

الشعبية الديمقراطية الجزائرية الجمهورية

**LA REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

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



Université Constantine 1

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de master
Option : **Biochimie Moléculaire et Santé**

Thème:

**L'activité biologique *in vitro* de l'huile de *Pistacia lentiscus* et son impact
in vivo sur quelques paramètres du stress oxydant induit par l'arsenic**



Par :

KASSA Marwa

MAKHLOUF Amel

Devant le jury :

Président : Mr. KHEDARA A.

M.C. Université Constantine 1

Rapporteur : Mlle. KLIBET F.

M.A.A. Université Constantine 1

Examinatrice : Mme. KAHALI L.

M.A.A. Université Constantine 1

Année universitaire 2013/2014

Abréviations

| | |
|--------------------------|---|
| $\cdot\text{OH}$ | Radical hydroxyle. |
| $^1\text{O}_2$ | Oxygène singulier. |
| AGPI | Acide gras polyinsaturé. |
| As | Arsenic. |
| As(III) | Arsenic inorganique trivalent (Arsinite). |
| As(V) | Arsenic inorganique pentavalente (Arséniate). |
| BSA | Albumine sérique bovine. |
| CAT | Catalase. |
| DHLA | Acide dehydrolipoïque. |
| DMSO | Dimethylsulfoxyde. |
| DPPH | 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl. |
| DTNB | 5,5-Dthiobis (2-nitrobenzoïc acide). |
| EDTA | Ethylène diamine tétra-acétique. |
| EOA | Espèce oxygénée activée. |
| ERO | Espèce réactive de l'oxygène. |
| FRO | Forme réactive de l'oxygène. |
| GPx | Glutathion peroxydase. |
| GR | Glutathion réductase. |
| GSH | Glutathion réduit. |
| GSH/GSSG | Glutathion réduit/oxydé. |
| GSSG | Glutathion oxydé. |
| GST | Glutathion S-transférase –GSH. |
| H_2O_2 | Peroxyde d'hydrogène. |
| LA | Acide lipoïque. |
| LOO \cdot | Radical peroxyde lipidique. |
| LOOH | Hydroperoxyde lipidique. |
| MMA | Monométhylarsine. |
| Mn-SOD | Superoxyde dismutase associée au manganèse. |
| MTs | Métallothionéine. |
| NADPH | Nicotinamide dinucléotide phosphate. |
| NADPH, H $^+$ /NADP $^+$ | Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate. |
| NBT | Nitrobleu tetrazolium. |
| $\text{O}_2\cdot^-$ | Anion superoxyde. |
| ONOOH | Nitroperoxyde. |

RL

SO

SOD

Radical libre.

Stress oxydatif.

Superoxyde dismutase.

Liste des tableaux

Tableau 1. *Propriétés physico-chimiques de l'arsenic*

14

Tableau 2. *Quelques composés arséniés présents dans l'environnement*

16

Tableau 3. *Composition d' 1 kg d'aliment (ONAB)*

27

Tableau 4. *Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne obtenus par différentes dilutions de l'huile de lentisque*

37

Tableau 5. *L'activité antiradicalaire de quercétine et l'huile de Pistacia lentiscus*

38

Tableau 6. *Variation des paramètres du stress oxydant (MTs, CAT et SOD) des organes (foie et reins) chez les rats témoins et traités par l'arsénite de sodium, l'huile de Pistacia lentiscus et la combinaison (Arsénite de sodium/Huile de Pistacia lentiscus) après 28 jours de traitement*

42

Liste des figures

Figure 1. Cascade de production des principales FROs : en orange FRO non radicalaires

Figure 2. Les réactions d'élimination des radicaux lipidiques par les vitamines E et C

Figure 3. Stratégies antioxydantes

Figure 4. Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène

Figure 5. Exemple d'affections rencontrées chez l'homme causées par les EROs, classées par organe cible

Figure 6. Les conséquences pathologiques du stress oxydant

Figure 7. Schéma métabolique d'arsenic

Figure 8. *Pistacia lentiscus* [Anacardiaceae], arbuste commun des maquis et garigues en Algérie

Figure 9. Schéma récapitulatif du protocole expérimental

Figure 10. Gamme étalon établie avec le BSA comme protéine de référence pour le dosage des protéines

Figure11. Zone d'inhibitions obtenu par différents dilution de l'huile de *Pistacia lentiscus*

Figure12. Activité antiradicalaire de l'huile de *Pistacia lentiscus* et de la quercétine

Figure 13. Variation de l'activité enzymatique de MTs dans les organes (Foie et reins) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement

Figure 14. Variation de l'activité enzymatique de la CAT dans les organes (Foie et reins) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement

Figure 15. Variation de l'activité enzymatique de la SOD dans le foie chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. LE STRESS OXYDANT

| | |
|--|----------|
| <i>I.1. Les radicaux libres</i> | 1 |
| <i>I.2. Natures et sources de formation des radicaux libres</i> | 1 |
| <i>I.3. Les systèmes de défenses antioxydantes</i> | 3 |
| <i>I.3.1. Les systèmes de défenses enzymatiques</i> | 3 |
| <i>I.3.1.1 Les superoxydesdismutases (SODs)</i> | 3 |
| <i>I.3.1.2. Les catalases (CATs)</i> | 4 |
| <i>I.3.1.3. Les glutathions peroxydases (GPxs)</i> | 5 |
| <i>I.3.2.4. Les glutathion S-transférase (GSTs)</i> | 5 |
| <i>I.3.2. Les systèmes de défenses non enzymatiques</i> | 6 |
| <i>I.3.2.1. Le glutathion (GSH)</i> | 6 |
| <i>I.3.2.2. Les métallothionéines (MTs)</i> | 6 |
| <i>I.3.2.3. La vitamine C et E</i> | 7 |
| <i>I.3.2.4. Les polyphénols</i> | 8 |
| <i>I.3.2.5. Les oligoéléments</i> | 8 |
| <i>I.4. Les lésions cellulaires associées aux radicaux libres</i> | 10 |
| <i>I.4.1. Les protéines</i> | 10 |
| <i>I.4.2. Les lipides</i> | 10 |
| <i>I.4.3. L'ADN</i> | 10 |
| <i>I.5. Les pathologies liées au stress oxydant</i> | 11 |

CHAPITRE II. L'ARSENIC

| | |
|---|----|
| <i>II.1. Propriétés physico-chimiques</i> | 13 |
| <i>II.1.1. Formes d'arsenic</i> | 14 |
| <i>II.1.1.1. Formes inorganiques</i> | 14 |

Introduction générale

Introduction générale

Les systèmes aérobie sont continuellement soumis à des pressions oxydatives qui conduisent parfois, lors d'un dérèglement de la balance pro/antioxydante, à des dommages oxydatifs impliquant les lipides, les protéines et l'ADN. Ce sont principalement les radicaux libres.

Parmi les nombreuses substances à l'origine de la production excessive des espèces oxydantes, figurent les métaux.

L'arsenic, qui est l'un des métaux le plus anciennement utilisé par l'Homme. On trouve des traces de son utilisation dans divers domaines (Agriculture, mine et industrie) (Hopenhayn, 2006). Il est probablement le contaminant environnemental responsable des risques les plus élevés de morbidité et de mortalité à travers le monde, en raison de la combinaison de deux facteurs : son niveau de toxicité et le nombre de personnes exposés (Manlius et al., 2009).

De nombreuses études ont montré que l'exposition permanente à des petites doses de l'arsenic peut déclencher chez les êtres vivants une surproduction d'espèces réactives dérivées de l'oxygène dites radicaux libres (RLs) à l'origine d'un «**stress oxydatif**». Ces espèces oxygénées activées (EOAs) ou encore les espèces réactives de l'oxygène (EROs), très instables et très réactives réagissent avec les substrats oxydables (Glucose, protéines et acides gras) et génèrent des réactifs carbonyles, dont les effets cellulaires sont multiples : oxydation des protéines, altération du message génétique et l'initiation des processus de peroxydation lipidique au sein de la membrane cellulaire... (Pincemail et al., 1998).

Mais l'ensemble de ces dommages radicalaires semble pouvoir être limités, tout au moins en partie, par des systèmes dits antioxydants (Gardès-Albert et al., 2003) Ceux-ci sont très variés car ils permettent soit de capter, soit de neutraliser les molécules réactives ou bien encore d'éliminer et de remplacer les molécules endommagées (Daum-Badouard, 2007).

Parmi ces antioxydants on trouve les enzymes telles la superoxyde dismutase (SOD) (Chapelle et al., 2000), la catalase (CAT) (Putnam et al., 2000) et la glutathion peroxydase (GPx). D'autres antioxydants sont de nature non enzymatique tels les métallothionéines (MTs) (Cosson & Amiard, 1998), le glutathion réduit (GSH), les vitamines C et E, les

caroténoïdes et les flavonoïdes (Aruoma, 1998 ; Lefer & Granger, 2000 ; Smith et al., 2000 ; Bhatia et al., 2003 ; Peuchant et al., 2004).

Un très grand nombre des plantes médicinales, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, sont appliquées dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, agriculture et cosmétologie. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs. En effet, elles sont l'objectif de nombreuses recherches, notamment de la recherche de nouveaux constituants naturels qui ont un pouvoir antioxydant considérable, tels les composés phénoliques, les huiles essentielles et les huiles fixes.

L'huile de lentisque, est une huile végétative extraite à partir de l'espèce **Pistacia lentiscus**. Cette huile est utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement des petites blessures, brûlures légères et érythèmes. Elle est employée par voie orale contre les problèmes respiratoires d'origine allergique et les ulcères de l'estomac (Boukeloua, 2009).

Au vu de ces données, l'objectif de notre travail est d'évaluer les activités biologiques *in vitro* de l'huile de *Pistacia lentiscus* (Activité antioxydante et antimicrobienne) et de tester *in vivo* l'effet préventif et protecteur de cette huile sur le déséquilibre pro/antioxydant induit par l'arsenic dans deux organes : foie et rein chez les rats Wistar.

Etude Bibliographique

Chapitre I:

STRESS OXYDANT

I. Le stress oxydant

Le stress oxydatif (SO) se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles (Pincemail et al., 1998).

I.1. Les radicaux libres

Un RL est une espèce chimique neutre ou chargée (Corrinne, 2010) dont la couche externe possède un ou plusieurs électrons non appariés (radical) et capable d'exister seule en tant que telle (libre) (Mandelker, 2008).

I.2. Natures et sources de formation des radicaux libres

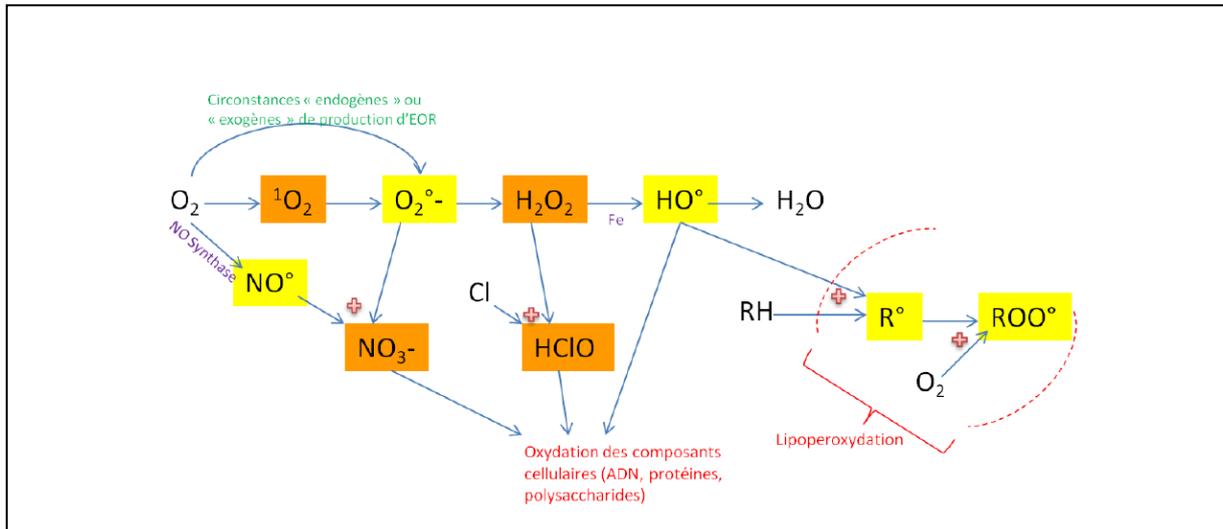
Il existe plusieurs sites de production intracellulaire de RLs tels le réticulum endoplasmique (Bernhardt, 1996) ou les peroxysomes (Corpas et al., 2001). Néanmoins, le principal site de production des RLs dans la cellule est la mitochondrie (Turrens, 2003) où le taux de production de RLs est directement lié au taux de consommation d'oxygène (O_2) est proportionnel au nombre de mitochondries (Lesser, 2006).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres RLs, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.

Ces radicaux primaires dérivent de l' O_2 par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) ou de l'azote tel le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}) (Yoshikawa et al., 2000). D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites EOAs, comme l'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des RLs et de leurs précurseurs est souvent appelé formes réactives de l'oxygène (FROs) (Favier, 2003) (Voir figure1).

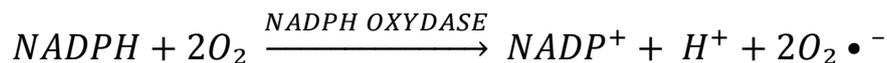
Figure 1. Cascade de production des principales FROs : en orange FROs non radicalaires ; en jaune FROs radicalaires (Favier, 1997).

Alors La production des RLs résulte de plusieurs sources, en particulier du complexe



enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire. Les RLs sont des médiateurs cellulaires qui exercent diverses fonctions biologiques. Elles jouent un rôle important dans l'immunité, l'inflammation, la phagocytose et participent également aux voies de transduction du signal de plusieurs hormones et facteurs de croissance (Sajous et al., 2008), au cycle cellulaire, à la différenciation cellulaire, à la fécondation de l'ovule, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire (Droge, 2002). Ainsi à un stade avancé d'évolution de la carcinogenèse, les RLs sont utilisés par les lymphocytes NK pour tuer les cellules tumorales (Favier, 2006).

Une production excessive des RLs peut ainsi être liée à un processus inflammatoire, notamment par l'intermédiaire de cellules phagocytaires qui sont le siège d'une activation du complexe NADPH oxydase (Sajous et al., 2008), ce complexe enzymatique utilise les électrons provenant du NADPH intracellulaire pour générer l' $O_2^{\bullet -}$ qui est ensuite transformé en H_2O_2 et autres RLs (Orient et al., 2007).



Une surproduction des RLs peut être aussi induite par la pollution, le tabagisme, une consommation excessive d'alcool, la prise de pilule contraceptive, l'exposition immodérée au soleil ou à des radiations sans protection suffisante, la pratique du sport de haut niveau

(Magder, 2006) et les métaux. Certains métaux tels le fer, le cuivre, le chrome, le vanadium et l'arsenic, génèrent des radicaux hydroxyles à partir d' H_2O_2 (Favier, 2003).

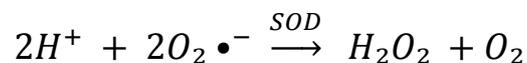
I.3. Les systèmes de défenses antioxydantes

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau de FROs. La nature de ces systèmes diffère selon les tissus, les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire (Bonfont-Rousselot et al., 2003). Dans les systèmes de défenses antioxydantes de notre organisme, on distingue des systèmes enzymatiques et des systèmes non enzymatiques.

I.3.1. Les systèmes de défenses enzymatiques

I.3.1.1. Les superoxydes dismutases (SODs)

Ce sont des métalloenzymes qui catalysent la dismutation de $O_2^{\bullet-}$ en deux produits ; O_2 et H_2O_2 comme suit :



Elles sont présentes dans la majorité des organismes vivants et chez les eucaryotes, ce sont des enzymes ubiquitaires qui diffèrent par leurs cofacteurs (Manganèse, Cuivre ou Zinc), leurs structures et leurs localisations cellulaires (Poisson, 2014) mais ils fonctionnent en complémentarité.

