

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Moléculaire et Cellulaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم: البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Sciences Pharmacologiques

Thème

**Evaluation de l'effet préventif de l'huile de fruit de *Pistacia lentiscus* L.
de la région de Jijel contre la cardiotoxicité du Benzo(a)pyrène
chez la souris.**

Membres de Jury

Président : M^{elle} REZZAGUI A.

Examineur: D^r BOUHAFS L.

Encadreur : D^r BENGUEDOUAR L.

Présenté par :

BOUCHARAB Kenza

BOUGHABA Hanane.

Année Universitaire 2018-2019



Remerciement

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous remercions nos chers parents qui nous ont aidés à être ce que nous sommes et qui nous ont entourés avec tant d'amour et d'affection.

On remercie leur dévouement, et leur présence constante au cours de toutes ces années d' « études ».

On remercie tendrement notre famille et nos frères pour leur soutien et leur encouragements, et un merci du fond du nos cœur à nos sœur qui ont été toujours à nos cotés, qui nous ont soutenues et surtout nous ont supportées aux moments difficiles. Nous avons la reconnaissance et la gratitude

D^r BENGUEDOUAR L.

Notre encadrant, qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour nous avoir guidées dans notre travail, et pour sa confiance, son soutien, et surtout Pour ces grandes qualités humaines. Nos sincères remerciements s'adressent à D^r BOUHAFS L d'avoir accepté de présider le jury,

Veillez trouver ici l'expression de notre plus profond respect. On veut également remercier M^{elle} REZZAGI, on lui exprime notre reconnaissance de nous avoir fait l'honneur d'être l'examinatrice.

Son dévouement pour la recherche et sa rigueur scientifique sont connus de tous. On est profondément reconnaissants à toute personne qui nous a aidés de près ou de loin, directement ou indirectement durant ce passage.

Merci





Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*A mes parents .Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour
Dont ils ne cessent de me combler. Que Dieu leur procure bonne santé et
longue vie.*

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet.

*A toute ma famille, et mes amis, A mon binôme Hanan et toute la famille
BOUCHARB. Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que
ce projet soit possible.*

Je vous dis merci.

Kenza





Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*A mes parents .Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour
Dont ils ne cessent de me combler. Que Dieu leur procure bonne santé et
longue vie.*

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet.

*A toute ma famille, et mes amis, A mon binôme Kenza et toute la famille
BOUQHABA. Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que
ce projet soit possible.*

Je vous dis merci.

Hanan



Sommaire

Liste des figures.....	i
Liste des tableaux.....	ii
Liste des abréviations.....	iii
Introduction	1

Synthèse Bibliographique

Chapitre I :Généralités sur le cœur

1. Anatomopathologie.....	3
1.1. Anatomie.....	3
2. Physiopathologies cardiaques.....	5
2.1. Hypertrophie cardiaque	5

Chapitre II:Le benzo[a]pyrène

1. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques	6
2. Caractéristiques physico-chimiques du Benzo[a]pyrène.....	6
3. Toxicocinétique	7
3.1. Absorption, Distribution et Elimination.....	7
3.2. Biotransformation du Benzo[a]pyrène.....	7
4. Mécanisme moléculaire à travers le récepteur des hydrocarbures aromatiques.....	9
5. Stress oxydatif induit par Benzo[a]pyrène	10
6. Toxicité du Benzo[a]pyrène	11

Chapitre III :*Pistacialentiscus L*

1. Présentation de <i>Pistacialentiscus</i>	13
1.1. Description botanique.....	13
1.2. Répartition géographique	13
1.3. Systématique.....	14

Sommaire

1.4. Usages thérapeutiques et activités biologiques	15
2. L'huile du fruit de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	15
2.1. Composition chimique.....	16
2.2. Usages thérapeutiques et activités biologiques.....	16
2.2. Toxicité de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	18

Matériels et Méthodes

1. Etude phytochimique du fruit de l'huile <i>Pistacia lentiscus</i> L	19
1.1. Extraction des composés phénoliques de L'huile de <i>Pistacia lentiscus</i>	19
1.2. Dosage des polyphénols totaux.....	19
1.3. Dosage des flavonoïdes totaux	20
2. Etude de l'effet antioxydant de l'huile fixe de <i>Pistacia lentiscus</i> sur le stress oxydatif <i>in vivo</i>	20
2.1. Entretien des animaux.....	20
2.2. Traitement des animaux	20
2.3. Sacrifice des animaux et prélèvement de l'organe.....	21
3. Dosage des paramètres du stress oxydatif dans le cytosol myocardique.....	21
3.1. Préparation de la fraction cytosolique cardiaque	21
3.1.1. Dosage du glutathion cytosolique cardiaque (GSH).....	21
3.1.2. Mesure de l'activité enzymatique de la Catalase (CAT) cytosolique	22
3.1.3. Dosage du Malone dialdéhyde (MDA) cytosolique du coeur	23
3.1.4. Dosage des protéines totales.....	24
4. Etude histologique microscopique	24
5. Etude statistique.....	24

Sommaire

Résultats et discussion

I. Résultats et interprétation	26
1. Etude phytochimique.....	26
1.1. Rendement d'extraction.....	26
1.2. Teneur en polyphénols et flavonoïdes de l'HFPL.....	26
2. Variations des poids corporels des animaux	27
3. Evaluation des paramètres du stress oxydant cardiaque	28
3.1. Variation du taux de glutathion cardiaque en (GSH).....	28
3.2. Effets des différents traitements sur le taux du MDA cytosolique cardiaque.....	29
3.3. Effet des différents traitements sur l'activité enzymatique de la catalase cytosolique cardiaque	30
3. Etude histologique microscopique	31
II. Discussion	33
Conclusion	36
Référence Bibliographique	
Annexe	

Liste des figures

Figures	Titre	page
Figure 1	Anatomie de cœur	3
Figure 2	Paroi du cœur	4
Figure 3	Structure moléculaire de du benzo[a]pyrène	7
Figure 4	Métabolisme simplifié du B[a]P	8
Figure 5	Voies principales d'activation du métabolisme du B(a)P	9
Figure 6	Schéma simplifié de l'interaction du B[a]P avec l'ArylHydrocarbonReceptor	10
Figure 7	Parties de <i>Pistacialentiscus</i>	13
Figure 8	Aire de répartition de <i>Pistacialentiscus L.</i> autour du bassin Méditerranéen	14
Figure 9	Principe du dosage du GSH	21
Figure 10	Principe du dosage de malondialdéhyde	23
Figure 11	Ratios poids cardiaque / poids corporel (%)	27
Figure 12	Variation du taux de GSH cytosolique cardiaque	28
Figure 13	Taux du MDA cytosolique cardiaque	29
Figure 14	Variations de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique catalase	30
Figure 15	Coupes histologiques colorées à l'hématoxyline et à l'éosine des tissus cardiaque.	31

Liste des Tableaux

Tableaux	Titre	page
Tableau 1	Classification de <i>Pistacialentiscus L</i>	14
Tableau 2	Pourcentage de mortalité et de valeurs de DL50 chez les souris traitées avec <i>Pistacialentiscus</i> avec des doses uniques par voie orale et intrapéritonéale.	18
Tableau 3	Rendement d'extraction de l'HFPL	26
Tableau 4	Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de l'HFPL.	26
Tableau 5	Valeurs de ratio des poids	27
Tableau 6	Valeurs de taux de GSH cytosolique cardiaque.	28
Tableau 7	Valeurs de Taux du MDA cytosolique cardiaque	29
Tableau 8	Valeurs de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique cardiaque	30

Liste des Abréviations

ADN: Acide désoxyribonucléique

AG: Acide Gallique.

AhR: Aryl Hydrocarbon Receptor

AkR: Aldo-kéto Réductase

ARNT: Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator

B[a]P : Benzo [a] pyrène

BPDE : Benzo[a]pyrène Diol Epoxyde

BSA : Bovine Sérum Albumin.

CAT: Catalase.

CYP450 : Cytochrome P450.

dAdo : 2'-désoxyadénosine

dGuo : 2'-désoxyguanosine

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène.

GSH : Glutathion réduit.

HAP : Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

HFPL : huile de fruit de *Pistacia lentiscus*

Hsp: Heat shock protein

IC50: Concentration inhibitrice 50.

MDA : MalondiAldéhyde

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NQO1: quinone oxidoreductase 1

SOD: Superoxyde dismutase.

XRE : Xénobiotic response élément

Introduction

Les polluants environnementaux sont associés aux risques accrus de divers problèmes de santé publique, tels que le cancer ainsi que les maladies cardiovasculaires et/ou pulmonaires chez l'homme. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des polluants ambiants et constituent une classe de produits chimiques fabriqués à partir de la combustion incomplète de matières organiques (Hattemer-Frey et Travis, 1991).

Le benzo [a] pyrène (B[a]P) est un HAP présent dans la fumée de tabac, le goudron de charbon, les viandes grillées et de nombreux aliments. De nombreuses études ont montré que le B[a]P est facilement absorbé et distribué dans divers organes et tissus après une exposition par inhalation, par voie orale et par voie cutanée (Ramesh et *al.*, 2002 ; Shertzer et *al.*, 2004). Le B[a]P subit une activation métabolique via une réaction catalysée par le cytochrome P450 qui se traduit par la production d'intermédiaires hautement réactifs et d'espèces oxygénées réactives (ERO) pouvant aboutir au cancer par le biais d'un mécanisme impliquant le stress oxydatif, l'inflammation et la mutation (Shahid et *al.*, 2017; Ma et *al.*, 2011).

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales ont joué un rôle essentiel dans la préservation de la santé humaine. Elles continuent de fournir à l'humanité de nouveaux remèdes. Il est donc important d'explorer les plantes médicinales pour leur sécurité, leur qualité, leur toxicité, la quantité appropriée de matières végétales à utiliser et leur efficacité. Les produits naturels de plantes possèdent plusieurs activités biologiques, y compris une activité antioxydante (Nemudzivhadi et Masoko, 2014).

Pistacia lentiscus L. est l'une des plantes médicinales les plus fréquemment utilisées dans la région méditerranéenne, y compris algérienne. Cette espèce contient de nombreuses molécules actives, en particulier des composés phénoliques et des acides gras. Pour cette raison, les extraits de cette plante ou sa huile présentent de nombreux effets bénéfiques sur la santé, notamment des activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antidiabétiques, antitumorales et antioxydantes (Abidi et *al.*, 2017).

Dans ce contexte, nous avons jugé très utile d'examiner la cardiotoxicité aiguë induite par le benzo[a]pyrène dans un modèle expérimental murin et chercher l'effet préventif de l'huile de lentisque contre une telle toxicité. Ainsi, nous avons fixé les objectifs suivants :

- ❖ Dosage des composé phénolique de l'extrait méthanolique de l'huile du fruit de *Pistacia lentiscus L.*
- ❖ L'évaluation du stress oxydatif cardiaque par la mesure des marqueurs biochimiques tissulaires au cours d'une toxicité aiguë induite par une dose intrapéritonéal unique de 100mg /kg de B[a]P chez la souris.

- ❖ La recherche de l'effet préventif de l'huile de fruit de *Pistacia lentiscus* (HFPL) contre la toxicité aiguë du B[a]P en utilisant une dose de 1.66 ml/Kg pendant cinq jours.
- ❖ L'exploration de l'effet toxique du B[a]P ainsi que l'effet Protecteur de l'huile sur le tissu cardiaque par une étude histologique.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le cœur

1. Anatomopathologie

1.1. Anatomie

Le cœur est un organe musculaire qui fonctionne comme une pompe pour envoyer du sang en continu dans tout l'organisme, il contient des cellules autorythmiques qui génèrent spontanément les potentiels du stimulateur cardiaque qui initient les contractions cardiaques, situé sous le sternum dans un compartiment thoracique, entre les poumons. C'est à peu près la taille (250-350 grammes) et est en forme de cône inversé (Mariebet Hoehn, 2013; Tortora etDerrickson, 2017). Le cœur renferme quatre cavités : deux oreillettes en haut, et deux ventricules en bas. Chacune de ces cavités est tapissée d'un endocarde qui permet au sang de circuler aisément à travers le cœur. Dans le cœur, quatre valves permettent au sang de circuler à sens unique d'une cavité à l'autre (Figure 1):

- **Valves auriculoveentriculaires** : Sont situées à la jonction des oreillettes et ventricule. Elles empêchent le sang de refluer dans les oreillettes lorsque les ventricules se contractent.
- **Valve auriculoventriculaire gauche** : Appelée aussi valve mitrale, est formée de deux lames (ou cuspside) d'endocarde.
- **Valve auriculoventriculaire droite (appelée aussi valve tricuspide)** : est composée de trois lame. De fins cordons blancs, nommés cordage tendineux, ancrent leurs lames aux muscles papillaires des parois des ventricules.
- **Les deux d'autres valves, les valves valve de l'aorte et du tronc pulmonaire** : sont posté à la base de ces deux grosses artères issues des cavités ventriculaire (Marieb, 2008).

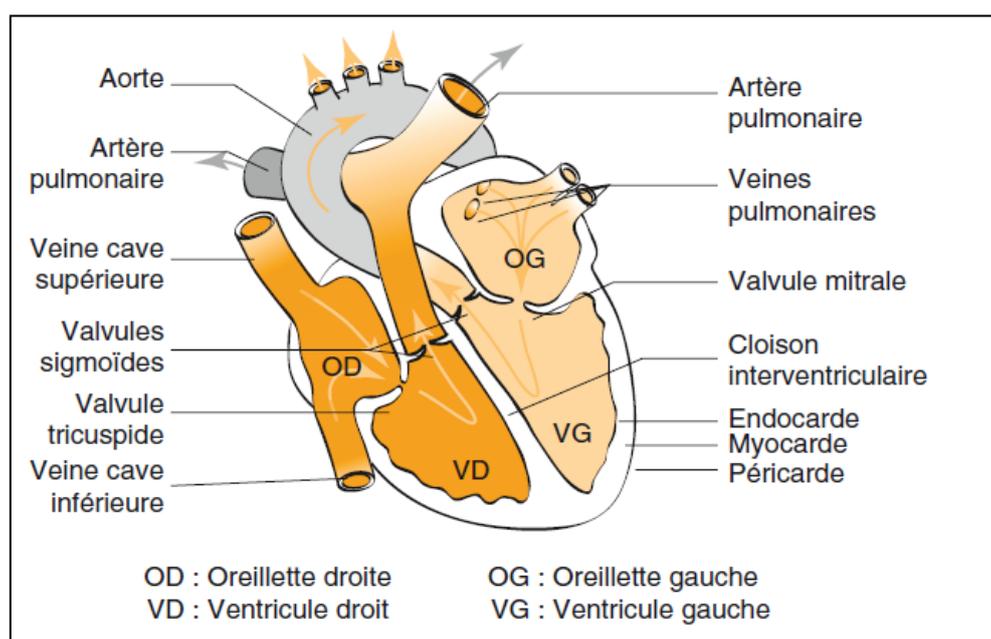


Figure 1. Anatomie du cœur (Paradis et Thivierge, 2015).

Le cœur est enveloppé dans une séreuse à double paroi appelée péricarde. Il comprend deux parties :

- Le péricarde fibreux épais et résistant qui fixe le cœur à l'organe voisins (paroi thoracique, diaphragme, etc...). C'est l'enveloppe protectrice du cœur.
- Le péricarde séreux qui comprend deux feuillets (viscéral et pariétal qui facilite le glissement lors des mouvements cardiaques).

La paroi du cœur comprend trois couches (figure 2):

- 1- **L'endocarde** : C'est une membrane qui tapisse les cavités cardiaques, les valves et la tunique interne des artères et des veines. C'est un tissu endothélial lisse qui favorise le passage du sang et évite l'érosion des parois.
- 2- **Myocarde** : C'est muscle possédant à la fois les propriétés des muscles striés et des muscles lisses. il possède un système de contraction autonome (tissu nodal) (Ramé et Théron, 2011).
- 3- **L'épicarde** : Une surface soumise à de faible frottement revêtue d'un mésothélium en contact l'espace séreux péricardique.

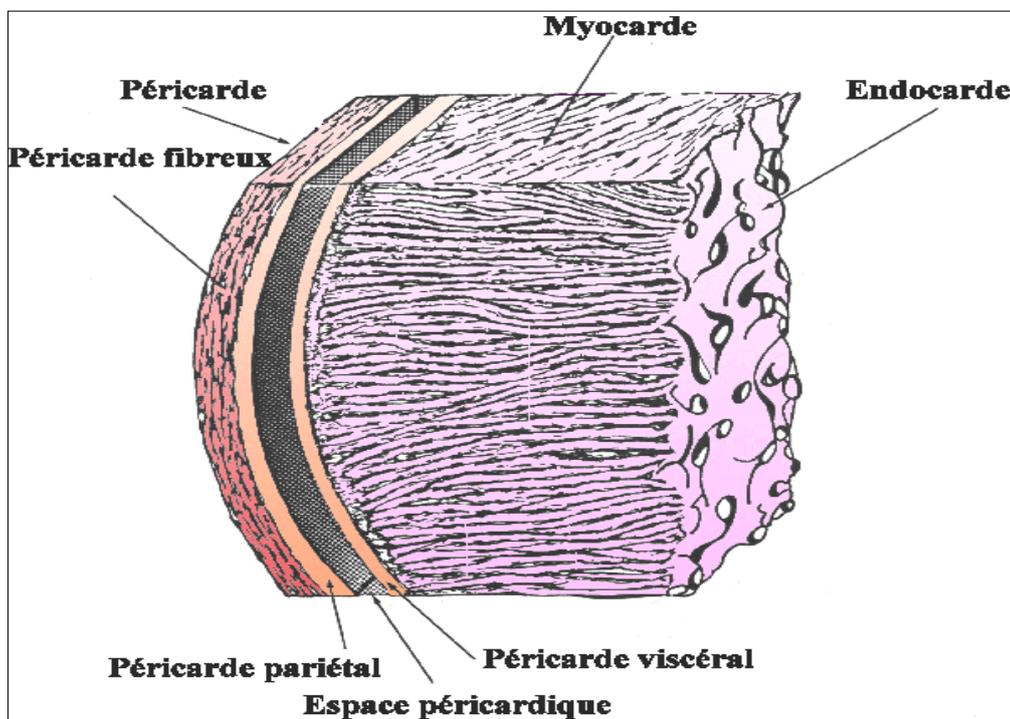


Figure 2. Paroi du cœur (Marieb, 2008).

