

EFFET HEPATO-PROTECTEUR D'EXTRAITS BRUTS DE POLYSACCHARIDES DE FEUILLES D'*Oudneya africana* R. Br. (BRASSICACEAE) SUR L'INFLAMMATION AIGUË INDUITE PAR L'ACETATE DE PLOMB CHEZ DES RATS *Wistar albino*

MEHELLOU Zineb^{1,3*}, YOUNBAI Asma^{1,3}, BOUAL Zakaria¹, GARDARIN Christine²,
PIERRE Guillaume², DELATTRE Cédric^{2,4}, MICHAUD Philippe², OULD EL HADJ Med Didi¹

⁽¹⁾Université de Ouargla, Laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi-Arides, 30000 Ouargla, Algérie

⁽²⁾Université Clermont Auvergne, CNRS, Clermont Auvergne INP, Institut Pascal, F-63000 Clermont-Ferrand, France

⁽³⁾Université d'El Oued, 39000 El-Oued, Algérie

⁽⁴⁾Institut Universitaire de France (IUF), 1 rue Descartes 75005 Paris, France

*E-mail: zinebmehellou@gmail.com

(Received 23 April 2022 - Accepted 17 June 2022)

Résumé.- Le présent travail est porté sur l'étude des polysaccharides issus des feuilles d'*Oudneya africana* R. Br. (Brassicaceae), une plante spontanée à caractère médicinal récoltée dans la région du M'Rara wilaya de El Oued (Sahara septentrional Est algérien). L'extraction des polysaccharides hydrosolubles (PHOA) a donné un rendement massique de 7.24%. La détermination de la composition de PHOA obtenu, par des dosages colorimétriques, indique des taux de 50.63±0.07% en oses totaux, de 47.95±0.002% en oses neutres et de 21.20±0.001% en protéines. L'analyse de la composition en monosaccharide par chromatographie échangeuse d'anions couplée à un détecteur ampérométrique pulsé (HPAEC-PAD) a constaté la présence de L-arabinose (11.4%), de D-galactose (13.3%), de D-glucose (19.7%), de D-mannose (46%), d'acide D-galacturonique (8.3%), et d'acide D-glucuronique (1%). L'étude de l'activité hépatoprotectrice de l'extrait est réalisée in vivo sur des rats mâles et femelles de souche *Wistar albino* par une intoxication orale à l'acétate de plomb. A une concentration de 100mg/kg, la fraction PHOA note une activité antioxydante par suppression significative de l'augmentation des taux de malonodialdéhyde (MDA) et de la diminution des taux de glutathion réduit (GSH) dans les tissus hépatique et rénal observées à la suite d'une exposition au plomb. L'analyse histopathologique des foies indique que PHOA a un effet hépatoprotecteur chez les rattes femelles tandis qu'ils notent une diminution de l'intensité de l'hépatotoxicité chez les mâles, ce qui les rend comme agent potentiel pour la prévention des atteintes hépatiques.

MOTS CLES: Polysaccharides hydrosolubles, *Oudneya africana* R. Br., effet hépatoprotecteur, acétate de plomb, *Wistar albino*.

HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF CRUDE LEAF POLYSACCHARIDE EXTRACTS OF *Oudneya africana* R. Br. (BRASSICACEAE) ON ACUTE INFLAMMATION INDUCED BY LEAD ACETATE IN *Wistar albino* RATS

Abstract.- This work focuses on the study of polysaccharides from the leaves of *Oudneya africana* R. Br. (Brassicaceae), a spontaneous plant with a medicinal character harvested in the region of M'Rara wilaya of El Oued (northern Algerian Sahara). The extraction of water-soluble polysaccharides (PHOA) gave a mass yield of 7.24%. The determination of the composition of PHOA obtained, by colorimetric assays, indicates levels of 50.63±0.07% in total sugars, 47.95±0.002% in neutral sugars and 21.20±0.001% in proteins. Analysis of the monosaccharide composition by high performance anion exchange chromatography coupled with a pulsed amperometric detector (HPAEC-PAD) found the presence of L-arabinose (11.4%), D-galactose (13.3%), D-glucose (19.7%), D-mannose (46%), D-galacturonic acid (8.3%), and D-glucuronic acid (1%). The study of the hepatoprotective activity of the extract is carried out in vivo on male and female rats of the *Wistar albino* strain by oral poisoning with lead acetate. At a concentration of 100mg/kg, the PHOA fraction shows antioxidant activity by significant

suppression of the increase in malondialdehyde (MDA) levels and the decrease in reduced glutathione (GSH) levels in liver and kidney tissues observed after exposure to lead. Histopathological analysis of the livers indicates that PHOA has a hepatoprotective effect in female rats while they note a decrease in the intensity of hepatotoxicity in males, which makes them a potential agent for the prevention of liver damage.

Key words: *Water-soluble polysaccharides, Oudneya africana R. Br., hepatoprotective effect, lead acetate, Wistar albino.*

Introduction

Le plomb est un polluant environnemental extrêmement nocif qui pose des problèmes de santé publique mondiale croissante. Il est absorbé principalement par le système respiratoire et digestif, mais il peut également être absorbé par la peau [1]. L'empoisonnement dû au plomb se produit par ingestion d'aliments, d'eau contaminées ou par ingestion accidentelle de sol contaminé, de poussière ou de peinture à base de plomb. La concentration non nocive du plomb dans le sang n'a pas de valeur seuil déterminée [2]. Il s'agit d'une substance toxique cumulative qui affecte plusieurs systèmes de l'organisme, notamment les systèmes neurologique, hématologique, gastro-intestinal, cardiovasculaire et rénal. L'exposition au plomb a causé 1.06 millions de décès en 2017 et plus de 24.4 millions de l'espérance de vie corrigée de l'incapacité [3]. En plus, il est pensé qu'une plombémie élevée, a causé un retard mental de plus de 0.6 million d'enfants dans le monde chaque année, et est récemment attribuée à environ 18% de la mortalité de toutes causes confondues aux États-Unis [4].

Cependant, de nombreuses études indiquent que les polysaccharides sont des composés naturels potentiels pour le traitement des lésions hépatiques [5]. QU *et al.* (2020) [6] ont signalé 66 types de polysaccharides provenant de 58 espèces végétales ayant montré un effet hépato-protecteur à travers le processus pathologique d'inflammation, d'apoptose et de stress oxydatif.

Oudneya africana R. Br. (Brassicaceae) est une plante halophyte commune au Sahara de l'Algérie, de la Tunisie et du Maroc qui se développe sur sols gypseux et rocheux du désert [7]; [8]. Les populations autochtones de ces localités l'utilisent pour traiter les maladies de la peau et les piqûres de scorpion [9]. Les feuilles et les graines de la plante en décoction ou en poudre, servent également pour le traitement de problèmes digestifs, de l'arthrite, de rhumes, de la grippe, de la fièvre [10] et du diabète [11].

Face à ce constat, le présent travail recherche à caractériser, puis à évaluer chez des rats *Wistar albino* le potentiel hépato-protecteur d'extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles de feuilles d'*O. africana*, d'intoxication induite par l'acétate du plomb.

1.- Matériel et méthodes

1.1.- Matériel et réactifs

Les feuilles d'*O. africana* sont récoltées en décembre 2019 dans la localité de M'Rara (5°41'29.92'' E, 33°28'36.62'' N) de la Wilaya d'El Oued (Algérie). L'échantillon est référencé dans l'herbier du laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides. Les animaux pour l'expérimentation, sont ramenés de l'animalerie du

Département de l'Institut Pasteur (Algérie), à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université d'El Oued (Algérie). L'acétate de plomb $Pb(C_2H_3O_2)_2$ et tous les autres produits chimiques utilisés pour la présente étude sont obtenus auprès de Sigma-Aldrich Corporation (St. Louis, Missouri, États-Unis).

