



République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique
Université Dr. Moulay Tahar 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 EN BIOLOGIE**

Option : Biochimie

Intitulé :

**Evaluation de l'effet préventif de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.*
contre la toxicité au Mercure chez les rats wistar en période de
développement. Etude neurocomportementale, biochimique et
hématologique.**

Présenté par :

- **CHERIFI Souheyla**
- **MEGHERBI Fatima Zohra**

Soutenue publiquement le 30-06-2018 devant le jury composé de :

Président	Mr Adli D	« Maître de conférences A »	U de Saïda
Examineur	Mr Ammam A	« Maître de conférence B »	U de Saida
Encadreur	Mr Kahloula K	«Professeur »	U de Saida
Invité	M^{elle} Arabi W		U de Saida

Année universitaire : 2017/2018

Remerciements

Tous d'abord nous tenons à remercier le grand et le puissant Dieu qui nous a donné la force et le courage pour pouvoir commencer et achever ce travail.

Un grand remerciement est destiné à notre agréable encadreur Professeur **Kahloula Khaled** de son plein gré, a honoré d'accepté de suivre notre travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout sa patience et sa gentillesse.

Nous remercies ainsi les membres de jury d'avoir accepté examiner ce modeste travail, À Monsieur le président **Dr Adli D.** D'avoir honoré ce jury ainsi que l'examineur **Dr Ammam A.** d'avoir mettre en valeur notre travail.

Nos vifs remerciements vont également à notre ange co-encadreuse M^{elle} **Arabi Wafaa** qu'était toujours avec nous dès le début jusqu'à la dernière minute pour son aide, ces conseils et son orientation. Merci beaucoup. Nous remercions aussi notre Jolie co-encadreuse M^{elle} **TAIBI Narimane** pour tous ces conseils et son aide. Merci pour les meilleurs moments qu'on a vécu ensemble.

Nos remerciements vont également à tous nos enseignants, pour leur information et leur aide durant ces années d'études.

Enfin, nos sentiments de reconnaissance vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

NOTRE RESPECTS ET SINCERES REMERCIEMENTS.

Dédicace

A mes très chers parents,

Pour leurs sacrifices, leur amour, leurs prières et leur soutien.

A mes Nieces et mes neveux

A ma chère famille,

Petit et grand, proche et lointain.

A tous mes ami(e)s,

Sans qui la vie me semblerait bien fade, je vous souhaite la prospérité et le succès.

A tous nos enseignants avec notre profonde considération,

Qui n'ont épargné aucun effort pour nous offrir un bon enseignement.

Et A tous ceux qui nous ont assistés, dans la réalisation et le bon déroulement de ce travail.

SOUHELA

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

A ma chère mère,

A mon cher père,

*Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler
pour que je puisse atteindre mes objectifs*

A mes cher sœurs et frères,

Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieuses tout au long de mes études

A mes belles sœurs et frères,

A toute ma famille,

A tous nos enseignants avec notre profonde considération

A tous mes ami(e)s

FATMA

Résumé

Ce travail consiste à étudier d'une part, l'effet préventif de l'extrait aqueux de l'anis vert, sur le statut neurocomportemental et d'autre part, son action sur quelques paramètres biochimiques et hématologiques sur des jeunes rats Wistar intoxiqué par voie orale à une dose de 100mg/l de HgCl₂ en période de gestation et de lactation. Les résultats obtenus montrent clairement que le mercure a provoqué un état dépressif et d'anxiété, une hypoactivité locomotrice et des déficits d'apprentissage spatial. De plus, Il a conduit à une atteinte de la fonction hépatique (élévation de taux sérique de TGO et TGP), une insuffisance rénale par augmentation des concentrations sériques de l'urée et de la créatinine et une hypoglycémie. Concernant le volet hématologique on a observé une anémie marquée par une diminution significative de taux d'hématies et l'hémoglobine. Par ailleurs, le traitement par la dose 500mg/kg de l'extrait aqueux de l'anis par gavage, à améliorer le comportement des rats causés par le mercure ainsi qu'une régulation des différents biomarqueurs de la fonction rénale et hépatique et la formule et numération sanguine.

En conclusion, l'anis vert porte des vertus thérapeutiques non négligeables face à cette intoxication par le mercure chez les jeunes rats en période de développement.

Mots clés : Anis vert, Anxiété, Dépression, Foie, Mémoire, Mercure, Rein, Sang.

Abstract

This work consists in studying, on the one hand, the preventive effect of the aqueous extract of green anise on neurobehavioral status and, on the other hand, its action on some biochemical and hematological parameters on young Wistar rats intoxicated orally at a dose of 100mg/l HgCl₂ during gestation and lactation. The results clearly show that mercury caused depression $P<0.001$ and anxiety $P<0.01$, locomotor hypoactivity $P<0.001$ and spatial learning deficits. In addition, it led to impaired liver function (elevated serum GTO and GTP), renal failure by increased serum concentrations of urea, creatinine, and hypoglycemia. On the hematological side, anemia marked by a significant decrease in red blood cell counts and hemoglobin was observed. In addition, treatment by dose 500mg/kg of aqueous extract of anise by gavage, to improve the behavior of rats caused by mercury as well as regulation of different biomarkers of renal and liver function and blood count and numbering.

In conclusion, green anise has significant therapeutic virtues in the face of this mercury poisoning in young rats in development.

Keywords: Anise, Anxiety, Blood, Depression, Kidney, Liver, Memory, Mercury.

ملخص

يتكون هذا العمل من دراسة التأثير الوقائي للمستخلص المائي لليانسون الأخضر على الحالة السلوكية العصبية من جهة أخرى، على بعض المعايير البيوكيميائية والدموية على الجرذان ويستار الصغيرة المسممة شفويا بجرعة 100 ملغ/ل $HgCl_2$ أثناء الحمل والرضاعة. تبين النتائج وجود آثار زئبقية سببها التراكبات الأكتئاب والقلق، نقص في النشاط الحركي ونقص التعلم المكاني. بالإضافة إلى اختلال وظائف الكبد (ارتفاع المصلي ل TGO و TGP)، والفشل الكلوي من خلال زيادة تركيزات اليوريا والكرياتينين في المصل، ونقص السكر في الدم. على الجانب الدموي، لوحظ وجود فقر دم وانخفاض ملحوظ في تعداد خلايا الدم الحمراء وخضاب الدم ونقص سكر الدم. فيما يتعلق بمكونات الدم، كان هناك فقر دم وانخفاض ملحوظ في مستويات خلايا الدم الحمراء والهيموجلوبين. زيادة على ذلك، المعالجة ب 500 ملغ / كغ من المستخلص المائي لليانسون عن طريق عملية الترقيم، قام بتحسين سلوك الفئران الناجم عن الزئبق بالإضافة إلى تنظيم العلامات الحيوية المختلفة للوظيفة الكلوية والكبدية والصيغة الدموية. في الختام، يحمل اليانسون الأخضر فضائل علاجية كبيرة ضد هذا التسمم بالزئبق في الجرذان الصغيرة أثناء النمو.

الكلمات المفتاحية اكتئاب، دم، ذاكرة، زئبق، قلق، كبد، كلى، يانسون.

Sommaire

Introduction générale.....	1
Chapitre I :Revue bibliographique.....	4
Le mercure.....	5
Les différentes formes du mercure.....	6
La toxicocinétique de mercure.....	7
Le mercure organique.....	7
L'absorption du mercure organique	7
Le transport et la distribution du mercure organique.....	7
L'élimination du mercure organique.....	7
Le Mercure inorganique	7
L'absorption du mercure inorganique	7
Transport et distribution du mercure inorganique	8
Transport et distribution du mercure élémentaire	8
Le mercure élémentaire	8
L'absorption du mercure élémentaire	8
L'élimination du mercure inorganique.....	8
L'élimination du mercure élémentaire	9
Toxicité aiguë.....	9
Toxicité chronique	9
Les effets du mercure	9
Effet sur le système nerveux	9
Effet cardio-vasculaire	9
Néphrotoxicité	10
Effet mutagène	10

<i>Pimpinellaanisum</i> :.....	11
Classification botanique.....	12
Description botanique	12
Composition chimique	13
Utilisation dans le domaine culinaire	13
Les effets de l’anis	14
Effet sur le système nerveux	14
Effet gastro-intestinal.....	15
Effet broncho-dilatateur	15
Effet antioxydant	15
Effet antifongique	15
Effet oestrogénique	16
Effet antimicrobien	16
Toxicité de l’anis	17
Les méthodes d’obtention des extraits	15
Extraction solide-liquide (soxhlet).....	17
Extraction liquide-liquide.....	17
Extraction hydroalcoolique	18
Extraction par un solvant organique	18
L’enfleurage ou macération	18

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Objectif	19
Matériel végétal utilisé	19
Choix de la méthode d’extraction	19
Préparation de l’extrait aqueux de <i>Pimpinellaanisum L.</i>	19
Calcul de rendement.....	19
Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse	19

Les animaux d'expérimentation.....	20
Répartition des lots	24
Exploration de comportement	24
L'épreuve de la nage forcée (ForcedSwimming Test)	24
Le test du compartiment obscurité/ lumière (Light Dark Test).....	25
La piscine de Morris (Labyrinthe aquatique).....	25
Test de Champ Ouvert (Open field test).....	26
Détermination de poids corporel et cérébral	27
Le prélèvement sanguin	27
Dosage biochimique	27
Dosage de la glycémie	27
Dosage TGO , TGP.....	28
Dosage urée.....	28
Dosage créatinine.....	28
Dosage hématologique.....	28
Dosage du mercure au niveau sanguin et cérébral.....	29

Chapitre III : Résultats et Interprétations

Rendement.....	32
Résultat CPG.....	32
Résultats neurocomportementaux.....	33
Résultats de la nage forcée	33
Résultat du dark/light	33
Résultat de la piscine de Morris	34
La phase d'apprentissage	34
Le probe test	35
Le test visible	35
Résultat du Open field	36

Variation du poids corporel.....	36
Variation du poids cérébral.....	37
Résultats des paramètres	37
hématologiques.....	37
Globule blanc.....	38
Globule rouge	38
Hémoglobine.....	39
Hématocrite.....	39
Plaquette.....	39
Résultats des paramètres biochimiques.....	40
Dosage de la glycémie.....	40
Dosage de l'urée et créatinine.....	40
Dosage TGO et TGP.....	41
Résultats du dosage d'Hg sanguin et cérébral.....	42

Chapitre IV : Discussion.

Conclusion et perspective.

Références bibliographiques.

Liste des Tableaux

Numéro	Titre	Pages
01	Caractéristiques physiques de certaines formes de mercure.	06
02	Les composants majeurs de l'anis vert selon la pharmacopée Européen.	13
03	les composants identifiés par CPG/SM.	31
04	Variation du poids corporel des témoins, intoxiqués et intoxiqués traiter (traitement préventif) en (gr).	36
05	Variation du poids cérébral des témoins, intoxiqués et intoxiqués traiter (traitement préventif) en (gr).	38
06	tableau récapitulatif de l'analyse du mercure au niveau sanguin et cérébral.	42

Liste des Figures

Figure 01 : Plante et graines d'anis vert.....	12
Figure 02: Plante de Pimpinellaanisum L.....	13
Figure 03: Utilisation thérapeutique des graines d'anis vert.....	17
Figure 04 : Les étapes qui suivent le traitement et le sacrifice des rats.....	21
Figure 05 : Gavage.....	22
Figure 06 : Schéma explicatif du protocole expérimental.....	23
Figure 07 : Test de la nage forcé « ForcedSwimming Test ».....	24
Figure 08 : Test du compartiment obscurité/ lumière (Light Dark Test).....	25
Figure 09 : Test de La piscine de Morris.....	26
Figure 10: Test de champ ouvert (Open Field Test).....	27
Figure 11 : Comparaison du temps d'immobilité durant le test FST entre les rats témoins, intoxiqués et intoxiqué traiter (traitement préventif).....	32
Figure 12: Comparaison entre le temps de séjour passé dans le compartiment éclairé chez les différents lots ;témoins, intoxiqués et intoxiqué traiter (traitement préventif).....	33
Figure 13 : Comparaison entre le temps de latence entre les animaux des trois lots durant les quatre jours d'apprentissage.....	34
Figure 14 : Temps passé dans le quadrant (NO) durant le probe test par les rats témoins, intoxiqués et intoxiqués traiter (traitement préventif).....	34
Figure 15 : Temps de latence durant la plateforme visible chez les rats témoins, intoxiqués et traités intoxiquer	45
Figure 16 : Comparaison entre les paramètres de l'open field des trois lots d'animaux.....	45
Figure 17 : Comparaison entre le nombre des globules blancs des témoins, Hg et Extrait. Hgde l'exposition à l'Hg suite à un traitement préventif par l'extrait de l'anis sur le taux des globules blancs.....	37

Figure 18 :Comparaison entre le nombre des globules rouges des témoins, Hg et Extrait. Hg.....	37
Figure 19 :Comparaison entre le taux d'hémoglobine exprimé en (g/dL) des témoins, Hg et Extrait. Hg.....	38
Figure 20 :Comparaison entre le pourcentage d'hématocrite des témoins, Hg et Extrait. Hg.....	38
Figure 21 :Comparaison entre le taux des plaquettes des témoins, Hg et Extrait. Hg.	38
Figure 22 :Comparaison entre les valeurs de la glycémie mesuré en (g/L) des témoins, Hg et Extrait. Hg.....	39
Figure 23 :Comparaison entre les valeurs de l'urée sanguine mesuré en (mmol/L) des témoins, Hg et Extrait.....	40
Figure 24 :Comparaison entre les valeurs de la créatine sanguine mesurée en (mmol/L) des témoins, Hg et Extrait. Hg.	40
Figure 25 :Comparaison entre les Teneurs sériques du TGO exprimés en (µl/L) des: Témoins, Hg et Extrait-Hg.	41
Figure 26 :Comparaison entre les teneurs sériques du TGP exprimés en (µl/L) des : Témoins, Hg et Extrait- Hg	41

Liste des abréviations

ALAT: Alanine-Aminotransférase

ASAT: Aspartate-Aminotransférase

CO₂: Dioxyde de Carbone

CPG: Chromatographie en phase gazeuse

DPPH: 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

EAP: Extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L

EDTA: Éthylènediaminetétraacétique

Fe³⁺: Fer ferrique

FNS: FORMULE ET NUMÉRATION SANGUINE

FST: Forced swimming test

H₂O: Eau

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

H: Hauteur

Hg: Mercure

GOD: Glucose Oxydase

Jrs: Jours

K⁺: Potassium

L: Largeur

L : Longueur

M_{ext} : Masse de l'extrait à l'état sec

M_{éch} : Masse de l'échantillon végétal

MT: Métallothionéine

Na⁺: Sodium

NaClO: Hypochlorite de sodium

NE: Nord-Est

NH₄⁺: Ammonium

NO: Nord-Ouest

PAL: Phosphatase Alcaline

POD: Peroxydase

R : Rendement

SAA: Spectrophotometrie d'Absorption Atomique

SE: Sud-Est

SNC: Système Nerveux Centrale

SO: Sud-Ouest

TGO: Glutamooxaloacétate Transférase

TGP: Glutamopyruvate Transférase

Introduction générale

Au cours des dernières années, l'analyse des éléments traces métalliques a connu un regain d'intérêt en raison des risques sanitaires encourus liés à la pollution de l'environnement par certains de ces éléments. Il s'agit d'une pollution naturelle ou anthropogénique. L'exposition professionnelle, ainsi que la présence de métaux lourds dans des médicaments ou des produits de contraste constituent également des sources de danger. (Goullé et al., 2016). Selon Clarkson et al., (2003), le contact humain avec des composés de métaux lourds est corrélé avec des niveaux élevés de toxicité, même à de faibles concentrations. (Mello-Carpes et al., 2013).

Certains métaux lourds sont des oligoéléments indispensables à la biologie des organismes alors que d'autres peuvent les nuire gravement. Quelques-uns peuvent avoir ces deux types d'effets selon la dose ou le contexte (Bioslève, 2010)

Les métaux lourds sont parmi les plus anciens toxiques connus, ceci est lié à leur usage ancien. Il y a eu pendant une très longue période, une absence totale de préoccupation en ce qui concerne leur impact sur la santé de l'homme, ainsi que sur l'environnement. Ils ont la capacité de réagir avec les protéines sulfurées. (Bioslève, 2010)

Le mercure (Hg) est un métal lourd largement utilisé dans les activités métallurgiques dès l'antiquité et redécouvert au moment de la révolution industrielle. Les sources d'exposition au mercure sont nombreuses : les sources d'exposition non professionnelle (l'air, les aliments, l'eau potable) et professionnelle, c'est d'abord l'existence d'intoxications massives chez les travailleurs professionnellement exposés au mercure qui a attiré l'attention sur les effets délétères de ce toxique sur l'organisme humain et sur les conséquences organiques graves (Nogueira et al., 2003)

L'exposition chronique au mercure par voie pulmonaire induit des lésions neurologiques, respiratoires et hépatiques dont la sévérité augmente avec la durée d'exposition et la concentration. (Falcó et al., 2014)

Depuis l'antiquité un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent l'application dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétique et agriculture grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : flavonoïdes, hétérosides, alcaloïdes, saponosides, quinone, vitamines et huiles essentielles. (Fyad et al., 2013)

Les plantes médicinales sont une large source des molécules bioactives nouvelles avec un potentiel thérapeutique. Une des originalités majeures de plantes médicinales réside dans leur capacité de produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais représente une source importante de molécules bioactives utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'alimentaire. Les métabolites secondaires sont accumulés dans différents organes et

Introduction générale

parfois dans des cellules spécialisées de la plante. Ils sont des produits en très faible quantité, dont plus de 200 000 molécules ont été identifiés. Classés selon leur appartenance chimique en composés phénoliques, alcaloïdes et terpénoïdes (**Kosalec et al., 2005 ; Macheix et al., 2005 ; Boudjorf, 2008**)

Les herbes et les épices sont une part importante du régime humain. Elles ont été employées des milliers d'années afin d'augmenter la saveur, la couleur et l'arôme de la nourriture. (**Masood et al., 2006**)

Pimpinella anisum (anis) appartient à la famille des ombellifères. C'est une plante aromatique qui est utilisée dans la médecine traditionnelle iranienne (en particulier ses fruits) en tant que carminatif, aromatique et désinfectant. Des études sur *Pimpinella anisum* ont montré divers effets tels que antimicrobien, antifongique, antiviral, antioxydant, relaxant musculaire, analgésique et anticonvulsivant (**Shojai et Abdollahi-Fard, 2012**). Elle peut également réduire la dépendance à la morphine. (**Simbar et al., 2015**)

La présente étude a été réalisée pour évaluer l'effet préventif de l'anis vert face à une exposition subchronique au mercure, sur le statut neurocomportemental et biochimique chez les rats wistar.