Le myocarde est constitué de trois types de cellules :

- 1- **Cardiocytes contractiles** : Qui se contractent pour pomper le sang à travers la circulation.
- 2- **Cardiocytes myoendocrines** : Produisant le facteur atrial natriurétique.
- 3- **Cardiocytes nodaux** : Spécialisés dans le contrôle de la contraction rythmique du cœur. Ces cellules se localisent dans le nœud sino-atrial (à la jonction de la veine cave supérieur avec l'oreillette droit) et le nœud atrio-ventriculaire (situé sous l'endocarde des septums interauriculaire et interventriculaire) (Kierszenbaum, 2006).

2. Physiopathologies cardiaques

Les maladies cardio-vasculaires englobent une multitude de maladies liées à un mauvais fonctionnement du cœur ou des vaisseaux sanguins qui l'alimentent. Parmi les maladies cardiaques les plus fréquentes : l'insuffisance cardiaque, l'angine de poitrine et l'hypertrophie cardiaque.

➤ L'hypertrophie cardiaque

L'hypertrophie cardiaque est un prédateur majeur des maladies du cœur et des pronostics défavorables. Cette maladie est reconnue comme un processus adaptatif à des conditions physiologiques et pathologiques variables. L'hypertrophie du cœur est souvent associée à des maladies telles que l'ischémie, l'hypertension artérielle et la défaillance cardiaque (Ho et *al.*, 1998). Ces différentes maladies induisent une croissance des cardiomyocytes qui est caractérisée par une augmentation de la synthèse protéique et un changement de l'organisation de la structure sarcomérique bien qu'initialement, l'hypertrophie cardiaque joue un rôle compensatoire qui essaye de s'opposer à la surcharge de pression et de volume, d'optimiser le stress biochimique qui en résulte et de normaliser la fonction cardiaque. Une hypertrophie prolongée peut éventuellement mener au dysfonctionnement diastolique, à une cardiomyopathie dilatée, à des arythmies, des maladies fibreuses, une défaillance cardiaque et même à la mort subite (Aaronson et Sackner-Bernstein, 2006; Dorn et *al.*, 2003).

Notamment, au niveau moléculaire, l'hypertrophie cardiaque est caractérisée par une activation de l'expression des gènes du profil de la vie fœtale, comme l'ANP, les chaînes lourdes de la myosine- β et de l'actine- α (Nadal-Ginard et *al.*, 2003; Passier et *al.*, 2000).

Chapitre II :Le benzo[a]pyrène

1. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques

Les HAP constituent un groupe de composés ubiquitaires organiques répandus dans l'environnement, lipophile et persistant, ils ont des structures différentes et des degrés variables de toxicité (Gao et *al.*, 2019). Comme molécules organiques ils contiennent au moins deux cycles benzéniques condensés dans diverses configurations structurales et ne contiennent pas d'hétéroatome et ne portent pas de substituant (Lawal, 2017). Ils sont largement distribués dans l'environnement à travers divers processus comme la combustion incomplète et l'altération thermique du carbone organique (CO) tel que la biomasse, le charbon et le pétrole qui sont les principales sources de HAP dans l'environnement. Bien que les HAP proviennent de sources à la fois naturelles et anthropiques, les activités humaines sont les principales contributrices dans les sols urbains sur la base de leurs processus de formation, les sources de HAP peuvent également être divisées en trois catégories: pyrogène (étant les plus importantes principalement en raison d'activités humaines), pétrogène (tels que le charbon et le pétrole brut et se forment à des températures relativement basses) et biogéniques (ils sont générés par des plantes et des micro-organismes) (Gao et *al.*, 2019). Parmi les nombreux HAP étudiés pour leurs effets toxiques sur des populations humaines, le B[a]P a souvent été considéré comme le prototype des HAP (Miller et Ramos, 2001).

2. Caractéristiques physico-chimiques du Benzo[a]pyrène

Le B[a]P est un membre de la famille des HAPs. C'est un composé chimique solide cristallin jaune pâle avec une odeur aromatique faible et en raison de sa nature lipophile à cinq cycles aromatiques avec une formule brute $C_{20}H_{12}$, il a un poids moléculaire 252.31g/mol, un point de fusion de 179°C et le point d'ébullition 310–312 ° C à 10 mmHg ; il est soluble dans de nombreux solvants organiques comme le chloroforme, le benzène, le toluène et le xylène (IARC, 2010). Cependant sa solubilité dans l'eau est faible 0,0038 mg / L à 25 °C; il est constitué de deux régions qui sont des sites réactifs chimiques (IARC, 1973). La région englobant les carbones 9-12 est considérée comme la région baie du B[a]P. C-10 est considérée comme le centre actif (α -carbone) car il se trouve dans la position benzylique hautement réactive du noyau benzo angulaire formant un noyau saturé de la région baie. La région K représentée par des atomes de carbone aux positions 4 et 5 représente une zone de densité électronique et donc de forte activité métabolique (Miller et Ramos, 2001) (figure 3).

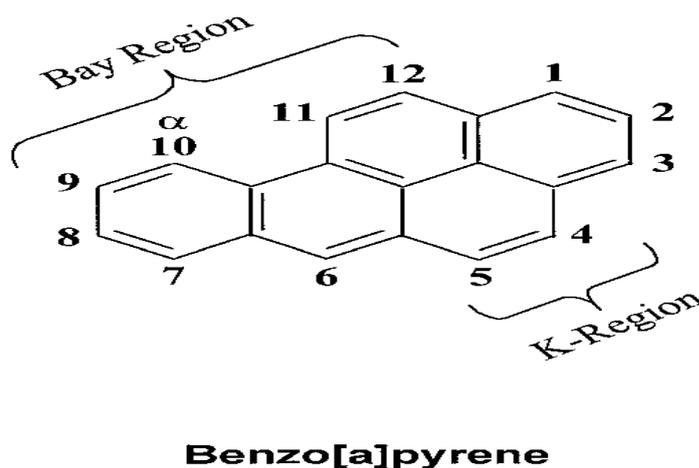


Figure 3. Structure moléculaire de du benzo[a]pyrène (Miller and Ramos ,2001)

3. Toxicocinétique du Benzo[a]pyrène

3.1. Absorption, distribution et élimination

Le B[a]P est facilement absorbé dans l'organisme animal et humain suivant différentes voies d'exposition : l'inhalation, l'ingestion et le contact cutané (Crowell et *al.*, 2011). Le volume de distribution de B[a]P est très important dans tout l'organisme et l'équilibre entre les concentrations sanguines, hépatiques, dermiques et rénales est atteint dans les 2 heures suivant l'exposition (Crowell et *al.*, 2011).

Le système hépatobiliaire et le tractus gastrointestinal sont les voies principales d'élimination du B[a]P et de ses métabolites, quelle que soit la voie d'exposition (Yang et *al.*, 1994). En général, les métabolites ainsi créés lors des différentes étapes de biotransformation sont très hydrophiles. Ils ne peuvent donc pas diffuser à travers la membrane, notamment de manière passive, au niveau des canaux biliaires et du sang sinusoïdal (excrétion basolatérale).

Il existe donc des transporteurs membranaires spécifiques qui se situent soit au pôle apical soit au pôle basolatéral de la cellule afin d'éliminer les métabolites au niveau de la bile ou du sang. (Yang et *al.*, 1994).

3.2. Biotransformation du Benzo[a]pyrène

Le benzo [a] pyrène est métabolisé par les enzymes de phase I et de phase II pour donner des composés plus hydrophiles tels, de dihydrodiols, de phénols et de quinones et de leurs conjugués polaires avec du glutathion, du sulfate et du glucuronide (figure 4) (IARAC, 2012). Le récepteur des AhR est le principal facteur de transcription qui régit l'activation des enzymes de phase I et de phase II (Shimizu et *al.*, 2000).

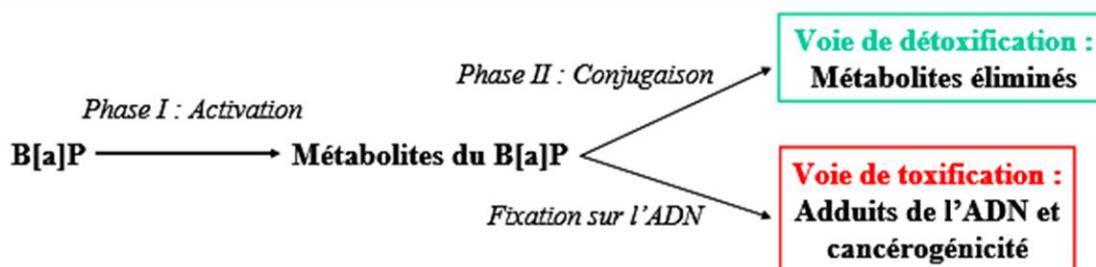


Figure 4. Métabolisme simplifié du B[a]P (Marie, 2007).

3.2.1. Phase I : comprend trois voies :

➤ **La première voie** : Implique la formation BPDE.

Le métabolisme oxydatif du B[a]P par cytochrome P450 réalisent une mono-oxygénation sur le noyau benzo terminal catalysé par le cytochrome P450 1A1 (hépatique), P450 1B1(extrahépatique) et P4501A2 en époxyde sur les carbone C7 et C8 (Harrigan *et al.*, 2006). L'hydrolyse de cet époxyde par un époxyde hydrolase conduit à la formation du dihydrodiol qui subir une nouvelle époxydation sur les carbones C9 et C10 par les CYP450 pour donner un diol époxyde ou 7,8-dihydro-7,8-dihydroxybenzo(a)pyrène 9,10-époxyde tétrahydrobenzo[a]pyrène (BPDE), un métabolite ultime du B[a]P (Hassan *et al.*, (2011). Le 7,8-dihydro-7,8-dihydroxybenzo(a)pyrène 9,10-époxyde tétrahydrobenzo[a]pyrène appelé également (+) – anti-diol-B(a)P-époxyde ou (+) – anti-B(a)P PDE) est l'isomère le plus réactif vis-à-vis de l'ADN et peut former à la fois des adduits stables et instables sur les atomes N2 de la dGuo détectés *in vitro* et *in vivo* (Penning, 2014).

➤ **La deuxième voie** : repose sur la formation d'un radical cation.

Le mécanisme chimique de cette voie repose sur catalysée par des peroxydases dépendantes du CYP450 (IARC, 2010). Lors de cette voie, le carbone le plus électrophile du HAP, le C6 dans le cas du B[a]P subit une oxydation à un électron. entraîne la formation du radical cation activé (Penning *et al.*, 1999) qui permet la formation le lien covalent avec le site nucléophile de l'ADN (Penning, 2004).

➤ **La troisième voie** : implique la formation d'o-quinones par dihydrodiol déshydrogénases (DD) de la famille des AKR qui métabolisent le B[a]P-diols en catéchol (Penning, 2004).

Les quinones B[a]P participent à des cycles redox à un électron entre leurs hydroquinones correspondantes B[a]P diols et leurs radicales semiquinones. Le couplage de ces cycles catalysés par NADP-cytochrome P450 réductase avec des l'oxygène ultime produit des espèces réactives de l'oxygène sous forme de superoxyde radical O_2^- et H_2O_2 (Miller et Ramos, 2001).

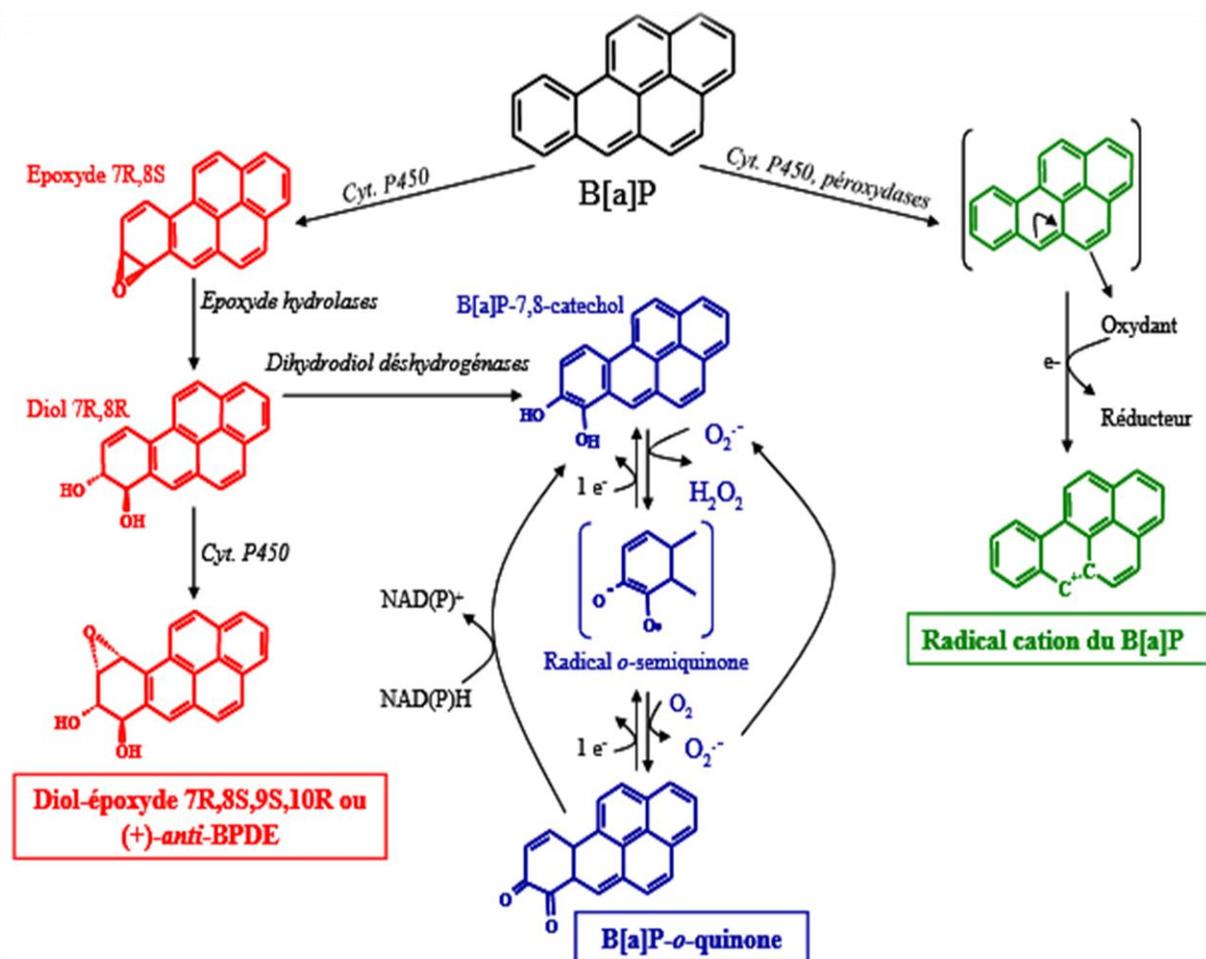


Figure 5. Voies principales d'activation du métabolisme du B[a]P (Marie, 2007).

3.2.2. Phase II :

Les produits réactifs du métabolisme de phase I sont soumis à l'action de plusieurs systèmes enzymatique de conjugaison et de détoxification de phase II présentant une activité préférentielle pour les produits d'oxydation spécifique du B[a]P (Beaune et Lorient, 2000).

Les processus métaboliques comprennent la conjugaison au glutathion d'époxyde de diol, la sulfatation et glucuronidation des phénols et réduction des quinones par NADPH : quinone oxydoréductase (Miller et Ramos, 2001).

4. Mécanisme moléculaire à travers le récepteur des hydrocarbures aromatiques

L'AhR est un facteur de transcription cytosolique ligand-dépendant et est l'intermédiaire de plusieurs effets toxiques et cancérogènes chez les animaux et l'homme (Vogel et Haarmann-Stemann, 2017). Son rôle physiologique est la régulation du développement, la neurogenèse, le métabolisme et la réponse contre le stress induit par l'hypoxie. L'ablation du gène d'AhR entraîne

des maladies cardiovasculaires, la fibrose hépatique, une diminution de la taille du foie et une fibrose cutanée (Figure 6) (Barouki et *al.*, 2007).

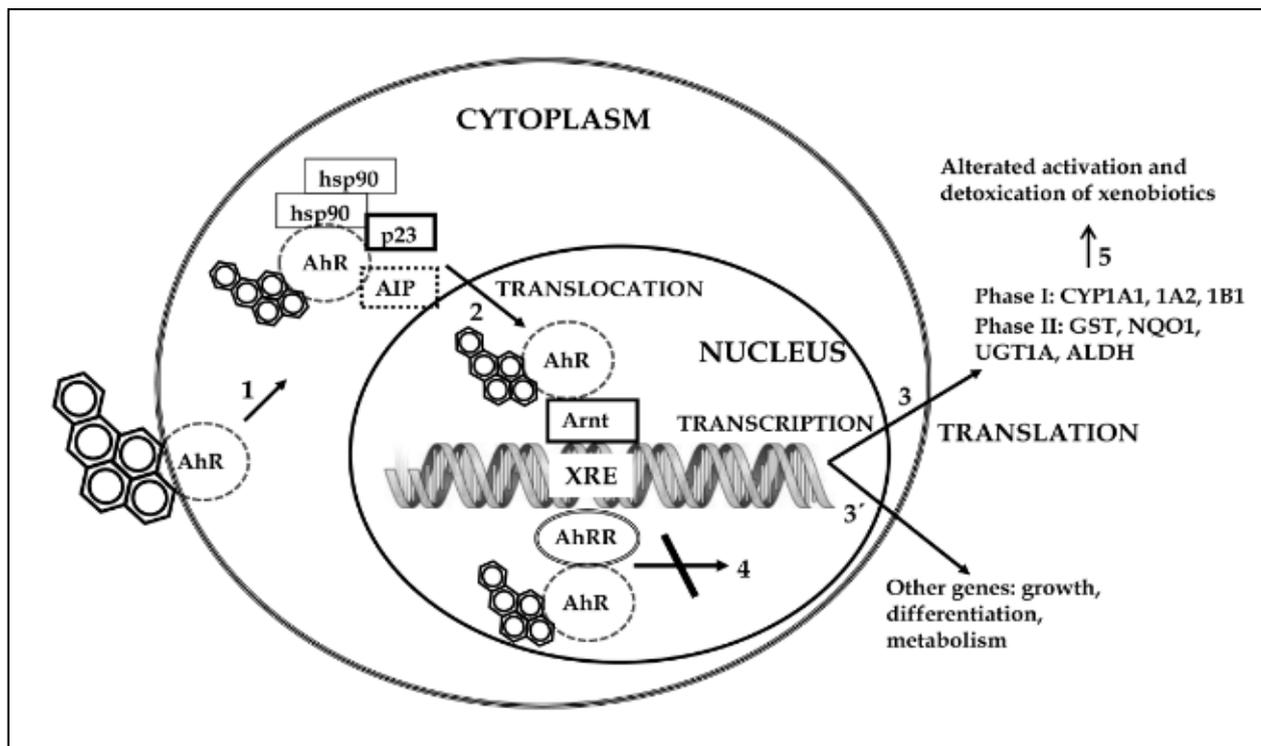


Figure 6. Schéma simplifié de l'interaction du B[a]P avec l'ArylHydrocarbonReceptor (Arenas-Huertero et *al.*, 2011)

AhR est une protéine soluble retrouvée dans le cytosole des cellules. En absence de ligand, le *AhR* est retenu inactif dans le cytoplasme d'un complexe protéique qui consiste de deux protéines chaperonnes (Hsp 90), la protéine p23 et à une protéine AIP (immunophilin-like protein). Lorsque le B[a]P se fixe au récepteur, le complexe migre dans le noyau en se dissociant les protéines Hsp et se lie avec le ARNT. Le complexe *AhR*-ARNT devient alors capable d'interagir avec l'ADN dans la région de promoteur (XREs) (Vogel et Haarmann-Stemann, 2017). Il va induire la transcription de différents gènes impliqués dans le métabolisme du B[a]P, y compris les isoformes de CYP (1A1, 1A2 et 1B1) (Arenas-Huertero et *al.*, 2011).

