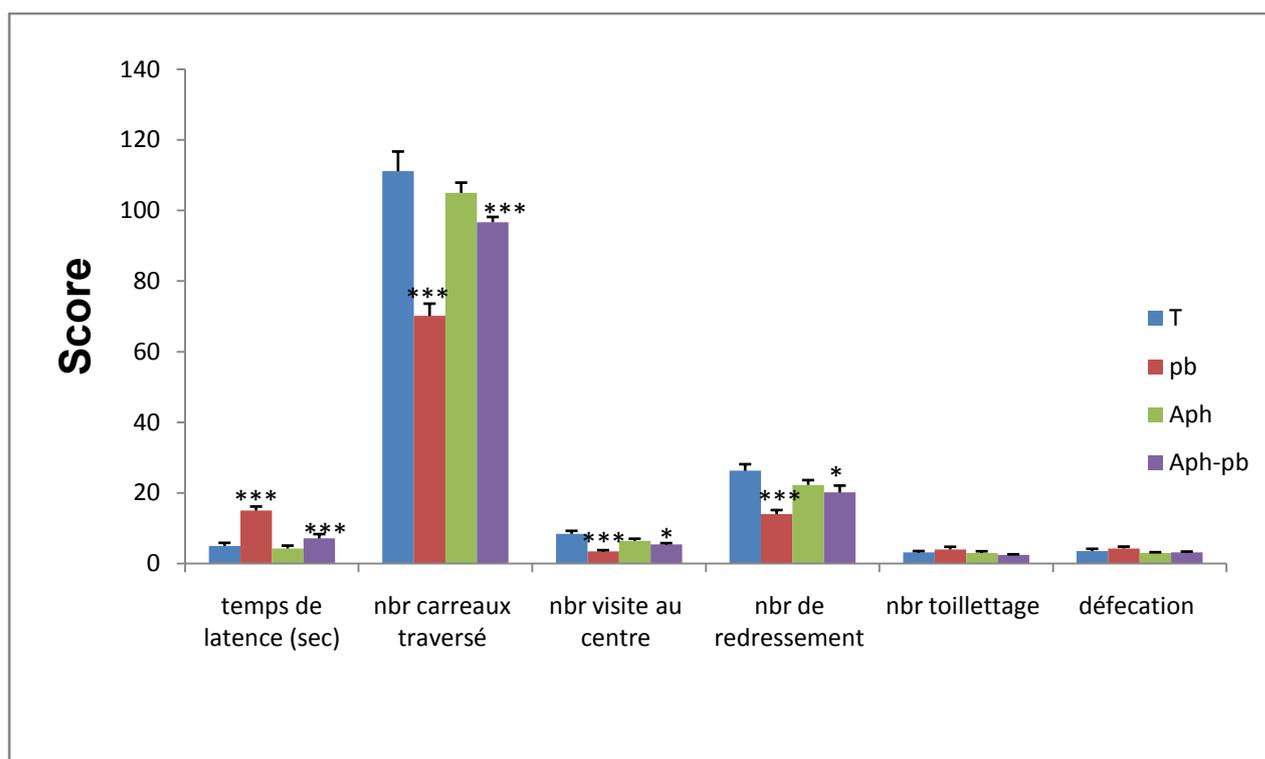
**Figure 12:** Le taux de la glycémie chez les rats témoins(T), intoxiqués(Pb)et traités intoxiqués (Aph-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ; T vs Pb (\*\*\*:  $p < 0,001$ ) ; Pb vs Aph-Pb (\*\*\*:  $p < 0,001$ ), Aph vs Aph-Pb (\*\*\*:  $p < 0,001$ )

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

Dans ce test les résultats ont montré l'installation d'un état d'anxiété chez les rats intoxiqués au Pb qui est observé par une augmentation significative de temps de latence ( $p < 0,001$ ) et une diminution significative de nombre de visite du centre ( $p < 0,001$ ) comparé aux rats témoins. par contre les rats traités au Aph et intoxiqués au Pb présentent une diminution significative du temps de latence ( $p < 0,001$ ), une augmentation significative du nombre de visite au centre ( $p < 0,05$ ) qui peut expliqué par l'effet anxiolytique de l'acide phytique (Figure 13).

Par ailleurs, les animaux intoxiqués montrent une hypoactivité locomotrice qui est représentée par le nombre de carreaux traversés et le nombre de redressement respectivement ( $p < 0,001$  ;  $p < 0,001$ ) par rapport aux animaux témoins. En revanche, l'administration préventive de l'Aph induit une augmentation du nombre des carreaux traversés ( $p < 0,001$ ) et le nombre de redressement ( $p < 0,05$ ) par rapport le groupe intoxiqués (Figure 13).

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



**Figure 13 :** La comparaison des différents paramètres du test Open Field entre les rats témoins(T), intoxiqués(Pb) et traités intoxiqués (Aph-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ; T vs Pb (\*\*\*:  $p < 0.001$ ) ; Pb vs Aph-Pb (\*\*\*:  $p < 0.001$  ; \*:  $p < 0,05$ )

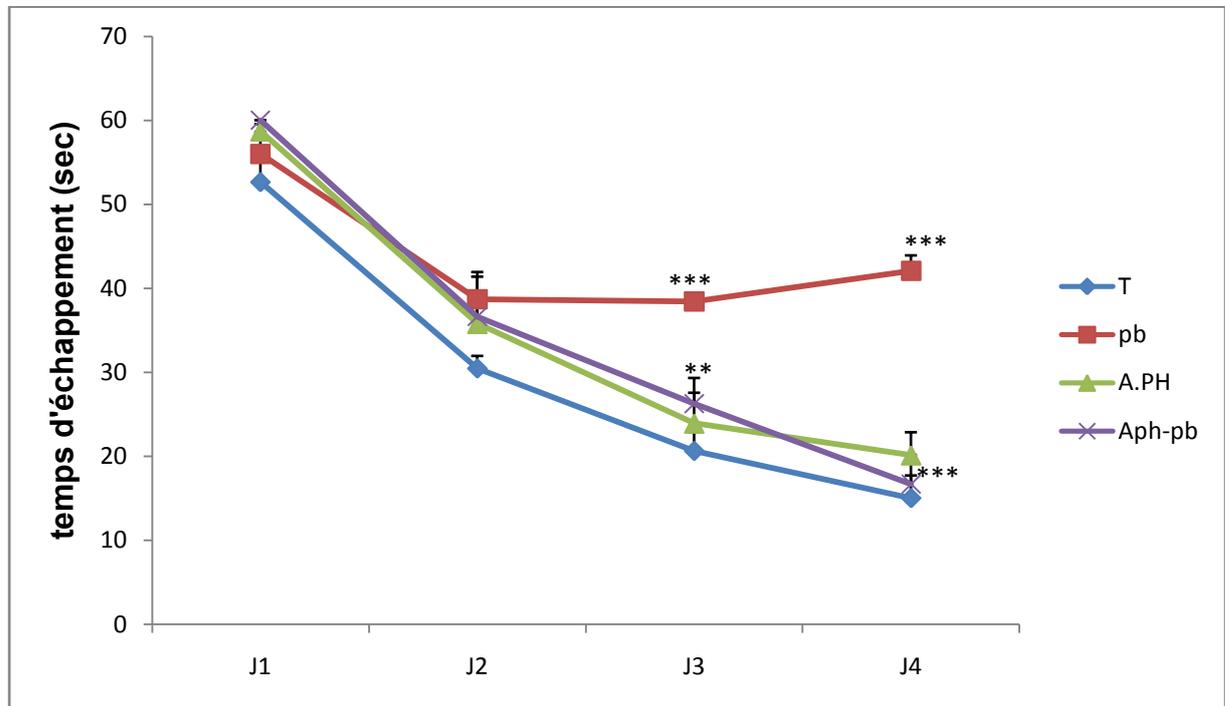
## 2.4 Evaluation Apprentissage spatial (Piscine de Morris) :

Ce test permet d'évaluer la capacité des rats à apprendre et à mémoriser la position d'une plate-forme immergée dans une piscine d'eau opaque par rapport à des repères extérieurs.

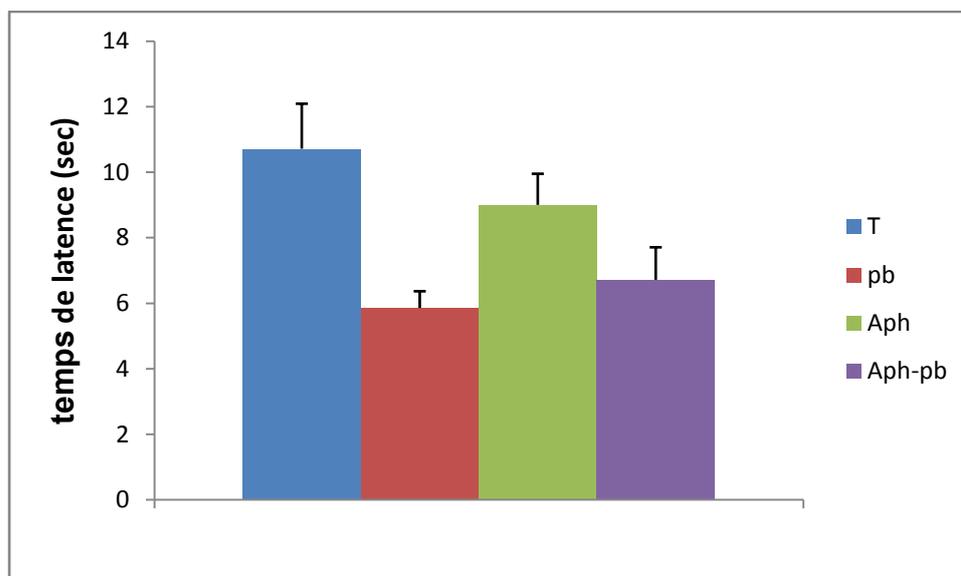
Pendant la phase d'apprentissage, les analyses statistiques ne révèlent aucune différence significative entre tous les groupes pendant le premier et le deuxième jour de l'apprentissage en terme de temps de latence ( $p > 0.05$ ). À partir du troisième jour d'apprentissage on constate que le temps d'échappement chez les rats intoxiqués est significativement supérieur à celui du lot témoin, et lot traité par Aph respectivement ( $p < 0,001$  ;  $p < 0,01$ ). Pour le quatrième jour aussi il existe une différence significative entre les lots sachant que les animaux intoxiqués par Pb présentent un temps d'échappement élevé par rapport aux animaux témoins et les rats traités ( $p < 0,001$  ;  $p < 0,001$ ) respectivement (Figure 14).

Pendant le probe test, aucune différence significative n'est notée entre les groupes en terme de temps passé dans le quadrant nord ouest ( $p > 0.05$ ) (Figure 15).

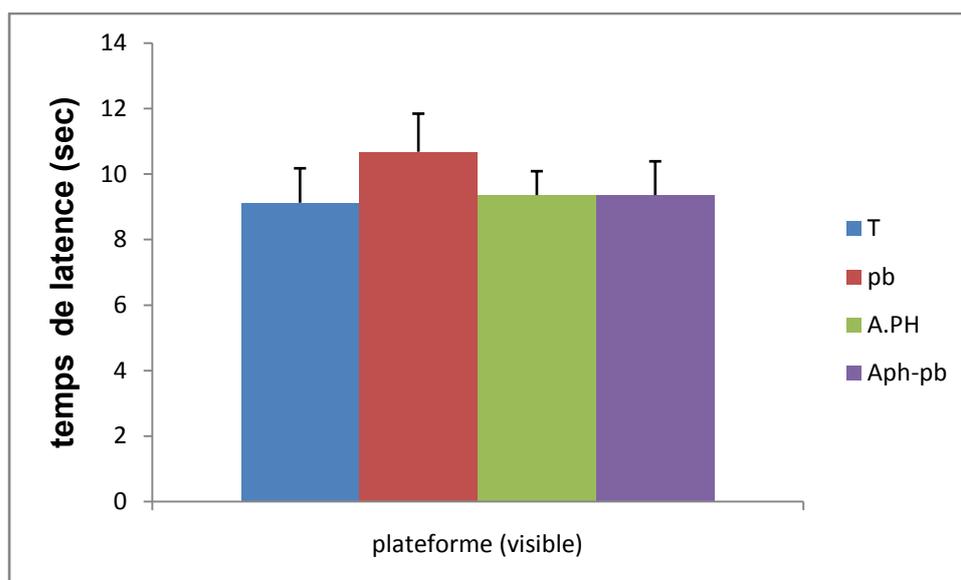
Pendant l'essai de la plateforme visible, le lot Pb ne présente aucune différence significative en termes de temps de latence comparées au lot témoins et lot traité intoxiqué ( $p > 0.05$ ) (Figure 16).



**Figure 14 :** Temps d'échappement durant la phase d'apprentissage de la piscine de Morris chez les rats témoins (T), les rats exposés au plomb (Pb) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM : T vs Pb (\*\*\*) :  $p < 0,001$  ; Pb vs Aph-Pb (\*\* :  $p < 0,01$  ; \*\*\*) :  $p < 0,001$



**Figure 15 :** Temps passé dans le quadrant (NO) durant le probe test par les rats témoins (T), les rats intoxiqués au Pb et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. Aucune différence significative n'est observée entre les différents groupes  $p > 0.05$ .



**Figure 16 :** Temps de latence durant la phase de la plateforme émergée de la piscine de Morris chez les rats témoins (T), intoxiqué (Pb) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. Aucune différence significative n'est

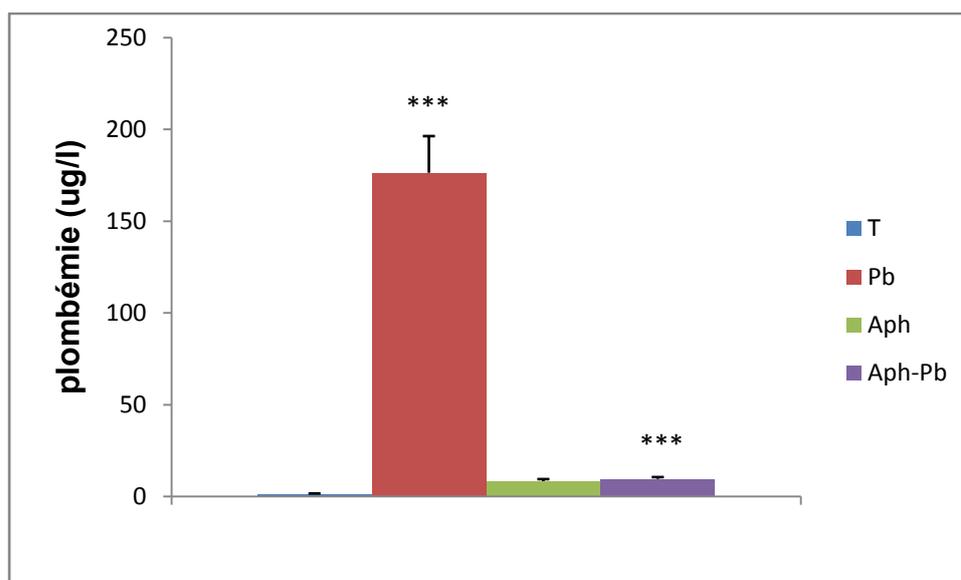
Observée entre les différents groupes  $p > 0.05$ .

### 3. Evaluation du taux de plomb sanguin et cérébral :

#### 3.1 La Plombémie :

Les résultats ont permis un taux de plombémie de l'ordre  $176,35 \pm 10,75$  (ug/l) chez les rats intoxiqués par l'acétate de plomb durant 42 jours (gestation et lactation). Ce qui reflète une bonne imprégnation du plomb au niveau sanguin chez les nouveau nés significativement supérieur ( $p < 0,001$ ) comparé avec les rats témoins.

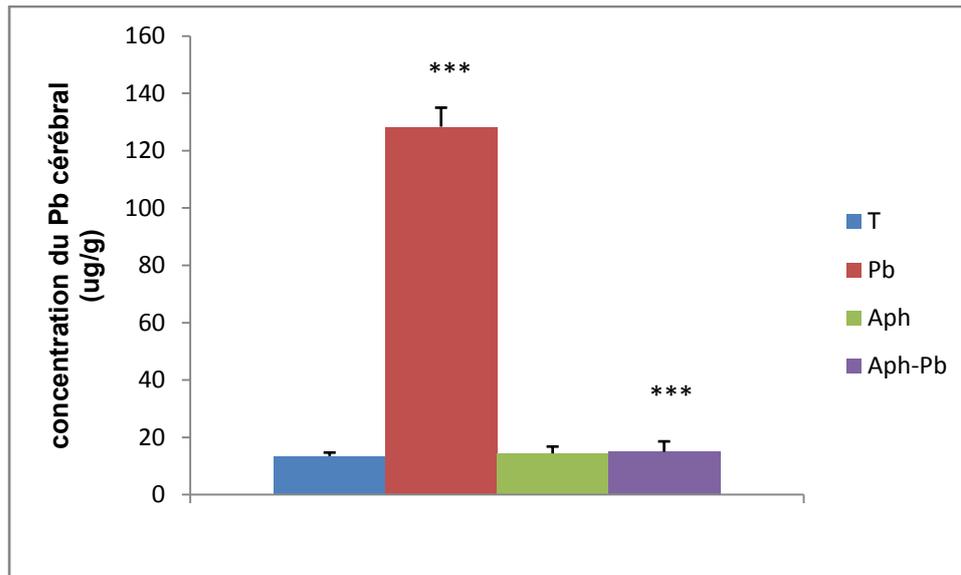
Les animaux exposés au Pb et qui sont préalablement traités par l'Aph présentent une diminution significative ( $p < 0,001$ ) de la plombémie ( $9,6 \pm 0,9$ ) par rapport les animaux intoxiqués et non traités (Figure 17)



**Figure 17:** La comparaison de la plombémie chez les rats témoins (T), rats intoxiqués (Pb), rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb : (\*\*\*) :  $p < 0.001$  ; Pb vs Aph-Pb : (\*\*\*) :  $p < 0,001$ ).