Le mercure :

Le mercure est le seul métal qui demeure sous forme liquide à la température ambiante. Les gouttelettes de mercure liquide sont brillantes et blanc argentées et ont une tension superficielle élevée, ce qui leur donne une apparence arrondie lorsqu'elles reposent sur une surface aplatie. Le liquide est très mobile et les gouttelettes se rassemblent facilement en raison de la faible viscosité du mercure. (Carriere, 2007). Son symbole est Hg provient du latin, lui-même emprunté au grec, hydrargyrum qui signifie « argent liquide». (Moumen,2017)

Il largement répandu dans le monde et dont l'impact sur la santé humaine est préoccupant. Les circonstances d'exposition et la toxicité chez l'homme sont étroitement liées à l'état du mercure dont il existe trois formes chimiques : le mercure élémentaire ou métallique, les dérivés inorganiques du mercure et les dérivés organiques. (Bensefa et al., 2011)

Il est pratiquement insoluble dans l'eau comme dans les solvants organiques usuels. Il présente un coefficient de dilatation thermique élevé, ce qui explique que l'on ait fait largement usage de mercure dans les thermomètres (Falcy et al., 2014). Cet élément a une masse atomique de l'ordre de 200,6. L'Hg porte le numéro 80 dans la classification périodique des éléments et peut présenter une valence 1 ou 2. C'est un des éléments les plus lourds puisque sa masse volumique est de 13,6 g · cm⁻³.

Tableau 01 : caractéristiques physiques de certaines formes de mercure(Falcy et al., 2014)

	mercure	Oxyde mercurique	Chlorure mercurique	Sulfate mercurique	Sulfure mercurique
Formule	Hg	HgO	HgCl ₂	Hg(SO ₄)	HgS
Masse molaire	200,59	216,61	271,52	296,68	232,68
Point de fusion	38,87°C à 38,48°C	Décomposition à 500°C	276-277°C	Décomposition avant 500°C	Sublimation à 583°C(rouge) Sublimation à 446°C(noir)
Point d'ébullition	356,7°C-356,9°C		302°C		
Hydrosolubilité à 20°C	0,02-0,0567mg/L	3mg/L à 25°C	69g/L	Hydrolysé	Insoluble
Hydrosolubilité à 100°C	0,6mg/L	395mg/l	480g/L	Hydrolysé	Insoluble

1. Les différentes formes du mercure :

Le mercure existe sous trois formes : le mercure élémentaire ou métallique, le mercure inorganique et le mercure organique. Il peut exister sous deux valences principales +1 et +2, correspondant aux composés mercureux et mercuriques. (Bensefa et al., 2011)

2. La toxicocinétique du mercure

L'absorption, la distribution et le stockage du mercure dans l'organisme sont liés à l'espèce chimique en cause et aux propriétés physicochimiques des composés, en particulier de leur solubilité. On différencie pour cette raison le devenir du mercure chez l'homme pour les différents composés : le mercure métallique, inorganique et le mercure organique (Bensefa et al., 2011).

2.1. Le mercure organique

2.1.1. L'absorption du mercure organique :

Trois voies d'absorption du mercure organique sont possibles (pulmonaire, cutanée et digestive), En milieu professionnel, l'absorption pulmonaire est de l'ordre de 60% et est la plus fréquente pour les dérivés alkylés les plus volatils, il passe facilement la barrière cutanée. En population générale, l'exposition au mercure organique est principalement digestive par exemple d'aliments contaminés (poissons) (Lauwerys et al., 2007 ; Haufroid et al., 2007)

2.1.2. Le transport et la distribution du mercure organique :

Dans la circulation sanguine, le mercure organique se fixe principalement sur les groupements thiol des globules rouges ou forme un complexe hydrosoluble en se fixant sur les groupements thiol d'un ligand (Clarkson, 2002). Le méthyl mercure passe facilement la barrière hémato encéphalique par le biais d'un transport actif (Kerper et al., 1996). Dans le système nerveux central (SNC), le mercure se localise dans la substance grise (PNUE, 2002).

2.1.3. L'élimination du mercure organique :

L'élimination du mercure organique est principalement biliaire. Il subit dans l'intestin un cycle entéro-hépatique avec réabsorption portale (Clarkson, 2002). Une partie du MeHg excrété par voie biliaire est déméthylé en mercure inorganique par la flore microbienne et une faible partie est réabsorbée. La majeure partie du MeHg est éliminée sous forme déméthylée dans les fèces. La demi-vie biologique du MeHg chez l'homme est estimée entre 35 et 189 jours, avec de larges variations interindividuelles. (Bensefa-Colas et al., 2011)

2.2. Le Mercure inorganique :

2.2.1. L'absorption du mercure inorganique :

Plusieurs observations ont montré des intoxications avec syndrome néphrotique par passage transdermique lors de l'application cutanée de crème ou savon éclaircissant contenant des sels

de mercure inorganique. Le taux d'absorption digestive des dérivés inorganiques, tels que le chlorure mercurique, suite à l'ingestion volontaire ou accidentelle peut aller jusqu'à 15%, et peut être à l'origine d'une intoxication aiguë (Lauwerys et al., 2007).

2.2.2. Transport et distribution du mercure inorganique :

Le mercure inorganique se distribue de façon identique dans tous les organes. L'accumulation des dérivés inorganiques dans le rein et le fœtus est plus faible que le mercure métallique, ce dernier étant plus lipophile. Les ions mercuriques formés se fixent sur les protéines plasmatiques et sont rapidement distribués dans le foie et le rein. Dans les cellules, il s'accumule dans les lysosomes, les mitochondries et les membranes cellulaires. Une partie importante du mercure inorganique se fixe sur une protéine aux propriétés similaires à la métallothionéine (MT), cette dernière joue un rôle protecteur en inhibant l'action toxique du mercure. (Lauwerys et al., 2007). (Bahi.2015)

2.2. 3. L'élimination du mercure inorganique :

L'élimination du mercure inorganique s'effectue essentiellement par voie rénale lors d'exposition prolongée, dans une moindre mesure, elle peut être biliaire (jusqu'à 40 %), et plus faible par voie cutanée et salivaire. Après le début de l'exposition, il existe une période de latence en relation avec le stockage progressif du mercure dans le rein. Par la suite, l'excrétion s'élève et atteint un plateau entre dix jours et six mois. Le mercure inorganique est excrété sous forme ionisée ou fixée à des protéines. (Bensefa-Colas et al.,2011).

2.3. Le mercure élémentaire :

2.3.1. L'absorption du mercure élémentaire :

Sous forme de vapeur, le mercure élémentaire est rapidement et essentiellement absorbé par voie pulmonaire. Le taux d'absorption alvéolaire étant classiquement évalué à 80% (Lauwerys et al., 2007).

2.3.2. Transport et distribution du mercure élémentaire :

Le mercure élémentaire est distribué rapidement dans tous les organes, environ 10 min après la fin de l'exposition. 30 % de la concentration s'accumule au niveau pulmonaire et le reste se distribue aux autres organes particulièrement le rein, le foie et le cerveau .comme il traverse facilement la plupart des membranes cellulaires y compris la barrière hémato-méningée et le placenta, il est rapidement oxydé par la catalase cellulaire en ion mercurique (Hg²⁺) lui permettant de se fixer sur des protéines sanguines et tissulaires.

Après exposition à des concentrations atmosphériques de mercure élémentaire comprises entre 0,1 et 0,2mg/m³, 74 à 80 % du mercure inhalé est retenu dans l'organisme avec une accumulation ciblée sur le rein où il se lie à la métallothionéine (MT) .Du fait de son caractère très lipophile, le mercure métallique traverse facilement les barrières hématoencéphalique et placentaire avant d'être ionisé en Hg²⁺ sous l'action des catalases. Après une administration répétée de 1mg/m³ de vapeurs de mercure pendant 5 semaines, des taux élevés sont détectés

dans le cerveau des rats, essentiellement au niveau de néocortex et du cervelet. Cette accumulation est plus importante chez les jeunes rongeurs que chez les adultes. (Bensefa-Colas et al., 2011 ;Farcy et al.,2014)

2.3.3. L'élimination du mercure élémentaire :

L'élimination du mercure élémentaire est principalement rénale lors d'exposition prolongée, dans une moindre mesure, elle peut être biliaire (jusqu'à 40%), et plus faible par voie cutanée et salivaire ou dans les phanères (Lauwerys et al., 2007)(Bahi,2015)

3.Toxicité aiguë :

Chez l'homme, l'exposition unique à de fortes concentrations en mercure élémentaire peut provoquer des céphalées, des convulsions, un électroencéphalogramme anormal, et des troubles respiratoires, pouvant conduire à la mort par asphyxie. L'intoxication aiguë par les sels de mercures inorganiques se traduit surtout par un choc hémodynamique, ainsi que par des insuffisances cardio-vasculaires et rénales, des dommages gastro-intestinaux pouvant aller jusqu'à la mort ainsi que des effets respiratoires (œdème pulmonaire).(INERIS.2010)

4.Toxicité chronique :

Chez l'homme, les deux principaux organes cibles du mercure élémentaire et du mercure inorganique sont le système nerveux central et le rein. Ainsi, les principaux symptômes d'hydrargyrisme chronique (intoxication par le mercure) sont d'ordre neurologique comme des troubles de la psychomotricité, des troubles cognitifs et des modifications de la personnalité (comme de l'irritabilité, de l'anxiété). Le mercure atteint également les reins (Lésions glomérulaires et tubulaires) et induit une protéinurie. Enfin, il est également observé des troubles cardiovasculaires (tachycardie, hypertension artérielle), respiratoires, hépatiques et immunologiques. Le mercure organique atteint essentiellement le cerveau, avec des paresthésies, un malaise général, des modifications et des troubles sensoriels. Le méthylmercure induit la maladie de Minamata avec l'apparition de troubles neurologiques sévères. Le mercure organique provoque également des atteintes rénales. Les mêmes observations sont faites chez l'animal, et les organes cibles sont les mêmes (INERIS, 2010).

5.Les effets du mercure :

5.1.Effet sur le système nerveux :

Le cerveau fœtal est plus susceptible aux dommages causés par le mercure que le cerveau adulte. Le mercure méthylé empêche la division et la migration des cellules neuronales et perturbe le développement de la cytoarchitecture du cerveau. (Clarkson et al.,2003)
Il provoque : une agitation, perte de mémoire, maux de tête, irritabilité, fatigue, confusion, insomnie, labilité d'humeur, erythème, comportement irrationnel ; faiblesse ; tremblements ; polyneuropathie (Risher et al., 2005) Le mercure peut également causer des déficits neurocognitive et incapacités neuromatrice. (Bose-O'Reilly et al., 2010)

5.2.Effet cardio-vasculaire :

Une altération de la fonction cardiaque a été décrite chez des enfants exposés au méthylmercure dans les fruits de mer. L'association entre l'exposition et les effets cardiaques a été observé avec une modulation sympathique et parasympathique diminuée de la variabilité du rythme cardiaque. **(Bose-O'Reilly et al., 2010)**

5.3.Néphrotoxicité :

Les composés inorganiques de mercure peuvent endommager le rein chez les enfants. La cible principale dans les reins est les tubules proximaux. Dans une certaine mesure, les cellules tubulaires peuvent être régénérer. Cependant, dans les cas d'intoxications graves de mercure inorganique, la fonction des reins peut être limitée et la mort pourrait se produire par la suite en raison d'insuffisance rénale aigue. **(Bose-O'Reilly et al., 2010)**

5.4.Effet mutagène :

Le mercure semble avoir un faible potentiel mutagène. Le thimérosal (agent conservateur des vaccins et un antibactéricide) induit d'une manière significative des échanges de chromatides sœurs, indiquant un effet génotoxique et cytotoxique de thimérosal dans des cultures lymphocytes périphérique du sang humain. **(Bose-O'Reilly et al.,2010)**. In vivo, le mercure est mutagène et accroît la fréquence des aberrations chromosomiques dans les cellules de moelle osseuse de hamster. **(Falcy et al., 2014)**

Pimpinellaanisum est une plante appartenant à la famille des apiaceae et l'une des plus anciennes plantes médicinales. Cette plante est appréciée en Afrique du nord, dans le bassin méditerranéen et en moyens orient (Egypte,Syrie) dont elle pousse spontanément dans ces régions (**Bardeau.,2009**). Elle est cultivée un peu par tous dans le monde, particulièrement à grande échelle en Espagne et en Russie (**Charles,2013**). Le fruit est utilisé aussi comme condiment alimentaire, que comme remède en médecine traditionnelle. L'anis possède des propriétés divers à savoir : antispasmodique, digestive, carminative, antiseptique, antimicrobienne, antifongique, antiviral, analgésique et neuroprotecteur (**Ghouati et al.,2012 :Gamberini et al.,2015**)

1.Classification botanique:

La classification de la plante de *pimpinellaanisum* : (**Boukri, 2014**)

Règne :Plantae

Division :Magnoliophyta

Classe :Magnoliopsida

Ordre :Apiales

Famille :Apiaceae (ombellifère)

Genre :*Pimpinellaanisum* L.



Figure 01 : plante et graines d'anis vert (**Thézan et Klusiewicz ,2006**).

2.Description botanique :

L'anis vert est une herbacée annuelle de 20 à 50 cm de haut, à racine fuselée et à tiges cylindriques, creuses, finement striées et ramifiées au sommet. (**Bekara et al.,2016**) Ces fleurs sont blanchâtres disposées en ombelles apparaissent en été, donnant des fruits qui sont représentés par des graines d'environ 0,5cm. (**Peter ,2001**) le fruit est considéré comme le matériau d'intérêt pour son usage médicinal. Son odeur est réminiscente dû à la

présence d'anéthole qui est un petit fragment du pédicelle mince, rigide et légèrement incurvé est fréquemment attaché (EMA 2013).

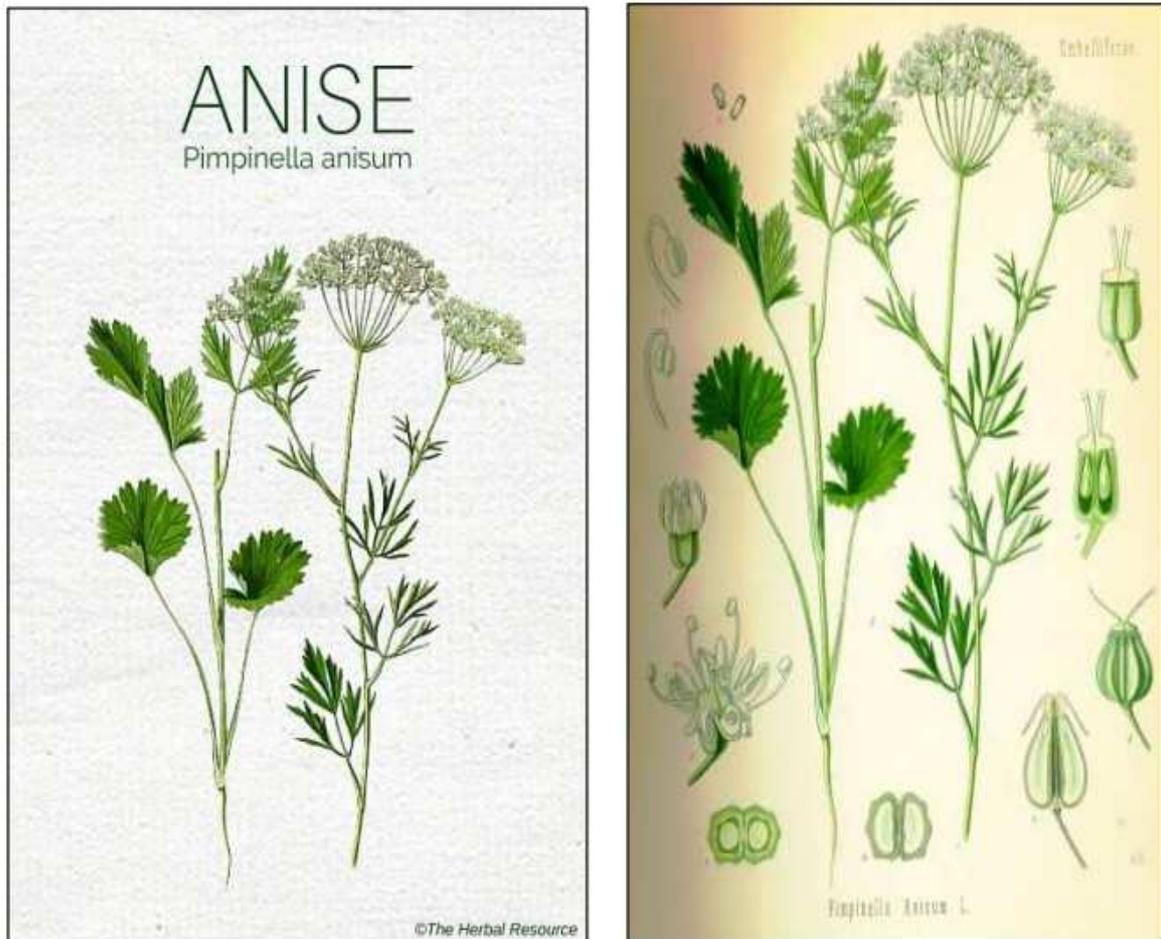


Figure 02: Plante de *Pimpinella anisum* L (Bruneton,2008).