5. Stress oxydatif induit par Benzo[a]pyrène

Le stress oxydatif est défini par un déséquilibre entre la production d'espèces d'oxygène radicalaires (ou réactives) (ERO) et les capacités antioxydantes des cellules. Les ERO sont depuis longtemps considérés comme des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène et impliqués dans de nombreuses pathologies (Migdal et Serres, 2017).

Le métabolisme du B[a]P peut produire des ERO par la présence d'une voie potentielle de toxicité alternative à la voie promutagène de la formation du BPDE, elle a pour conséquence la génération d'anion superoxyde, de radical hydroxyde ainsi qu'un o-quinone dérivé du B[a]P, métabolite hautement mutagène (Burczynski et Penning, 2000).

Le voie -o-quinone pourrait être essentiellement de type oxydatif par la génération d'ERO et aussi impliqué dans la génération des dommages à l'ADN. Ces dommages sont de deux types, soit le radical hydroxyles'ajoute sur les bases de l'ADN conduisant à la formation de bases oxydées, soit il réagit avec le 2'-désoxyribose ce qui entraîne des cassures de l'ADN. De nombreuses lésions peuvent être formées suite à l'oxydation des bases de l'ADN, tant sur les purines que sur les pyrimidines. La base oxydée la plus connue est le produit d'oxydation de la dGuo en position C8 ou 8-oxodGuo (Park et *al.*, 2006).

Les dihydrodiol déshydrogénases de la superfamille des AKR (AKR1A1, AKR1C1, AKR1C4) peuvent oxyder les trans-dihydrodiols de HAP en catéchols qui peuvent ensuite subir deux oxydations sur l'électron conduisant à la génération d'ERO. Cette auto-oxydation génère un HAP Quinone. Ils peuvent former des adduits covalents stables tels que le BP-7,8-dione-N2-dGuo et le BP-7,8-dione-N6-dAdo (Shen et *al.*, 2008).

La production d'ORE peut également être responsable de mutations. La mutagenèse du gène p53 par l'action de la BaP-o-quinone inhibe totalement la molécule du système antioxydant telle que la superoxyde dismutase et la catalase (Yu et *al.*, 2002) et réagit également facilement avec les nucléophiles souffrés, tels que le GSH et le NAD(P)H (le GSH réagit directement avec la benzoquinone, tandis que NQO1 renvoie la benzoquinone en hydroquinone qui peut être glucuronidée ou sulfatée pour l'excrétion cellulaire) ou des résidus de cystéine sur la protéine, entraînant une diminution du taux de GSH cellulaire et / ou une alkylation de la protéine, ce qui indique la production de radicaux hydroxyles et d'anions superoxydes (Bolton et *al.*, 2000).

6. Toxicité du Benzo[a]pyrène

Le B[a]P induit des tumeur chez multiples organes d'animaux de laboratoire (Souris, hamster, lapin, ...), est organisme cancérogène humain du groupe 1 classé par le centre international de recherché sur le cancer. la localisation des tumeurs semble être liée à la différent voie d'exposition (orale, cutanée, inhalation, intratrachéale, intrabronchique, intrapéritonéale ...).

On a trouvé peu d'information sur la toxicité aiguë chez les animaux. Une neurotoxicité, une tératogénicité, une immunotoxicité, hépatotoxicité et une cardiotoxicité ont été rapportées dans les travaux antérieurs (Ba et *al.*, 2015).

Parmi les effets cardiovasculaires relevés figurait des marqueurs de l'hypertrophie cardiaque. Le B[a]P induit l'activation des voies de signalisation AhR au développement de l'hypertrophie cardiaque, et l'expression des peptides hypertrophiques du peptide natriurétique auriculaire (ANP) et du peptide natriurétique cérébral (BNP) qui conduisent une augmentation du poids du cœur reflétant l'induction d'une hypertrophie cardiaque chez le rat (Huang et al., 2014).

De plus, les effets cardiovasculaires néfastes du B[a]P pourraient également être transmis à la progéniture. Une étude semble indiquer que l'exposition *in utero* au B[a]P à la dose de 0,6 ou 1,2 mg/kg p.c. entre le 14^e et 17^e jours embryonnaires, prédispose les petits à des déficits fonctionnels au niveau du développement cardiovasculaire et à des troubles cardiaques plus tard au cours de leur vie (Jules et al., 2012).

Chapitre III : *Pistacialentiscus*L

1. Présentation de *Pistacialentiscus* L

1.1. Description botanique

Pistacialentiscus L. (PL) est un arbrisseau dioïque thermophile de 1 à 3 mètres, appartenant à la famille Anacardiaceae (figure 7), à odeur résineuse forte et à écorce lisse et grise; les feuilles persistantes, composées, alternes pourvues d'un pétiole ailé, paripennées à 4- 10 petites folioles elliptiques-obtuses. Les fleurs en grappes spiciformes denses, naissant 1 ou 2 à l'aisselle d'une feuille et égalant au plus la longueur d'une foliole. Le fruit petit, subglobuleux, apiculé, rouge, puis noir à la maturité (Smail Saadounet *al.*, 2005).



Figure 7. Parties de *Pistacialentiscus* (Belfadel, 2009).

1.2. Répartition géographique

Pistacialentiscus L. C'est une plante médicinale traditionnelle de la région méditerranéenne, couramment utilisée par les populations rurales algériennes. Il pousse à l'état sauvage en Algérie, ainsi qu'en Turquie, au Maroc, en France, en Espagne, en Italie et en Grèce (Jari *et al.*, 2011) est très commun dans le bassin méditerranéen, il se trouve à l'état sauvage, dans les maquis et les garrigues dans tout type de sols .

En Algérie (figure8), le lentisque se trouve sur le long du tell, et se développe dans différents habitats le long du gradient climatique (Smail Saadoun, 2005).



Figure 8. Aire de répartition de *Pistacialentiscus L.* autour du bassin Méditerranéen (Seigue, 1985).

1. 3. Systématique

La classification de *PistacialentiscusL* décrite par Nahida et saddiqui, (2012) est représentée dans le tableau 1.

Tableau 1.Classification de *Pistacialentiscus L* (Nahida et saddiqui, 2012).

Règne	<i>Plantae, (végétal)</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Spermaphyte</i>
Sous-embranchement	<i>Angiosperme</i>
Division	<i>Magnoliophyta.</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Sapindales.</i>
Famille	<i>Anacardiaceae.</i>
Genre	<i>Pistacia.</i>
Espèce	<i>Pistacialentiscus</i>

1.4. Usages thérapeutiques et activités biologiques

Étant donné les limites des produits chimiques thérapeutiques, le développement des recherches sur les plantes médicinales a été orienté vers la fabrication de médicaments à base de plantes, chaque plante ayant un constituant spécifique (Bendifallah et al., 2014) on distingue *Pistacia lentiscus* est connu pour ses propriétés médicinales depuis l'Antiquité (Palevitch et al., 2000).

Les feuilles, les branches et les gommés de *Pistacia lentiscus* (mastic de Chio) sont largement utilisées par le peuple méditerranéen dans le domaine alimentaire et en médecine traditionnelle.

Le mastic a été employé en médecine pour le traitement des maladies gastro-intestinales (acidité, brûlure d'estomac...) et pour soigner les problèmes bucco-gingivaux. (Dedoussis et al., 2004).

La prise des feuilles infusées dans l'eau par voie orale est conseillée pour les problèmes respiratoires (Said et al., 2002). Elles sont douées de propriétés antiulcéreuses et anti bactériennes (Borrelli et al., 2000), et utilisé dans le traitement de l'hypertension et de l'eczéma. Les gommés ont une activité anti tumorales (prévention contre la leucémie et le cancer de colon) (Gardeli et al., 2008).

Huile de lentisque : elle est extraite à base du fruit comestible qui autrefois était utilisée pour l'alimentation, l'éclairage et elle est utilisée aussi dans la confection de savons. L'huile est produite à l'Est de l'Algérie, dans les zones notamment côtière (El Milia, Jijel, Skikda), où l'espèce est abondante. Un procédé traditionnel est utilisé à cet effet : Les fruits atteignent leur maturité vers la fin d'hiver, début de l'automne. Les baies prennent alors une coloration noire au lieu du rouge. Les baies sont récoltées à la main, macérées dans de l'eau chaude et puis écrasées à l'aide d'une presse. Des baies s'exultent un liquide épais de couleur jaune vert. L'huile est récupérée par décantation (Seigne, 1985).

2. L'huile du fruit de *Pistacia lentiscus* L

HFPL c'est un extrait naturel de plante traditionnellement utilisé comme additif alimentaire, a été largement étudié pour son activité antioxydante, anticancéreuse et antimicrobienne et d'autre activité attribuée à la combinaison de ses composants bioactifs. dont les baies peuvent fournir 38,8 % du poids des fruits elle contient deux grandes groupes, les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Loutrari, et al., 2006).

Alors que les huiles essentielles obtenues à partir des fruits sont composées de d'hydrocarbures monoterpéniques 90 à 96% et sesquiterpènes 3.2% (Boelens et Jimenez, 1991).

2.2. Composition chimique

La composition chimique de l'huile de cette plante révèle la présence de plusieurs composés majoritaires : myrcène, limonène, terpinen-4-ol, α -pinène, β -pinène, α -phellandrène, sabinène, p-cymène et γ -terpinène (Castola et *al.*, 2000).

Les variations de la distribution entre les monoterpènes hydrocarbures et les monoterpènes oxygénés dans le matériel végétal pourraient être liés à des changements tout au long de cycle végétatif de la plante, ainsi que les faibles effets environnementaux conditions prévalant dans les régions méditerranéennes variations saisonnières importantes de la composition chimique pour février, mai et août, respectivement, ont été identifiés. L'huile essentielle était caractérisée par un pourcentage élevé d'hydrocarbures monoterpéniques (45–68,3%), suivie par monoterpènes oxygénés (13,3–23,1%) et sesquiterpènes hydrocarbures (9,2–28,1%). La période de floraison (Mai), qui diffère significativement des deux autres périodes testées ($p < 0,05$), contenait la concentration la plus élevée des hydrocarbures monoterpènes (68,3%) et la plus faible concentration en monoterpènes oxygénés (13,3%) et en hydrocarbures sesquiterpéniques (9,2%).

2.3. Usages thérapeutiques et activités biologiques

L'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* a été montrée pour avoir des effets antibactériens, antifongiques, antioxydants et insecticides. Il est également utilisé dans les cosmétiques, les parfums et comme aromatisant dans les préparations alimentaires (Haloui et *al.*, 2015).

2.3.1. Activité antioxydant

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires, inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (Guinebert et *al.*, 2005).

Les huiles essentielles comme antioxydants sont très recherchées en détail pour étudier leur rôle protecteur vis-à-vis des lipides insaturés dans les cellules animales (Molyneux, 2004). Les composés phénoliques sont impliqués dans cette activité via plusieurs mécanismes en agissant à différents niveaux des réactions radicalaires par la chélation des métaux, l'effet scavenger, l'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres et l'induction de la synthèse des enzymes antioxydantes (Cotelle et *al.*, 1994). Ainsi, les composés phénoliques en particulier les flavonoïdes ont attiré l'attention en tant que source potentielle de molécules bioactives.

Leur structure de noyau de flavan est liée à l'antioxydant. Ces substances sont capables de réduire les radicaux libres tels que superoxyde, peroxyde, alkoxyde et hydroxyle. La réduction se fait par transfert d'hydrogène réaction aux espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Jovanovic et *al.*, 1994). A côté de cet effet de balayage direct, les mécanismes d'action peuvent inclure l'inhibition de l'enzyme et / ou la chélation de l'oligo-métal qui catalyser la formation de ROS (Halliwell, 1994).

2.3.2. Activité anticancéreuse

La composition chimique de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* de flavonoïdes et autre phénol peuvent jouer un rôle préventif dans le développement du cancer (Kähköen et *al.*, 1999). Ils interviennent dans l'étape d'initiation comme piègeurs des mutagènes électrophiles ou en stimulant la réparation de l'ADN muté. Durant les étapes de promotion et de progression, ils agissent comme des agents suppresseurs de tumeurs par différents mécanismes comme l'induction de l'apoptose par l'activation de la caspase-3 (Scalbert et *al.*, 2002). Un effet antiprolifératif et proapoptotique sur l'homme K562 cellules leucémiques et inhibe la libération du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) des cellules de mélanome de souris K562 et B16. De plus, l'huile de lentisque a provoqué une inhibition de la prolifération des cellules endothéliales (CE) en fonction de la concentrations sans affecter la survie cellulaire et une diminution de la formation de microvaisseaux *in vitro* et *in vivo* (Loutrariet *al.*, 2006).

2.3.3. Activité anti-inflammatoires

Les propriétés anti-inflammatoires des composés polyphénoliques dues à leurs capacités d'inhiber des enzymes impliquées dans les processus inflammatoires (Škerget et *al.*, 2005) et réduit la migration des leucocytes vers le tissu endommagé et aussi inhibé la formation les Pro-inflammatoire des cytokines telles que TNF- α , IL-1 et IL-6, sont jouent des rôles critiques dans les processus inflammatoires (Mease, 2002). L'huile essentielle de *P. lentiscus* contient des principes anti-inflammatoires et est efficace dans le traitement de diverses conditions inflammatoires.

2.3.4. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles possèdent des propriétés antimicrobiennes intéressantes et luttent contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne et fongique. L'activité antifongique des huiles essentielles peut être due à la présence des terpènes qui causent la rupture des membranes fongiques et inhibent le développement des champignons (Davidson et *al.*, 2005).

2.3.5. Activité antiviral

Les huiles essentielles riches en phénols ont montré une activité antivirale contre certains virus notamment (Davidson et *al.*, 2005). Comme souches virales de la grippe, les adénovirus, les

souches de la fièvre glandulaire, de l'entérite virale, de l'entérocolite virale et le VIH-1. Pour lutte contre les virus il y a des méthodes d'action antivirales par interfèrent avec la glycoprotéine de surface dans l'enveloppe virale pour empêchant l'attachement du virus avec la cellule hôte (Schnitzler et *al.*, 2001)

2.4. Toxicité

La présente étude a montré une faible toxicité de l'huile de *Pistacialentiscus*. Les hautes valeurs des doses létales orale et intrapéritonéale de HFPL (valeur DL50 = 37 ml / kg de poids corporel, par exemple valeur DL50 = 2,52 ml / kg de poids corporel) montrent leur faible toxicité aiguë toutes les doses, administrées par voie orale et intrapéritonéale, ont provoqué une agitation immédiate et des perturbations comportementales avec se tord, suivi d'une période d'attitude calme et de la sédation (Tableau 2) (Boukeloua et *al.*, 2012).

Tableau 2. Pourcentage de mortalité et de valeurs de DL50 chez les souris traitées avec *Pistacialentiscus* avec des doses uniques par voie orale et intrapéritonéale (Boukeloua et *al.*, 2012).

Administration par voie orale	Dose (ml / kg de poids corporel)	0	20	30	40	50	60
	Mortalité (%)	0	10	30	60	80	100
	DL50 / IC	DL50: 37 ± 1; IC: [34,4 - 39,8] ml / kg de poids corporel.					
Administration Intrapéritonéale	Dose (ml / kg de poids corporel)	0,5	1	2	3	4	5
	Mortalité (%)	0	10	50	60	80	100
	DL50 / IC	DL50: 2,52 ± 0,2; CI: [2,22 - 2,81] ml / kg de poids corporel.					
DL50 - dose létale 50; IC - intervalles de confiance; La DL50 a été déterminée selon la méthode de Kabba et BERHENS (Adjoungoua et <i>al.</i> , 2008).							

Matériel et Méthodes

L'étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche de Toxicologie Moléculaire de l'université Mohamed Seddik Benyahia de Jijel. Il s'articule autour de l'étude phytochimique et l'évaluation de l'effet protecteur de l'huile de fruits de *Pistacia lentiscus* L. contre le stress tissulaire cardiaque induit par le B[a]P chez la souris swiss albinos.

1. Etude phytochimique de l'huile de fruit de *Pistacia lentiscus* L

Nous avons au cours de ce travail disposé de différentes qualités d'huile de *Pistacia lentiscus* L dont celle de la région de Texenna fournie par D^r BENGUEDOUAR Lamia, et étant préparée juste après cueillette du fruit du pistachier lentisque datant de 2019.

Cette huile a été soumise à une exploration *in vitro* de sa composition en polyphénols et en flavonoïdes.

