

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET DE MICROBIOLOGIE APPLIQUEES

THÈSE

En vue de l'obtention
du diplôme de DOCTORAT
En Biochimie
Option : Biochimie

**EFFETS PHYTO-THÉRAPEUTIQUES COMPARATIFS ENTRE L'HUILE ET
L'EXTRAIT AQUEUX DE *Pistacia lentiscus* SUR LES PARAMÈTRES
IMMUNOLOGIQUES ET CEUX DU STRESS OXYDANT DANS UN MODÈLE
D'ASTHME EXPÉRIMENTAL**

Présentée par : Mme Narimène CHEKCHAKI

Membres de Jury :

Directrice de thèse :	Mme BOUMENDJEL Amel	Professeur, Université d'Annaba
Présidente :	Melle BOUZEMI Nassima	Professeur, Université d'Annaba
Examinatrice :	Mme KADI Assia	Maître de conférences A, Université d'Annaba
Examinatrice :	Mme BOUDJELAL Amel	Maître de conférences A, Université de Msila

Avril 2017

Dédicace

À mes très chers parents, Kamel & Nacira

À mon Mari et tendre fils, Cherif & Ayoub

À mes frères Nouredine & Samir

Aux membres des familles CHEKCHAKI, LAREF & AYADI

À tous ceux qui me sont chers

Remerciements

Je remercie tout d'abord **الله** le tout puissant de m'avoir donné la force et le courage pour achever cette thèse.

Ce mémoire ponctue le fruit de connaissances, expériences et réflexions échangées entre de nombreuses personnes en divers endroits et moments. J'espère que chacune s'y retrouvera un peu et que ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail prendront autant de plaisir à le lire que j'en ai eu à le faire.

Je tiens alors à remercier les personnes suivantes :

Ma directrice de thèse, **Pr A. BOUMENDJEL** de m'avoir donné la possibilité de réaliser ce travail, je vous remercie pour vos conseils pratiques, techniques et scientifiques tout au long de cette formation. Je voudrais également souligner vos qualités scientifiques et humaines, lesquelles m'ont permis après chaque entretien d'être inspirée et motivée afin de mettre ce travail en exécution le plus efficacement possible. Eternelle reconnaissance.

Mademoiselle le Professeur **N. BOUZEMI** de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Je tiens à adresser mes très sincères remerciements aux membres du jury qui ont accepté d'examiner ce travail : **Mme le Docteur A. KADI** Maitre de conférences A à l'université d'Annaba et **Mme le Docteur A. BOUDJELAL** Maitre de conférences A à l'université de Msila.

Je remercie aussi **Mr le Professeur M. MESSARAH** Directeur du laboratoire de biochimie et de toxicologie environnementale pour ses conseils et son aide précieuse au cours de la partie pratique.

Je remercie également **Mr le Professeur A. LADJAMA** Directeur du laboratoire de Biochimie et microbiologie appliquée.

Je remercie également **Mme LAREF Fériel** Docteur en pharmacie pour sa précieuse aide, ses judicieux conseils mais aussi pour son chaleureux accueil à l'hôpital El-Bouni ainsi qu'à toute son équipe je ne peux dire que Merci.

Egalement mes remerciements vont à **Mr TICHATI Lazher** pour son aide précieuse et sa présence.

A l'ensemble du personnel administratif et étudiantin du département de biochimie qui ont contribué à ce travail. Merci.

A l'ensemble des Masters que j'ai eu tout le long de la partie pratique, pour leur sympathie, leurs précieux conseils, leur soutien moral, leurs disponibilités et leurs aides sans limite. Un Grand Merci.

Pour finir je remercie particulièrement :

Mes parents, pour leurs soutiens continu et leurs aides pour la récolte de la plante.

Mon frère **Samir** et mon mari **Cherif** je ne vous remercierai jamais assez pour votre aide et votre présence dans les moments les plus durs.

Ma cousine **Rahma**, **mes tantes** et **mes oncles**, pour leur continuel soutien moral.

A ceux qui m'ont apporté leur aide de diverse façon je citerai : **Ihcene, Hanène, Sihem** et **Nadjoi**.

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Résumé

Ce travail a pour but d'étudier l'effet anti-inflammatoire et antioxydant de l'huile (H) de *Pistacia lentiscus* obtenue à partir du fruit de l'arbre, en comparaison avec l'extrait aqueux (EQ) de ses feuilles, sur un asthme induit expérimentalement.

Dans un premier temps, une pré-étude phytochimique a été effectuée afin de caractériser les composants bioactifs contenus dans ces deux extraits tout en évaluant leur capacité antioxydante *in vitro*. Il s'avère que l'H est plus riche en composés phénoliques que l'EQ. De plus, elle s'est révélée dotée d'activité anti-radicalaire légèrement supérieure à celle de l'EQ.

Par la suite, des rats mâles de la souche Wistar ont été sensibilisés avec l'ovalbumine (OVA) et parallèlement traités par ces deux extraits. Afin de mesurer l'intensité de l'inflammation bronchique, les taux en cellules inflammatoires, en interleukine-4 et en protéines totales dans le sérum et le liquide du lavage broncho-alvéolaire (LBA) ont été mesurés. De plus, les paramètres du stress oxydant sont analysés dans les érythrocytes, le foie et les poumons. Une étude histopathologique du foie et du poumon a été réalisée.

Les résultats montrent que la sensibilisation à l'OVA, provoque une augmentation du taux des paramètres immuno-hématologiques, aussi bien dans le sérum que dans le LBA ; ainsi qu'une modification cellulaire importante sur l'architecture tissulaire pulmonaire et hépatique. Ces effets sont nettement atténués lors du traitement par la plante.

Les résultats montrent aussi, que cet allergène provoque une peroxydation lipidique intense, ainsi qu'une réduction significative de l'activité des différents systèmes antioxydants (GPx, SOD et CAT). Toutefois, le prétraitement à l'EQ se révèle plus efficace que l'H, quant à la réduction du taux du MDA et le rétablissement de l'activité de la CAT.

Le rééquilibrage de la balance entre oxydant-antioxydant lors de l'administration de la plante, ainsi que la résorption des symptômes de l'asthme provoquée par la sensibilisation à l'ovalbumine est probablement attribué à la capacité antioxydante et anti-inflammatoire des composés contenus dans nos deux extraits.

Mots clés : asthme expérimental, *Pistacia lentiscus*, ovalbumine, stress oxydant, polyphénols.

الملخص

يهدف هـ - إلى دراسة التأثيرات المضادة للالتهابات و المضادة للأكسدة لزيت *Pistacia lentiscus* - الناجم من ثمرة الشجرة مقارنة مع المستخلص المائي لأوراقه و هذا على الناجم تجريبيا.

البداية، إ أولية لتحديد النباتية هاذين المستخلصين - حين تقييم قدرتها - *In vitro*. تبين زيت - الفينولية - للزيت قليلا

لك ؛ تم تحفيز فئران Wistar عن طريق مستضد مادة الزلال Ovalbumine و تم علاجهم بواسطة هـ ين المستخلصين. - قياس شدة إلتهاب الشعب الهوائية قياس تركيزات الخلايا لإلتهابية الأنترلوكين 4 (IL-4) و البروتين الكلي في مصل الدم في سائل غسل القصبا (LBA). - لإجهاد التأكسدي في كريات الدم الحمراء و الكبد و الرئتين. كما تم إجراء دراسة نسيجية مرضية في مقاطع الرئة و الكبد.

نتائجنا تبين أن التحفيز المناعي بمادة الزلال يؤدي إ إرتفاع معدل أمراض المناعة و الدم سواء في مصل الدم أو في سائل غسل القصبات، مع تعديل كبير في هيكل نسيج الخلايا في الرئة - . يتم تخفيض هذه الآثار بشكل ملحوظ خلال فترة العلاج بهذه النبتة.

تظهر النتائج أيضا أن هذا التحفيز يؤدي إ إرتفاع مستوى بيروكسيد الدهون و إ إحصائيا معدل الأنشطة المضادة للأكسدة (GPx, SOD, CAT).

المائي أظهرت فعالية أكبر من الزيت و هذا بتخفيض نسبة بيروكسيد الدهون MDA إ CAT.

إسترجاع التوازن أكسدة و مضادة أكسدة عند المعالجة بمستخلصين النبتة و القدرة إ إ أعراض الربو التي يسببها التحفيز المناعي بمادة الزلال فضلا إ لإلتهابات للمركبات الموجودة في مستخلصينا.

الكلمات الدالة: التجريبي، لإجهاد التأكسدي البوليفينول.

Abstract

The aim of this work is to study the comparative anti-inflammatory and antioxidant effects of the oil of *Pistacia lentiscus* (H) obtained from the fruit of the tree, and its aqueous leaf extract (EQ), on an experimentally induced asthma.

Initially, a preliminary phytochemical study was conducted to characterize bioactive components in these two extracts while assessing their antioxidant capacity *in vitro*. It turns out that H is rich in phenolic compounds than EQ. In addition, it was found to have somewhat higher anti-free radical activity than EQ.

Thereafter, male rats of the Wistar strain were sensitized with ovalbumin (OVA) and treated in parallel by these two extracts. To measure the intensity of the airway inflammation, inflammatory cells in the rates, interleukin-4 and total protein in the serum and the liquid of bronchoalveolar lavage (BAL) were measured. Moreover, oxidative stress parameters are analyzed in erythrocytes, liver and lungs. A histopathological study of the liver and lung was performed.

The results show that sensitization to OVA causes an increase in the immunohematological parameters, both in the serum and in the BAL; As well as significant cell modification on pulmonary and hepatic tissue architecture. These effects are markedly attenuated during treatment with the plant.

The results also show that this allergen causes severe lipid peroxidation, and a significant reduction in activity of various antioxidant systems (GPx, SOD and CAT). However, pretreatment with EQ is more effective than H, to reduce the level of MDA and restore the activity of the CAT.

The rebalances of the balance between oxidant-antioxidant during the administration of the plant, as well as the resorption of asthma symptoms caused by ovalbumin sensitization is probably attributed to the antioxidant and anti-inflammatory capacity of the compounds contained in our two extracts.

Keywords: experimental asthma, *Pistacia lentiscus*, ovalbumin, oxidative stress, polyphenols.

Sommaire

RESUME	I
الملخص	II
ABSTRACT	III
SOMMAIRE	IV
TABLE DES MATIERES	V
LISTE DES FIGURES	IX
LISTE DES TABLEAUX	XI
LISTE DES ABREVIATIONS	XII
INTRODUCTION	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE :	
CHAPITRE I. L'ASTHME ALLERGIQUE	4
CHAPITRE II. LE STRESS OXYDANT ET L'ASTHME ALLERGIQUE.....	16
CHAPITRE III. LES METABOLITES SECONDAIRES D'ORIGINE VEGETALE.....	22
PARTIE EXPERIMENTALE :	
MATERIEL ET METHODES	34
RESULTATS & DISCUSSION	65
CONCLUSION	109
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	111
ANNEXES	131

Table des matières

RESUME	I
المخلص	II
ABSTRACT	III
SOMMAIRE	IV
TABLE DES MATIERES	V
LISTE DES FIGURES	IX
LISTE DES TABLEAUX	XI
LISTE DES ABREVIATIONS	XII
INTRODUCTION	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE :	
CHAPITRE I. L'ASTHME ALLERGIQUE	4
1. Epidémiologie de la maladie.....	4
2. Facteurs impliqués dans l'expression et le développement de la maladie.....	4
2.1. Influence génétique.....	5
2.2. Influence de l'environnement.....	6
3. Physiopathologie de l'asthme (hypersensibilité de type I)	7
3.1. Réponse initiale de la réaction asthmatique.....	8
3.2. Réponse tardive de la réaction asthmatique.....	10
4. Marqueurs de l'asthme allergique.....	11
4.1. Acteurs cellulaires.....	11
4.2. Médiateurs de l'inflammation asthmatique.....	13
5. Symptômes de l'asthme et traitement	14
CHAPITRE II. LE STRESS OXYDANT ET L'ASTHME ALLERGIQUE	16
1. Définition.....	16
2. Stress oxydant et asthme allergique.....	17
3. Génération endogène et exogène des marqueurs du stress	18
4. Déséquilibre entre les système oxydants et antioxydants dans l'asthme.....	19
5. Lutte phyto-thérapeutique contre le stress oxydant	20
CHAPITRE III. LES METABOLITES SECONDAIRES D'ORIGINE VEGETALE	22
1. Composition chimique	22
1.1. Les terpénoïdes.....	22
1.2. Les alcaloïdes	23
1.3. Les composés phénoliques.....	24
2. Méthodes d'étude des métabolites secondaires	25
2.1. Techniques d'extraction	25
2.1.1. Extraction par distillation.....	25

2.1.2. Extraction par expression à froid	26
2.1.3. Extraction par solvant organique	27
2.1.4. Extraction par fluide à l'état supercritique	27
2.2. Techniques d'identification	28
2.2.1. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)	28
2.2.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	28
2.2.3. Spectrométrie de masse (MS)	28
2.2.4. Spectrophotométrie UV-visible	28
2.2.5. Résonance magnétique nucléaire (RMN)	29
2.2.6. Spectrométrie infrarouge	29
3. Activités biologiques.....	29
3.1. Activité anti-oxydante	29
3.2. Activité anti-inflammatoire	30
3.3. Activité antiasthmatique	30
3.4. Activité antimicrobienne	30
PARTIE EXPERIMENTALE :	
BUT ET OBJECTIFS	32
CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES	34
1. ETUDE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE ET DES PROPRIETES ANTI-OXYDANTES DE LA PLANTE CHOISIE	34
1.1. Monographie de la plante étudiée (<i>Pistacia lentiscus</i>)	34
1.2. Cueillette et extraction du matériel végétal	39
1.3. Dosages colorimétriques des composés phénoliques	41
1.3.1. Dosage des phénols totaux	41
1.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux	42
1.3.3. Dosage des tanins condensés	43
1.4. Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	44
1.4.1. Etude de l'activité antioxydante : Méthode DPPH	44
1.4.2. Etude de l'activité antioxydante : Méthode NBT	46
1.4.3. Etude de l'activité antioxydante : méthode ABTS	48
2. ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES <i>IN VIVO</i>	49
2.1. Animaux et conditions d'élevage	49
2.2. Protocole expérimental	49
2.2.1. Formation des lots et traitements des rats	49
2.2.2. Sensibilisation des rats	51
2.2.3. Provocation des animaux par aérosols	51
2.3. Sacrifice et prélèvement des organes	53
2.3.1. Prélèvement sanguin	53
2.3.2. Technique du lavage broncho-alvéolaire	53