3.Composition chimique :

Le fruit de l'anis contient 1,5 à 5 % d'huile essentielle, des coumarines des flavonoïdes, ainsi que 15 à 30 % d'huile grasse. Le principal constituant de l'huile essentielle est le trans-anéthol 80 à 95 %, à côté duquel on trouve le dianéthol, le méthylchavicol, l'anisaldéhyde, l'estragole ou méthylchavicol (1 à 4%), le pseudo-isogényl-2-méthylbutyrate (1 à 3,5%), l'époxy-pseudoisogényl-2-méthylbutyrate (0,1 à 1,3%), l'anisaldéhyde (0,5 à 0,9%) et le cis-anéthol (0,3 à 0,4%), γ -himachalene, (Babulka ,2004 ; Girre, 2006 ;Gambrini et al.,2015)

Tableau 02 : les composants majeur de l'anis vert selon la pharmacopée Européen.(EMA, 2013)

Composants :	Pourcentages :
Trans-anethole	87- 94.0%
Estragole	0.5-5.0%
Anisaldehyde	0.1- 1.4%
Linalol	<1.5%
Alpha-terpineol	<1.2%
Cis-anethole	0.1-0.4%
Pseudoisoeugenyl 2-methylbutirate	0.3-2.0%
Fenchone	max 0.01

4.Utilisation dans le domaine culinaire :

Les graines d'anis sont le plus fréquemment utilisées dans la fabrication de spiritueux comme l'absinthe, le raki ou le pastis. Les graines écrasées servent en outre à confectionner du pain, des crèmes et autres sucreries. Les Romains employaient déjà l'anis dans la pâtisserie, pour préparer des gâteaux et biscuits particuliers que l'on servait à l'occasion des festivités – et il en resté ainsi jusqu'à nos jours. Mais les feuilles fraîches sont elles aussi utilisées dans les salades, potages et plats au curry. (**Brigitte et al., 2008**).

On se sert également des feuilles filiformes de l'anis écrasées pour les sauces ou des légumes comme les concombres, les chou-rouges et les carottes. Après un repas de fête copieux, il est recommandé de mâcher des graines d'anis légèrement grillées pour faciliter la digestion (**Brigitte et al., 2008**).

5. Les effets de l'anis :

5.1.Effet sur le système nerveux :

Vue la teneur de l'extrait aqueux de *P.anisum* en molécules bioactives ainsi que son pouvoir antioxydant, l'extrait a eu un effet bénéfique sur les dommages biochimiques et histologiques au niveau du cerveau induite par une exposition au plomb. Une certaine amélioration dans la structure générale des cellules suite à la thérapie. (**Bekara et al.,2016**)

De plus, l'extrait de *P.anisum* peut être utile dans le traitement des maladies neurodégénératives tel que la maladie d'Alzheimer, car il présente un effet inhibiteur de la cholinestérase, en interagissant avec le système cholinergique centrale pour améliorer la mémoire et les déficits cognitifs des patients en diminuant la dégradation de l'acétylcholine dans la fente synaptique au niveau du cerveau.(**Menichini et al.,2009**)

5.2. Effet gastro-intestinal :

Une étude a été réalisée en utilisant des agents nécrotiques induisant des ulcères gastriques. Le traitement par l'extrait aqueux d'anis a permis l'inhibition des lésions ulcéreuses en diminuant les sécrétions gastrique chez des rats exposés aux agents nécrotiques, ce qui a été confirmé par une étude histologique qui a montré une suppression des sites inflammatoires, des dommages ainsi que des ulcères dysplasiques. (**Al Mofleh et al.,2007** ;**Shojaii et al.,2012**).Selon les cahiers de l'Agence 1998, l'anis est traditionnellement utilisé dans le traitement symptomatique des troubles digestifs tels que : le ballonnement épigastrique, la lenteur de digestion, l'éructions et flatulences, dans le traitement de la composante douloureuse des troubles fonctionnels digestifs. (**Filliat,2012**)

5.3. Effet broncho-dilatateur :

L'activité des espèces de *Pimpinella* est avéré avoir un effet relaxant sur les muscles isolés trachéales de cobaye. L'effet contractile de l'anéthol sur le muscle lisse iléal de cobaye a été démontré par (**Reiter et Brandt, 1985**). Dans une autre étude réalisée par (**Albuquerque et al.,1995**), l'effet relaxant de l'anéthol était représenté sur le muscle squelettique.**Boskabady et Ramazani-Assari (2004)** ont étudié les mécanismes responsables de l'activité bronchodilatatrice de *P. anisum*, en évaluant l'effet inhibiteur de cette plante sur la contraction des chaînes trachéales de cochon de l'Inde. Selon ce rapport, l'effet inhibiteur de l'extrait d'éthanolique sur les canaux calciques peut contribuer à son effet bronchodilatateur sur les chaînes trachéales. Les chercheurs ont également suggéré l'ouverture du canal potassique sous l'effet de cette plante, qui peut contribuer à son effet relaxant sur le tissu cible. (**Boskabady et al.,2004**)

5.4. Effet antifongique :

L'activité antifongique de l'huile essentielle d'anis sur des isolats cliniques des champignons et des dermatophytes a été testée in vitro. L'huile essentielle d'anis a montré une activité antifongique puissante contre tous les champignons étudiés ainsi que l'inhibition de la croissance des dermatophytes à des basses concentrations. L'activité antifongique peut être un résultat de la synergie des composants d'huile essentielle (trans-anéthol, anisaldéhyde, estragole, anisketone). (**Kosalec et al.,2005**)

5.5. Effet antioxydant :

L'extrait d'anis a montré une forte activité antioxydante. Les activités antioxydantes ont été évaluées par l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique, piégeage des radicaux libres 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), réduction puissante Fe³⁺ +aussi que des divers essais de peroxydation lipidique. (**Shojaii et al.,2012**)

5.6. Effet ostrogénique :

L'huile essentielle est riche en trans-anéthole dont une faible proportion peut se dimériser par métabolisation en diéthylstilboestrol induisant une action ostrogénique. (**Filliat.2012**)

5.7. Effet antimicrobien :

L'huile essentielle obtenue à partir de graine d'anis a montré une activité antibactérien contre *B.subtitles*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et une activité antifongique contre *C. albicans* et *A. niger*. Les plus forts effets antibactérien et antifongique de l'huile extrait de l'anis a été atteint par une concentration de 10%. (Kdam et al.,2017)

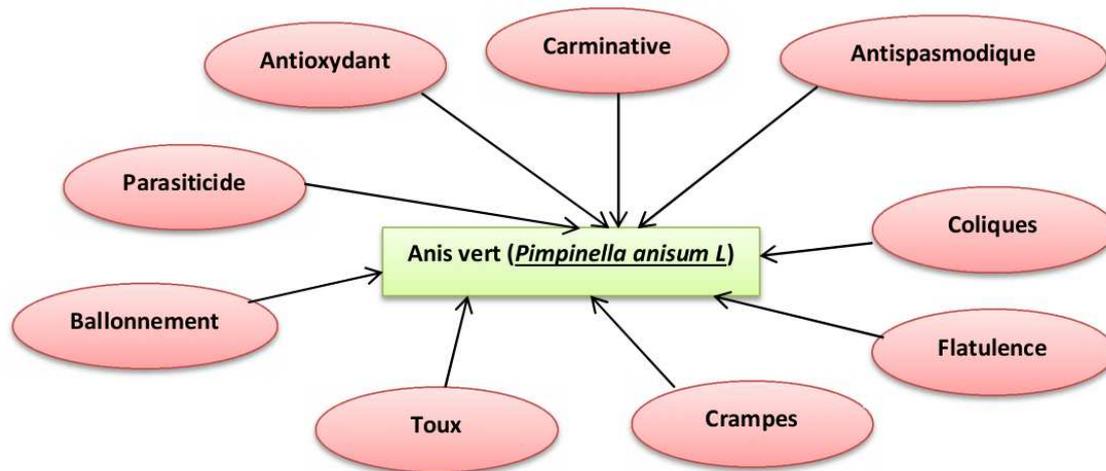


Figure 03:Utilisation thérapeutique des graines d'anis vert (Watson et al., 2011).

6.Toxicité de l'anis :

A très haute dose, il peut avoir un effet soporifique et euphorisant et peut ralentir la circulation. A doses élevées et prolongées, les huiles essentielles seront stupéfiantes, elles provoquent une ivresse accompagnée de tremblements.

Pour cette raison, seules les applications occasionnelles sont recommandées ; Les femmes enceintes, les nourrissons et les jeunes enfants devraient renoncer à l'huile d'anis.

L'huile essentielle d'anis absorbée par voie orale peut entraîner une modification du système nerveux central à type d'hypnotique faible et anticonvulsivant due à sa concentration en trans-anéthole. L'isomère cis ou (Z) de l'anéthole est neurotoxique.

La dose maximale journalière recommandée par voie orale est de 2,5 mg/kg. Chez l'animal, l'absorption de fortes doses d'estragole, provoque une hépatotoxicité et/ou une hépatocarcinogénèse. Cependant, la concentration de l'anis en estragole reste faibles et ces effets n'ont été observé que chez l'animal et sont quasi-inexistants chez l'homme si les posologies sont respectées. L'anis peut entraîner des réactions allergiques occasionnelles de la peau, des voies respiratoires et du tractus gastro-intestinal (Girre, 2006 ; Teuscher et al., 2005 ; Wichtl et Anton, 2003).

7. Les méthodes d'obtention des extraits :

7.1. Extraction solide-liquide (soxhlet):

La méthode d'extraction en discontinu consiste à mettre l'échantillon solide, sous une forme très finement divisée, en présence du solvant à température ambiante ou à la température d'ébullition du solvant, pendant un temps plus ou moins long, et sous agitation. Le principal inconvénient est qu'il faut, à la fin de l'essai, séparer les parties solide et liquide, soit par centrifugation, soit par filtration. Sur le plan industriel ou au laboratoire, les méthodes en continu avec les appareils de Soxhlet et de Kumagawa. (Kaloustian et al.,2012)

L'appareil de Soxhlet se compose de trois parties : le solvant en 1 contenu dans le ballon en 2, l'extracteur en 4 et le réfrigérant en 9, avec une entrée en 10 et une sortie en 11 de l'eau de refroidissement. La cartouche en papier-filtre épais (ou carton), contenant l'échantillon de plante finement divisé (le plus souvent en poudre) en 5, est placée dans l'extracteur en verre muni d'un tube capillaire en 7 (surmonté d'un siphon en 6) et d'un tube de dérivation en 3. Le ballon est chauffé grâce à un chauffe-ballon. Pour favoriser l'ébullition régulière du solvant, il est nécessaire d'introduire des fragments de pierre ponce ou des billes de verre. Lors de l'ébullition, les vapeurs passent par le tube de dérivation en 3 et se condensent dans le réfrigérant en 9. Le solvant liquide arrive ensuite dans la cartouche et extrait peu à peu les composés solubles. Le niveau de liquide s'élève, aussi bien dans l'extracteur en 4 que dans le tube capillaire en 7, pour arriver au niveau du siphon en 6. Lorsqu'une partie du solvant, enrichie par les composés extraits, commence à retourner dans le ballon par le tube en 3, une dépression se crée au niveau du tube capillaire en 7, puis tout le liquide contenu dans l'extracteur revient dans le ballon. À nouveau, le solvant bout et contribue à une deuxième extraction suivie par un deuxième siphonage, et ainsi de suite. Cette manipulation est menée en continu pendant suffisamment de temps pour que tous les composés à extraire se retrouvent dans le ballon. Il suffit, alors, de récupérer le contenu du ballon, puis d'évaporer le solvant, soit dans un Rotavapor, soit dans une capsule anti grimpeuse (ou capsule d'évaporation) en verre Pyrex placée sur un épiradiateur ou sur un bain-marie bouillant, et sous une hotte ventilée. L'appareil de Kumagawa ressemble à celui de Soxhlet. L'extracteur contenant la cartouche est chauffé par les vapeurs du solvant en ébullition. L'extraction par la méthode de Kumagawa se fait à chaud à la température d'ébullition du solvant, par opposition à celle de Soxhlet qui se fait à froid à la température ambiante. L'extraction par la méthode de Kumagawa est plus rapide, car elle est réalisée à une température très supérieure à celle de Soxhlet, mais avec l'inconvénient que certaines molécules thermolabiles de l'extrait peuvent se dégrader à la chaleur, notamment lorsque le solvant présente un point d'ébullition élevé (Kaloustian et al.,2012).

7.2. Extraction liquide-liquide

Ce type d'extraction est peu utilisé car l'échantillon de plante est toujours sous forme solide. Le principal intérêt sera de purifier les composés respectivement en solution organique ou aqueuse, en utilisant des solvants antagonistes : l'eau pour le premier cas ou un solvant organique hydrophobe pour le deuxième cas. (Kaloustian et al.,2012)

7.3. Extraction hydroalcoolique :

Cette technique est réalisée de plus en plus pour l'obtention de matières premières d'origine végétale destinées à l'industrie de la cosmétique. L'eau pure n'étant pas un bon solvant des terpènes, les industriels lui rajoutent des solvants organiques appropriés (alcools, diols ou polyols) pour améliorer le rendement d'extraction. (Kaloustian et al.,2012).

7.4. Extraction par un solvant organique :

La plante est utilisée sous une forme divisée : hachée, concassée ou réduite en copeaux, ou en poudre dans le cas de plantes séchées. Le choix du solvant dépend des paramètres techniques et économiques ainsi que de sa toxicité. (Kaloustian et al. ,2012).

Un solvant polaire extraira plus facilement des molécules présentant un caractère polaire important (fonctions chimiques : alcools, aldéhydes, cétones). En revanche, un solvant apolaire favorise l'extraction de molécules peu polaires (carbures cycliques et acycliques). Les solvants à bas point d'ébullition (éther de pétrole, hexane, solvants chlorés, propane et butane sous pression) sont souvent recommandés.

L'aspect économique intervient par le prix du solvant d'extraction, mais également par la présence de solvant résiduaire dans l'extrait final, qu'il faudra être éliminé pour éviter, l'odeur désagréable du produit final et sa toxicité lorsque le produit est destiné à la pharmacie ou à l'industrie agroalimentaire. (Kaloustian et al.,2012)

7.5. L'enfleurage ou macération :

C'est une ancienne méthode utilisée uniquement pour les fleurs fragiles comme le jasmin. Les parfums sont extraits par contact avec une matière grasse qui est ensuite lavée à l'alcool pure. (Degryse et al.,2008) .Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voire plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain des sables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Egalement utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude (Kraft et Hobbs, 2004). Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition.(Baba-Aïssa, 2000)

1-Objectif :

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'effet préventif de l'extrait aqueux de l'anis vert chez les jeunes rats wistar suite à une exposition au chlorure de mercure en période de gestation et lactation, à travers une étude neurocomportementale, biochimique et hématologique.

2- Le matériel végétal utilisé :

2.1-Le choix de la méthode d'extraction :

La méthode d'extraction choisie pour obtenir l'extrait de *Pimpinellaanisum* L qui va être utilisé comme un traitement préventif pour des rats intoxiqués au mercure : est la décoction des grains de l'anis vert. Cette technique est facile, plus utilisée en pratique culinaire et moins coûteuse.

2.2-Préparation de l'extrait aqueux de *Pimpinellaanisum* L.

La préparation de l'extrait aqueux d'anis vert est réalisée par décoction selon **Hosseinzadehet al.** On met 10 g des graines broyées dans 1000 ml d'eau distillée, ainsi le tout est mis à ébullition avec une agitation continue pendant 15 minutes. Le mélange est ensuite filtré par le papier Wathman N°1. L'extrait obtenu est lyophilisé par la suite en utilisant lyophilisateur.

2.3-Le calcul du rendement :

Le rendement est calculé selon la formule donnée par (**Falleh et al.,2008**) :

$$R(\%) = \left(\frac{M_{ext}}{M_{éch}} \right) \times 100$$

Avec :

R : le rendement

M_{ext} : la masse de l'extrait à l'état sec

M_{éch} : la masse de l'échantillon végétal

2.4-Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG /SM) :

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique couramment utilisée pour la séparation, l'identification et le dosage des constituants chimiques. La chromatographie consiste à séparer les composés d'un mélange en fonction des vitesses d'entraînement à travers une phase stationnaire contenue dans une colonne et une phase mobile gazeuse (gaz vecteur) (**Arpino et al., 1995**). La possibilité de coupler les chromatographes à divers spectromètres augmente considérablement la quantité et la qualité des informations obtenues. En CPG/SM, la comparaison informatique des spectres d'un pic inconnu avec une ou plusieurs références permet son identification (**Bruneton, 1993**).

La spectrophotométrie de masse repose sur l'ionisation et la fragmentation des molécules. Leur ionisation entraîne en effet une accumulation d'énergie qui en se dissipant, peut provoquer la rupture des liaisons interatomiques et donner naissance à des fragments caractérisés par le rapport de leur masse et leur charge. Les différents fragments ainsi produits, sont accélérés avant de parvenir à un analyseur appelé filtre de masse, qui les sépare. Le recueil sélectif des différents ions permet l'établissement d'un spectre caractéristique appelé : spectre de masse.

3. Les animaux d'expérimentation :

Les expérimentations ont eu lieu dans le laboratoire de Biotoxicologie et valorisation biologique des plantes de la faculté des sciences, département de Biologie, université Dr. Moulay Tahar, Saida.

Les expériences sont réalisées sur des rats, albinos, de souche wistar. Ils sont disposés dans une animalerie ventilée, à une température de $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Un éclairage artificiel établit un cycle jour/nuit. Les animaux étaient répartis dans des cages, en raison de 2 femelles et un male par cage, les femelles avaient un poids qui varie entre 180 et 210g. Les rats ont été divisés en trois groupes : témoin, intoxiqué et intoxiqué traiter.