1.1. Extraction des composés phénoliques de L'huile de *Pistacia lentiscus* L

Les composés phénoliques ont été extraits de l'huile de *Pistacia lentiscus* L selon la méthode décrite par Cert et *al.*, (2007). Pour ce faire, 2g d'huile ont été pesé et mélangé avec 5 ml d'un mélange méthanol / eau (80/20; v/v) pendant 1 min à l'aide d'un vortex. Le mélange a ensuite été mis dans un bain à ultrasons pendant 15 min à température ambiante et centrifugé à 5000tr/min pendant 25 min. La phase méthanolique a été évaporée à sec dans un évaporateur rotatif (BUCHI R-300) sous vide à 40°C. Le résidu était dissout dans 1 ml de méthanol.

1.2. Dosage des polyphénols totaux

Selon Singleton et Rossi (1999), le dosage des polyphénols totaux s'est effectué en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation du phénol, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 760 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénol présent dans l'huile (Ollivier et *al.*, 2004).

Brièvement, 2 ml de l'extrait méthanolique dilué de manière appropriée est mélangé avec 10 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué à 1/10^{ème} dans l'eau distillé), et incubés pendant 3 minutes à l'obscurité et à température ambiante, puis 8 ml de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (75g/l) sont ajoutés. Après une incubation de 2h, l'absorbance est lue à 760nm grâce à un spectrophotomètre UV-Visible (UV-mini 1240, SHIMADZU, china). La teneur en composés phénoliques dans l'extrait est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique à différentes concentrations (0µg/ml, 0.312µg/ml, 0.625µg/ml, 1.25µg/ml, 2.5µg/ml, 5µg/ml, 10µg/ml, 20µg/ml). Les résultats sont exprimés en µg d'équivalent d'acide gallique / g d'huile (Dorman et *al.*, 2015).

1.3. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes a été mesurée selon la méthode décrite par Dewanto et *al.*, (2002). La technique est basée sur la formation d'un complexe jaune entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium AlCl₃. Pour cela, 250µl de l'extrait méthanolique dilué de manière appropriée est mélangé avec 75µl de NaNO₂ (5%). Après 5min d'incubation à température ambiante, 150µl de AlCl₃ à 10% et 500µl de NaOH (1M) ont été ajoutés. En utilisant l'eau distillée, le mélange a été ajusté à 2,5ml et l'absorbance a été lu à 510 nm. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme de l'extrait, en utilisant la courbe d'étalonnage de la quercétine (0µg/ml, 0.312µg/ml, 0.625µg/ml, 1.25µg/ml, 2.5µg/ml, 5µg/ml, 10µg/ml, 20µg/ml)(Dorman et *al.*, 2015).

2. Etude de l'effet antioxydant de l'huile de *Pistacia lentiscus*L. sur le stress oxydatif cardiaque *in vivo*.

2.1. Entretien des animaux

Les animaux utilisés au cours de cette étude sont des souris swiss albinos pesant entre 25 à 34g provenant de l'institut pasteur, Alger (Algérie). Après une mise en quarantaine de 10 jours, les animaux ont été conservés dans des conditions standard d'élevage avec une température de 20-25°C, hygrométrie de 60% et un cycle naturel jours-nuit, et avec accès libre à l'alimentation et à l'eau.

2.2. Traitement des animaux

Nous avons induit une toxicité cardiaque par le B[a]P (cat n°. B10080, Sigma Aldrich) chez les souris swiss albinos, le B[a]P a été solubilisé dans l'huile d'olive (10mg/ml). Le prétraitement à l'huile de lentisque est également préparé dans l'huile d'olive utilisée comme véhicule à la concentration de 250µl/ml dont seulement 200µl sont administrés par animal et par jour.

Seize souris ont été utilisées dans cette étude et réparties en 4 lots:

Lot 1 (Témoin, n=3) : Les souris reçoivent les véhicules 0,3 ml d'huile d'olive (HO) par voie orale pendant 5 jours. Le 6^{ème} jour, les animaux reçoivent 0,3ml de l'HO par voie intrapéritonéale.

Lot 2 (B[a]P, n=3) : les souris sont quotidiennement 0,3 ml de HO par voie orale pendant 5 jours. Le 6^{ème} jour, ils reçoivent une dose unique de B[a]P (100mg/kg) par voie intrapéritonéale.

Lot 3 (HFPL+B[a]P, n=3) : les souris reçoivent de l'HFPL par gavage intra gastrique à la dose de 1.66ml /kg pendant cinq jours. Le 6^{ème} jour, les animaux sont traités avec une dose de 100 mg/Kg de B[a]P par voie intrapéritonéale. **Lot 4** (HFPL, n=5) : les animaux reçoivent de l'HFPL par gavage intra gastrique à la dose de 1.66ml /kg pendant cinq jours. Le 6^{ème} jour, ils sont traités avec 0.3ml d'huile d'olive par voie intrapéritonéale.

2.3. Sacrifice des animaux et prélèvement d'organe (cœur)

Le sacrifice des souris a été réalisé 48h après l'administration du B[a]P. Le cœur est prélevé et lavé dans une solution d'eau physiologique (NaCl 0.9%). Ensuite, le cœur de chaque souris est pesé, coupé en deux parties : l'une est étiquetée et conservée dans à -20°C pour l'évaluation des paramètres de stress oxydant et l'autre est fixée dans une solution de formol (tampon phosphate 0,1 M à pH 7 contenant du formol à 10%) afin de réaliser des coupes histologiques ultérieurement.

3. Dosage des paramètres du stress oxydatif dans le cytosol myocardique

3.1. Préparation de la fraction cytosolique cardiaque.

La fraction cytosolique est préparée selon la méthode d'Iqbal et *al.*, (2003). Pour cela, le cœur est coupé homogénéisé avec trois (03) volumes de tampon phosphate (KH_2PO_4 à 0.1 M, pH=7.4) contenant du KCl à 1.17%. Après découpage en morceaux de l'organe, un homogénat tissulaire est préparé à l'aide d'un homogénéisateur de DOUNCE. Il est ensuite centrifugé à 4000 rpm pendant 15 min à 4°C à l'aide d'une centrifugeuse SIGMA 3-16 PK pour éliminer les débris nucléaires, le surnageant est centrifugé 9600 rpm pendant 30 min à 4°C. Le surnageant ainsi obtenu est utilisé comme source enzymatique cytosolique.

3.1.1. Dosage du glutathion cytosolique cardiaque (GSH)

Pour l'évaluation du taux de glutathion réduit chez les souris traitées, nous avons utilisé la méthode de Sedlak et Rayond, (1967) utilisant le réactif d'Ellman. Il s'agit d'une réaction chimique évaluant en une seule étape suivie d'une détection colorimétrique. Le réactif d'Ellman (Acide 5,5-dithiobis-(2-nitrobenzoïque) ou DTNB réduit le groupe thiol (SH) pour donner une mole d'acide 2-nitro-5-mercaptobenzoïque par mole de SH. L'acide mercaptobenzoïque est un anion ayant une intense coloration jaune et par conséquent peut être utilisé pour évaluer les groupes thiols (SH) (figure 9).

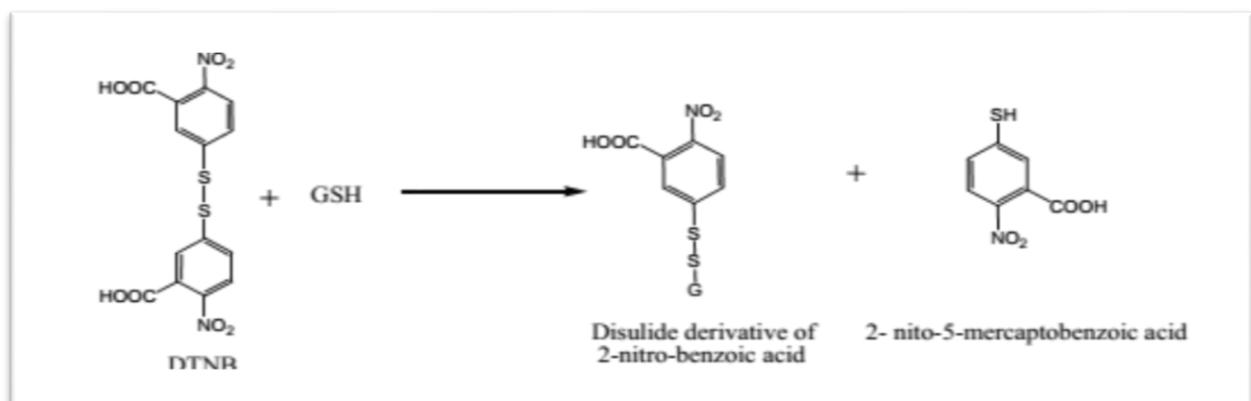


Figure9. Principe du dosage du GSH (Sedlak et Rayond, 1967).

Pour ce dosage, il était nécessaire d'ajouter du TCA (5%) à la fraction cytosolique (v/v) de cœur afin de précipiter les protéines, le mélange est centrifugé de 10 min à 2000 rpm. 25 µl du surnageant sont dilués dans 5 ml de tampon phosphate (Na_2HPO_4 , 0,1 M ; pH = 8). À 3 ml de ce mélange, 20 µl de DTNB (0,01 M préparé dans le méthanol) sont additionnés ; une couleur jaune se développe après 15 min d'incubation, la lecture de la densité optique est effectuée à 412 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY 7315 Spectrophotomètre), contre le blanc préparé dans les mêmes conditions avec le tampon phosphate (KH_2PO_4 , 0,1 M, pH 7,4) contenant KCl (1,17%).

Les taux du glutathion réduit sont exprimés en mM/mg de protéine (Garcia et Martinez, 2012). Ils sont déduits à partir d'une gamme étalon de glutathion préparée dans les mêmes conditions que le dosage (Annexe 3).

3.1.2. Mesure de l'activité enzymatique de la Catalase (CAT) cytosolique cardiaque

L'activité enzymatique de la catalase (CAT) a été estimée dans la fraction cytosolique de cœur par la méthode de Clairborne (1985), dont le principe est basé sur la disparition de l' H_2O_2 en présence de la source enzymatique à 25 °C selon la réaction suivante :



Dans une cuve en quartz, 0,025 ml de la source enzymatique (fraction cytosolique) est additionnée à un mélange fraîchement préparé constitué de 1 ml du tampon phosphate (KH_2PO_4 à 0,1 M, pH 7,2) et 0,950 ml d'une solution de H_2O_2 (0,019 M). La décomposition de l' H_2O_2 en présence de la source enzymatique est suivie à 240 nm chaque minute pendant 2 minutes par une diminution de l'absorbance et l'activité enzymatique est calculée en termes d'unité internationale par milligramme de protéine (UI/mg de protéine) (Garcia et Martinez, 2012).

Les résultats sont exprimés en UI/mg de protéines selon l'équation suivante

$$\text{Activité Enzymatique de la Catalase (UI/mg de protéine)} = \frac{2.303}{T} \times \log \frac{A_1}{A_2} / \text{mg de protéines.}$$

Sachant que :

T : Intervalle de temps en minute.

A1 : Absorbance au temps 0 min

A2 : Absorbance après 1 min

3.1.3. Dosage du Malondialdéhyde (MDA) cytosolique du coeur

La peroxydation lipidique dans au niveau du tissu cardiaque est évaluée par la quantification du malondialdéhyde (MDA) qui est un produit métabolique résultant de l'attaque des lipides membranaire (acides gras polyinsaturés) par les radicaux libres (Yalçin et *al.*, 2010).

La détermination de la concentration du MDA au niveau de la fraction cytosolique est réalisée par la méthode d'Ohkawa et *al.*, (1979) en utilisant l'acide thiobarbiturique (TBA). En effet, la détection du MDA présent dans les échantillons biologiques se base sur la réaction au cours de laquelle, une molécule de MDA en milieu acide (pH 2 à 3) et à chaud (100°C) est condensé avec deux molécules de TBA pour former un complexe coloré en rose (figure10) susceptible d'un dosage spectrophotométrique à une longueur d'onde ($\lambda = 532 \text{ nm}$).

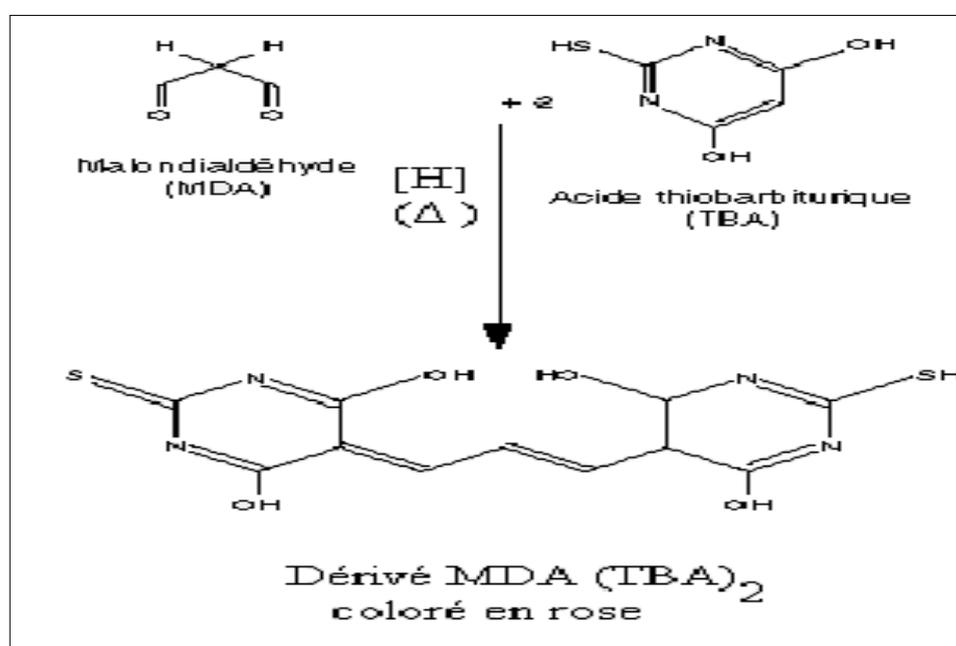


Figure 10. Principe du dosage de malondialdéhyde (Laguerre et *al.*, 2007).

Pour ce dosage, un mélange réactionnel est préparé constitué de : 250 μ l de la fraction cytosolique de coeur, 250 μ l du TCA (20%) et 500 μ l du TBA (0.67% dans NaOH 2N). Ce mélange est chauffé à 100°C pendant 15 min puis refroidi sous un cours d'eau de robinet. 2 ml de n-butanol sont ajoutées et après une centrifugation de 15 minutes à 3000 rpm, la densité optique du surnageant est mesurée à 532 nm contre un blanc dans les mêmes conditions avec 250 μ l du tampon d'homogénéisation (KH_2PO_4 à 0.1 M, pH=7.4) contenant KCl (1.17%).

Le calcul des concentrations du MDA selon la loi de Beer Lambert : $DO = \epsilon l.c$. En utilisant le coefficient de d'extinction moléculaire du MDA ($0.53 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Les résultats sont exprimés en mmol de MDA/mg de protéine (Garcia et Martinez, 2012).

3.1.4. Dosage des protéines totales

Le dosage est réalisé selon la méthode Bradford (1976). Cette méthode est basée sur un dosage colorimétrique détectant le changement de couleur du Bleu de Coomassie à 590 nm, après complexation avec les acides aminés aromatiques et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans l'échantillon. Le changement de l'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant lié donc à la concentration en protéines dans l'échantillon. Pour cela, La fraction cytosolique est au préalable diluée au 1/10^{ème} dans l'eau distillée. 25µl d'échantillon dilué sont ensuite ajoutés à 1 ml du réactif de Bradford (dilué au 1/5^{ème} dans l'eau distillée). Le mélange est incubé à température ambiante pendant 15 min et une mesure d'absorbance est prise à 595 nm par un spectrophotomètre. La concentration des protéines a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage préparée avec de l'albumine sérique bovine (BSA) dans les mêmes conditions (annexe4).

4. Etude histologique microscopique

Les fragments de cœur sont fixés dans le formol tamponné (tampon phosphate 0,1 M à pH 7 contenant du formol à 10%) Un processus de déshydratation est réalisé par trempage du tissu fixé dans des bains successivement plus concentré d'éthanol (70°, 90°) puis dans l'éthanol absolu pendant 5 minutes pour chaque bain, ensuite dans du xylène pour éliminer l'alcool. L'échantillon ainsi déshydraté est placé dans un bain de paraffine et laissé pour l'imprégnation à 56°C, en refroidissant, se forme un bloc dans lequel le tissu est inclus. Après la réalisation des blocs, des coupes de 5µm d'épaisseur ont été préparées à l'aide du microtome. Les coupes obtenues sont ensuite déparaffinées par le xylène puis réhydratées dans des bains d'éthanol successivement moins concentrés (100°, 90°, 70°), puis dans l'eau, ensuite colorées avec l'hématoxyline et l'éosine, afin de permettre la mise en évidence des noyaux (bleu pourpre) et du cytoplasme (rouge) lors de l'observation microscopique (Shahid *et al.* 2016).

5. Etude statistique

Les résultats numériques et graphiques sont représentés sous forme de moyenne \pm écartype. Nos résultats sont vérifiés par le test de *student* avec un seuil de signification supérieur à 95% ($p < 0.05$).

- ($P > 0.5$), effet non significatif ns.
- ($P < 0.05$), désigne effet significatif * ou #.
- ($P < 0.01$), désigne effet hautement significatif ** ou ##.
- ($P < 0.001$), désigne effet très hautement significative significatif *** ou ###.

(* comparaison avec le témoin) ou (# comparaison avec le lot traité par Benzo(a)pyrène). Le calcul statistique est réalisé en utilisant le logiciel EXCEL 2007.

Résultats et discussion

I. Résultats et interprétation

Cette étude a pour but d'évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques de l'HFPL contre le stress oxydatif induit par le B[a]P *in vivo*.

1. Etude phytochimique

Les résultats de l'étude phytochimique de l'huile de fruit de *Pistacia lentiscus*L(HFLP) sont représentés ci-dessous :

1.1. Rendement d'extraction

L'extraction des principes actifs est effectuée par la laisser 2g l'HFPL avec un solvant (méthanol 80%) pour en extraire le maximum des principes actifs. L'évaporation à sec de l'extrait méthanolique de l'HFPL a été effectuée à l'aide d'un évaporateur rotatif (Boutch R-300). Les résultats du rendement d'extraction sont représentés dans le tableau 3 ci-dessous.