### 3.2 Dosage du plomb dans le cerveau :

La technique de la spectrophotométrie à absorption atomique a révélé une concentration du plomb cérébral significativement supérieure chez les rats intoxiqués comparés aux rats témoins ( $p < 0,001$ ) ce qui signifie que le plomb passe à travers la barrière hémato encéphalique et agit au niveau du cerveau. Par contre Chez le groupe traité à l'acide phytique et intoxiqué au Pb, le taux de ce dernier dans le cerveau est significativement inférieur ( $p < 0,001$ ) par rapports au groupe intoxiqué non traité, Ce qui signifie que l'acide phytique réduit le taux du Pb cérébral (figure 18).



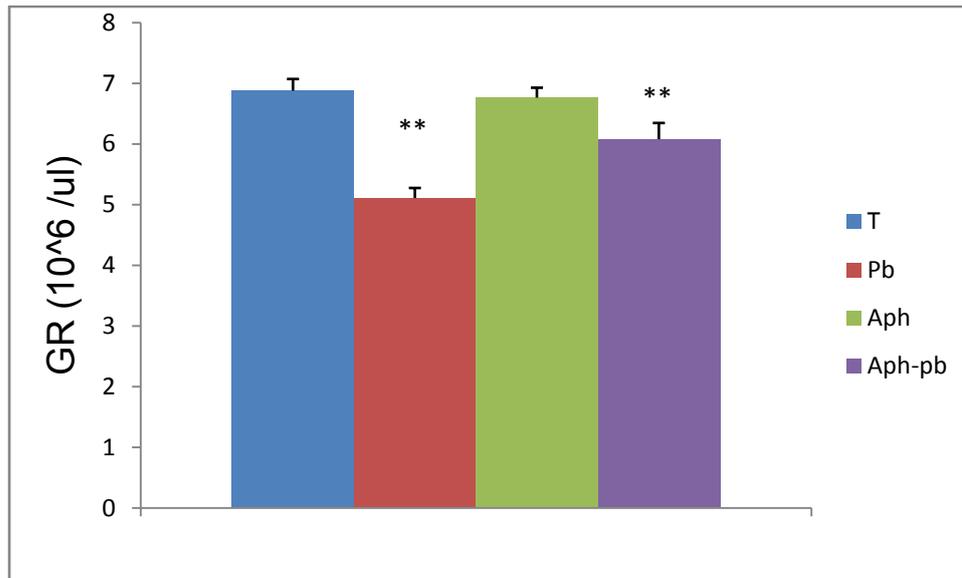
**Figure 18:** La comparaison de la concentration du plomb dans le cerveau entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb :(\*\*\*:  $p < 0.001$ ) ; Pb vs Aph-Pb: (\*\*\*:  $p < 0,001$ )

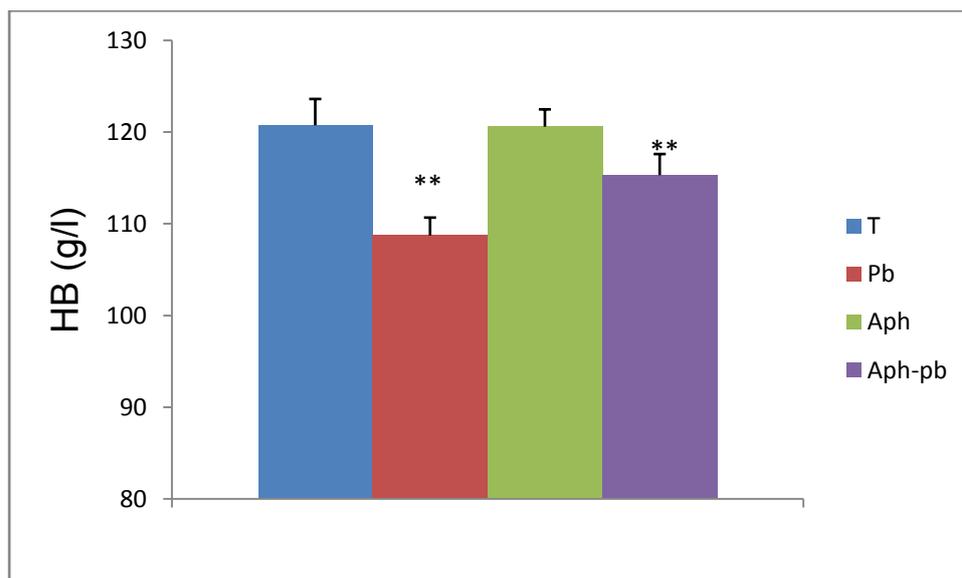
#### 4. Evaluation des paramètres hématologiques :

L'analyse des constantes hématologique après Exposition au Pb durant la période de développement a révèlè une baisse significative ( $p < 0,01$ ) des globules rouges(GR), hématocrite (HT), hémoglobine (HB). En revanche, une augmentation non significative dans le taux des plaquettes (PLT) et les globules blancs (GB) Est enregistrée chez ce lot comparé avec le lot témoin. Ce qui indique que le Pb a provoqué une anémie et une hémolyse chez les rats intoxiqués.

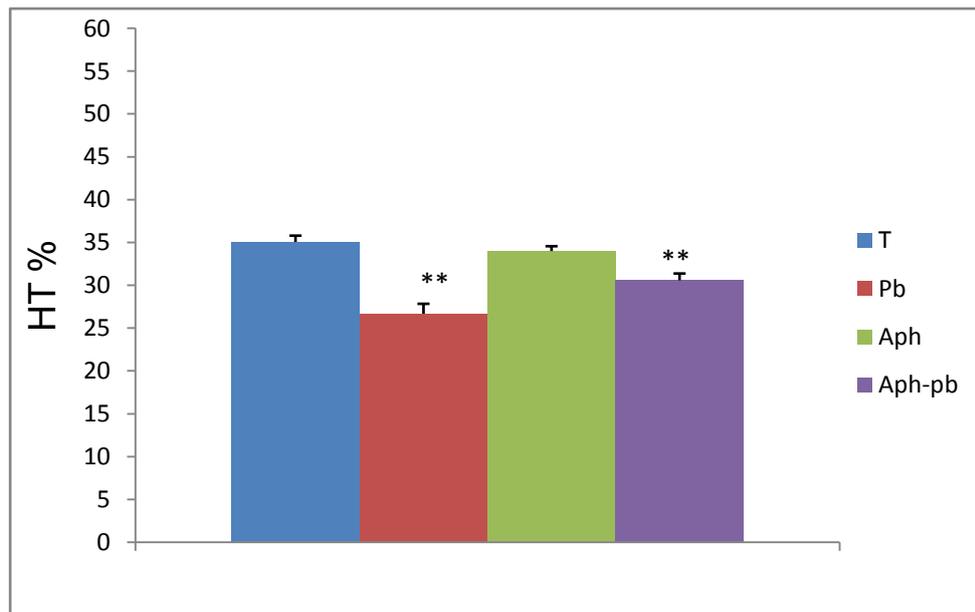
Les rats traités par l'Aph avant leur expositions au Pb présentent une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) des GR, HTC et HGB, et une diminution non significative des GB et PLT par rapports les rats intoxiqués.



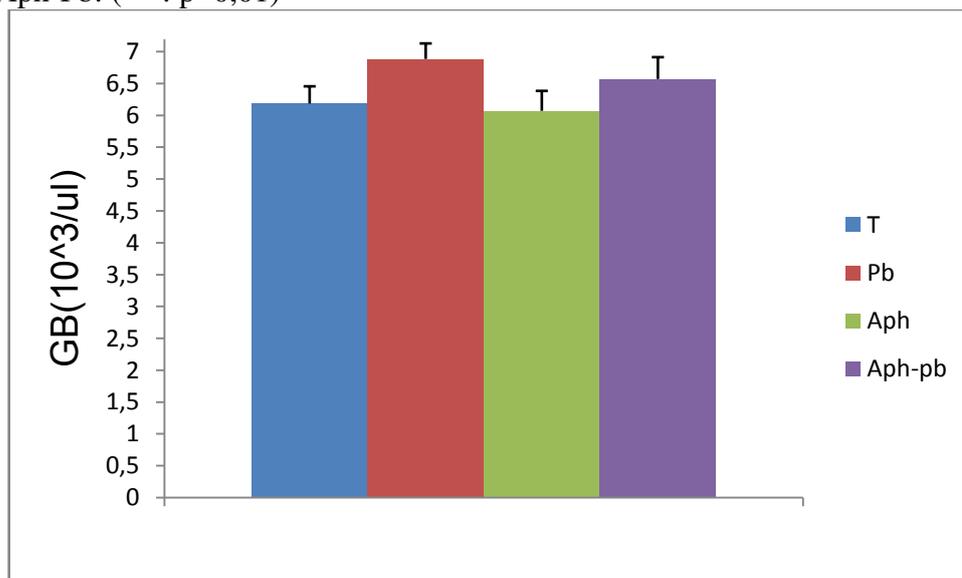
**Figure 19 :** La comparaison des globules rouges entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb) Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb (\*\*:  $p < 0.01$ ) ; Pb vs Aph-Pb: (\*\* :  $p < 0,01$ )



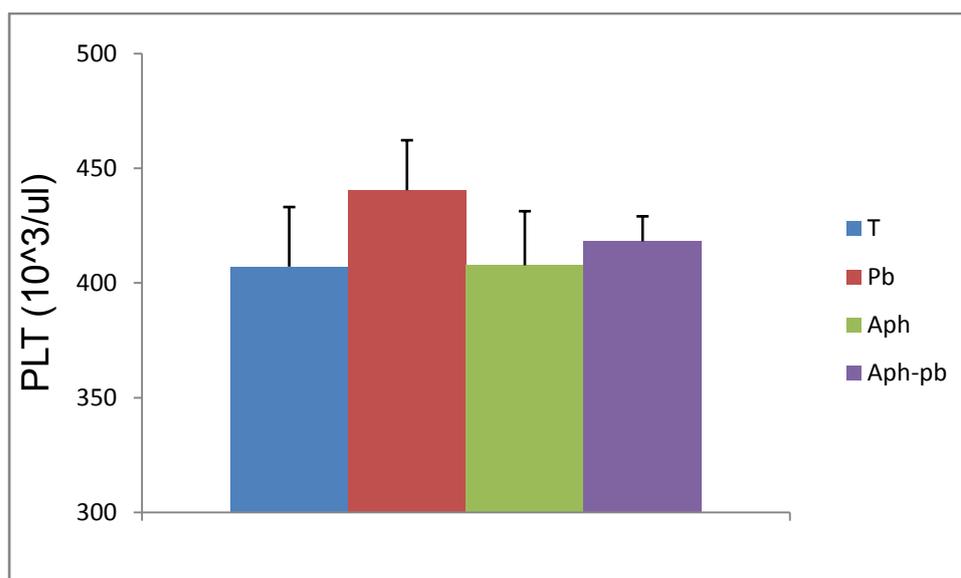
**Figure 20:** La comparaison de l'hémoglobine entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb). Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb (\*\*:  $p < 0.01$ ) ; Pb vs Aph-Pb: (\*\* :  $p < 0,01$ )



**Figure 21:** La comparaison de l'hématocrite entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb) Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb (\*\*:  $p < 0.01$ ) ; Pb vs Aph-Pb: (\*\* :  $p < 0,01$ )

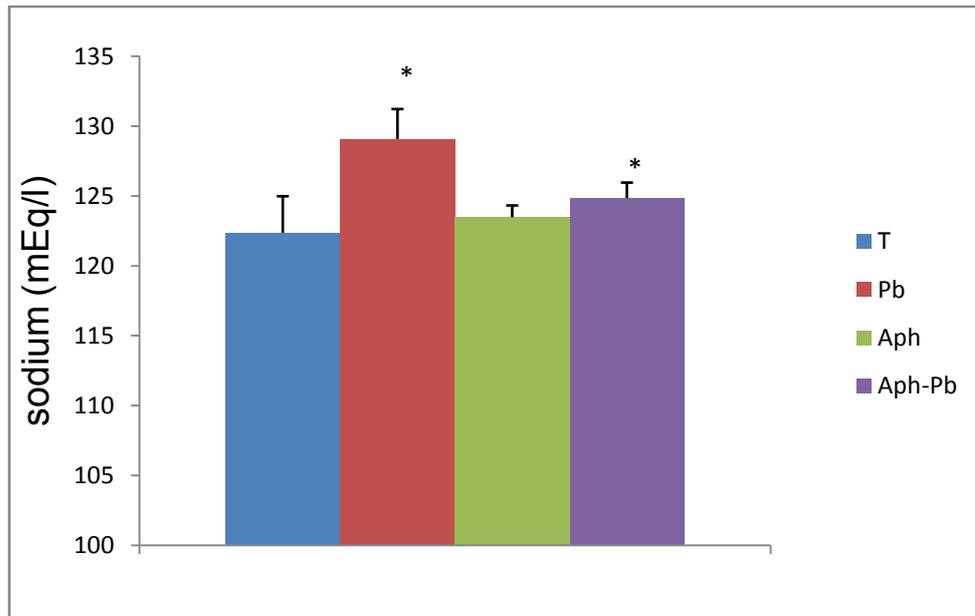


**Figure 22 :** La comparaison des globules blancs entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

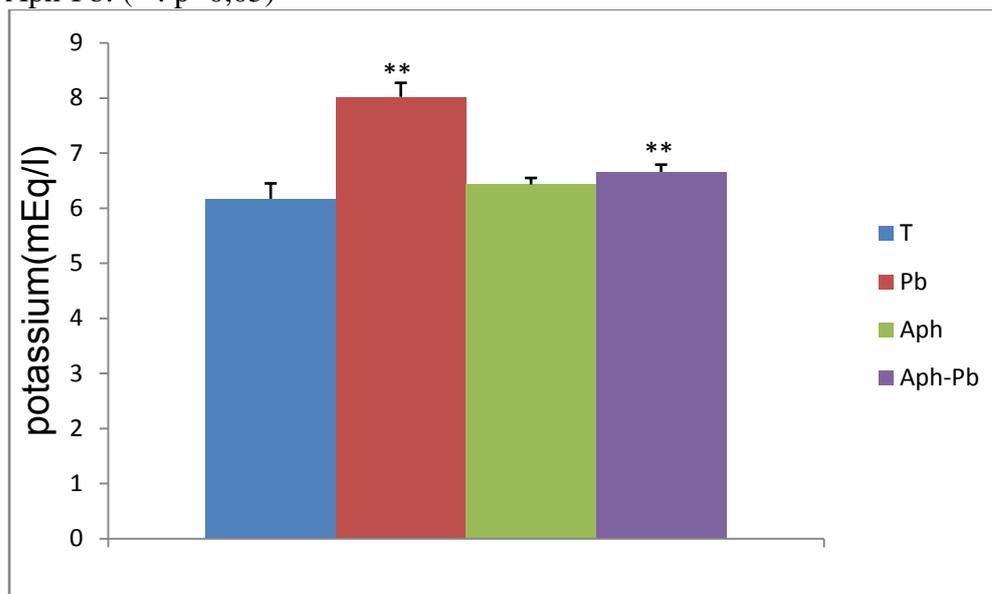


**Figure 23 :** La comparaison des plaquettes entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

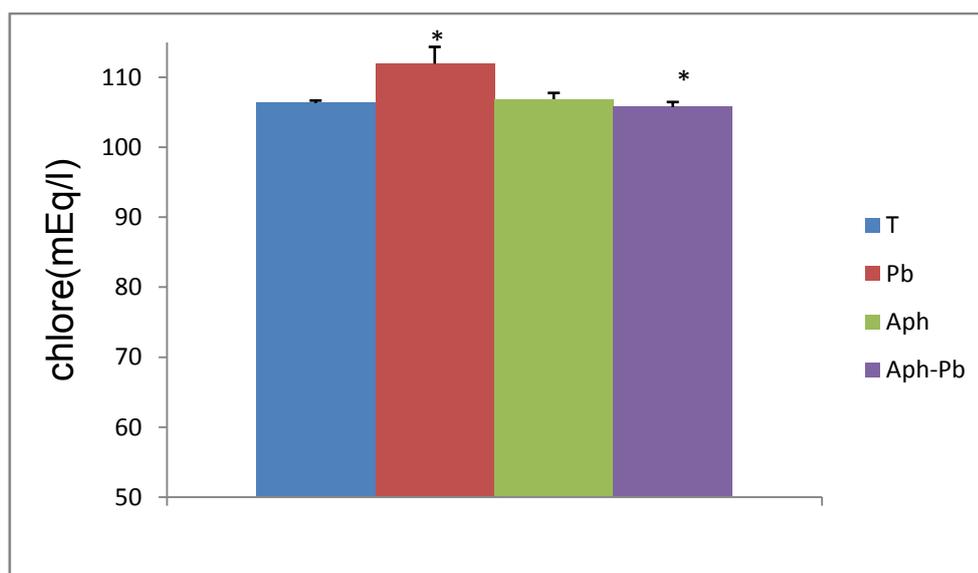
A partir ces analyses, on observe une diminution non négligeable des GR chez les animaux intoxiqués, qui est due principalement par l'effet hémolytique du Pb. Par contre l'Aph joue rôle de protecteur contre ce phénomène. La détermination des concentrations des ions principalement Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> chez les différents lots, consiste a confirmé cette 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 lelot exposé par rapport au lot témoin, par contre une baisse significative ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  et  $p < 0.05$ ) respectivement, chez le groupe traités intoxiqués comparé au groupe intoxiqués voir les figures 24,25, et 26.