1.2.- Extraction des polysaccharides

La poudre sèche des feuilles d'*O. africana* (62 g) est prétraitée par l'acétone à température ambiante pendant 3 heures [12] pour éliminer les composés de faible poids moléculaire, en particulier les polyphénols, les lipides et les pigments. Par la suite, le broyat est macéré dans l'eau distillée à 80°C pendant 3 heures avec un ratio 1:10 (p/v) [13] et la macération est répétée pour une deuxième fois [14]. Après une centrifugation à 3500 rpm pendant 10 min [15], les surnageants sont récupérés, mélangés et concentrés sous pression réduite par un rota-vapeur. Une précipitation par 4 volumes d'éthanol (95%) est effectuée [16] à 4°C pendant une nuit. Le précipité est re-dissous dans de l'eau distillée et re-précipité deux fois avec de l'éthanol pour éliminer la plupart des sels et d'autres composés solubles dans l'éthanol [17]. Après centrifugation, les culots obtenus sont lavés et déshydratés avec l'acétone puis séchés à une température ambiante [18]. Une poudre blanche et sèche est obtenue. C'est l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles nommé PHOA.

Le rendement de l'extraction des polysaccharides bruts est calculé selon JIA *et al.* (2020) [19] par la formule suivante:

$$\text{Rendement d'extraction} = \frac{\text{poids sec de PHOA (g)}}{\text{poids sec de la matière végétale initiale (g)}} \times 100$$

1.3.- Analyses colorimétriques

Un dessalage de l'extrait PHOA est réalisé en cellule amicon de 3kDa [20] pour passer à la quantification de la composition biochimique. Le dosage des oses totaux est effectué par la méthode au phénol-acide sulfurique [21] en utilisant le D-glucose comme standard. La teneur en oses neutres est déterminée par la méthode au résorcinol-acide sulfurique [22] en utilisant comme standard le D-glucose. La teneur en protéines est estimée par la méthode de LOWRY *et al.* (1951) [23] en utilisant le sérum albumine bovine comme standard.

1.4.- Analyse des monosaccharides constitutifs par HPAEC-PAD

L'analyse par chromatographie échangeuse d'anion à haute performance couplée à une détection ampérométrique pulsée est réalisée selon HENTATI *et al.* (2018) [24] avec quelques modifications. L'hydrolyse préalable est effectuée par l'acide trifluoroacétique (TFA) de 2 M, à 120°C pendant 90 min. L'hydrolysate est dissout dans de l'eau Milli-Q puis filtrés sur 0,22 µm avant injection. L'analyse des monosaccharides est réalisée en utilisant une pré-colonne CarboPac PA1 (Dionex 4 x 50 mm) et une colonne CarboPac PA1 (Dionex 4 x 250 mm). Pour l'analyse des oses neutres, l'élution des échantillons est en mode isocratique par une solution de NaOH décarbonatée à 16 mM pendant 20 min à un débit de 0,5 ml/min. Les oses acides sont élués par un gradient binaire à 0,5 ml/min, avec une solution d'hydroxyde de sodium à 100 mM et une solution d'acétate de sodium ($C_2H_3NaO_2$) de 1 M dans la première solution (NaOH 100 mM). L'étalonnage est effectué

avec des solutions de L-rhamnose, L-arabinose, D-glucose, D-xylose, D-mannose, D-galactose, acide D-glucuronique et acide D-galacturonique. Les injections (échantillon PHOA et standards) sont réalisées en triplicata et l'acquisition des données et leur traitement sont réalisés par le logiciel Chromeleon (version 6.8).

1.5.- Protocole expérimental *in vivo*

Le présent travail est réalisé sur des rats mâles et femelles de souche *W. albino*, avec un poids corporel entre 150-200g [25]. L'eau et une alimentation standard, composée d'amidon (32.6%), de saccharose (32.6%), de protéines (16.8%), de cellulose (4%), de minéraux (4%), de vitamines (2%) et d'huile (8%) [26], sont mises à volonté (*ad libitum*) pendant la durée de l'expérimentation [27]. Les rats sont maintenus à un cycle photopériodique de 12h/12h, à une température ambiante de $22 \pm 3^\circ\text{C}$ et à une humidité relative entre 50- 60% [28] pendant deux semaines d'adaptation.

Le protocole expérimental est réalisé selon DEROUICHE *et al.* (2018) [29] avec quelques modifications. Après une période d'adaptation, un total de trente [30] rats sont répartis en trois lots expérimentaux, dont un lot témoin A (10 rats), un lot contrôle positif B (10 rats) et un lot test C (10 rats). Chaque lot est constitué de rats mâles (5 mâles) et de rattes (5 femelles). Le lot témoin reçoit de l'eau et une alimentation standard. Le lot contrôle positif en plus d'une alimentation standard, il est ajouté à l'eau de boisson de l'acétate de plomb à raison de 100mg/kg de poids corporel par individu, durant trois jours. Pour les rats du lot test, les individus sont prétraités par l'extrait polysaccharidique PHOA solubilisé dans l'eau de boisson à 100mg/kg de poids corporel pendant 15 jours, puis sont intoxiqués par l'acétate de plomb à raison de 100mg/kg de poids corporel par individu, durant trois jours. A la fin de l'expérience et après 16 heures de jeûne, les individus subissent une anesthésie à l'aide du chloroforme (94%) par asphyxie puis sont sacrifiés par décapitation.

1.6.- Analyse hématologique

Le prélèvement sanguin s'effectue juste avant de sacrifier les rats. Les sangs sont transférés dans des tubes contenant l'anticoagulant Acide Éthylène Diamine Tétracétique (EDTA) et utilisés pour l'analyse hématologique préalablement étiquetés. Les paramètres analysés sont la formule de la numération sanguine (FNS) réalisée à l'aide d'un analyseur de cellules sanguines automatisé [30], le nombre total de globules blancs (GB), de lymphocytes (LYM), de granulocytes (GRN), de globules rouges (GR) et de plaquettes (PLT), en plus des taux d'hémoglobine (HB) et d'hématocrite (HTC).

1.7.- Analyse des paramètres du stress oxydant

1.7.1.- Préparation de tissu

Il est utilisé un gramme (1) de foie, et un gramme de rein de rats des différents lots étudiés. Après broyage et homogénéisation des tissus dans la solution tampon Tris-Buffered Saline (TBS) (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), une centrifugation de la suspension cellulaire est effectuée à 3000 rpm pendant 10 min. Le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorfs et conservés à -20°C pour les dosages des paramètres du stress oxydant [31].

1.7.2.- Dosage de peroxydation lipidique

Le niveau de peroxydation lipidique est évalué en mesurant le malondialdéhyde (MDA) avec le test TBARS (Thio-Barbituric Acid Reactive Species) selon la méthode de YAGI (1976) [32]. Il est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA). L'absorbance du complexe chromogène produit est mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 532 nm. La concentration de TBARS est déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Les résultats sont exprimés en $\mu\text{mol/mg}$ de tissu.

1.7.3.- Dosage de glutathion réduit

Le dosage du glutathion réduit est réalisé selon la méthode de WECKBECKER et CORY (1988) [33]. Il repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Une déprotéinisation de l'homogénat est effectuée par l'acide salicylique afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion. L'absorbance est lue à 412 nm et la concentration du GSH est exprimée en nmoles/mg de tissu.