La Cu/Zn-SOD, chez l'homme, existe sous deux formes, l'une cytosolique et l'autre extracellulaire ; la première est dimérique (32 kDa), la seconde est tétramérique (135 kDa). Toutes les sous-unités portent un ion Zn^{2+} ; non catalytique, et un ion Cu^{2+} responsable de l'activité SOD ; c'est-à-dire la dismutation de $O_2^{\bullet-}$ (Sies et al., 1995 ; Bonfont-Rousselot et al., 2003).

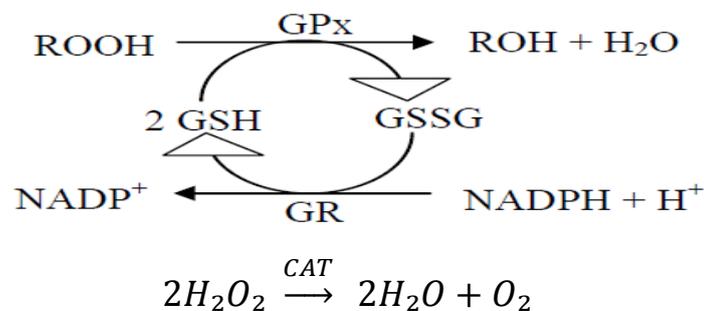
La troisième forme Mn-SOD, c'est une protéine importée du noyau (Sies et al., 1995 ; Bonfont-Rousselot et al., 2003) ; située exclusivement dans la matrice mitochondriale de différents organes : cœur, reins, foie et cerveau (Poisson, 2014). Elle protège les enzymes

contenant des centres fer-soufre d' $O_2^{\bullet-}$ (Gardner et al., 1995). Différentes études ont montré qu'une surexpression de la Mn-SOD entraînait un ralentissement de la croissance tumorale (Behrend et al., 2003).

I.3.1.2. Les catalases (CATs)

Les CATs sont des tétramères composés de quatre chaînes polypeptidiques (Chelikani et al., 2004), ils sont présentés dans un grand nombre de tissus mais sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges (Matés et al., 1999 ; Garait, 2006), elles se situent majoritairement dans les peroxysomes (Arora et al., 2002) dont le rôle principal est de transformer l' H_2O_2 en H_2O et O_2 (Roberts et al., 2002 ; Favier, 2003 ; Borg & Reeber, 2008) selon la

suivante :



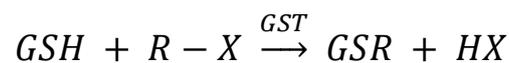
réaction

I.3.1.3. Les glutathions peroxydases (GPxs)

Les GPxs se localisent dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries (Ryter & Tyrrell, 2000). Ils représentent le majeur des systèmes de défenses enzymatiques contre le SO causé par les hydroperoxydes (ROOH) (Herbette et al., 2007). Les GPxs réduisent les hydroperoxydes en alcool et H_2O (Powers & Jackson, 2008), la GPx à sélénium réduit l' H_2O_2 mais ses substrats principaux sont les hydroperoxydes provenant de la peroxydation des acides gras polyinsaturés. Elle nécessite, pour son fonctionnement, la présence de glutathion réduit. Celui-ci est régénéré par la glutathion réductase (GR) (Laurent, 2005) comme suit :

I.3.1.4. Les glutathion S-transférases (GSTs)

Les GSTs font la détoxification des composés électrophiles par la conjugaison en GSH réduit (Aposhian & Aposhian, 2006) comme suit :

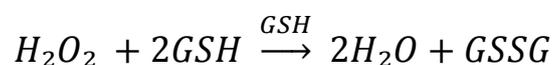


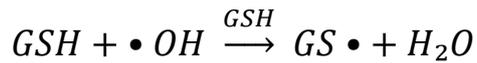
Ainsi les GSTs jouent un rôle indirecte contre le SO résultant de xénobiotiques par l'élimination des substances toxiques et par la prévention de leurs effets délétères tels les mammaliens GSTs Omega ont un rôle défensif contre l'arsenic pentavalent (Awasthi et al., 2004).

I.3.2. Les systèmes de défenses non enzymatiques

I.3.2.1. Le glutathion (GSH)

Le GSH est un tripeptide (γ -glutamyl-cysteinyl-glycine ; GSH) (Pocsi et al., 2004 ; Lu, 2013). Il est présent dans de nombreux compartiments intracellulaires (Cytosol, noyau et mitochondries) soit sous sa forme réduite (GSH), soit sous sa forme oxydée (GSSG). Un rapport GSH/GSSG élevé est essentiel pour assurer une protection contre le SO (Valko et al., 2006) dont la fonction thiol lui confère un rôle réducteur (donneur d'électron ou d'atome H) (Vina et al., 1989 ; Sajous et al., 2008) vis-à-vis de certaines FROs tels l'acide hypochloreuse (HOCl), le radical alkoxy ($RO\bullet$), le radical pyroxy ($ROO\bullet$), l'oxygène singulier (1O_2), le radicale hydroxyle ($\bullet OH$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Halliwell & Gutteridge, 1999) comme suit :





I.3.2.2. Les métallothionéines (MTs)

Les MTs sont des protéines potentiellement présentes dans tous les organismes vivants, elles passionnent beaucoup de chercheurs en raison de leurs structures chimiques très particulières. En effet, les MTs sont des protéines de faible poids moléculaire (< 7000 Da) qui ne contiennent pas d'acides aminés aromatiques ni d'histidine. Par contre elles sont très riches en cystéines (Cys) qui leur confère deux propriétés potentiellement utiles dans presque tous les processus biochimiques : la possibilité de lier des métaux et des propriétés rédox. Alors ils peuvent séquestrer des métaux comme l'arsenic, le cuivre, le mercure, le zinc (Achard-Joris, 2005) et le cadmium (Bebianno & Langston, 1991 ; Baudrimont et al., 1997 ; Bebianno & Serafim, 1998 ; Geret et al., 2002). Lorsqu'elles fixent un métal physiologique elles sont activées et exercent une fonction mais lorsqu'elles fixent un métal toxique, elles sont alors inactivées et éliminées (Palmiter, 1998 ; Bioslève, 2010).

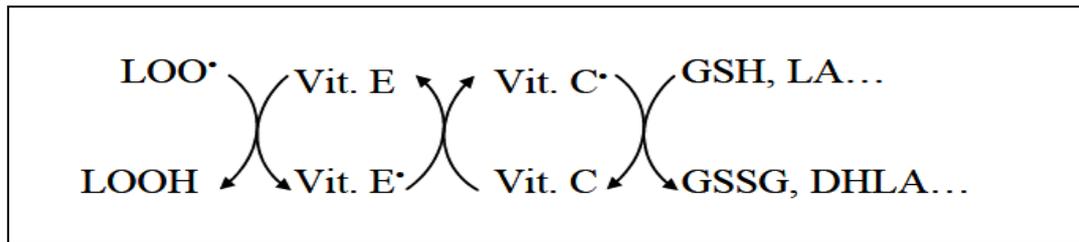
Cependant l'expression et la synthèse de MTs peut être induite par divers agents cytotoxiques (Ethanol et tétrachlorure de carbone), par des cytokines ou dans des conditions de stress (Diète, infection et irradiation) (Andrews, 2000 ; Isani et al., 2000 ; Haq et al., 2003).

Les MTs sont des antioxydants parmi les plus importants du noyau, ces derniers étant dépourvus d'enzymes antioxydantes de type CAT et SOD (Rossman et al. 1992).

Plusieurs études ont montré que les MTs neutralisaient les RLs comme l'•OH ou l'O₂•⁻ (Thornalley & Vasak, 1985 ; Kumari et al., 1998). Ainsi certains dommages de l'ADN induits par d'autres types d'EROs (Peroxyde d'hydrogène, radical superoxyde etc.) sont inhibés par les MTs (Rossman et al., 1992).

I.3.2.3. La vitamine C et la vitamine E

Les vitamines E (α-tocophérol) et C (acide ascorbique) semblent être les plus importants antioxydants dans la lutte contre le stress oxydant (Packer et al., 1997 ; Evans, 2000).



La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les RLs lipidiques empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique (Packer et al., 1997 ; Evans, 2000 ; Wiess, 2004).

La vitamine C, hydrosoluble, se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire ; elle peut capter directement l'O₂•⁻ et l'•OH (Packer et al., 1997; Evans, 2000) autant l'H₂O₂ et l'O₂ à l'état singulier (Reichl et al., 2010). Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol et permettre une meilleure efficacité de la vitamine E (Packer et al., 1997; Evans, 2000) (Voir figure 2).

Figure 2. Les réactions d'élimination des radicaux lipidiques par les vitamines E et C.

(LOO•) : radical peroxyde lipidique, (LOOH) : hydroperoxyde lipidique, (LA) : acide lipoïque, (DHLA) : acide dehydrolipoïque (Packer et al., 1997 ; Evans, 2000).

I.3.2.4. Les polyphénols

Les polyphénols ont une activité antioxydante importante ; plus élevée par exemple que celle de la vitamine E (Rice-Evans, 1995 ; McKay & Blumberg, 2002). Ils sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles (•OH) et peroxydes (RO₂•). Donc Ils sont susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique (Osakabe et al., 2001 ; Schroeter et al., 2002 ; Gardet-albert et al., 2003 ; Valko et al., 2006 ; Wu et al., 2009 ; Yoshihara et al., 2010).

Les flavonoïdes sont des composés ubiquistes très répandus dans les végétaux (Tanguy, 2009). Ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des RLs, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyl, superoxyde et peroxyde. Ils sont également capables de piéger les ions métalliques car ils ont des propriétés chélatrices (Pastre, 2005).

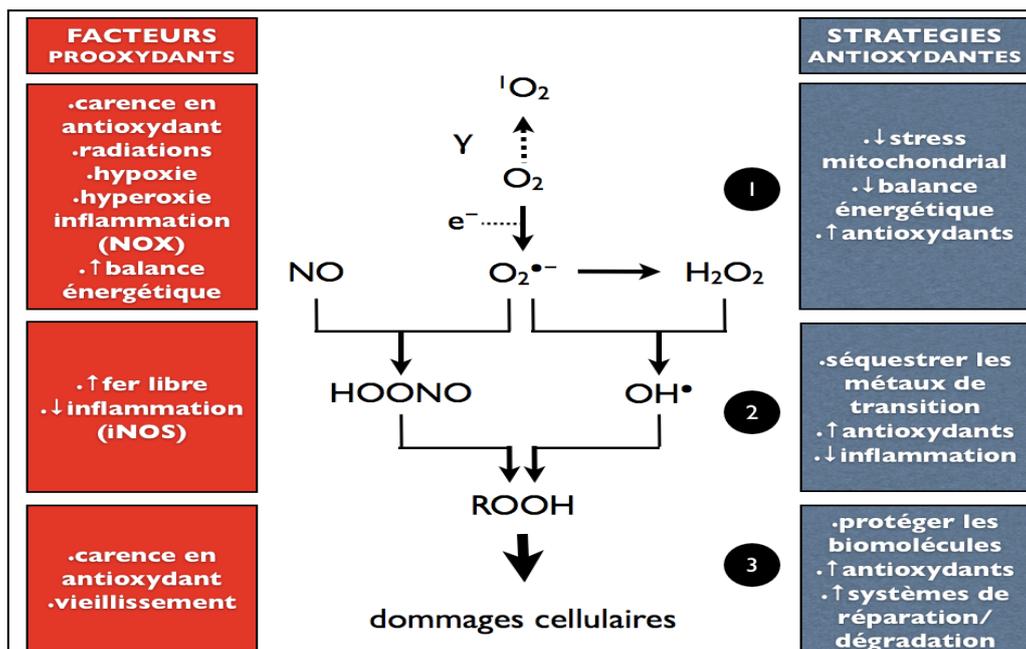
Parmi ces flavonoïdes la quercétrine (chef de file des flavonoïdes) (Favier, 2003) ; inhibe la production des cytokines inflammatoires (Vicentini et al., 2011).

I.3.2.5. Les oligoéléments

Les oligoéléments peuvent être participés aux réactions catalysées par les enzymes qui luttent directement contre le SO (Siliart, 2007).

Le zinc est l'un des cofacteurs essentiels de la SOD. La prise du zinc conduit à long terme à l'induction de protéines antioxydantes comme les métallothionéines. Le zinc protège également les groupements thiols des protéines. Il peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre (Mezzetti et al., 1998).

Le sélénium est un constituant de la glutathion peroxydase, enzyme qui joue un rôle intracellulaire antioxydant, voisin de celui de la vitamine E. Cet effet antioxydant est capital dans la détoxification des RLs produits par le métabolisme cellulaire (Wolters et al., 2005). Il est



capable de réguler l'état rédox cellulaire et lié les métaux lourds tels l'arsenic, le cadmium, le mercure, le plomb, l'argent ect, même de modifier leurs toxicités (Prince et al., 2007) (Voir figure 3).

Figure 3. Stratégies antioxydantes (Lacraz, 2009).

I.4. Les lésions cellulaires associées aux radicaux libres

Les RLs sont instables et cherchent à s'apparier avec un électron d'une autre molécule. Ils sont à l'origine de réactions en chaîne qui conduisent à des destructions cellulaires. Leurs structures cibles essentielles sont l'ADN, les protéines et les membranes cellulaires mais aussi toutes les molécules pouvant être déstabilisées (Glucose) (Pastre, 2005).

I.4.1. Les protéines

Les RLs peuvent réagir avec les différents acides aminés et donc altérer la structure des protéines. Les fonctions de multiples enzymes, de récepteurs et de protéines de transport cellulaire peuvent ainsi être modifiées. C'est donc toute la machinerie cellulaire qui peut être affectée (Pastre, 2005) (Voir figure 4).

I.4.2. Les lipides

Les RLs peuvent attaquer les lipides et notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires. Les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation (Pamplona et al., 2000 ; Hulbertl, 2005). L'oxydation des lipides génère des peroxydes lipidiques qui sont eux-mêmes très réactifs. La peroxydation de lipides induite une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (Hong et al., 2004). Elle fournit également une grande variété de produits qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN (Marnett, 1999) (Voir figure 4).

I.4.3. L'ADN

Parmi les milliers d'attaques quotidiennes sur l'ADN, de nombreuses proviennent des RLs qui engendrent de multiples altérations génomiques, réparties en au moins cinq grandes classes. Parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténaux, des cassures de brins et des pontages ADN protéines (Cadet et al., 2002 ; Favier, 2003) (Voir figure 4).