2.3.3. Prélèvement des organes	53
2.3.4. Préparation des homogénats de tissus	54
2.3.5. Préparation des lysats d'érythrocytes	54
2.4. Dosage des protéines totales	54
2.5. Dosage ELISA de l'IL-4	55
2.6. Dosage des paramètres hématologiques	58
2.7. Formule leucocytaire	58
2.7.1. Formule leucocytaire dans le sang	58
2.7.2. Formule leucocytaire dans le liquide du LBA	58
2.8. Etude histologique	58
2.8.1. Fixation	58
2.8.2. Enrobage et obtention des blocs	58
2.8.3. Confection des coupes	59
2.8.4. Coloration et montage.....	59
2.9. Dosage des paramètres du stress oxydant	60
2.9.1. Dosage du Malondialdehyde (MDA)	60
2.9.2. Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (E.C. 1.11.1.9)	61
2.9.3. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase (E.C.1.15.1.1)	62
2.9.4. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (E.C.1.11.1.6)	63
3. TRAITEMENT STATISTIQUE	64
CHAPITRE II. RESULTATS & DISCUSSION	65
1. LA COMPOSITION CHIMIQUE & LES PROPRIETES ANTIOXYDANTES DES DEUX EXTRAITS DE PISTACIA LENTISCUS	65
1.1. Dosage des composés phénoliques	65
1.2. Activité antioxydante	65
1.3. Etude des corrélations	67
Discussion	68
2. LES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES DEUX EXTRAITS DANS UN MODELE D'ASTHME EXPERIMENTAL	72
VARIATIONS DES PARAMETRES PHYSIO-HEMATOLOGIQUES & HISTOLOGIQUES	72
2.1. Etude du poids corporel et des poids absolu et relatif des organes	72
2.1.1. Variation de la croissance corporelle	72
2.1.2. Effet sur le poids corporel, le poids relatif et absolu des organes	74
2.2. Etude des paramètres de la réponse inflammatoire	76
2.2.1. Effet sur les paramètres hématologiques	76
2.2.2. Effet sur la population leucocytaire	78
2.2.2.1. Taux des leucocytes dans le sang	78
2.2.2.2. Numération des leucocytes dans le liquide du LBA	78
2.2.3. Dosage des protéines totales.....	81
2.2.3.1. Les protéines totales dans le sérum	81
2.2.3.2. Les protéines totales dans le liquide du LBA	81

2.2.4. Dosage de l'interleukine-4	83
2.2.4.1. L'IL-4 dans le sérum	83
2.2.4.2. L'IL-4 dans le liquide du LBA	83
2.2.5. Etude histologique	85
Discussion	88
VARIATIONS DES PARAMETRES DU STRESS OXYDANT.....	95
2.3. La glutathion peroxydase	95
2.4. La catalase	95
2.5. La superoxyde dismutase	96
2.6. La peroxydation lipidique (dosage du malondialdehyde)	96
2.7. Etude de la corrélation entre les paramètres mesurés	100
2.7.1. Corrélations entre les paramètres <i>in vivo</i>	100
2.7.2. Corrélations entre les paramètres <i>in vivo</i> versus <i>in vitro</i>	101
Discussion	104
CONCLUSION	109
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	111
ANNEXES	131

Liste des figures

FIGURE 1 : PHYSIOPATHOLOGIE DE LA REACTION ALLERGIQUE	9
FIGURE 2 : LA LIAISON CROISEE DES ALLERGENES PAR LES RECEPTEURS FcεRI	10
FIGURE 3 : LA FORMATION DES RADICAUX LIBRES	16
FIGURE 4 : LIEN ENTRE LE STRESS OXYDATIF ET L'ASTHME	18
FIGURE 5 : LES CONSEQUENCES MOLECULAIRES DU STRESS OXYDANT	19
FIGURE 6 : STRUCTURE CHIMIQUE DE QUELQUES ALCALOÏDES	23
FIGURE 7 : MONTAGES POUR L'ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU (A) ET L'HYDRODIFFUSION (B)	26
FIGURE 8 : EXTRACTION PAR FLUIDE A L'ETAT SUPERCRITIQUE	27
FIGURE 9 : SCHEMA RECAPITULATIF DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL	33
FIGURE 10 : DIFFERENTES PARTIES BOTANIQUES DE PISTACIA LENTISCUS	36
FIGURE 11 : DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE MONDIALE DE PISTACIA LENTISCUS	37
FIGURE 12 : LIEU DE RECOLTE DE LA PLANTE (CHEURFA-ANNABA)	40
FIGURE 13 : COURBE D'ETALONNAGE DE L'ACIDE GALLIQUE POUR LE DOSAGE DES PHENOLS TOTAUX	42
FIGURE 14 : COURBE D'ETALONNAGE DE LA QUERCETINE POUR LE DOSAGE DES FLAVONOÏDES TOTAUX	43
FIGURE 15 : COURBE D'ETALONNAGE DE LA CATECHINE POUR LE DOSAGE DES TANINS CONDENSES	44
FIGURE 16 : COMPARTIMENTATION DES RATS EN SIX LOTS TRAITES DIFFEREMMENT	50
FIGURE 17 : PROTOCOLE DE SENSIBILISATION SUR 24 JOURS.....	52
FIGURE 18 : DISPOSITIF D'INHALATION	52
FIGURE 19 : COMPLEXE ENTRE LE CUIVRE ALCALIN ET LES LIAISONS PEPTIDIQUES	54
FIGURE 20: SHEMA DU PRINCIPE DE LA TECHNIQUE ELISA SANDWICH UTILISEE.....	56
FIGURE 21 : VARIATION DU POIDS ABSOLU DES RATS TEMOINS (Te) ET TRAITES AVEC L'EXTRAIT AQUEUX (EQ) OU L'HUILE DE LENTISQUE (H) AINSI QUE CEUX SENSIBILISES A L'OVALBUMINE (OVA) ET CEUX CO- ADMINISTRES RESPECTIVEMENT AVEC L'EXTRAIT AQUEUX (O/EQ) OU L'HUILE DE LENTISQUE (O/H)	73
FIGURE 22 : REPARTITION DES LEUCOCYTES DANS LE FROTTIS SANGUIN DES DIFFERENTS GROUPES EXPERIMENTAUX	79
FIGURE 23 : VARIATION DE LA CONCENTRATION EN PROTEINES TOTALES DANS LE SERUM ET LE LIQUIDE DU LAVAGE BRONCHO-ALVEOLAIRE (LBA) CHEZ LES SIX LOTS EXPERIMENTAUX	82
FIGURE 24 : VARIATION DE LA CONCENTRATION EN IL-4 DANS LE SERUM ET LE LIQUIDE DU LAVAGE BRONCHO- ALVEOLAIRE (LBA) CHEZ LES SIX LOTS EXPERIMENTAUX	84
FIGURE 25 : COUPES HISTOLOGIQUES DES POUMONS DE RATS DES SIX LOTS EXPERIMENTAUX (x40)	86
FIGURE 26 : COUPES HISTOLOGIQUES DU FOIE DE RATS DES SIX LOTS EXPERIMENTAUX (x40)	87
FIGURE 27 : VARIATIONS DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA GLUTATHION PEROXYDASE (GPx), DE LA CATALASE (CAT), DE LA SUPEROXYDE DISMUTASE (SOD) ET DU TAUX DE MALONDIALDEHYDE (MDA) DANS LES ERYTHROCYTES DES RATS TEMOINS, SENSIBILISES ET TRAITES	97
Figure 28 : VARIATIONS DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA GLUTATHION PEROXYDASE (GPx), DE LA CATALASE (CAT), DE LA SUPEROXYDE DISMUTASE (SOD) ET DU TAUX DE MALONDIALDEHYDE (MDA) DANS LE FOIE DES RATS TEMOINS, SENSIBILISES ET TRAITES	98

FIGURE 29 : VARIATIONS DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA GLUTATHION PEROXYDASE (GPx), DE LA CATALASE (CAT), DE LA SUPEROXYDE DISMUTASE (SOD) ET DU TAUX DE MALONDIALDEHYDE (MDA) DANS LE POU MON DES RATS TEMOINS, SENSIBILISES ET TRAITES99

Liste des tableaux

TABLEAU I : PRINCIPAUX GENES LIES A L'ASTHME ET AUX ALLERGIES RESPIRATOIRES	5
TABLEAU II : LES SIGNES DE LA CRISE D'ASTHME EN FONCTION DE SON INTENSITE	15
TABLEAU III : LES ENZYMES ANTIOXYDANTS DES POUMONS, LEURS LOCALISATION ET LEURS FONCTIONS DANS L'ASTHME ET LA MALADIE PULMONAIRE OBSTRUCTIVE CHRONIQUE (COPD)	21
TABLEAU IV : CLASSIFICATION DES TERPENES (C ₅ H ₈) _N	22
TABLEAU V : LES PRINCIPALES CLASSES DE COMPOSES PHENOLIQUES	24
TABLEAU VI : LA TAXONOMIE DE <i>PISTACIA LENTISCUS</i>	35
TABLEAU VII : VARIATIONS DES CONCENTRATIONS EN COMPOSES PHENOLIQUES DANS LES DEUX EXTRAITS DE PISTACIA LENTISCUS	66
TABLEAU VIII : ACTIVITES ANTIOXYDANTES DES DEUX EXTRAITS DE PISTACIA LENTISCUS	66
TABLEAU IX : CORRELATION ENTRE LA QUANTITE EN PHENOLS DES EXTRAITS ET LE TEST DPPH, LE TEST NBT ET LE TEST ABTS	67
TABLEAU X : VARIATIONS DU POIDS CORPOREL PC (G), DES POIDS ABSOLU PA (G) ET RELATIF PR (G/100G DE PC) DES ORGANES (FOIE ET POUMONS)	75
TABLEAU XI : VARIATIONS DES VALEURS DES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES.....	77
TABLEAU XII : VARIATIONS DES POURCENTAGES DE LEUCOCYTES DANS LE LIQUIDE DU LBA CHEZ LES DIFFERENTS GROUPES EXPERIMENTAUX	80
TABLEAU XIII: CORRELATIONS ENTRE LES MARQUEURS DE L'INFLAMMATION BRONCHIQUE ET CEUX DU STRESS OXYDATIF.....	102
TABLEAU XIV : CORRELATIONS ENTRE D'UNE PART LES TENEURS EN COMPOSES PHENOLIQUES ET L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET D'AUTRE PART LES PARAMETRES DE L'INFLAMMATION BRONCHIQUE ET CEUX DU STRESS OXYDATIF.....	103

Liste des abréviations

ABTS :	2,2'-azino-bis (acide 3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique).
ADN :	Acide Désoxyribonucléique.
AMP :	Adenosine monophosphate.
ARN :	Acide ribonucléique.
ATP:	Adenosine triphosphate.
BSA :	Serum albumin bovin.
CAT :	Catalase.
CLHP:	Chromatographie liquide à haute performance.
CMH :	Complexe majeur d'histocompatibilité.
COPD :	Maladie pulmonaire obstructive chronique.
CPA :	Cellules présentatrices de l'antigène.
CPG:	Chromatographie en phase gazeuse.
Cu :	Cuivre.
DO:	Densité optique.
DPPH:	2,2 Diphényl-1picrylhydrazyl.
EDTA :	Ethylène diamine tétra-acétique.
ELISA:	Enzyme-linked immunosorbent assay (dosage d'immunoabsorption par enzyme liée).
EQ :	Extrait aqueux de lentisque.
ERO (ou ROS) :	Espèces Réactives de l'Oxygène (Reactive Oxygen Species).
FNS:	Numération formule sanguine.
GINA:	Global Initiative for Asthma.
GPx :	Glutathion peroxydase.
GSH :	Glutathion réduit.
H :	Huile de lentisque.
Hgb :	Hémoglobine (hémoglobine).
HRB:	Hyperréactivité bronchique.
HRP :	Horserradish peroxidase.
IC50:	Concentration d'inhibition à 50%.
Ig :	Immunoglobulines.
IL :	Interleukine.
IR:	Infrarouge.
LBA :	Lavage broncho-alvéolaire.
LPS :	Lipopolysaccharide.
MBP:	Protéine basique majeure.
MCV :	Mean corpuscular volume (volume globulaire moyen).
MDA :	Malondialdéhyde.
MGG:	May-Grünwald-Giemsa.
MPV :	Mean platelet volume (volume plaquettaire moyen).
MS:	Spectrométrie de masse.

NBT:	Nitro-Blue Tétrazolium.
NKT:	Natural killer T.
NO:	Oxyde d'azote.
OMS :	Organisation mondiale de la santé.
ONAB:	Office National des Aliments de Bétails.
OVA:	Ovalbumine.
PAF:	Facteur d'agrégation plaquettaire.
PC:	Poids corporel.
Plt:	Platelet (plaquettes).
PR:	Poids relatif.
RDW :	Red cell distribution width (distribution des globules rouges du sang).
RFC:	Réactif de Folin-Ciocalteu.
RMN:	Résonance magnétique nucléaire.
SEM :	Standard Error of the Mean (erreur type).
SOD:	Superoxyde Dismutase.
TBA:	Acide thiobarbiturique.
TMB :	Tétra-Méthyl-Benzidine.
TC:	Tests cutanés positifs aux principaux pneumallergènes.
TEAC :	Trolox Equivalent Antioxydant Capacity.
WBC:	White Blood Cells (cellules leucocytaires totales).

Introduction

L'asthme est une maladie inflammatoire complexe qui constitue un important problème de santé publique. En effet, il s'agit de l'une des pathologies chroniques les plus fréquentes, avec plus de 300 millions de personnes atteintes dans le monde et enregistrant plus de 250000 morts par an (PEARCE et al., 2007 ; DELMAS & FUHRMAN, 2010 ; THE GLOBAL ASTHMA REPORT, 2014). En Algérie on enregistre, un million et demi de personnes asthmatiques avec 1000 décès par an (MAIRE et al., 2007). Cette situation fait de l'asthme un des plus grands défis pour les chercheurs et les cliniciens.

Des recherches récentes suggèrent que le stress oxydant intervient dans la physiopathologie et/ou dans la genèse de l'asthme et pourrait être partiellement associé à un déficit d'apports d'éléments antioxydants (KOSHY et al., 2014). En effet, le stress oxydant est défini comme un déséquilibre prononcé entre les éléments antioxydants et oxydants en faveur de ces derniers et de leurs effets potentiellement néfastes.

En raison de la nature chronique de l'asthme et de sa prévalence croissante, en plus de l'inefficacité réputée des médicaments actuellement utilisés pour définitivement guérir l'asthme et la crainte de leurs effets secondaires connus, il est d'une nécessité pressante de trouver de nouvelles thérapies (YOMNA, 2012 ; SADATSAFAVI et al., 2015). A cet égard, les produits naturels et les remèdes à base de plantes utilisées en médecine traditionnelle ont été de ce fait la source de nombreux médicaments (BATTEL et al., 2005). Beaucoup de plantes médicinales présentent des activités biologiques et pharmacologiques intéressantes et sont utilisés comme agents thérapeutiques (DELLAI et al., 2013). En Algérie, les plantes sont utilisées depuis longtemps et leur utilisation s'inspire d'expériences des populations ainsi que de la médecine arabe classique. Cependant, cette utilisation ne suit pas des règles précises et ne tient pas compte des nouvelles nécessités de la thérapeutique actuelle.

Afin de bien comprendre les mécanismes sous-jacents de l'asthme et du stress oxydant, des modèles expérimentaux peuvent conduire à de nouvelles stratégies thérapeutiques et des traitements plus efficaces pour l'homme. C'est ainsi que nous avons, choisi de mettre au point un protocole d'asthme expérimental chez les rats Wistar sensibilisés à l'ovalbumine (OVA) et cela dans le but d'explorer un traitement phytothérapeutique à base de lentisque en mesurant certains biomarqueurs de l'asthme et du stress oxydant.

Le lentisque (*Pistacia lentiscus*) est un buisson à feuilles persistantes, est largement distribué en «extrême» des écosystèmes du bassin méditerranéen (ABDELWAHED et al., 2007). En Algérie, l'arbre est très répandu dans la forêt, seul ou associé avec d'autres espèces d'arbres (tels que les térébinthes, les oliviers et les caroubiers) (DAHMOUNE et al., 2014). Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle algérienne comme un agent astringent, expectorant et cicatrisant (FERRADJI, 2011).