Les résultats du rendement d'extraction sont représentés dans le tableau 3 ci-dessous :

Tableau 3. Rendement d'extraction de l'HFPL.

L'échantillon	Poids de l'huile (g)	Rendement d'extraction (%)
HFLP	2g	20%

D'après les résultats obtenus, le rendement d'extraction est important, il est de 20% par rapport au poids initial d'huile.

1.2. Teneur en polyphénols et flavonoïdes de L'huile de fruits de *Pistacia lentiscus*L.

La teneur en composés phénoliques dans l'HFPL exprimée en μg équivalent d'acide gallique et μg équivalent quercétine par g d'huile, pour les polyphénols et les flavonoïdes respectivement. Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, de l'extrait méthanolique de l'HFPL sont représentées dans le Tableau 4.

Tableau 4. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de l'HFPL.

Echantillon	Teneur en polyphénols ($\mu\text{gEq AG/g}$ d'huile)	Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g Eq Q/g}$ d'huile)
Extrait méthanolique de l'huile de fruits de <i>Pistacia Lentiscus</i> de la région de Texenna	11,62	467,10

Résultats et Discussion

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique de l'huile de fruit de *Pistacia lentiscus* L. est riche en composé phénolique (flavonoïdes (467,10 µgEq Q/g d'huile) et en polyphénols (11,62 µgEq AG/g d'huile).

2. Variations des poids corporels des animaux

Les poids des animaux ont été relevés le 7^{ème} jour avant le sacrifice des souris. Le tableau 5 représente les valeurs de ratio des poids.

Tableau 5. Valeurs de ratio des poids.

Traitement	Contrôle	B[a]P	HFPL	B[a]P+HFPL
Ratio des poids cardiaque / poids corporel %	0,54±0,01	0,752±0,01**	0,61±0,03#	0,57±0,01#

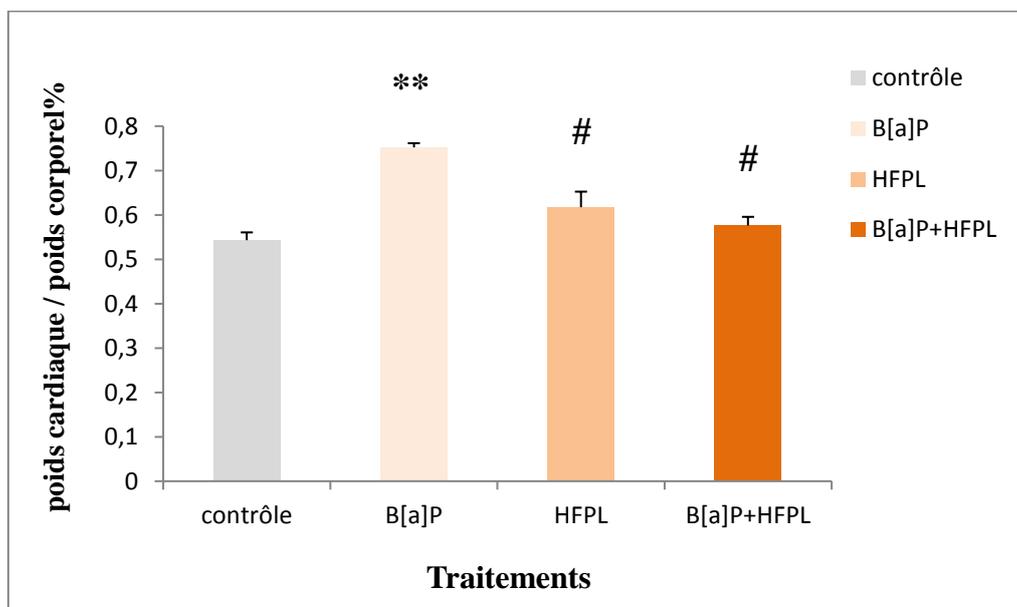


Figure 11. Ratios poids cardiaque / poids corporel (%).

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type. Test de Student : -comparaison par rapport au témoin : **: ($p \leq 0,01$) désigne un effet hautement significatif, : -comparaison par rapport au groupe B(a)P : #: ($p \leq 0,05$) désigne un effet significatif.

D'après nos résultats (Figure 11), les souris traitées par B[a]P subissent une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) Les ratios poids cardiaque / poids corporel (%) par rapport aux souris témoins (0,75±0,01 contre 0,54±0,01). Alors que les ratios poids cardiaque / poids corporel (%) diminuent de façon significative ($p \leq 0,05$) chez les souris prétraités par HFPL (0,57±0,01 contre 0,75±0,01) ce qui est aussi observé chez les souris ayant reçu l'huile seule de manière significative ($p \leq 0,05$) (0,61±0,03 contre 0,75±0,01) en comparaison avec les rats traités par B[a]P.

3. Evaluation les paramètres du stress oxydant cardiaque

3.1. Variation du taux de glutathion cardiaque en (GSH)

L'évaluation des taux de GSH chez les souris ayant reçues les traitements au B[a]P à la dose de 100mg/kg administré par voie intrapéritonéale et /ou un prétraitement à l'HFPL à la dose de 1.66ml/Kg) par voie orale est présenté dans la figure12 et tableau 6.

Tableau 6. Valeurs de taux de GSH cytosolique cardiaque.

Traitement	Contrôle	B[a]P	HFPL	B[a]P+ HFPL
Taux GSH cytosolique (mM/mg de protéine)	2,93±0,03	0,98±0,02***	1,75±0,28**#	2,70±0,59#

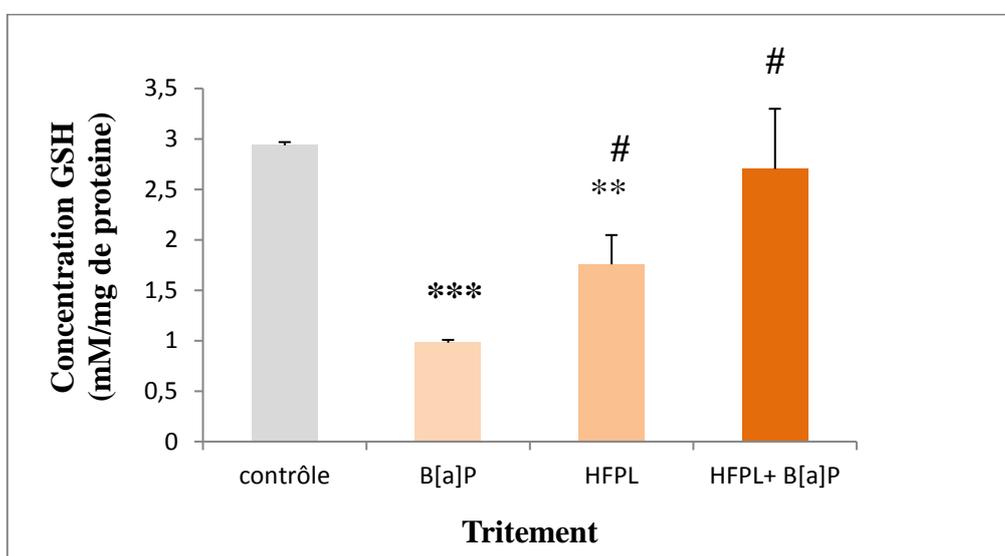


Figure 12. Variation du taux de GSH cytosolique cardiaque.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Test de Student : -comparaison par rapport au témoin : **: ($p \leq 0,01$) désigne un effet hautement significatif, ***: ($p \leq 0,001$) désigne un effet très hautement significatif. : -comparaison par rapport au groupe B(a)P: #: ($p \leq 0,05$) désigne un effet significatif.

D'après nos résultats, les souris traitées par la B[a]P subissent une déplétion très hautement significative ($p \leq 0.001$) (0,98±0,02 mM/mg protéines) du taux de GSH cardiaque, et aussi une diminution hautement significative ($p \leq 0.01$) chez le groupe traité par l'HFPL seule (1,75±0,28 mM/mg protéines) par rapport aux souris témoins avec des concentrations de (2,93±0,03 mM/mg protéines)

Alors que le taux de GSH augmente de façon significative ($p \leq 0.05$) chez les souris prétraitées par HFPL et en association avec B [a]P (2,70±0,59 mM/mg protéines) ce qui est aussi observé chez les

Résultats et Discussion

souris ayant reçues l'huile seule de manière significative ($p \leq 0.05$) ($1,75 \pm 0,28$ mM/mg protéines) en comparaison avec les souris traités par B[a]P ($0,98 \pm 0,02$ mM/mg protéines).

3.2. Effets des différents traitements sur le taux du MDA cytosolique cardiaque

Les taux de MDA dans les tissus cardiaques indicateur significatif de la peroxydation lipidique de la membrane, et généralement acceptée comme indicateur du stress oxydatif résultant d'une surproduction de EROet de la diminution des défenses antioxydantes (Yalçin *et al.*, 2010).

La figure 13 et tableau 7 représente les variations des taux du MDA cytosolique après traitement par le B[a]P (100 mg/kg).

Tableau 7. Variations du Taux de MDA cytosolique cardiaque.

Traitements	Contrôle	B[a]P	HFPL	B[a]P+HL
Taux de MDA cytosolique ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines)	$217,52 \pm 17,24$	$343,77 \pm 104,29^*$	$397,61 \pm 65,60^*$	$437,04 \pm 25,57^{***}$

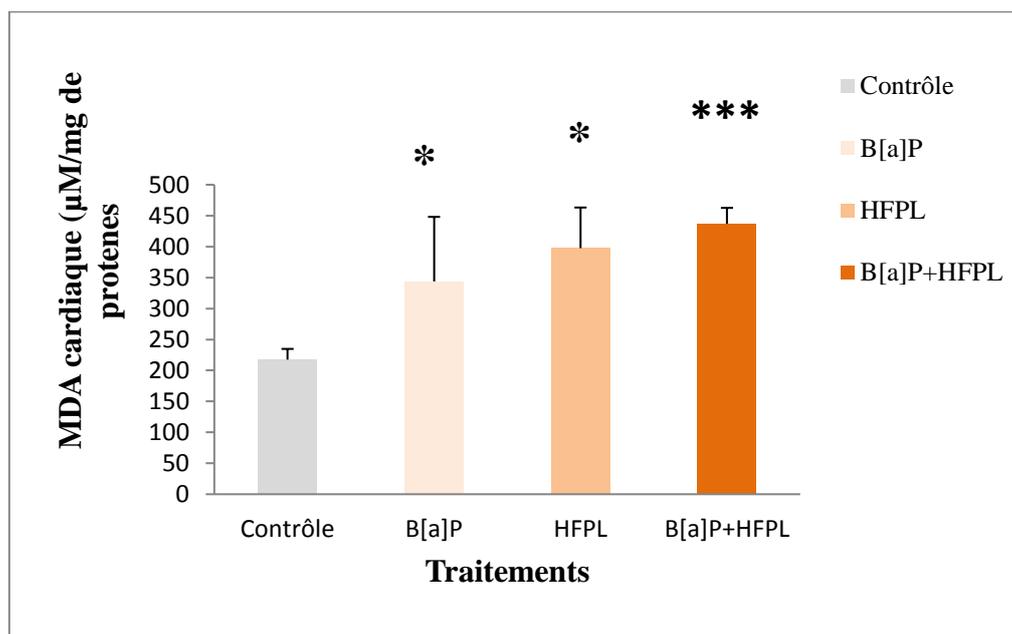


Figure 13. Taux du MDA cytosolique cardiaque.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Test de Student : -comparaison par rapport au témoin : * : ($p \leq 0,05$) désigne un effet significatif, ** : ($p \leq 0,01$) désigne un effet hautement significatif, *** : ($p \leq 0,001$) désigne un effet très hautement significatif.

Selon les résultats obtenus dans la figure 13 :

Le taux de MDA augmente de façon significative ($p \leq 0,05$) chez les souris traitées par B[a]P par rapport aux témoins ($343,77 \pm 104,29$ contre $217,52 \pm 17,24 \mu\text{M} / \text{mg}$ de protéine). Chez les souris traitées par HFPL, nous avons constaté une augmentation significative ($p \leq 0,05$) de 45,29 % des taux du MDA qui atteint $397,61 \pm 65,60$ contre $217,52 \pm 17,24 \mu\text{M} / \text{mg}$ de protéine chez les souris témoins.

D'une part il y a une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) de 50,22 % chez les souris prétraitées par HFPL, par rapport aux témoins ($437,04 \pm 25,57$ contre $217,52 \pm 17,24 \mu\text{mol} / \text{mg}$ de protéine).

3.3. Effet des différents traitements sur l'activité enzymatique de la catalase cytosolique cardiaque

La figure 14 et le tableau 8, ci-dessous illustre l'activité de la CAT cytosolique cardiaque chez les souris traitées par le B[a]P (100mg/kg) par voie intrapéritonéale, un prétraitement à l'HFPL seul par voie orale ou en association avec B[a]P.

Tableau 8. Variations de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique cardiaque.

Traitements	Contrôle	B[a]P	HFPL	B[a]P+HFPL
L'activité de la CAT cytosolique (UI /mg de protéine)	$8,92 \pm 2,71$	$1,63 \pm 0,92^*$	$8,27 \pm 2,78^\#$	$3,36 \pm 0,59^{* \#}$

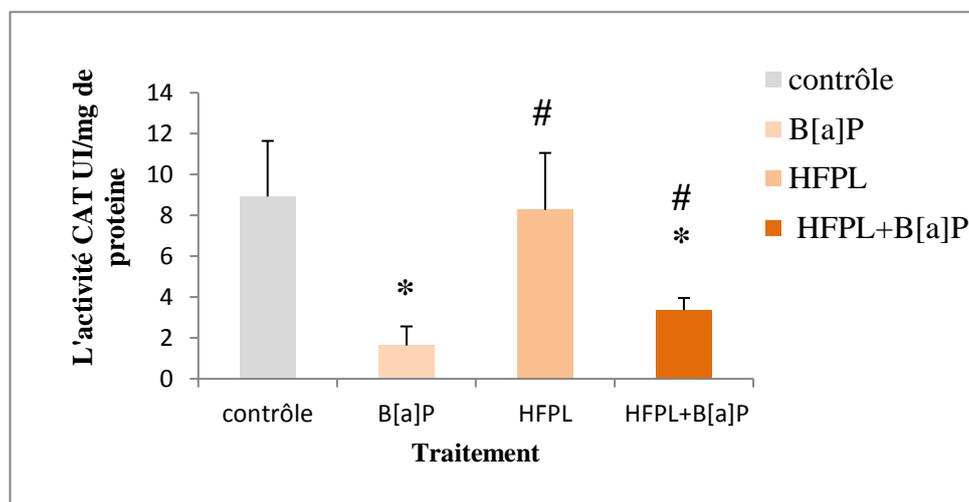


Figure 14. Variations de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique cardiaque.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Test de Student : -comparaison par rapport au témoin : * : ($p \leq 0,05$) désigne un effet significatif. : -comparaison par rapport au groupe B(a)P: # : ($p \leq 0,05$) désigne un effet significatif.

Résultats et Discussion

D'après les résultats, nous avons remarqué que l'administration le B[a]P seuls a induit une diminution significative ($p \leq 0,05$) de l'activité de la Catalase ($1,63 \pm 0,92$ UI /mg deprotéine) par rapport aux souris témoins ($8,92 \pm 2,71$ UI /mg deprotéine)

La mesure de l'activité enzymatique de la CAT chez les souris prétraitées par HFPL seule a montré une augmentation significative ($p \leq 0,05$) ($8,27 \pm 2,78$ UI /mg deprotéine) par rapport aux souris traitées par le B[a]P ($1,63 \pm 0,92$ UI /mg deprotéine). De même pour le prétraitement par HFPL associé au B[a]P ($3,36 \pm 0,59$ UI /mg deprotéine).

3. Etude histologique microscopique

La figure 15 ci-dessous montre les résultats de l'étude histologique microscopique des tissus cardiaques des souris traités par le B[a]P seul (100 mg/ml), en association avec l'HFPL seul (1,16ml/kg).

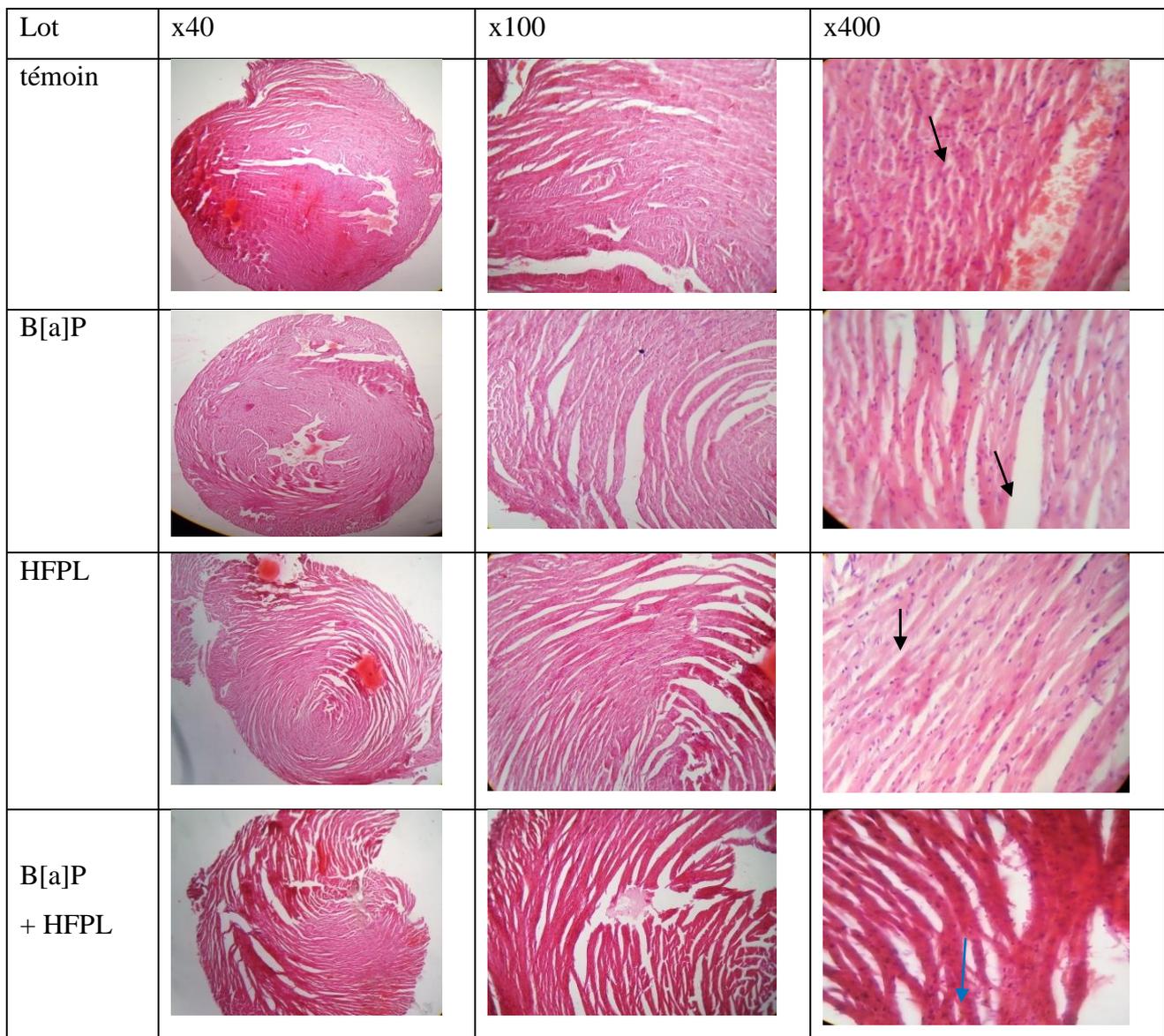


Figure15. Coupes histologiques colorées à l'hématoxyline et à l'éosine des tissus cardiaque.