**Figure 24 :** La comparaison de sodium entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)  
Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb (:\* :  $p < 0.05$ ) ; Pb vs Aph-Pb: (\* :  $p < 0,05$ )



**Figure 25:** La comparaison de potassium entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)  
Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb (:\*\* :  $p < 0.01$ ) ; Pb vs Aph-Pb: (\*\* :  $p < 0,01$ )



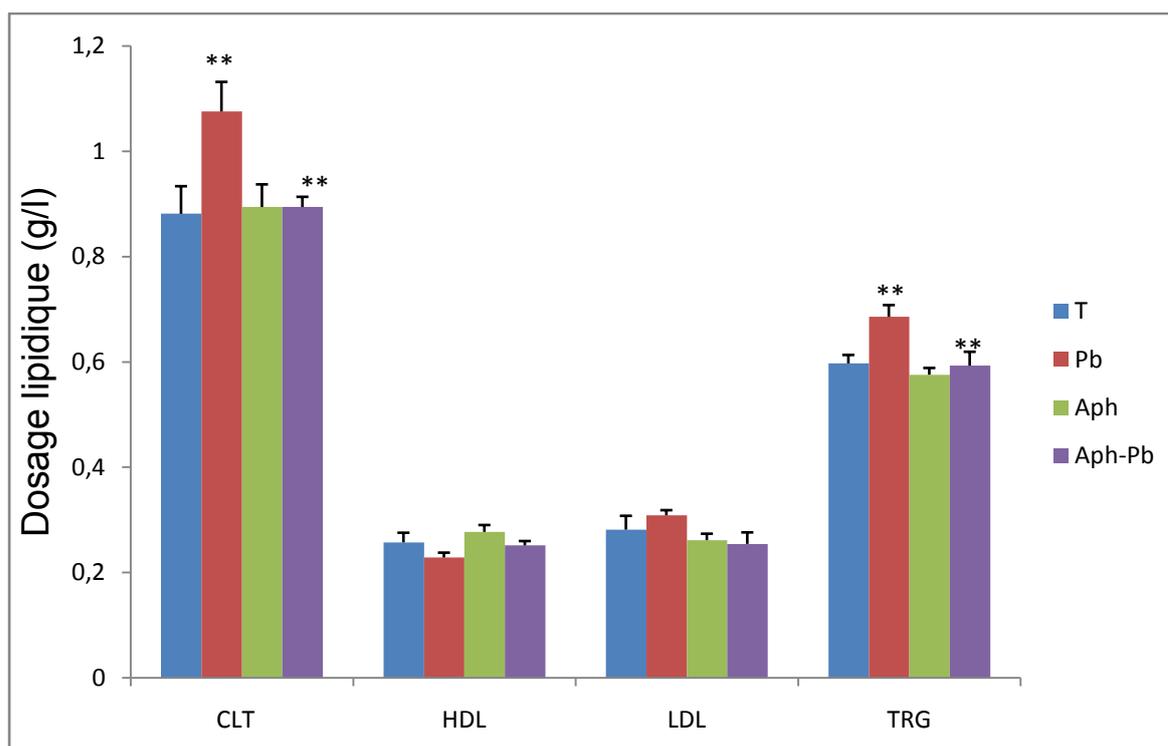
**Figure 26:** La comparaison de chlore entre les rats témoins (T), les rats intoxiqués (Pb), les rats témoins traités (Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)  
Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb (:\* :  $p < 0.05$ ) ; Pb vs Aph-Pb: (\* :  $p < 0,05$ )

## 5. Dosage biochimique :

### 5.1 Evaluation lipidique :

L'analyse statistique révèle que la teneur en lipides plasmatiques essentiellement cholestérol totale et les triglycérides sont significativement supérieure ( $p < 0,01$ ) chez les rats intoxiqués par le Pb, respectivement  $(1,07 \pm 0,05)$ ,  $(0,68 \pm 0,02)$  comparé a ceux des rats témoins qui présentent respectivement  $(0,88 \pm 0,05)$  ;  $(0,59 \pm 0,01)$

Par ailleurs, le lot préventif (traités par l'Aph avant une intoxication par Pb) montre une diminution significative ( $p < 0,01$ ) dans la teneur en cholestérol totale  $(0,89 \pm 0,01)$  et les triglycérides de  $(0,59 \pm 0,02)$  comparé avec le lot intoxiqué (Figure 27).



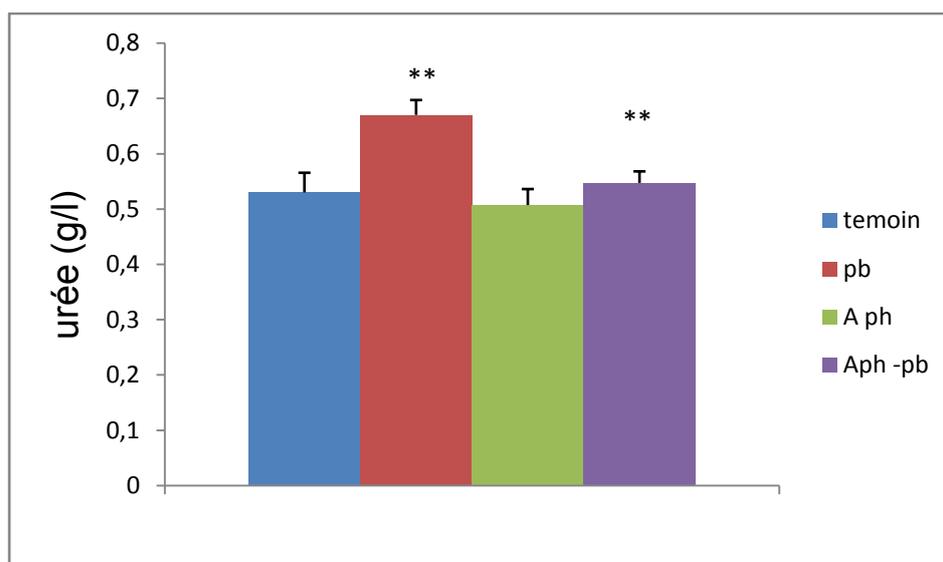
**Figure 27 :** La comparaison du dosage lipidique entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb) Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb (\*\*:  $p < 0.01$ ) ; Pb vs Aph-Pb: (\*\*:  $p < 0.01$ )

## 5.2 Evaluation de la fonction rénale :

### 5.2.1 Dosage de l'urémie :

Les résultats montrent une augmentation significative ( $P < 0.01$ ) du taux de l'urémie des rats exposés au Pb par rapport aux rats témoins. 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 Aph-Pb montrent diminution significative ( $p < 0,01$ ) de l'urémie par rapport aux rats intoxiqués (figure 28).



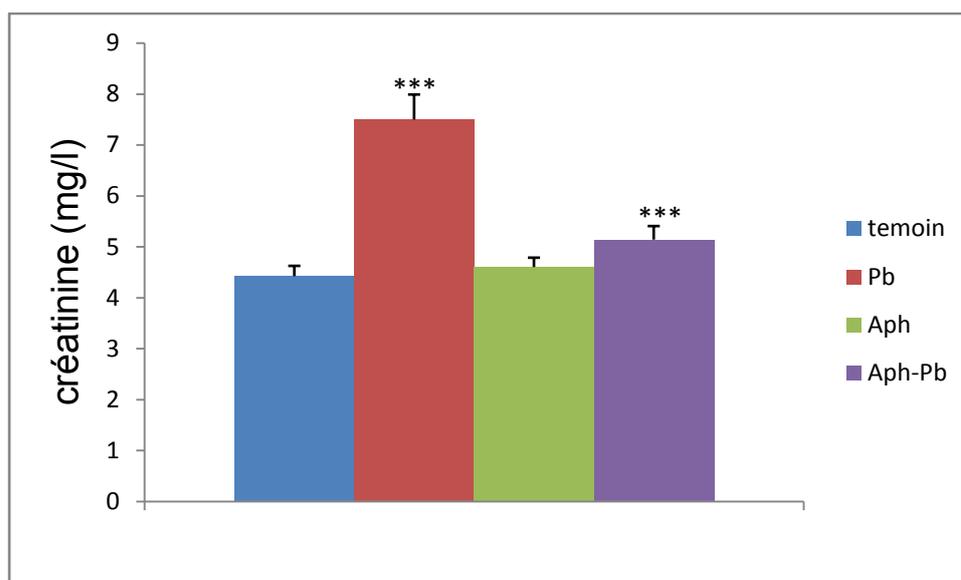
**Figure 28 :** La comparaison de la concentration de l'urémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqué (Aph-Pb)

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb :(\*\*:  $p < 0,01$ ) ; Pb vs Aph-Pb: (\*\* :  $p < 0,01$ )

### 5.2.2 Dosage de la créatinine:

L'ANOVA relative à taux de la créatinine révéla une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) chez les animaux exposés au Pb par rapport aux animaux témoins. Ces résultats sont la preuve que l'intoxication par le Pb a un effet sur la fonction rénale en induisant des troubles au niveau glomérulaire et ainsi provoqué l'augmentation de la créatinémie.

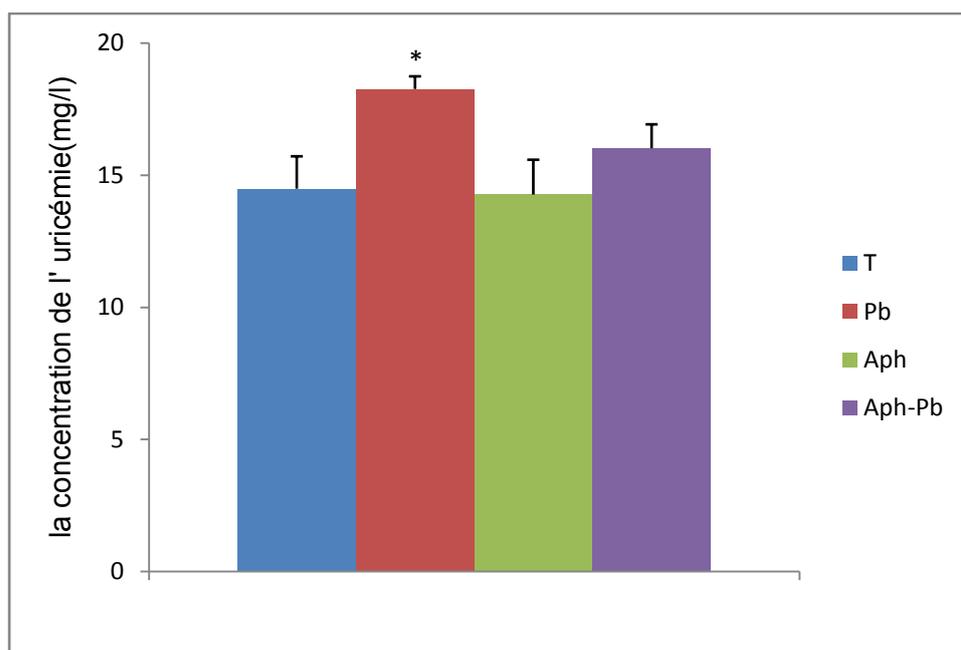
Par contre, chez les animaux traités par l'Aph puis intoxiqués par le Pb présentent une diminution significative ( $p < 0,001$ ) de la créatinine sanguine par rapport à celle des rats intoxiqués (Figure 29). Cela indique que l'Aph a un effet protecteur sur le tissu rénal.



**Figure 29:** La comparaison de la concentration de la créatinémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb) Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb :(\*\*\*:  $p < 0.001$ ) ; Pb vs Aph-Pb (\*\*\*:  $p < 0,001$ )

### 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 à celui rats témoins. D'autre part il existe une diminution non significative du taux de l'uricémie chez le groupe Aph-Pb comparé par les rats intoxiqués ( $p > 0,05$ ) (Figure 30).



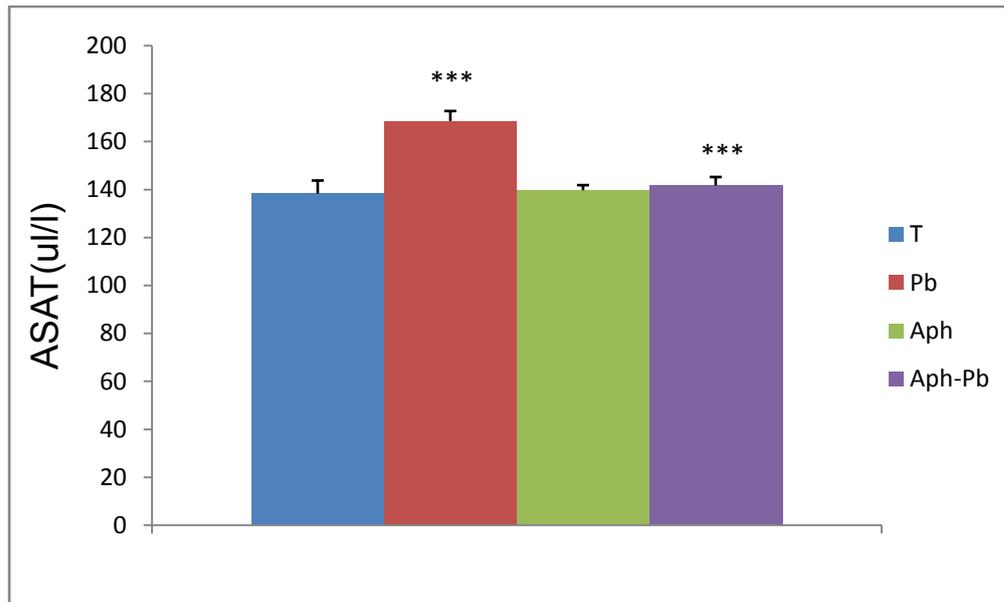
**Figure 30:** La comparaison de la concentration de l'uricémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb).Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb :(\*:  $p < 0.05$ )

### 5.3 Evaluation de la fonction hépatique :

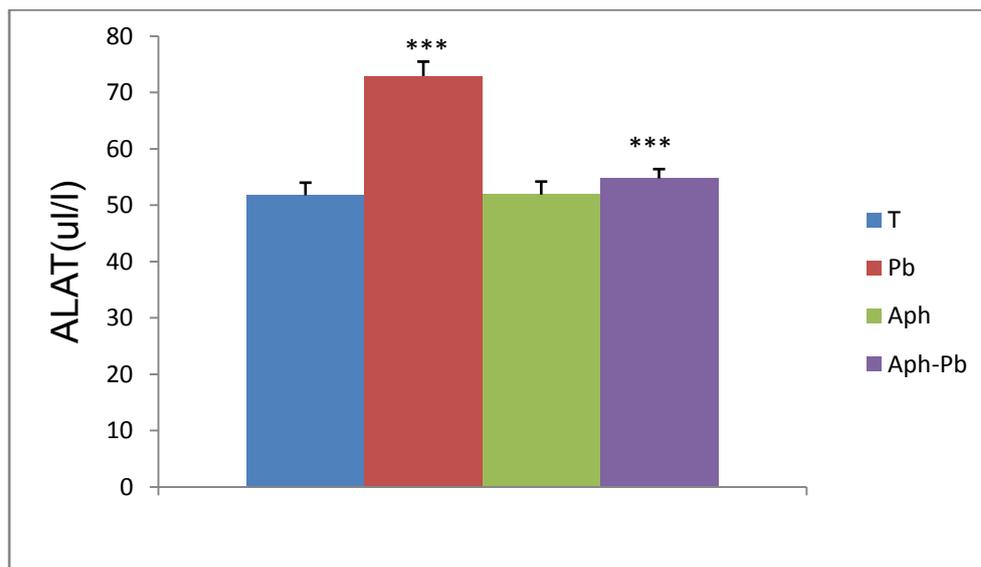
#### 5.3.1 Dosage des transaminases (TGO et TGP) :

L'analyse des biomarqueurs de la fonction hépatique indique qu'au niveau sérique l'activité de TGO (ASAT) et TGP (ALAT) est significativement plus élevée chez le groupe intoxiqué au Pb en comparaison avec le groupe témoin (\*\*\*) :  $p < 0.001$ ). Ce qui reflète l'exposition au Pb provoque une atteinte hépatique.

Cependant le traitement par l'Acide Phytique a permis d'observer une diminution significative dans le taux de TGP et TGO chez le lot traité intoxiqué (\*\*\*) :  $p < 0.001$ ) (figure 31,32).



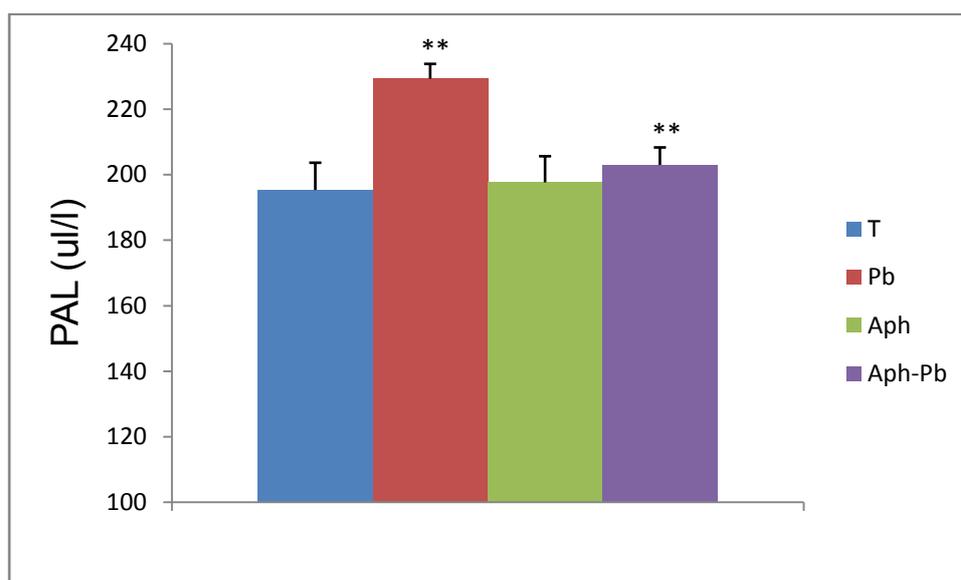
**Figure 31:** La comparaison de la concentration de l'ASAT (TGO) entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb).Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb :(\*\*\*:  $p < 0.001$ ) ;Pb vs Aph-Pb : (\*\*\*:  $p < 0,001$ )



**Figure 32:** La comparaison de la concentration de l'ALAT (TGP) entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb) Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb :(\*\*\*:  $p < 0.001$ ) ;Pb vs Aph-Pb : (\*\*\*:  $p < 0,001$ )

### 5.3.2 Dosage de phosphatase alcalin(PAL):

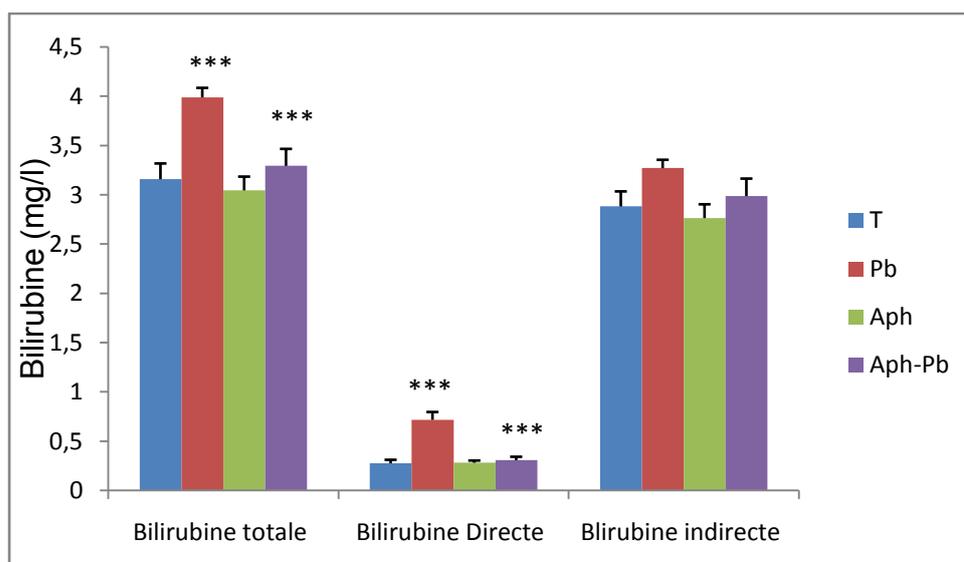
L'analyse statistique montre clairement une augmentation significative du taux de PAL chez les animaux intoxiqués par rapports aux animaux témoins ( $p < 0,01$ ). Par contre une diminution significative ( $p < 0,01$ ) de l'activité de cette enzyme est notée chez les rats traités préventivement par l'Aph comparé aux rats intoxiqués (Figure 33).