La présente étude a été entreprise pour évaluer l'efficacité, l'effet anti-inflammatoire et antioxydant de l'huile de *Pistacia lentiscus* obtenue à partir du fruit de l'arbre, en comparaison avec l'extrait aqueux de ses feuilles, sur un asthme induit expérimentalement.

Ainsi, nous nous proposons dans une première partie théorique de cette présente étude de développer les points suivants :

- ❖ L'asthme allergique : une définition, quelques données épidémiologiques et les facteurs impliqués dans l'expression et le développement de la maladie.
- ❖ La réaction inflammatoire asthmatique : les acteurs cellulaires impliqués et les médiateurs de l'inflammation asthmatique.
- ❖ Le stress oxydatif et l'asthme allergique : le déséquilibre entre les système oxydants et antioxydants dans l'asthme et la lutte contre le stress oxydant (valorisation médicinale des plantes locales).
- ❖ Les métabolites secondaires d'origine végétale : classification, techniques d'extraction et d'identification et leurs propriétés biologiques.

Dans la partie expérimentale, nous nous proposons d'évaluer :

- ❖ L'activité antioxydante et la quantité en polyphénols des extraits de *Pistacia lentiscus*.
- ❖ Les effets cytotoxiques de l'ovalbumine et son implication dans l'induction d'un stress oxydant chez des rats Wistar sensibilisés au cours d'un protocole d'asthme expérimental par l'injection intra-péritonéale de l'allergène (l'ovalbumine) puis son inhalation.
- ❖ Les effets du traitement de ces rats sensibilisés par les extraits de lentisque d'une part sur l'inflammation bronchique et d'autre part sur le stress oxydatif survenant dans ce modèle murin d'asthme expérimental.

- ❖ Le lien entre les différents paramètres évalués au cours de notre travail expérimental (Marqueurs de l'inflammation et marqueurs du stress oxydatif *in vivo*, ainsi que, les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante *in vitro*) en calculant les coefficients de corrélations correspondants.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. L'ASTHME ALLERGIQUE

L'asthme est une maladie bronchique dont la définition reste encore symptomatique et descriptive. L'aspect pathologique dominant de la maladie est caractérisé par l'association d'une hyperréactivité bronchique (HRB), d'une inflammation et d'un remodelage des voies aériennes (DEF FRANCO et al., 2009). Ainsi, les changements dans la définition de cette maladie au cours des dernières décennies sont le résultat de l'évolution des connaissances, notamment physiopathologiques (PHAM VAN, 2010).

1. Epidémiologie de la maladie

L'asthme constitue, dans le monde entier, l'une des pathologies chroniques les plus fréquentes. Le GINA (*Global Initiative for Asthma*) et l'OMS estiment que l'asthme atteint environ 334 millions de personnes dans le monde, que sa fréquence augmente régulièrement depuis 40 ans et que sa mortalité reste inquiétante, avec plus de 250 000 morts par an (The Global Asthma Report, 2014). Sa fréquence varie considérablement selon les pays. Il représente une cause de morbidité importante dans les pays développés en raison de sa prévalence élevée qui a tendance à augmenter depuis ces dernières décennies. Dans les pays en voie de développement, il représente une préoccupation majeure pour des raisons économiques et humanitaires (WHO/NHLBI workshop report, 2009).

En Algérie, selon l'étude AIRMAG (*Asthma Inside Reality in Maghreb*) menée en 2008, un million et demi de personnes sont asthmatiques, avec une prévalence de 3,1% pour l'adulte et 4,1% pour l'enfant. L'asthme entraîne 1000 décès par an, vient en troisième position après l'hypertension artérielle et le diabète sucré avec une prévalence de 9% et une morbidité de 3,75% (TAHINA, 2007).

2. Facteurs impliqués dans l'expression et le développement de la maladie

Quoique, comme dans la plupart des maladies respiratoires, l'influence de l'environnement est déterminante dans la genèse et l'expression symptomatique de l'asthme, il existe incontestablement une base génétique. Mais celle-ci est complexe et ne se résume pas à une hérédité monogénique (LOUIS et al., 2012).

2.1. Influence génétique

- **Études de criblage du génome et des gènes candidats**

Les études familiales de génétique moléculaire sont les seules capables d'approcher physiquement les gènes de susceptibilité de l'asthme et d'en analyser les modifications par rapport aux sujets non malades. En effet, des liens ont été retrouvés dans les familles d'individus asthmatiques et/ou d'atopiques sur un grand nombre de chromosomes (DIZIER et al., 2000) (Tableau I).

- **Terrain atopique**

Environ 75% des asthmes sont associés à l'atopie, qui représente la prédisposition génétique à synthétiser des immunoglobulines E (IgE) contre des aéroallergènes de l'environnement. Ce trait génétique est toutefois très répandu dans la population générale, de sorte que le risque d'asthme attribuable à l'atopie est, en fait, de 30% (LOUIS et al., 2012).

Tableau I : Principaux gènes liés à l'asthme et aux allergies respiratoires (PHAM VAN, 2010).

Régions chromosomiques	Phénotypes associés
1p32 – 34	Asthme, IgE
2pter	Asthme, IgE
2q14	Asthme
2q33	Asthme
3q21	Asthme
4q35	HRB
5p15	Asthme
5q31 – 33	Asthme, IgE totales
6p21 – 23	Asthme, IgE totales et spécifiques, éosinophilie
7p11	Asthme
7p15.2	IgE totales, éosinophilie, HRB, asthme
7q11 – 22	Asthme
8p21 – 23	Asthme
9q31	Asthme, IgE spécifiques
11p15	Asthme
11q13	Asthme, IgE totales, atopie, TC
12q14	Asthme, IgE totales
13q14	Atopie, asthme, IgE totales
14q11.1	IgE spécifiques, TC
14q11 – 13	Asthme
16p12	IgE totales et spécifiques
16q22 – 24	IgE totales, HRB, asthme
17p11.1 – 11.2	Asthme
17q12 – 21	Asthme, TC
19q13	Asthme
20p13	Asthme
21q21	Asthme

HRB: hyperréactivité bronchique ; **TC**: tests cutanés positifs aux principaux pneumallergènes.

2.2. Influence de l'environnement

- **Pollution atmosphérique**

Les données épidémiologiques mettent clairement en évidence une association entre les pics de pollution atmosphérique et les admissions hospitalières pour crise d'asthme. Les pneumallergènes figurent en tête (acariens domestiques, poils d'animaux, blattes, pollens), ainsi que les moisissures (LOUIS et al., 2012).

Deux types de polluants sont particulièrement incriminés. D'une part, l'ozone, gaz irritant pour les muqueuses respiratoires, dont les concentrations troposphériques augmentent fortement les jours d'été ensoleillés et d'autre part, les particules fines dont les diamètres sont inférieurs à 10 μm , qui voient leur concentration augmentée en cas d'inversion thermique durant les périodes hivernales (KLEIS et al., 2003).

- **Tabagisme**

La prévalence du tabagisme dans une population d'individus asthmatiques est voisine de ce qu'elle est dans la population générale, à savoir 20% (LOUIS et al., 2012). Chez les asthmatiques, le tabagisme rend la maladie beaucoup plus difficile à contrôler et accélère le déclin de la fonction respiratoire. Il rend, en outre, l'asthmatique moins sensible à la perception d'une obstruction bronchique. De plus, sur le plan moléculaire, le tabagisme empêche l'action anti-inflammatoire des corticoïdes (GUSBIN et al., 2006).

- **Exposition professionnelle**

On estime généralement la fréquence de l'asthme professionnel de 5 à 10% de tous les asthmes. Celui-ci apparaît généralement après plusieurs années d'exposition et le sujet peut garder une hyperréactivité bronchique significative longtemps après avoir cessé son activité professionnelle (VANDENPLAS et al., 2011).

L'asthme du boulanger est très souvent associé à un état atopique avec détection d'IgE spécifiques. Dans l'asthme dit de carrossier, on incrimine des substances de bas poids moléculaire : les isocyanates. Les asthmes par allergie au latex médiée par les IgE sont aussi assez fréquents, notamment chez le personnel hospitalier. D'autres activités professionnelles, comme la coiffure et la soudure, favorisent également l'émergence d'un asthme (VANDENPLAS et al., 2011). On peut rapprocher de cet asthme professionnel, les asthmes déclenchés par des sprays utilisés dans le nettoyage domestique (ZOCK et al., 2007).

- **Endotoxines**

Il est aujourd'hui admis que l'exposition à de grandes quantités d'endotoxines dans la petite enfance réduit le risque d'apparition d'un asthme atopique. Ainsi, les enfants qui vivent leurs premières années en milieu rural et agricole ont moins de risque de développer de l'asthme que les enfants vivant en milieu urbain ou périurbain. Ces observations ont été à l'origine de «l'hypothèse hygiénique» comme explication à l'accroissement des allergies et de l'asthme dans les pays occidentaux (LOUIS et al., 2012).

Notre mode de vie ne met plus les jeunes enfants suffisamment en contact avec des agents microbiens producteurs d'endotoxines qui stimulent la voie immunologique Th1, ce qui laisserait le système immunitaire dévier vers la voie Th2, laquelle favorise les réactions médiées par les IgE (SCHAUB et al., 2006).

La raréfaction des infections à mycobactéries, dont on connaît le caractère puissamment inducteur de la voie Th1 par libération d'interféron- γ , pourrait avoir le même effet (LOUIS et al., 2012).

3. Physiopathologie de l'asthme (hypersensibilité de type I)

L'inflammation asthmatique est la conséquence de mécanismes complexes avec des interactions entre les cellules de la paroi bronchique, les cellules immuno-compétentes, les cellules de l'inflammation (essentiellement polynucléaires éosinophiles, mais aussi neutrophiles) ainsi que les médiateurs libérés par ces cellules (histamine, leucotriènes, prostaglandines) et le système nerveux autonome (BOULET, 1997 ; PIN, 2004).

La réaction d'hypersensibilité chez les asthmatiques est de type I (ou immédiate), c'est-à-dire médiée par les IgE, et implique une série de réactions de la part du système immunitaire menant à une anaphylaxie pulmonaire. Ainsi, lorsqu'un individu atopique inhale un antigène exogène (allergène), ce dernier entre en contact avec des cellules présentatrices de l'antigène (CPA), c'est-à-dire les cellules dendritiques, les macrophages, les éosinophiles et les lymphocytes B. Ces cellules captent l'allergène, et après lyse intracellulaire, associent les peptides dérivés de l'antigène aux molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) II et les présentent à leur surface.

Les CPA migrent ensuite vers les ganglions lymphatiques « locaux », où elles interagissent avec les cellules T naïves, de manière à induire leur différenciation en cellules Th2, qui sécrètent des cytokines dont l'IL-4, l'IL-5, et l'IL-13. Ces cytokines jouent un rôle important dans la division et la différenciation (activation) des lymphocytes B producteurs d'IgE spécifiques. Les anticorps sécrétés se répartissent ensuite dans l'ensemble de

l'organisme, via la circulation sanguine, et se fixent sur le récepteur à haute affinité pour le fragment Fc des IgE ou FcεRI situé à la surface à des cellules inflammatoires (mastocytes et basophiles) (BLANC, 2008 ; ROBERT et al., 2011 ; PLE et al., 2012 ; SCARINO, 2012). L'inhalation d'un allergène par un sujet sensibilisé aboutit à une bronchoconstriction et une inflammation bronchique, représentés par les réactions immédiate et tardive (Figure 1).

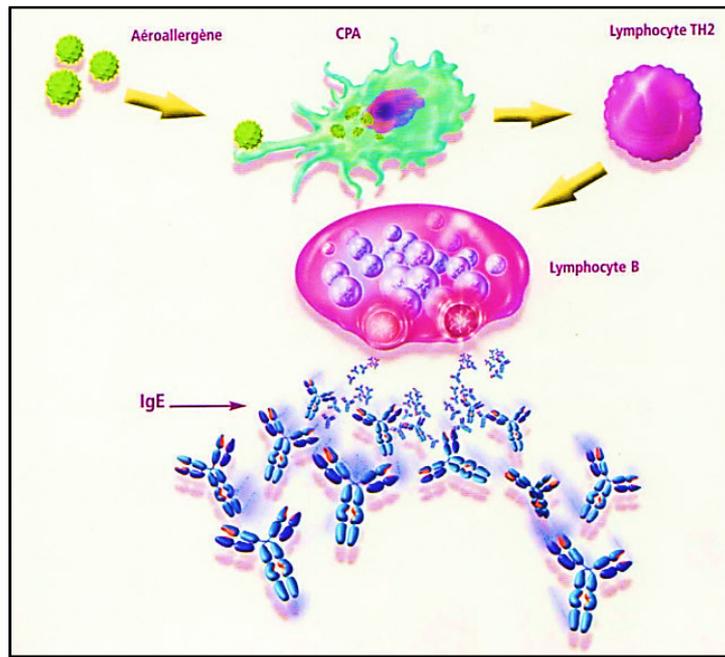
3.1. Réponse initiale de la réaction asthmatique

La réponse initiale de la réaction asthmatique survient dans les premières minutes suivant le contact entre l'hôte et l'allergène. Celle-ci est principalement caractérisée par la libération de divers médiateurs de la part des mastocytes, agissant sur les tissus ayant été en contact avec l'allergène. Les médiateurs proviennent de trois mécanismes distincts, tous résultant de la cascade de réactions intracellulaires faisant suite à la liaison croisée (ou pontage) des récepteurs FcεRI en présence de l'allergène (Figure 2).

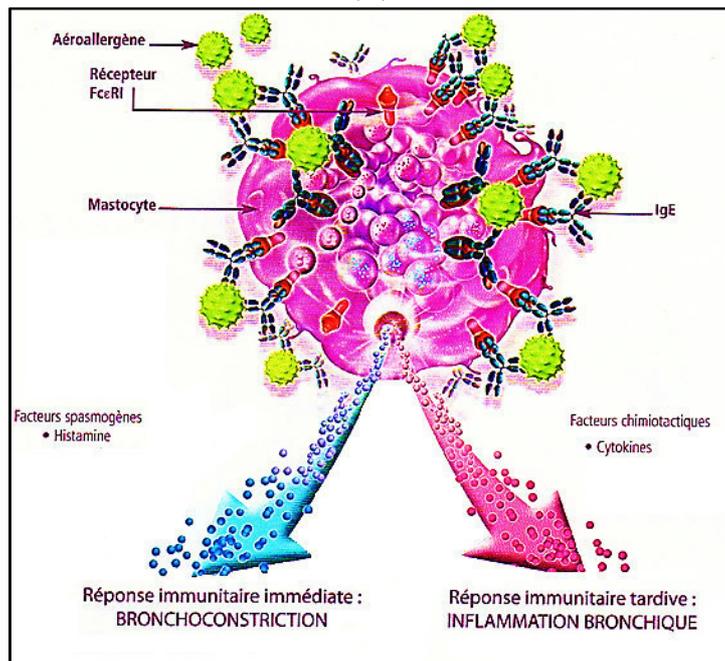
Tout d'abord, les granules cytoplasmiques migrent, à travers le cytosquelette, vers la membrane plasmique pour fusionner avec cette dernière et libérer leur contenu vers le milieu extracellulaire. Le résultat de cette dégranulation est la libération de plusieurs composés, tels que les amines biogéniques (histamine, sérotonine), des cytokines, des facteurs de croissances et des protéases (CAUGHEY, 2007).