Les cellules du muscle cardiaque en coupe longitudinale sont apparues courtes, striées, ramifiées, formant un réseau. En outre, la plupart des cellules du muscle cardiaque ne possèdent qu'un seul noyau, de taille fiable, et situé au centre.

Chez le témoin, le tissu cardiaque a révélé une architecture normale et saine (Les cellules musculaires cardiaques sont des fibres allongées, à ramification, présentant des bandes transversales identiques aux cellules musculaires triées. Le sarcomère cardiaque a une structure similaire aux cellules triées, à ceci près que les filaments dans le cœur sont des fibres continues, elles sont soudées les unes aux autres grâce à des disques intercalaires, et contrairement aux myocytes striés, ils forment un véritable syncytium grâce des "gap junction", ponts intercellulaires). Cependant, l'examen histopathologique de cœur du groupe traité par le B[a]P est caractérisé par une augmentation de la taille des cardiomyocytes (flèche noire). Par contre, le prétraitement par l'HFLP a offert une atténuation considérable de ces anomalies (flèche bleu).

II. Discussion

Le but de notre travail a est d'évaluer l'état du stress oxydatif induit par le B[a]P dans le tissu cardiaque chez les souris. Pour cela, nous avons d'abord induit une toxicité aigue au niveau du cœur chez les souris swiss albinos selon un protocole expérimental. Ce dernier a consisté en l'administration de HFPL aux animaux (1.66ml/Kg) par voie orale, suivie par l'injection d'une dose intrapéritonéal unique de 100mg /kg du B[a]P.

Afin de déterminer le statut oxydatif cardiaque, trois paramètres (GSH, CAT, MDA) ont été évalués dans des conditions normales ou d'intoxication par B[a]P et ceci en présence ou absence de HFPL.

Le thème de recherche que nous avons traité au cours du présent travail n'a jamais été abordé auparavant, de ce fait très peu de travaux sont recensés en termes des effets toxiques des HAP y compris le B[a]P sur le myocarde *in vivo* et son exploration fonctionnelle. Pour cela nous nous sommes orientées vers la comparaison des effets du B[a]P sur d'autres organes *in vivo*.

1. Rendements des composants phénoliques et flavonoïdes de l'huile fixe de *Pistacia lentiscus L*

Les résultats de l'analyse phytochimique de la teneur en polyphénols et flavonoïdes effectuée sur l'extrait méthanolique de l'HFPL ont montré la présence des polyphénols et flavonoïdes. C'est résultats n'est pas similaires avec les résultats de Zrira et ses collaborateurs (2003). Ces variations dans la teneur en composés phénoliques dépend du climat, la localisation géographique (Ryan et *al.*, 1999), maturité, conditions de stockage et les différentes maladies qui peuvent affecter la plante (Poyrazoglu et *al.*, 2002). Les composés phénoliques sont bien connus comme étant des agents antioxydants et dirigé contre les radicaux libres associés aux dommages oxydatifs. Ces Substances sont capables de réduire les radicaux libres tels que l'anion superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyde. La réduction se fait par une réaction de transfert d'hydrogène aux ERO (Jovanovic et *al.*, 1994).

2.Evaluation les paramètres du stress oxydant cardiaque

2.1. Evaluation du poids des animaux

Dans la présente étude, les ratios poids cardiaque / poids corporel (%) ont été significativement augmentés par l'exposition au B[a]P, Ces résultats sont en accord avec Aboutabl et ses collaborateur (2011) qui montre une augmentation du rapport entre le poids du cœur et le poids corporel ainsi que des marqueurs de l'hypertrophie chez des rats Sprague-Dawley ayant reçu par injection intrapéritonéale une dose de B[a]P de 20 mg/kg p.c. par jour pendant 7 jours par rapport aux témoins traités à l'huile de maïs (Aboutabl et *al.*, 2011).

2.2. Evaluation les paramètres du stress

Le glutathion (GSH) est un tripeptide essentiel omniprésent (Glu-Cys-Gly) contenant un groupe sulfhydryle qui lui permet de protéger les cellules contre les oxydants, les composés électrophiles et les xénobiotiques. Le glutathion existe sous les formes réduite (GSH) et oxydée (GSSG), qui peuvent être converties entre elles par les enzymes glutathion peroxydase (GPx) et glutathion réductase (GR) (El-Beltagi et Mohamed, 2013).

Dans les cellules de mammifère, le cycle entre GSH et GSSG sert à éliminer les espèces réactives de l'oxygène (ERO) telles que le H₂O₂ produit en raison de la respiration cellulaire ou du métabolisme des substances toxiques, et à protéger les cellules contre les lésions oxydatives (Lin et Yang, 2007).

La déplétion du GSH est certainement due à sa consommation lors des réactions de conjugaison avec les métabolites du B[a]P. Les produits de la peroxydation lipidique et le peroxyde d'hydrogène. Provoquent l'altération du rapport GSH/GSSG par déplétion de GSH et l'accumulation de glutathion oxydé dans la cellule ce qui entraîne une oxydation des groupements –SH des produits conduisant ainsi à la formation de ponts disulfure intra et extra moléculaire. Ces résultats sont en parfait accord avec les résultats obtenus par (Emre et *al*, 2007).

Selon Klibt et ses collaborateurs (2016). L'effet protecteur de FHPL est dû à son contenu élevé en antioxydants notamment les polyphénols et flavonoïdes, qui jouent certainement un rôle important *in vivo*.

La FHPL est riche en acides gras tels que l'acide oléique et l'acide linoléique (Djerrou, 2014), qui exercent une action protectrice en piégeant les radicaux libres et en réduisant la peroxydation des lipides(Saha et Ghosh, 2010).

La catalase est une enzyme antioxydante omniprésente qui dégrade le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. Plusieurs agents pathogènes produisent de la catalase afin de se défendre contre les attaques du peroxyde d'hydrogène. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Iwase et *al.*, 2013).

La diminution de l'activité enzymatique peut refléter une réduction de la capacité des mitochondries et des microsomes à éliminer le H₂O₂ produit en réponse au B[a]P (Lehucher Michel et *al.*, 2001). Ce qui explique sa diminution dans le groupe d'animaux traités par le B[a]P en comparaison avec les animaux du groupe témoin .Ceci est en n'accord pas avec l'étude de Beng et collaborateurs (2018) (Deng et *al.*, 2018).

Résultats et Discussion

Le prétraitement des souris par l'HFPL a augmenté l'activité enzymatique de la CAT par rapport aux souris qui reçoit le benzo(a)pyrène. L'explication probable de cet effet est l'induction de l'expression de la CAT, ou l'activation de ce enzyme ce qui prouve l'effet préventif de l'HFPL. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par Ben khedir et *al.*, (2016) ; Abidiet *al.*, (2017) qui ont montré une réduction significative de l'activité de la CAT chez les souris prétraité par HFPL. Le MDA est un marqueur de stress oxydatif bien connu et plusieurs études ont montré qu'une augmentation significative de la formation de malondialdéhyde (MDA), un produit de peroxydation lipidique, était observé après le traitement par B[a]P (Gupta et *al.*, 2009 ; Liu et *al.*, 2015). L'augmentation des taux de MDA chez les souris traitées avec B[a]P démontrant que les enzymes antioxydantes, telles que la SOD et la CAT, étaient inhibées dans un intervalle de temps de 24 h à 72 h après le traitement et des radicaux libre générés par B[a]P ($O^{\cdot-}$, H_2O_2) s'accumulent rapidement dans le corps(Deng et *al.*, 2018), et attaque les résidus d'acide gras polyinsaturés de phospholipides qui provoque une altération du fonctionnement de la membrane, une détérioration de l'intégrité structurelle, une diminution de la liquidité et une perturbation du nombre de récepteurs de protéines et d'enzymes associées à la membrane (Senthilnathan et *al.*, 2006).

L'effet préventive de HFPL conduit à augmentation non significative de MDA donc le HFPL agissent comme pro-oxydants, dans ces conditions ceci est dû aux des doses élevées ou la présence d'ions métalliques ou leur potentiel de réaction avec des concentrations bénéfiques de ERO normalement présentes dans les conditions physiologiques nécessaires au fonctionnement cellulaire optimal (Watjen et *al.*, 2005), conduisant à la formation de réactives espèces d'oxygène et d'autres radicaux organiques qui peuvent endommager l'ADN, les lipides et d'autres substances biologiques (Sakihama, 2002).

Au niveau histologique, les cellules cardiaques traitées par le benzo[a]pyrène est caractérisée par une augmentation de la taille des cardiomyocytes, sans prolifération. Cependant, certaines autres cellules présentes dans le myocarde, en particulier les cellules endothéliales des vaisseaux coronariens et les fibroblastes des espaces interstitiels, augmentent en taille et prolifèrent, avec pour conséquence une production excessive de matrice extracellulaire et de collagène, entraînant des lésions irréversibles de fibrose myocardique (Weber et *al.*, 1989). Ces résultats sont on accord avec les résultats de Huang et ses collaborateurs (2014) qui montre que l'exposition au B[a]P augmente le collagène déposé dans les sections cardiaques (Huang *al.*, 2014).

Conclusion

Conclusion

Le stress oxydatif est un processus qui aboutit à la production d'espèces réactives de l'oxygène, entraînant l'oxydation de différentes molécules, ce qui finit par une altération parfois irréversible des organes. Le B[a]P induit le stress oxydatif, qui joue un rôle important dans sa toxicité. Les effets toxiques du B[a]P ont été liés à ses intermédiaires hautement réactifs et aux ERO produites au cours de sa bioactivation.

Le présent travail portant sur deux axes dont le premier concerne l'analyse phytochimique de l'huile de fruit de *Pistacia lentiscus L* de la région de Jijel, par le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes, le deuxième axe porte sur l'évaluation de la toxicité du B[a]P et l'activité cardioprotectrice et antioxydante de l'HFPL. De cette étude nous pouvons ressortir les points suivants:

- ❖ L'étude phytochimique de l'extrait de fruit d'huile de *Pistacia lentiscus L* a fourni un rendement de 20%, l'étude qualitative a donné un taux de 11, 62 µgEq AG/g d'huile et 467,12 µgEq Q/g d'huile des polyphénols et des flavonoïdes respectivement.
- ❖ Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que le traitement par une dose unique de 100 mg/kg de B [a]P a induit une toxicité cardiaque chez la souris swiss albinos.
- ❖ Sur le plan histologique, Cette toxicité est traduite par des altérations impliquant une hypertrophie au niveau cardiaque à cause de l'augmentation de la peroxydation lipidique (MDA).
- ❖ Le prétraitement par l'HFPL a réduit la toxicité du B[a]P par l'amélioration du taux des antioxydants (CAT et GSH) mais d'autre part l'HFPL utilisé à la dose de 1.66 ml/Kg a provoqué l'augmentation de la peroxydation lipidique (MDA) et montre ainsi un effet nocif sur les parois cellulaires.

Ce travail ne représente donc qu'une étude préliminaire qui est certes prometteuse mais qui nécessite des études complémentaires afin de pouvoir élucider le mécanisme exacte de la toxicité cardiaque de B[a]P et de l'effet cardioprotecteur de l'HFPL et ce à travers :

- Une exploration fonctionnelle sur le plan biochimique par le dosage biochimique des marqueurs des dommages cardiaques (créatine kinase (CK), LDH, troponine) dosage des protéines (l'albumine).

Conclusion

- Une recherche histochimique ciblant certains marqueurs de l'hypertrophie cardiaque (collagène).
- Détermination de l'expression des médiateurs pro-inflammatoires par RT-PCR : cytokines pro-inflammatoires IL-1, IL6, NO, COX-2 et TNF-alpha.
- Purification de l' HFPL par HPLC pour déterminer les molécules responsables de l'effet protecteur et l'effet toxique.

Références bibliographiques

The title 'Références bibliographiques' is written in a bold, italicized, yellow font. Below the text, there is a shadow effect consisting of multiple horizontal lines that create a sense of depth and movement, making the text appear to float or be cast onto the surface below.

A

- ❖ Aaronson, K.D., and Sackner-Bernstein, J. (2006). Risk of death associated with nesiritide in patients with acutely decompensated heart failure. *JAMA* 296, 1465-1466.
- ❖ Abidi, A., Aissani, N., Sebai, H., Serairi, R., Kourda, N., & Ben Khamsa, S. (2017). Protective effect of *Pistacia lentiscus* oil against bleomycin-induced lung fibrosis and oxidative stress in rat. *Nutrition and cancer*, 69(3), 490-497.
- ❖ Aboutabl, M. E., Zordoky, B. N., Hammock, B. D., & El-Kadi, A. O. (2011). Inhibition of soluble epoxide hydrolase confers cardioprotection and prevents cardiac cytochrome P450 induction by benzo (a) pyrene. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 57(3), 273-281.
- ❖ Arenas-Huertero, F., Apátiga-Vega, E., Miguel-Pérez, G., Villeda-Cuevas, D., & Trillo-Tinoco, J. (2011). Molecular markers associated with the biological response to aromatic hydrocarbons from urban air in humans. *Air Pollution: New Developments*, 87-112.

B

- ❖ Ba, Q., Li, J., Huang, C., Qiu, H., Li, J., Chu, R., ... & Wang, H. (2014). Effects of Benzo [a] pyrene Exposure on Human Hepatocellular Carcinoma Cell Angiogenesis, Metastasis, and NF-κ B Signaling. *Environmental health perspectives*, 123(3), 246-254.
 - ❖ Barouki, R., Coumoul, X., & Fernandez-Salguero, P. M. (2007). The aryl hydrocarbon receptor, more than a xenobiotic-interacting protein. *FEBS letters*, 581(19), 3608-3615.
 - ❖ Beaune, P. H., & Lorient, M. A. (2000). Bases moléculaires de la susceptibilité aux xénobiotiques: aspects métaboliques.
 - ❖ Belfadel, F. (2009). Huile de fruits de *Pistacia lentiscus*. Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Magister dissertation, Université Brothers Mentouri.
-

Référence

- ❖ Ben Khedir, S., Mzid, M., Bardaa, S., Moalla, D., Sahnoun, Z., & Rebai, T. (2016). In vivo evaluation of the anti-inflammatory effect of Pistacia lentiscus fruit oil and its effects on oxidative stress. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
 - ❖ Bendifallah, L., Benmahfoud, A. E., Hameni, Y., & Mameche, S. (2014). Phytochemical Study and in vitro Antimicrobial Activity of Pistacia lentiscus l. In Boumerdes Mountainous Region (Algeria). *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 6(2), 229-237.
 - ❖ Boelens M. H., Jimenez R. (1991). Chemical composition of the essential oils from the gum and from various parts of Pistacia lentiscus L. (mastic gum tree). *Flavour and Fragrance Journal*. 6,(4): 271–275
 - ❖ Boelens, M. H., & Jimenez, R. (1991). Chemical composition of the essential oils from the gum and from various parts of Pistacia lentiscus L.(mastic gum tree). *Flavour and fragrance journal*, 6(4), 271-275.
 - ❖ Bolton, J. L., Trush, M. A., Penning, T. M., Dryhurst, G., & Monks, T. J. (2000). Role of quinones in toxicology. *Chemical research in toxicology*, 13(3), 135-160.
 - ❖ Borrelli, F., & Izzo, A. A. (2000). The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 14(8), 581-591.
 - ❖ Boukeloua, A. H. M. E. D., Belkhiri, A. B. D. E. L. M. A. L. I. K., Djerrou, Z., Bahri, L., Boulebda, N., & Pacha, Y. H. (2012). Acute toxicity of Opuntia ficus indica and Pistacia lentiscus seed oils in mice. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 9(4), 607-611.
 - ❖ Bradford MM. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*.72: 248-254
 - ❖ Brookes, P. (1977). Mutagenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 39(3-4), 257-283.
-

Référence

- ❖ Burczynski, M. E., & Penning, T. M. (2000). Genotoxic polycyclic aromatic hydrocarbon ortho-quinones generated by aldo-keto reductases induce CYP1A1 via nuclear translocation of the aryl hydrocarbon receptor. *Cancer research*, 60(4), 908-915.