1.8.- Analyse histopathologique du foie

Après dissection, une partie de foie de chaque individu des différents lots, est prélevée et conservée immédiatement dans une solution de formaldéhyde à 10% pendant 48h suivi d'une déshydratation avec des niveaux croissants d'alcool [27]. Les échantillons de tissus sont inclus dans du paraffine et des sections de 5 μm sont coupées à l'aide d'un microtome rotatif. Les échantillons sont ensuite colorés avec de l'hématoxyline et de l'éosine pour un examen microscopique [30].

1.9.- Analyses statistiques

L'exploitation des résultats il est fait appel au logiciel XLSTAT [34] (Version 2016.02.28451, Addinosoft, Paris, France), le test d'ANOVA suivi de Tukey (HSD) effectué pour indiquer les différences statistiquement significatives à $P \leq 0.05$ [35]. Le coefficient de corrélation de Pearson est également calculé [36] pour noter les relations entre les nombres des cellules sanguines et les taux des paramètres du stress oxydant des différents lots étudiés.

2.- Résultats et discussion

2.1.- Rendement et caractérisation partielle de PHOA

L'extraction des polysaccharides hydrosolubles des feuilles séchées d'*O. africana* a permis d'obtenir la fraction brute PHOA avec un rendement de 7.24% par rapport à la matière sèche. Après dessalage, l'extrait polysaccharidique note un taux de 56% de sels. Les dosages colorimétriques indiquent que les oses totaux sont les composants majeurs de l'extrait polysaccharidique dessalé avec une teneur de $50.63 \pm 0.07\%$ (tab. I).

Tableau I.- Composition biochimique de PHOA

	Oses totaux	Oses neutres	Protéines
Quantité (%)	50.63 ± 0.07	47.95 ± 0.002	21.20 ± 0.001

L'analyse des temps de rétention et des aires des pics observés sur le chromatogramme de la fraction isolée indique une composition hétéro-osidique de 25.96 mg/g d'échantillon (fig. 1).

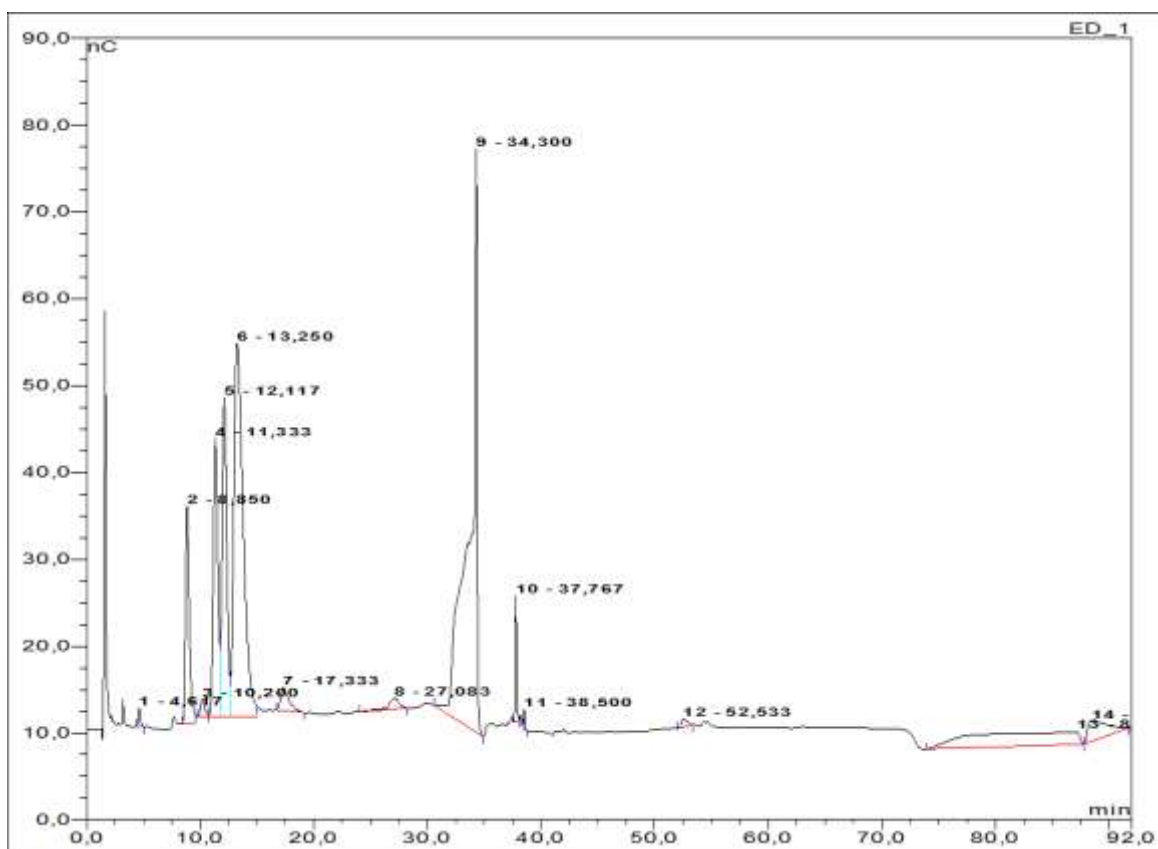


Figure 1.- Chromatogramme de PHOA par HPAEC-PAD

Au vu des résultats du tableau II, les unités monosaccharidiques constatées, sont le L-arabinose (11.4%), le D-galactose (13.3%), le D-glucose (19.7%), le D-mannose (46%), l'acide D-galacturonique (8.3%), et l'acide D-glucuronique (1%), dont le D-mannose est le monosaccharide majeur. Au vu des ratios notés, la fraction PHOA semble être un hétéropolysaccharide hémicellulosique de type galactoglucomananne.

Tableau II.- Temps de rétention, aires des pics et quantités des unités monosaccharidiques constitutifs de PHOA

Oses	Ara	Gal	Glc	Man	Gal A	Glc A
Temps de rétention (min)	11.33	12.11	13.25	34.30	37.76	38.50
Aires des pics	9.99	14.76	17.84	41.22	2.46	0.36
Quantité (%)	11.4	13.3	19.7	46	8.3	1

Après une revue de la littérature de plusieurs études réalisées sur les polysaccharides de quelques espèces de la famille des Brassicaceae, il est remarqué que *Lepidium meyenii* est l'espèce la plus étudiée [15,37-41]. WANG *et al.* (2018) [42] et GUO *et al.* (2020) [14] signalent des rendements des extraits polysaccharides issus de racines de *L. meyenii* de 6.32% et de 7%. CAICAI *et al.* (2017) [43] rapportent un rendement de 4.6% pour des polysaccharides isolés des feuilles de *L. meyenii*. Ces rendements sont inférieurs à

celle obtenu dans la présente étude soit 7.24%. Toutefois, des rendements supérieurs en polysaccharides sont notés pour des racines de *Brassica rapa*, soit 21.48% [44]. Le rendement de polysaccharides est influencé par le temps d'extraction, le rapport liquide/solide et la température d'extraction [45]. Par ailleurs, le taux élevé en sels dans l'extrait PHOA obtenu peut être expliqué par le caractère halophile de la plante.

Les polysaccharides de *L. meyenii* sont de type hétéropolysaccharide, généralement constitué d'arabinose, de glucose, de galactose et de mannose avec différents ratios molaires des composants monomériques [52]. Dans la fraction isolée PHOA, le mannose (46%) est le monosaccharide majeur. SUN *et al.* (2018) [37] notent également le mannose comme monomère majeur pour 3 polysaccharides isolés de 3 phénotypes de *L. meyenii*. Les différentes compositions de monosaccharides sont peut-être dues aux différences entre les matières premières, les méthodes d'extraction, d'hydrolyse et de détection [52].