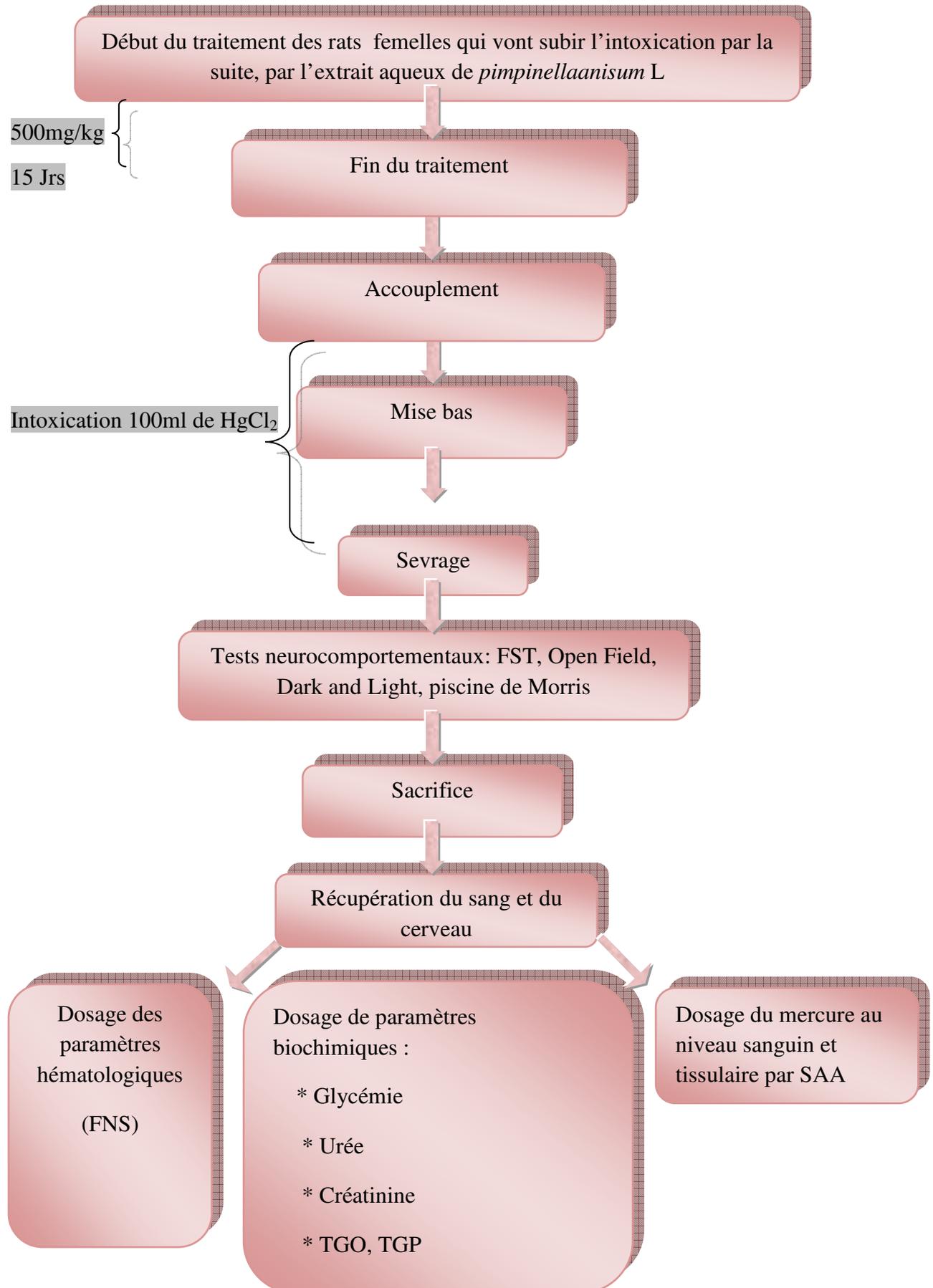


Figure 04 : Les étapes qui suivent le traitement et le sacrifice des rats

L'intoxication des rats a été effectuée pendant la phase de gestation et lactation (à partir du J0 d'accouplement) avec une dose de 100mg/L de chlorure de mercure ($HgCl_2$) par voie orale, le $HgCl_2$ est solubilisé dans une eau distillée (Chehimi et al.,2012). avant l'intoxication un groupe des femelles a subis un traitement par l'extrait aqueux de *pimpinellaanisum* avec une dose de 500 mg/kg (AlMofleh et al., 2007)pendant 15 jours par gavage .



Figure 05 : gavage.

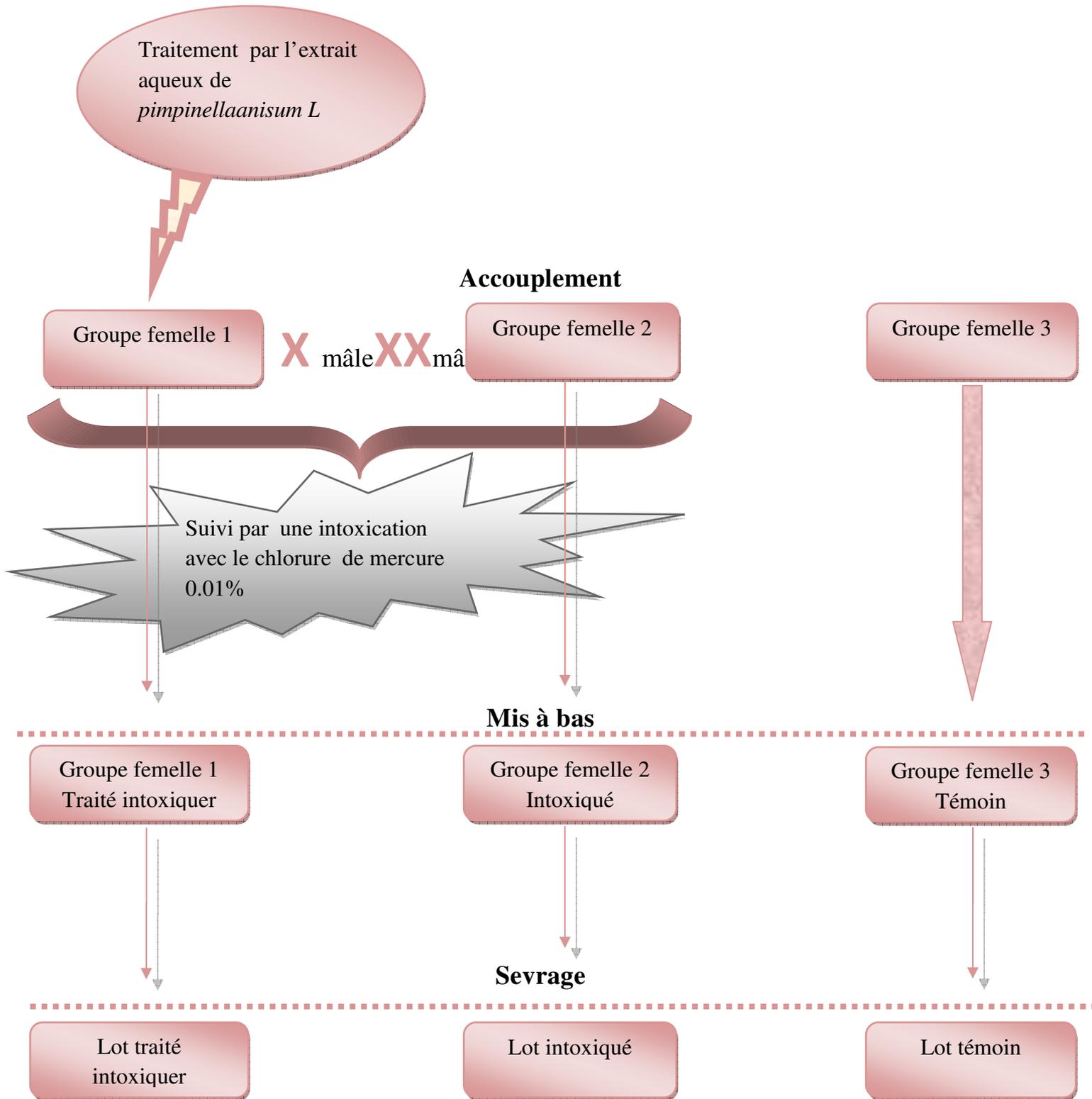


Figure 06 : Schéma explicatif du protocole expérimental

3.1-Répartition des lots :

Après sevrage, les petits rats sont regroupés :

Groupe témoin: rats témoins issus des femelles qui ont reçues l'eau de boisson sans chlorure de mercure pendant la gestation et la lactation.

Groupe Hg : rats intoxiqués issus des femelles qui ont reçues 0.01% de chlorure de mercure.

Groupe EAP + Hg : rats issus des femelles traités par 500 mg/kg de l'extrait ensuite, ils ont reçu 0.01% de chlorure de mercure.

3.2-Exploration de comportement :

Pour évaluer l'effet de l'anis vert ainsi que celui de chlorure de mercure sur le système nerveux de différents lots de rats, quatre tests de comportements ont été réalisé :

3.2.1- L'épreuve de la nage forcée (ForcedSwimming Test) :

L'épreuve de la nage forcée a été initialement proposée par **Porsolt et al., (1977)** comme épreuve permettant la sélection de molécules à activité antidépressive. Les rats sont placés durant 15 minutes dans la pièce où se déroule le test. Les animaux sont soumis à une épreuve de nage forcée d'une durée de 6 minutes. Les animaux sont placés à l'intérieur d'un cylindre de 20,7 cm de diamètre et de 39 cm de hauteur, dans une eau à 22°C. On mesure la durée pendant laquelle l'animal nage activement ou flotte seulement de manière à conserver la tête hors de l'eau. Après s'être débattu dans l'eau, l'animal devient presque immobile, bougeant les pattes de temps à autre pour rester à flot ou retrouver son équilibre. Cette immobilité est interprétée comme étant le reflet d'un « désespoir comportemental », qui survient lorsque l'animal réalise qu'il ne pourra pas s'échapper. Dans le cadre de cette interprétation, l'immobilité est vue comme un comportement dépressif. (**Kahloula ,2010**)

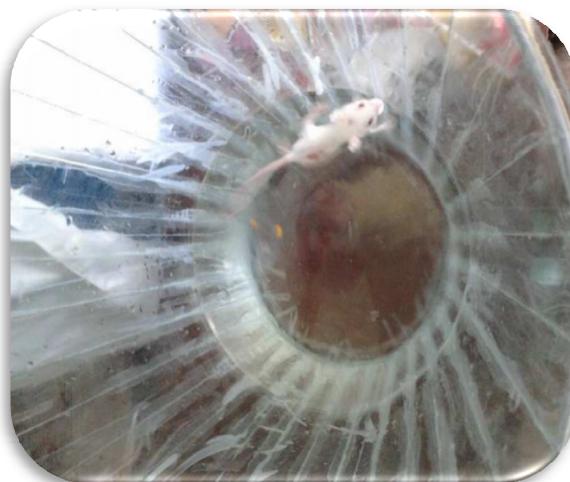


Figure 07 : Dispositif de la nage forcé « ForcedSwimming Test ».

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

Dans l'épreuve du double compartiment noir/blanc, le degré d'anxiété d'un animal est déterminé à partir de son aversion pour la lumière. Le dispositif est constituée d'une boîte en bois (L = 44 cm ; l = 16 cm ; H = 23 cm), cloisonnée en deux compartiments égaux (L = 22 cm ; l = 16 cm ; H = 23 cm) qui communiquent par un orifice de 6 cm de haut et de 5 cm de large situé à la base et au milieu de la cloison centrale. L'un des compartiments est noir, fermé par un couvercle n'empêchant pas la perception de l'animal par l'analyseur d'image et l'autre est blanc, fortement éclairée (100 lux). L'animal est placé dans le compartiment noir dans le coin de la paroi opposée à la porte. Le paramètre mesuré est le temps de séjour entre les deux compartiments l'un éclairé et l'autre obscur après 3 minutes d'exploration du milieu par le rat. L'expérimentation dure environ 5 minutes. La durée passée dans le compartiment blanc pendant les 5 minutes de l'expérience est comptabilisée. (Kahloula et al., 2017)

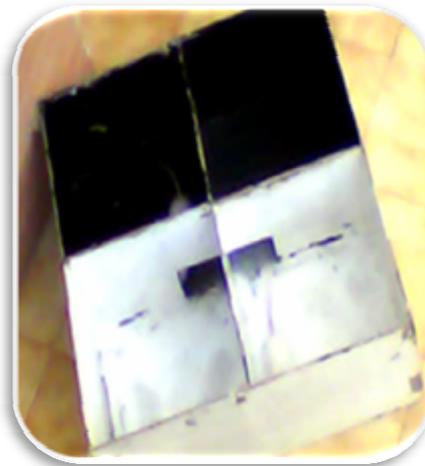


Figure 08 : Dispositif du compartiment obscurité/ lumière (Light Dark Test).

3.2.3-La piscine de Morris (Labyrinthe aquatique) :

Conçu et mis au point par R.M.G Morris (1983), ce test est devenu rapidement un test de référence dans les études visant à évaluer les capacités d'apprentissage et de mémoire spatiale chez les rongeurs. Dans les différents types de protocoles utilisés, le principe de base est que l'animal doit apprendre à s'échapper de l'eau d'un bassin (situation aversive) en atteignant le plus rapidement possible une plate-forme. (Astur et al., 1998) Le dispositif expérimental est un bassin opaque de 90 cm de diamètre, dont les parois mesurent 33cm de haut. Il est rempli d'eau à une hauteur de 21cm maintenue à une température de 22 °C±1. La plateforme immergée est recouverte d'une grille afin de faciliter l'agrippement des animaux. Un colorant blanc non toxique est dissout dans l'eau afin de la rendre opaque. Le bassin est installé dans

une pièce sur les murs de laquelle sont accrochés divers indices visuels. Les déplacements de l'animale sont suivis grâce à une caméra vidéo. 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 4jours à raison de 4 essais par jour. La plateforme 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. Le temps mis par l'animal pour atteindre la plateforme est enregistré. Chaque essai dure 60 secondes. Si le rat n'a pas trouvé la plateforme à la fin de l'essai, il est placé dessus par l'expérimentateur pendant 20 secondes. Le probe test est effectué le lendemain du dernier jour d'apprentissage. La plateforme est retirée du bassin et l'animal est placé au S. 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 2heures du probe test, se déroule la phase de la plateforme visible. La plateforme est placée au milieu du quadrant NO et rendue visible grâce à un drapeau coloré. Quatre essais de 60 secondes pour chacun sont réalisés dans les 4 points cardinaux. Le temps mis pour atteindre la plate-forme est mesuré. (Kahloula et al.,2014)



Figure 09 : Dispositif de La piscine de Morris.

3.2.4- Test de Champ Ouvert (Open field test):

L'open field utilise une large boîte rectangulaire ouverte (90 cm de long, 70 cm de large, et 60 cm de haut), à fond blanc et fortement éclairée, des lignes blanches au sol délimitaient des carreaux (10×10 cm).Chaque rat est initialement placé dans un des quatre coins de l'open field, la tête orientée vers un coin. Son comportement est observé pendant 6 minutes. Six paramètres sont mesurés par l'expérimentateur: le temps de latence(exprimé en secondes), qui correspond au temps mis par le rat pour sortir des quatre carreaux formant le coin, le nombre total de carreaux traversés par le rat pendant la durée du test(6min), qui reflète l'activité locomotrice ,le nombre de visites dans les 9 carreaux du centre, le nombre total de redressements ,le nombre total de toilettages, le nombre total de défécations. Ainsi, ce teste value les capacités exploratoires du rat dans un contexte stressant. Le nombre de carreaux

traversés et le nombre de redressements reflètent son activité exploratoire et son état émotionnel. Les autres paramètres sont plutôt des indices de son état émotionnel (Kahloula et al.,2014).

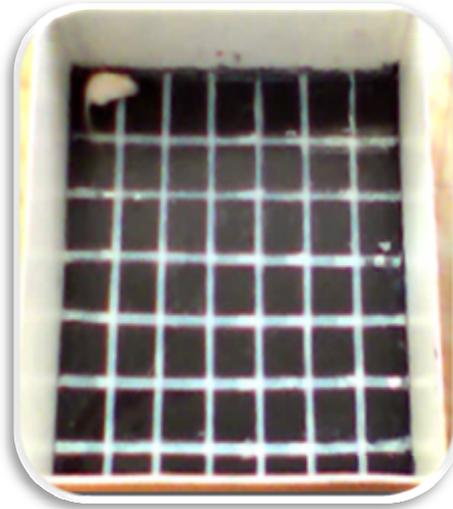


Figure 10:Dispositif du champ ouvert (Open Field Test).

4. Détermination du poids corporel et cérébral :

L'évaluation de la croissance pondérale des rats est enregistrée pendant 15 jours des tests ainsi que le poids des cerveaux. Par la suite,les ratons sont sacrifiésafin de récupérer le sang pour les paramètres hématologiques, les dosages biochimiques et le dosage du mercure au niveau sanguin et cérébral.

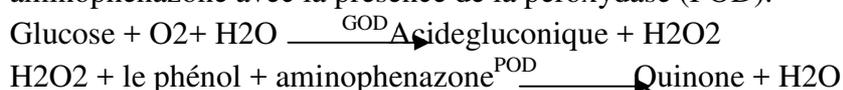
5 .Le prélèvement sanguin :

Après une période de 12 heures de jeûne, les jeunes rats sont sacrifiés par décapitation et cela après la réalisation d'une anesthésie par voieintra-péritonéale. Le sang a été récupéré dans des tubes EDTA pour les analyses hématologiques et le dosage du mercure,héparinepour les dosages biochimiques.

6. les dosages biochimiques :

Dosage de la glycémie :

La méthode utilisée pour le dosage de la glycémie est une méthode colorimétrique(Kit SPINREACT). Le glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose sanguin enacide gluconique en formant le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier est détecté par lephenol-aminophenazone avec la présence de la peroxydase (POD).



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon, calculé par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505nm.

Dosage des transaminases (TGO-TGP) :

L'aspartate aminotransférase ASAT (TGP) et l'alanine aminotransférase ALAT (TGO), font partie d'un groupe d'enzymes, les aminotransférases ou transaminases, qui catalysent la transformation réversible des acides α -cétoniques en acides aminés par transfert de groupes amines.

L. Aspartate + α -cetoglutarate $\xrightarrow{\text{TGO}}$ Oxaloacétique + L. glutamate.

Alanine + α -Cetoglutarate $\xrightarrow{\text{TGP}}$ Pyruvate + glutamate.

L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de ces enzymes dans le sang, calculé par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505nm à l'aide d'un KitChronolab.

Dosage de l'urémie :

L'urée sanguine est hydrolysée enzymatiquement en ammonium (NH_4^+) et dioxyde de carbone (CO_2). L'ion ammonium former entre en réaction avec salicylate et hypochlorite (NaClO), dans la présence du catalyseur Nitroprusside pour former l'indophénol de couleur verte, le Kit utilisé est Chrono Lab.

Urée $\xrightarrow{\text{urease}}$ (NH_4^+)₂ + CO_2

NH_4^+ + Salicylate + $\text{NaClO} \xrightarrow{\text{Nitroprusside}}$ Indophénol

L'intensité de la couleur est mesurée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 580nm.

Dosage de la créatinine :

La méthode utilisée pour le dosage de la créatinine est une méthode colorimétrique (Kit Chronolab). La Créatinine réagit avec le picrate alcalin en produisant une coloration orangé. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de la créatinine dans l'échantillon, la densité optique est mesurée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 492 nm.

7. Les dosages hématologiques :

Les paramètres hématologiques à savoir le taux d'hémoglobine (Hb), d'hématocrite (Ht), le nombre de globules rouges, le nombre de globules blancs et les plaquettes sont déterminés à l'aide d'un Coulter de type Sysmex XE-2100.