- ❖ Castola, V., Bighelli, A., & Casanova, J. (2000). Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(1), 79-88.
 - ❖ Claiborne A. (1985). Catalase activity. Dans : CRC Handbook of methods for oxygen radical research. Édition *Greenwald R.A.* p. 283-284.
 - ❖ Congiu, R., Falconieri, D., Marongiu, B., Piras, A., & Porcedda, S. (2002). Extraction and isolation of *Pistacia lentiscus* L. essential oil by supercritical CO₂. *Flavour and fragrance journal*, 17(4), 239-244.
 - ❖ Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M. C., & Vasseur, P. (1997). Biomarqueurs du stress oxydant chez les animaux aquatiques. *Biomarqueurs en écotoxicologie*, 149-163.
 - ❖ Cotellet, N., Bernier, J. L., Catteau, J. P., Gaydou, E., & Wallet, J. C. (1994). Activite biologique de 24 flavones: Inhibition de la xanthine oxydase et capture de radicaux libres. *BULLETIN DE LIAISON-GROUPE POLYPHENOLS*, 17, 395-396.
 - ❖ Crowell, S. R., Amin, S. G., Anderson, K. A., Krishnegowda, G., Sharma, A. K., Soelberg, J. J., ... & Corley, R. A. (2011). Preliminary physiologically based pharmacokinetic models for benzo [a] pyrene and dibenzo [def, p] chrysene in rodents. *Toxicology and applied pharmacology*, 257(3), 365-376.
 - ❖ Cylene Zambrozi Garcia and Claudia B. R. Martinez Biochemical and genetic alterations in the freshwater neotropical fish *Prochilodus lineatus* after acute exposure to *Microcystis aeruginosa* Neotropical Ichthyology, 10(3):613-622, 2012.
-

D

- ❖ Davidson, P. M., Sofos, J. N., & Branen, A. L. (2005). *Antimicrobials in food*. CRC press.429p.
- ❖ Dedoussis, G. V., Kaliora, A. C., Psarras, S., Chiou, A., Mylona, A., Papadopoulos, N. G., & Andrikopoulos, N. K. (2004). Antiatherogenic effect of Pistacia lentiscus via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*, 174(2), 293-303.
- ❖ Deng, C., Dang, F., Gao, J., Zhao, H., Qi, S., & Gao, M. (2018). Acute benzo [a] pyrene treatment causes different antioxidant response and DNA damage in liver, lung, brain, stomach and kidney. *Heliyon*, 4(11), e00898.
- ❖ Djerrou, Z. (2014). Anti-hypercholesterolemic effect of Pistacia lentiscus fatty oil in egg yolk-fed rabbits: A comparative study with simvastatin. *Chinese journal of natural medicines*, 12(8), 561-566.
- ❖ Dorman H. J. D., Kosar M., Kahlos K., Holman Y., Hiltunen R. 2015. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4563-4569.
- ❖ Dorn, G.W., 2nd, Robbins, J., and Sugden, P.H. (2003). Phenotyping hypertrophy: eschew obfuscation. *Circ Res* 92, 1171-1175.

E

- ❖ El-Beltagi, H. S., & Mohamed, H. I. (2013). Reactive oxygen species, lipid peroxidation and antioxidative defense mechanism. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(1), 44-57.
 - ❖ Ellman GL. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*. 82: 70-77.
-

Référence

- ❖ Emre, M. H., Polat, G. A. A., & Vardt, N. (2007). Effects of benzo (a) pyrene and ethanol on oxidative stress of brain, lung tissues and lung morphology in rats. *Chinese Journal of Physiology*, 50(3), 143.

F

- ❖ Farias JHC., Reis AS., Araujo MAR et Araujo MJMA. (2014). Effects of stingless bee propolis on experimental asthma. *evidence- Based Complementary Alternative Medicine*. p. 23.

G

- ❖ Gao, P., Xu, M., Liu, Y., da Silva, E. B., Xiang, P., & Ma, L. Q. (2019). Emerging and legacy PAHs in urban soils of four small cities: Concentrations, distribution, and sources. *Science of The Total Environment*, 685, 463-470.
 - ❖ Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., & Komaitis, M. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food chemistry*, 107(3), 1120-1130.
 - ❖ Geacintov, N. E., Cosman, M., Hingerty, B. E., Amin, S., Broyde, S., & Patel, D. J. (1997). NMR solution structures of stereoisomeric covalent polycyclic aromatic carcinogen– DNA adducts: principles, patterns, and diversity. *Chemical research in toxicology*, 10(2), 111-146.
 - ❖ Guinebert, E., Durand, P., Prost, M., Grinand, R., & Bernigault, R. (2005). Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole*, 554.
 - ❖ Gupta, A., Bhatt, M. L., & Misra, M. K. (2009). Lipid peroxidation and antioxidant status in head and neck squamous cell carcinoma patients. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(2), 68-72.
-

F

- ❖ Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition reviews*, 52(8), 253-265.
- ❖ Harrigan, J. A., McGarrigle, B. P., Sutter, T. R., & Olson, J. R. (2006). Tissue specific induction of cytochrome P450 (CYP) 1A1 and 1B1 in rat liver and lung following in vitro (tissue slice) and in vivo exposure to benzo (a) pyrene. *Toxicology in vitro*, 20(4), 426-438..
- ❖ Hassan, A. M., Alam, S. S., Abdel-Aziem, S. H., & Ahmed, K. A. (2011). Benzo-a-pyrene induced genotoxicity and cytotoxicity in germ cells of mice: Intervention of radish and cress. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 9(1), 65-72.
- ❖ Hattemer-Frey, H. A., & Travis, C. C. (1991). *Benzo-a-Pyrene: Environmental Partitioning and Human Exposure. Toxicology and Industrial Health*, 7(3), 141–157.
- ❖ Ho, Y.L., Wu, C.C., Lin, L.C., Huang, C.H., Chen, W.J., Chen, M.F., Liao, C.S., and Lee, Y.T. (1998). Assessment of the coronary artery disease and systolic dysfunction in hypertensive patients with the dobutamine-atropine stress echocardiography: effect of the left ventricular hypertrophy. *Cardiology* 89, 52-58.
- ❖ Huang, L., Gao, D., Zhang, Y., Wang, C., & Zuo, Z. (2014). Exposure to low dose benzo [a] pyrene during early life stages causes symptoms similar to cardiac hypertrophy in adult zebrafish. *Journal of hazardous materials*, 276, 377-382.

G

- ❖ IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (2012). Pharmaceuticals. Volume 100 A. A review of human carcinogens. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, 100(Pt A), 1.
 - ❖ International Agency for Research on Cancer. (1973). *IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Vol. 17. Some N-nitroso compounds.*
-

Référence

- ❖ International Agency for Research on Cancer. (2010). *Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures* (Vol. 92). IARC Press, International Agency for Research on Cancer.
- ❖ Iwase, T., Tajima, A., Sugimoto, S., Okuda, K. I., Hironaka, I., Kamata, Y., ... & Mizunoe, Y. (2013). A simple assay for measuring catalase activity: a visual approach. *Scientific reports*, 3, 3081.



- ❖ Jarić, S., Mitrović, M., Djurdjević, L., Kostić, O., Gajić, G., Pavlović, D., & Pavlović, P. (2011). Phytotherapy in medieval Serbian medicine according to the pharmacological manuscripts of the Chilandar Medical Codex (15–16th centuries). *Journal of ethnopharmacology*, 137(1), 601-619.
- ❖ Jovanovic, S. V., Steenken, S., Tomic, M., Marjanovic, B., & Simic, M. G. (1994). Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, 116(11), 4846-4851.
- ❖ Jules, G. E., Pratap, S., Ramesh, A., & Hood, D. B. (2012). In utero exposure to benzo(a)pyrène predisposes offspring to cardiovascular dysfunction in later-life. *Toxicology*, 295(1-3), 56-67.



- ❖ Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 3954-3962.
 - ❖ Kawashty, S. A., Mosharrafa, S. A. M., El-Gibali, M., & Saleh, N. A. M. (2000). The flavonoids of four Pistacia species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(9), 915-917.
-

Référence

- ❖ Kierszenbaum, A. L. (2006). *Histologie et biologie cellulaire: Une introduction à l'anatomie pathologique*. De Boeck Supérieur.
- ❖ Klibet, F., Boumendjel, A., Khiari, M., El Feki, A., Abdennour, C., & Messarah, M. (2016). Oxidative stress-related liver dysfunction by sodium arsenite: Alleviation by Pistacia lentiscus oil. *Pharmaceutical biology*, 54(2), 354-363.
- ❖ Knize, M. G., Salmon, C. P., Pais, P., & Felton, J. S. (1999). Food heating and the formation of heterocyclic aromatic amine and polycyclic aromatic hydrocarbon mutagens/carcinogens. In *Impact of processing on food safety* (pp. 179-193). Springer, Boston, MA.

L

- ❖ Laguerre M, Lecomte J, Villeneuve P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. *Prog Lipid Res*, 2007 ; 46(5) : 244-82.
 - ❖ Lawal, A. T. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. *Cogent Environmental Science*, 3(1), 1339841.
 - ❖ Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., & Prost, M. (2001). Oxidative stress and human disease. Current knowledge and perspectives for prevention. *Presse medicale (Paris, France: 1983)*, 30(21), 1076-1081.
 - ❖ Li, Z., Porter, E. N., Sjödin, A., Needham, L. L., Lee, S., Russell, A. G., & Mulholland, J. A. (2009). Characterization of PM_{2.5}-bound polycyclic aromatic hydrocarbons in Atlanta—seasonal variations at urban, suburban, and rural ambient air monitoring sites. *Atmospheric Environment*, 43(27), 4187-4193.
 - ❖ Lin, T., & Yang, M. S. (2007). Benzo [a] pyrene-induced elevation of GSH level protects against oxidative stress and enhances xenobiotic detoxification in human HepG2 cells. *Toxicology*, 235(1-2), 1-10.
-

Référence

- ❖ Liu, Y., Wu, Y. M., Yu, Y., Cao, C. S., Zhang, J. H., Li, K., & Zhang, P. Y. (2015). Curcumin and resveratrol in combination modulate drug-metabolizing enzymes as well as antioxidant indices during lung carcinogenesis in mice. *Human & experimental toxicology*, 34(6), 620-627.
- ❖ Loutrari, H., Magkouta, S., Pyriochou, A., Koika, V., Kolisis, F. N., Papapetropoulos, A., & Roussos, C. (2006). Mastic oil from *Pistacia lentiscus* var. *chia* inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis. *Nutrition and cancer*, 55(1), 86-93.



- ❖ Ma, J. Q., Liu, C. M., Qin, Z. H., Jiang, J. H., & Sun, Y. Z. (2011). Ganoderma applanatum terpenes protect mouse liver against benzo (a) pyren-induced oxidative stress and inflammation. *Environmental toxicology and pharmacology*, 31(3), 460-468.
 - ❖ Marie, C. (2007). *Recherche de nouveaux biomarqueurs d'exposition aux hydrocarbures aromatiques polycycliques à travers l'étude des lésions de l'ADN chez l'homme* (Doctoral dissertation).
 - ❖ Marieb, E. N. (2008). *Biologie humaine: principes d'anatomie et de physiologie*. Pearson Education France..
 - ❖ Marieb, E. N., & Hoehn, K. (2007). *Human anatomy & physiology*. Pearson Education.
 - ❖ Mease, P. J. (2002). Tumour necrosis factor (TNF) in psoriatic arthritis: pathophysiology and treatment with TNF inhibitors. *Annals of the rheumatic diseases*, 61(4), 298-304.
 - ❖ Mezni, F., Khaldi, A., Maaroufi, A., Hamrouni, L., Msallem, M., Boussaid, M., & Khouja, M. L. (2012, March). COMPOSITION EN ACIDE GRAS ET PROPRIETES BIOLOGIQUES DE L'HUILE FIXE DES FRUITS DE PISTACIA LENTISCUS L. In *International symposium on Medicinal and Aromatic Plants-SIPAM 2012* 997 (pp. 219-224).
 - ❖ Migdal, C., & Serres, M. (2011). Réactive oxygéné species and oxidative stress. *Medecine sciences: M/S*, 27(4), 405-412.
-

Référence

- ❖ Miller, K. P., & Ramos, K. S. (2001). Impact of cellular metabolism on the biological effects of benzo [a] pyrene and related hydrocarbons. *Drug metabolism reviews*, 33(1), 1-35.
- ❖ Moehler, T. M., Ho, A. D., Goldschmidt, H., & Barlogie, B. (2003). Angiogenesis in hematologic malignancies. *Critical reviews in oncology/hematology*, 45(3), 227-244
- ❖ Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.

N

- ❖ Nadal-Ginard, B., Kajstura, J., Leri, A., and Anversa, P. (2003). Myocyte death, growth, and regeneration in cardiac hypertrophy and failure. *Circ Res* 92, 139-150.
- ❖ Nahida, A. S., & Siddiqui, A. N. (2012). Pistacia lentiscus: a review on phytochemistry and pharmacological properties. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4(4), 16-20.
- ❖ Nemudzivhadi, V., & Masoko, P. (2014). In vitro assessment of cytotoxicity, antioxidant, and anti-inflammatory activities of Ricinus communis (Euphorbiaceae) leaf extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 2014, p. 1-8.

O

- ❖ Ohkawa H., Ohishi N. & Yagi K. Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric reaction. *Analytical Biochemistry* (1979); 95(2): 351-358.
 - ❖ Ollivier, D., Boubault, E., Pinatel, C., Souillol, S., Guérère, M., & Artaud, J. (2004). Analyse de la fraction phénoliques des huiles d'olive vierges. In *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique* (Vol. 965, pp. 169-196).
-



- ❖ Palevitch, D., Yaniv, Z. (2000). Medicinal plants of the Holy Land. Modan Publishing House, Tel Aviv Israel.
- ❖ Park, J. H., Troxel, A. B., Harvey, R. G., & Penning, T. M. (2006). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) o-quinones produced by the aldo-keto-reductases (AKRs) generate abasic sites, oxidized pyrimidines, and 8-oxo-dGuo via reactive oxygen species. *Chemical research in toxicology*, 19(5), 719-728.
- ❖ Penning, T. M. (2004). Aldo-keto reductases and formation of polycyclic aromatic hydrocarbon o-quinones. In *Methods in enzymology* (Vol. 378, pp. 31-67). Academic Press
- ❖ Penning, T. M. (2014). Human aldo-keto reductases and the metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chemical research in toxicology*, 27(11), 1901-1917.
- ❖ Penning, T. M., Burczynski, M. E., Hung, C. F., McCoull, K. D., Palackal, N. T., & Tsuruda, L. S. (1999). Dihydrodiol dehydrogenases and polycyclic aromatic hydrocarbon activation: generation of reactive and redox active o-quinones. *Chemical research in toxicology*, 12(1), 1-18.
- ❖ Passier, R., Zeng, H., Frey, N., Naya, F.J., Nicol, R.L., McKinsey, T.A., Overbeek, P., Richardson, J.A., Grant, S.R., and Olson, E.N. (2000). CaM kinase signaling induces cardiac hypertrophy and activates the MEF2 transcription factor in vivo. *J Clin Invest* 105, 1395-1406.
- ❖ Poyrazoglu E., Gökmen V et Artk N. (2002). Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punicagranatum* L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*. 15: 567–575.



- ❖ Ramé A., et Théron S., 2011. Anatomie et physiologie. Elsevier Masson, Issy-les moulineaux cedex, 2éme édition, pp 185- 167.
-

Référence

- ❖ Ramesh, A., Hood, D. B., Inyang, F., Greenwood, M., Nyanda, A. M., Archibong, A. E., & Knuckles, M. E. (2002). Comparative metabolism, bioavailability, and toxicokinetics of benzo [a] pyrene in rats after acute oral, inhalation, and intravenous administration. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 22(3-4), 969-980.
- ❖ Ryan MT., Muller H et Pfanner N. (1999). Functional staging of ADP/ATP carrier translocation across the outer mitochondrial membrane. *The Journal of Biological Chemistry*. 274 (29): 20619-20627.



- ❖ Saha, S. S., & Ghosh, M. (2009). Comparative study of antioxidant activity of α -eleostearic acid and punicic acid against oxidative stress generated by sodium arsenite. *Food and Chemical Toxicology*, 47(10), 2551-2556.
 - ❖ Saha, S. S., & Ghosh, M. (2010). Ameliorative role of conjugated linolenic acid isomers against oxidative DNA damage induced by sodium arsenite in rat model. *Food and Chemical Toxicology*, 48(12), 3398-3405.
 - ❖ Said, O., Khalil, K., Fulder, S., & Azaizeh, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *Journal of ethnopharmacology*, 83(3), 251-265.
 - ❖ Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C., & Yamasaki, H. (2002). Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*, 177(1), 67-80.
 - ❖ Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., & Rémésy, C. (2002). Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56(6), 276-282.
 - ❖ Schnitzler, P., Schön, K., & Reichling, J. (2001). Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. *Die Pharmazie*, 56(4), 343-347.
-

Référence

- ❖ Senthilnathan, P., Padmavathi, R., Magesh, V., & Sakthisekaran, D. (2006). Stabilization of membrane bound enzyme profiles and lipid peroxidation by *Withania somnifera* along with paclitaxel on benzo (a) pyrene induced experimental lung cancer. *Molecular and cellular biochemistry*, 292(1-2), 13-17.
- ❖ Shahid, A., Ali, R., Ali, N., Kazim Hasan, S., Barnwal, P., Mohammad Afzal, S., ... Sultana, S. (2016). *Methanolic bark extract of Acacia catechu ameliorates benzo(a)pyrene induced lung toxicity by abrogation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis in mice. Environmental Toxicology*, 32(5), 1566–1577
- ❖ Shen, Y. M., Troxel, A. B., Vedantam, S., Penning, T. M., & Field, J. (2006). Comparison of p53 mutations induced by PAH o-quinones with those caused by anti-benzo [a] pyrene diol epoxide in vitro: role of reactive oxygen and biological selection. *Chemical research in toxicology*, 19(11), 1441-1450.
- ❖ Shimizu, Y., Nakatsuru, Y., Ichinose, M., Takahashi, Y., Kume, H., Mimura, J., ... & Ishikawa, T. (2000). Benzo [a] pyrene carcinogenicity is lost in mice lacking the aryl hydrocarbon receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(2), 779-782.
- ❖ Siegue A. (1985). la fort circum Mediterranean et ses problemes, maisonneuve et larose. Pp 22-27, 137-139.
- ❖ Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 89(2), 191-198.
- ❖ Smail Saadoun, N. (2005). Types stomatiques du genre Pistacia: Pistacia atlantica Desf. ssp. atlantica et Pistacia lentiscus L. L. *Options méditerranéennes, série A*, 63, 369-71.