Ensuite, la phosphatidylcholine, présente dans la membrane plasmique, est clivée par la phospholipase A2, produisant l'acide arachidonique. Ce dernier est métabolisé en prostaglandine D2 et en leucotriène A4, deux puissants médiateurs lipidiques agissant en faveur d'une bronchoconstriction, d'une vasodilatation et de l'accumulation de mucus au niveau des bronches. Le facteur d'agrégation plaquettaire (PAF), un autre médiateur lipidique, peut également être sécrété par les mastocytes (BOYCE, 2007 ; FINKELMAN, 2007).

Enfin, la cascade de réactions intracellulaires impliquant entre autre les voies RAS, RAF, MEK et ERK peut stimuler la transcription de certains gènes et ainsi promouvoir la formation de protéines telles que les cytokines et les chimiokines. Ces dernières sont, entre autre, responsables de la migration, vers le site affecté, de leucocytes, impliqués dans la phase tardive de la réaction asthmatique. Lorsque libérés localement tous les médiateurs contribuent aux effets néfastes associés à la réponse initiale, c'est-à-dire une augmentation de la perméabilité vasculaire, une vasodilatation, une bronchoconstriction et le recrutement leucocytaire. Par contre, la libération rapide de ces mêmes médiateurs au niveau systémique provoque une réaction globale beaucoup plus sévère, appelée anaphylaxie (SCARINO, 2012).



(A)



(B)

Figure 1 : Physiopathologie de la réaction allergique.
(A) : phase de sensibilisation. **(B)** : phase de déclenchement de la réaction d'hypersensibilité
 (NOVARTIS, 2006).

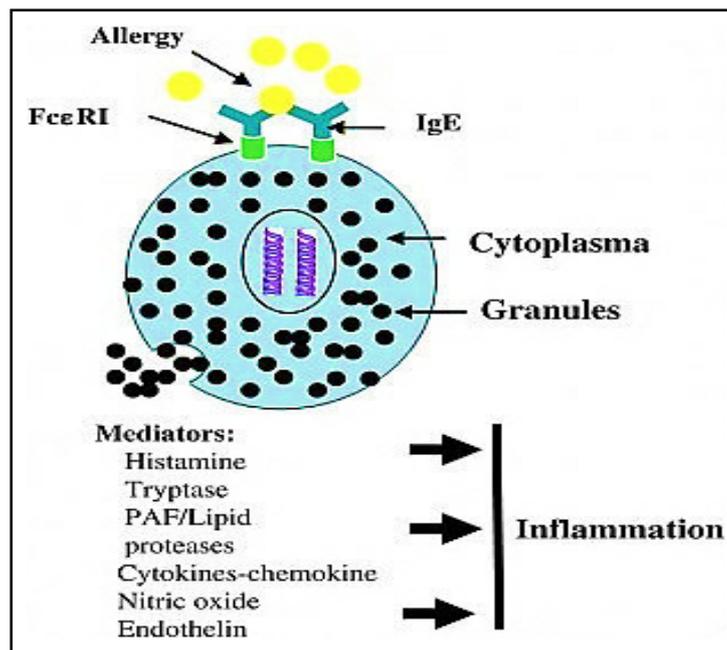


Figure 2 : La liaison croisée des allergènes par les récepteurs FcεRI (FROMENT, 2015).

3.2. Réponse tardive de la réaction asthmatique

La réponse tardive n'apparaît que quelques heures suivant le contact entre l'allergène et l'hôte et est caractérisée par l'afflux pulmonaire de globules blancs, notamment les neutrophiles et les éosinophiles. L'accumulation de ces derniers est facilitée par la sécrétion de cytokines par les mastocytes, qui augmentent l'expression des molécules d'adhésion cellulaires au niveau des cellules endothéliales (MUNITZ et LEVI-SCHAFFER, 2004 ; GALLI et al., 2008). Les granulocytes peuvent d'ailleurs demeurer dans les poumons pendant de nombreuses heures, voir même des journées, et contribuent au maintien de l'inflammation. La liaison croisée des récepteurs stimule également la synthèse de nouvelles cytokines, chimiokines et facteurs de croissance qui seront libérés plus lentement durant la réponse tardive. De plus, de nouvelles protéines (ex. protéine basique majeure ou MBP) sont introduites dans les voies aériennes par l'arrivée des granulocytes pouvant causer des lésions aux cellules épithéliales et, en retour, ces dernières peuvent sécréter d'autres médiateurs contribuant au maintien de l'inflammation (RIVERA et GILFILLAN, 2006 ; SCHLEIMER et al., 2007).

4. Marqueurs de l'asthme allergique

4.1. Acteurs cellulaires

- **Cellules épithéliales des voies respiratoires**

Sous la stimulation des allergènes et/ou des microbes (virus, bactéries, champignons), les cellules épithéliales libèrent les cytokines comme TLSP, IL-25, GM-CSF qui déclenchent et amplifient les réponses immunitaires caractéristiques (HAMMAD et LAMBRECHT, 2008 ; BARRETT et AUSTEN, 2009).

- **Cellules mastocytaires**

Elles sont localisées dans la muqueuse du tractus respiratoire et jouent un rôle clé dans la physiopathologie de l'asthme. Elles possèdent sur leurs membranes des Fc RI qui permet la fixation des allergènes et active ces cellules par déclenchement instantané de la libération de plusieurs cytokines (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, GM-CSF, IFN- et TNF) et d'autres médiateurs dont l'histamine, la PGD₂, le LTC₄ et la tryptase (GOSSELIN, 2001 ; BERGER et TUNON DE LARA, 2007).

- **Éosinophiles**

Ces cellules contiennent les enzymes inflammatoires, produisent des leucotriènes, et expriment une large variété de cytokines pro-inflammatoires. L'IL-3, l'IL-5 et le GM-CSF favorisent le développement, la maturation, l'activation et la survie des éosinophiles qui sont attirés au niveau du site inflammatoire (BACH et CHATENAUD, 2002 ; PETSKEY et al., 2007).

Les éosinophiles activés, par l'IL-5 ou le PAF, libèrent des protéines cationiques cytotoxiques, comme : l'ECP (eosinophil cationic protein), la MBP (major basic protein), l'EPO (eosinophil peroxidase) et l'EDN (eosinophil-derived neurotoxin). A celles-ci s'ajoutent la libération de radicaux libres, d'éicosanoides (LTC₄), de cytokines de type Th2 (IL-4, IL-5), de facteurs de croissance, d'élastase et des métalloprotéinases matricielles (MMP-9) (GOSSELIN, 2001).

- **Neutrophiles**

Chez les individus asthmatiques allergiques, et suite à la provocation allergénique, les neutrophiles sont les premiers globules blancs qui s'infiltrent dans les voies respiratoires (TERAN et al., 1995). Ces cellules ont la capacité de synthétiser de nombreux médiateurs comme les prostaglandines, les thromboxanes, le LTB₄ et le PAF (SIBILLE et REYNOLDS, 1990). L'un des rôles principaux de ces cellules dans la pathogénèse de la réponse asthmatique est le remodelage des voies aériennes (BATRA et al., 2004).

- **Basophiles**

Les basophiles ont une expression élevée des récepteurs de l'IL-33 T1/ST2 et produisent, en réponse à cette cytokine, de l'IL-4, de l'IL-6, de l'IL-13 et de l'histamine (SCHNEIDER et al., 2005). Les basophiles peuvent également amplifier les réponses Th2 en produisant de l'histamine qui inhibe la réponse Th1 (SCHNEIDER et al., 2004).

- **Cellules dendritiques**

Ces cellules fonctionnent comme des cellules présentatrices d'antigènes qui interagissent avec des allergènes de la surface des voies aériennes et migrent alors aux ganglions lymphatiques régionaux pour agir avec les cellules régulatrices et pour stimuler finalement la production des cellules Th2 à partir des cellules T naïves (KUIPERS et LAMBRECHT, 2004).

- **Macrophages**

Les macrophages sont les cellules les plus nombreuses dans les voies aériennes et peuvent également être activées par des allergènes grâce aux récepteurs d'IgE de faible affinité FcεRII pour libérer les médiateurs inflammatoires et cytokines qui amplifient la réponse inflammatoire (PETERS-GOLDEN, 2004).

- **Lymphocytes T**

Les cellules T activées jouent un rôle important dans l'asthme. Pendant une longue période, la réponse des lymphocytes T dans l'asthme a été interprétée dans le cadre du fameux paradigme Th1/Th2 dans lequel le développement des cellules Th2 est considéré comme capital et essentiel dans le développement de l'asthme allergique.

La participation des cellules T dans la pathogenèse de l'asthme allergique a été élargie pour inclure la contribution des cellules T régulatrices (Treg), des lymphocytes NKT et de la sous population T nouvellement décrite, Th17 (PHAM VAN, 2010).

- **Lymphocytes B**

Les cellules B jouent un rôle important dans les maladies allergiques, y compris l'asthme allergique, par la synthèse des IgE spécifiques aux allergènes. Chez la souris, les cytokines de type Th2, l'IL-4 ou l'IL-13, stimulent la commutation isotypique vers l'IgG1 et vers l'IgE (DEF FRANCO et al., 2009).

Chez l'homme, l'IL-4, induit la commutation vers l'IgE et vers un isotype d'IgG (IgG4) qui interagit d'une manière peu efficace avec les récepteurs RFcγ et active faiblement le complément. Ces anticorps se fixent rapidement à leurs récepteurs de haute affinité (FcεRI) présents essentiellement sur les mastocytes et les basophiles (PHAM VAN, 2010).

4.2. Médiateurs de l'inflammation asthmatique

- **Immunoglobulines E**

L'IgE est le principal anticorps impliqué dans le déclenchement de la réaction allergique de type immédiate, tel que l'asthme allergique. Il est produit par les lymphocytes B activés lors de la « commutation isotypique » (GOULD et SUTTON, 2008 ; BOUMENDJEL, 2012).

- **Histamine**

Les basophiles et les mastocytes sont les principales sources d'histamine. Elle a une propriété broncho-constrictrice puissante par son action directe sur les récepteurs H1 exprimés sur les cellules musculaires lisses. Elle entraîne aussi une extravasation vasculaire également dépendante des récepteurs H1, et par conséquent, un œdème muqueux qui participe à l'obstruction bronchique (PHAM VAN, 2010 ; BOUAZIZ, 2014).

- **Chimiokines**

Le recrutement de cellules inflammatoires dans les voies respiratoires par des chimiokines est un processus essentiel au développement de l'asthme. Les chimiokines agissent par l'intermédiaire de leurs récepteurs spécifiques et sont fréquemment ciblées en recherche thérapeutique (MEDINA-TATO et al., 2006).

- **Leucotriènes**

Ils sont synthétisés par de nombreux types cellulaires. L'enzyme nécessaire à leur synthèse est la 5-lipooxygénase dont l'activation induit la synthèse de LTB₄, puissant agent chimio-attractant pour les neutrophiles. Les LTC₄, LTD₄ et LTE₄ qui ont tous un effet broncho-constricteur puissant et induisent une hyperréactivité bronchique, augmentent la perméabilité vasculaire et stimulent la sécrétion de mucus (DAHLEN, 2006).

- **Cytokines**

Les cytokines Th2 jouent un rôle primordial dans la réponse immunitaire allergique. L'IL-4 est la cytokine clé impliquée dans le développement de la réaction allergique pulmonaire. Elle joue un rôle pro-inflammatoire important, notamment par la différenciation des lymphocytes Th2, l'induction de la production d'IgE, l'augmentation de l'expression des récepteurs à l'IgE, la transmigration des éosinophiles dans les poumons, l'inhibition de l'apoptose des lymphocytes T ou encore l'hypersécrétion de mucus (STEINKE et BORISH, 2001) (PLE, 2010 ; BOUAZIZ, 2014). Le polymorphisme de l'IL-4 et de son récepteur l'IL-4R est également impliqué dans la sévérité de la maladie (ISIDORO-GARCIA et al., 2005).

Quant à l'IL-5, produite par divers types cellulaires, elle joue un rôle crucial dans la différenciation, la maturation, la survie et même l'activation des éosinophiles (HAMID et TULIC, 2009 ; BICE et al., 2014).

Parmi les cytokines Th2, on compte aussi l'IL-13 qui est également produite par les basophiles et les mastocytes (DE WAAL MALEFYT et al., 1995 ; MARONE et al., 2005 ; SCHROEDER et al., 2009).

- **Monoxyde d'azote**

L'augmentation de la production de NO chez les asthmatiques a été décrite comme étant associée à une hyper-expression de la NO synthase inducible par les cellules épithéliales des voies aériennes (KHARITONOV et al., 1994). Le NO favorise la différenciation des cellules Th2 et augmente la production d'IL-4 tout en inhibant la prolifération et la production d'IL-2 et d'IFN- γ par les lymphocytes Th1 (TAYLOR-ROBINSON et al., 1994; CHANG et al., 1997).

Le NO pourrait participer à la réponse inflammatoire en se combinant à des anions superoxydes pour aboutir à la formation d'ions peroxy-nitrites qui peuvent avoir un effet toxique direct sur les voies aériennes (BARNES et KHARITONOV, 1996).

5. Symptômes de l'asthme et traitement

En général, l'asthme se caractérise, tout d'abord, par des symptômes respiratoires intermittents, apparaissant plus volontiers la nuit ou le matin au réveil. Ces symptômes sont d'intensité variable et diversement associés. Ils évoluent par crises de différentes gravités (Tableau II) en présence de facteurs déclenchant spécifiques (allergènes) ou non, ou encore, par exemple, en cas d'inhalation d'irritant bronchique (BATTU et SAINT-PAUL, 2014).

La meilleure stratégie du traitement de l'asthme repose sur la prévention et l'éviction, notamment vis-à-vis des facteurs aggravants et déclenchant.

Quant au traitement médical, il a pour objectif : lutter contre l'inflammation et prévenir, ou lever, le bronchospasme. Ce traitement se fonde essentiellement sur : les anti-inflammatoires (corticoïdes), qui constituent le traitement quotidien de base de l'asthme persistant par un effet anti-inflammatoire sur la muqueuse bronchique, diminuant le nombre de crises et améliorant la capacité respiratoire ; et les bronchodilatateurs (bêta-2 mimétiques et atropiniques), qui sont des antagonistes des récepteurs cholinergiques, agissant sur les muscles lisses des bronches ayant une action bronchodilatatrice (BATTU et SAINT-PAUL, 2014).

Tableau II: Les signes de la crise d’asthme en fonction de son intensité (BATTU et SAINT-PAUL, 2014).

Intensité de la crise	Les symptômes correspondants
Légère	Ecoulement nasal. Picotement des yeux. Eternuements. Démangeaisons de la gorge.
Modérée	Toux. Essoufflement important. Respiration sifflante. Angoisse. Réveils nocturnes (adulte) Oppression dans la poitrine (adulte). Sueurs (enfant). Fatigue (enfant).
Sévère	Battements accélérées du cœur. Tête qui tourne. Lèvres ou doigts qui bleuissent. Difficulté à bouger. Difficulté à parler. Transpiration (adulte) Oppression dans la poitrine (enfant).