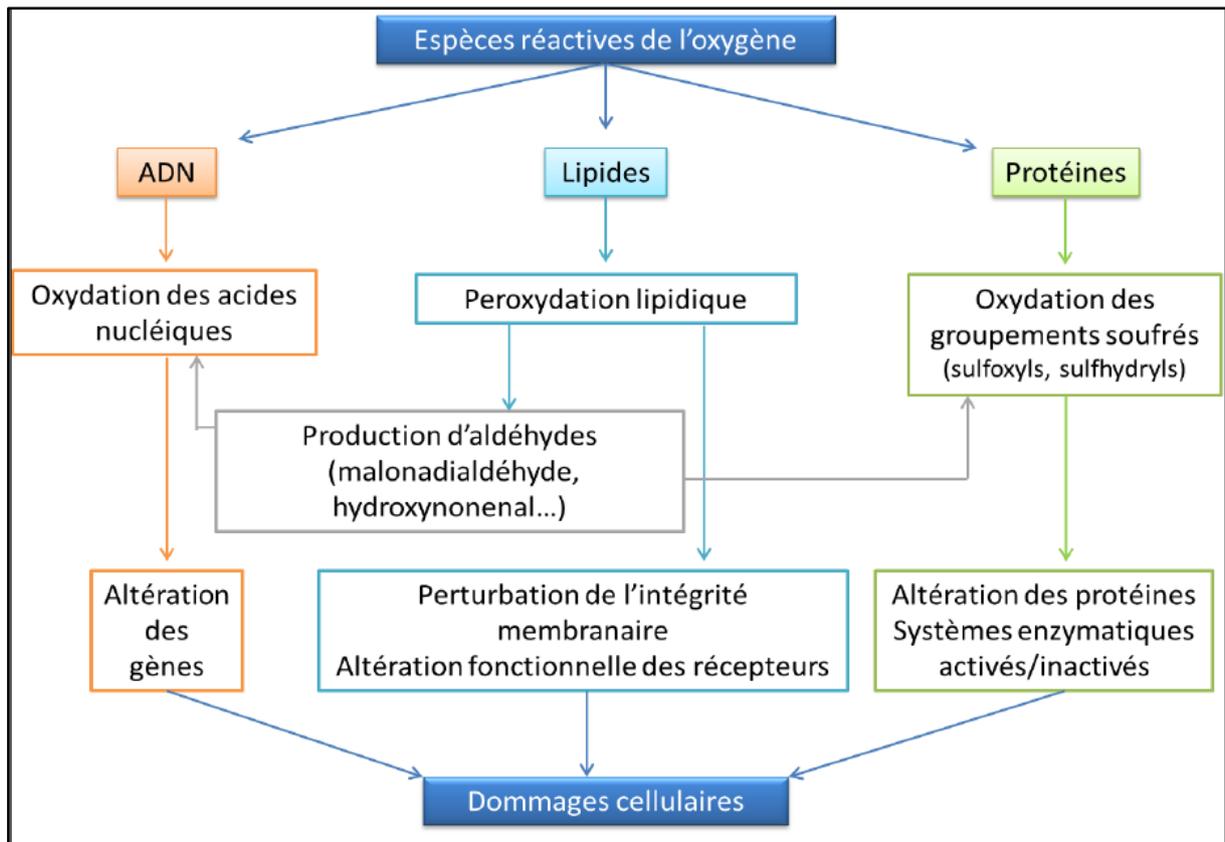


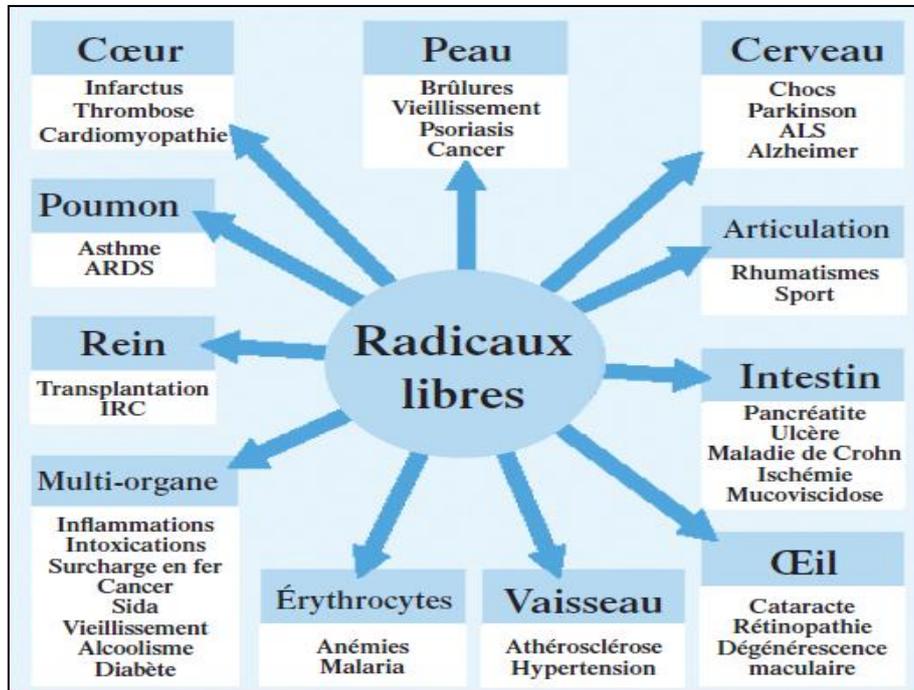
Figure 4. Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (Monteil, 2004).

I.5. Les pathologies liées au stress oxydant

Si un SO n'est pas une maladie en soi, il constitue un terrain favorable au développement de diverses pathologies. Un SO « pathologique » est potentiellement impliqué dans de nombreuses affections (Plus de 200 ont été recensées) comme diabète (Defraigne & Pincemail, 2007) (Voir figure 5), le vieillissement (Bonfont-Rousselot, 2007), cancer, maladies neurodégénératives (Parkinson et Alzheimer), maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (Maladie de Crohn), maladies rhumatismales (Arthrite rhumatoïde), maladies respiratoires (Asthme), maladies cardio-vasculaires (Athérosclérose), maladies de l'oeil (Cataracte) (Le Bail, 2009), sida (Blackburn, 1997) et troubles consécutifs à l'ischémie-reperfusion (Transplantation d'organes) (Pincemail, 1995).

Par contre des études longitudinales montrent qu'un taux élevé d'antioxydants obtenu grâce à une alimentation riche en fruits et légumes réduit le risque relatif de mortalité

dans diverses pathologies : cancers et maladies cardiovasculaires par exemple (Pincemil et al., 2007).



Figure

5.

Exemples d'affections rencontrées chez l'homme causées par les EROs, classées par organe cible (Favier, 1997).

Chapitre II:

ARSENIC

II. L'arsenic

L'arsenic est un élément naturel ubiquiste ; que l'on trouve dans l'atmosphère, les sols, les milieux aquatiques et les organismes vivants (Laperche et al., 2003). La majeure partie de l'arsenic atmosphérique d'origine anthropique provient des fumées émanant des industries de production de trioxyde d'arsenic (As_2O_3), de la combustion de produits fossiles (Charbons, pétroles, huiles, minerais de plomb, zinc, cuivre et or) (La rocca, 2010) et de la synthèse de produits pharmaceutiques, vétérinaires ou métallurgiques (Mandal & Suzuki, 2002 ; Laperche et al., 2003). En 2004, la production mondiale d'arsenic (essentiellement sous forme As_2O_3) a été estimée à 37,500 tonnes (Vaughan, 2006).

II.1. Propriétés physicochimiques

L'arsenic (de symbole chimique As et de numéro atomique 33) est le vingtième élément le plus abondant dans la croûte terrestre (Matschullat, 2000) et le quarante septième élément le plus abondant sur terre parmi les quatre-vingt-huit éléments existants (Vaughan, 2006). C'est un métalloïde au comportement chimique intermédiaire entre les métaux et les non-métaux qui présent de fortes analogies avec le phosphore (Manlius et al., 2009). L'As peut exister dans la nature sous deux formes :

- *La forme inorganique : l'arséniate (Asi pentavalent ou As V) et l'arsénite (Asi trivalent ou As III).*
- *La forme organique : essentiellement, l'acide monométhylarsonique (MMA) et l'acide diméthylarsinique (DMA), produits du métabolisme de l'As inorganique.*

Le tableau 1 rejoint quelques propriétés physico-chimiques de l'As.

Chapitre III:

Pistacia lentiscus

III. *Pistacia lentiscus*

Pistacia lentiscus (Darou) est un arbrisseau de la famille des Anacardiaceae (Baudière et al., 2002) qui distingue certains pays méditerranéens (Zrira et al., 2003). En Algérie, on le retrouve sur tout type de sol, des zones subhumides et semi-arides, plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (Ferradji, 2011).

III.1. Classification taxonomique de *Pistacia lentiscus*

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Spermatophyta*

Classe : *Dicotyledones*

Division : *Magnoliophyta*

Ordre : *Sapindales*

Famille : *Anacardiaceae*

Genre : *Pistacia*

Espèce : *Pistacia lentiscus* (Ansari et al., 2012).



Figure 7. *Pistacia*

lentiscus

[*Anacardiaceae*], arbuste commun des maquis et garigues en Algérie (Boukeloua, 2009).

III.2. Caractéristiques botaniques

Le lentisque est un arbuste sclérophylle à feuilles persistantes, à odeur de résine fortement âcre, à croissance très lente. D'une hauteur de 2 m, il peut cependant atteindre, la taille d'un arbre lorsqu'il est dans des sites humides et protégés (Munné-Bosch & peñuelas, 2003).

L'écorce est rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps. Quand on incise l'écorce la plante laisse s'écouler une résine irritante non colorée à odeur forte.

Les branches sont tortueuses et pressées, forment une masse serrée (Ferradji, 2011).

Les feuilles sont composées de 2 à 3 paires de folioles coriaces, vert sombre et brillantes (Ait Said, 2011).

Les fleurs sont unisexuées d'environ 3 mm de large se présentent sous forme de grappe et très aromatiques, forment des racèmes de petite taille à l'aisselle des feuilles.

Le fruit est une baie globuleuse de 2 à 3 mm, monosperme, remplie par nucléole de la même forme, d'abord rouge, il devient brunâtre à sa maturité en automne.

Le mastic est un suc résineux écoulé du tronc de cet arbuste, une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie (Ferradji, 2011).

III.3. Aspects Pharmacologiques et effets thérapeutiques de Pistacia lentiscus

Pistacia lentiscus est connue pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité (Palevitch & Yaniv, 2000) grâce à sa composition chimique variée de ses diverses parties qui lui confèrent l'importante médicinale, tels la résine, les huiles essentielles, les flavonoïdes (la catéchine et les anthocyanes), les glycosides, les terpènes, les acides phénoliques et les tanins (L'acide gallique) (Ansari et al., 2012 ; Rodríguez-Pérez et al., 2013).

❖ La décoction des racines

La décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et d'estomac ainsi dans le traitement de l'ulcère (Palevitch & Yaniv, 2000 ; Ouelmouhoub, 2005).

❖ La partie aérienne

La partie aérienne est traditionnellement utilisée dans le traitement de l'hypertension artérielle grâce à ses propriétés diurétiques (Scherrer et al., 2005), Toux, inflammations jugulaires, eczéma, calculs rénaux, jaunisse (Bentley & Trimen, 1980; Palevitch & Yaniv, 2000).

❖ La résine

*La résine de lentisque est très efficace contre les infections bronchiques, la toux (Iserin, 2001 ; Wolfgang, 2007), la diarrhée et les maladies d'estomac (Baytop, 1999 ; Tulzaci et Aymaz, 2001) aussi elle révèle une activité antiseptique pour le système respiratoire (Baytop, 1999 ; Tulzaci & Aymaz, 2001) autant qu'une activité antibactérienne contre l'*Helicobacter pylori* (Huwez et al., 1999).*

❖ Les feuilles

Les feuilles sont pourvues d'activités anti-inflammatoire, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, expectorante et stimulante (Janakat & Al-Meir, 2002 ; Kordali et al., 2003 ; Paraschos et al., 2007). Elles sont également utilisées dans le traitement d'eczéma, infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, jaunisse, maux de tête, asthme et problèmes respiratoires (Ali-Shtayeh et al., 2000 ; Lev & Amar, 2002).

❖ Le mastic

Le mastic est connu par son effet analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, antithérogénique, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique (Dedoussis et al., 2004 ; Prichard, 2004). Par conséquent, cliniquement, le mastic est souvent cité comme un remède efficace contre certaines maladies telles l'asthme, les diarrhées, les infections bactériennes, les ulcères gastro-dodénaux et comme un agent antiseptique du système respiratoire (Yasilada et al., 1991 ; Marone et al., 2001).

❖ Les huiles essentielles

Les huiles essentielles du lentisque révèlent la présence de certaines activités antalgique, antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne (Gardeli et al., 2008), antifongique (Magiatis et al., 1999) et antispasmodique (Iserin, 2001 ; Baudoux, 2003 ;

Grosjean, 2007) ainsi des effets thérapeutiques en ce qui concerne les problèmes lymphatiques et circulatoires (Prichard, 2004).

III.4. Pistacia lentiscus et le stress oxydant

Des études ont montré que *Pistacia lentiscus* a un effet inhibitrice de la peroxydation lipidique ainsi une capacité antioxydante contre l' H_2O_2 (Atmani et al., 2009), le radical DPPH^{*} (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Baratto et al., 2003 ; Benhammou et al., 2007 ; Gardeli et al., 2007 ; Atmani et al., 2009) et l' $O_2^{\bullet -}$ (Benhammou et al., 2008).

Des autres études ont affirmé que la présence des acides gallique et ses dérivés dans les fruits joue un rôle protecteur contre la peroxydation lipidique induite par l' H_2O_2 dans la linge des cellules K562 (Abdelwahed et al., 2007).

III.5. L'huile fixe de fruits de Pistacia lentiscus

Les fruits de *Pistacia lentiscus* donne une huile comestible (Ucciani, 1995) a une bonne qualité nutritive grâce à sa teneur en acides gras insaturés (Oléiques et linoléiques 73%) et acide gras saturés (Palmitiques et stéariques 25.8%) (Mesier, 1975 ; Yousfi et al., 2002).

III.5.1. Mode d'obtention de l'huile fixe de fruits de Pistacia lentiscus

La méthode d'extraction d'huile fixe de *Pistacia lentiscus* est très ancienne. La récolte de la baie se fait entre les mois de Novembre et Décembre. Après séchage pendant 7 jours ; l'ensemble des baies dont la pulpe a été suffisamment désintégrée est bouillonné dans l'eau. On recueille le bouilli, pour remplir deux sacs de toile long et étroit et pratiquer par la suite le pressage à l'aide de deux queues de bois pour extraire une huile un peu siccative (Hmimza, 2004). En Algérie, la récupération de l'huile de lentisque passe par la macération du fruit dans l'eau chaude, suivie d'une décantation (Belfadel, 2009).

III.5.2. Aspects Pharmacologiques et effets thérapeutiques de l'huile fixe de Pistacia lentiscus

L'intérêt médicinal de cette huile, est avéré pour les diabétiques, pour le traitement des douleurs d'estomac et en cas de circoncision (Hmimza, 2004). En plus, elle est utilisée comme un remède d'application locale externe sous forme d'onguent pour soigner les brûlures (Bensegueni et al., 2007) ou les douleurs dorsales (Bellakhdar, 1997). En Algérie l'huile de lentisque est utilisé contre la diarrhée (Castola et al., 2000 ; Romani et al., 2002) la bronchite, l'asthme, la sinusite, l'eczéma, les brûlures et contre les problèmes de l'appareil digestif (Ulcère et parasites) (Selmi et al., 2010).

Etude Expérimentale

Chapitre I:

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétale

L'huile de lentisque est extraite de fruits du Pistacia lentiscus de la région du Chétaibi de la wilaya d'Annaba ; selon une méthode traditionnelle au mois de décembre en 2012.

I.1.1. Activité antimicrobienne de l'huile de lentisque

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile de lentisque est réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé de Choi et al (2006).

Le principe de cette méthode consiste à utiliser des disques imprégnés dans différentes dilutions de l'huile de lentisque dissoute dans le DMSO (Dimethylsulfoxide) (Un disque imbibé par le DMSO est employé en tant que contrôle négative). Puis disposé à la surface d'un milieu Muller Hinton écouvillonné par une suspension microbienne d'une densité optique de 0,5 McFaelend. Après une durée d'incubation de 48 h à 37°C, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés.

I.1.2. Activité antiradicalaire de l'huile de lentisque (Test DPPH)

L'évaluation de l'activité antiradicalaire est réalisée selon la méthode de Mansouri et al (2005).

La méthode est basé sur le DPPH[•] (Diphényl picryl hydrayl) comme un radicale relativement stable. Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl picryl hydrayl ayant une couleur violette en un composé jaune ; le diphényl picryl hydrazine dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présent dans le milieu a donné des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

2,4 mg de DPPH sont solubilisés dans 100 ml du méthanol. 50 µl de la solution d'huile de lentisques sont ajoutés à 2 ml de la solution du DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité durant 30 min, et la décoloration par rapport au contrôle négative contenant uniquement le DPPH est mesurée à 517 nm.

Les concentrations de l'huile de lentisque dans le milieu réactionnel sont comprises entre 0-200 mg/ml, alors que pour la concentration d'antioxydant standard (Quercétine) est de 50 µg/ml.