8. Le dosage du mercure au niveau sanguin et cérébral :

Le dosage du mercure a été effectué par la spectroscopie de masse atomique à vapeur froide. Un échantillon de poids ou de volume connu est placé dans la nacelle qui est elle-même introduite dans le tube catalytique. L'échantillon est alors séché puis décomposé thermiquement ou brûlé. Les produits de décomposition de l'échantillon sont poussés par un flux d'oxygène dans la seconde partie du tube catalytique. C'est ici que l'oxydation est finalisée, les halogènes, les oxydes d'azote et de soufre sont piégés. Les produits de décomposition sont ensuite poussés jusqu'à l'amalgame pour un piégeage sélectif du mercure, le reste passe dans les cuves de mesure jusqu'à l'évacuation d'oxygène de l'appareil. L'amalgame et les cuves sont thermo statés à 130°C afin d'empêcher la condensation de l'eau. Après la décomposition d'un échantillon et la stabilisation de la température dans l'amalgame, la quantité de mercure piégé dans l'amalgame est mesurée.

1. Le rendement :

La technique de décoction nous a permis d'obtenir un extrait aqueux de *Pimpinellaanisum* L. avec un rendement de 17,18 %.

2. Résultat de la CPG/SM

L'analyse chromatographique en phase gazeuse nous a permis d'identifier 12 composants pour l'huile essentielle de l'anis vert avec l'anéthol comme composant majeur.

Tableau 03: les composants identifiés par CPG/SM

Composés identifiés	Temps de rétention (min)	Concentration (%)
α -pinène	8,11	1,81
Camphène	8,56	0,36
Cis-betaocimène	9,72	0,28
α -phellandréne	10,91	0,22
Limonène	11,68	8,01
3-carène	12,91	0,43
Fenchone	14,22	8,99
α -campholène aldéhyde	16,15	0,47
γ -Elémène	18,1	0,11
Estragole	18,81	7,25
Tans-anéthol	20,33	55,44
Cis-Anéthol	21,60	0,18

3. Résultats des tests neurocomportementaux :

3.1. Test de la nage forcée :

Le résultat de la nage forcée montre que le temps d'immobilité des animaux exposés au Hg durant les 6min du test, est élevé d'une manière significative à celui des animaux témoins ($p < 0,001$). De plus, le temps d'immobilité des rats intoxiqués est significativement élevé à celui des rats issues des femelles traités par l'extrait, ensuite intoxiqués par le Hg ($p < 0,001$).

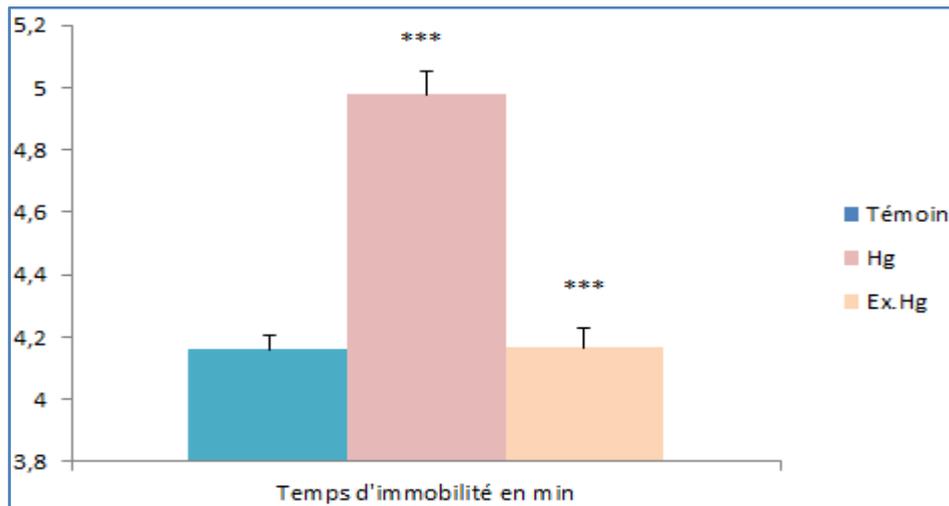


Figure 11 : comparaison du temps d'immobilité durant le test FST entre les rats témoins, intoxiqués et intoxiqué traiter (traitement préventif). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : *** $P < 0,001$ (témoin vs. Hg) *** $P < 0,001$ (Hg vs. extrait Hg)

3.2. Test du dark/light :

Les résultats du test d'anxiété montre que les animaux intoxiqués ont tendance à passer plus de temps dans le compartiment sombre et peu de temps dans le compartiment clair par rapport aux animaux témoins ($p < 0,01$). Aucune différence significative n'est notée entre les intoxiqués et les intoxiquer traités ($p > 0,05$).

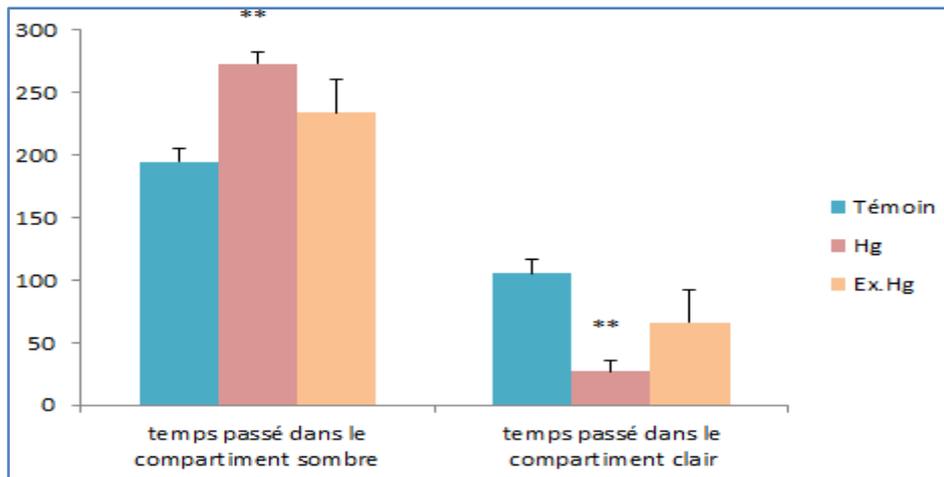


Figure12 : Comparaison entre le temps de séjour passé dans le compartiment éclairé chez les différents lots ;témoins, intoxiqués et intoxiqué traiter (traitement préventif) .Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : **P <0.01 (témoin vs.Hg)

3.3.Résultat de la piscine de Morris :

3.3.1.La phase d'apprentissage :

Durant le 1^{er} et le 2^{eme} jour d'apprentissage il n'existe aucune différence significative entre les trois groupes ($p > 0,05$).

Pendant le 3eme jour d'acquisition, nous avons remarqué que le temps de latence des rats intoxiqués est significativement élevé à celui des rats témoins ($p < 0,001$). De plus, le temps de latence du lot exposé au mercure est significativement supérieur à celui du lot traité par l'extrait d'anis avant de subir l'intoxication ($p < 0,001$). Durant le dernier jour d'apprentissage, le groupe intoxiqué met plus de temps pour arriver à la plateforme par rapport au groupe témoin ($p < 0,05$). Une élévation significative est enregistrée en terme de temps de latence chez les rats exposés au mercure par rapport au intoxiqués traiter ($p < 0,05$). (Figure 13)

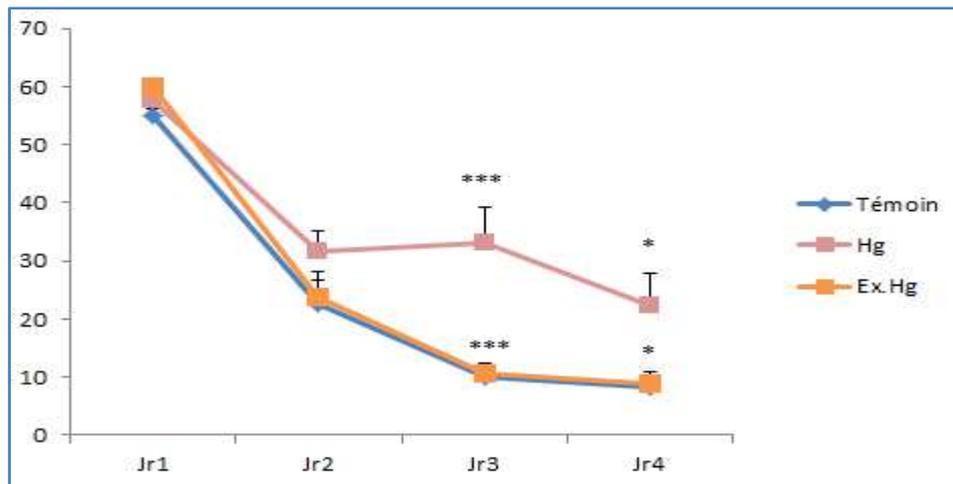


Figure13: Comparaison entre le temps de latence entre les animaux des trois lots durant les quatre jours d'apprentissage. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : Jr3 ; ***P < 0.001 (témoin vs.Hg) ; ***P < 0.001 (Hg vs. extrait Hg). Jr4 ; *P < 0.05 (témoin vs.Hg) ; *P < 0.05 (Hg vs. extrait Hg)

3.3.2. Le probe test :

L'analyse statistique révèle une différence non significative entre les trois lots ($p > 0,05$).

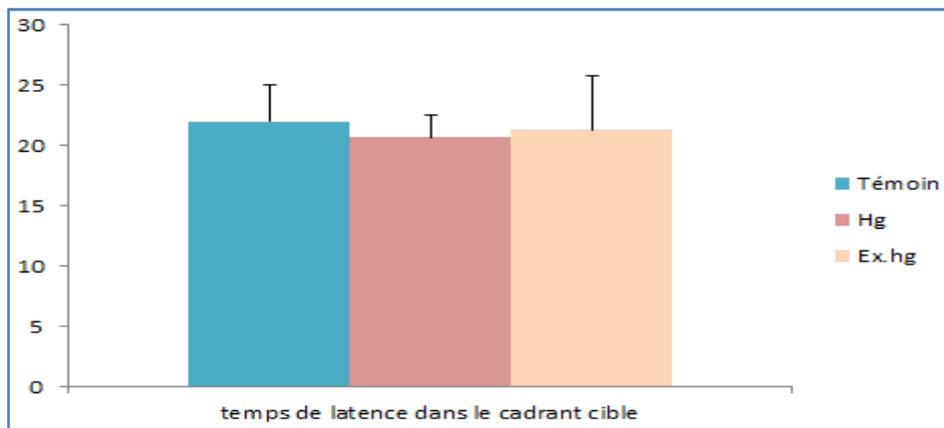


Figure14 : Temps passé dans le cadrant (NO) durant le probe test par les rats témoins, intoxiqués et intoxiqués traités (traitement préventif).

3.3.3. Le test visible :

Durant la phase du test visible les animaux intoxiqués mettent plus de temps par rapport aux animaux témoins afin d'arriver à la plateforme. De plus, les animaux traités ensuite ont subi l'intoxication ont un temps de latence inférieur à celui des animaux intoxiqués ($p > 0,05$).

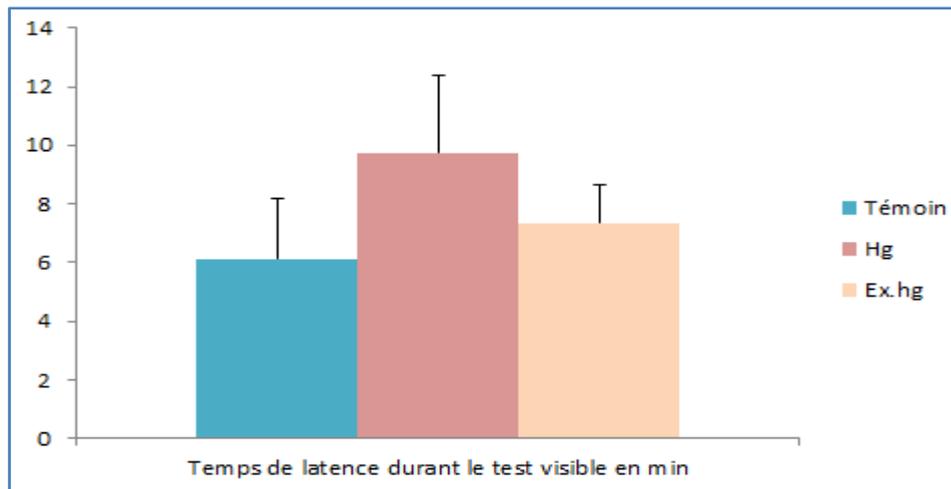


Figure15 : Temps de latence durant la plateforme visible chez les rats témoins, intoxiqués et traités intoxiquer

3.4.Open field :

L’open field est un test qui permet de mesurer l’activité locomotrice ainsi que la capacité exploratoire des rongeurs. Le nombre des carreaux traversés par les rats intoxiqués est significativement inférieur à celui des rats témoins ($p < 0,05$). De même pour le nombre de visite du centre. Pour le redressement, le toilettage ainsi que le temps de latence aucune différence significative n’a été remarqué. Le nombre de défécation du lot exposé au mercure est significativement élevé à celui du lot témoin ($p < 0,001$).

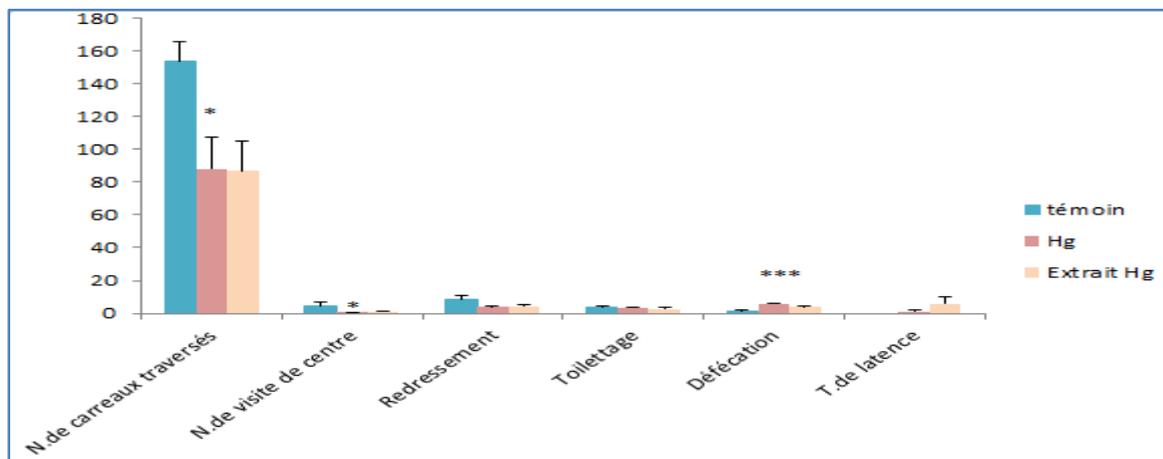


Figure 16 : Comparaison entre les paramètres de l’open field des trois lots d’animaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : nombre de carreaux traversés ; * $P < 0.05$ (témoin vs. Hg). Défécation ; *** $P < 0.001$ (Hg vs. extrait Hg).

4. Variation du poids corporel :

La pesée des rats était le jour du sevrage (jr30) et le Jr40. Nous avons remarqué une différence significative entre les intoxiqués et les témoins et entre les intoxiqués et les traiter intoxiqués dont le poids est significativement inférieur à celui des témoins. De même, le poids des ratstraiter intoxiqués est significativement élevé à celui des intoxiqués.

Tableau04 :Variation du poids corporel des témoins, intoxiqués et intoxiqués traiter (traitement préventif) en (gr).Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***: $p < 0.001$)

Jours	Jours du sevrage (jr30)	10 jr après (Jr40)
Poids Témoin	45,5	77,16667
Poids Hg	27,83***	41,33***
Poids Extrait.Hg	43,66***	76,66***

5. Variation du poids cérébral:

Nous avons remarqué une diminution significative dans le poids du cerveau des animaux intoxiqués en comparaison avec les animaux témoins ($p < 0,05$). Par ailleurs, le poids cérébral des rats intoxiqués traiter par l'extrait est significativement important par rapport au poids cérébral des rats intoxiqués ($p < 0,01$) et par rapport aux rats témoins.