CHAPITRE II. LE STRESS OXYDANT ET L'ASTHME ALLERGIQUE

1. Définition

L'oxygène est un élément indispensable à la vie et nous ne pouvons donc pas nous en passer. Cependant cette molécule donne naissance au sein de notre organisme, dans le cadre de nombreux phénomènes biologiques, à des dérivés appelés Espèces Réactives de l'Oxygène (ou Reactive Oxygen Species : ROS). Ces espèces chimiques sont des radicaux libres très instables et très réactifs (REIMUND, 2002 ; BAROUKI, 2006). Elles regroupent les dérivés non radicalaires (ne possédant pas d'électron célibataire) dont la toxicité est importante, tels que : l'anion peroxyde (O_2^{2-}), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxy-nitrite ($ONOO^-$) ; et les radicaux libres oxygénés (espèces chimiques possédant un électron célibataire non apparié), comme : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (HO^{\bullet}) et le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}) (SERVAIS, 2004).

Le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène les produit en faibles quantités de manière continue et ubiquitaire. En effet, 1 à 2% de l'oxygène présent est dévié vers la formation de radicaux libres. Ces espèces radicalaires de l'oxygène (ERO) sont essentiellement formées au niveau mitochondrial, lors de la transformation de l'oxygène en eau, produisant le radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$). Ce dernier, est transformé en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), plus stable grâce à la superoxyde dismutase, puis transformé en un produit non toxique : l'eau, soit par la catalase, soit par la glutathion peroxydase (Figure 3) (TURRENS, 1997).

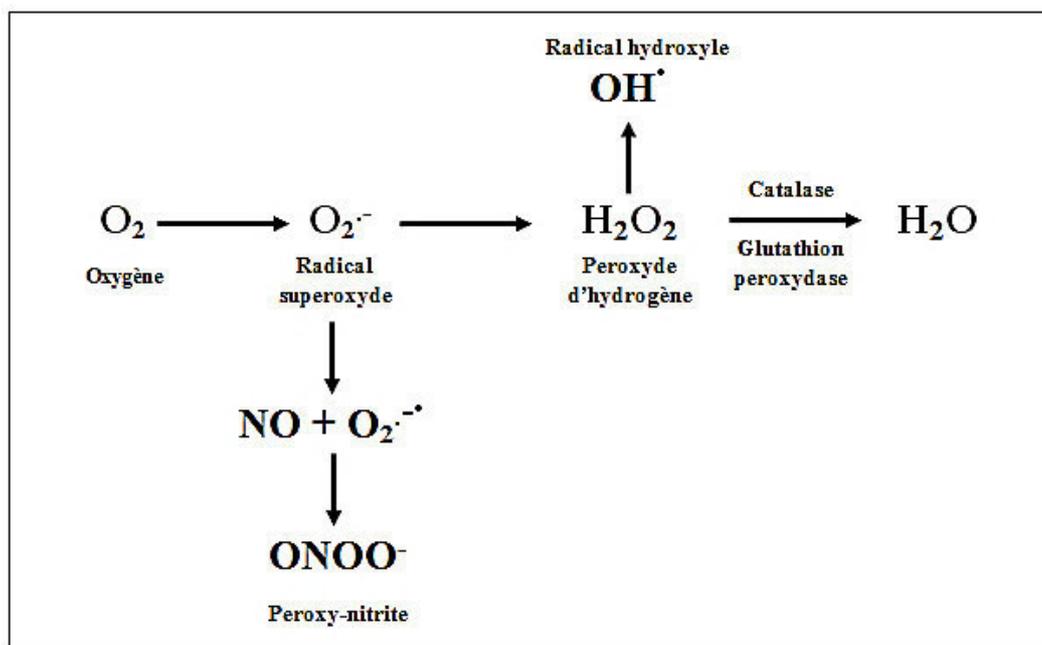


Figure 3 : La formation des radicaux libres (TURRENS, 1997).

2. Stress oxydant et asthme allergique

Dans des conditions physiologiques, la production des ROS est parfaitement maîtrisée par les systèmes de défense de notre organisme. Cependant, cette production peut être amplifiée de façon excessive par différents mécanismes physio-pathologiques (inflammation, activité sportive...) ou par des facteurs environnementaux (tabac, alcool, médicament, ...) créant un déséquilibre de la balance oxydant/antioxydant : c'est le stress oxydant (GARAIT, 2006 ; CANO et al., 2007). L'évolution de cette oxydation semble être la cause de plusieurs maladies telle que le diabète, le cancer, les maladies cardiaques, l'accélération du processus de vieillissement et les infections inflammatoires (REIMUND, 2002).

L'asthme, défini comme un trouble inflammatoire chronique des voies respiratoires se manifeste en deux temps, une réponse immédiate associée au recrutement de cellules inflammatoires et la production d'IgE et une réponse tardive caractérisée par une hyperréactivité des voies respiratoires et une inflammation pulmonaire à éosinophiles (HAMMAD & LAMBRECHT, 2006 ; HAS, 2009). La production de radicaux libres de l'oxygène par les cellules inflammatoires activées, provoque divers changements physiopathologiques associés à l'asthme (CHEROT-KORNOBIS, 2012). En effet, le stress oxydatif pulmonaire déclenche des réactions d'oxydations en chaîne et la libération de cytokines pro-inflammatoire qui, par l'intermédiaire du système sanguin, pourraient perturber l'équilibre pro/antioxydant et provoquer la propagation du stress oxydant sur un grand nombre de tissus (Figure 4) (LASKIN et al., 1994). La persistance accrue d'oxydants et de NO dans l'asthme conduit à la formation d'espèces réactives de l'azote, à l'oxydation et à la nitration subséquente de protéines, provoquant des altérations dans leurs fonctions ainsi qu'une lésion des voies respiratoires (inflammation). De plus, les enzymes dérivées de leucocytes (l'éosinophile peroxydase et la myéloperoxydase) participent à la formation de nitrotyrosine dans l'asthme avec l'augmentation de l'oxydation des molécules et la perte de défense antioxydante protectrice (ERZURUM, 2015).

Au cours des syndromes inflammatoires chroniques, les dérivés réactifs participent aux dommages moléculaires, cellulaires et tissulaires dont ils sont directement responsables et peuvent interagir avec : des protéines (sur la production d'histamine), l'ADN (mutation des gènes p53 et K-ras), des lipoprotéines (responsable d'apoptose de l'épithélium alvéolaire) et des acides gras polyinsaturés constituant la membrane des cellules épithéliales des voies respiratoires, pour former des dérivés oxydés, menant à une altération de la mécanique pulmonaire ou du mécanisme de réparation intra-pulmonaire aboutissant à un remodelage du tissu pulmonaire (PACHECO et al., 1994 ; LAWRENCE, 1999 ; TUDER et al., 2003).

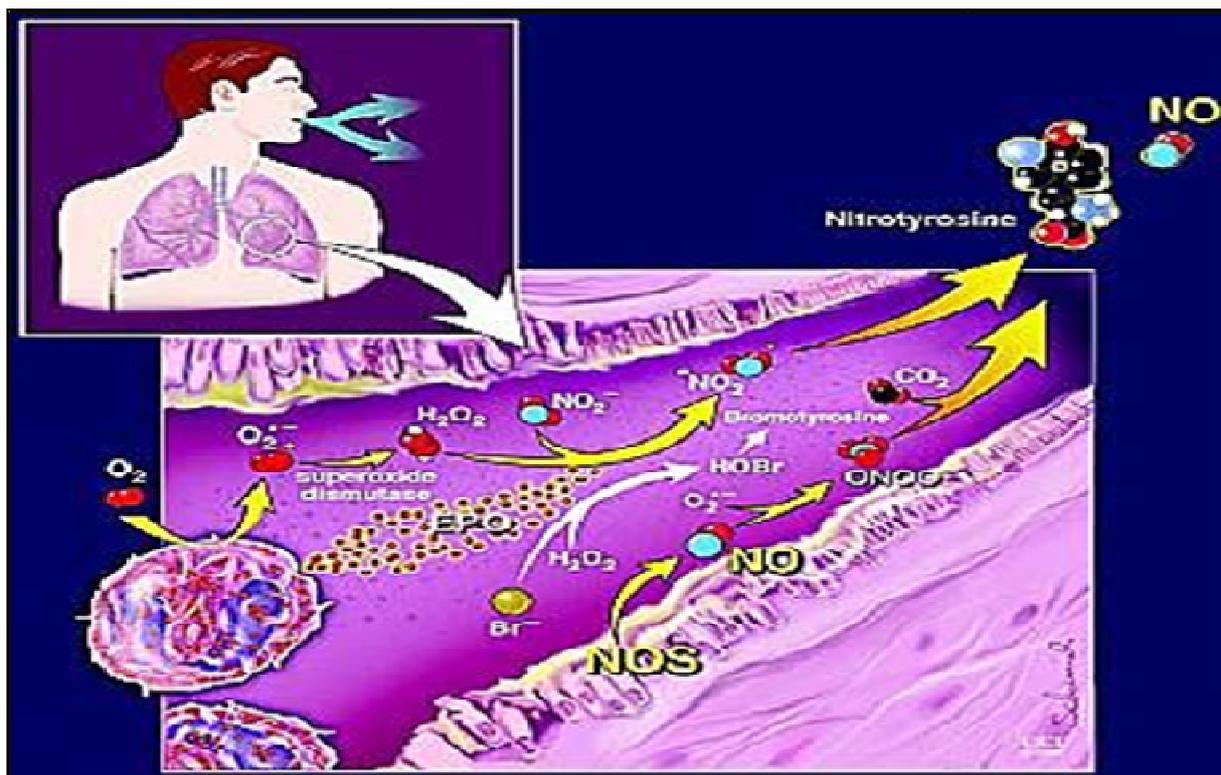


Figure 4 : Lien entre le stress oxydatif et l'asthme (ERZURUM, 2015).

3. Générations endogène et exogène des marqueurs du stress

Un marqueur du stress de l'inflammation pulmonaire est une substance résultant d'une activité biologique qui peut témoigner, lorsque sa production est exagérée, du phénomène pathologique en cause. Le stress oxydant pulmonaire et ses effets potentiellement délétères sont aujourd'hui indissociables de la physiopathologie de l'asthme et se superpose à l'inflammation bronchique (KIRKHAM et RAHMAN, 2006). En effet, la production de radicaux libres peut altérer les macromolécules constituant les cellules telles que les phospholipides, les protéines, les enzymes ou l'ADN affectant ainsi leur physiologie susceptible d'engendrer la mort cellulaire (CHEROT-KORNOBIS, 2012).

Dans les voies respiratoires, les principales sources endogènes d'oxydants sont les macrophages alvéolaires, les cellules épithéliales, les cellules endothéliales et les cellules inflammatoires recrutées telles que les neutrophiles, les éosinophiles, les monocytes et les lymphocytes (RAGENDRA SOZHAN et al., 2008).

L'activation de ces cellules se traduit par la formation de l' O_2^- , qui est rapidement converti en H_2O_2 par la superoxyde dismutase (SOD). Ce dernier, en présence du fer, forme le OH^- grâce à une réaction secondaire non enzymatique (Réaction de Fenton). Les espèces réactives produites par ces cellules sont la principale cause de la lésion tissulaire associée aux

maladies inflammatoires chroniques des poumons (Figure 5) (RAGENDRA SOZHAN et al., 2008 ; PARK et al., 2009).

Quant aux oxydants exogènes, ils proviennent de polluants atmosphériques tels que l'ozone, le dioxyde d'azote, le dioxyde de soufre et, en particulier, la fumée de cigarette qui contient environ cinq mille composés toxiques, y compris des oxydants puissants (environ 10^{14} radicaux libres par inhalation), tels que l'acroléine, le H_2O_2 , le OH^- et les radicaux libres organiques (Figure 5) (RAGENDRA SOZHAN et al., 2008).

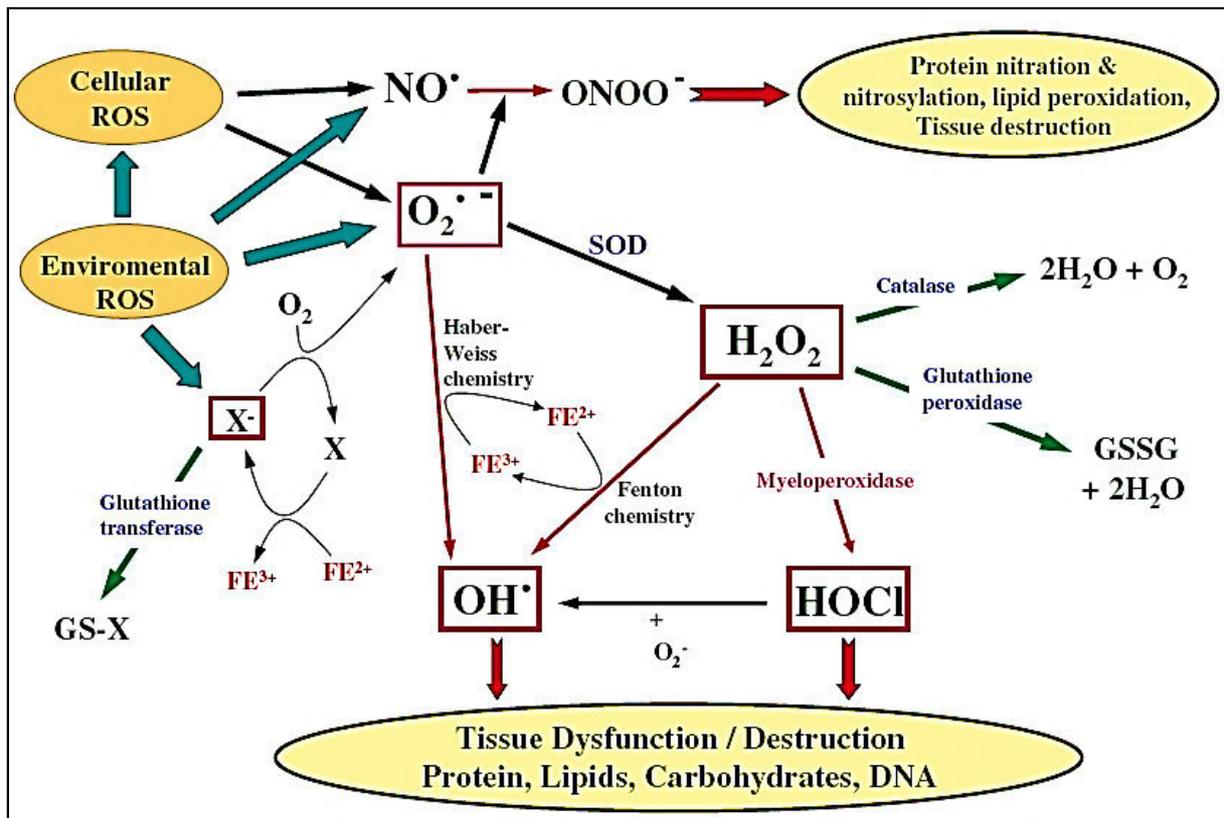


Figure 5 : Les conséquences moléculaires du stress oxydant (KIRKHAM et al., 2006).

4. Déséquilibre entre les systèmes oxydants et antioxydants dans l'asthme

Dans un état physiologique normal, les mécanismes antioxydants naturels (les systèmes enzymatique et non-enzymatique) fonctionnent pour protéger les cellules et les tissus contre la production continue des espèces réactives d'oxygène et d'azote.

Le système enzymatique est principalement constitué de trois enzymes : les superoxydes dismutases (SODs), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPx) et l'hème oxygénase-1. Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du $O_2^{\bullet-}$ et du H_2O_2 , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire.