L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = \left(\frac{\text{Abs}_{517\text{contrôle}} - \text{Abs}_{517\text{échantillon}}}{\text{Abs}_{517\text{contrôle}}} \right) \times 100$$

I.2. Animaux et conditions d'élevage

Notre étude a été réalisée sur 28 rats mâles blancs (*Rattus rattus*) de la souche Wistar, provenant de l'animalerie de l'Université Constantine1. Ces rats ont des poids moyen de 200 g. Ils ont été soumis à une période d'adaptation d'environ deux semaines, aux conditions de l'animalerie : une température ambiante de $25\text{ C}^{\circ} \pm 2$, une photopériode naturelle, nourris par un régime standard bien équilibré fabriqué par l'O.N.A.B (Office Nationale d'Aliment de Bétail, Wilaya de Bejaïa) (Voir tableau 3) et boivent l'eau de robinet à volonté.

Afin d'éviter un stress éventuel, les rats ont été manipulés toujours dans les mêmes intervalles du temps.

Tableau 3. Composition d' 1 kg d'aliment (ONAB).

| Matière alimentaire | Quantité d'aliment (g/kg) |
|----------------------------|----------------------------------|
| Maïs | 620 |
| Soja | 260 |
| Phosphate | 16 |
| Calcaire | 9 |
| Cellulose | 10 |
| Minéraux | 10 |
| Vitamines | 10 |

I.2.1. Prétraitement et traitement des rats

I.2.1.1. Prétraitement des rats

Les 28 rats ont été répartis en 4 groupes (1, 2, 3 et 4), chacun de 7 rats. Les groupes 2 et 4 ont été prétraités par l'huile de lentisque (3.3ml/kg du poids corporelle) ; administré par gavage pendant une semaine.

I.2.1.2. Traitement des rats

- ✚ **Groupe 1** : rats témoins ont reçu une eau physiologique par injection intra-péritonéale.
- ✚ **Groupe 2** : rats traités par l'huile de lentisque (3.3ml/kg du PC) administré par gavage chaque jour pendant 21 jours.
- ✚ **Groupe 3** : rats traités par l'arsénite de sodium (NaAsO_2) (5.55mg/kg du PC) administré par injection intra-péritonéale chaque jour pendant 21 jours.
- ✚ **Groupe 4** : rats traités par la combinaison de NaAsO_2 (5.55mg/kg du PC) et l'huile de lentisque (3.3ml/kg du PC) administrée par injection intra-péritonéale et gavage respectivement ; chaque jour pendant 21 jours (Pal & Chatterjee, 2004 ; Abidi, et al., 2010).

I.3. Sacrifices et éradication des organes

Dans le dernier jour du traitement et après 12 heures de jeûne, les rats de chaque lot sont sacrifiés puis les organes (foie et reins) sont soigneusement prélevés, rincés avec la solution du NaCl ensuite ils sont stockés au congélateur pour le dosage des paramètres du stress oxydant.

La Figure 8 schématise les différentes étapes du protocole expérimental utilisé.

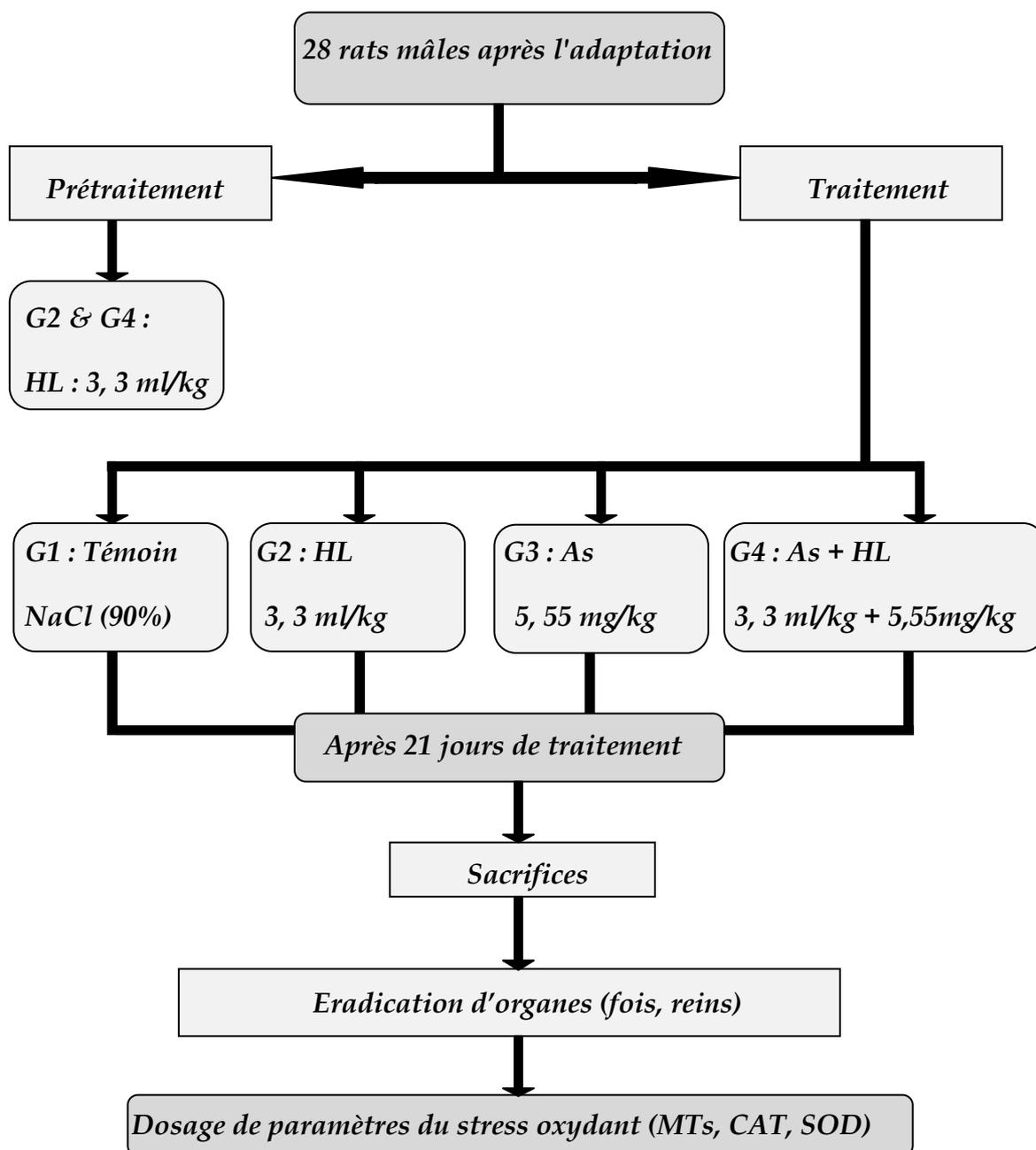
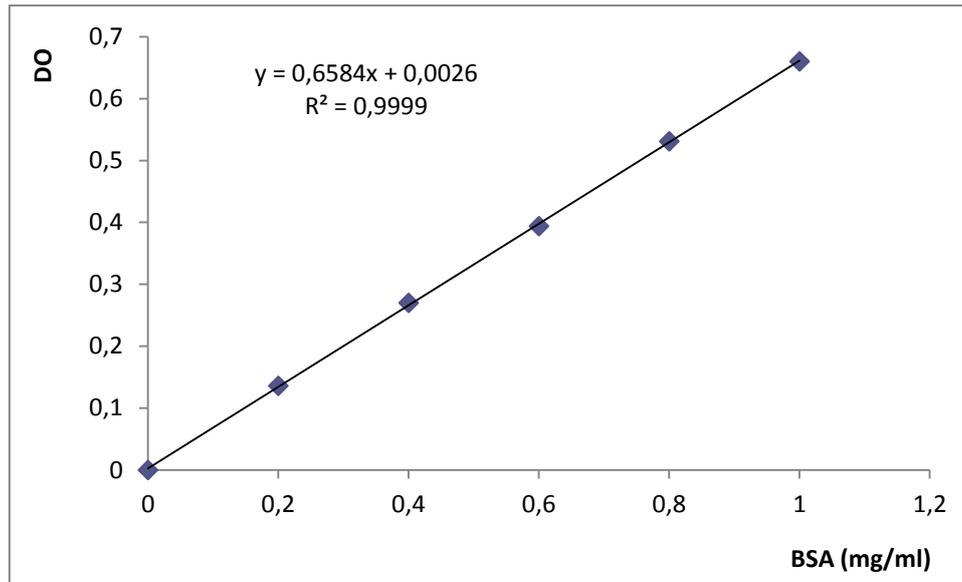


Figure 8. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

I.4.



Dosage des Paramètres du stress oxydant

I.4.1. Préparation des homogénats

Dans un milieu d'homogénéisation TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), un gramme de chaque organe prélevé est broyé puis les broyats sont centrifugés (9000 tours/min) à 4°C pendant 15 min. Les surnageants (S9) obtenus sont aliquotés dans des tubes eppendorfs et conservés à -20°C jusqu'à l'étude analytique.

I.4.2. Dosage des protéines

Le dosage est effectué selon la méthode de Bradford (1976).

La méthode est basée sur le bleu de Coomassie comme un réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe ayant une couleur bleue. L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines.

Un mélange de 0.1 ml du chaque broyat et 5 ml du bleu de coomassie est agité, puis leurs densités optiques contre le blanc sont mesurées à 595 nm après un repos de 5 min. Les concentrations des protéines sont déterminées selon une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1mg/ml) préalablement réalisée dans les mêmes conditions (Voir figure 9)

Figure 9. *Gamme étalon établie avec le BSA comme protéine de référence pour le dosage des protéines.*

I.4.3. Dosage de Méthallothionéines (MTs)

Les MTs sont mesurés selon la méthode de Viarengo et al (1997) modifiée par Petrovic et al (2001).

La fixation des molécules de DTNB [5,5-Dthiobis (2-nitrobenzoïc acide)] aux groupements thiols (SH) a comme conséquence l'apparition d'une coloration jaunâtre dont l'intensité est proportionnelle à la teneur en groupement SH contenus dans les MTs.

La technique consiste à évaluer le nombre des groupements SH en utilisant le réactif GSH comme une référence.

500 µl du cytosol, 525 µl d'éthanol absolu maintenu à -20 °C et 40 µl du chloroforme maintenu à -20 °C sont introduits respectivement dans des tubes eppendorfs et agités au vortex puis centrifugés à 7000 tours/min à froid. Ensuite 20 µl d'HCl (37%), 50 µl d'ARN_m et 2910 µl d'éthanol à -20 °C sont ajoutés respectivement au S9 récupéré.

Après l'incubation durant 1 h à -20 °C, les tubes sont subis une autre centrifugation à 7000 tours/min à froid. Le S9 obtenu est jeté et le culot est lavé avec 1 ml d'une solution de lavage (87% éthanol à -20 °C, 1% chloroforme et 12% tampon d'homogénéisation) et centrifugé également à 7000 tours/min à froid. Encore le S9 obtenu est jeté, le culot est séché à l'air libre.

140 µl du NaCl (0,25 M) sont additionnés au culot et agités au vortex en ajoutant 150 µl d'EDTA/HCl avec l'agitation jusqu'à la dissolution complète. Enfin 4,2 ml du DTNB sont ajoutés puis centrifugé à 5000 tours/min. Les absorbances des échantillons sont lus à 412 nm. La concentration en méthallothionéine en µg/g de poids frais d'organe est déterminée selon l'équation suivante :

$$[MTs](\mu g/g) = \frac{GSH (\mu g) \times 8600}{307,3 \times 21 \times Pf(g)}$$

Avec :

8600 : masse molaire de MTs.

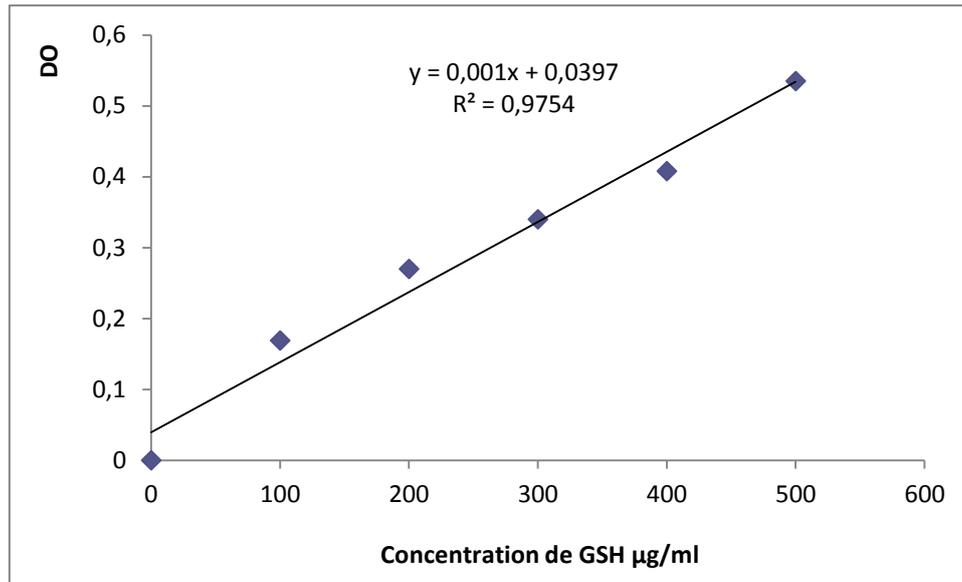
307,3 : masse molaire de GSH.

Pf : poids frais de l'organe.

21 : nombre de groupements SH par molécule de MTs.

Les
en
sont

teneurs
MTs



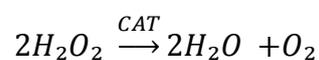
quantifiés en utilisant une gamme étalon de 0 à 500 µg de GSH (Voir figure 10).

Figure 10. Gamme étalon établie avec le réactif GSH comme référence pour le dosage des MTs.

I.4.4. Dosage de l'activité enzymatique de la Catalase (CAT)

La CAT est dosée selon la méthode d'Aebi (1984).

La mesure de l'activité CAT à 240 nm est basée sur la variation de la densité optique consécutive à la dismutation d' H_2O_2 selon la réaction suivante :



La calibration de l'appareil est faite par le tampon phosphate. Les absorbances sont lues après 15 secondes de délai et durant 60 secondes de mesure.

L'activité catalasique est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité CAT } (\mu\text{mole d}'H_2O_2/\text{min/mg de protéine}) = \frac{\Delta DO \times d}{\epsilon \times l \times X \times 0,02}$$

Avec :

- ✓ ΔDO : Variation de la densité optique par minutes.
- ✓ d : Dilution d'échantillon au début.
- ✓ ε : Coefficient d'extinction d' H_2O_2 ($0,043 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).
- ✓ l : Largeur de la cuve.
- ✓ X : Quantité de protéines en mg/ml.

I.4.5. Dosage de l'activité enzymatique de la Superoxyde dismutase (SOD)

La méthode de dosage de l'activité SOD par le test NBT est basée sur la photoréduction du complexe riboflavine/méthionine qui génère des anions superoxydes. L'oxydation du NBT par $O_2^{\bullet -}$ est utilisée comme base de détection de la présence de SOD. Dans un milieu aérobie ; le mélange riboflavine, méthionine et NBT donne une coloration bleuâtre. La présence de SOD inhibe l'oxydation du NBT (Byer & Fridovich, 1987).

Dans un milieu réactionnel d'EDTA (0,1 mM), Met (13 mM), tampon phosphate (50 mM, pH 7,8), NBT (75 μM) et riboflavine (2 μM) ; les échantillons sont mesurés à 560 nm après une calibration obtenue par le blanc.

| Réactifs | Blanc (μl) | Essai (μl) |
|------------------|-------------------------|-------------------------|
| EDTA-Met | 1000 | 1000 |
| Tampon phosphate | 1000 | 1000 |
| Echantillon | - | 50 |
| Tampon phosphate | 1000 | 950 |
| NBT | 85,2 | 85,2 |
| Riboflavine | 22,6 | 22,6 |

L'activité SOD est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité SOD (unité SOD /mg prot)} = \left(\left[\frac{(DO_{\text{blanc}} - DO_{\text{ech}})}{DO_{\text{b}}} \times 100 \right] \times \frac{20}{[\text{Protéines (mg/ml)}]} \right) \times Fd$$

Unité SOD correspond à la quantité des protéines qui induit 50% d'inhibition de NBT.