**Figure 33 :** La comparaison de la concentration du PAL entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb) Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb :(\*\*:  $p < 0,01$ ) ;Pb vs Aph-Pb : (\*\*:  $p < 0,01$ )

### 5.3.3 Dosage de la bilirubine :

Les teneurs de la bilirubine totale et conjuguée augmentent de manière significative ( $p < 0,001$ ) chez le groupe soumis à l'acétate de plomb comparé au groupe témoin, En revanche, on a enregistré une réduction significative ( $p < 0,001$ ) de ces teneurs chez les rats traités par l'Aph préventivement (Figure 34).

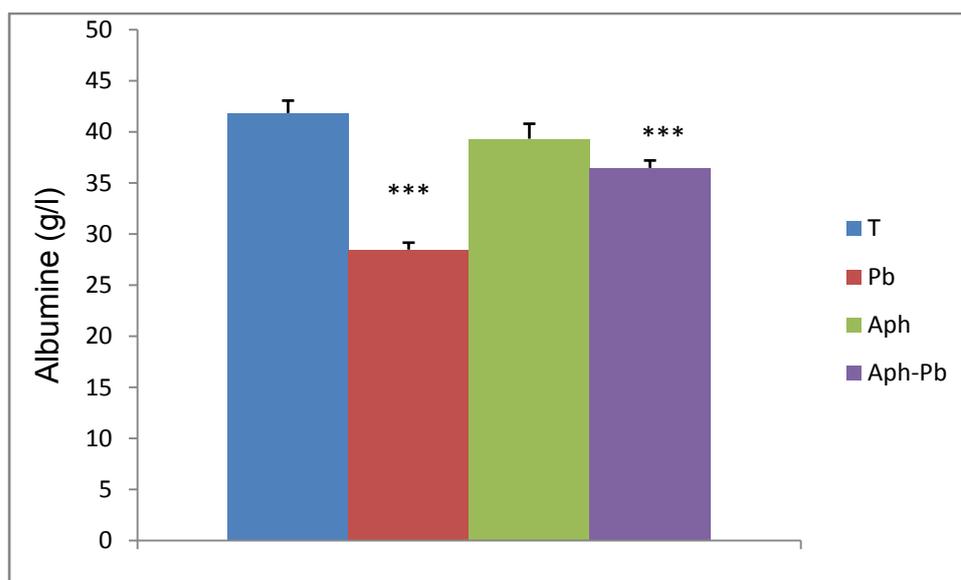


**Figure 34:** La comparaison de la bilirubine entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb) Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb :(\*\*\*) :  $p < 0.001$  ; Pb vs Aph-Pb : (\*\*\*) :  $p < 0,001$ )

#### 5.3.4 Dosage de l'albumine :

Le taux d'albumine chez les rats témoins est de l'ordre de  $41,83 \pm 1,2$  g/l, par contre chez les rats intoxiqués est de l'ordre  $28,48 \pm 0,67$  g/l. Ces résultats montrent bien une diminution significative ( $p < 0,001$ ) de ce paramètre chez les rats exposés au Pb par rapports aux rats témoins. Cette hypoalbuminémie reflète un dysfonctionnement hépatique.

Le résultat relatif à ce dosage présente clairement une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du taux d'albumine chez les rats traités préventivement par l'Aph puis intoxiqués par le Pb comparativement avec les rats intoxiqués au Pb non traités. Ces résultats confirment que le traitement à l'acide phytique protège le tissu hépatique (figure 35)

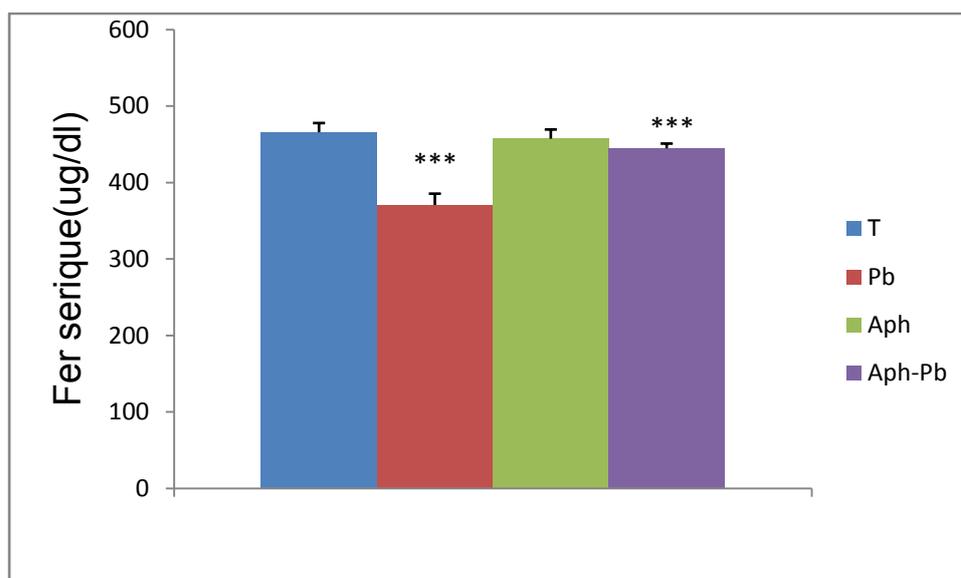


**Figure 35:** La comparaison de l'albumine entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb) Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb :(\*\*\*:  $p < 0.001$ ) ;Pb vs Aph-Pb : (\*\*\*:  $p < 0,001$ )

### 5.3.5 Dosage de fer sérique :

L'évaluation de la teneur sérique en fer chez les animaux préalablement exposés à l'acétate de plomb indique une nette diminution significative ( $p < 0,001$ ) vis-à-vis les rats témoins. Cela explique que le Pb réduit l'activité de la ferrochélatase et inhibe le fer insérer dans la protoporphyrine IX, ce qui diminue la concentration de fer dans le sang.

Par ailleurs, l'administration du Pb chez les rats préalablement traités par l'Aph a montré une élévation significative ( $p < 0,001$ ) de fer comparé aux rats intoxiqués (figure 36).

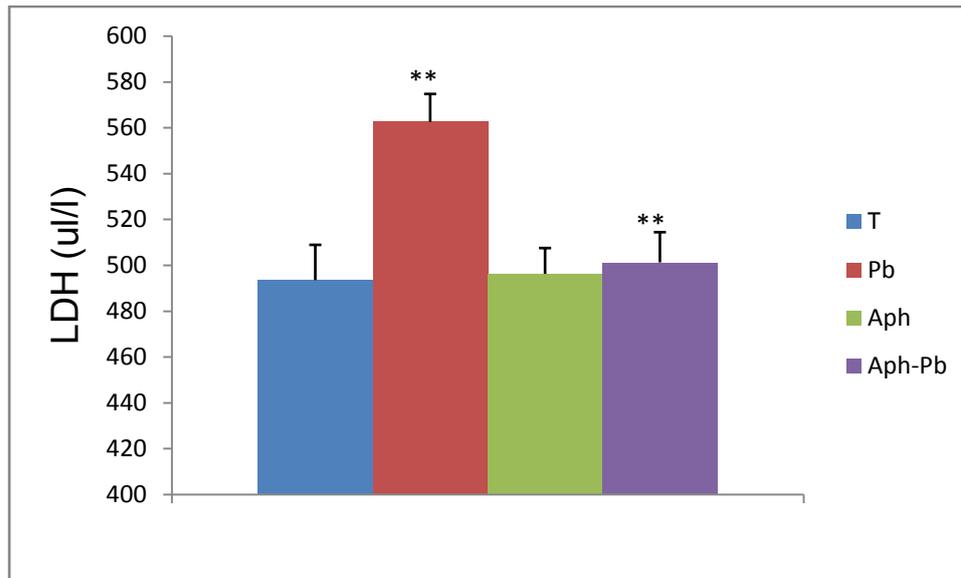


**Figure 36:** La comparaison du fer sérique entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb) Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb :(\*\*\*:  $p < 0.001$ ) ;Pb vs Aph-Pb : (\*\*\*:  $p < 0,001$ )

#### 5.4 Evaluation du lactate déshydrogénase :

Les résultats de dosage biochimique chez le groupe intoxiqué par Pb montrent une augmentation significatif ( $p < 0,01$ ) de l'activité LDH vis-à-vis le groupe témoin. Cela reflète que le plomb endommage les tissus qui sont libèrent cette enzyme dans le sang.

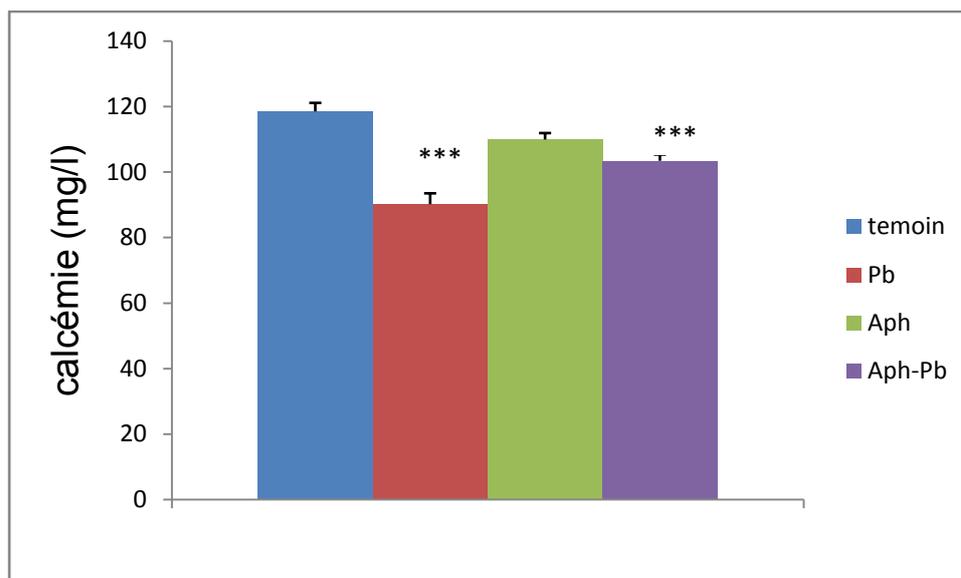
Le taux du LDH chez le lot traité par l'Aph avant sont exposition au Pb est significativement inferieur ( $p < 0,01$ ) par rapports lot intoxiqué au Pb (figure 37).



**Figure 37:** La comparaison de LDH entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb) Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb :(\*\*:  $p < 0.01$ ) ;Pb vs Aph-Pb : (\*\* : $p < 0,01$ )

### 5.5 Evaluation de la calcémie :

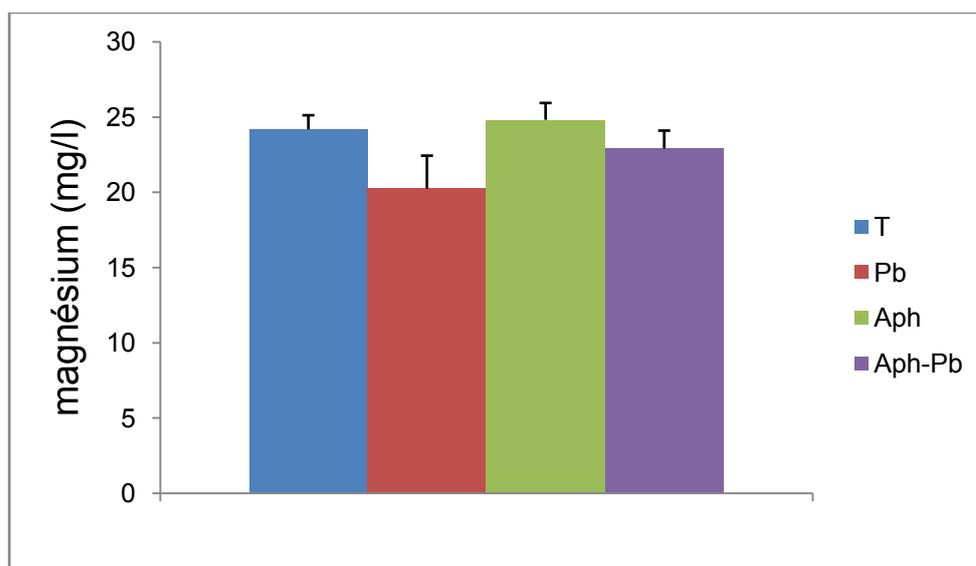
L'analyse statistique a montré une diminution significative ( $P < 0.001$ ) du taux de calcium sanguin les animaux exposés au Pb durant le développement par rapport aux animaux témoins. Ces résultats indiquent eux aussi l'effet compétiteurs du Pb sur les autres oligo-éléments (particulièrement le calcium) indispensable au bon fonctionnement de l'organisme. Tandis qu'on remarque que chez le groupe recevant de l'Aph préventif, le taux du calcium sanguin est significativement élevé par rapport au groupe intoxiqué au Pb ( $p < 0.001$ ), ce qui peut être expliqué par le rôle de l'acide phytique dans la régulation de l'homéostasie du calcium (Figure 38)



**Figure 38:** La comparaison de la calcémie entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb) Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM T vs Pb :(\*\*\*:  $p < 0.001$ ) ;Pb vs Aph-Pb : (\*\*\*:  $p < 0.001$ )

### 5.6 Evaluation du magnésium sanguin :

Les données obtenues en termes de taux de magnésium ne présentent aucune variation significative entre les différents lots (figures 39).