Quant aux systèmes non enzymatiques, ils renferment de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine et l'acide lipoïque. D'autres substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines : E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables (NEUZIL et STOCKER, 1993 ; FAVIER, 2003). Des composés comme les alcaloïdes, les polyphénols, les phytates et les flavonoïdes apportés par l'alimentation, jouent également un rôle de pièges de radicaux libres (KOECHLIN-RAMONATXO, 2006).

Dans la pathologie de l'asthme les principaux systèmes de défense antioxydants non enzymatiques et enzymatiques des poumons perdent considérablement leur activité antioxydante (RAHMAN et al., 2006 ; SACKESSEN et al., 2008 ; LOUIS et al., 2012). Le Tableau III, résume les fonctions des enzymes antioxydantes pulmonaires, dans l'asthme et dans la maladie pulmonaire obstructive chronique (COPD).

5. Lutte phyto-thérapeutique contre le stress oxydant

Les plantes sont universellement reconnues comme une partie essentielle du patrimoine naturel du monde et jusqu'à 80% de la population mondiale les utilisent pour leurs soins de santé primaire (DONATIEN, 2009).

L'Algérie, avec ses milliers d'hectares de forêt et de pâturage, regorge de plantes condimentaires et médicinales qui sont encore méconnues et exploitées seulement de façon artisanale (MIARA et al., 2013).

Grace à leur contenu varié en antioxydants (comme les polyphénols) et leur propriété antioxydante remarquable, les extraits des fruits et des feuilles de plusieurs plantes médicinales ont été utilisés comme une arme permettant de faire face au stress oxydant et ses dégâts au niveau des organes de l'être vivant (SERVAIS, 2004 ; FERRADJI, 2011). En effet, les antioxydants extraits à partir des plantes, utilisés tels quels ou après modifications chimiques, sont capables de piéger les radicaux libres et d'inhiber les processus d'oxydation, jouant ainsi un rôle important dans la bio-prévention d'une multitude de maladies (GUENZET, 2012).

Tableau III : Les enzymes antioxydantes des poumons, leurs localisations et leurs fonctions dans l'asthme et la dans la maladie pulmonaire obstructive chronique (COPD) (LI et al., 2003 ; KIRKHAM et al., 2006).

Enzymes	Localisation dans le poumon	Fonction	Expression et activité
Cu, Zn-SOD	Épithélium bronchique, macrophages alvéolaires, fibroblastes, pneumocytes	Élimination des ions O_2^-	Activité diminuée dans COPD
EC-SOD	Épithélium bronchique, macrophages, neutrophiles, paroi vasculaire, pneumocytes	Élimination des ions O_2^-	Activité diminuée dans COPD
Mn-SOD	Épithélium bronchique, macrophages, neutrophiles, paroi vasculaire, pneumocytes	Élimination des ions O_2^-	Activité diminuée dans l'asthme allergique et dans le cas de tabagisme
Catalase	Macrophages, fibroblastes, pneumocytes	Catalyse la dismutation de l'eau oxygénée	Activité diminuée dans l'asthme allergique
Glutathion peroxydase (GPX)	Épithélium, macrophages, cellules pulmonaires	Transformation des hydroperoxydes organiques en hydroxyde	Activité diminuée dans l'asthme allergique
Hème Oxygénase-1	Alvéoles, épithélium bronchique, macrophages, cellules inflammatoires du poumon	Dégradation de l'hème en bilirubine	Activité diminuée dans COPD

CHAPITRE III. LES METABOLITES SECONDAIRES D'ORIGINE VEGETALE

1. Composition chimique

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides et acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie, l'agroalimentaire ou la cosmétologie.

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés : les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (MACHEIX et al., 2005).

1.1. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes constituent le plus grand ensemble de métabolites secondaires des végétaux, notamment chez les plantes supérieures. Ils désignent un groupe de substances comportant le squelette des terpènes (formé lui même de plusieurs unités d'isoprène) avec une ou plusieurs fonctions chimiques supplémentaires (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.). Tout terpène est donc construit par un assemblage d'un nombre variable d'unités isopréniques C_5H_8 (2-méthylbuta-1,3-diène) et les différentes classes de molécules terpéniques sont nommées selon leur nombre de motifs isoprènes (Tableau IV) (JUDD et al., 2002 ; MALECKY, 2008).

Tableau IV : Classification des terpènes $(C_5H_8)_n$ (MALECKY, 2008).

Nom	Nombre d'unités "n"	Exemple de molécule
EMI-terpènes	1	Isoprène
MONO-terpènes	2	Arômes volatiles, parfums
SESQUI-terpènes	3	Phytoalexines
DI-terpènes	4	Phytole, giberellines, phytoalexines,
TRI-terpènes	6	Brassinostéroïdes, stéroles de membrane, certaines toxines
TETRA-terpènes	8	Caroténoïdes
POLY-terpènes	> 8	Plastoquinones, ubiquinones

1.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes forment un groupe hétérogène, du point de vue structure et propriétés chimiques. Ce sont des composés organiques azotés d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (POISSON, 2011). Ils sont subdivisés en trois groupes (Figure 6) :

- **Les alcaloïdes vrais** : Ils dérivent d'acides aminés et présentent au moins un hétérocycle (exemple: la strychnine dérivée du tryptophane).
- **Les proto-alcaloïdes** : Ils dérivent d'acides aminés et portent l'azote en dehors des structures cycliques (exemple : la colchicine). Certains proto-alcaloïdes s'associent à des résidus terpéniques (exemple: alcaloïdes indoliques monoterpéniques).
- **Les pseudo-alcaloïdes** : Ils ne dérivent pas d'acides aminés (exemple : la caféine) (GRAVOT, 2009).

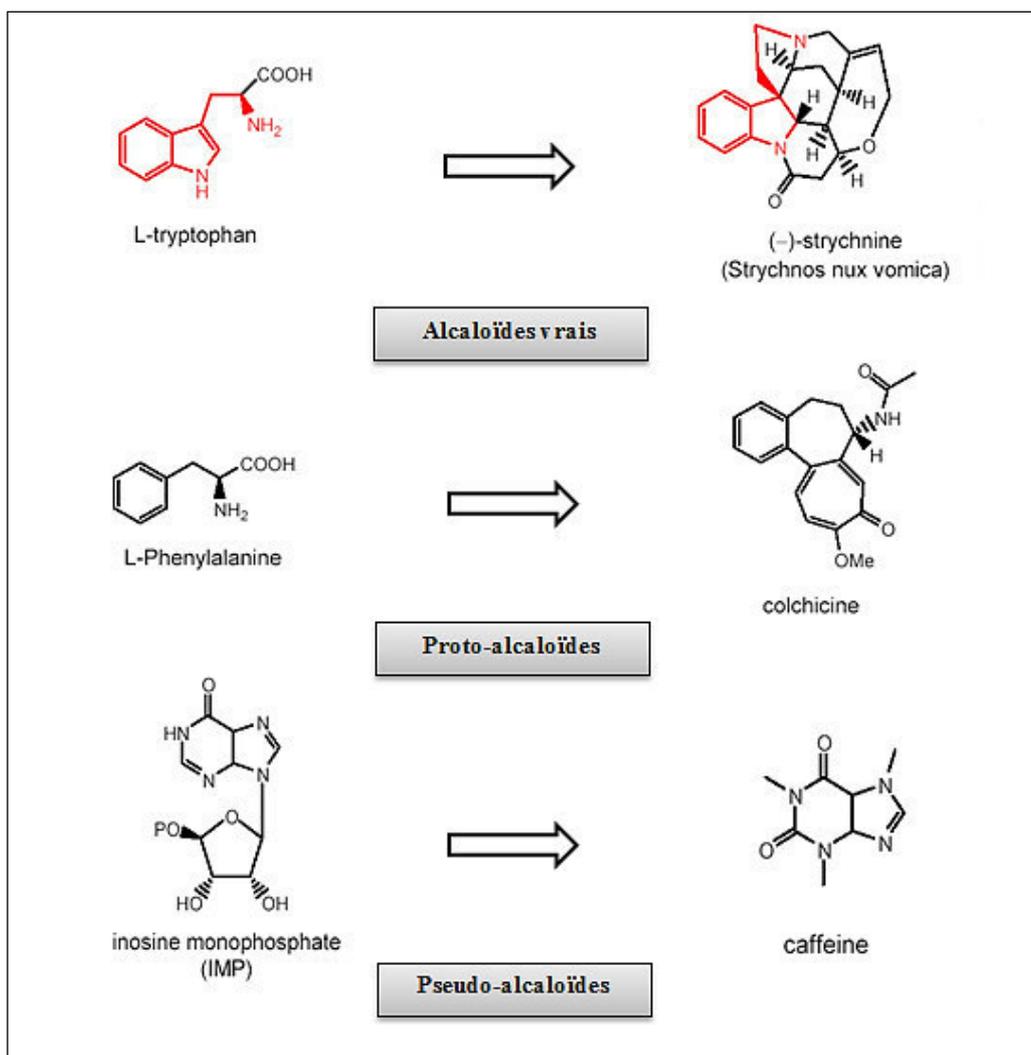


Figure 6 : Structure chimique de quelques alcaloïdes (GRAVOT, 2009).

1.3. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent un groupe de substances variées et ubiquistes. Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles.

Ils sont subdivisés en plusieurs catégories: les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins (obtenus par polymérisation des flavonoïdes) et les lignanes avec les isoflavones (nommés phyto-oestrogènes) (BRUNETON, 2009).

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau V) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisées), ensuite, par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin, ils peuvent se différencier par les liaisons possibles de ces motifs de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, etc.) (MACHEIX et al., 2005 ; BETA et al., 2005).

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C₆ aux flavonoïdes en C₁₅ et même à des molécules chimiquement proches.

Tableau V: Les principales classes de composés phénoliques (HABORNE, 1980; MACHEIX et al., 1990)

Squelette carboné	Classe	Exemple
C ₆	Phénols simples	Catéchol
C ₆ - C ₁	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque
C ₆ - C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acides caféique, acide férulique, scopolétine, esculétine
C ₆ - C ₄	Naphtoquinones	Juglone
C ₆ - C ₂ - C ₆	Stilbènes	Resvératrol
C ₆ - C ₃ - C ₆	Flavonoïdes : - Flavonols - Anthocyanes - Flavanols - Flavanones Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Déidzéine
(C ₆ - C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol
(C ₆ - C ₃) _n	Lignines	
(C ₁₅) _n	Tannins	

- **Les acides phénoliques :** Dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique, ils comptent : les acides hydroxybenzoïques (p- hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique, gallique, syringique, salicylique, gentisique, etc.) et les acides hydroxycinnamiques (l'acide p-coumarique et ses isomères, les acides o- et m-coumariques, l'acide caféique, l'acide férulique et son dérivé 5-hydroxyle et l'acide sinapique) (MACHEIX et al., 2005).
- **Les flavonoïdes :** Ils existent sous forme d'hétérosides dont certains ont une très grande importance biologique et technologique : les anthocyanes sont des pigments naturels rouges ou bleus; les flavones et les flavonols sont de couleur crème ou jaune clair; les flavanes dont les produits de condensation sont à l'origine d'un groupe important de tanins; et les isoflavones jouent un rôle important en santé humaine (MACHEIX et al., 2005).
- **Les tannins :** On distingue, d'après leur structure et leurs propriétés, deux types de tannins : les tannins hydrolysables (les gallotannins, qui libèrent de l'acide gallique et leurs dérivés galloylés ; et les ellagitannins, qui libèrent par hydrolyse de l'acide gallique accompagné par les acides ellagique, hexahydroxydiphénique, valonique, etc.) et les tannins condensés (les proanthocyanidines) (GUIGNARD, 2000 ; HOPKINS, 2003).

2. Méthodes d'étude des métabolites secondaires

2.1. Techniques d'extraction

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme végétal selon diverses techniques. Le choix de la méthode d'extraction est basé sur des données préalables et sur les caractéristiques physicochimiques des métabolites à extraire (KRIEF, 2003). Parmi ces méthodes, on distingue l'extraction par distillation, par expression à froid, par solvant organique et par fluide à l'état supercritique.

2.1.1. Extraction par distillation

Il existe 3 différents procédés utilisant le principe de la distillation :

- **L'hydrodistillation :** C'est la méthode la plus employée pour l'extraction des huiles essentielles. Le principe de l'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. Lors de la distillation des huiles essentielles, plusieurs phénomènes sont à la base d'échange de matière entre les phases solide, liquide et la vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement du produit final (OUIS, 2015).

- **L'extraction par entrainement à la vapeur d'eau :** A la différence de l'hydro-distillation cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse et libère l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange (eau + huile essentielle). Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique (Figure 7-A) (NAIT ACHOUR, 2012).
- **L'extraction par hydro-diffusion :** Il s'agit d'une variante de l'entrainement à la vapeur d'eau. Dans le cas de l'hydro-diffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange (vapeur d'eau-huile essentielle) dispersé dans la matière végétale. Comme pour l'entrainement à la vapeur d'eau, l'hydro-diffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau (Figure 7-B) (NAIT ACHOUR, 2012).

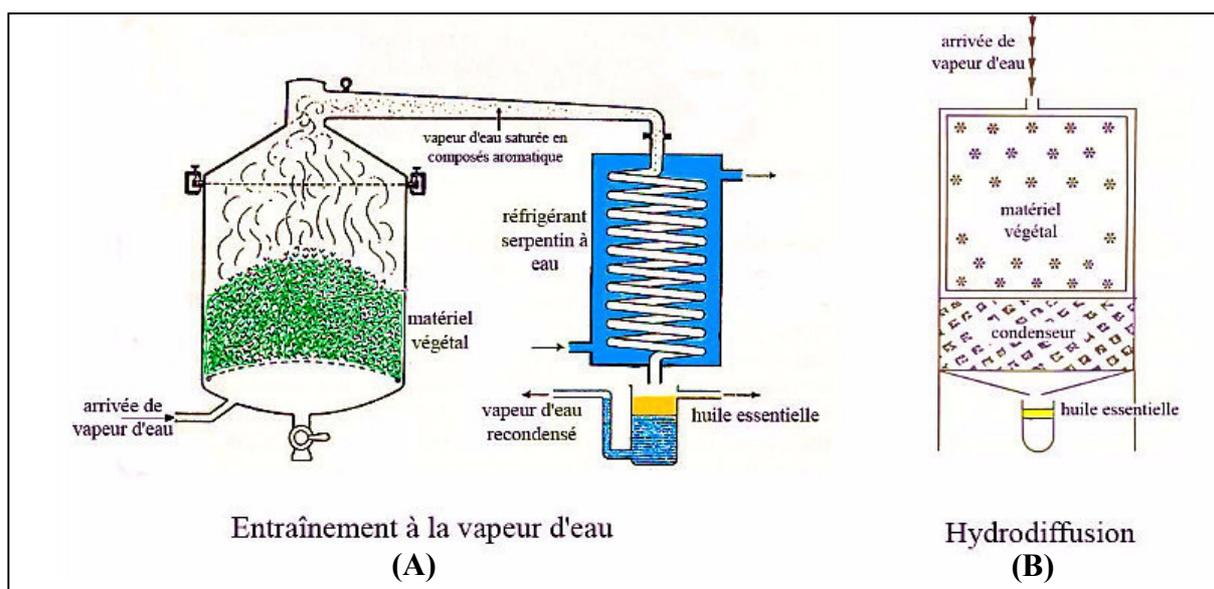


Figure 7 : Montages pour l'entrainement à la vapeur d'eau (A) et l'hydro-diffusion (B) (NAIT ACHOUR, 2012).