I.5. Etude statistique

Les résultats ont été représentés sous forme de moyennes plus ou moins l'écart type ($Moy \pm Ecart$), la comparaison entre les différents groupes est effectuée après une analyse de la variance (ANOVA), les moyennes sont comparées par un test de Student. L'analyse statistique des données a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (Version 13.31).

Les différences sont considérées comme suit :

- ◆ *Significatives par rapport au témoin ($P \leq 0,05$).*
- ◆ *Hautement significative par rapport au témoin ($P \leq 0,01$).*
- ◆ *Très hautement significative par rapport au témoin ($P \leq 0,001$).*

Avec P : Seuil de signification.

Chapitre II:

RESULTATS ET DISCUSSION

II. Résultats et discussion

II.1. Activités biologiques *in vitro* de l'huile de *Pistacia lentiscus*

II.1.1. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'huile de lentisque a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne (Voir figure 11 et tableau 4).

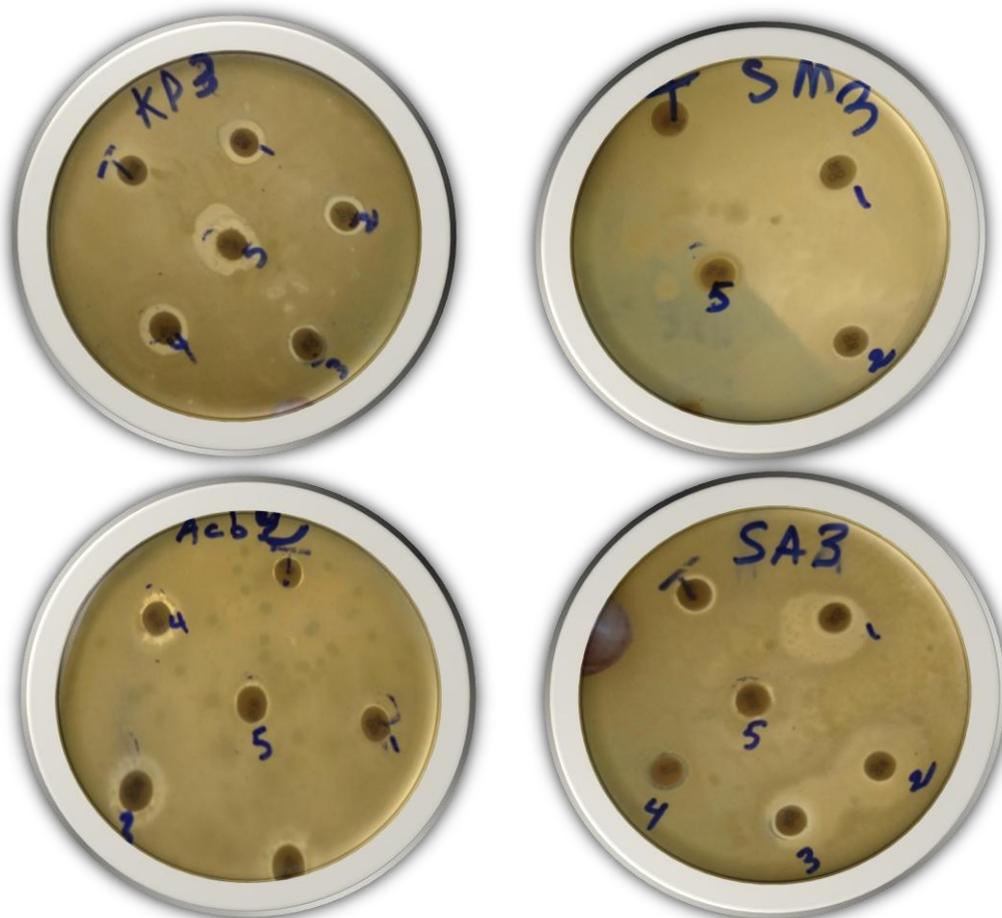
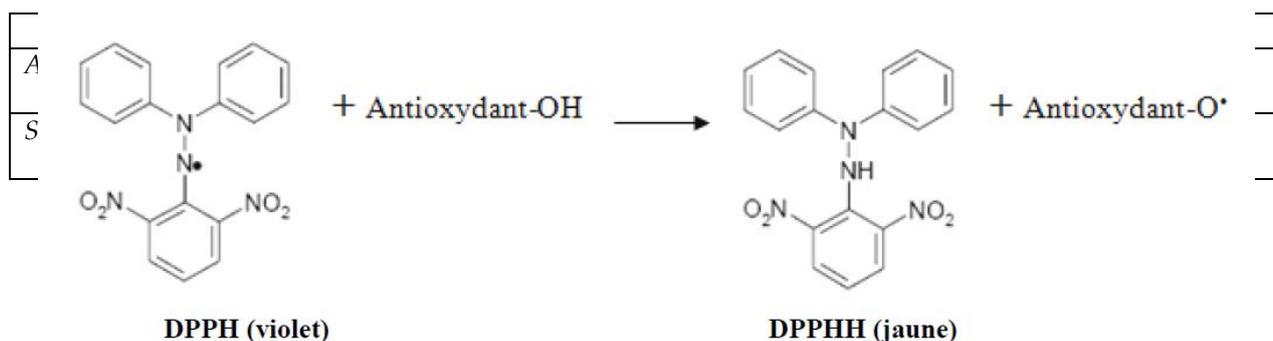


Figure 11. Zones d'inhibitions de la croissance microbienne Obtenue par différentes dilutions de l'huile de lentisque.

Tableau 4. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne obtenus par différentes dilutions de l'huile de lentisque.

| Concentration de PL (g/ml) | Diamètres des zones d'inhibition de croissance (mm) | | | | |
|---------------------------------------|---|-----------|--------------|--------|--------------|
| | 0,2 | 0,4 | 0,6 | 1 | Pure |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+) | 15 ± 2,66 | 18 ± 5,33 | 16,66 ± 3,11 | 12 ± 2 | 12,66 ± 1,77 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> (Gram -) | | | | | |



Les valeurs représentent la moyenne de 3 essais \pm SD (Les zones sont mesurées en mm).

D'après les résultats obtenus, il apparaît que toutes les souches bactériennes testées sont inhibées au moins par l'une des dilutions choisies, ce qui montre le large spectre de l'activité antibactérienne de cette huile.

Alors l'huile de PL possède une activité antibactérienne avec des degrés différents ; *Staphylococcus aureus* (12–18 mm), *Klebsiella pneumoniae* (9.33–13.66 mm), *Acinetobacter baumannii* (8.33–12 mm), *Serratia marcescens* (8–10 mm). Cette différence est liée principalement à la construction et la sensibilité des bactéries.

La *Staphylococcus aureus* (Gram positif) est la bactérie la plus susceptible ($18 \pm 5,33$ mm) par rapport les autres souches (Gram négatif), ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif. La paroi cellulaire des bactéries à Gram positif est constituée par une seule couche tandis que la paroi cellulaire des bactéries Gram négatif a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (Ali-Shtayeh et al., 1998).

II.1.2. Activité antioxydante (Test DPPH)

L'activité antioxydante de l'huile de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis le radical DPPH• a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical ayant une couleur violette en un composé jaune à 517 nm selon la réaction suivante :

Les profils d'activité antiradicalaire obtenus (Voir figure 12) révèlent que l'huile de *Pistacia lentiscus* possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante. Pour mieux caractériser le pouvoir antiradicalaire ; deux autres paramètres sont introduits :

- **Calcul de l'EC₅₀** qui prend en considération la concentration de DPPH dans le milieu réactionnel [concentration effective à 50%, EC₅₀ = (IC₅₀/mg de DPPH/ml)]

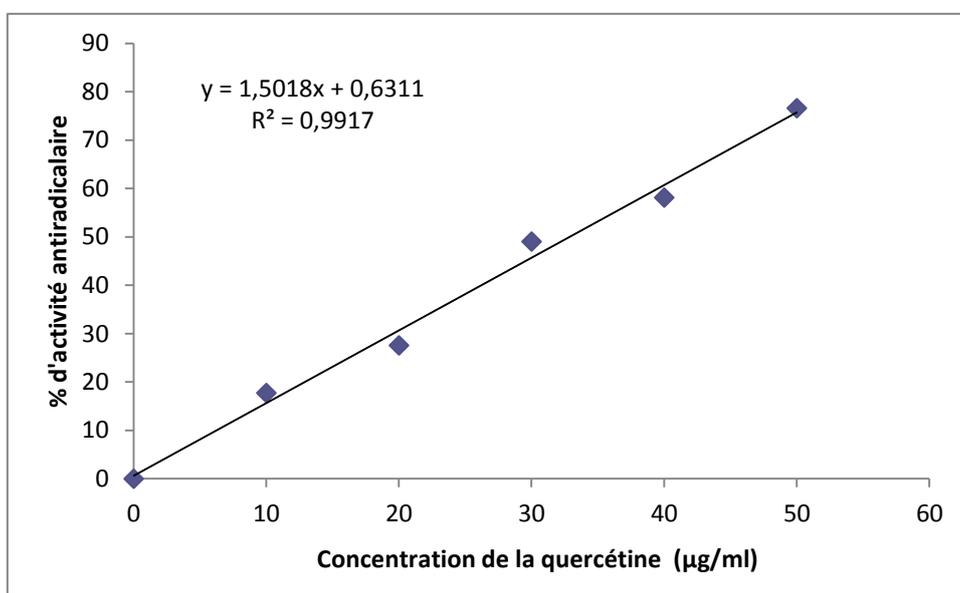
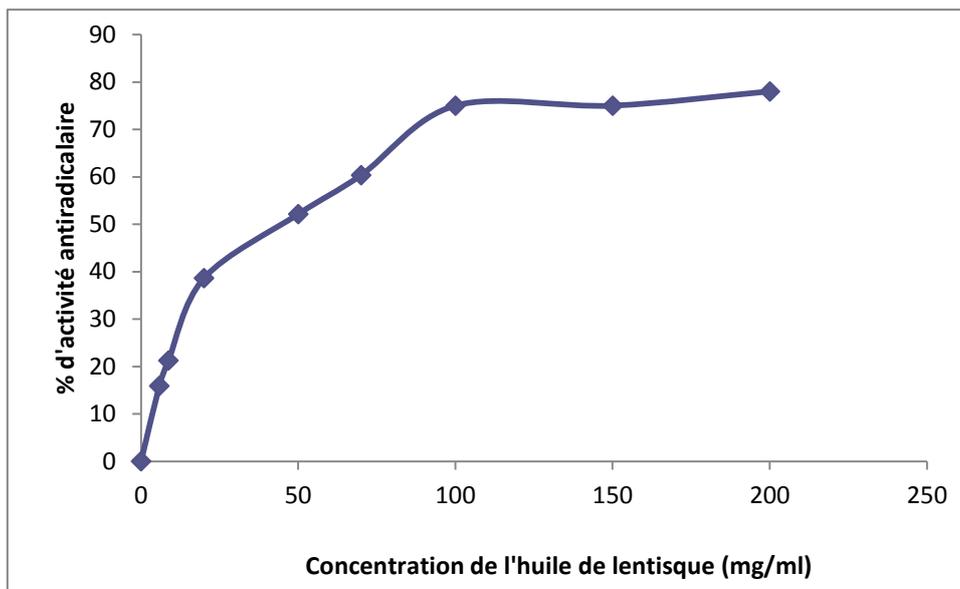
- **Calcul du pouvoir antiradicalaire (APR) qui est inversement proportionnel à l'EC₅₀** (Prakash et al., 2007).

A des fins comparative, on a utilisé la quercétine comme standard, elle a montré une activité antiradicalaire puissante (IC₅₀ = 32.74 ± 0,124) (Voir tableau 5, figure 12).

Tableau 5. L'activité antiradicalaire de la quercétine et de l'huile de Pistacia lentiscus.

| | IC ₅₀ (µg/ml) | EC ₅₀ (µg/µg DPPH) | APR |
|--------------------|--------------------------|-------------------------------|-----------------|
| Quercétine | 32.74 ± 0.124 | 1.63 ± 0.006 | 0.6105 ± 0.0025 |
| Huile de PL | 76.78 ± 0.846 | 3.839 ± 0.042 | 0.26 ± 0.003 |

Les valeurs présentent la moyenne de deux essais ± SD.



Figure

12.

Activité antiradicalaire de l'huile de Pistacia lentiscus et de la quercétine.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'huile de Pistacia lentiscus possède une très bonne activité antiradicalaire dont le pourcentage de l'activité antiradicalaire atteint jusqu'à 78%, ce qui montre que l'huile de Pistacia lentiscus est active vis-à-vis le DPPH• avec une IC_{50} de 76.78 µg/ml et un APR de 0,26.

Des études ont montré que tous les extraits de Pistacia lentiscus en particulier les extraits de chloroforme ont une excellente activité antiradicalaire (90%) équivalente au standard BHA (89%) contre le radicale DPPH•. Ainsi les extraits aqueux et éthanoliques ont

une activité antiradicalaire de 78% et 90% respectivement (Duduku et al., 2010). Le bon pouvoir réducteur contre le radical DPPH[•] et l'H₂O₂ de *Pistacia lentiscus* due à sa richesse en tanins (Atmani et al., 2009). D'ailleurs des autres études de Chryssavgi et al (2008) indiquent qu'il y a une forte corrélation entre le pouvoir antioxydant et la présence des composés phénoliques (588 mg d'acides galliques/g et 81.6% de monoterpènes) dans cette plante, ces derniers ont un important intérêt médicinales.

II.2. Etude *in vivo* de l'activité antioxydante de l'huile de *Pistacia lentiscus* contre le stress oxydants induit par l'arsenic

II.2.1. Paramètres du stress oxydant

Les paramètres du stress oxydant (MTs, CAT et SOD) des organes (Foie et reins) des rats traités et rats témoins après 28 jours de traitement sont présentées dans le tableau (6) et les figures (13, 14 et 15).

II.2.1.1. Métallotionéines (MTs)

D'après les résultats obtenus (Tableau 6, figure 13) on observe une diminution hautement significative ($P \leq 0,01$) du taux de MTs dans les organes : foie (- 24.53%) et reins (-21,53%) chez le groupe traité par l'arsénite de sodium pendant 21 jours par rapport au groupe témoin. Tandis que le groupe traité par l'huile de *Pistacia lentiscus* et par la combinaison (arsénite de sodium/huile de PL) ne montre aucune variation significative du taux de MTs dans les deux organes ; en comparant avec le groupe témoin.

II.2.1.2. Catalase (CAT)

L'administration de l'arsénite de sodium à 5,55 mg/kg du PC pendant 21 jours chez les rats, induite une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) de l'activité enzymatique de la CAT dans le foie (+93 %) et une augmentation significative ($P \leq 0,05$) dans les reins (+30.94 %) par rapport aux rats témoins. En revanche, les rats traités par la combinaison (arsénite de sodium/huile de PL) ne présentent aucune différence significative de l'activité enzymatique de la CAT dans les organes : reins et foie ; par rapport aux rats témoins. Cependant les rats traités par l'huile de *Pistacia lentiscus*, ne montrent aucune variation significative dans les organes étudiés (Tableau 6, figure 14).

II.2.1.3. Superoxyde dismutase (SOD)

Le traitement des rats par l'arsénite de sodium à une dose de 5,55 mg/kg du PC pendant 21 jours entraîne une diminution significative ($P \leq 0,05$) de l'activité enzymatique de la SOD dans le foie (-24,35%) par rapport aux rats témoins. Ainsi chez les rats traités par la combinaison (arsénite de sodium/huile de PL) on enregistre une différence significative ($P \leq 0,05$) de l'activité enzymatique de la SOD dans le foie (-18,48 %), mais aucune différence significative a été montrée chez les rats traités par l'huile de Pistacia lentiscus dans le foie ; en comparant avec les rats témoins (Tableau 6, figure 15).