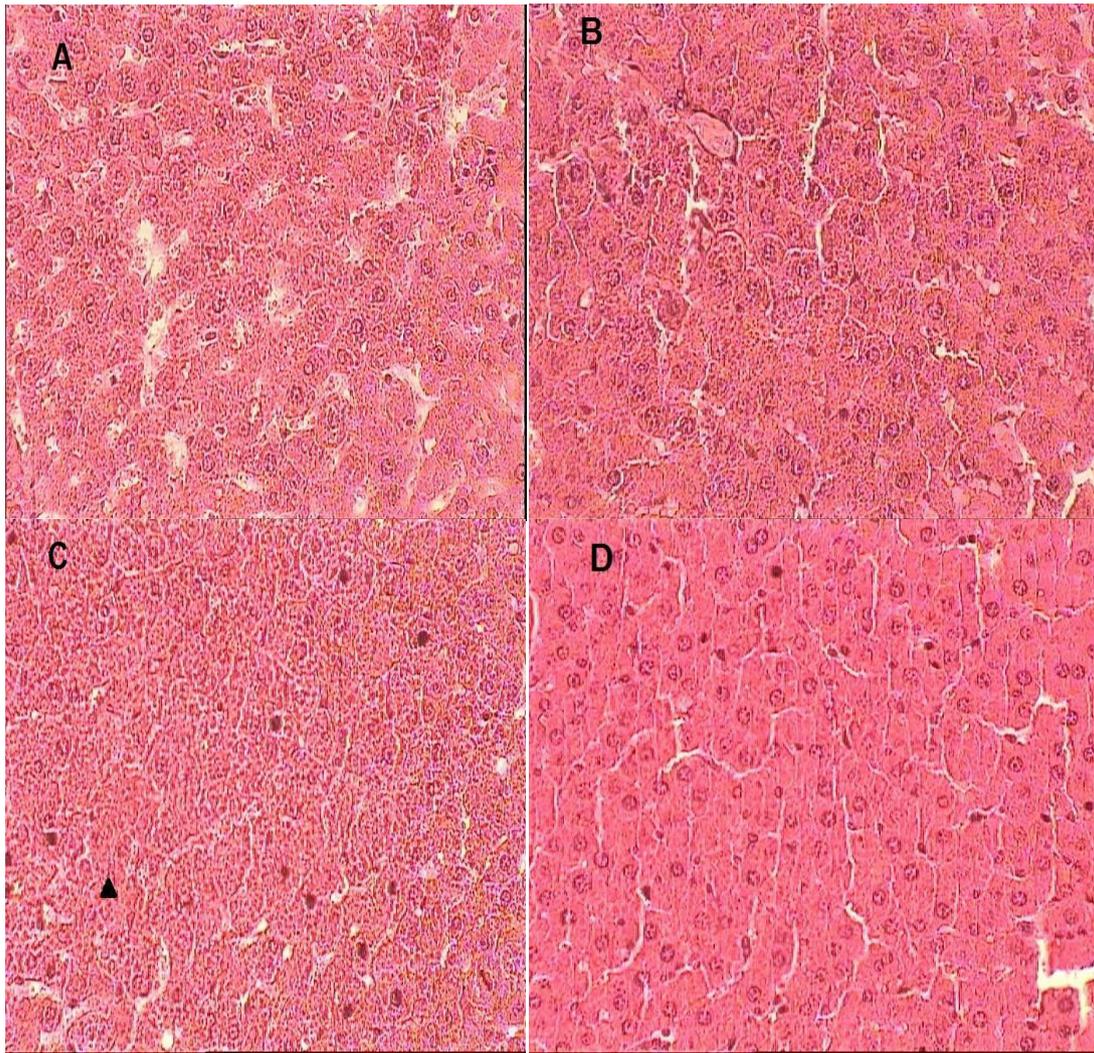
**Figure 39 :** La comparaison de magnésium entre les rats témoins(T), les rats intoxiqués(Pb), les rats témoins traités(Aph) et les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

## **6. Etude histologique :**

### **6.1 Histologie hépatique :**

L'examen histologique du foie témoin révèle un aspect histologique normal, la structure, le nombre et la forme des hépatocytes sont normales avec absence des lésions hépatocytaires. Cependant, le foie des rats intoxiqué par plomb avec une dose 0,2% durant la période de gestation et lactation (42 jour), montre une diminution de nombre des hépatocytes avec une présence des lésions hépatocytaires.(figure 40,A et C)

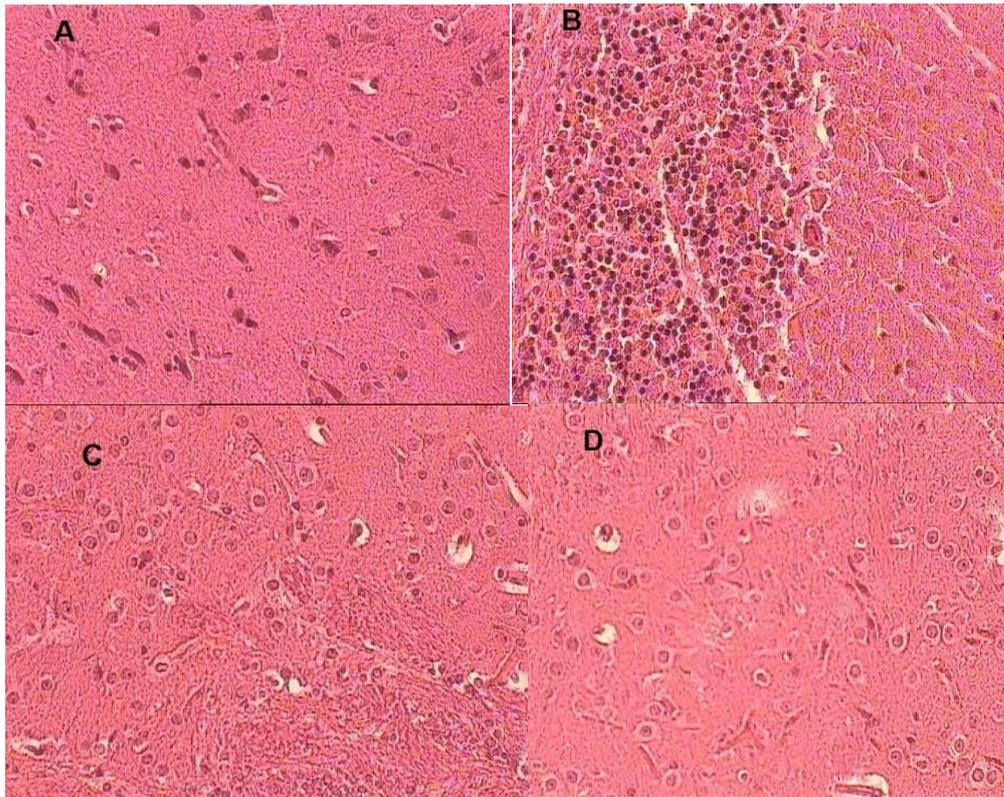
L'étude histologique du foie des rats témoins traités par l'acide phytique et des rats traités intoxiqués (traitement préventifs) révèle un aspect histologique normal presque identique à celui du rat témoin. (Figure 40,B et D)



**Figure 40 :** La microscopie optique de tissu hépatique G(x 40). **(A) :** une coupe hépatique des rats témoins sont apparus avec l'architecture normale.**(B) :**section de foie normal des rats témoins traités **(C) :** les rats exposés au Pb montré une cytolyse **(D) :**parenchyme hépatique normal des rats traités intoxiqués

## 6.2 Histologie du cerveau :

L'examen histologique montre un parenchyme cérébral normal, sans particularité histologique chez les différents lots (figure 41).



**Figure 41:** La microscopie optique de parenchyme cérébral G (x40) (A) : les rats témoins, (B) : les rats témoins traités (Aph), (C) : les rats intoxiqués (Pb) (D) : les rats traités intoxiqués (Aph-Pb)

***Chapitre V :***  
***Discussion***

Le plomb exerce uniquement des effets toxiques qui constituent une menace permanente sur la santé des populations. Il modifie le fonctionnement cellulaire en perturbant de nombreuses voies métaboliques et différents processus physiologiques (**Haito et al., 2008**).

Il existe nombreux chélateurs efficaces de détoxification du plomb. Parmi ces chélateurs, l'acide phytique (myo-inositol hexaphosphoric acid), IP6 fonctionne comme un antioxydant 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. (**Thorne,2002**). Aussi comprennent un effet antiagrégant plaquettaire et hypolipidémies, suggérant un rôle potentiel dans les ?maladies cardiovasculaires; inhibition de la réplication du virus VIH-1; modulation de la sécrétion d'insuline dans les cellules bêta du pancréas; et l'inhibition de la cristallisation de l'oxalate de calcium urinaire, empêchant ainsi le développement de la roche rénale.( **Jariwalla et al.,1999 ; Vucenik et al., 1999 ; Otake et al.,1999 ; Grases et al., 2000 ; Grases et al.,2000**).

Notre travail à consiste en premier lieu à la mise en évidence des effets néfastes due à l'intoxication aigue au plomb en exposant des rats wistar, à une concentration journalière de 0,2% de (**Kahloula et al., 2010**), durant une période de 6 semaines ( gestation et lactation).D'autre part a pour but d'évaluer l'effet thérapeutique de l'acide phytique face à cette intoxication sub-chronique au plomb.

### **1. Effet du Pb et Aph sur la croissance pondérale :**

l'exposition des rats à l'acétate de plomb durant la période de développement a entrainer une nette diminution dans le poids corporel comparativement à celui des rats témoins . La réduction dans la prise alimentaire s'est traduite par une baisse dans le gain de poids. Nous avons observe également une réduction dans le poids relatif des différents organes étudiés (foie et cerveau) ce qui est en faveur d'une perturbation dans leurs fonctionnements respectifs. Le plomb a produit une diminution statistiquement significativement dans le poids des cerveaux des ratons à j 21.Ces résultats montrent bien que le plomb induit un effet anorexigène par une action direct sur les centres nerveux responsable de la régulation de la satiété et de la faim. Nos résultats sont en accord avec les travaux entrepris par différents auteurs (**Smith et al., 2008**) qui ont observe une réduction dans la consommation de la nourriture chez les rats intoxiqués au plomb. De même nous avons noté également une réduction dans le

poids relatif des différents organes étudiés (foie et cerveau) ce qui est en faveur d'une perturbation dans leurs fonctionnements respectifs.

Par conséquent, l'administration de l'acide phytique chez les rats intoxiqués par Pb a permis d'observer une augmentation dans le gain corporel ceci comparé aux rats exposés au plomb et non traités. Ce changement pourrait être due à l'effet de l'acide phytique sur les microflore intestinale en stimulant l'absorption des nutriments et régulier l'élimination fécale (**Sekita et al., 2016**). Une bonne régulation intestinale est liée à l'appétit et ce qui corrige la perte de poids chez les animaux. Nos observations sont aussi en accord avec ceux des **Norazalina et al., 2009 ; Daley et al., 2013**, qui ont indiqué que l'Aph peut suggérer un effet bénéfique pour corriger le poids chez les animaux..

Nos données ont montré que la prise d'acide phytique dans le groupe était protectrice contre la perte de poids résultant de l'addition du Pb. Le groupe qui a été nourri du plomb seulement a présenté une diminution significative du poids du foie et du cerveau par rapport aux autres groupes testés et témoin. Les résultats obtenus avec le Pb seulement ne sont cependant pas surprenant, car d'autres chercheurs ont lié à l'absorption de Pb une diminution de la digestion et à l'absorption de nutriments (**Vergese et al., 2005, Daley et al., 2013**)

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

Dans cette série d'expérience comportementale, nous avons voulu montrer l'effet du Pb et l'Aph sur les fonctions neurocomportementales des animaux en proposant différents tests comportementaux afin d'évaluer l'activité locomotrice, l'anxiété, la dépression, l'apprentissage et la mémoire.

Concernant le test du compartiment obscurité / lumière (dark and light test) qui est utilisé pour déterminer l'état de stress chez les rongeurs, 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 issues de femelles exposées au plomb pendant la gestation et la lactation présentent un temps de séjour dans le compartiment lumineux 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 0,2% durant la période prénatale est anxio-génique. Ce comportement des rats pourrait être traduit par une interaction du Pb avec les neurones

sérotominergiques et dopaminergiques de l'hippocampe. Une augmentation de niveaux de 5-HT dans l'hippocampe est à l'origine d'un effet l'anxiogène (**Leret et al., 2003**).l'élaboration de l'état anxieux correspond a ces perturbation qui sont associées au système dopaminergique et cholinergique (**Bear et al., 2007**). Etant donné que tout comportement dépend d'une commande cérébrale, les désordres comportementaux observé 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**).

Les résultats relatifs au test de la nage forcée (Forced Swimming Test: FST) ont permis d'observer un temps d'immobilité (TIM) significativement élève chez le groupe expose au Pb par rapport a celui du groupe témoin. Ces résultats prouvent bien que l'exposition sub-chronique au Pb entraine un état de désespoir chez l'animal intoxique qui se manifeste par une réduction dans la nage active et l'installation d'un état de désespoir qui est probablement la conséquence de l'altération des voies dopaminergiques et sérotominergiques au niveau cérébral principalement striatum, hippocampe et l'axe hypothalamo-hypophysaire. 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 (**Malitec et al., 2007**). Ces observations s'accordent avec d'autres chercheurs (**Leret et al., 2003 ; Soeiro et al., 2007 ; kahloula et al., 2009**) qui confirment que l'administration du Pb a une dose de 0.2% durant la période prénatale engendre un effet anxiogène cela peut être expliquer par l'influence du Pb sur le développement de neurones monoaminergiques.

Afin de justifier ces données expérimentales nous avons procédé a un dosage de glucose qui est un bon indicateur de stress. Les résultats biochimiques ont montré une augmentation significative de la glycémie chez les rats intoxiqués par rapport aux témoins, ceci est dû selon **Maltankhar et al., 2006**.A l'inhibition de la plupart des enzymes glycolytiques et ceux intervenants dans le cycle de Krebs comme l'hexose kinase, pyruvate kinase, LDH et déshydrogénase (**Maltankhar et al., 2006**) et aussi suite au stress oxydatif engendré par le Pb et l'inflammation des tissus qui s'en suit pourrait être responsable de cette hyperglycémie (**Mastrocola et al.,2005; Somfai et al., 2006**).

Concernant, l'activité locomotrice l'exposition a l'acétate de plomb pendant une durée de 6 semaines avec une dose de 2g/l provoque une diminution significative dans l'activité locomotrice ce prouve que le Pb provoque une hypoactivité locomotrice Ce Comportement est engendré par une altération de l'activité dopaminergique associé a une perte des récepteurs post-synaptique dans le corps strié, conduisant a 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 visées 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 exposé au Pb. ces données sont en accord avec ceux de (**Fordhal et al., 2012**).

Les résultats présents indiquent que l'exposition au Pb pendant le période de gestation et de lactation cause une perturbation cognitive. Ce qui traduit, par une augmentation temps de la latence avant de trouver la plateforme immergée durant le test ; par contre on n'a noté 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 exposes au Pb pendant la gestation et la lactation (**Kahloula et al., 2009; Li et al., 2008**) Il a été reporté que la période de gestation et lactation est une période tres sensible a l'intoxication a Pb qui altère le développement foetal (**Kim et al., 2002**) et cause des déficits cognitifs a long terme (**Lanphear et al., 2000; Rumbeiha et al., 2001**). De plus, le traitement au Pb a forte dose (0.2%) mène aux changements a long terme de la plasticité synaptique (**Gilbert et al., 1999; Lasley et Gilbert, 2002**).

Par ailleurs, dans le test obscurité/ lumières les rats qui sont traités par l'acide phytique avant l'intoxication présentent une baisse significatif dont le temps passé dans le compartiment éclairé par rapports les rats intoxiqués et non traités, ce qui signifie que l'acide phytique diminue l'état d'anxiété chez les animaux.

Les résultats du test de la nage forcée montrent chez les rats traités intoxiqué une diminution significative du temps d'immobilité comparés aux rats intoxiqué non traités. De ce fait le traitement par l'acide phytique diminue l'effet dépressif des animaux. Les analyses biochimiques présentent une diminution significative du taux

de glucose chez les rats traités par l'Aph comparés aux rats intoxiqués. De plus, il a été rapporté que l'apport en IP6 réduit les taux sanguins de glucose (**Lee SH et al., 2006**). Par conséquent, l'administration de l'acide phytique à des rats exposés au plomb dans le lot préventif a permis d'observer une nette augmentation du taux de glucose. Plusieurs études ont montré que l'apport en acide phytique réduit la réponse de la glycémie, cela peut être que l'acide phytique forme des complexes avec des hydrates de carbones d'aliments réduisant ainsi la solubilité et nuire à la digestibilité et l'absorption du glucose, retardant ainsi le début de diabète (**Larsson et al., 1997 ;Kmuar et al., 2009 ; et Eisma et al.,2011** ). IP6 serait capable d'inhiber la glycation, il apparaîtrait comme une thérapie efficace contre le diabète sucré donnant sa synergie probable entre son potentiel en tant qu'inhibiteur de glycation et en tant que modulateur des niveaux de glucose dans le sang (**Pilar et al., 2017**).

Dans une étude publiée chez des souris KK diabétiques, **Lee et al., 2006** ont trouvé des taux de glycémie réduits en fonction des teneurs en phytates alimentaires (0-1,0%). Ainsi, IP6 peut être un élément clé modulé la sécrétion d'insuline par son effet sur le calcium l'activité de canal et le fait qu'il est le phosphate inositol dominant dans l'insuline sécrétant cellules bêta pancréatiques (**Barker et al.,1999**).

Le test de l'openfield montrent une augmentation de activité locomotrice (nombre des carreaux traversées, redressement) et une diminution de stress (par augmentation de nombre de visite au centre et diminution du temps de latence) chez les rats traités intoxiqués par rapports les rats intoxiqués. Ce qui reflète que l'Aph régulier l'activité locomotrice et réduit l'état de stress qui sont provoqué par le Pb.

D'autre part, on observe une augmentation de l'apprentissage et la mémorisation, par diminution significative du temps de latence pendant les 4 jour d'apprentissage chez les rats traité intoxiqués comparés au le intoxiqués non traités.

Ces amélioration comportemental et due du l'effet bénéfique de l'Aph contre la cytotoxicité induit par le plomb, l'Aph stimule SIRT1 et AMPK qui sont provoqué l'autophage les plaques d'amyloïdes par diminution des radicaux libre (**Thimmappa et al., 2010**) une diminution de l'auto-oxydation de la dopamine par la chélation des radicaux libre qui sont a l'origine du stress oxydatif a par conséquent l'altération de neurones dopaminergiques (**Qixu et al., 2007**).

### 3. Dosage du Plomb sanguin et cérébral

L'utilisation de spectrophotométrie atomique nous a permis d'enregistrer un taux de plombémie de l'ordre  $176,35 \pm 10,75$  ug/l chez les rats exposés à une concentration de 0,2% d'acétate de Pb. Ces résultats montrent une bonne imprégnation du plomb ce qui signifie que le sang constitue des sites préférentiels de fixation du plomb (**Goullé et al., 2012**).

De plus, **Bellinger (2000)** rapporte 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 existe 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**).

Les résultats du dosage du plomb cérébral ont montré son accumulation dans l'ensemble du cerveau de l'ordre  $128,35 \pm 6,25$  ( $\mu\text{g/g}$ ). Ces données expérimentales montrent 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 mémorisation et pourrait être ainsi la structure cible de l'effet neurotoxique provoqué par une intoxication au plomb (**MA et al., 1997 ; Sharifi A-M 2002**).

Les résultats du dosage de plomb sanguin et cérébrale chez les rats traités intoxiqués montrent une diminution significative par rapport aux rats intoxiqués non traités. Cela prouve que l'acide phytique élimine le plomb. L'acide phytique a 12 protons remplaçables, ce qui rend la capacité de complexe avec multivalent cations et protéines chargées positivement. L'acide phytique immobilisé peut adsorber des ions de métaux lourds, tels que le cadmium, cuivre, plomb, nickel et zinc, à partir de solutions aqueuses. Les mêmes résultats ont été montrés par (**Tasea et al., 1997 ; Daley et al., 2012**).

L'IP6 est l'ester hexaphosphorique du cyclohexane et dans des conditions de type physiologique, adopte une conformation de chaise préférée avec 1 groupe phosphate axial et 5 groupes phosphate équatorial (**Brigando et al., 1995**).