2.1.2. Extraction par expression à froid

C'est une technique "physique" simple où les écorces des agrumes (citron, orange,...) sont pressées à froid pour extraire leurs huiles essentielles en utilisant des rouleaux. Le principe de cette méthode consiste à faire éclater par différents procédés mécaniques (compression, perforation) les poches qui sont situées à la surface de l'écorce de ces fruits. L'huile libérée est ensuite recueillie par un courant d'eau (MARROUF et TREMBLIN, 2009).

2.1.3. Extraction par solvant organique

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Le choix du solvant est orienté par les caractéristiques chimiques spécifiques pour chaque famille de métabolites secondaires. Généralement, les solvants les plus utilisés sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol ou même l'eau pour l'extraction des composés polaires et le dichlorométhane pour l'extraction des composés non polaires (KIM et LEE, 2002).

En fonction de la technique et du solvant utilisé on obtient : des hydrolysats (extraction par solvant en présence d'eau), des alcoolats (extraction avec de l'éthanol dilué), des teintures ou solutions non concentrées (obtenues à partir de matières premières traitées par l'éthanol ou des mélanges éthanol/eau), des résinoïdes ou extraits éthanoliques concentrés et des oléorésines et des concrètes (qui sont respectivement des extraits à froid et à chaud au moyen de solvants divers) (LAGUNEZ RIVERA, 2006).

2.1.4. Extraction par fluide à l'état supercritique

L'extraction par gaz liquéfié ou par fluide à l'état supercritique met en œuvre généralement le dioxyde de carbone. La matière végétale est chargée dans l'extracteur puis le CO₂ est introduit sous pression et réfrigéré. Le mélange est recueilli dans un vase d'expansion. La pression y étant réduite, le CO₂ reprend ainsi sa forme gazeuse et est complètement éliminé. L'extrait végétal est isolé, les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine sans trace résiduelle de solvant (Figure 8) (KHAJEH et al., 2005 ; LAGUNEZ RIVERA, 2006).

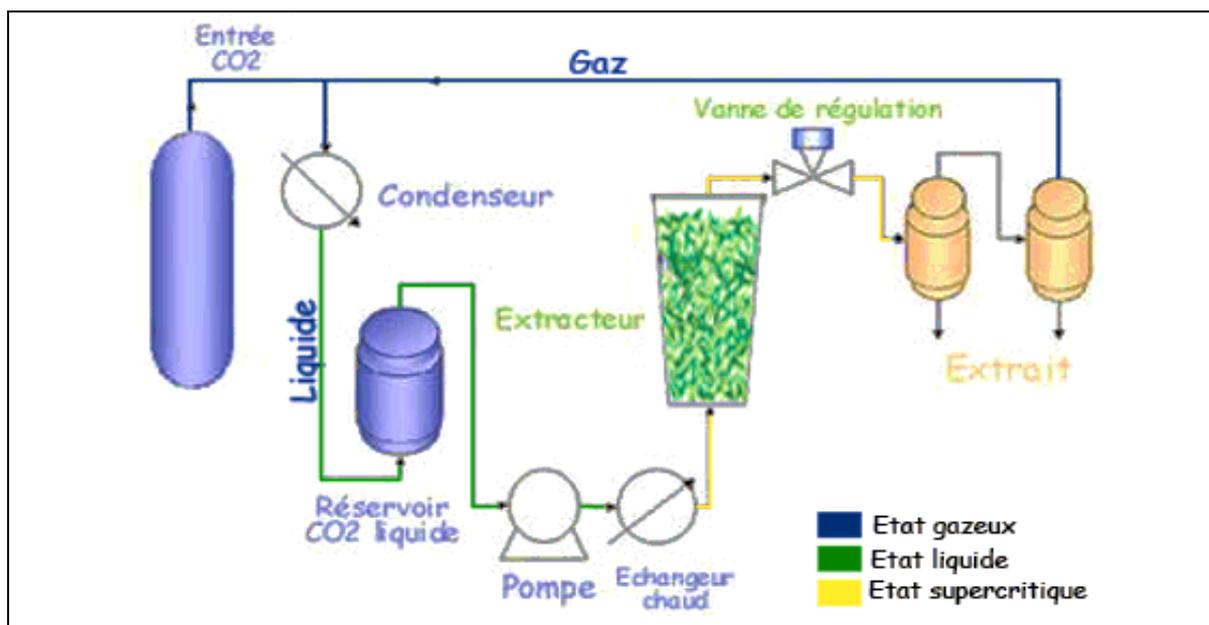


Figure 8 : Extraction par fluide à l'état supercritique (GOBBI et KHEBBAZ, 2014).

2.2. Techniques d'identification

Les méthodes d'identification des métabolites secondaires ont fait des progrès spectaculaires au cours des trente dernières années, grâce en particulier à l'utilisation quasi systématique de la chromatographie à haute performance et des détecteurs à barrette de diodes permettant l'analyse des spectres d'absorption en ultraviolet et le couplage de la chromatographie à haute pression avec les techniques physico-chimiques modernes (spectrométrie de masse, résonance magnétique nucléaire...) (MACHEIX et al., 2005).

2.2.1. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP) : C'est une puissante technique de séparation utilisée pour l'identification, la quantification et/ou la purification des composés dans un mélange. Ce dernier est mis en solution dans une phase mobile (solvant) puis injecté sous haute pression en tête d'une colonne. Il existe plusieurs types de phases stationnaires mettant en jeu des mécanismes de rétention variés. Ceux-ci, spécifiques de chaque constituant, sont fortement dépendants de la nature de la phase stationnaire, de la composition de la phase mobile et des conditions opératoires (débit, pression et température) (DONG, 2006 ; SNYDER et al., 2009).

2.2.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) : Elle permet de séparer et d'identifier les composés d'un mélange et s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Dans la CPG la phase mobile est gazeuse ; le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée de la colonne. La phase stationnaire (dans la colonne) peut être solide ou liquide ; le mélange est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur. Les différentes molécules du mélange se séparent et sortent de la colonne vers le détecteur qui envoie un signal électronique à l'enregistreur (PENCHEV, 2010).

2.2.3. Spectrométrie de masse (MS) : Elle consiste à séparer et identifier des molécules selon leur masse et leur charge. La séparation des molécules par cette technique est plus douce qu'avec les autres méthodes. Elle permet d'ioniser des molécules de grande taille, peu volatiles et sensibles à la chaleur sans les dégrader. L'échantillon est placé sur une lame, le dépôt (ou spot) formé est appelé cible. Une source laser est dirigée sur la cible afin d'ioniser les molécules de l'échantillon. Les ions sont ensuite détectés en mesurant le temps que mettent les différentes particules à atteindre le détecteur. La vitesse de chaque particule dépend du rapport masse/charge. Une fois l'ion arrivé au détecteur, le signal est amplifié et envoyé à un ordinateur qui traite les données et donne les résultats sous forme de spectre (CARIELLO, 2012).

2.2.4. Spectrophotométrie UV-visible : L'absorption moléculaire dans le spectre ultraviolet et visible dépend de la structure de la molécule. Cette méthode permet de reconnaître des

groupements chimiques particuliers et de déterminer la quantité de la molécule présente dans un échantillon, en mesurant, à une longueur d'onde précise, l'intensité de cette absorption (densité optique) par rapport à un témoin de concentration connue (ALKHATIB, 2010).

2.2.5. Résonance magnétique nucléaire (RMN) : La RMN tire des informations de l'interaction qui naît entre les noyaux des atomes de certains éléments présents dans l'échantillon et le champ magnétique intense et constant, produit par un aimant auquel on le soumet (signaux de résonance). Le spectre RMN correspond à l'absorption, par certains atomes de l'échantillon, de certaines des fréquences présentes dans la source électromagnétique. Cette technique fait appel au spin des noyaux qui permet d'expliquer le comportement des atomes dans un milieu où règne une direction privilégiée (GOBBI et KHEBBAZ, 2014).

2.2.6. Spectrométrie infrarouge : Cette méthode est basée sur l'absorption ou la réflexion par l'échantillon des radiations électromagnétiques comprises entre 1 et 50 μm . Dans le proche et moyen infrarouge (IR), l'absorption de la lumière par la matière a pour origine l'interaction entre les radiations de la source lumineuse et les liaisons chimiques. Les atomes situés aux deux extrémités d'une liaison sont animés d'un mouvement de vibration l'un par rapport à l'autre et s'ils sont différents ils forment alors un dipôle électrique oscillant à cette même fréquence. Si on irradie à cette même fréquence, il y aura absorption (accord entre fréquence mécanique et électromagnétique) (BERTRAND et DUFOUR, 1987).

3. Activités biologiques des métabolites secondaires

3.1. Activité anti-oxydante

Parmi les antioxydants naturels, les composés phénoliques, et plus particulièrement les acides phénoliques et les flavonoïdes, suscitent un intérêt grandissant. Ce sont des composés naturels permettant de ralentir le phénomène d'oxydation et ce en interrompant le passage au stress oxydatif en lien direct avec des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, la carcinogénèse et les maladies neurodégénératives (MACHEIX et al., 2005 ; QUIDEAU et al., 2011).

La grande capacité des composés phénoliques à contrecarrer les radicaux libres, et à chélater les ions métalliques est directement liée à leurs caractéristiques structurales. En effet, il est prouvé que cette activité est due aux nombres de groupements hydroxyles présents sur les cycles benzoïques, et aussi à la proximité des groupes alkyls. Ces caractéristiques permettent une délocalisation électronique importante, donc une stabilisation de la forme radicalaire (RICE-EVANS et al., 1996 ; SHAHIDI et NACZK, 2003).

3.2. Activité anti-inflammatoire

Les études sur les composés phénoliques issus de plantes utilisées traditionnellement restent encore très répandues (CONFORTI et al., 2008). Nombreuses d'entre-elles ont prouvé que les flavonoïdes déploient leurs activités pharmacologiques, notamment anti-inflammatoires, par l'inhibition d'importantes enzymes de régulation. En effet, certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines et de très actives molécules pro-inflammatoires. Cet effet serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipooxygénase, de la cyclooxygénase et de la phospholipase A2. Certaines kinases (Protéine Kinase C, la Phosphoinositol3kinase et tyrosine kinases) impliquées dans la réponse inflammatoire sont aussi affectées par les flavonoïdes dont le potentiel anti-inflammatoire dépend du profil d'hydroxylation de leurs cycles A et B, et de la présence de la double liaison C2=C3 dans leurs noyaux (NAMGOONG et al., 1994 ; KIM et al., 1996 ; MANTHEY et al., 2000).

3.3. Activité antiasthmatique

L'effet des polyphénols sur le système immunitaire est complexe, certains d'entre eux réduisent l'activation du complément, diminuant de façon générale la réponse inflammatoire. À doses élevées, ils inhibent les fonctions lymphocytaires, mais, à concentrations plus faibles, ils pourraient agir comme immunostimulants chez les sujets immunodéprimés (KARNOUF, 2009).

Les flavonoïdes sont également connus pour leur activité antiasthmatique. En effet, dans la pathologie asthmatique, l'activité immuno-modulatrice des flavonoïdes dépend, d'une part, de leur pouvoir piègeur des radicaux libres et d'autre part, de leur capacité à inhiber la formation de l'histamine. Ainsi, les flavonoïdes inhiberaient les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et l'ATPase Ca^{2++} dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles (GHEDIRA, 2005).

3.4. Activité antimicrobienne

Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Les composés, appartenant aux acides phénoliques, les plus représentatifs de ces effets sont les acides cinnamiques et caféïques. Ils sont particulièrement efficaces contre de nombreuses souches de bactéries, de champignons et de virus (CHENG et al., 2008).

De même, les flavonoïdes agiraient à plusieurs niveaux. Il semblerait que le cycle B joue un rôle important dans l'intercalation avec les acides nucléiques et inhiberait ainsi la synthèse d'ADN et d'ARN (CUSHNIE et LAMB, 2005).

Les tanins quant à eux, ont la capacité à créer des complexes avec les protéines par des liaisons hydrogènes, des liaisons hydrophobes ou des liaisons covalentes, cela leur permet alors de désactiver les adhésions microbiennes, enzymatiques et les enveloppes cellulaires transportant les protéines des microorganismes (COWAN, 1999).

PARTIE EXPERIMENTALE

But et objectifs

Le but de cette présente étude est d'évaluer l'efficacité et de confirmer l'utilisation traditionnelle de deux extraits (l'huile des baies et l'extrait aqueux des feuilles) du lentisque (*Pistacia lentiscus*) contre l'asthme et ce dans un modèle expérimental chez le rat Wistar.

Dans un premier temps, un des objectifs de cette thèse a été d'identifier les principaux composés phytochimiques, tout en mettant en exergue le pouvoir antioxydant de chacun des deux extraits et ce par :

- Evaluation de quelques composés phénoliques.
- Etude de l'activité antioxydante.

Ensuite, un second objectif a été d'étudier l'effet des extraits de cette plante sur des rats sensibilisés via un protocole d'asthme expérimental schématisé ci-dessous (Figure 9), en mesurant leurs impacts sur :

- La peroxydation lipidique à travers le dosage du MDA au niveau du sang (érythrocytes) et des organes clés (foie et poumon).
- Les différents systèmes antioxydants (GPx, SOD, CAT) et ce au niveau des mêmes compartiments précédemment cités.
- Quelques marqueurs de l'asthme et de l'inflammation (dosage protéines totales, des leucocytes et de l'interleukine-4) au niveau du sérum et du liquide du lavage broncho-alvéolaire.
- L'architecture tissulaire pulmonaire et hépatique.

Enfin, une étude des corrélations a été effectuée afin de mettre en évidence le lien entre les différents paramètres évalués au cours de notre travail expérimental, tout en les comparant chez les deux extraits étudiés (l'huile et l'extrait aqueux de lentisque).