2.2.- Activités biologiques *in vivo* de PHOA

2.2.1.- Effet sur les paramètres hématologiques

L'intoxication par l'acétate de plomb a modifié les paramètres hématologiques testés. Il est remarqué une augmentation très significative du nombre total des globules blanc (GB) et de lymphocytes (LYM) avec respectivement $11.760 \pm 0.263 \times 10^9/l$ et $7.310 \pm 0.436 \times 10^9/l$ chez les rats mâles, $6.975 \pm 0.899 \times 10^9/l$ et $2.425 \pm 0.386 \times 10^9/l$ chez les femelles. Les modifications observées chez les autres paramètres, à savoir les nombres de granulocytes, de globules rouges et de plaquettes, en plus des taux d'hémoglobine et d'hématocrite, ne présentent aucune signification de différence avec le lot témoin ($p > 0.05$) (tab. III).

La fraction PHOA a un effet préventif contre l'augmentation du nombre de GB et de LYM chez les femelles tandis qu'elle les diminue chez les mâles. Des diminutions, majoritairement significatives, sont remarquées pour le nombre total des globules rouges (GR) et les taux d'hémoglobine (HB), d'hématocrite (HT) et de plaquettes (PLT) chez les rats mâles et femelles prétraité par PHOA. Un niveau de signification à $P \leq 0.01$ est observé pour une diminution du nombre total des GR, par rapport au lot témoin et au lot contrôle, avec $8.208 \pm 0.157 \times 10^{12}/l$ et $7.105 \pm 0.287 \times 10^{12}/l$ chez les rats mâles et femelles respectivement (tab. III).

GADE *et al.* (2021) [53] signalent que les mâles chez les rongeurs présentent des niveaux internes de Pb plus élevés que les femelles, même dans des études expérimentales où ils sont dosés avec des quantités égales en Pb. De plus, même lorsque les femelles reçoivent des doses plus élevées de Pb pour obtenir une charge interne de Pb similaire à celle des mâles, elles peuvent rester non affectées tandis que les mâles présentent des déficits comportementaux aux mêmes doses, confirmant que les mâles ont une sensibilité accrue aux concentrations de Pb qui n'est pas le résultat de leur exposition interne accrue au Pb. Pour BEHL *et al.* [54], les facteurs dépendants du sexe jouent un rôle crucial dans la progression et la susceptibilité à diverses maladies. La présence d'androgènes chez l'homme et d'œstrogènes chez la femme modifie de nombreuses caractéristiques du système immunitaire. Les femelles ont tendance à présenter des réponses immunitaires plus élevées en raison d'un nombre plus élevé de cellules T CD4⁺ et d'immunoglobulines (Ig) circulantes. Toutefois pour AUSTAD et FISCHER (2016) [55], les femelles semblent

avoir un léger avantage de survie dans plusieurs génotypes de rats dans diverses conditions.

Tableau III.- Effets de PHOA sur les paramètres hématologiques testés chez les rats *Wistar albino*

Paramètres	Témoïn (A)		Contrôle positif (B)		Test au PHOA (C)	
	Mâles (A _m)	Femelles (A _f)	Mâles (B _m)	Femelles (B _f)	Mâles (C _m)	Femelles (C _f)
Globules blancs ($\times 10^9/l$)	8.175 ± 0.750	4.925 ± 0.754	11.760 $\pm 0.263^{(a^{***})}$	6.975 $\pm 0.899^{(a^{**})}$	6.250 $\pm 1.312^{(a^*, b^{**})}$	5.850 $\pm 0.208^{(a:NS, b:NS)}$
Lymphocytes ($\times 10^9/l$)	5.217 ± 0.320	1.125 ± 0.561	7.310 $\pm 0.436^{(a^{***})}$	2.425 $\pm 0.386^{(a^{**})}$	3.800 $\pm 0.730^{(a^*, b^{***})}$	2.000 $\pm 0.182^{(a^*, b:NS)}$
Granulocytes ($\times 10^9/l$)	2.148 ± 0.383	1.900 ± 0.496	2.773 $\pm 0.129^{(a:NS)}$	2.175 $\pm 0.250^{(a:NS)}$	2.025 $\pm 0.499^{(a:NS, b:NS)}$	1.175 $\pm 0.309^{(a:NS, b^*)}$
Globules rouges ($\times 10^{12}/l$)	9.568 ± 0.181	7.765 ± 0.240	10.995 $\pm 0.746^{(a:NS)}$	7.813 $\pm 0.093^{(a:NS)}$	8.208 $\pm 0.157^{(a^*, b^{**})}$	7.105 $\pm 0.287^{(a^*, b^{**})}$
Hémoglobine (g/dl)	16.35 ± 0.88	14.45 ± 0.33	15.4 $\pm 0.40^{(a:NS)}$	14.82 $\pm 0.22^{(a:NS)}$	14.6 $\pm 0.29^{(a^*, b:NS)}$	13.82 $\pm 0.35^{(a^*, b^{**})}$
Hématocrite (%)	44.2 ± 2.23	39.8 ± 0.95	41.65 $\pm 1.50^{(a:NS)}$	40.45 $\pm 1.06^{(a:NS)}$	37.775 $\pm 0.79^{(a^*, b^*)}$	39.7 $\pm 0.55^{(a:NS, b:NS)}$
Plaquettes ($\times 10^9/l$)	928.500 ± 65.891	713.750 ± 17.346	1065.500 $\pm 112.435^{(a:NS)}$	709.000 $\pm 54.030^{(a:NS)}$	547.000 $\pm 32.197^{(a^*, b^{***})}$	630.250 $\pm 27.572^{(a^*, b^*)}$

Les niveaux de différences sont considérés comme non significatif (NS), significatifs (*), très significatifs (***) et très hautement significatifs (**) par rapport au lot témoin (A) et au lot contrôle positif (B)

Le plomb dans le corps est distribué au cerveau, au foie, aux reins et aux os. Il est stocké dans les dents et les os, où il s'accumule avec le temps [3]. Ainsi, les troubles sanguins ont une incidence élevée sur la toxicité du plomb [2]. IBRAHIM *et al.* (2012) [56] signalent une augmentation de manière significative du nombre des globules blancs (5.99 ± 0.30 à $6.00 \pm 0.41 \times 10^3$ pour 1/40 DL₅₀) et une diminution du nombre des globules rouges (6.18 ± 0.40 à $5.02 \pm 0.30 \times 10^{12}$ pour 1/40 DL₅₀) et du taux d'hémoglobine (15.00 ± 1.01 à 12.17 ± 0.67 g/dl pour 1/40 DL₅₀) chez les rats mâles de souche *Rattus norvegicus* intoxiqués par voie orale à l'acétate de plomb. Environ 33% du plomb absorbé dans les tissus mous s'accumule dans le foie, les reins et le cerveau. L'augmentation du nombre total de globules blancs et l'expression des lymphocytes, corrélée avec la concentration de plomb dans le sang et l'urine, a détérioré les fonctions hépatiques et rénales [1].

2.2.2.- Effets sur les paramètres du stress oxydant

Le prétraitement par PHOA a empêché de manière significative l'augmentation des niveaux de MDA hépatique et rénal chez les deux sexes (fig. 3a,b). De même, il est remarqué que la fraction PHOA empêche significativement la diminution du niveau de GSH rénal chez les rattes femelles (fig. 4a,b), tandis qu'elle ne présente pas de différences

significatives pour les niveaux de GSH hépatiques pour les deux sexes et le taux de GSH rénal chez les rats mâles.