Huit des douze groupes hydroxyle portent des charges négatives qui, avec sa petite taille, se transforment en IP6 en une molécule à forte densité de charge négative. Cela

suggère qu'IP6 ne devrait pas être capable de traverser la bicouche lipidique et ce qui rend capable de franchir la barrière hémato encéphalique et agit au niveau cérébral (**Ferry et al., 2002**).

Le niveau de plomb dans le sang et dans le cerveau chez les rats intoxiqués par le plomb et préalablement traités par l'acide phytique a été significativement diminué par rapport aux rats intoxiqués et non traités. Cependant des changements insignifiants entre la concentration du plomb dans le sang et dans le cerveau. 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 plomb (**Basha et al., 2003, Zawia, 2000**), le plomb a une forte affinité pour les SH libre dans les enzymes et les protéines et sa liaison peut modifier leur fonction (**Baghia et al., 1997**).

Nos résultats sont en accord avec **Cúneo et al., 2006 ;Kahloula 2010** ont prouvé que l'accumulation du plomb dans l'os, les reins et le foie était inversement proportionnelle à la quantité de phytate ingérée. Ces résultats confortent l'hypothèse selon laquelle l'acide phytique ou phytate pourrait prévenir une absorption intestinale excessive et l'accumulation de plomb alimentaire dans les tissus des animaux de laboratoire.

L'ajout de phytate ou de calcium réduit l'accumulation de plomb dans l'os et dans les échantillons de sang et de foie. La plus grande inhibition de la rétention de plomb dans les tissus était évidente lorsque le phytate et le calcium étaient nourris ensemble (**Rose et al., 1984**).

Dans tous les cas la capacité de chélation notoire de l'IP6 s'est traduite dans son application comme agent détoxifiant contre les métaux lourds comme le Cd ou le Pb (**Sanchis et al., 2017**).

En outre, des travaux réalisés sur des métaux lourds tel que le cadmium (**Tsao et al.,1997**), ont montré que l'IP6 atténue la toxicité induite par le cadmium chez les rats mâles, il ont pu montrer qu'une diminution significative du Cd dans le sang, foie et reins à des rats administrés avec du cadmium et nourris avec différentes concentrations de l'acide phytique.

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

Chez les rats intoxiqués on remarqué une diminution significative des GR, HGB et HTC comparé aux rats témoins. 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 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> Atpase et entraîne une hémolyse et une diminution de durée de vie des érythrocytes, de plus, la toxicité à long terme perturbe l'hématopoïèse (Al Salah, 1994). Le plomb provoque un trouble de l'anabolisme de l'hème par une inhibition sévère de l'activité de l'ALAD (Dorward ;Yagminas, 1994). D'autres travaux considèrent que le plomb exerce une inhibition au niveau des groupements sulfhydryles de l'enzyme ALAS. Pour confirmer l'hémolyse nous avons dosé les ions (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>), les résultats ont montré une augmentation significative de ces ions chez les rats intoxiqués.

Il existe une élévation significative des GR, HTC et les HGB chez les rats traités intoxiqués par rapport aux rats intoxiqués et non traités. De même, il existe une diminution du taux des ions. L'acide phytique se fixe au niveau des GR et empêche l'effet du plomb. Il a été observé que le phytate a diminué la population de cellules K-562 de 19-36%, concomitant avec une différenciation accrue, comme en témoigne l'ultrastructure morphologique et l'augmentation de la synthèse de l'hémoglobine (Vikas et al., 2009).

Hunter, 1981 a indiqué que les niveaux de phytate alimentaire jusqu'à 4% du régime n'altèrent pas la régénération de l'hémoglobine bien que par les rats anémiques

#### 5-Effet du plomb et l'acide phytiques sur les paramètres lipidiques :

Les résultats relatifs au métabolisme lipidique montrent une hypercholestérolémie et hypertriglycéridémie chez les rats intoxiqués par Pb comparés aux rats témoins. Nos résultats sont similaires aux travaux de Hanan et al., 2012 ; Sharma et al., 2013 ; Adli, 2015 qui ont trouvé une augmentation des taux des triglycérides et le cholestérol au niveau sanguin après l'administration de plomb. De plus, l'acétate de Plomb induit une altération du métabolisme des lipides (Skoczynka et al., 1993 ; Ademuyiwa et al., 2005 ; hami et al., 2006 ; Moussa et Bashandy, 2008).

A l'opposé, le groupe Aph-Pb montre une réduction significative des taux des triglycérides et le cholestérol sanguin par rapport des rats intoxiqués non traités. Nos

donnés montre une tendance à la baisse de cholestérol et des triglycérides dans le lot préventif par rapport au lot intoxiqué. résultats sont similaire au travaux de **kim et al ;2014 ; Vucenik et al ., 1998.** . Cependant **Daley et al., 2012** ont montré une baisse du taux de cholestérol chez les rats nourris avec un régime alimentaire plus cadmium et l'acide phytique, mais une augmentation des triglycérides est observée.

L'acide phytique ayant des effets sur l'abaissement du cholestérol sérique et des triglycérides chez les animaux d'expérimentation (**Lee et al., 2005**). Cela pourrait s'expliquer par la liaison préférentielle de l'acide phytique au zinc. l'Aph réguler à la baisse les taux élevés de lipides par l'activité des enzymes lipogéniques nos hépatéque (**Okazki et al.,2014**) .

IP6 inhibe l'augmentation des lipides totaux hépatiques et des triglycérides, le mécanisme de cet effet hypolipidémies dans le foie semble être lié à l'inhibition des enzymes hépatiques dans la lipogénèse. Bien que les niveaux physiologiques de phytates ralentissent l'accumulation des lipides sériques élevés. En effet, ces traitements alimentaires (jusqu'à 2,5% d'IP6) ne produisant pas de changement significatifs dans les taux de cholestérol hépatique ou des lipides totaux sériques chez les animaux traités au saccharose, ce qui concorde avec les résultats de **Kalayama, 1997** qui montre une réduction de l'hyperlipidémie des niveaux supplémentaires plus élevés de phytates alimentaires.

Dans une autre étude chez des souris KK diabétiques, **Lee et al.** ont rapporté une diminution du sérum cholestérol total et cholestérol LDL par phytate (0-1,5%).

On suppose que les effets hypocholestérolémians du sang causés par le phytate pourraient être en partie liés à une augmentation de l'excrétion des acides biliaires et des lipides et à une réduction de la synthèse hépatique du cholestérol. Ces résultats supposent que le phytate alimentaire peut également avoir un effet bénéfique sur les niveaux de la glycémie et le cholestérol sanguin.

#### **6- Effet du plomb et l'acide phytiques sur les fonctions rénale :**

Les résultats obtenus révèle une élévation significative du taux de l'urée, créatinine et l'acide urique chez les rats intoxiqués par le plomb durant la gestation et lactation. Ce qui reflète que cet élément chimique agit sur la filtration glomérulaire en provoquant des troubles au niveau de la concentration de l'urée, créatinine et acide urique **Flowar et Du val., 1991** ont confirmé que l'insuffisance rénale chez les rats

traités par le plomb peut être interprétée par l'augmentation des concentration d'urée et de la créatinine par rapports aux témoins. Ces résultats sont d'accord avec des travaux de **Saka et al., 2011** qui ont montré que les cellules rénales ne sont plus capable de contoler le processus d'excrition urinaire.car les reins sont compté parmi les organes les plus sensibles au plomb(**Saka et al., 2011**).

Par ailleur, les rats traités par Aph présente une diminution du taux de l'urée, créatinine et l'acide urique par rappots aux rats intoxiqués. Certaines études ont montré que IP6 inhibe de manière significative, la précipitation de l'oxalate de calcium urinaire par son action de chélation de calcium rénale qui empêche la formation des des cristaux rénale (**Grases et al., 1999 ; Grases et al., 2000**) nos résultats sont similaire au travaux de **Anwasha et al .,2016**.

Dans l'ensemble, nos donnés ont montré que l'acide phytique est très efficace contre le développement d'une maladie rénale due à l'exposition au plomb. Les études de **Daley et al., 2012** ont trouvé les mêmes observations, l'acide phytique réduisait les effets toxiques du cadmium liés à la fonction rénale.

**Schlemmer et al., 2009 ; Grases et al., 2000 et Flexis et al., 2006** ont montré que le phytate possède une forte activité d'inhibition de la cristallisation des oxalates de calcium. Des études récentes ont démontré que le phytate est naturellement présent dans l'urine humaine et les niveaux normaux ont oscillé entre 0,5 et 3 mg/l. L'ingestion de phytate alimentaire réduit significativement le risque de développement des calculs calciques chez les 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 da la lithiase rénale de l'oxalate de calcium.

#### **7-Effets du plomb et l'acide phytique sur la fonction hépatique :**

Pour évalué les fonctions hépatique nous avons doser les paramètres suivants : TGO,TGP, PAL , BL, Albumine et le fer au niveau de sang. Les données enregistrés présentent une augmentation du taux de TGOet TGP chez les animaux intoxiqués par le Pb, qui sont considéré comme de bons marqueurs des fonctionnnement hépatique (**Hagunuer ; 1992**).

Selon **Robertfrouit (2002)**, l'activité enzymatique des transaminases des travailleurs exposés au plomb est supérieure à celle du groupe normal. Donc le plomb induit une augmentation des activités enzymatiques hépatiques.

De même il existe une augmentation de PAL chez les rats intoxiqués par rapport à celle du lot témoin, **Upadhyay et al., 2009** ont démontré que les rats nourris par des aliments contaminés par le plomb subissent un état stress oxydatif lié à l'élévation sérique de PAL.

Nos résultats montrent une augmentation significative du taux de bilirubine chez les rats intoxiqués, ceci est similaire aux travaux **Shalan, et al. (2005)**, **Moussa et Bashandy. (2008)**, **Herman et al. (2009)**, **Mehana, et al (2010)** et **Nabil et al (2012)** qui justifient cette élévation par l'induction de l'enzyme l'hème oxygénase qui convertit l'hème en bilirubine, ce dernier est transporté dans le foie sous forme d'un complexe avec le sérum. Ensuite, la bilirubine est conjuguée avec le glucuronide dans le foie sous l'effet toxique du plomb, cette conjugaison avec la bilirubine lui rend inactive (**Noiega et al., 2003**).

De plus, une réduction nette en teneur sérique d'albumine a été enregistrée chez les rats intoxiqués, ce qui peut être due à la diminution de la synthèse des protéines au niveau du hépatique. Ces observations sont en accord avec les travaux de (**Adli et al., 2015 ; Benyamina et al., 2017**)

Concernant l'évaluation de la teneur sérique en fer chez des animaux préalablement exposés à l'acétate de plomb ; on a observé une diminution importante de cette teneur comparativement à celle des animaux témoins. Cela explique que le plomb réduit l'activité de la ferrochélatase et inhibe le fer insérer dans la protoporphyrine IX ce qui réduit la concentration du fer dans le sang. Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Ouldali et al., 2012**.

En revanche, chez les rats traités par l'acide phytique et intoxiqués par le Pb, les résultats montrent une baisse du taux de TGO, TGP, BL et PAL cela concorde avec les travaux de **Anwasha et al., 2016 ; Tasha et al., 2012**. Par ailleurs, on a noté une augmentation du taux de l'albumine et le fer sérique chez le même groupe, ces résultats confirment ce de **Daley et al., 2012**

L'Aph forme complexe avec les ions de Pb et les élimine (**Green et al., 2001**), il pénètre dans le foie et inhibe l'effet du Plomb ce qui maintient le bon fonctionnement hépatique (**Pincus et al., 1996**). L'AST, ALT, PAL sont des

enzymes cellulaires qui sont présentes à des faibles concentrations dans le sérum dans les conditions normales. Les changements dans l'activité enzymatiques du foie sont généralement détectables avant que les symptômes physiques et dommages soient apparents. Des chercheurs ont également signalé une diminution des activités de l'aspartate et des transaminase et de l'albumine dans le sang dans le groupes de rats recevant de l'acide phytique (**Daleay et al., 2012**).

Le foie est le principal site de synthèse des protéines plasmatiques, en particulier de l'albumine, les changements dans les protéines sériques ou le rapport de l'albumine à la globuline peut indiquer un dysfonctionnement hépatique chronique ou sévère peut être mise en évidence par une augmentation de la concentration de globuline.

#### **8-Dosage du taux de LDH, calcium et magnésium :**

Nos résultats montrent une augmentation significative du taux de LDH chez les rats intoxiqués comparé aux rats témoins, ce qui signifie que le plomb agit au différents tissus sachant que LDH est un bon marqueur de lésion tissulaire (**Bouafia et al., 2004**). Nos résultats sont en accord avec des travaux de **Benyamina., (2017)**.

Les résultats enregistrés illustrent une hypocalcémie chez les rats intoxiqués par le Pb par rapport aux rats témoins. Peut être expliqué que le plomb est transporté dans les érythrocytes par le biais de systèmes de transport de calcium donc il entre en compétition avec cette ion. Ce phénomène qui peut modifier l'homéostasie du calcium (**Quintanar-Escozar et al.,2007**) par l'inhibition de l'activité de la vitamine D dans le foie et le rein (**Chichovska et Anguelov., 2006 ;Harman et Geraldine.,2009**).

De même, l'administration du plomb a induit également une hypomagnésémie chez les rats intoxiqués qui s'explique par une atteinte rénale et hépatique provoquée par le plomb (**Todorovic et al.,2008 ; Herman et Geraldine,2009**).

Chez les rats traités à l'acide phytoque et intoxiqués présentent une diminution du LDH et une augmentation du calcium et magnésium par rapport aux rats intoxiqués non traités. IP6 lie fortement les minéraux divalents comme le magnésium, le fer, le calcium et le zinc, et cause des carences minérales (**Thorne**

.,2002) . Nous avons noté que le traitement préventif par l'acide phytique était efficace pour prévenir la réduction du calcium lorsque le plomb est ajouté. **Daley et al., 2012** ont montré également que l'acide phytique plus l'exercice physique peuvent améliorer les effets toxiques du cadmium.

**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 de dépôts de plomb dans divers organes. Etant donné que les phytates peuvent chélater et exclure de l'absorption des cations divalents essentiels comme le zinc, le cuivre, le magnésium et le fer et le calcium.

Cependant, **Rimbach et Pallauf, 1997** ont trouvé que l'IP6 diminue l'absorption du magnésium et l'absorption du Ca.

### **9-Etude histologique :**

Les résultats obtenus après l'observation microscopique des coupes histologiques réalisées au niveau hépatique chez les rats intoxiqués par pb ont permis d'observer une nécrose et le parenchyme hépatique siège d'une cytolyse. Ces résultats sont similaires avec les études 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.

Par contre, l'examen histologique au niveau du foie des rats intoxiqués traités par l'Aph a illustré une amélioration aussi dans le tissu hépatique. Des études suggèrent que l'Aph a conservé l'intégrité structurale de la membrane plasmique des cellules hépatiques par une chélation du Pb efficace, qui a été soutenue par son activité antioxydante (**Anwasha et al., 2016**).

L'étude histologique sur le cerveau chez tous les lots ne révèle aucune altération cérébrale ou cytolyse. Contrairement, plusieurs études montrent que l'exposition chronique au plomb induit une destruction cellulaire remarquable (**Benlahsen (2007), Adli (2015)**).

Dans l'ensemble, nos données ont montré que l'intoxication au plomb peut induire des dommages au foie et que le cerveau peut être plus affecté par une exposition prolongée au Pb.

***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 ; les effets délétères du plomb touchent tous les compartiments de l'organisme vivant et les organes les plus vulnérables aux effets toxiques du plomb sont essentiellement le système hématopoïétique, le système rénale 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 adapter à tous les niveaux de vie et qui pourraient bloquer, inactiver et éliminer ce métal des organismes vivants ainsi corriger les différentes perturbations engendrées par ce métal. C'est dans ce contexte inscrit notre étude, de indiqué l'effet bénéfique de l'acide phytique vis-à-vis l'intoxication au plomb et protection des différentes perturbations engendrées au niveau des différents paramètres biochimiques et même histologiques.

Nos résultats ont montré que l'exposition des rats au plomb à une dose journalière 2 g Pb/l durant la période de gestation et de la lactation, entraine un effet anorexigène, traduit par une réduction du poids corporel et une diminution des poids des organes. De plus nous avons observé des perturbations importantes dans le comportement ; une hypoactivité locomotrice, un état anxieux et dépressif chez les rats intoxiqués au Pb par rapport aux témoins suite aux expériences relatives au stress, Cet état de stress a été confirme par le dosage de glucose indiquant ainsi une hyperglycémie chez les jeunes rats intoxiques compares aux jeunes rats temoins. ceci qui est en faveur d'une implication direct de ce métal sur les différents systèmes de transmissions nerveuses impliqués dans la régulation de ces comportements. Dans notre travail il ressort a 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 traites au Pb pendant la gestation et la lactation comparée aux jeunes rats témoins. Cela montre clairement que ce métal perturbe d'une façon importante les différents acteurs de la neurotransmission glutaminergique.

Les résultats de la plombémie et le taux du plomb au niveau cérébral ont confirmé le passage du plomb dans la circulation sanguin d'une part et son passage à

## Conclusion

---

travers la barrière hémato encéphalique et son accumulation au niveau du cerveau d'autre part.

L'intoxication au plomb a permis d'enregistrer une perturbation des différents paramètres biochimiques par une diminution des concentrations des GR, HGB, HCT et une augmentation des biomarqueurs du fonctionnement rénal (urée, créatinine et acide urique) et ceux du fonctionnement hépatique (TGO, TGP, PAL, BL, cholestérol, triglycérides, LDH).

L'étude histologique au niveau de tissu hépatique des rats exposés au Pb a permis d'observer une cytolysse cette observation confirme l'altération hépatique.

Par ailleurs, l'administration de l'acide phytique montre clairement un gain corporel remarquable ainsi une nette amélioration dans les différents tests neurocomportementaux. De plus, les tests biochimiques présentent une diminution des teneurs sérique en urée, créatinine, l'acide urique, glucose, cholestérol, triglycéride, TGO/TGP, PAL, LDH, BL, et une augmentation de l'albumine, fer, et le calcium sanguin par rapport aux rats exposés au plomb. De plus, 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.