Tableau 6. Variation des paramètres du stress oxydant (MTs, CAT et SOD) des organes (Foie et reins) chez les rats témoins et traités par l'arsénite de sodium, l'huile de Pistacia lentiscus et la combinaison (Arsénite de sodium/Huile de PL) après 28 jours de traitement.

| Paramètres | organes | Lots expérimentaux | | | |
|--|---------|--------------------|--------------------|-----------------------|------------------------|
| | | Témoin | PL | NaAsO ₂ | NaAsO ₂ /PL |
| MTs ($\mu\text{g/g prot}$) | Foie | 70,38 \pm 6,14 | 77,99 \pm 3,44 | 53,11** \pm 6,02 | 67,24 \pm 8,84 |
| | % | – | +10,8% | -24,53% | -4,46% |
| | Rein | 37,62 \pm 2,66 | 36,59 \pm 2,71 | 29,52** \pm 3,33 | 39,51 \pm 5,98 |
| | % | – | -2,74% | -21,53% | +5,023% |
| CAT ($\mu\text{mol/min/mg prot}$) | Foie | 148,98 \pm 29,37 | 187,33 \pm 25,26 | 288,28*** \pm 38,19 | 168,62 \pm 17,82 |
| | % | – | +25% | +93% | +113% |
| | Rein | 76,192 \pm 10,67 | 81,94 \pm 11,98 | 99,77* \pm 12,29 | 68,13 \pm 6,11 |
| | % | – | +7,55% | +30,94% | -10,56% |
| SOD (unité SOD/mg de Prot) | Foie | 328,74 \pm 35,98 | 365 \pm 42,96 | 248,68* \pm 37,30 | 267,98* \pm 24,13 |
| | % | – | - 4,17% | -24,35% | -18,48% |

* : Différence significative par rapport au témoin.

** : Différence hautement significative par rapport au témoin.

*** : Différence très hautement significative par rapport au témoin.

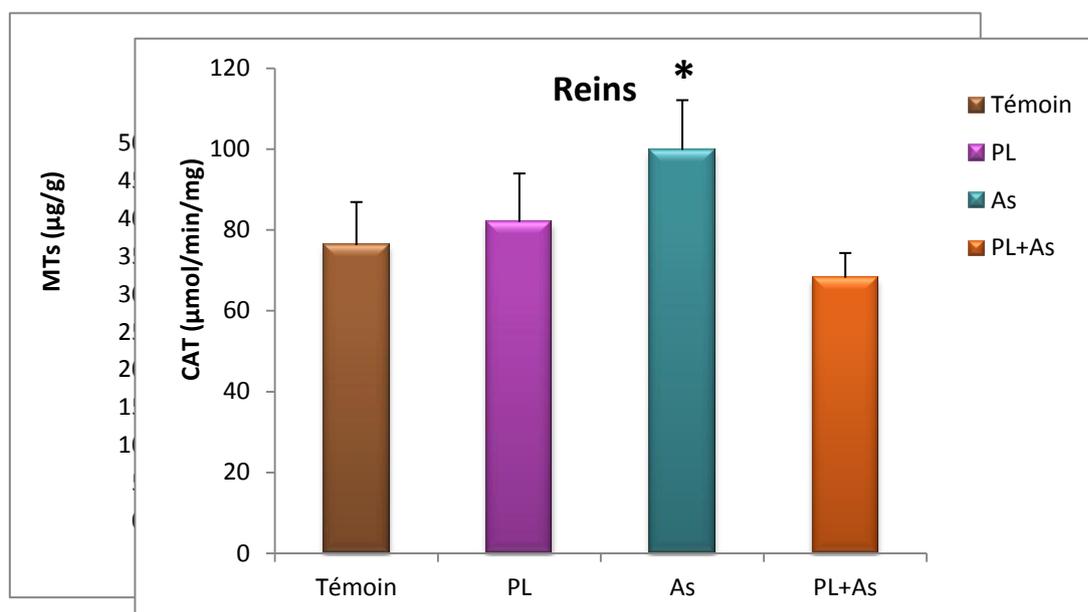
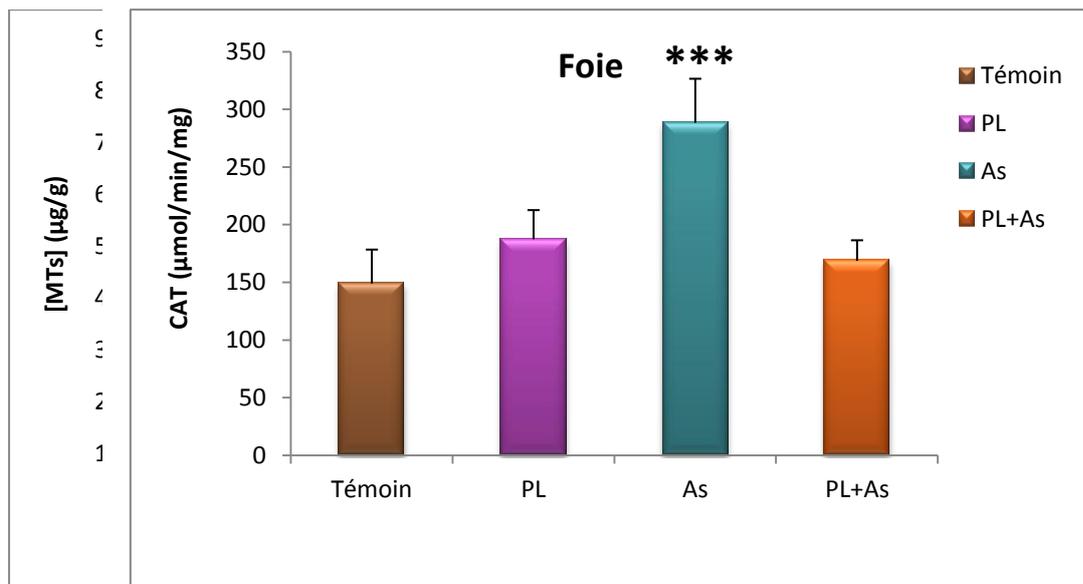


Figure 13. Variation de l'activité enzymatique de MTs dans les organes (Foie et reins) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

Figure 14. Variation de l'activité enzymatique de la CAT dans les organes (Foie et reins) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

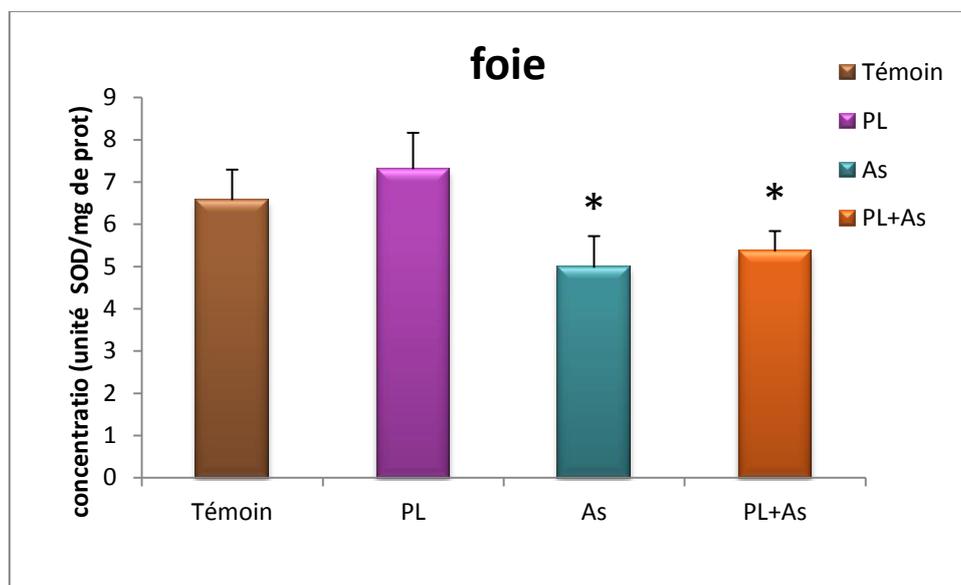


Figure 15. Variation de l'activité enzymatique de la SOD dans le foie chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

Notre étude est réalisée avec une concentration de 5.55 mg/kg du PC d'arsénite de sodium et une dose de 3,3 ml/kg du PC de l'huile de lentisque ; référée respectivement aux travaux effectués par (Pal & Chatterjee, 2004) et (Abidi et al., 2010).

L'As est connu pour induire la production des RLs : peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Barchowsky et al., 1996 ; Chen et al., 1998 ; Wang et al., 1996), radicaux hydroxylés (HO^\bullet) (Wang et al., 1996), oxyde nitrique (NO^\bullet) (Gurr et al., 1998), anions superoxydes ($O_2^{\bullet-}$) (Lynn et al., 2000), peroxy diméthylarsinique ($[(CH_3)_2AsOO^\bullet]$) et radicaux de diméthylarsinique ($[(CH_3)_2As^\bullet]$) (Yamanaka et al., 1997), donc modifie la balance entre les RLs générés et les systèmes antioxydants et altère l'équilibre pro/anti-oxydant en induisant le SO.

Nos résultats montrent que l'injection intrapéritonéale des rats par l'arsénite de sodium (5,55mg/kg du PC pendant 21 jours) a entraîné une diminution ; du taux de MTs dans les organes (Foie et reins), de l'activité enzymatique de la SOD dans le foie et une augmentation de l'activité enzymatique de la CAT dans les organes étudiés.

Les MTs jouent un rôle fondamental dans la défense contre la toxicité des métaux lourds (Jacob et al., 1998 ; Jiang et al., 1998 ; Maret & Vallee, 1998) tels le cadmium dont la toxicité est réduite par sa séquestration. En effet, les MTs agissent comme des agents de séquestration des métaux toxiques afin d'empêcher leur fixation sur les sites actifs d'autres protéines provoquant alors leur dénaturation ou leur inactivation.

Les MTs peuvent aussi protéger les cellules contre les EROs, notamment les radicaux hydroxyles et superoxydes (Viarengo et al., 1999 ; McAleer & Tuan 2001a, b). De ce fait la diminution des MTs dans les organes étudiés est due à leur participation dans la détoxification de l'As et les RLs ($\cdot\text{OH}$ et $\text{O}_2^{\cdot-}$) générés par ce métalloïde.

L'organisme possède tout un arsenal d'enzymes qui permettent de lutter contre le stress oxydant. Cependant ces enzymes peuvent être affectées par l'As qui agisse en provoquant la décroissance des activités enzymatiques antioxydantes telles les SODs et les GPxs (Ramos et al., 1995).

La diminution de l'activité enzymatique de la SOD peut être due à la production accrue de l'anion superoxyde résultant du métabolisme de l'As (Yamanaka et al., 1989, 1990), d'altération de la SOD par l'As, d'épuisement de GSH, de la détoxification de l'As par les MTs et les molécules antioxydantes (Viarengo et al., 1999 ; de Vizcaya-Ruiz et al., 2009). Ces résultats sont en accord avec les travaux d'Anshu et al (2011).

L'augmentation des radicaux superoxydes stimule l'activité catalytique de la CAT (Kono & Fridovich, 1982) qui est également peut augmenter lors de la génération de l' H_2O_2 par l'As, neutralisé principalement par la CAT (Jones et al., 1981).

Par ailleurs, la supplémentation par l'huile de lentisque chez les rats traités par l'As a diminuée les effets toxiques de ce dernier. Cette amélioration est due à la richesse de cette plante en éléments antioxydants naturels tels les polyphénols (Acide gallique et dérivé galloyl), les flavonoïdes (Glycosides de myricetine et quercetine) et les terpènes (monoterpènes et triterpénoides) (Gray & Flatt, 1997 ; Romani et al., 2002 ; Zhao et al., 2005 ; Aouichri et al., 2008) et les acides gras monoinsaturés (AGMI) (Ansari et al., 2012 ; Rodríguez-Pérez, 2013). Ces constituants sont capables de piéger les RLs comme le radical hydroxyle et l'anion superoxyde (Pastre, 2005).

- *Les flavonoïdes et les glycosides grâce à leurs propriétés chélatrices (Pastre, 2005), sont capables de piéger les ions métalliques libres en particulier le fer et le cuivre, ce qui réduit la production d'EROs catalysée par les métaux (Miller et al., 1996).*
- *Les terpènes ce sont des métabolites secondaires inhibent la génération des RLs et induisent une augmentation de la SOD, la CAT, la GST et la GSH, ce qui entraîne l'obstruction de la formation de SO (Mandal, 2009).*

Une étude réalisée sur la ligne cellulaire K562 a démontré que l'acide gallique de l'huile de Pistacia lentiscus a un rôle protecteur contre la peroxydation lipidique induite par l'H₂O₂ (Adelwahed et al., 2007). Des autres études (Liu, 1995 ; Rios et al., 2000) ont montré que la supplémentation de l'huile de Pistacia lentiscus est très efficace dans la protection du foie contre les lésions hépatiques induites chimiquement chez les animaux de laboratoire.

Conclusion & Perspective

Conclusion et perspective

Suite à ce travail de mémoire les conclusions principales à retenir sont :

- *L'étude in vitro des activités biologiques de l'huile de Pistacia lentiscus a montrée que cette huile possède:*
 - *Une activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif.*
 - *Une excellente activité antiradicalaire vis-à-vis le radicale DPPH•.*

- *L'étude in vivo des paramètres du stress oxydant dans les organes (Foie et reins) a montré que :*
 - *L'administration de l'arsénite de sodium à 5,55 mg/kg du PC par injection intrapéritoniale chez les rats mâles adultes de la souche Wistar pendant 21 jours, entraîne un déséquilibre de la balance pro/antioxydant et ceci est révélé par :*
 - *Une diminution du taux de MTs dans les deux organes.*
 - *Une augmentation de l'activité enzymatique de la CAT dans les deux organes.*
 - *Une diminution de l'activité enzymatique de la SOD dans le foie.*
 - *La supplémentation de l'huile de Pistacia lentiscus à 3.3 ml/kg du PC en compagnie de l'arsénite de sodium a amélioré certains paramètres du stress oxydant (MTs et CAT).*

Les résultats de notre travail ouvrent des nouvelles voies de recherche notamment en ceux qui concernent les tests de l'activité biologique de l'huile de lentisque (Test du blanchissement du β carotène, test de NBT...). Parallèlement Il pourrait être aussi intéressant de doser d'autres paramètres du stress oxydatif (GPx, GSH, GST, Hsp...) et de faire les coupes histologiques au niveau des organes.

Références Bibliographique

Références bibliographiques

Abdelwahab, A., Bouhlel, I., Skandrani, I., Valenti, K., Kadri, M., Guiraud, P., Steiman, R., Mariotte, A.M., Ghedira, K., Laporte, F., Dijoux-Franca, M.G., Chekir-Ghedira, L. (2007). Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*. Confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-Biological Interactions*. **165** : 1-13.

Abernathy, C.O., Liu, Y.P., Longfellow, D., Aposhian, H.V., Beck, B., Fowler, B., Goyer, R., Menzer, R., Rossman, T., Thompson, C., Waalkes, L. (1999). Arsenic: health effects, mechanisms of actions, and research issues. *Environ. Health. Perspect.* **107** : 593-597.

Achard-Joris, M. (2005). Etudes biochimiques et génétiques de la réponse adaptative de mollusques face aux contaminations métalliques et au stress oxydant. Thèse de doctorat d'université : Ecotoxicologie. Université Bordeaux 1. France.216.

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* **105** : 121-126.

Ait.Said, S. (2011). Stratégies adaptatives de deux espèces du genre *Pistacia* (*P.lentiscus* et *P. atlantic*. Desf.). Thèse de doctorat d'université : Biologie Végétale. Université Mouloude Mammeri-Tizi-Ouzou. Algérie. 160.

Andrews, G.K. (2000). Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions. *Biochem. Pharmacol.* **59** : 95-104.

Ansari, S.H., Nahid, A., Siddiqui, A.N. (2012). *Pistacia Lentiscus* : a review on phytochemistry and pharmacological properties. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* **4** : 16-20.