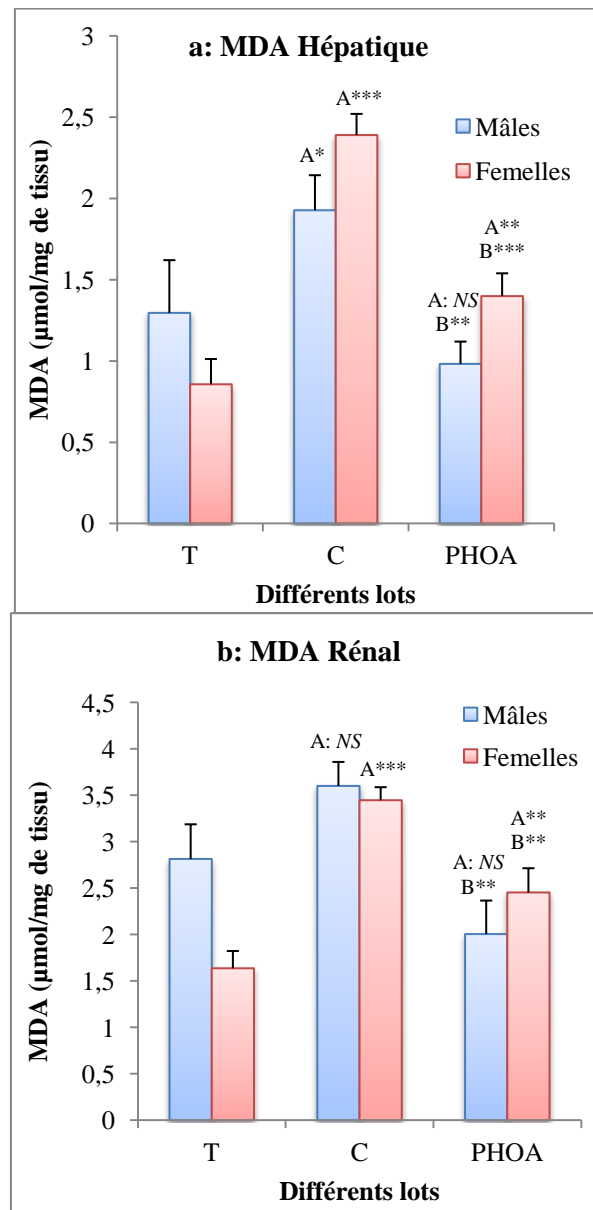


Figure 3a,b.- Effets de PHOA sur les taux de MDA hépatique et rénal chez les rats *W. albino*. Les niveaux de différences sont considérés comme non significatif (NS), significatifs (*), très significatifs (**) et très hautement significatifs (***) par rapport au lot témoin (A) et au lot contrôle positif (B)

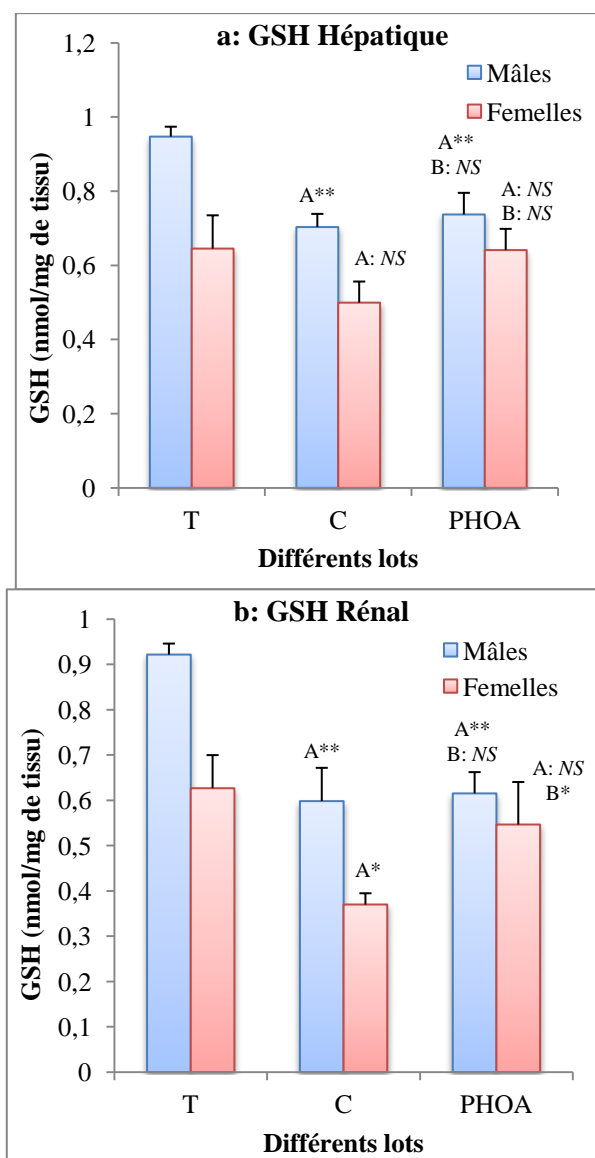


Figure 4a,b.- Effets de PHOA sur les taux de GSH hépatique et rénal chez les rats *W. albino*
 Les niveaux de différences sont considérés comme non significatif (NS), significatifs (*), très significatifs (**) et très hautement significatifs (***) par rapport au lot témoin (A) et au lot contrôle positif (B)

L'étude des relations probablement existantes entre les paramètres évalués par le test de la corrélation de Pearson indique que les niveaux de MDA chez les rats mâles présentent une forte corrélation positive avec le nombre de globules blancs, de lymphocytes, de globules rouges et de plaquettes se situant entre 83 et 90% (tab. IV). Les niveaux de GSH chez les rats mâles notent une corrélation positive (70 à 78%) avec les taux d'hémoglobine et d'hématocrite. Chez les rates femelles, il est remarqué une corrélation positive entre le nombre des lymphocytes et les niveaux de MDA hépatique et rénal, soit 75% et 69% respectivement. Par ailleurs, à l'exception du taux d'hématocrite, il est constaté une corrélation négative des paramètres hématologiques chez les femelles avec les niveaux de GSH testés (57% à 74%).

Tableau IV.- Corrélation de Pearson entre les paramètres testés chez les rats mâles et femelles

Variables	MDA-Foie		MDA-Rein		GSH-Foie		GSH-Rein	
	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle
GB	0.900	0.317	0.751	0.520	0.074	0.214	0.200	-0.577
LYM	0.896	0.755	0.729	0.691	0.068	-0.027	0.196	-0.632
GRN	0.778	0.378	0.651	0.118	-0.209	-0.655	-0.044	-0.218
GR	0.831	0.032	0.790	-0.198	0.192	-0.744	0.364	-0.224
HB	0.252	0.291	0.292	0.147	0.708	-0.695	0.785	-0.346
HT	0.420	0.031	0.408	0.258	0.735	-0.373	0.780	-0.240
PT	0.835	-0.091	0.644	-0.279	0.414	-0.683	0.438	-0.329