Tableau05 :Variation du poids cérébral des témoins, intoxiqués et intoxiqués traiter (traitement préventif) en (gr).Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

Lots	Poids cerveau
Témoin	1,5925
Hg	1,4925*
Extrait. Hg	1,64**

6. Résultat des paramètres hématologiques :

Le nombre des leucocytes chez les rats intoxiqués est élevé par rapport à celui des rats témoins mais sans aucune différence significative ($p > 0,05$). De plus, les rats intoxiqués traiter ont subi une augmentation significative dans le taux des globules blanc par rapport aux intoxiqués non traiter ($p < 0,01$). (Figure 17)

Le taux des globules rouges et des hématocrites des rats intoxiqués est significativement inférieur à ceux des rats témoins ($p < 0,001$), ($p < 0,05$) respectivement. Cependant, les animaux intoxiqués traiter ont un taux de globules rouges, des hématocrites et des plaquettes significativement important à celui des animaux intoxiqués ($p < 0,001$), ($p < 0,05$), ($p < 0,001$). (Figure : 18, 20,21)

Le taux de l'hémoglobine des animaux intoxiqués est inférieur par rapport aux animaux témoins, et celui des intoxiqués traiter est important par rapport à celui des intoxiqués mais en terme de statistique il n'existe pas une différence significative ($p > 0,05$). (Figure 19)

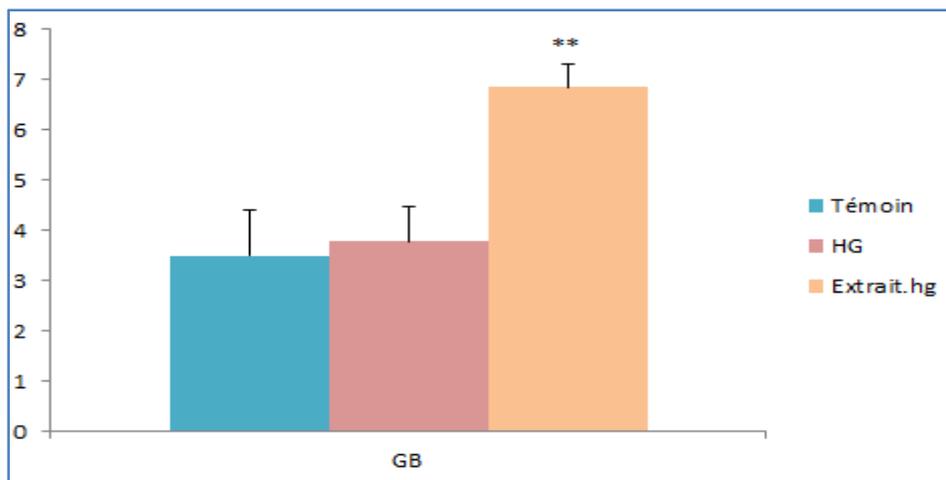
6.1. Les globules blancs :

Figure17 : Comparaison entre le nombre des globules blancs des témoins, Hg et Extrait.Hg de l'exposition à l'Hg suite à un traitement préventif par l'extrait de l'anis sur le taux des globules blancs. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : **P < 0.01 (Hg vs. extrait Hg)

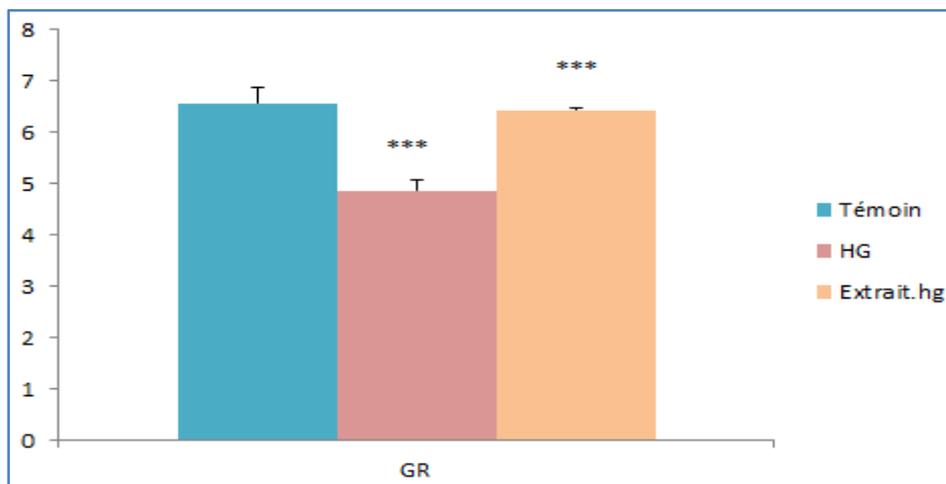
6.2. Les globules rouges :

Figure18: Comparaison entre le nombre des globules rouges des témoins, Hg et Extrait.Hg. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : ***P < 0.001 (témoin vs.Hg) ; ***P < 0.001 (Hg vs. extrait Hg)

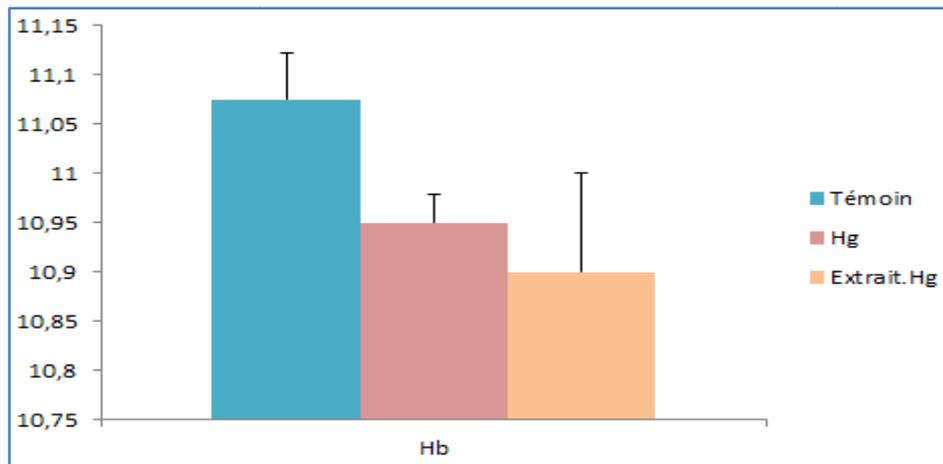


Figure19 : Comparaison entre le taux d’hémoglobine exprimé en (g/dL) des témoins, Hg et Extrait.Hg .

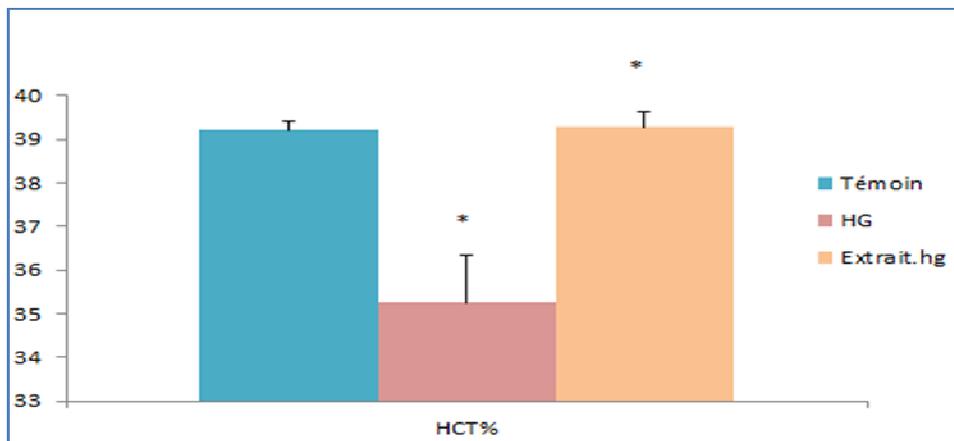


Figure20 : Comparaison entre le pourcentage d’hématocrite des témoins, Hg et Extrait.Hg

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : *P < 0.05(témoin vs.Hg) ; *P < 0.05 (Hg vs. extrait Hg)

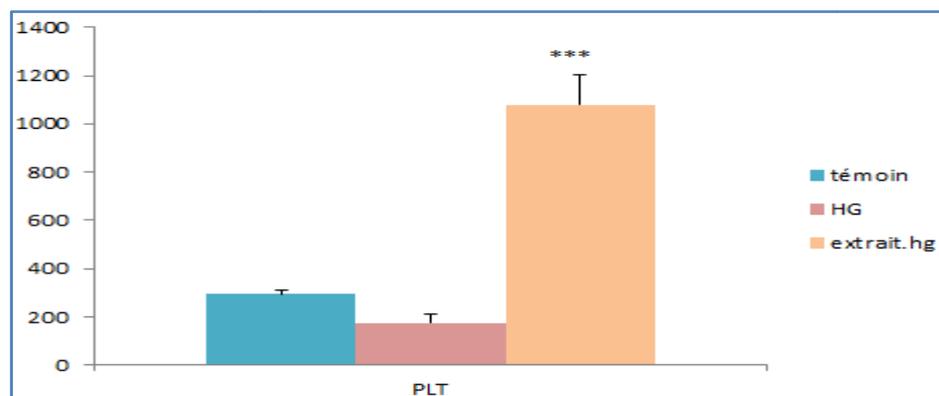


Figure21 : Comparaison entre le taux des plaquettes des témoins, Hg et Extrait.Hg. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : ***P < 0.001 (Hg vs. extrait Hg).

7. Résultat des paramètres biochimiques :

7.1. Dosage de la glycémie :

Le résultat du dosage du glucose au niveau sanguin nous a indiqué que les animaux exposés au mercure ont un taux de glucose significativement inférieur à celui des animaux témoins ($P < 0.001$). Par ailleurs, les animaux intoxiqués traités avaient une glycémie significativement importante à celui des intoxiqués ($P < 0.001$).

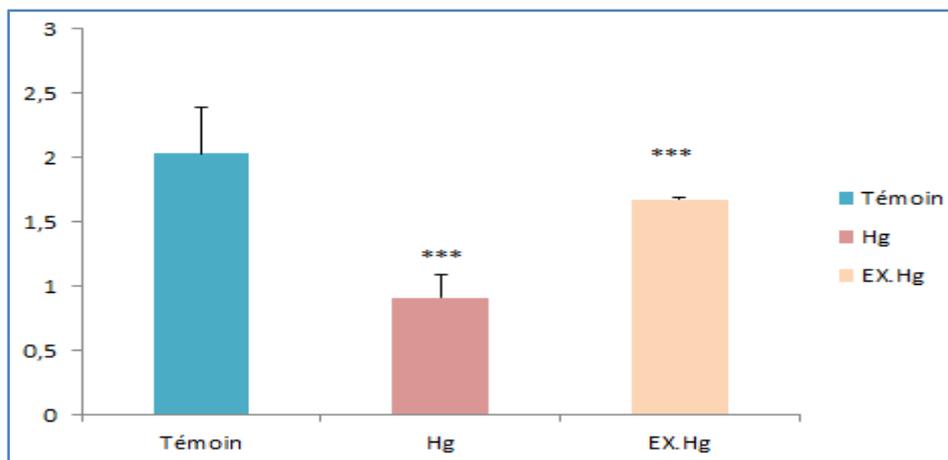


Figure 22 : Comparaison entre les valeurs de la glycémie mesurée en (g/L) des témoins, Hg et Extrait.Hg. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : *** $P < 0.001$ (témoin vs. Hg) ; *** $P < 0.001$ (Hg vs. extrait Hg)

7.2. Dosage de l'urée et créatinine :

Le dosage de l'urée et de la créatinine a révélé que leurs taux sont élevés chez les rats qui ont subi l'intoxication en comparaison avec les rats témoins mais sans signification. Cependant, les rats exposés au mercure et traités avec l'extrait d'anis ont un taux de l'urée et de créatinine significativement inférieur à celui des rats intoxiqués ($P < 0.05$), ($P < 0.01$) respectivement. (Figure 23, 24)

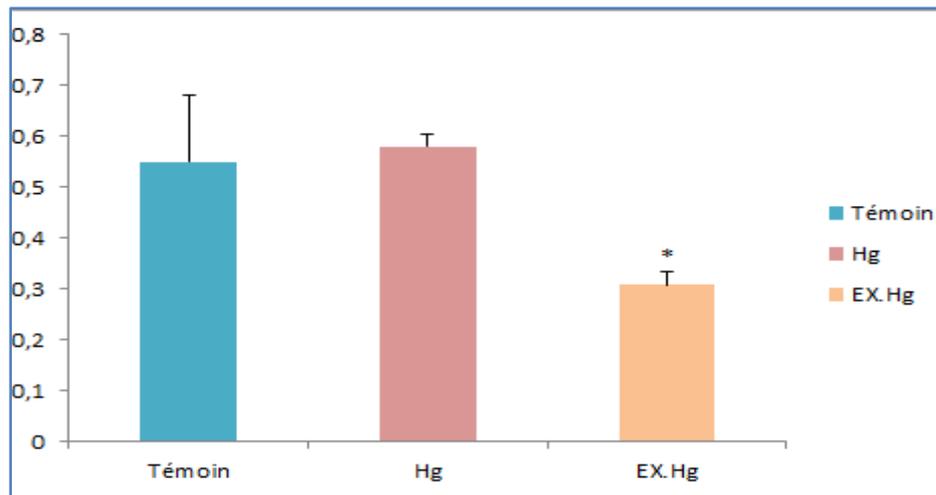


Figure23 :Comparaison entre les valeurs de l'urée sanguine mesuré en (mmol/L) des témoins, Hg et Extrait.Hg. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : *P <0.05(Hg vs. extrait Hg)

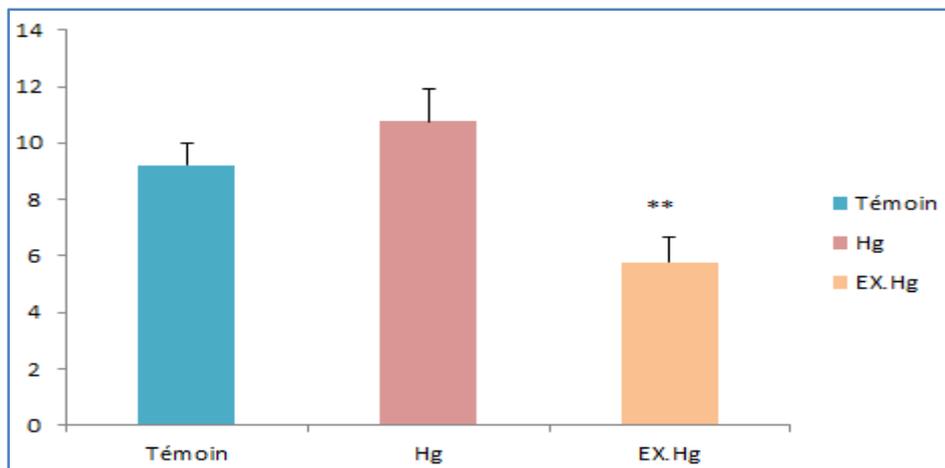


Figure24:Comparaison entre les valeurs de la créatinine sanguine mesuré en (mmol/L) des témoins, Hg et Extrait.Hg. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM :**P <0.01(Hg vs. extrait Hg)

7.3. Dosage de la TGO et TGP :

Le dosage des transaminases a révélé une augmentation significative dans le taux du TGO chez le groupe exposé au mercure en comparaison avec le groupe témoin ($P < 0.05$). De même, pour le groupe traité avant d'être exposé au mercure en comparaison avec le groupe intoxiqué ($P < 0.05$). Pour la détermination de la teneur sérique de la TGP on a noté une diminution significative entre le lot traité par l'anis ensuite exposé au mercure et le lot exposé au mercure ($P < 0.05$). Par contre, aucune différence significative ($P > 0.05$) n'est observée entre le lot intoxiqué et le lot témoin.(Figure 26,27)

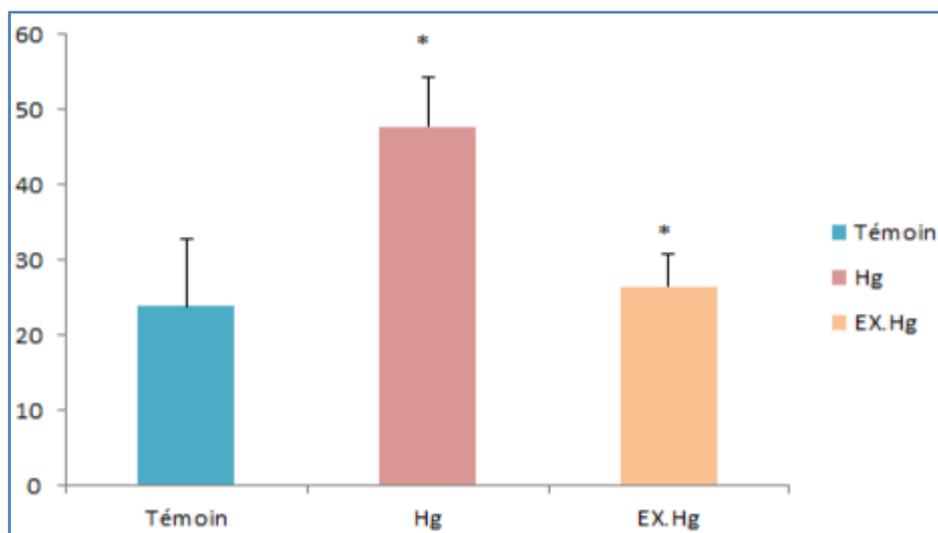


Figure25 : Comparaison entre les Teneurs sériques du TGO exprimés en ($\mu\text{l/L}$) des : Témoins, Hg et Extrait-Hg . Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : *P < 0.05(Témoin vs.Hg) ; **P < 0.05 (Hg vs. Extrait- Hg)

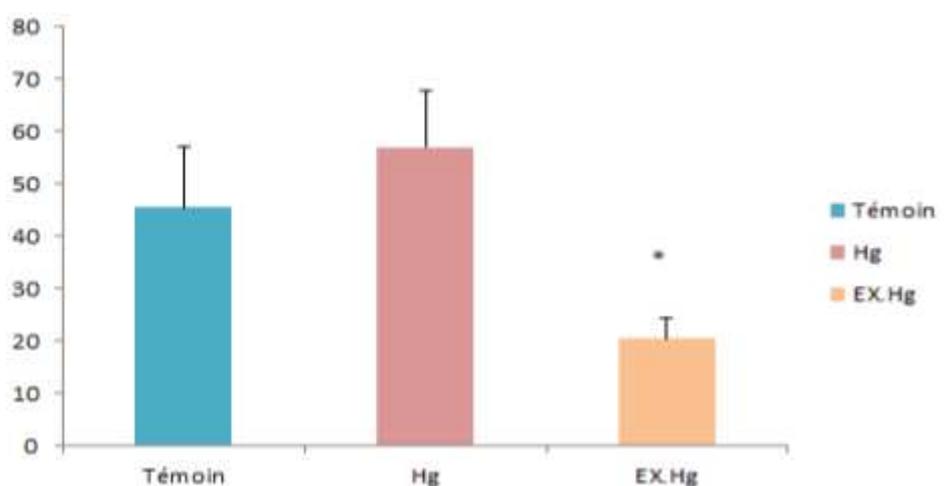


Figure26: Comparaison entre les teneurs sériques du TGP exprimés en ($\mu\text{l/L}$) des : Témoins, Hg et Extrait- Hg . Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : **P < 0.05 (Hg vs. Extrait- Hg)

8.Résultat du dosage de mercure sanguin et cérébral:

La technique de spectrophotométrie à absorption atomique a révélé des variations dans le taux du mercure au niveau sanguin et cérébral. Ces résultats montrent que la concentration du mercure chez les rats intoxiqués est importante en comparaison avec les rats témoins. Néanmoins, le traitement préventif avec l'extrait a permis de réduire cette concentration au niveau du sang et au cérébral. Les résultats enregistrés sont dans le tableau suivant :

Tableau 06: Tableau récapitulatif de l'analyse du mercure au niveau sanguin et cérébral.

<i>N°</i>	Mercurémie $\mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$	Mercure cérébral $\mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$
<i>témoin</i>	0,20 $\mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$	3,10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
<i>intoxiqué</i>	8,11 $\mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$	20,09 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
<i>traité</i> <i>Intoxiquer</i>	4,63 $\mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$	12,91 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

1. Rendement :

Le rendement de l'extrait aqueux de *Pimpinellaanisum L* obtenue par décoction est de l'ordre 17.18%. les travaux mené par **Sleman et al .,(2013)** présentent un rendement de l'ordre de 18% pour l'extrait éthanolique. De plus, **Bekaraet al ., (2015)** ont obtenu un extrait aqueux avec un rendement de 20.99%. Nos résultats concordent avec ceux de ces auteurs.

2. Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrophotométrie de masse :

La CPG de l'anis vert de la région de Saida a identifié le trans-anéthol comme composant majeur avec un pourcentage de 55.44% ainsi que 11 autres composants : Fenchone avec un pourcentage de 8.99%, Limonène avec un pourcentage de 8.01%, γ -Elémène avec un pourcentage de 7.25%, α -pinène avec un pourcentage de 1.81% et autres composants avec un pourcentage inférieure à 1% (α campholène aldéhyde 0.47%, 3-carène 0.43%, camphène 0.36%, Cis-betaocimène 0.28%, α -phellandréne 0.22%, Cis-Anéthol 0.18%).

Ghaouti et al ., (2012), ont trouvé dans leurs analyse des semences de *Pimpinellaanisum* d'Agouray (Maroc) que le trans- anéthole est le composé dominant avec un pourcentage de 81,19. γ -himachalène vient en deuxième position avec un pourcentage de 6,22%. Il est suivi du cis-anéthole 0,59 % et de l'estragole 0,46%. Viennent ensuite des sesquiterpènes (α chamigrène, α -longipinène, aromadendréne) et du quercétol (0,09 %). Dans les travaux d'**Obaidet al ., (2017)** sur l'anis vert de la Chine les résultats de la CPG/SM a montré que le trans-anéthol est le composant majeur avec un pourcentage de 96,8, Himachalene (1.84%), autres composants qui sont inférieure a 1% comme : Estragole, cyclohexene et 2-Methoxy-5-(1-propenyl) phénol. Nos données sont presque similaires à celles des auteurs mise à part la variabilité de certaines proportions qui sont dû essentiellement à la variation des régions, les conditions climatiques et les facteurs physico-chimiques du sol.

3. Effet de l'extrait aqueux de *Pimpinellaanisum L* (E.A.P) et de mercure sur le comportement des rats :

Le mercure est un polluant environnemental lié à un risque élevé pour la santé. Plusieurs études ont montré que l'empoisonnement par ce métal peut causer des risques graves pour le système cardiovasculaire, respiratoire, systèmes rénaux, nerveux, reproductifs et immunitaires (**Azevedo et al.,2016**). Par ailleurs, les plantes aromatiques et médicinales sont connues par leurs propriétés biologiques intéressantes sont utilisées dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie, en cosmétologie et en agriculture (**Jdidi, 2015**).

De nombreuses vertus médicinales sont attribuées à l'anis, une infusion de ses graines ou de quelques gouttes de son huile essentielle peuvent être prescrites pour soigner de nombreux troubles gastriques et intestinaux. De plus, on le décrit comme diurétique, stimulant, galactogène, apéritif et un effet sur le système nerveux (**Citerne et al., 2002 ; Samojlik et al.,2012**).

Dans ce travail, nous avons étudié l'effet de l'extrait aqueux de l'anis suite à une intoxication par le mercure sur le système nerveux et les structures cérébrales en relation avec le comportement en utilisant quatre types de tests neurocomportementaux :

- ✓ Test de la nage forcée (Swimming Forced Test) qui explore le comportement dépressif de l'animal.
- ✓ Test du compartiment obscurité/ lumière (Dark and Light) qui détermine l'état d'anxiété chez les rats.
- ✓ Test de labyrinthe aquatique de Morris qui évalue l'apprentissage spatial chez le rat.
- ✓ Tests de champ ouvert (Open Field Test) qui explore l'activité locomotrice.

3.1. Test de la nage forcée (Swimming Forced Test) :

Le résultat de la nage forcée a montré que l'exposition à l'Hg a induit une augmentation dans le temps d'immobilité qui est le paramètre clé de l'estimation du degré de résignation. Cette augmentation a été significative en comparaison avec le temps d'immobilité enregistré chez le groupe témoin. Donc les animaux intoxiqués par le mercure sont dans un état dépressif ou de désespoir. Le mercure métallique (vapeurs de mercure) pénètre aisément dans le cerveau et provoque des tremblements et de la dépression d'après **Langford et al., (1996)**. D'autre part, **Haut et al., (1999)** démontrent des problèmes émotionnels, de dépression, d'anxiété et de retrait social suite à l'exposition à des vapeurs de mercure pendant 2 à 4 semaines. **Soleo et al., (1990)** ajoutent que les sujets exposés professionnellement au mercure de façon chronique sont plus dépressifs que les sujets exposés de façon occasionnelle ou non exposés.

Par contre, le temps d'immobilité des rats issus des femelles traités par l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L ensuite intoxiqués est significativement inférieur à celui des rats intoxiqués par l'Hg. En parallèle, le temps de mobilité a été diminué chez le lot intoxiqué à l'Hg par rapport au lot témoin. En outre, l'administration de l'extrait aqueux des graines d'anis vert par voie orale a permis d'augmenter le temps de mobilité d'une manière significative. **Shahamat et al., (2016)** dans leurs études, découvrent que les différentes doses de l'extrait aqueux et éthanolique de fruit *Pimpinella anisum* L prouvent significativement leur activité antidépresseur par test d' FST et TST. En plus **Kahloula et al., (2013)** ont prouvé l'effet antidépresseur de l'huile essentielle de l'anis vert chez des rats intoxiqués par le plomb.

Nos résultats sont en accord avec les travaux précédents (**Haut et al., 1999, Soleo et al., 1990, Langford et al., 1999, Kahloula et al., 2003, Shahamat et al., 2016**).

3.2. Test du compartiment obscurité / lumière (Dark and Light) :

Les résultats de test d'anxiété, montrent que les rats issus des femelles exposés au mercure au cours de la gestation et de la lactation présentent un temps de séjour dans le compartiment sombre élevé en comparaison avec celui des rats témoins. Ce qui reflète que les sujets exposés à l'Hg pendant la période de développement dévoilent un état d'anxiété par rapport aux sujets témoins. Ces résultats affirment que le mercure induit l'instauration d'un état de d'anxiété.

L'intoxication par le mercure inorganique provoque une anxiété et une agitation marquées d'après les travaux de **O'Carroll RE et al., 1995**. De même, l'exposition à des vapeurs de mercure pendant 2 à 4 semaines, provoque de l'anxiété et de retrait social.

Par ailleurs, les animaux traités par l'anis et intoxiqués passent peu de temps par rapport aux animaux intoxiqués dans le compartiment sombre. D'après les travaux de **Kahloula et al., 2013** l'administration de l'huile essentielle de l'anis a pu corriger l'anxiété causée par l'exposition au plomb. Nos résultats sont en accord avec les travaux précédents (**O'Carroll et al., 1995**) et (**Kahloula et al., 2013**)

3.3. Test de labyrinthe aquatique de Morris :

Les résultats enregistrés relatifs à ce test montrent bien que le temps d'apprentissage de groupe intoxiqué est élevé de manière significative durant le 3^{ème} et 4^{ème} par rapport à celui du groupe témoin. Cela indique que les animaux intoxiqués ont un déficit d'apprentissage.

Dans le probe test et le test visible, le groupe intoxiqué met plus de temps pour arriver à la plate forme. Ce qui traduit que ce dernier présente des troubles de vision.

L'intoxication de mercure inorganique provoque le syndrome psychiatrique d'éréthisme mercuriel (perte de mémoire, timidité, instabilité de l'humeur et parfois un délire) **O'Carroll et al., 1995**. Une exposition à long terme au mercure élémentaire provoque une irritabilité, une faible concentration intellectuelle et des troubles de la mémoire (**Albers et al., 1988 ; Bidstrup et al., 1951 ; Chapman et al., 1990 ; Smith et al., 1970**). Elle présente aussi une dégénérescence des fibres nerveuses sensorielles ainsi qu'une démyélinisation et une augmentation du collagène résultant de la réparation incomplète et irrégulière de ces fibres (**Harada et al., 1995**). Le mercure est redistribué dans l'organisme du nourrisson. Ce puissant neurotoxique s'accumule dans différents compartiments du cerveau en développement, notamment dans l'hippocampe (siège de l'apprentissage et de la mémoire), le cortex cérébral, le cervelet (responsable de la coordination des mouvements) et la rétine (**Grosman et al., 2010**). Le mercure inorganique perturbe le transport du glutamate et l'activité de la glutamine-synthétase (GS) (**Grosman et al., 2010**).

Cependant, le lot traité à l'anis intoxiqué à l'Hg a un temps d'apprentissage durant le 3^{ème} et 4^{ème} jour inférieur d'une manière significative par rapport au lot intoxiqué.

Pour le probe test et la phase de la plate forme visible, il existe une différence entre le groupe traité exposé au mercure groupe intoxiqué et le groupe témoin. Cela indique que l'anis a un effet bénéfique sur la mémoire et les troubles de la vision.

3.4. Test de champs ouvert (Open Field Test):

Ce test permet d'explorer principalement l'activité locomotrice chez les petits rongeurs. Les résultats que nous obtenus dans ce test montre qu'une exposition précoce au mercure a provoqué une hypoactivité chez les rats exposés au mercure en comparaison avec les rats témoins. Ce qui a été constaté par la baisse du nombre des carreaux traversés et le nombre des visites du centre. Cette hypoactivité locomotrice est accompagnée par une augmentation significative du nombre de défécation par rapport au lot témoin. Plusieurs études ont montré que l'exposition au MeHg peut produire des déficits comportementaux liés à l'activité locomotrice et les performances motrices chez la souris adulte (**dos Santos et al.,2016**). Cependant, les animaux traités par l'extrait aqueux de l'anis ensuite intoxiqués par le mercure traversent plus de carreaux et visite le centre plus que les animaux intoxiqués mais cette différence n'est pas significative. D'après les travaux de **Kahloula et al .,(2013)** l'huile essentielle de l'anis a pu corriger le déficit de locomotion des rats intoxiqués par le plomb. Nos résultats sont en accord avec ceux de **dos Santos et al.,2016** et **Kahloula et al ., 2013**.

4. L'effet de l'anis vert et du mercure sur le poids corporel et cérébral :

Les résultats que nous avons obtenus ont montré que le mercure a induit une diminution de poids corporel et cérébral chez les rats intoxiqués par rapport aux rats témoins. De même, les rats traités par l'E.P.A et intoxiqués ont un poids corporel et cérébral plus élevé que celui des rats intoxiqués.

Nos résultats indiquent que l'exposition au mercure pendant la période de la gestation et la lactation entraîne une perte de poids. Cela est dû à l'effet du mercure sur l'hypophyse et sur l'hormone de croissance. Ce qui est en accord avec les travaux de **Vimy et al ., (1990)** qui ont pu suivre le trajet du mercure chez des brebis gravides et a mesuré la quantité de mercure par la suite dont son taux était très élevés.

Par ailleurs, nous avons enregistré un gain de poids chez les rats traités par l'extrait aqueux de *Pimpinellaanisum L* puis intoxiquer. L'augmentation de la masse corporelle a été significative chez le groupe traité intoxiquer en comparaison avec le groupe intoxiqué. **MAHMOOD et al .,(2014)** à travers leurs étude suggèrent l'effet bénéfique de l'anis sur la performance des poulets de chair à des doses plus faibles, le taux de conversion alimentaire et le gain de poids corporel ont été présentés. Les résultats concordent avec les données trouvés par **Vimy et al ., (1990)** et **MAHMOOD et al ., (2014)**.

5. Discussion des Paramètres hématologiques :

Les données enregistrées relatives aux paramètres hématologiques ont révélé un nombre de globules blancs chez les rats issus des femelles exposés au mercure supérieur à celui des rats témoins. Cette augmentation explique que l'animal mobilise toutes ces capacités de défense pour lutter contre les infections causées par la présence des xénobiotiques dans l'organisme (**Karmakar et al., 2000**). Ce qui confirme l'importance des globules blancs dans la défense immunitaire contre les toxiques. Le résultat que nous avons trouvé est en accord avec celui de (**Bahi, 2015**). Cependant, les animaux traités par l'extrait de l'anis ensuite exposés au mercure ont un nombre de globules blancs significativement important à celui des animaux exposés au mercure. Nos résultats sont en accord avec ceux de (**Al-Shammari et al., 2017**) qui montre que les graines d'anis améliorent le profil sanguin en augmentant les taux de globules blancs, globules rouges et l'hématocrite.

En ce qui concerne les résultats des globules rouges et d'hématocrites, ils représentent un taux significativement inférieur chez le lot intoxiqué par rapport au lot témoin. Pour le taux plaquettaire et l'hémoglobine, nous avons remarqué des taux bas chez le groupe intoxiqué en comparaison avec le groupe témoin.

D'après ces résultats obtenus, on peut dire que le mercure a provoqué une anémie qui est due d'une part ; aux effets des radicaux libres générés par le mercure sur les globules rouges, où certains radicaux libres comme, O₂⁻ et OH sont des espèces très réactives capables de provoquer des dommages cellulaires par le biais de la peroxydation des lipides membranaires, de plus en présence de fortes concentrations de ces radicaux, l'hémoglobine peut facilement s'oxyder (**Gurer et al., 1998 ; Hughes, 2002 ; Modi et al., 2006**).

Par ailleurs, les animaux traités par l'extrait aqueux de *pimpinella anisum* avant de subir l'intoxication ont un taux de Gb, Gr, Hct, et Plt significativement élevé à celui des animaux intoxiqués. Le taux d'hémoglobine a été élevé chez le groupe intoxiqué par rapport au groupe témoin. Selon **Al-Shammari et al., 2017** l'anis vert stimule la synthèse érythrocytaire, la différenciation cellulaire, et stimule la circulation sanguine.

6. Paramètres biochimiques :

Le résultat relatif à la glycémie a montré que les rats exposés au mercure présentent une hypoglycémie significative en le comparant avec celle des rats témoins. Ces résultats sont en accord avec les résultats trouvés par **Moumen, 2017** et **Peixoto et al., 2007**.

La diminution du taux de glucose peut être due à l'augmentation de son utilisation par l'organisme comme source immédiate d'énergie sous l'effet du stress causé par le mercure, l'excrétion urinaire du glucose est de mauvaise qualité. Cela est dû au mauvais fonctionnement des glomérules et à la détérioration de la fonction urinaire (**Kyle et al., 1983**). En effet, la réabsorption du glucose est affectée dont le processus se produit principalement dans la membrane de la bordure en brosse du segment contourné du tubule proximal, le glucose pénètre dans les cellules tubulaires par un système de transport actif en utilisant une protéine porteuse, qui est dépendante au sodium, le transport du glucose au niveau de la

membrane basolatérale survient par diffusion facilitée indépendant au sodium. Dans l'autre sens, si le taux de glucose excrété dépasse plus le taux réabsorbé, le rein est incapable de le résorber, et une grande quantité sera excrété dans l'urine (Sheikh et al.,2011).

Par ailleurs, les animaux traités par extrait aqueux et intoxiqués au Hg ont un taux de glycémie significativement élevé à celui des intoxiqués. Shohaji et al.,2012 ont montré que l'administration de l'huile d'anis a augmenté d'une manière significative l'absorption du glucose dans le jéjunum de rat. Cela est dû à l'augmentation de l'activité de Na^+/K^+ l'ATPase qui augmente le gradient de sodium et engendre le transport de glucose dans la muqueuse intestinale.

Concernant les teneurs sériques de l'urée et de la créatinine nous avons remarqué une augmentation non significative de ces dernières chez les rats du lot exposé au mercure en comparaison avec celles des rats du lot témoins. Selon Piexoto et al.,2007, l'hyperurécémie et l'hypercréatininémie sont considérés comme des biomarqueurs d'un dysfonctionnement et du dommage rénal. L'augmentation de taux de l'urée indique des lésions glomérulaires provoqués par le catabolisme protéiques et la conversion de l'ammoniaque en urée résultant de l'augmentation de la synthèse de l'arginase ; enzyme impliquée dans la production de l'urée (Harper et al., 1979; vanholder et al., 1992). Cependant, les résultats de la teneur de l'urée et de la créatinine sérique du groupe traité préalablement ensuite intoxiqué par le mercure sont significativement inférieurs à ceux de groupe intoxiqué donc l'extrait aqueux de *Pimpinellaanisum* a pu réduire la concentration sérique des biomarqueurs de la fonction rénale. Bekara et al.,2015 ont montré que l'extrait aqueux de l'anis vert a diminué la concentration de l'urée et de la créatinine des rats exposés au plomb. Nos résultats sont en accord avec les résultats de Piexoto et al.,(2007), Bahi, 2015, Moumen,2017 et Bekara et al.,2015.

L'activité enzymatique du TGO et TGP a présenté une élévation significative chez les rats intoxiqués par le mercure par rapport à celle des rats témoins ce qui reflète une lésion hépatique et s'explique par la fuite de ces derniers du tissu vers le plasma dû à l'altération de la perméabilité membranaire causé par le mercure, ces résultats sont en accord avec les travaux de Deepmala et al., (2013) ; Bahi, 2015.

Par contre, les animaux traités par l'anis ensuite exposés au mercure ont un taux de TGO et TGP significativement inférieur à celui des animaux exposés au mercure. El-Sayed et al.,2015 ont mentionné un effet hépatoprotecteur de l'huile essentielle de l'anis vert contre une cirrhose hépatique induite par le carbone tetrachloride en se basant sur le dosage des transaminases. L'huile de *pimpinellaanisum* a pu réduire le taux du TGO et du TGP qui était élevé par le carbone tetrachloride.

7. Discussion du dosage du mercure sanguin et cérébral:

Nous avons remarqué que la mercurémie des rats intoxiqués est importante à celle des rats témoins et des rats traités. Les ions Hg sont transportés d'une manière équivalente dans le plasma, complexés avec l'albumine, et dans les hématies, après liaison avec l'hémoglobine et le glutathion (**Alesio et al., 1993**). La concentration du mercure cérébral du groupe intoxiqué a été très élevée en comparaison avec le groupe témoin et même en comparaison avec la mercurémie.