Ansari.Ali.Shtayeh, M.S., Yaniv, Z., Mahajna, J. (2000). Ethnobotanical survey in the palestinian area : a classification of the healing potential of medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* .**73** : 221-232.

Anshu, J., Abhishek, Y., Bozhkov, A.I., Padalko, V.I., Flora, S.J.S. (2011). Therapeutic efficacy of silymarin and naringenin in reducing arsenic-induced hepatic damage in young rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* **74** : 607-614.

Aposhian, H.V., Aposhian, M.M. (2006). Arsenic toxicology : Five questions. *Chemical Research in Toxicology* . **19** : 1-15.

Arora, A., Sairam, R., Srivastava, G. (2002). Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*. **82** (10) : 1227-1238.

Arreola-Mendoza, L., Reyes, J.L., Melendez, E., Martin, D., Namorado, M.C., Sanchez, E., DelRazo, L.M. (2006). Alpha-tocopherol protects against the renal damage caused by potassium dichromate. *Toxicology*. **218** : 237–246.

Awasthi, Y.C., Yang, Y.S., Tiwari, N.K., Patrick, B., Sharma, A., Li, J., Awasthi, S (2004). Regulation of 4-hydroxynonenal-mediated signaling by glutathione S-transferases. *Free Radical Biology and Medicine* . **37** : 607-619.

Barchowsky, A., Dudek, E. J., Treadwell, M. D., Wetterhahn, K.E. (1996). Arsenic induces oxidant stress and NF-kappa B activation in cultured aortic endothelial cells. *Adv. Free. Radic. Biol. Med.* **21**: 783-790

Basu, A., Mahata, J., Gupta, S., Giri, A.K. (2001). Genetic toxicology of a paradoxical human carcinogen, arsenic: a review. *Mutat. Res.* **488** : 171-194.

Baudière, A., Monange, Y., Gauquelin, T.h. (2002). *Le Monde des Plantes ; Intermédiaire des Botanistes*. Toulouse . 477, 2 – 5.

Baudrimont, M., Metivaud, J., Maury-Brachet, R., Ribeyre, F., Boudou, A. (1997). Bioaccumulation and metallothionein response in the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) after experimental exposure to cadmium and inorganic mercury. *Environ. Toxicol. Chem.* **16** : 2096–2105.

Baytop, T. (1999). *Therapy with medicinal plants in turkey- Past and Present, Second ed.* Nobel Publishers, Istanbul.

Bebianno, M.J., Langston, W.J. (1991). Metallothionein induction in *Mytilus edulis* exposed to cadmium. *Mar. Biol.* **108** : 91– 96.

Bebianno, M.J., Serafim, M.A. (1998). Comparison of metallothionein induction in response to cadmium in the gills of the bivalve molluscs *Mytilus galloprovincialis* and *Ruditapes decussatus*. *Sci. Total Environ.* **214** : 123–131.

Behrend, L., Henderson, G., Zwacka, R. M. (2003). "Reactive oxygen species in oncogenic transformation." *Biochem Soc Trans.* **31**(6) : 1441-1444.

Bentley, R.Y., Trimen, H. (1980). *Medicinal plants*. In Gardeli et al. (eds) *Essential oil composition of Pistacia lentiscus L. and Myrtus communis L : Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts*. *Food Chem.* 1-11.

Bernhardt, R. (1996). *Cytochrome P450: structure, function, and generation of reactive oxygen species*. *Rev Physiol Bioch.* **127** : 137-221.

BEYER, J.R., FRIDOVICH, I. (1987). *Assaying for Superoxide Dismutase Activity: Some Large Consequences of Minor Changes in Conditions*. *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY.* **161** : 559-566.

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

Bisson, M. (2002). *Toxicologie de l'arsenic*. In : *Journée technique : Arsenic*. Pau, France.

Blackburn, G. (1997). *Functional foods in the prevention and treatment of diseases: significance of the Dietary Approaches to Stop Hypertension Study*. *Am J Clin Nutr.* **66** : 1066-71.

Bonnefont.Rousselot, D., Théron, P., Delattre, J. (2003). *Radicaux libres et anti-oxydants*. In Delattre J, Durand G, Jardillier JC. *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires*. Médecine-sciences Flammarion Paris. 59-81

Borg, J., Reeber, A. (2008). *Biochimie métabolique* , Editeur : Ellipses marketing (2^{ème} édition) collection : les cours du PCEM. 256.

Boukeloua, A. (2009). *Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique a base d'huile de Pistacia lentiscus. L (Anacardiaceae)*. Mémoire de magistère d'université : *Biotechnologie Végétale*. Université Mentouri Constantine. Algérie. 79.

Bradford, M. (1976). *A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding*. *Anal. Biochem.* **72** : 248-254.

Buchet, J.P., Lauwerys, R. (1985). *Study of inorganic arsenic methylation by rat liver in vitro: relevance for the interpretation of observations in man*. *Arch. Toxicol.* **57** (2) : 125-129.

Buchet, J.P., Lauwerys, R. (1988). *Role of thiols in the in-vitro methylation of inorganic arsenic by rat liver cytosol*. *Biochem. Pharmacol.* **37**(16) : 3149-3153.

Cadet, J., Bellon, S., Berger, M., Bourdat, AG., Douki, T., Duarte, V., Frelon, S., Gasparutto, D., Muller, E., Ravanat, J.L., Sauvaigo, S. (2002). Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases. *Biol. Chem.* **383** : 933-943.

Caussy, D. (2003). Case studies of the impact of understanding bioavailability: arsenic. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* **56** : 164-173.

Chelikani, P., Fita, P.C., Loewen. (2004). «Diversity of structures and properties among catalases». *Cell. Mol. Life. Sei.* **61**(2) : 192-208.

Chen, Y.C., Lin.Shiau, S.Y., Lin, J. K. (1998). Involvement of reactive oxygen species and caspase 3 activation in arsenite-induced apoptosis. *J. Cell. Physiol.* **177** : 324-333.

Choi, Y.M., Noh, D.O., Cho, S.Y., Suh, H.J., Kim, K.M., Kim, J.M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT.* **39** : 756-761.

Corpas, F.J., Barroso, J.B., delreo, L.A. (2001). Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells. *Trends. Plant. Sci.* **6** : 145-150.

Corrine, A. (2010). Stress oxydatif, calcium et thermalisme. *Press. Therm. Climat.* **147** (2) : 121-138.

De Vizcaya.Ruiz, A., Barbier, O., Ruiz.Ramos, R., Cebrian, M.E. (2009). Biomarkers of oxidative stress and damage in human populations exposed to arsenic. *Mutat. Res.* **674** : 1-2, 85-92.

Defraigne, J.O., Pincemail, j. (2007). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Rev. Med. Liege.* **62** (4) : 1-10.

Del Razo, L.M., Quintanilla.Vega, B., Brambila.Colombres, E., Calderon.Aranda, E. S., Manno, M., Albores, A. (2001). Stress proteins induced by arsenic. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **177** : 132-148.

DROGE, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Cellular Physiol. Rev.* **82** : 47-95.

Evans, W.J. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr.* **72** : 647S-652S.

Favier, A. (1997). "Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur ". *Annales de Biologie Clinique.* **55**(1) : 9-16.

Favier, A. (2003). *Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique.* 108-115.

Ferradji, A. (2011). *Activités antioxydantes et anti-inflammatoires des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies Pistacia lentiscus. Mémoire de majistère : Biochimie appliquée. Université Ferhat Abbas –Sétif. Algérie.* 67.

Garait, B. (2006). *Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®. Thèse de doctorat d'université : Biologie Cellulaire. Université de Joseph Fourier-Grenoble 1. France.*195.

Gardès, Albert, M., Bonnefont.Rousselot, D., Abedinzadeh,Z., Jore, D. (2003). *Espèces réactives de l'oxygène-Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?. L'actualité chimique.* 91-96.

Gardner, P.R., Raineri, I., Epstein, L.B., White, C.W. (1995). *Superoxide radical and iron modulate aconitase activity in mammalian cells. J Biol Chem.* **270** : 13399-405.

Geret, F., Serafim, A., Barreira, L., Bebianno, M.J., (2002b). *Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the clam Ruditapes decussatus. Biomarkers.* **7** : 242-256.

Gresser, M.J. (1981). *ADP-arsenate: Formation by submitochondrial particles under phosphorylating conditions. The Journal of Biological Chemistry.* **256** : 5981-5983.

Gurr, J.R., Liu, F., Lynn, S., Jan, K.Y. (1998). *Calcium dependent nitric oxide production is involved in arsenite-induced micronuclei. Mutat. Res.* **416** : 137-148.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1999). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford Science Publications, Oxford.

Haq, F., Mahoney, M., Koropatnick, J. (2003). Signaling events for metallothionein induction. *Mutat. Res.* **533** : 211-226.

Herbette, S., Roeckel-Drevet, P., Drevet, J.R. (2007) Seleno-independent glutathione peroxidases. More than simple antioxidant scavengers. *FEBS Journal.* **274**: 2163-2180.

Hong, J.H., Kim, M.J., Park, M.R., Kwag, O.G., Lee, I.S., Byun, B.H., Lee, S.C., Lee, K.B., Rhee, S.J. (2004). Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Clin. Chim. Acta .* **340** : 107-115.

Hopenhayn, C. (2006). Arsenic in Drinking Water: Impact on Human Health. *ELEMENTS.* (2) : 103-107.

Hughes, M.F., Kenyon, E.M., Kitchin, K.T. (2007). Research approaches to address uncertainties in the risk assessment of arsenic in drinking water. *Toxicology and Applied Pharmacology.* (222): 399-404.

Hulbert, A.J. (2005). On the importance of fatty acid composition of membranes for aging. *J. Theor. Biol.* **234** : 277-288.

Huwez, F.U., Thirlwell, D., Al'Aldeen, DAA. (1999). Mastic gum kills *Helicobacter pylori*. *N. Engl. J. Med.* **339** : 1946.

Isani, G., Andreani, G., Kindt, M., Carpena, E. (2000). Metallothioneins (MTs) in marine molluscs. *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand).* **46** : 311-330.

Iserin, P. (2001). *Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins*. Larousse/VUEF. **235** (2) : 250-250.

Jacob, S.T., Ghshal, K., Sheridan, J.F. (1998). Induction of metallothionein by stress and its molecular mechanisms. *Gene. expression.* **7** : 301-310.

Jain, C.K., Ali, I. (2000). Arsenic : occurrence, toxicity and speciation techniques. *Water Research.* **34** : 4304-4312.

Jiang, L.J., Maret, W., Vallee, B.L. (1998). The ATP-metallothionein complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **95** : 9146-9149.

Kumari, M.V., Hiramatsu, M., Ebadi, M. (1998). Free radical scavenging actions of metallothionein isoforms I and II. *Free. Radic. Res.* **29** : 93-101.

Lacraz, G. (2009). Relation entre Stress Oxydant et Homéostasie Glucidique au cours du Diabète de Type 2 : Adaptation de la Cellule " Pancréatique. Thèse de doctorat d'université : Physiologie et Physiopathologie. Université Paris 7. France. 266.

Laperche, V., Bodéan, F., Dictor, M.C. (2003). Guide méthodologique de l'arsenic appliquée à la gestion des sites et des sols pollués. BRGM/RP-52066-FR. 94.

Laurent, C. (2005). Rôle du stress oxydatif dans le développement des effets cellulaires radio-induits au niveau cutané : application aux irradiations localisées accidentelles Thèse de doctorat d'université : Biologie. Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines. 221.

Le Baile, D. (2009). Le corps humain...le stress oxydatif. *B.S.* **111** : 60-62.

Lesser, M.P. (2006). Oxidative stress in marine environments: Biochemistry and physiological ecology. *Annu. Rev. Physiol.* **68** : 253-278.

Lu, S. C. (2013). "Glutathione synthesis." *Biochim. Biophys. Acta.* **1830**(5): 3143-3153.

Lynn, S., Gurr, J.R., Lai, H.T., Jan, K.Y. (2000). NADH oxidase activation is involved in arsenite induced oxidative DNA damage in human vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* **86** : 514-519.

Magder, S. (2006). Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life?. *Crit. Care.* **10** : 208-216.

Mandal, B.K., Suzuk, K.T. (2002). Arsenic round the world : a review. *Talanta.* **58** : 201-235.

Mandal, Abdelwahab, A., Bouhlel, I., Skandrani, I., Valenti, K., Kadri, M., Guiraud, P., Steiman, R., Mariotte, A.M., Ghedira, K., Laporte, F., Dijoux-Franca, M.G., Chekir-Ghedira, L. (2006). Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*. Confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-Biological Interactions.* **165** : 1-13.

Mandelker, L. (2008). Introduction to oxidative and mitochondrial dysfunction. *Vet Clin : Small Anim Practice*. f. r. Oxidative stress: the role of mitochondria, and antioxidants, Elsevier Inc. **38**: 1-30.

Manlius, N., Battaglia, Brunet, F., Michel, C. (2009). *Pollution des eaux par l'arsenic et acceptabilité des procédés de biotraitement*. Projet COBIAS. BRGM/RP-57640-FR. 1-173.

Mansouri, A ., Ennbarek, G ., Kokkalou, E ., Kefalas, P.(2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*. **89** : 411-420.

Maret, W., Vallee, B. L. (1998). Thiolate ligands in metallothionein confer redox activity on zinc clusters. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **95** : 3478-3482.

Marnett, L.J. (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat. Res.* **424** : 83-95.

Matés, j.M., Perez.Gomez, C., Nunez de castro, I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.* **32**(8): 595-603.

McAleer, M.F., Tuan, R.S. (2001a). Metallothionein over expression in human trophoblastic cells protects against cadmium-induced apoptosis. *In vitro & molecular toxicology*. **14** : 25-42.

McAleer, M. F., Tuan, R.S. (2001b). Metallothionein protects against severe oxidative stress-induced apoptosis of human trophoblastic cells. *In vitro & molecular toxicology*. **14** : 219-31.

McCarty, K.M., Chen, Y.C., Quamruzzaman, Q., Rahman, M., Mahiuddin G., Hsueh, Y.M., Su, L., Smith, T., Ryan, L., Christiani, D.C. (2007). Arsenic methylation, GSTT1, GSTM1, GSTP1 polymorphisms, and skin lesions. *Environ. Health. Perspect.* **115** (3) : 341-345.

Menzel, D.B., Ross, M., Oddo, S.V. (1994). A physiologically based pharmacokinetic model for ingested arsenic. *Environ. Geochem. Health.* **16** : 209-218.

Michon, J. (2006). *Étude de l'oxydation biologique de l'arsenic As(III) par le consortium bactérien CAsO1 : mise au point de méthodes de détection et application à la détoxification d'effluents*. Thèse de l'Université de Limoges. 239.

Munné.Bosch, S., Peñuelas, J. (2003). Photo and antioxydative protection during summer leaf senescence in *Pistacia lentiscus*. L grown under mediterranean field conditions. *Am.Bot.* **92** : 385-391.

NRC. (1999). *Arsenic in drinking water*. National Research Council. National Academy Press, Washington, D.C. 310-310.

NRC. (2001). *Arsenic in drinking water*. National Research Council. National Academy Press, Washington, D.C. 325-325.

Orient, A., Donko, A., Szabo, A., Leto, T.L., Geiszt, M. (2007). Novel sources of reactive oxygen species in the human body. *Nephrol. Dial. Transplant.* **22** : 1281-8.

Osakabe, N., Baba, S., Yasuda, A., Iwamoto, T., Kamiyama, M., Takizawa, T., Itakura, H., Kondo, K. (2001). "Daily cocoa intake reduces the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation as demonstrated in healthy human volunteers. *Free. Radic. Res.* **34**(1): 93-99.

Ouelmouhoub, S. (2005). *Gestion multi-usage et conservation du patrimoine forestier: cas des subéraies du Parc National d'El Kala (Algérie)*.

Packer, L., Tritschler, H.J., Wessel, K. (1997). Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free. Radic. Biol. Med.* **22** : 359-378.

Palevitch, D., Yaniv, Z. (2000). *Medicinal Plants of the Holy Land*. Modan.Publishing House, Tel Aviv, Israel.