Le foie est un organe métabolique principal qui joue un rôle dans la désoxydation, le stockage du glycogène hépatique et la synthèse des protéines sécrétoires. Il peut être facilement endommagé par le stress oxydatif [6]. L'exposition des rats à l'acétate de plomb entraîne une diminution des niveaux de glutathion réduit (GSH) indiquant qu'elle affecte le système de défense antioxydant intracellulaire. Des concentrations accrues de malondialdéhyde (MDA), un marqueur du stress oxydatif de la peroxydation lipidique, sont également observées. SAKA *et al.* (2011) [57] et RAHMAN et SULTANA (2006) [25] rapportent chez des rats mâles et femelles de souche *Wistar albino* respectivement qu'une intoxication par l'acétate de plomb à 100mg/kg de poids corporel a diminué significativement les niveaux de GSH hépatique et rénal, et a augmenté significativement les niveaux de MDA hépatique. AQEEL *et al.* (2021) [27] notent une augmentation significative des niveaux de MDA rénal à la suite d'une intoxication par l'acétate de plomb à 20mg/kg de poids corporel sous injection intrapéritonéale pendant 5 jours chez les rats mâles *Wistar albino*. Une augmentation significative des niveaux de MDA hépatique à la suite d'une intoxication par l'acétate de plomb à 0.6% dans l'eau de boisson pendant 15 jours chez les rats mâles *Wistar albino*, est noté par GARGOURI *et al.* (2015) [58]. Le mécanisme ionique de la toxicité du plomb se produit par sa capacité à remplacer les cations divalents tels que les ions calcium, fer, magnésium et sodium monovalents; conduisant à une concurrence d'absorption dans le tractus gastro-intestinal vers les tissus cibles et par conséquent, perturber l'homéostasie cellulaire [35; 25].

2.2.3.- Observations histologiques

A partir des observations microscopiques des coupes histologiques des foies (fig. 5c,d), des constatations sur les effets de l'acétate de plomb notent des lésions hépatiques présentées par une dissociation tissulaire et la formation des vacuoles (V) entourés par un cumule leucocytaire (CL) et présentant une hémorragie (H). L'extrait brut polysaccharide hydrosoluble des feuilles d'*O. africana*, ont prévenu les lésions tissulaires hépatiques induites par l'intoxication à l'acétate de plomb chez les rattes femelles (fig. 5f). Cependant, chez les rats mâles, il diminue seulement l'intensité des effets toxiques tissulaires (fig. 5e).

DEROUICHE *et al.* (2017) [31], signalent des dommages tissulaires hépatiques chez des rats femelles *Wistar albino* induits par l'acétate de plomb à 100mg/kg de poids corporelle par voie orale pendant 15 jours, à savoir nécrose, hémorragie et inflammation. La toxicité du plomb sur le foie entraîne des lésions nécro-inflammatoires hépatiques et des anomalies des hépatocytes [1]. ZHANG *et al.* (2017) [40] notent qu'un polysaccharide issu de *L. meyenii* (Brassicaceae) à un effet hépatoprotecteur par réduction d'inflammation tissulaire contre les atteintes hépatiques induites par l'alcool. Les mécanismes d'action

possibles par lesquels les polysaccharides exercent leur activité hépato-protectrice sont principalement divisés dans trois directions, à savoir l'inhibition de la viabilité des cellules de carcinome hépatocellulaire en activant directement les protéines de l'apoptose, l'amélioration de l'indice hépatique et sérique par des voies de réponse au stress oxydatif et l'équilibre de la réponse inflammatoire en régulant les populations de cellules immunitaires et les niveaux de cytokines via de multiples voies inflammatoires [5]. La relation structure-activité hépato-protectrice des polysaccharides de plantes est principalement associée à la composition en monosaccharides. Généralement, les polysaccharides présentent de meilleures activités hépato-protectrices avec des compositions en monosaccharides plus complexes et avec un contenu plus élevé en acides uroniques [6].

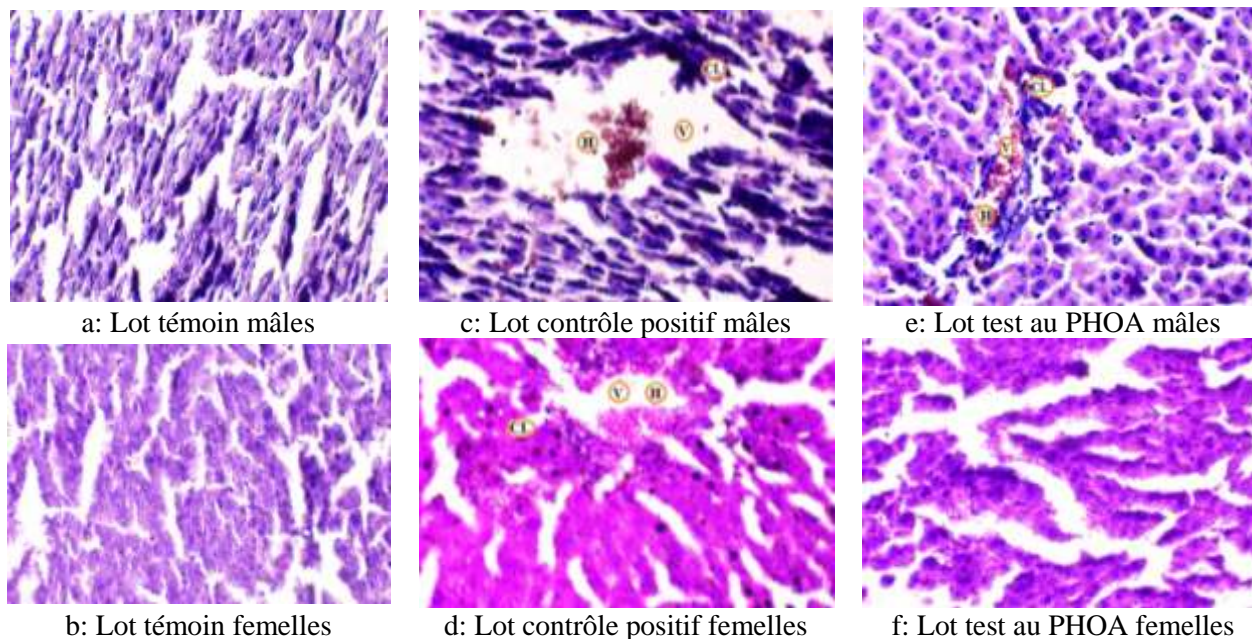


Figure 5.- Observations histopathologiques des foies des différents lots des rats *W. albino*
V: vacuole, H: hémorragie, CL: cumule leucocytaire

Conclusion

L'étude des polysaccharides issus d'*O. africana* a indiqué une hétérogénéité monomérique des oses constitutifs de l'extrait obtenu avec une présence majeure du mannose. L'activité réalisée *in vivo* note que les polysaccharides isolés ont une activité antioxydante par suppression de l'augmentation du produit de peroxydation lipidique (MDA) et de la diminution des taux de glutathion réduit (GSH) dans les tissus hépatique et rénal observées en raison de l'exposition au plomb. Ils préviennent au niveau hépatique les lésions tissulaires et l'inflammation induites par l'intoxication à l'acétate de plomb chez les rattes femelles, tandis qu'ils diminuent seulement l'intensité de ces effets toxiques tissulaires chez les rats mâles.