En conclusion, ce travail a permis d'évaluer que l'acide phytique présente un pouvoir chélateur puissant de plomb et pouvoir prophylactique intéressant sur la fonction cérébral, rénal et hépatique

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

- Effectuer des dosages de stress oxydatif pour évaluer l'effet antioxydant de l'acide phytique.
- Evaluer l'effet de plomb et l'acide phytique sur le système reproducteur par des dosages hormonaux.
- Etudier l'effet anticancérogène de l'acide phytique
- En fin, nous conseillons les gens de consommer beaucoup plus d'aliment riche en acide phytique tels que les céréales parce que cette substance possède un pouvoir chélateur puissant des métaux lourds (surtout le plomb) présents dans l'organisme.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

---

### A

**Ademuyiwa O.**, Regina N.U., Florence I. And Olugbenga A.(2005). Plasma lipid profiles and risk of cardiovascular disease in occupational lead exposure in Abeokuta Nigeria-lipids in Health and Disease;4:19.

**Adli D.E.H.**, effets prophylactique de l'administration de *syzygium aromaticum* (clou de girofle) chez les rats wistar en croissance intoxiqués au plomb et au manganèse. Etude biochimique, histologique et neurocomportementale, 2015 Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella thèses de doctorat

**Ahamed, M.**, Verma, S., Kumar, A., Siddiqui, M.K., 2005. Environmental exposure to lead and its correlation with biochemical indices in children. *Sci. Total Environ.* 346, 48–55

Al-Saleh.I.A.S(1994):Effect of lead haematological profile in Saudi Arabia Trace elements and electrolytes;vol (11)N°1:p:9-11

**Andersen, O.**, Aaseth, J., 2002. Molecular mechanisms of in vivo metal chelation: implications for clinical treatment of metal intoxications. *Environ. Health Perspect.* 110, 887–890.

**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.

**Arlen Frank Auth** 2013 .Chemistry of Plant Phosphorus Compounds Elsevier Inc. All rights reserved. Chapter 2 • Phytic Acid 76-77

**Arlen W. Frank.** Phytic Acid Chemistry of Plant Phosphorus Compounds, Chemistry of Plant Phosphorus Compounds 2013, Pages 75–134

**Ayaka Sekita, M.S.**, Yukako Okazaki, Ph.D., Tetsuyuki Katayama, Ph.D.(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*, doi: 10.1016/j.nut.2016.01.003

### B

**Bablok** (1988) .Laboratory diagnosis of increased lead absorption .Arch Environ Health 28, (4) ;198- 208.

## Références bibliographiques

---

**Bagur** Fussler (2011), Rituels et intoxication au plomb chez l'adulte ,Université Pierre Et Marie Curie (Paris 6) ,Faculte De Medecine Pierre Et Marie Curie N° 2011pa06g058.

**Batra, N.,** Nehru, B., Bansal, M.P., 1998. The effect of zinc supplementation on the effects of lead in the rat testis. *Reprod. Toxicol.* 12, 535–540.

**Barker CJ,** Berggren P. Inositol hexakisphosphate and beta-cell stimulussecretion coupling. *Anticancer Res* 1999;19:3737-3742.

**Bear M.F.,** Connor B.W.and Paradio M.A.(2007).Neurosciences à la découverte du cerveau.3ème éditions PP522-539

**Bellinger D.C** (2000).Effect modification in epidemiological studies of low level neurotoxicant exposures and health outcomes.*neurotox Teratol* 22:133-140

**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.** and Slimani M.(2007).The effect of the safe lead on the behaviour of the wistar rat;Egypt Journal of appl sciences,22(11B).

**Benyamina,** Behadada, A, 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 2017,université'oran, thèse doctorat

**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.

**Bismuth C.,** Baud F., Conso F., Dally S., Fréjaville J.-P., Garnier R., Jaeger A., Rédaction d'après " Toxicologie clinique ", Flammarion Médecine-Sciences, 5ème édition, Paris 2000.

**Blanusa, M.,** Varnai, V.M., Piasek, M., Kostial K, 2005. Chelators as antidotes of metal toxicity: therapeutic and experimental aspects. *Curr. Med. Chem.* 12,2771–2794.

**Bo Lonnerdal** (2002) Phytic acid–trace element (Zn, Cu, Mn) interactions *International Journal of Food Science and Technology* 2002, 37, 749–758

**Bouafia, F.,** Jocelyne, D. R. A. I., BIENVENU, J., THIEBLEMONT, C., ESPINOUSE, D., SALLES, G., & COIFFIER, B. (2004). Profiles and prognostic

## Références bibliographiques

---

values of serum LDH isoenzymes in patients with haematopoietic malignancies. *Bulletin du cancer*, 91(7), 10229-10240.

**Bradberry, S., Vale, A., 2009.** Dimercaptosuccinic acid (succimer; DMSA) in inorganic lead poisoning. *Clin. Toxicol.* 47, 617–631.

**Brigando C, Mossoyan JC, Favier F, Benlian D (1995)** Conformational preferences and protonation sequence of myo-inositol hexaphosphate in aqueous solution; potentiometric and multinuclear magnetic resonance studies. *J Chem Soc Dalton Trans* pp. 575-578 in Pilar

## C

**Caraway WT(1963).**Uric acid .Standard methods in clinical chemistry.Seligson D,*ed.Academic press*, :4 :239-47.

**Cebrian,A.** Tilapia, A. Real and M. A. Morcillo(2007) inositol hexaphosphate: a potential chelating agent for uranium *Radiation Protection Dosimetry (2007)*, Vol. 127, No. 1–4, pp. 477–479 doi:10.1093/rpd/ncm356

**Chichovska M.and Anguelov A.(2006).**Study Of The Influence Of L-Lysine And Zinc Administration During Exposure To Lead And Ethanol In Rats.*Veterinarski Arjuv*,76:65-73.

**Culling, W. E. H. (1988).** A new view of the landscape. *Transactions of the Institute of British Geographers*, 345-360.

**Cuneo, F., Amaya-Farfán, J., de Capdeville, G., Rech, E. L., & Aragão, F. J. (2006).** RNAi-mediated silencing of the myo-inositol-1-phosphate synthase gene (GmMIPS1) in transgenic soybean inhibited seed development and reduced phytate content. *Planta*, 224(1), 125-132.

## D

**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.

**Davies, MJ., FU, S., Wang, H., Dean, Rt.** Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Radic Biol Med* 1999; 27 (11-12): 1151-1163

**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.

## Références bibliographiques

---

**Dressier, K. A.** Kim, T. Chakraborti, and G. Goldstein, "Molecular mechanisms of lead neurotoxicity," *Neurochemical Research*, vol. 24, no. 4, pp. 595–600, 1999.

**Diouf-Lewis, A.,** Commereuc, S., Verney, V., Toward greener polyolefins: Antioxidant effect of Phytic acid from cereal waste, *European Polymer Journal* (2017), doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.09.014>

**Diouf-Lewis, Sophie** Commereuc, Vincent Verney 2017. Toward greener polyolefins: Antioxidant effect of Phytic acid from cereal waste Audrey. *European Polymer Journal*

**Dorward;** Yagminas.A.P,1994: Activity of erythrocytes S-aminolivulinic acid deshydratase in the female cynomolgus monkey. *Macaca Fascicularis Kinetics analysis in central lead-exposed animals comp.Biochim physiol*,pp:241-252.

## *E*

**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-Clinical and Experimental*, 60(10), 1465-1474.

**El-Sherbiny YM,** Cox MC, Ismail ZA, et al. G0/G1 arrest and S phase inhibition of human cancer cell lines by inositol hexaphosphate (IP6). *Anticancer Res* 2001;21:2393-2403.

**Enrico Doria,** Luciano Galleschi, Lucia Calucci, Calogero Pinzino, Roberto Pilu, Elena Cassani and Erik Nielsen (2009) Phytic acid prevents oxidative stress in seeds: evidence from a maize (*Zea mays* L.) low phytic acid mutant *Journal of Experimental Botany*, Vol. 60, No. 3, pp. 967–978, 2009 doi:10.1093/jxb/ern345

**Ercal, N.,** Gurer-Orhan, H., Aykin-Burns, N., Toxic metals and oxidative stress. Part 1. Mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. 2001 *Curr. Top.Med. Chem.* 1, 529–539

**Esterbauer H** Schaur Rj, Zollner H, Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991; 11: 81-128

## *F*

**Favier A.** Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin* 1997; 55 (1): 9-16.

## Références bibliographiques

---

**Felix Grasesa**, Bartolomé M. Simoneta, Ivana Vucenik, Rafel M. Prietoa, Antonia Costa-Bauzá, Joan G. Marcha and Abulkalam M. Shamsuddin(2001) Absorption and excretion of orally administered inositol hexaphosphate (IP6 or phytate) in humans BioFactors 15 (2001) 53–61 53 IOS Press

**Felix Grasesa**, Bartolomé M. Simonet, Ivana Vucenikb, Rafel M. Prietoa, 2001 Absorption and excretion of orally administered inositol hexaphosphate (IP6 or phytate) in humans BioFactors 53–61

**Felix Grases**, Bernat Isern, Joan Perelló, Pilar Sanchis, and Rafel M. Prieto Absorption of myo-inositol hexakisphosphate (InsP6) through the skin: study of the matrix effects. mechanism of phytate topical absorption. 2005 Frontiers in Bioscience 10, 799-802

**Felix Grases**, Bernat Isern, Pilar Sanchis, Joan Perello, Jose Juan Torres, Antonia Costa-Bauza(2007) Phytate acts as an inhibitor in formation of renal calculi. Frontiers in Bioscience 12, 2580-2587

**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/NFjB-mediated cell survival pathway. Carcinogenesis 23(12): 2031-3041.

**Florencia Cúneo**, Jaime Amaya-Farfan and Marcelo A. 2006 Morgano Dietary phytates protect the rat against lead toxicity, [Journal of Food Agriculture and Environment](#) .

**Flower B. A.** and Du Val G.(1991). Effects of lead on the kidney: Roles of high-affinity lead binding proteins. Environ Health Perspect; 91: 77-80.

**Fordham, D. A.**, Resit Akçakaya, H., Araújo, M. B., Elith, J., Keith, D. A., Pearson, R., ... & Tozer, M. (2012). Plant extinction risk under climate change: are forecast range shifts alone a good indicator of species vulnerability to global warming?. *Global Change Biology*, 18(4), 1357-1371.

**Frank, A. W.** (2013). The wounded storyteller: Body, illness, and ethics. University of Chicago Press.

**Fussler Bagur Elsa** Rituels et intoxication au plomb chez l'adulte. 2011 Faculté de médecine pierre et marie curie these doctorat N° 2011PA06G058 :120 p 24

### G

**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 mâle adulte J.I. M. Sfax, N°21 / 22 ; Juin / Déc 15 : 72 – 80 p73

**Geetha S**, Sai Ram M, Mongia Ss, Singh V, Ilavazhagan G And Sawhney Rc: Evaluation of antioxidant activity of leaf extract of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) on chromium induced oxidative stress in albino rats. *J Ethnopharmacol* 2003; 87: 247–251

**George T.** Tsao, Yizhou Zheng, Jean Lu, And Cheng S. Gong ;1997 Adsorption of Heavy Metal Ions by Immobilized Phytic Acid All rights of any nature whatsoever reserved. 0273-2289/97/63-65--0731510.75

**Gilbert ME**, Mack CM, Lasley SM (1999) Chronic developmental lead exposure and hippocampal long-term potentiation: biphasic dose-response relationship. *Neurotoxicology* 20: 71-82.

**Goullé.J.P**,Saussereau.E,Lacroix.C, and Guerbet.M. 2012.Toxicologie et pharmacologie medico-légales,Paris:Elsevier;1998.p.189-232.

**Graf E**, Eaton JW.Free. Antioxidant functions of phytic acid. *Radic Biol Med.* 1990; 8(1):61-9.

**Grases, B.M.** Simonet, J.G. March And R.M. Prieto, Inositol hexakisphosphate in urine: the relationship between oral intake and urinary excretion; 2000 Laboratory of Renal Lithiasis Research, University of the Balearic Islands, Palma de Mallorca, Spain, *BJU International* ;85, 138 -142

**Grases, F. A.** Costa-Bauza And R.M. Prieto, 2005 Intracellular and Extracellular myo-Inositol Hexakisphosphate (InsP6), from Rats to humans anticancer research 25: 2593-2598

**Grases F**, Costa-Bauza A. Phytate (IP6) is a powerful agent for preventing calcifications in biological fluids: usefulness in renal lithiasis treatment. *Anticancer Res* 1999;19:3717-3722.

[Grases,F](#), [Simonet,BM](#), [Prieto,RM](#), [MarchJG](#).2001,Phytate levels in diverse rat tissues: influence of dietary phytate. [Br J Nutr.](#) 225-31.

**Grases F**, Simonet BM, March JG, Prieto RM. Inositol hexakisphosphate in urine: the relationship between oral intake and urinary excretion. *BJU Int* 2000;85:138-142.

## Références bibliographiques

---

**Grases F**, March JG, Prieto RM, et al. Urinary phytate in calcium oxalate stone formers and healthy people – dietary effects on phytate excretion. *Scand J Urol Nephrol* 2000;34:162-164

**Gutteridge, Jmc.** 1992 Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Rad Res Comm*; 19: 598-620.

## H

**Haguenoer J.M.**, Furon D. 1994: Toxicologie et hygiène industrielles. les dérivés minéraux, 2<sup>e</sup> partie. Paris. Technique et documentation, tome II.

**Haito Liu**, Ruiyan Niu, Jinming Wang, Ying Hf ( 2008). Changes caused by fluoride and lead on energy metabolic enzyme activities in the reproductive system of male offspring rats. *Research report fluoride* ;41 ( 3 ) :184- 191.

**Hami J.**, Dashti Gh R, Nemat-Bakhsh M, Afshar M, Ghaffari H. (2006). The Relationship between High Dose Lead Exposure and Serum Lipids and Lipoprotein Levels *Shiraz-Medical Journal*; 7:2

**Hanan.A** and Riham M. (2012). Effect of lead toxicity on cytogenicity, biochemical constituents and tissue residue with protective role of activated charcoal and casein in male rats, *Australian journal of basic and applied Sciences*, 6 (7):497-509

**Henry Rj**, Chiamori N, Golub Dj, Berkam S, (1960) . Revised spectrophotometric methods for determination of glutamic oxaloacetic transaminase , glutamic pyruvic transaminase and lactic acid dehydrogenase . *Am j Clin pathol*; 34: 381-398.

**Herman Ds** and Geraldine Tv, (2009). Influence of Minerals On Lead-Induced Alterations In Liver Function In Rats Exposed To Long-Term Lead Exposure, *J Hazard Mater*, 166(2-3):1410-4.

**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.

**Hunaiti, A.A.**, Soud, M., 2000. Effect of lead concentration on the level of glutathione, glutathione S-transferase, reductase and peroxidase in human blood. *Sci. Total Environ.* 248, 45–50.

**Hunter, J.**, & Morris, C. D. (1981). Recent excavations at the Brough of Birsay, Orkney. Odense University Press.

## Références bibliographiques

---

### I

**Ivana Vucenik** and Abulkalam M. Shamsuddin [3H]Inositol Hexaphosphate (Phytic Acid) Is Rapidly Absorbed and Metabolized by Murine and Human Malignant Cells In Vitro 1994 Department of Medical and Research Technology and University of Maryland School of Medicine, Baltimore, MD 21201

**Ivana Vucenik**, Antonino Passaniti, Michele I.Vitolo, Kwanchanit Tantivejkul, Paul Eggleton and AbulKalam M. Shamsuddin 2004 Anti-angiogenic activity of inositol hexaphosphate (IP6) *Carcinogenesis* vol.25 no.11 pp.2115--2123, doi:10.1093/carcin/bgh232

### J

**Jariwalla RJ.** Inositol hexaphosphate (IP6) as an anti-neoplastic and lipid-lowering agent. *Anticancer Res* 1999;19:3699-3702.

**Jarrar Bashir M.**and Noory.T.Taib.(2012).Histological and histochemical alterations in the liver induced by lead chronic toxicity,Saudi Journal of Biological Sciences (19),203-210

**Joan Perello**, Bernat Isern, Rafael M Prieto Study of the absorption of myo-inositol hexakisphosphate (InsP6) through the skin *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 2005 *Biol. Pharm. Bull.* 28(4) 764—767 Vol. 28, No. 4

**Jomova, K.,** Vondrakova, D., Lawson, M., Valko, M., 2010. Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Mol. Cell. Biochem.* 345, 91–104.

**Julie Eiseman** , Jing Lan, Jianxia Guo, Erin Joseph, Ivana Vucenik 2011 Pharmacokinetics and tissue distribution of inositol hexaphosphate in C.B17 SCID mice bearing human breast cancer xenografts *metabolism clinical and experimental* 1465 – 1474

### K

**Kahloula, K,** Effets de l'exposition chronique au plomb pendant la période de la gestation et lactation sur les fonctions neurocomportementales chez les jeunes rats Wistar. Impact sur les récepteurs glutaminergiques, 2010 ,thèse de doctorat, option biochimie,Université d'Oran Es-Senia

**Kahloula K,** Slimani M, Dubois M, Bonnet Jj. (2009). D-cycloserine enhances spatial learning performances of rats chronically exposed to lead during the developmental period. *African journal of neurological sciences* 28.

## Références bibliographiques

---

**Kallio H** , Yang B And Peippo P: Effects of different origins and harvesting time on vitamin C, tocopherol, and tocotrienols in Sea buckthorn (*hippophae rhamnoides*) berries. *J Agri Fd Chem* 2002; 50: 6136–6142

**Kelsay JL** (1987) Effects of fiber, phytic acid and oxalic acid in the diet on mineral bioavailability. *American Journal of Gastroenterology* 32, 983–986

**Khalil-Manesh**, H. C. Gonick, E. W. J. Weiler, B. Prins, M. A. Weber, and R. E. Purdy, “Lead-induced hypertension: possible role of endothelial factors,” *American Journal of Hypertension*, vol. 6, no. 9, pp. 723–729, 1993.