L'organe cible chez l'homme lors de l'inhalation de vapeurs de mercure est le SNC. Lors d'expositions chroniques aux dérivés inorganiques du mercure, le rein est l'organe critique. La sévérité et la réversibilité des lésions dépendent de l'intensité et de la durée de l'exposition (**Bensefa et al., 2011**). Les dommages tissulaires sont en outre corrélés avec l'augmentation de l'accumulation du toxique dans les régions du cerveau indiquant le développement d'un trouble neurodégénératif causé par l'intoxication au mercure. Ces effets ont été confirmés par l'étude au microscope électronique du cerveau qui a montré une gaine de myéline discontinue autour de l'axone, y compris des mitochondries gonflées, un noyau gonflé ainsi que des modifications de la membrane nucléaire avec le traitement du cholédoque mercurique (**Rao et al., 2011**).

Cependant, le traitement préventif avec l'extrait d'anis a permis de réduire la mercurémie et la concentration du mercure cérébrale. Selon **El-Sayed et al., 2015** l'anis vert a une forte capacité de chélater les ions métalliques multivalents, cet effet chélateur contre les minéraux aurait été à l'origine d'un effet protecteur.

Le mercure est un métal lourd largement répandu dans le monde son impact sur la santé humaine est préoccupant. L'exposition chronique au mercure entraîne des troubles neurologiques progressifs aboutissant à une encéphalopathie, une neuropathie périphérique, troubles du comportement, des performances cognitives et une possible atteinte rénale.

Cependant, l'anis vert est l'une des plus anciennes épices utilisées depuis l'antiquité. *Pimpinella anisum* L. possède les propriétés biologiques différentes à savoir : antimicrobienne, antifongique, antiviral, antioxydant et analgésique.

Après l'intoxication par 100 mg/l de chlorure de mercure dans l'eau de boisson des rats femelles durant la période de gestation et de lactation, nous avons enregistré chez les rats une diminution du poids corporel et cérébral, qui reflète la neurotoxicité du mercure. De plus, l'exposition à ce métal a pu modifier le comportement des rats en induisant une hypoactivité locomotrice observée dans le test de champ ouvert (Open Field Test) avec un état de dépression et d'anxiété enregistré lors de l'épreuve de la nage forcée et dark and light test (Forced Swimming Test, Dark and Light Test) et un déficit d'apprentissage (test de la piscine de Morris) en comparaison avec le groupe témoin.

Concernant les paramètres biochimiques, nous avons constaté que le mercure a provoqué une hypoglycémie avec une élévation des concentrations sériques de l'urée, créatinine, TGO et TGP.

Sur le plan hématologique, nous avons enregistré une réduction importante de l'hématocrite, des plaquettes et des globules rouges, par contre une augmentation de l'hémoglobine et leucocytes chez les animaux du lot exposé à l'Hg par rapport à ceux des animaux du lot témoin.

Ces données ont été renforcées par le dosage de la mercurémie dont nous avons trouvé que la concentration la plus élevée a été enregistrée chez le groupe intoxiqué ce qui confirme le passage de cet élément des femelles aux rats soit en traversant la barrière placentaire et son passage dans le lait maternel.

Le traitement oral par l'EAP, pendant 15 jours a permis d'atténuer l'anxiété, dépression, l'hypoactivité et a renforcé les capacités d'apprentissage enregistrées au cours des tests de comportements. De plus, l'anis a eu un effet hyperglycémiant et à diminuer les biomarqueurs hépatique et rénal et elle a augmenté les paramètres hématologiques.

Le traitement préventif par *Pimpinella anisum* L, a pu avoir un effet chélateur en diminuant la concentration de mercure au niveau sanguin et cérébral.

A travers notre étude, nous pouvons conclure que l'extrait aqueux de l'anis, peut avoir un effet préventif sur l'intoxication par le mercure tout en améliorant certains paramètres biochimiques, hématologiques et neurocomportementaux.

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

- l'évaluation du statut oxydatif suite a une exposition subchronique au mercure par l'extrait ou huile essentielle de l'anis.
- Description de l'architecture cellulaire des différents organes cible du mercure à travers une étude de histopathologique.
- Estimation du pouvoir thérapeutique de cette plante et cela après intoxication ce métal.

A

Agarwal, R., & Behari, J. R. (2007). Effect of selenium pretreatment in chronic mercury intoxication in rats. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 79(3), 306-310

Al Mofleh, I. A., Alhaider, A. A., Mossa, J. S., Al-Soohaibani, M. O., & Rafatullah, S. (2007). Aqueous suspension of anise "Pimpinella anisum" protects rats against chemically induced gastric ulcers. *World journal of gastroenterology: WJG*, 13(7), 1112.

Al-Shammari, K. I. A., Batkowska, J., & Gryzińska, M. M. (2017). Effect of Various Concentrations of an Anise Seed Powder (*Pimpinella Anisum* L.) Supplement on Selected Hematological and Biochemical Parameters of Broiler Chickens. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 19(1), 41-46.

B

Bahi, A. L'effet protecteur des antioxydants naturels dans l'intoxication du mercure chez le rat Albinos Wistar.(2015)

Bardeau F. les huiles essentielles, Lanore, (2009) 330 pages.

Bekara, A., Hamadouche, N. A., Kahloula, K., Harouat, S., & Tabbas, D. (2015). Effect of *Pimpinella anisum* L (Aniseed) Aqueous Extract against Lead (Pb) Neurotoxicity: Neurobehavioral Study. *International Journal of Neuroscience and Behavioral Science*, 3(3), 32-40.

Bekara, A., Hamadouche, N. A., Kahloula, K., Sadi, N., & Abd-el-Kader, A. (2016). Etude phytochimique et activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. *ALGERIAN JOURNAL OF NATURAL PRODUCTS*, 4(2), 299-307.

Bensefa-Colas, L., Andujar, P., & Descatha, A. (2011). Intoxication par le mercure. *La Revue de médecine interne*, 32(7), 416-424.

Bioslève, J.B. (2010). Les métaux toxiques. Synthèse journalistique. 1-10.

Bose-O'Reilly, S., McCarty, K. M., Steckling, N., & Lettmeier, B. (2010). Mercury exposure and children's health. *Current problems in pediatric and adolescent health care*, 40(8), 186-215.

Boskabady, M. H., & Ramazani-Assari, M. (2005). Possible mechanism for the relaxant effect of *Pimpinella anisum*. on guinea pig tracheal chains. *Pharmaceutical biology*, 42(8), 621-625.

Boskabady, M. H., Shirmohammadi, B., Jandaghi, P., & Kiani, S. (2004). Possible mechanism (s) for relaxant effect of aqueous and macerated extracts from *Nigella sativa* on tracheal chains of guinea pig. *BMC pharmacology*, 4(1), 3.

BrigitteSpeck ,Ursula & Christian Fotsch,(2008). *Connaissance des herbes*, EGK-Caisse de Santé.

Bruneton Jean. *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants* (2e ed. - retirage broch) Lavoisier, 1 juil. 2008 – 1136 pages.

C

Carrière, J. (2007). *Intoxication au mercure par injection intraveineuse volontaire (à propos d'un cas)* (Doctoral dissertation).

Charles DJ .(2013).*Antioxidant properties spices, herbal and other sources*, Springer (New York).589 pages.

Chehimi, L., Roy, V., Jeljeli, M., & Sakly, M. (2012). Chronic exposure to mercuric chloride during gestation affects sensorimotor development and later behaviour in rats. *Behavioural brain research*, 234(1), 43-50.

Clarkson, T. W. (2002). The three modern faces of mercury. *Environmental health perspectives*, 110(Suppl 1), 11.

Clarkson, T. W., Vyas, J. B., & Ballatori, N. (2007). Mechanisms of mercury disposition in the body. *American Journal of Industrial Medicine*, 50(10), 757-764.

Cordier, S. (2003). Retentissement néonatal d'une alimentation maternelle riche en mercure (poisson) pendant la grossesse. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 16(5), 234-239.

D

Degryse, A. C., Delpla, I., & Voinier, M. A. (2008). *Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles*. Rapport de stage en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur du génie sanitaire. Delachaux et Niestlé, Paris, 2006 , 253 pp

Derat-Carrière, F. (2007). *Manger du poisson: repères diététiques et culinaires*. *Phytothérapie*, 5(1), 46-50.

E

Ekor M, Adesanoye OA, Farombi EO. (2010). N-acetylcysteine pretreatment ameliorates mercuric chloride-induced oxidative renal damage in rats. 39, 153-60.

El-Sayed, M. G. A., Elkomy, A., Samer, S., & ElBanna, A. H. (2015). Hepatoprotective effect of *Pimpinella anisum* and *Foeniculum vulgare* against carbon tetrachloride induced fibrosis in rats. *World J Pharm Pharm Sci*, 4(6), 77-88.

El-Sheikh, A. H., Al-Degs, Y. S., Al-As' ad, R. M., & Sweileh, J. A. (2011). Effect of oxidation and geometrical dimensions of carbon nanotubes on Hg (II) sorption and preconcentration from real waters. *Desalination*, 270(1-3), 214-220.

F

F. Baba Aissa. (2000). p 45. Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'orient et d'occident) », Edition EDAS-Librairie, Rouiba, Algérie.

Falcy, M., Jargot, D., La Rocca, B., Pillière, F. (2014). Mercure et composés minéraux - INRS.

Fillat, P. (2012). Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs. Doctoral paper university Joseph Fourier Grenoble, 139p.

FILLIAT, P. (2012). Use of Apiaceae in digestive disorders.

FYAD, K., CHERITI, A., BOURMITA, Y., & BELBOUKHARI, N. (2013). *PhytoChem & BioSub Journal*. PCBS Journal, 35.

G

Gamberini, M. T., Rodrigues, D. S., Rodrigues, D., & Pontes, V. B. (2015). Effects of the aqueous extract of *Pimpinella anisum* L. seeds on exploratory activity and emotional behavior in rats using the open field and elevated plus maze tests. *Journal of ethnopharmacology*, 168, 45-49.

Gamberini, M.T. (2015). Effects of the aqueous extract of *Pimpinella anisum* L. seeds on exploratory activity and emotional behavior in rats.... *Journal of Ethnopharmacology* (2015),

GHOUATI, Y., BELAICHE, T., OUHSSINE, M., AMECHROUQ, A., TAHIRI, A., & CHAKIR, S. (2012). Composition chimique et activité antibactérienne de L'huile essentielle de fruit d'anis vert Marocain. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 151(1-4), 25-34.

Girre, (2006). Les plantes et les médicaments : l'origine végétale de nos médicaments,

Delachaux et Niestlé, Paris, 253 pp.

Goullé, J. P., & Guerbet, M. (2016). Recensement des niveaux d'intoxications mortelles par l'arsenic, le chrome, le mercure, le plomb, le thallium. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 28(1), 16-27.

GROSMAN, M., & PICOT, A. (2007). Le mercure des amalgames dentaire l'un des principaux facteurs etiologiques de la maladie d'alzheimer.

H

Harper HA, Rodwell VW, Mayes A. *Review of Physiological Chemistry*, 16th edition, Lange, CA, 1979, 337.

Haufroid V, Hoet P, Lauwerys R, Lison D. (2007). Mercure. In : *Toxicologie industrielle et intoxication professionnelle*. Paris : Elsevier Masson. p. 309-63

Houkpatin, A. S. Y., Edoth, P. A., Guédénon, P., Alimba, C. G., Ogunkanmi, A., Dougnon, T. V., ... & Ouazzani, N. (2013). Haematological evaluation of Wistar rats exposed to chronic doses of cadmium, mercury and combined cadmium and mercury. *African Journal of Biotechnology*, 12(23).

Hua MS, Huang CC, Yang YJ. (1996). Chronic elemental mercury intoxication: neuropsychological follow-up case study. *Brain Inj.* May;10(5):377-84

I

INERIS (Institut National d'Environnement industriel et de risques). (2010). Données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Mercure et ses dérivés, France.

K

Kadan, Sleman, Mahmoud Rayan, and Anwar Rayan. (2013). "Anticancer activity of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extract." *The open nutraceuticals Journal* 6.1 .

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

Kahloula, K., Slimani, M., Adli, D. E., Rachdi, S., & Boumediene, D. (2013). Neuro beneficial effects of *Pimpinella anisum* against lead exposure. *International journal of green pharmacy*, 7(1), 18.

Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2013). *La connaissance des huiles essentielles: qualittologie et aromathérapie: Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée*. Springer Science & Business Media.

Karimzadeh, F., Hosseini, M., Mangeng, D., Alavi, H., Hassanzadeh, G. R., Bayat, M., ... & Gorji, A. (2012). Anticonvulsant and neuroprotective effects of *Pimpinella anisum* in rat brain. *BMC complementary and alternative medicine*, 12(1), 76.

Karmakar R, Bhattacharya R, Chatterjee M. (2000) Biochemical, haematological and histopathological study in relation to time-related cadmiuminduced hepatotoxicity in mice. *Biomet.* 13, 231-239.

Kdam, R. M. G., Gabra, N. M., & Eltayb, A. A. (2017). Identification of Anise Seed Oils and their Antimicrobial and Antioxidant Activities.

Kosalec, I., Pepeljnjak, S., & Kuštrak, D. (2005). Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae). *Acta Pharmaceutica*, 55(4), 377-385.

Kraft K., Hobbs C. (2004) *Pocket Guide to Herbal Medicine*. Thieme, Stuttgart, New York. p16.

L

Lauwerys, R. R. (2007). *Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles 4è édition* Masson.

Langford N, Ferner R J *Hum Hypertens.*(1999). Toxicity of mercury. Oct;13(10):651-6.

M

Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques*.

Mahmood, M. S., Ahmad, M. F., Hussain, I., Abbas, R. Z., Khan, A., & Rafiq, A. (2014). Growth promoting effect of *Pimpinella anisum* (Aniseed) in broiler chickens. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 13(3).

Masood, S. A., Dani, S. S., Burns, N. D., & Backhouse, C. J. (2006). Transformational leadership and organizational culture: the situational strength perspective. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part B: Journal of Engineering Manufacture*, 220(6), 941-949.

Mello-Carpes, P. B., Barros, W., Borges, S., Alves, N., Rizzetti, D., Pecanha, F. M., ... & Izquierdo, I. (2013). Chronic exposure to low mercury chloride concentration induces object recognition and aversive memories deficits in rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 31(7), 468-472.

Menichini, F., Tundis, R., Loizzo, M. R., Bonesi, M., Marrelli, M., Statti, G. A., ... & Conforti, F. (2009). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibition of ethanolic

extract and monoterpenes from *Pimpinella anisoides* V Brig.(Apiaceae). *Fitoterapia*, 80(5), 297-300.

Morais, S. S. D. (2006). Les effets neurotoxiques de l'exposition au mercure en Amazonie brésilienne.

Moumen, Y.. (2017). Impact sur le métabolisme des minéraux, le système immunitaire et reproducteur (Doctoral dissertation, Université de Constantine 1).

N

N. E. H. BOUKRI. (2014). "Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout," université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie.

Nogueira, C. W., Soares, F. A., Nascimento, P. C., Muller, D., & Rocha, J. B. T. (2003). 2, 3-Dimercaptopropane-1-sulfonic acid and meso-2, 3-dimercaptosuccinic acid increase mercury- and cadmium-induced inhibition of δ -aminolevulinatase dehydratase. *Toxicology*, 184(2-3), 85-95.

O

Obaid, A. J. (2017) Chemical Composition and Bioactivity Characteristics of *Pimpinella Anisum* Essential Oil Against *Trichophyton rubrum*. *Journal of Global Pharma Technology*, 9 (8).

O'Carroll RE, Masterton G, Dougall N, Ebmeier KP (1995) The neuropsychiatric sequelae of mercury poisoning. The Mad Hatter's disease revisited. *Goodwin GM Br J Psychiatry*. Jul;167(1):95-8

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

P

Peixoto, NC., Pereira, ME.(2007). Effectiveness of ZnCl₂ in protecting against nephrotoxicity induced by HgCl₂ in newborn rats. *Ecotoxicology and environmental safety*, 66(3). 441-446

Peter Kr. Handbook of herbs and spice, wood head publishing limited, (2001) 325 pages.

PNUE (Programme des Nations Unies pour l'Environnement). (2002). L'évaluation mondiale du mercure.

Protective effect of combined therapy with dithiothreitol, zinc and selenium protects acute mercury induced oxidative injury in rats. *J Trace Elem Med Biol.* 27(3), 249-56.

R

Rao, Mandava V., Purohit, Anshita R. (2011). Neuroprotection by melatonin on mercury induced toxicity in the rat brain. *Pharmacology & Pharmacy.* 2(2). 375

Références

Reiter M, Brandt W, (1985): Relaxant effects on tracheal and ileal smooth muscles of the guinea-pig. *Drug Res* 35: 408–414.

S

Shojaii, A., & Abdollahi Fard, M. (2012). Review of pharmacological properties and chemical constituents of *Pimpinella anisum*. *ISRN pharmaceutics*, 2012.

Simbar, M., Shadipour, M., Salamzadeh, J., Ramezani-Tehrani, F., & Nasiri, N. (2015). The combination of “*Pimpinella anisum*, *Apium graveolens* and *Crocus sativus* (PAC)” is more effective than “mefenamic acid” on postpartum after-pain. *Journal of herbal medicine*, 5(1), 20-25.

Simbar1 M, Salamzadeh3 J, Ramezani-Tehrani F, Nasiri N .(2015). The combination of “*Pimpinella Anisum*, *Apium Graveolens* and *Crocus Sativus* (PAC)” is more effective than “Mefenamic acid” on postpartum after-pain, *Journal of Herbal Medicine*, P

Soleo L, Urbano ML, Petrera V, Ambrosi L *Br J Ind Med.*(1990).Effects of low exposure to inorganic mercury on psychological performance. *Feb*;47(2):105-9

T

Tepe, A. S., & Tepe, B. (2015). Traditional use, biological activity potential and toxicity of *Pimpinella* species. *Industrial Crops and Products*, 69, 153-166.

Teuscher E., Anton R., Lobstein A. (2005). *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*, Tec & Doc, Paris, 522 pp.

Thézan, J.M et Klusiewicz, P. *Reconnaissance BP*. Édition : Wlters Kluwer (France) . 2006, 212 pages.

V

Vanholder, R. C., M. M. Praet, P. A. Pattyn, I. R. Leusen, and N. H. Lameire. (1982). Dissociation of glomerular filtration and renal blood flow in HgCl₂-induced acute renal failure.

Vimy, M. J., Takahashi, Y., & Lorscheider, F. L. (1990). Maternal-fetal distribution of mercury (²⁰³Hg) released from dental amalgam fillings. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 258(4), R939-R945.

W

Wichtl M.,Anton R.(2003).Plantes thérapeutiques, 2e édition, Tec & Doc, Paris, 692 pp.