Palmiter, R.D. (1998). The elusive function of metallothioneins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **95** : 8428-8430.

Pamplona, R., Portero.Otin, M., Ruiz, C., Gredilla, R., Herrero, A., Barja, G. (2000) Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals. *Mech. Ageing. Dev.* **112** : 169-183.

Pastre,J. (2005). *Intérêt de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques*. Thèse de doctorat d'université : vétérinaire. Université de Paul-Sabatier-Toulouse. 116.

Pastre. (2005). *Arsenic*, Accessible à: www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp2.html, Consulté en: Juin 2002.

Petrovic, S., Ozretic, B., Krajinovic, Ozretic, M., Bobinac, D. (2001). Lysosomal membrane stability and metallothioneins in digestive gland of mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) as biomarkers in a field study. *Mar. Pollut. Bull.* **42** : 1373–1378.

Pincemail, J. (1995). Free radical, antioxidants and human diseases. In: Favier, A et al, editors. *Analysis of Free Radicals in Biological Systems*. Basel, London, Boston: Berlin Birkhäuser. 83-98.

Pincemail, J. et al. (1998). Espèces oxygénées en médecine humaine: une approche didactique. *Vaisseaux. Cœur. Poumon.* **3** : 133–8.

Pocsi, I., Prade, R.A., Penninckx, M.J. (2004). Glutathione, altruistic metabolite in fungi. *Advances in Microbial Physiology.* **49** : 1-76.

Poisson, C. (2014). Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de doctorat d'université : Toxicologie. Université Paris-Sud 11. France. 414.

Powers, S., Jackson, M. (2008). "Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol. Rev.* **88** : 1243-1276.

Powers, S., Jackson, M. (2008). "Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol. Rev.* **88** : 1243-1276.

Prince, R.C., Gailer, J., Gunson, D.E., Turner, R.J., George, G.N., Pickering, I.J. (2007). Strong poison revisited. *J. Inorg. Biochem.* **101** (11-12) : 1891-3.

Raihane, K. (1999). La contamination des ressources en eau par l'arsenic, le nickel et le chrome : situation en France et quelques exemples à l'étranger. Synthèse technique. Montpellier, ENGREF. 13.

Ramos, O., Carrizales, L., Yanez, L. (1995). Arsenic increased lipid peroxidation in rat tissues by a mechanism independent of glutathione levels. *Environ. Health. Perspect.* **103** : 85–88.

Ravault, C., Fabres, B., Ledrans, M. (2002). Exposition chronique à l'arsenic hydrique et risques pour la santé, bilan des données épidémiologiques. Evaluation quantitative des risques sanitaires en Auvergne. In VS. 108.

Reichl, F.X., Benecke, J., Benecke, M., Eckert, K.G., Erber, B., Golly, I., Kreppel, H., Liebl, B., Muckter, H., Sziinicz, L., Thierman, H., Zilker, T. (2010). *Guide pratique de toxicologie*. De Boeck. 343 (2) : 162-163.

Rice.Evans, C. (1995). *Plant polyphenols : free radical scavenger or chain- breacking antioxydants?*. *Biochem. Soc. Symp.* 61 : 16-103.

Roberts, C.K., Vaziri, N.D., Ni, Z., Barnard, R.J. (2002). *Correction of long-term diet-induced hypertension and nitrotyrosine accumulation by diet modification*. *Atherosclerosis*. 163 : 321-327.

Rodríguez.Pérez, C., Quirantes.Piné, R., Amessis.Ouchemoukh, N., Madani, K., Segura.Carretero, A., Fernández.Gutierrez, A. (2013). *A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from Pistacia lentiscus leaves*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 77 : 167– 174.

Rossman, T. G., Roy, N. K., Lin, W. C. (1992). *Is cadmium genotoxic ?*. *IARC scientific publications*. 367-375.

Ryter, S.F., Tyrrell, R.M. (2000). *Free. Radic. Biol. Med.* 28 : 289-309.

Sajous, L., Botta, A., Sari.Minodier., I. (2008). *Dosage de la 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine dans les urines : un biomarqueur du stress oxydatif d'origine environnementale ?*. *Ann. Biol. Clin.* 66(1) : 19-29.

Sanchez.Moreno, C. (2002). *Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems*. *International Journal of Foods Science and Technology*. 8 : 121-137.

Schiferl, D., Barrett, C.S. (1969). *The crystal structure of arsenic at 4.2, 78 and 299 degrees*. *J. Appl. Cryst.* 2 : 30-36.

Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J.P., Williams, R.J., Cadenas, E., Rice.Evans, C. (2002). *"MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide*. *Neurobiol. Aging*. 23(5): 861-880.

Sies, H., Stahl, W. (1995). *Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants*. *Am J Clin Nutr.* 62 : 1315S-1321S.

Siliart, B. (2007). *Rôle des oligo-éléments dans le stress oxydatif*. *Bull. GTV.* 38 : 44-50.

Smith, A.H., Lingas, E.O., Rahman, M. (2000). Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh : a public health emergency. *Bull. World. Health. Organ.* **78** : 1093-1103.

Tanguy, M., Marie, A., Simon, B. (2009). Antioxydants Première partie : les antioxydants dans l'alimentation. *Médecine.* 256-260.

Thornalley, P.J., Vasak, M. (1985). Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals. *Biochim. Biophys. Acta.* **827** : 36-44.

Tseng, C.H. (2009). A review on environmental factors regulating arsenic methylation in humans. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **235(3)** : 338-350.

Turrens, J.F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J. Physiol.* **552** : 335-344.

Tuzlaci, E., Aymaz, P.E. (2001). Turkish folk medicinal plants, Part IV : (Gonen (Bahkesir)). *Fitoterapia.* **72** : 323-343.

Uthe, J.F., Reinke, J. (1975). Arsenate ion reduction in non living biological materials. *Environ. Lett.* **10** : 83-88.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006). "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* **160** (1): 1-40.

Vaughan, D.J. (2006). Arsenic. *ELEMENTS.* (2) : 71-75.

Viala, A. (2007). Toxicologie. *La voisier. Paris.* **1122** (2) : 583-590.

Viarengo, A., Burlando, B., Cavaletto, M., Marchi, B., Ponzano, E., Blasco, J. (1999). Role of metallothionein against oxidative stress in the mussel. *Mytilus. edulis. Am. J. Physiol.* **277** : 1612-1619.

Viarengo, A., Ponzano, E., Dondero, F., Fabbri, R. (1997). A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms : an application to Mediterranean and Antarctic mollusks. *Mar. Environ. Res.* **44** : 69-84.

Vicentini, F.T., SHao,Y., Fonseca, M.J., Fisher., G.J, Xu, Y. (2011). *Quercetin inhibits UV radiation-induced inflammatory cytokine production in primary human keratinocytes by suppressing NF-KB.* *Journal of Dermatological Science.* **61** : 162-168.

Vina, J.R., Saez, G.T., Vina, J. (1989). *Handbook of free Radicals and Antioxydant in biomédecine. (PCR).* **2** : 29-44.

Wang, T.S., Kuo, C.F., Jan, K.Y., Huang, H. (1996). *Arsenite induces apoptosis in Chinese hamster ovary cells by generation of reactive oxygen species.* *J. Cell. Physiol.* **169** : 256-268.

Weiss, W.P. (2004). *Éléments nutritifs antioxydant et qualité de lait.* CRAAC. 1-14.

WHO. (2000). *Air Quality Guidelines for Europe, 2nd ed.* Copenhagen : WHO Regional Publications, World Health Organization. European. Series. **91** : 288.

Wolfgang, H. (2007). *350 plantes médicinales. Les indispensables natures de delachaux. Delachaux et nislé SA,Paris.* **256** : 226-226.

Wolters, M., Hermann, S., Golf, S., Katz, N., Hahn, A. (2005). *Selenium and antioxidant vitamin status of elderly German women.* *Eur. J. Clin. Nutr.* **24**.

Wu, C.H., Lin, J.A., Hsieh, W.C., Yen, G.C. (2009). *"Low-density-lipoprotein (LDL)-bound flavonoids increase the resistance of LDL to oxidation and glycation under pathophysiological concentrations of glucose in vitro.* *J. Agric. Food. Chem.* **57** (11) : 5058-5064.

Yamanaka, K., Hasegawa, A., Sawamura, R., Okada, S. (1989). *Dimethylated arsenics induce DNA strand breaks in lung via the production of active oxygen in mice.* *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **165** : 43-50.

Yamanaka, K., Hoshino, M., Okamoto, M., Sawamura, R., Hasegawa, A., Okada, S. (1990). *Induction of DNA damage by dimethyl arsine, a main metabolite of inorganic arsenics, is for the major part due to its peroxy radical.* *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **168** : 58-64.

Yoshihara, D., Fujiwara, N., Suzuki, K. (2010). *"Antioxidants : benefits and risks for longterm health."* *Maturitas.* **67(2)** : 103-107.

Yoshikawa, T., Yamamoto, Y., Naito, Y. (2000). *Free radicals in chemistry, Biology and Medicine,* Ed. Oica International, Londres.

Yu, H.S., Liao, W.T., Chai, C.Y. (2006). Arsenic carcinogenesis in the skin. J. Biomed. Sci. 13 (5) : 657-666.

Z*rira, 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 : 475-480.*

Résumé

L'objectif de notre travail est d'évaluer les activités biologiques in vitro de l'huile de Pistacia lentiscus (Activité antioxydante et antimicrobienne) et de tester in vivo l'effet préventif et protecteur de cette huile sur le déséquilibre pro/anti-oxydant induit par l'arsenic dans deux organes : foie et rein chez les rats Wistar.

L'évaluation des activités biologiques de l'huile de Pistacia lentiscus montre que cette huile a une bonne activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif, ainsi un bon pouvoir antiradicalaire viv-à-vis le radicale DPPH.*

Les résultats obtenus lors de l'administration de l'arsénite de sodium à 5,55 mg/kg du PC par injection intrapéritonéale chez les rats mâles adultes pendant 21 jours, suggère que l'arsenic a provoqué un déséquilibre dans la balance pro/anti-oxydante ; ceci est révélé par la diminution du taux de MTs et l'activité enzymatique de la SOD ainsi l'augmentation de l'activité enzymatique de la CAT dans les organes étudiés.

En revanche, le prétraitement et la supplémentation de l'huile de Pistacia lentiscus à 3,3 ml/kg du PC par gavage chez les rats traités par l'arsénite de sodium a amélioré certains paramètres du stress oxydant (MTs et CAT).

Ces résultats présentent la simplicité et l'efficacité de la capacité antioxydante de l'huile de Pistacia lentiscus pour atténuer l'intensité du stress oxydatif induit par l'arsenic.

Mots clés : *Antibactérien, Antioxydant, Arsenic, Pistacia lentiscus, Rat, Stress oxydant, Toxicité.*

Abstract

The objective of our study is to evaluate the in vitro biological activities of the Pistacia lentiscus oil (antioxidant and antimicrobial activity) and in vivo testing preventive and protective effect of this oil on the imbalance pro / antioxidant induced by arsenic in two organs : liver and kidneys of Wistar rats.

Evaluation of biological activities of Pistacia lentiscus oil shows that this oil has a good antibacterial activity against Gram positive bacteria and Gram negative bacteria with a good radical scavenging activity against DPPH•.

The results obtained through the administration of sodium arsenite to 5.55 mg / kg of PC by intraperitoneal injection of adult male rats during 21 days, suggests that arsenic has caused a pro /antioxidant imbalance ; This is revealed by the decrease in the rate of MTs, the enzymatic activity of SOD and the increase of the enzymatic activity of CAT in the organs studied.

In contrast, pretreatment and supplementation of Pistacia lentiscus oil to 3.3 ml / kg of PC by gavages of rats treated with sodium arsenite improved some oxidative stress parameters (MTs and CAT).

These results show the simplicity and effectiveness of the antioxidant capacity of Pistacia lentiscus oil to mitigate the intensity of oxidative stress induced by arsenic.

Keywords : *Antibacterial, Antioxidant, Arsenic, Oxidative stress, Pistacia lentiscus, Rat, Toxicity.*

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط البيولوجي (المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا) لزيت الضرو *in vitro* و تأثيره الوقائي *in vivo* ضد الاختلال *pro/antioxydant* الناتج عن التسمم بمعدن الزرنيخ لدى الفئران الذكور من نوع *Wistar* .

تقدير النشاط البيولوجي لزيت الضرو, اثبت أن هذا الزيت له فعالية معتبرة مضادة للبكتيريا و مضادة للأكسدة ضد الجذر الحر (DPPH).

في حين بينت النتائج المتحصل عليها بعد معاملة الفئران بمعدن الزرنيخ بجرعة 5.55 ملغ/كلغم عن طريق الحقن تحت الصفاق (*Intrapéritonéale*) لمدة 21 يوما أن معدن الزرنيخ مولد للأكسدة, مما أدى إلى اختلال التوازن *pro/antioxydant*, حيث تسبب معدن الزرنيخ في نقصان كمية بروتينات *MTs* وانخفاض نشاط أنزيم *SOD* وزيادة نشاط أنزيم *CAT* في الأعضاء المدروسة (الكبد والكلى), هذا من جهة. و من جهة أخرى فإن إضافة زيت الضرو بمعدل 3,3 مل/كلغم عن طريق الفم للفئران مسبقا و أثناء المعاملة بمعدن الزرنيخ أدى إلى خفض التأثير السلبي للمعدن و ظهر هذا في تعديل بعض مؤشرات الإجهاد التأكسدي (*MTs, CAT*) مما مكن من إعادة التوازن بين تشكل الجذور الحرة و الأنظمة المضادة للأكسدة. و على ضوء ما تقدم, يتضح لنا أن لزيت الضرو القدرة على خفض حدة الإجهاد التأكسدي الناتج عن تأثير معدن الزرنيخ.

الكلمات الدالة: الإجهاد التأكسدي , التسمم , الفئران, زيت الضرو , مضاد للأكسدة, مضاد للبكتيريا.

Présentées par :

Date de soutenance : 26/6/2014

KASSA Marwa

MAKHLOUF Amel

Thème : *L'activité biologique in vitro de l'huile de Pistacia lentiscus et son impact in vivo sur quelques paramètres du stress oxydant induit par l'arsenic.*

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Biochimie Moléculaire et Santé

Résumé

L'objectif de notre travail est d'évaluer les activités biologiques in vitro de l'huile de Pistacia lentiscus (Activité antioxydante et antimicrobienne) et de tester in vivo l'effet préventif et protecteur de cette huile sur le déséquilibre pro/antioxydant induit par l'arsenic dans deux organes : foie et rein chez les rats Wistar.

L'évaluation des activités biologiques de l'huile de Pistacia lentiscus montre que cette huile a une bonne activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif, ainsi un bon pouvoir antiradicalaire vis-à-vis le radical DPPH*.

Les résultats obtenus lors de l'administration de l'arsénite de sodium à 5,55 mg/kg du PC par injection intrapéritonéale chez les rats mâles adultes pendant 21 jours, suggère que l'arsenic a provoqué un déséquilibre dans la balance pro/anti-oxydante ; ceci est révélé par la diminution du taux de MTs et l'activité enzymatique de la SOD ainsi l'augmentation de l'activité enzymatique de la CAT dans les organes étudiés.

En revanche, le prétraitement et la supplémentation de l'huile de Pistacia lentiscus à 3,3 ml/kg du PC par gavage chez les rats traités par l'arsénite de sodium a amélioré certains paramètres du stress oxydant (MTs et CAT).

Ces résultats présentent la simplicité et l'efficacité de la capacité antioxydante de l'huile de Pistacia lentiscus pour atténuer l'intensité du stress oxydatif induit par l'arsenic.

Mots clés : Antibactérien, Antioxydant, Arsenic, Pistacia lentiscus, Rat, Stress oxydant, Toxicité.

Président : Mr. KHEDARA A.

M.C. Université Constantine 1

Rapporteur : Mlle. KLIBET F.

M.A.A Université Constantine 1

Examinatrice : Mme. KHALI L.

M.A.A. Université Constantine 1