**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.

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

**Kosaku Sakamoto**, Giridhar Venkatraman and Abulkalam M.Shamsuddin , (1993)Growth inhibition and differentiation of HT-29 cells in vitro by inositol hexaphosphate (phytic acid) *Carcinogenesis* vol.14 no.9 pp. 1815-1819

**kosakā sakamoto**, ivana cenik andabā lkalamm. Shamsuddin (1993)[3H]Phytic Acid (Inositol Hexaphosphate) Is Absorbed and Distributed to Various Tissues in Rats *The Journal of Nutrition*, Volume 123, Issue 4, , Pages 713–720,

**kosaku sakamoto** , ivana vucenik and Abulkalam M. Shamsuddin [3H]Phytic Acid (Inositol Hexaphosphate) Is Absorbed and Distributed to Various Tissues in Rats, 2003 Department of Pathology and Department of Medical and Research Technology, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, MD 2120

**Kotsaki-Kovatsi** , L. Kovatsi, G. Koehler-Samouilidou,M. Karavanis and E. Bacoyanni( 2001) Influence of inositolhexaphosphori acid (phytic acid) on the copper distribution in tissues and the excretion of copper in rats *J. Trace Elements Med. Biol.* 14, pp. 193 -197

**Kulli Jaako-Movits a**,Tamara Zharkovsky a , Olga Romantchik a , Monika Jurgenson b, Eda Merisalu b, Lenne-Triin Heidmets a, Alexander Zharkovsky a,(2005) Developmentl lead exposure impairs contextual feat conditioning and reduces adult hippocampal neurogenesis in the rat brain

**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.

## Références bibliographiques

---

### L

**Lakel F.Z** Et Mahious .N, L'évaluation de l'effet prophylactique de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* sur les rats wistar intoxiqués par le plomb 2012

**Langen B**, Egerland U, Bernoster K, Klaus Unverferth RD 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. *J Pharmacol Exp Ther* 314(2):717-724.

**Lanphear BP**, Dietrich K, Auinger P, Cox C (2000) Cognitive deficits associated with blood lead concentrations <10 microg/dl in US children and adolescents. *Public Health Rep* 115: 521-529.

**Larsson O**, Barker CJ, Sjöholm A, et al. Inhibition of phosphatases and increased Ca<sup>2+</sup> channel activity by inositol hexaphosphate. *Science* 1997;278:471-474.

**Lee SH**, Park HJ, Chung HK, Cho SY (2006) Dietary phytic acid lowers the blood glucose level in diabetic KK mice. *Nutr Res* 26: 474-479.

**Leret M.**, Garcia Uceda F. Antonio M (2003). Perinatal exposure to lead and cadmium affects anxiety like. *Behaviour toxicology* 186:125-130.

**Li XR**, Long YH, Fang X, Liu XG (2008) Effect of vitamin C and E on antioxidative enzyme, NOS activity and NO contents in hippocampus of rats with lead poisoning. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 37(2):189-92.

**Lönnerdal, B.** (2002). Phytic acid-trace element (Zn, Cu, Mn) interactions. *International journal of food science & technology* 37(7), 749-758.

**Lowell L.** Dilworth<sup>1</sup>, Felix O. Omoruyi<sup>1</sup>, Helen N. Asemota<sup>1,2</sup> digestive and absorptive enzymes in rats fed phytic acid extract from sweet potato (*ipomoea batatas*) 2005 [diabetologia croatica](#) 34(2):59-65

**Lasley SM** and Gilbert ME (2002) Rat hippocampal glutamate and GABA release exhibit biphasic effects as a function of chronic lead exposure level. *Toxicol Sci* 66: 139-147.

## Références bibliographiques

---

### *M*

**Ma T**, Chen HH, Chang HL, et al;(1997) Effects of chronic lead exposure on [3PH]MK-801 binding in the brain of rat. *Toxicol Lett.*,92:59-66.

**Maletic V**, Robinson M, Oakes T, Iyengar S, Ball SC, Russell J. Neurobiology of depression: an integrated view of key findings. *Int J Clin Pract.*2007;61 (12)

**Mandy P**, Talker G And Sharma A: Dietary factors in cancer chemoprevention. *The Nucleus* 1997; 40: 128–144

**Mastrocola R**, Restivo F, Vercellinato I, Danni O, Brignardello E, Aragno M, et al. Oxidative and nitrosative stress in brain mitochondria of diabetic rats. *J Endocrinol* 2005;187:37–44.

**Mehana, EE.**, A.M.A. Meki, And K.M. Fazili, 2010, Ameliorated effects of green tea extract on lead induced liver toxicity in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* Doi:10:1016/J.etp

**Mehta A**, Shaha C Apoptotic death in *Leishmania donovani* promastigotes in response to respiratory chain inhibition: complex II inhibition results in increased pentamidine cytotoxicity. *J Biol Chem* 2004; 279: 11798-11813

**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 Département de biologie Laboratoire de Biochimie appliquée

**Morris R** (1984) Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods* 11: 47-60.

**Moussa, S.A.** and S.A. Bashandy, 2008. Biophysical and biochemical changes in the blood of rats exposed to lead toxicity. *Romanian J. Biophys.*, 18: 123-133

### *N*

**Nabil, M.** Ibrahim ; Esam, A. Eweis; Hossams, El-Beltagi and Yasmin, E. Abdel-Mobdy, 2012, Effect of lead acetate toxicity on experimental male albino rat. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*; 41-46

## Références bibliographiques

---

[Nam Hee Kim](#) and [Min Suk Rhee](#) 2016 Phytic Acid and Sodium Chloride Show Marked Synergistic Bactericidal Effects against Nonadapted and Acid-Adapted *Escherichia coli* O157:H7 Strains [Appl Environ Microbiol](#). 1040–1049

**Norazalina** Saad, Norhaizan Mohd Esa , Hairuszah Ithnin And Nurul Husna Shafie (2011) Optimization of optimum condition for phytic acid extraction from rice bran African Journal of Plant Science Vol. 5 (3), pp. 168-176

**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.

**Noriega, Y.**, & Florian, M. (2003). L'optimisation des fréquences d'un réseau de transport en commun moyennement congestionné. *INFOR: Information Systems and Operational Research*, 41(2), 129-153.

## O

**Obata, T.** (2003). Phytic acid suppresses 1-methyl-4-phenylpyridinium ion-induced hydroxyl radical generation in rat striatum. *Brain research*, 978(1-2), 241-244.

**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.

**Otake T**, Mori H, Morimoto M, et al. Anti- HIV-1 activity of myo-inositol hexaphosphoric acid (IP6) and myo-inositol hexasulfate (IS6). *Anticancer Res* 1999;19:3723-3726.

**Othman, A.I.**, El Missiry, M.A., 1998. The role of selenium against lead toxicity in male rats. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 12, 345–349

**Ouldali Ouardia**, étude de l'effet des pectines de carottes sur les marqueurs hématologiques, hépatiques et rénales d'intoxication au plomb chez le rat wistar, 2012 université d'Oran thèse doctorat

## P

**Pallauf J**, Rimbach G (1997) Nutritional significance of phytic acid and phytase. *Arch Tierernahr* 50(4):301–319

## Références bibliographiques

---

**Pande, M.**, Flora, S.J., 2002. Lead induced oxidative damage and its response to combined administration of alpha-lipoic acid and succimers in rats. *Toxicology* 177, 187–196.

**Patra R. C.**, Swarup D., Naresh. Ret al., “Tail hair as an indicator of environmental exposure of cows to lead and cadmium in different industrial areas,” *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 66, no. 1, pp. 127–131, 2007.

**Patra R. C.**, Swarup .D, and Dwivedi S. K., “Antioxidant effects of  $\alpha$  tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats,” *Toxicology*, vol. 162, no. 2, pp. 81–88, 2001.

**Patra, R. C.**, Rautray, A. K., & Swarup, D. (2011). Oxidative stress in lead and cadmium toxicity and its amelioration. *Veterinary medicine international*, 2011.

**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. *Altern. Med. Rev.* 11, 114–127.

**Perelló, M.**, Gutiérrez Gallego, R., & Andreu, D. (2005). A Simple Approach to Well-Defined Sugar-Coated Surfaces for Interaction Studies. *ChemBioChem*, 6(10), 1831-1838.

**Pfeiffer AF**; Weickert MO, 2003: Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes., *Biosci Biotechnol Biuchem.*2003 Feb; 67 (2):429-33.

**Pilar Sanchis and Miquel Adrover** (2017) Phytate: A Pharmacological Swiss Army Knife with Potential against Protein Glycation *curr Trends Biomedical 002 Eng & Biosci.*; 5(4): 555667. DOI:10.19080/CTBEB.2017.05.555667

**Pincus, K. T.**, Shinn, B. W., & Frock, J. T. (1996). Ethylene glycol poisoning revisited. *Hospital pharmacy*, 31(5), 536-541.

**Porsolt RD**, Le Pichon M, Jalfre M (1977) Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266(5604):730-732.

## Q

**Quintanar-Escorza, M. A.**, González-Martínez, M. T., Navarro, L., Maldonado, M., Arévalo, B., & Calderón-Salinas, J. V. (2007). Intracellular free calcium concentration and calcium transport in human erythrocytes of lead-exposed workers. *Toxicology and applied pharmacology*, 220(1), 1-8.

## Références bibliographiques

---

**Qixu, L. I. U., & Yuqing, Z. H. A. N. G.** (2007). TFTP vulnerability exploiting technique based on Fuzzing. *Computer Engineering*, 33(20), 142-144.

### R

**Racette, N., Poellhuber, B., Chomienne, M., & Dohogne, L.** (2012). L'EAD de la Fédération Wallonie-Bruxelles: La coopération entre les équipes professorales et tutorales.

**Reddy, M. M., Madhavalatha, A., & Rao, L. J.** (2007). Integrated weed management in pigeonpea (*Cajanus cajan*)-soybean (*Glycine max*) intercropping system in Vertisol under rainfed conditions. *Indian journal of agricultural science*, 77(3), 177-178.

**Richa** And Sjs Flora: Protective Value of Aloe Vera against some toxic effects of arsenic in rats. *Phototherapy Res*, 2004: 10-18

**Robinson KS, Lai K, Cannon TA, McGraw P.** Inositol transport in *Saccharomyces cerevisiae*

is regulated by transcriptional and degradative endocytic mechanisms during the growth cycle

that are distinct from inositol-induced regulation. *Mol Biol Cell* 1996;7:81-89

**Rogan, W.J., Dietrich, K.N., Ware, J.H., Dockery, D.W., Salganik, M., Radcliffe, J., Jones, R.L., Ragan, N.B., Chisolm, J.J., Rhoads, G.G.,** 2001. The effect of chelation therapy with succimer on neuropsychological development in children exposed to lead. *New Eng. J. Med.* 344., 1421–1426.

**Rose, J. H., Smith, J. R., Guinea, F., & Ferrante, J.** (1984). Universal features of the equation of state of metals. *Physical Review B*, 29(6), 2963.

**Ruff H. A., Markowitz M. E., Bijur P. E, and Rosen J. F.,**“Relationships among blood lead levels, iron deficiency, and cognitive development in two-year-old children,” *Environmental Health Perspectives*, vol. 104, no. 2, pp. 180–185, 1996

### S

**Saad, Y.** (2011). *Numerical Methods for Large Eigenvalue Problems: Revised Edition* (Vol. 66). Siam.

**Saka S, A bahi, w auacheri:** l'effet du stress oxidant induit par l'acetate de plomb sur le système enzymatique du glutathion chez les rats. *Annales de toxicologie Analytique* 2011 ; 23(3) : 1-7

## Références bibliographiques

---

**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** and Miquel Adrover. Phytate: A Pharmacological Swiss Army Knife with Potential against Protein Glycation. 1 University Institute of Health Sciences (UNICS-IdisBa), Son Espases Hospital, Spain. June 27, 2017. *Edi Curr Trends Biomedical Eng & Bioscience*

**Seddik L**, évaluation de l'effet protecteur de l'extrait de feuille d'olive (*olea europea*) chez les rats intoxiqués à l'acétate de plomb au niveau cérébrale et du cartilage osseux. Approche neurocomportementales, biochimique et immunohistochimique. 2014 Université d'Oran, biologie, biochimie appliqué, thèse de doctorat

**Selvaraj, N.**, Bobby, Z., Sathiyapriya, V., 2006. Effect of lipid peroxides and antioxidants on glycation of hemoglobin: an in vitro study on human erythrocytes. *Clin. Chim. Acta* 366, 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.

**Schlemmer U**, **Frølich W**, **Prieto RM**, **Grases F**. Phytate in foods and significance for humans: food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Mol Nutr Food Res*. 2009 Sep;53 Suppl 2:S330-75.

**Shalan MG**, Mostafa MS, Hassouna MM, El-Nabi SE, El-Refaie A(2005), Amelioration of lead toxicity on rat liver with vitamin C and silymarin supplements. *Toxicology* 206:1-15

**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 et al: (2002) investigation of acute lead poisoning on apoptosis in rat hippocampus in vivo. *Neurosc. Lett.*, 329:45-48

**Sharma.S**, Shrivastava, S and Shukla. S. 2013. Reversal of lead-induced toxicity due to the effect of antioxidants. *J. Environ, Pathol, Toxicol. Oncol.* 32, 177-187.

**Sidorova M. V.** ; Martusevic A. K. ; Soloveva A. G. ; Peretyagin S. P. ; Dorofeeva A. R; Nistratova L. N.; Melnikova N. B Acid-Base and Antioxidant Properties of complexes of Phytic Acid-Xymedone in Solution 2015 *Pharmaceutical Chemistry Journal* [Issue 1](#), pp 13–20

## Références bibliographiques

---

**Skozynska,A.,Smlik,R.,Jelen,M.,1993.**Lipid abnormalities in rats given small dose of lead.*Arch.Toxicol*,67,200-204

**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 Hw, Heneghan Jb. (2008). Subchronic lead feeding study in male rats .*ArchEnviron Contam Toxicol* .

**Somfai GM,** Knippel B, Ruzicska E, Stadler K, Toth M, Salacz G, et al. Soluble semicarbazide-sensitive amine oxidase (SSAO) activity is related to oxidative stress and subchronic inflammation in streptozotocin-induced diabetic rats.*Neurochem Int* 2006;48:746–52

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

**Sugawara, E.,** Nakamura, K., Miyake, T., Fukumura, A., Seki, Y., 1991. Lipid peroxidation and concentration of glutathione in erythrocytes from workers exposed to lead. *Br. J. Ind. Med.* 48, 239–242.

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

## T

**Tarek Mostafa** Mohamed1, Afrah F Salama, Tarek M El Nimr and Doaa M El Gamal Effects of phytate on thyroid gland of rats intoxicated with cadmium *Toxicology and Industrial Health* 1–11 2011.

**Tasha Daley & Samson N. Omoregie & Vincent Wright & Felix O. Omoruyi** 2013 Effects of Phytic Acid and Exercise on Some Serum Analytes in Rats Orally Exposed to Diets Supplemented with Cadmium *Biol Trace Elem Res* 151:400–405.

**[Thimmappa Brinda](#), M.D.<sup>1</sup> and [Sabine C. Girod](#), M.D., D.D.S., Ph.D.**(2010) Principles of Implant-Based Reconstruction and Rehabilitation of Craniofacial Defects

US National Library of Medicine National Institutes of Health S10.1055/s-0030-1249372

**Thorne.** (2002), Inositol Hexaphosphate. *Alternative Medicine Review*, Vol .7,n° 3 pp.244-248

## Références bibliographiques

---

**Tietz NW**, Pruden El, Siggard-Andersen O (1995). In: Tietz textbook of Clinical Chemistry (Burtis CA and Ashwell ER eds.) WB Saunders Company London. pp. 1354-1374.

**Todorovic T**, Vujanovic D, Dozic I, Petkovic-Curcin A. 2008. Calcium and magnesium content in hard tissues of rats under condition of subchronic lead intoxication. *magnes Res*; 21(1):43-50

**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

## U

**Ulrich Schlemmer**, Wenche Frolich, Rafel M. Prieto, and Felix Grases (2009). Phytate in foods and significance for humans: Food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Mol. Nutr. Food Res.* 2009, 53, S330 – S375.

**Upadhyay AK**, Mathur R, Bhadauria M, Nirala SK. Therapeutic influence of zinc and ascorbic acid against lead induced biochemical alterations. *Thérapie.* 2009;64(6):383-388.

## V

**Veniamin Md**, Vakirtzi-Lemmonias C (1970). Chemical Basis of the carbomidoacetyl micro-method for estimation of urea, citrulline and carbamyl derivatives. *Clin. Chem.* 16: 3-6.

**Vikas Kumar**, Amit K. Sinha, Harinder P.S. Makkar, Klaus Becker (2009) Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review *Food Chemistry* 120 (2010) 945–959.

**Vucenik I**, Podczaszy JJ, Shamsuddin AM. Antiplatelet activity of inositol hexaphosphate (IP6). *Anticancer Res* 1999;19:3689-3693.

**Vucenik I**, Shamsuddin AM (2006) Protection against cancer by dietary IP6 and inositol. *Nutr Cancer* 55(2): 109-125.

**Vucenik I**, Zhang ZS, Shamsuddin AM. IP6 in treatment of liver cancer II. Intratumoral injection of IP6 regresses pre-existing human liver cancer xenotransplanted in nude mice.

## Références bibliographiques

---

Anticancer Res 1998;18:4091-4096.

### **Y**

**Yang BH**, Piao ZG, Kim YB, Lee CH, Lee JK, Park K, Kim JS, Oh SB 2003. Activation of vanilloid Receptor 1 (VR1) by Eugenol. J Dent Res 82:781-785

# *Annexe*



**Figure 42** : les rats avant le sacrifice



**Figure 43** : sacrifice des rats



**Figure 44 :** prélèvement de sang



**Figure 45** : prélèvement des organes (foie, cerveau)



**Figure 46** : conservation des organes