Références

- [1].- Boskabady M., Marefati N., Farkhondeh T., Shakeri F., Farshbaf A., and Boskabady M. H., 2018.- The effect of environmental lead exposure on human health and the contribution of inflammatory mechanisms, a review. *Environment International*, vol. 120: 404–420. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.08.013>

- [2].- Wani A. L., Ara A., and Usmani J. A., 2015.- Lead toxicity : a review. *Interdiscip. Toxicol.*, vol. 8(2): 55–64. <https://doi.org/10.1515/intox-2015-0009>
- [3].- World Health Organization, 2019.- Preventing Disease Through Healthy Environments, Exposure To Lead: A Major Public Health Concern. World Health Organization, Geneva. WHO/CED/PHE/EPE/19.4.7
- [4].- O'connor D., Hou D., Ye J., Zhang Y., Sik Y., Song Y., Coulon F., Peng T., Tian L., 2018.- Lead-based paint remains a major public health concern : A critical review of global production, trade, use, exposure, health risk, and implications. *Environment International*, vol. 121: 85–101. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.08.052>
- [5].- Yuan Y., Che L., Qi C., and Meng Z.; 2019.- Protective effects of polysaccharides on hepatic injury : A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 141: 822–830. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.002>
- [6].- Qu J., Huang P., Zhang L., Qiu Y., Qi H., Leng A., and Shang D., 2020.- Hepatoprotective effect of plant polysaccharides from natural resources : A review of the mechanisms and structure-activity relationship. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 161(9): 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.196>
- [7].- Quezel P. et Santa S., 1962-1963.- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS, Paris, vol. 1 et 2: 1170 p.
- [8].- Ozenda P., 1991.- Flore et végétation du Sahara (3ème édition mise à jour et augmentée). Ed. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, Pp. 250-278.
- [9].- Ould El Hadj M. D., Hadj-Mahammed M., et Zabeirou H., 2003.- Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara Septentrional Est). *Courrier du savoir*, vol. 3: 47-51.
- [10].- Nabti L. Z. and Belhatta R., 2016.- *In vitro* antioxidant activity of *Oudneya africana* R. Br. aerial parts. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, vol. 4: 58-64.
- [11].- Telli A., Esnault M. A. and Ould El Hadj Khelil A., 2016.- An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in south-eastern Algeria (Ouargla province). *Journal of Arid Environments*, vol. 127: 82-92. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.11.005>
- [12].- Tabarsa M., You S., Abedi M., Ahmadian N., LI, C., and Talapphet N., 2019.- The activation of RAW264.7 murine macrophage and natural killer cells by glucomannogalactan polysaccharides from *Tornabea scutellifera*. *Carbohydrate Polymers*, vol. 219: 368–377. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.044>
- [13].- Fang J., Wang Z., Wang P., and Wang M., 2020.- Extraction, structure and bioactivities of the polysaccharides from *Ginkgo biloba* : A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 162: 1897–1905. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.141>
- [14].- Guo T., Yang Y., Gao M., Qu Y., Guo X., Liu Y., Cui X., and Wang C. 2020.- *Lepidium meyenii* Walpers polysaccharide and its cationic derivative re-educate

- tumor-associated macrophages for synergistic tumor immunotherapy. *Carbohydrate Polymers*, vol. 250: 116904. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116904>
- [15].- Lee Y. K., Jung S. K., and Chang Y. H., 2020.- Rheological properties of a neutral polysaccharide extracted from maca (*Lepidium meyenii* Walp.) roots with prebiotic and anti-inflammatory activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 152: 757–765. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.307>
- [16].- Xia L., Zhu M., Lu Y., and Chen D.; 2019.- *Juniperus pingii* var. *wilsonii* acidic polysaccharide: extraction, characterization and anticomplement activity. *Carbohydrate Polymers*, 115728. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115728>
- [17].- He P., Li F., Huang L., Xue D., Liu W., and Xu C., 2016.- Chemical characterization and antioxidant activity of polysaccharide extract from spent mushroom substrate of *Pleurotus eryngii*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineer.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtice.2016.10.017>
- [18].- Tabarsa M., You S., Dabaghian E. H., and Surayot U., 2017- Water-soluble polysaccharides from *Ulva intestinalis*: Molecular properties, structural elucidation and immunomodulatory activities. *Journal of Food and Drug Analysis*, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.07.016>
- [19].- Jia Y., Gao X., Xue Z., Wang Y., Lu Y., Zhang M., Panichayupakaranant P., Chen, H., 2020- Characterization, antioxidant activities, and inhibition on α -glucosidase activity of corn silk polysaccharides obtained by different extraction methods. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 163: 1640–1648. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.068>
- [20].- Zhi F., Yang T., Wang Q., Jiang B., Wang Z., Zhang J., and Chen Y., 2019.- Isolation, structure and activity of a novel water-soluble polysaccharide from *Dioscorea opposita* Thunb. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 133: 1201–1209. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.087>
- [21].- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A. and Smith F., 1956.- Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, vol. 28: 350-356.
- [22].- Monsigny M., Claire P. and Roche A., 1988.- Calorimetric Determination of Neutral Sugars by Resorcinol Sulfuric Acid Micromethod. *Analytical Biochemistry*, vol. 175: 525-530.
- [23].- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr L. and Randall R. J., 1951.- Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, vol. 193: 265-275.
- [24].- Hentati F., Delattre C., Ursu A. V., Desbrieres J., Le Cerf D., Gardarin C., Abdelkafi S., Michaud P., and Pierre G., 2018.- Structural characterization and antioxidant activity of water-soluble polysaccharides from the Tunisian brown seaweed *Cystoseira compressa*. *Carbohydrate Polymers*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.098>
- [25].- Rahman S., and Sultana S., 2006- Chemopreventive activity of glycyrrhizin on lead acetate mediated hepatic oxidative stress and its hyperproliferative activity in Wistar

- rats. *Chemico-Biological Interaction*, vol. 160: 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.003>
- [26].- Southon S., Gee M. J., and Johnson I. T., 1984.- Hexose transport and mucosal morphology in the small intestine of the zinc-deficient rat. *British Journal of Nutrition*, vol. 52 (2): 371 – 380. <https://doi.org/10.1079/BJN19840103>
- [27].- Aqeel T., Gurumallu S. C., Bhaskar A., Hashimi S. M., Lohith N. M., and Javaraiah R., 2021.- Protective role of flaxseed lignan secoisolariciresinol diglucoside against lead-acetate-induced oxidative-stress-mediated nephrotoxicity in rats. *Phytomedicine Plus*, vol. 1(3): 100038. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100038>
- [28].- Ramu S., Anita M., Geetha N., and Jayaraman A., 2020.- Toxicological evaluation of *Sargassum Wightii greville* derived fucoidan in wistar rats: Haematological, biochemical and histopathological evidences. *Toxicology Reports*, vol. 7: 874–882. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.07.009>
- [29].- Derouiche S., Zeghib K., Gharbi S., and Khelef Y., 2018.- Beneficial Effects of *Aristolochia Longa* and *Aquilaria Malaccensis* on Lead- Induced Hematological Alterations and Heart Oxidative Stress in Rats. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2018, vol. 10(9): 8-15. <https://www.researchgate.net/publication/328232181>
- [30].- Al-Hayder M. N., Al-Mayyahi R. S. and Abdul-Razak A. S., 2020.- Effects of sun flower oils and beef tallow on serum parameters and liver histopathology in experimental rats. *Obesity Medicine*, vol. 18: 100232. <https://doi.org/10.1016/j.obmed.2020.100232>
- [31].- Derouiche S., Zeghib K., Gharbi S., Khelef Y., and Feriani A., 2017.- Protective effects of *Aristolochia longa* and *Aquilaria malaccensis* against lead induced acute liver injury in rats, vol. 6(5): 193–197. <https://doi.org/10.4103/2221-6189.219611>
- [32].- Yagi K., 1976.- Simple fluorimetric essay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med*, vol. 15(2): 212-216. [https://doi.org/10.1016/0006-2944\(76\)90049-1](https://doi.org/10.1016/0006-2944(76)90049-1)
- [33].- Weckbecker G., and Cory J. G., 1988.- Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells *in vitro*. *Cancer Lett*, vol. 40: 257–264. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(88\)90084-5](https://doi.org/10.1016/0304-3835(88)90084-5)
- [34].- Kong L., Yu L., Feng T., Yin X., LIU T., and Dong L. 2015.- Physicochemical characterization of the polysaccharide from *Bletilla striata*: Effect of drying method. *Carbohydrate Polymers*, vol. 125:, 1–8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.02.042>
- [35].- Mani M. S., Joshi M. B., Shetty R. R., Dsouza V. L., Swathi M., Prasada S., and SUNIL H., 2020.- Lead exposure induces metabolic reprogramming in rat models. *Toxicology Letters*, vol. 335: 11–27. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2020.09.010>
- [36].- Hashemifesharaki R., Xanthakis E., Altintas Z., Guo Y., and Taghi Gharibzahed S. M., 2020.- Microwave-assisted extraction of polysaccharides from the marshmallow roots: Optimization, purification, structure, and bioactivity. *Carbohydrate Polymers*, vol. 240: 116301. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116301>