J

- ❖ Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2017). *Principles of anatomy & physiology*. John Wiley & Sons, Incorporated.
-

V

- ❖ Vogel, C. F., & Haarmann-Stemmann, T. (2017). The aryl hydrocarbon receptor repressor—more than a simple feedback inhibitor of AhR signaling: clues for its role in inflammation and cancer. *Current opinion in toxicology*, 2, 109-119.

W

- ❖ Watjen, W., Michels, G., Steffan, B., Niering, P., Chovolou, Y., Kampkotter, A., ... & Kahl, R. (2005). Low concentrations of flavonoids are protective in rat H4IIE cells whereas high concentrations cause DNA damage and apoptosis. *The Journal of nutrition*, 135(3), 525-531.
- ❖ Weber KT, JALIL JE, JANICKI JS et al. Myocardial collagen remodeling in pressure overload hypertrophy. A case for interstitial heart disease. *Am J Hypertens*, 1989, 931-940.

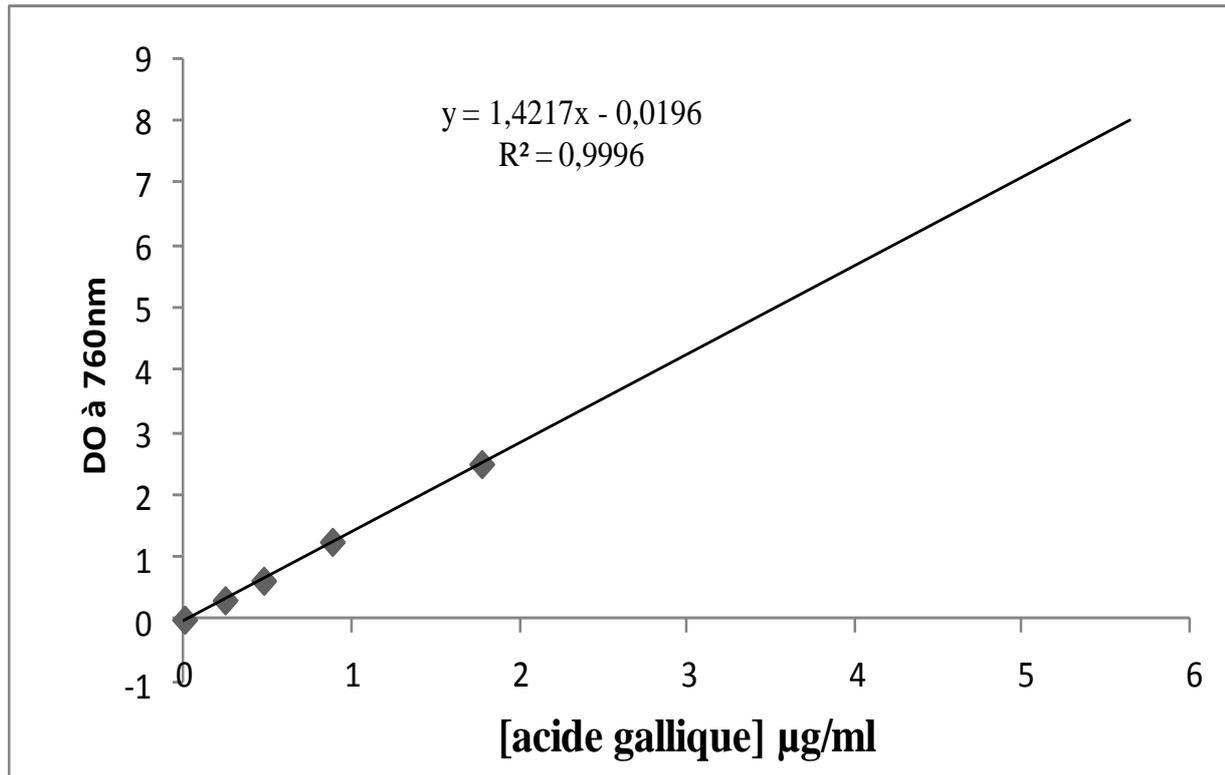
Y

- ❖ Yang, Y., Sjövall, J., Rafter, J., & Gustafsson, J. Å. (1994). Characterization of neutral metabolites of benzo [a] pyrene in urine from germfree rats. *Carcinogenesis*, 15(4), 681-687.

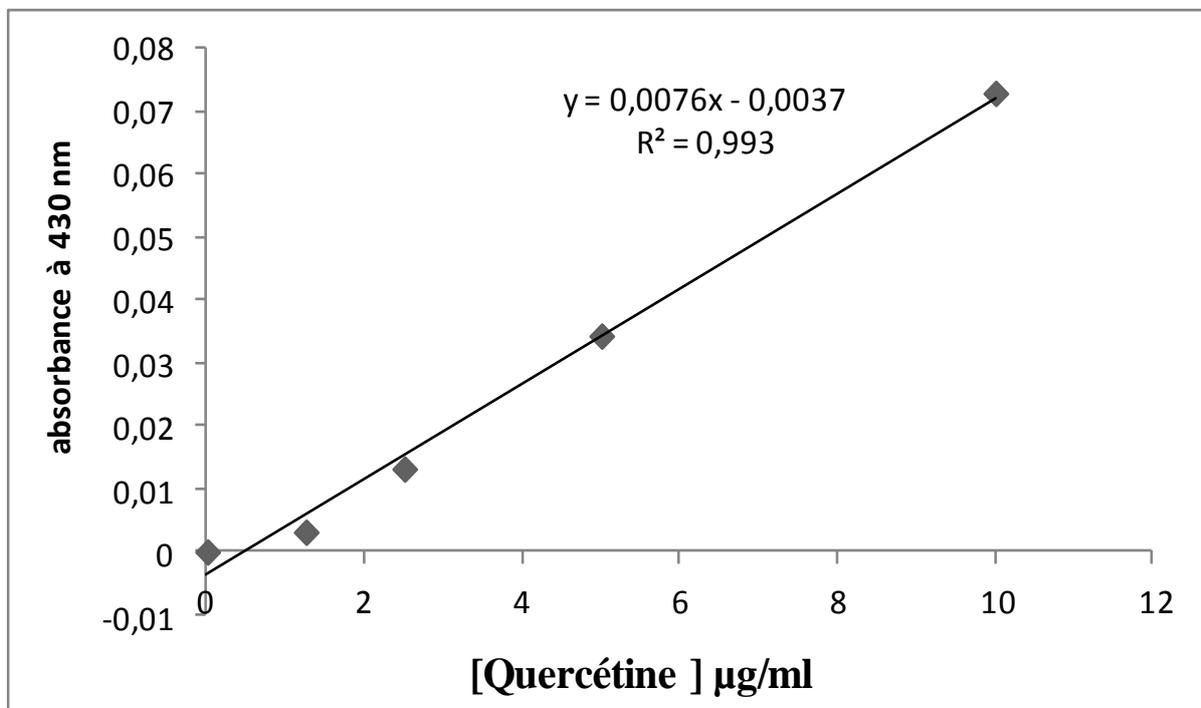
Z

- Zrira, S., Elamrani, A., & Benjilali, B. (2003). Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Morocco—a seasonal variation. *Flavour and fragrance journal*, 18(6), 475-480.
-

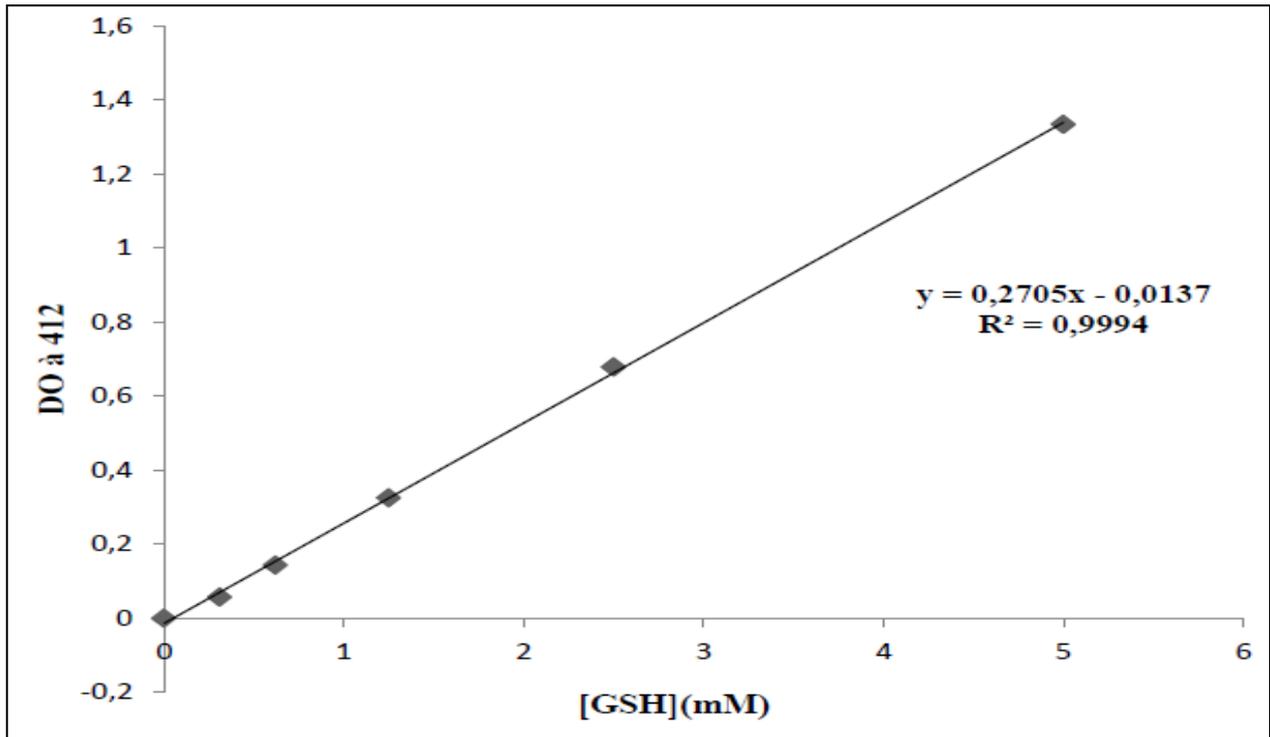
Annexe



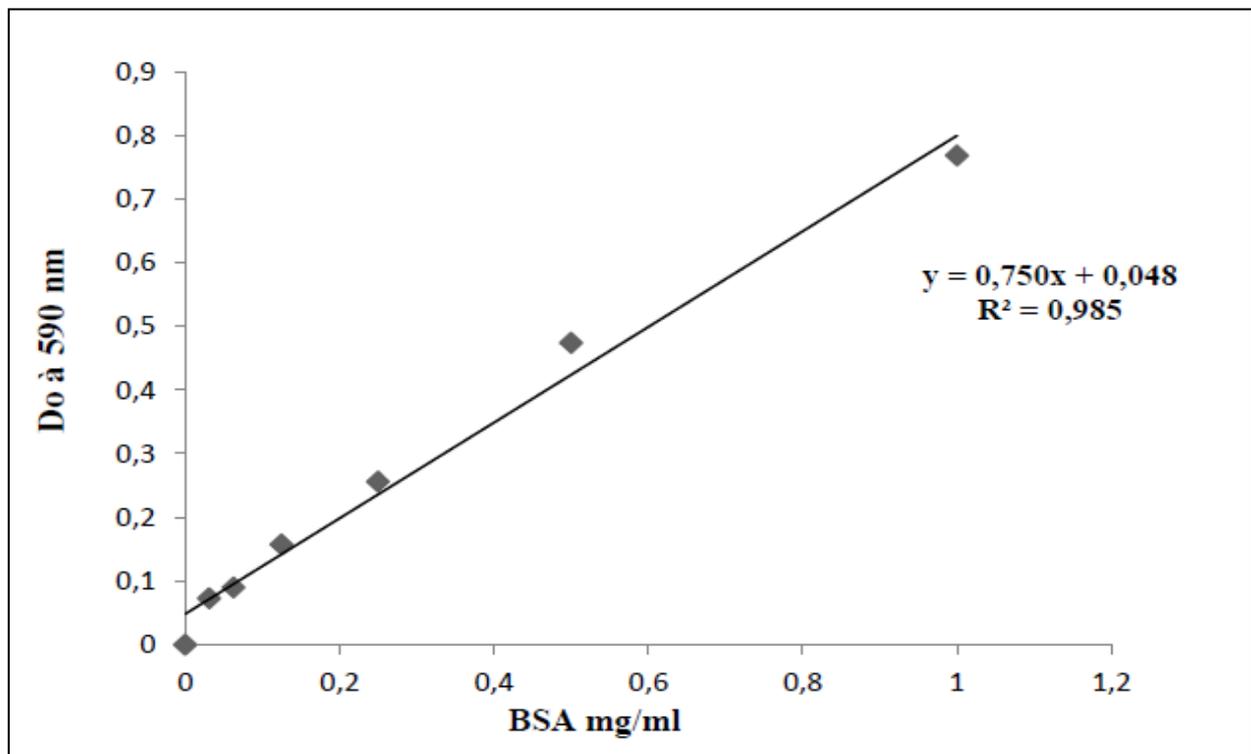
Annexe1. Courbe d'étalonnage des polyphénols (acide gallique).



Annexe 2. Courbe d'étalonnage des flavonoïdes (Quercétine).



Annexe 3. Courbe d'étalonnage de glutathion.



Annexe 4. Courbe d'étalonnage des protéines (BSA) (sérum albumine bovine).

Réalisée par :

- BOUCHAREB Kenza
- BOUGHABA Hanane

Encadré par :

Dr BENGUEDOUAR Lamia.

Evaluation de l'effet préventif de l'huile de fruit de *Pistacia lentiscus* L. de la région de Jijel contre la cardiotoxicité du Benzo(a)pyrène chez la souris.

Résumé

Le benzo[a]pyrène B[a]P est un polluant cancérigène capable d'induire une toxicité aiguë *via* la génération des radicaux libres oxygénés et l'induction d'un stress oxydant. Cette étude a pour but d'évaluer le potentiel protecteur de l'huile de fruits de *Pistacia lentiscus* L (HFPL) contre la toxicité cardiaque aiguë induite par le B[a]P chez des souris swiss albinos. L'étude phytochimique a montré que l'HFPL est riche en polyphénols et en flavonoïdes. L'étude *in vivo* a montré que le B[a]P à la dose unique de 100mg/kg en IP présente une toxicité cardiaque 48heures après le traitement. Ceci se traduit par une diminution significative des activités des antioxydants de (CAT) et de (GSH) myocardiques et une augmentation du MDA comme un marqueur de peroxydation lipidique par rapport aux animaux contrôles. Le prétraitement par l'HFPL à la dose journalière de 1.66ml/Kg pendant 5 jours et *per os* a démontré une augmentation significative des capacités antioxydantes de la CAT et du GSH et du MDA au niveau du cœur une fois associé avec le B[a]P. L'étude histologique a confirmé la toxicité du B[a]P par l'apparition des altérations tissulaires cardiaques et l'effet cyto-protecteur de l'HFPL par la réduction de ces dommages. Ces données confirment la toxicité cardiaque du B[a]P et l'effet antioxydant et pro-oxydant de HFPL.

Mots clés : Toxicité cardiaque, stress oxydant, benzo[a]pyrene, toxicité aiguë, anti-oxydant, pro-oxydant, l'huile de lentisque.

Abstract

Benzo [a] pyrene B [a] P is a carcinogenic pollutant capable of inducing acute toxicity *via* the generation of oxygen free radicals and the induction of oxidative stress. The aim of this study is to evaluate the protective potential of *Pistacia lentiscus* L. fruit oil (HFPL) against B[a]P acute cardiac toxicity in swiss albino mice. The phytochemical study showed that (HFPL) is rich in polyphenols and flavonoids. The *in vivo* study showed that B [a]P at a single intraperitoneal (IP)injection of 100mg / kg exhibits cardiac toxicity 48 hours after treatment. This leads to a significant decrease in myocardial activities of (CAT) and (GSH) antioxidants and an increase in MDA level as a lipid peroxidation marker compared to the control mice. Pretreatment with (HFPL) at (1.66ml/Kg) daily for 5 days demonstrated a significant increase in antioxidant capacities of CAT and GSH and MDA level when associated with B[a]P. The histological study confirmed the toxicity of B[a]P by the appearance of heart tissue alterations and the cytoprotective effect of HFPL by the reduction of this damage. These data confirm the cardiac toxicity of B[a]P and the antioxidant and pro-oxidant effect of HFPL.

Key words: cardiac toxicity, Oxidative stress, benzo[a]pyrene, acute toxicity, lentisk oil.

المخلص

البنزو[أ]بيرين B[a]P هو ملوث مسرطن قادر على إحداث سمية حادة من خلال توليد الجذور الحرة وتحريض الإجهاد التأكسدي. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الإمكانات الوقائية لزيت ثمرة الضرو (HFPL). ضد السمية القلبية الحادة لـ B[a]P عند الفئران. أظهرت الدراسة الكيميائية النباتية أن (HFPL) غني بالبوليفينول والفلافونويد. وأظهرت الدراسة في الجسم الحي أن B[a]P عند جرعة واحدة مقدرة ب 100مغ/كغ داخل الصفاق (IP) يتسبب في تسمم القلب بعد 48 ساعة من العلاج. أدى هذا إلى انخفاض كبير في أنشطة مضادات الأكسدة (CAT) و (GSH) في القلب وزيادة في MDA كعلامة بيروكسيد الدهون مقارنة بفئران الشاهد. أظهرت المعالجة المسبقة بـ (HFPL) بمعدل (1.66مل/كغ) لمدة 5 أيام زيادة ملحوظة في أنشطة مضادات الأكسدة (CAT) و (GSH) و MDA على مستوى القلب عندما تقارن بالمجموعة المعطاة لجرعة الـ B[a]P. أكدت الدراسة النسيجية سمية الـ B[a]P من خلال ظهور تغيرات في أنسجة القلب والتأثير الوقائي للـ HFPL على القلب عن طريق الحد من هذا الضرر. هذه البيانات تؤكد سمية البنزو[أ]بيرين على القلب وتأثير (HFPL) المضاد للأكسدة والمؤيد للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: السمية القلبية الحادة، الأكسدة، البنزو(أ)بيرين، مضادات الأكسدة، المؤيد للأكسدة، زيت الضرو.