- [37].- Sun Y., Dai C., Shi S., Zheng Y., Wei W., and Cai D., 2018.- Composition analysis and antioxidant activity of essential oils, lipids and polysaccharides in different phenotypes of *Lepidium meyenii*. *Journal of Chromatography B*, vol. 1099: 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.09.010>
- [38].- Zha Z., Wang S., Chu W., Lv Y., Kan H., Chen Q., Zhong L., Yue L., Xiao J., WANG Y., and YIN H., 2018.- Isolation, purification, structural characterization and immunostimulatory activity of water-soluble polysaccharides from *Lepidium meyenii*. *Phytochemistry*, vol. 147: 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.01.006>
- [39].- Li S., Hao L., Kang Q., Cui Y., Jiang H., Liu X., and Lu J., 2017.- Purification, characterization and biological activities of a polysaccharide from *Lepidium meyenii* leaves. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.165>
- [40].- Zhang L., Zhao Q., Wang L., Zhao M., and Zhao B., 2017.- Protective effect of polysaccharide from maca (*Lepidium meyenii*) on Hep-G2 cells and alcoholic liver oxidative injury in mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 99: 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.125>
- [41].- Wang W., Zou Y., Li Q., Mao R., Shao X., Jin D., Zheng D., Zhao T., Zhu H., Zhang L., Yang L., and WU X., 2016.- Immunomodulatory effects of a polysaccharide purified from *Lepidium meyenii* Walp. on macrophages. *Process Biochemistry*. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.procbio.2016.01.003>
- [42].- Wang W., Zhang F., Li Q., Chen H., Zhang W., Yu P., Zhao T., Mao G., Feng W., Yang L., and WU X., 2018.- Structure characterization of one polysaccharide from *Lepidium meyenii* Walp., and its antioxidant activity and protective effect against H₂O₂-induced injury RAW264.7 cells. *International Journal of Biological Macromolecules*. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.06.117
- [43].- Caicai K., Limin H., Liming Z., Zhiqiang Z., and Yongwu Y., 2017.- Isolation, purification and antioxidant activity of polysaccharides from the leaves of maca (*Lepidium Meyenii*). *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.139>
- [44].- Wang W., Wang X., Ye H., Hu B., Zhou L., Jabbar S., Zeng X., and Shen W. 2016.- Optimization of extraction, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Brassica rapa* L. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 82: 979–988. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.10.051>
- [45].- Zhang J., Wen C., Zhang H., and Duan Y., 2019.- Review of isolation, structural properties, chain conformation, and bioactivities of psyllium polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 139: 409–420. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.014>
- [46].- Alabdallah M. N., Alluqman M. S., 2022.- The synthesis of polysaccharide crude nanoparticles extracts from Taif rose petals and its effect on eggplant seedlings under drought and salt stress. *Journal of King Saud University – Science*, vol. 34:102055. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102055>

- [47].- Gupta A., Bano A., Rai S., Mishra R., Singh M., Sharma S., Pathak N., 2022.- Mechanistic insights of plant-microbe interaction towards drought and salinity stress in plants for enhancing the agriculture productivity. *Plant Stress* vol. 4: 100073. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100073>
- [48].- Zhao Y., Zhang Y., Bai X., Lin R., Shi G., Du P., Xiao K., 2021.- TaNF-YB11, a gene of NF-Y transcription factor family in *T. aestivum*, confers plant drought tolerance via modulating osmolyte accumulation and ROS homeostasis. *Journal of Integrative Agriculture*, Journal pre-proof: 24p. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2022.07.058>
- [49].- Ahluwalia O., Singh C. P., Bhatia R., 2021.- A review on drought stress in plants: Implications, mitigation and the role of plant growth promoting rhizobacteria. *Resources, Environment and Sustainability* vol. 5: 100032. <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2021.100032>
- [50].- Balsamo R., Boak M., Kayla Nagle K., Peethambaran B., Layton B., 2015.- Leaf biomechanical properties in *Arabidopsis thaliana* polysaccharide mutants affect drought survival. *Journal of Biomechanics*, vol. 48: 4124–4129. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiomech.2015.10.016>
- [51].- Leucci R. M., Lenucci S. M., Piro G., Dalessandro G., 2008.- Water stress and cell wall polysaccharides in the apical root zone of wheat cultivars varying in drought tolerance. *Journal of Plant Physiology*, vol. 165: 1168–1180. [doi:10.1016/j.jplph.2007.09.006](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.09.006)
- [52].- Li Y., Xu F., Zheng M., Xi X., Cui X., and Han C., 2018.- Maca polysaccharides: A review of compositions, isolation, therapeutics and prospects. *International Journal of Biological Macromolecules* PT NU SC. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.059>
- [53].- Gade M., Comfort N., and Re D. B., 2021.- Sex-specific neurotoxic effects of heavy metal pollutants : Epidemiological, experimental evidence and candidate mechanisms neurotoxicity neurotoxic effects heavy metals sexual dimorphism brain. *Environmental Research*, vol. 201: 111558. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111558>
- [54].- Behl T., Kumar K., Brisc C., Rus M., Nistor-Cseppento D. C., Bustea C., Aron R. A. C., Pantis C., Zengin G., Sehgal A., Kaur R., Kumar A., Arora S., Setia D., Chandel D. and Bungau S., 2021.- Exploring the multifocal role of phytochemicals as immunomodulators. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 133: 110959. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110959>
- [55].- Austad S. N., and Fischer K. E., 2016- Sex Differences in Lifespan. *Cell Metabolism*, vol. 23(6): 1022–1033. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.019>
- [56].- Ibrahim N. M., Eweis E. A., El-Beltagi H. S., and Abdel-Mobdy Y. E., 2012.- Effect of lead acetate toxicity on experimental male albino rat. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol. 2(1): 41–46. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60187-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60187-1)

- [57].- Saka S., Bahi A., and Aouacheri W., 2011.- L'effet du stress oxydant induit par l'acétate de plomb sur le système enzymatique du glutathion chez les rats. *Annales de Toxicologie Analytique*, vol. 23(3): 1-7. <https://doi.org/10.1051/ata/2011123>
- [58].- Gargouri M., Amara I. B. E. N., Ksouri R., Zeghal K. M., Feki A. E. L., Magne C., and Hakim A., 2015.- Impact de deux plantes halophytes sur l'hépatotoxicité induite par le plomb chez le rat male adulte. *Journal de l'Information Médicale de Sfax*, N°21/22, 72–80. <https://www.medecinesfax.org/useruploads/files/numero21-22.pdf>