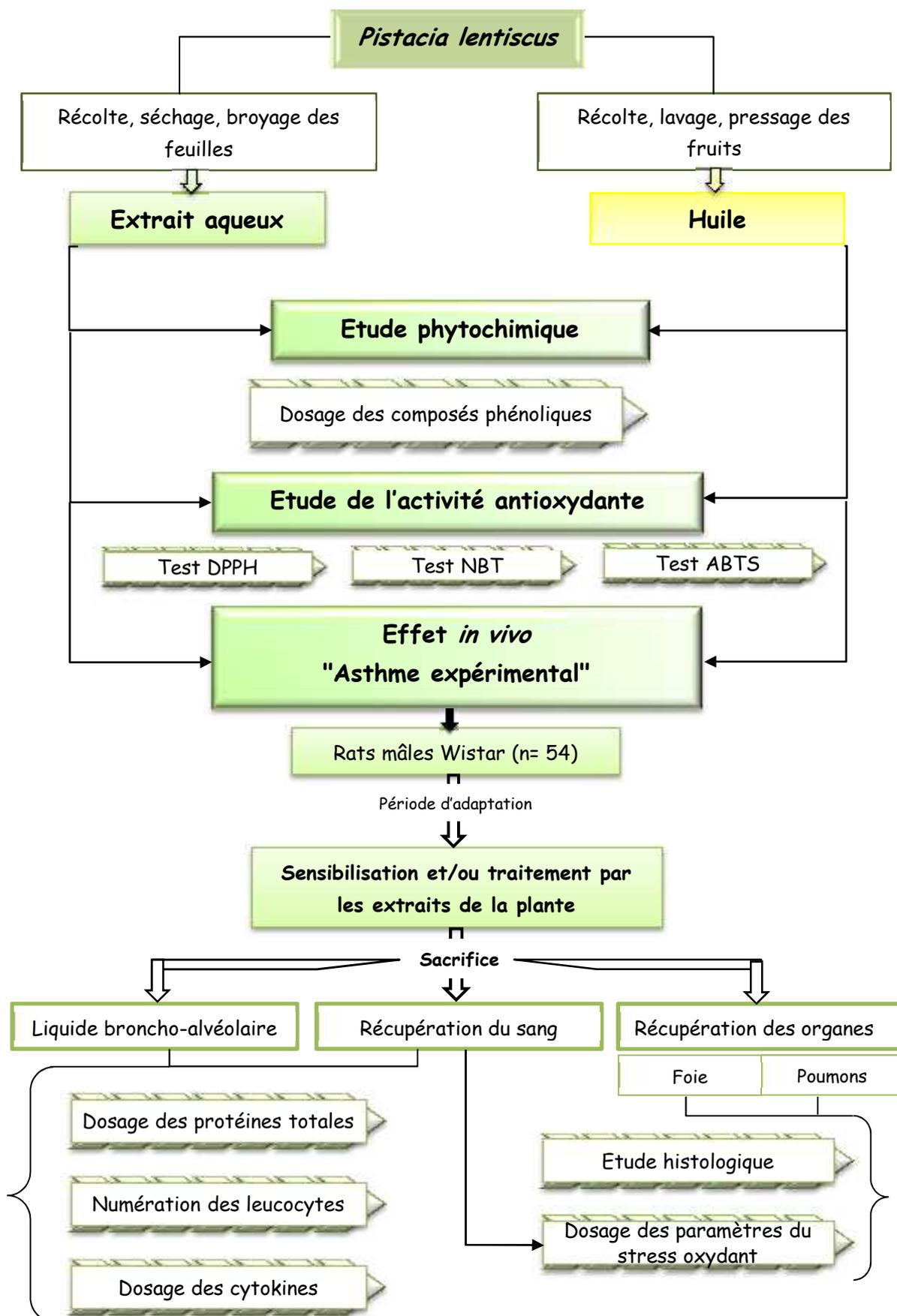


Figure 9 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

1. Etude de la composition chimique et des propriétés anti-oxydantes de la plante choisie

1.1. Monographie de la plante étudiée (*Pistacia lentiscus*)

Le lentisque ou mastic en anglais et el darou (الضرو) en arabe est un buisson à feuilles persistantes de trois mètres de hauteur, ramifié et à odeur de résine fortement acre (LEPRIEUR, 1860). Appartenant à la famille des Anacardiacees (Tableau VI), cette plante est constituée de plus de onze espèces (TRABELSI et al., 2012). Elle est caractérisée par : une écorce, rougeâtre sur les jeunes branches et grisâtre avec le temps, renfermant une résine irritante non colorée à odeur forte ; des branches tortueuses, formant une masse serrée ; des feuilles persistantes, composées, et possédant un nombre pair de folioles (4 à 10) d'un vert sombre, elliptiques, luisantes en dessus, glabres et dont le pétiole est bordé d'une aile verte ; des fleurs, unisexuées se présentant sous forme de grappe, apparaissant au printemps (floraison de Mars à Mai) et des baies globuleuses, rougeâtres au début, devenant brunâtres à leur maturité (en automne) (Figure 10) (BELFADEL, 2009).

Elle est largement distribuée en «extrême» des écosystèmes du bassin méditerranéen, qui sont caractérisées par des éléments nutritifs et la pénurie d'eau ; et sont exposés à de longues périodes de rayonnement solaire et des températures élevées (Figure 11) (ABDELWAHED et al, 2007).

En Algérie, l'arbre est très répandu dans la forêt, seul ou associé avec d'autres espèces d'arbres (tels que les térébinthes, les oliviers et les caroubiers) (DAHMOUNE et al., 2014).

Tableau VI : La taxonomie de *Pistacia lentiscus* (BELFADEL, 2009).

Règne	PLANTAE
Embranchement	TRACHEOBIONTA – plantes vasculaires
Super-division	SPERMATOPHYTA – plantes de la graine
Division	MAGNOLIOPHYTA – plantes fleuries
Classe	MAGNOLIOPSIDA
Sous-classe	ROSIDAE
Ordre	SAPINDALES
Famille	ANACARDIACEAE – la famille du sumac
Genre	PISTACIA L. – pistache
Espèce	LENTISCUS– Arbre de mastic

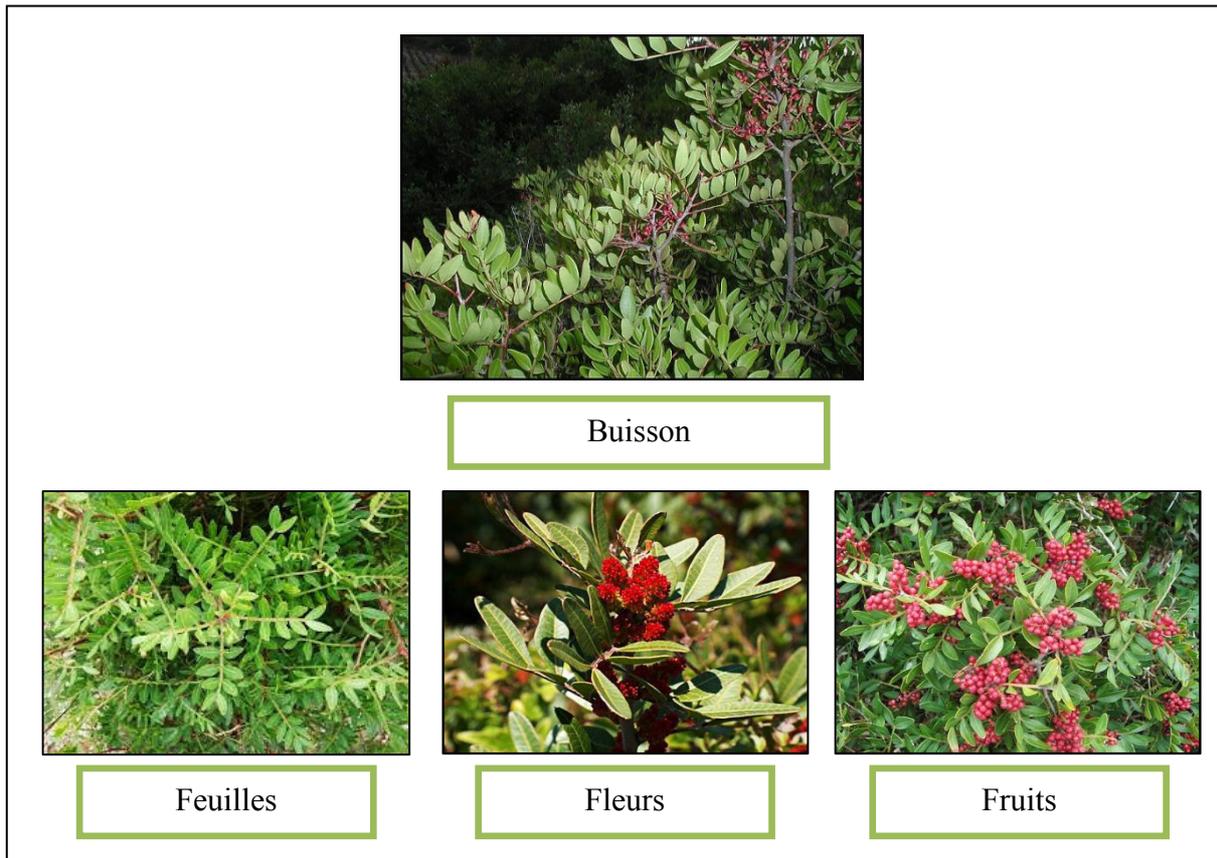


Figure 10 : Différentes parties botaniques de *Pistacia lentiscus* (BELFADEL, 2009).

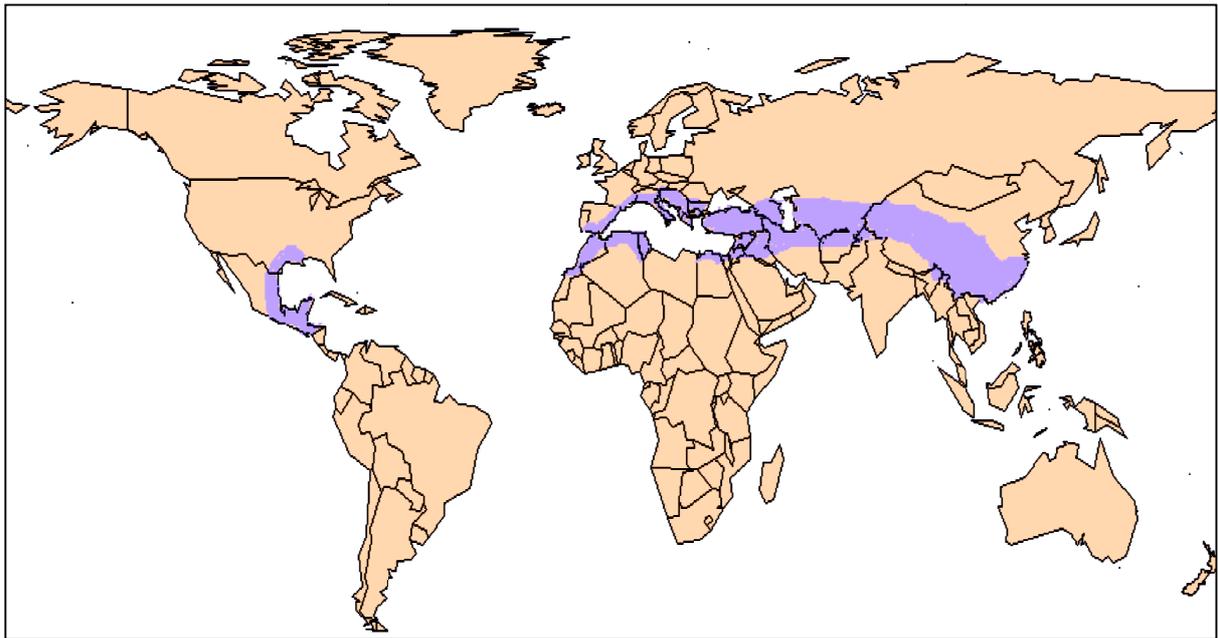


Figure 11 : Distribution géographique mondiale de *Pistacia lentiscus* (BELFADEL, 2009).

Pistacia lentiscus est connue pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité. Le traitement de cette plante peut donner lieu à trois produits principaux : le mastic, l'huile pressée extraite à partir des baies et l'huile essentielle (EO) des fleurs, des feuilles et des branches (BARRA et al., 2007).

Des études sur la composition des feuilles et des baies de *P. lentiscus* ont rapporté qu'elle contient différents types de métabolites secondaires (RODRIGUEZ-PEREZ et al., 2013).

La résine de cette plante est connue pour son effet analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, anti-thermogénique, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique (A.H.Y. et A.M.Y, 1975 ; MAGIATIS, 1999). Par conséquent, le mastic est souvent cité comme un remède efficace contre certaines maladies telles que l'asthme, la diarrhée, les infections bactériennes, les ulcères gastroduodénaux et comme agent antiseptique au niveau du système respiratoire (BAYTOP, 1984 ; BAYTOP, 1999).

Les feuilles quant à elles, sont pourvues d'action anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique et astringente. Elles sont également utilisées dans le traitement d'autres maladies telles que l'eczéma, les infections buccales, les diarrhées, la jaunisse, les maux de tête, les maux d'estomac, mais également au cours des complications respiratoires tel que la bronchite et l'asthme (VILLAR et al., 1987).

L'huile essentielle de lentisque est connue pour ses vertus thérapeutiques en ce qui concerne les problèmes lymphatiques et circulatoires.

La recherche dans les bases de données médicales et toxicologiques n'a révélé aucun effet indésirable grave lorsque les doses orales usuelles recommandées sont respectées. En effet, BAMMOU et al (2015), ont affirmé dans leur étude que l'absence d'alcaloïdes et d'hétérosides cyanogénétiques diminue fortement les risques toxicologiques liés à l'usage de *Pistacia lentiscus*. Selon le Natural Medicines Comprehensive Database l'effet secondaire fréquent lié au mastic de lentisque est la diarrhée ou les selles (CRYSTAL, 2016).

1.2. Cueillette et extraction du matériel végétal

La cueillette des fruits mûrs (baies noires) de *Pistacia lentiscus* et de ses feuilles fraîches a été effectuée respectivement en Décembre 2013 et en Janvier 2014 dans la région d'Annaba et plus précisément à Cheurfa (Figure 12). Cette zone semi-urbaine, est une commune algérienne située à environ 10 km de la wilaya d'Annaba (Latitude: 36.8177 N, Longitude: 7.71793 E).

La plante a été cataloguée dans l'herbarium du Pr. Gérard de Belair (Numéro de modèle: 060_29) et identifiée par Monsieur le Pr Azedinne CHEFROUR, botaniste au département de Biologie (Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Souk Ahras - Algérie).

Après les avoir cueillies, selon les bonnes pratiques de récoltes relatives aux plantes médicinales, les fruits ont été pris en charge par une presse traditionnelle (Annexe 1). L'huile a été extraite des fruits puis stockée dans des flacons en verre à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.

Les feuilles quant à elles, ont été séchées pendant une dizaine de jours à l'air libre et à l'ombre avant d'être finement broyées en poudre et stockées jusqu'à la préparation d'un extrait aqueux. Ce dernier a été préparé quotidiennement à partir de la poudre des feuilles de lentisque et soumis à une décoction, par ébullition pendant 15-20 min. La phase aqueuse est filtré et l'extrait est ensuite conservés à 4°C (Annexe 2).



★ Lieu de récolte

Figure 12 : Lieu de récolte de la plante (Cheurfa-Annaba).

1.3. Dosages colorimétriques des composés phénoliques

1.3.1. Dosage des phénols totaux

D'après la méthode décrite par WOLFE et ses collaborateurs (2003), le dosage des phénols totaux se fait à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu (RFC), qui en présence de polyphénols et en milieu alcalin se traduit en oxyde de tungstène et de molybdène donnant une couleur bleue. Les composés phénoliques réagissent en milieu basique (pH= 10) avec le RFC.

En effet, dans ces conditions, la dissociation d'un proton phénolique mène à un anion phénolate, qui est capable de réduire le RFC par des réactions réversibles impliquant le transfert d'un ou de deux électrons. Cette réaction conduit à la formation d'espèces chimiques de couleur bleue.

Le composé phénolique standard utilisé dans cette méthode est l'acide gallique. Les teneurs des phénols totaux sont calculées à l'aide de l'équation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Mode opératoire :

Une prise d'essai de 0,5 mL d'une solution mère de concentration 1mg/mL, préparée dans un mélange méthanol/eau (50:50), est mélangée avec 5 mL du RFC (dilué à 1/10 dans de l'eau ultra pure) et 4 mL de carbonate de sodium Na_2CO_3 (1M).

Le mélange est agité puis laissé pendant 15 minutes à l'obscurité et à température ambiante. A la fin de la réaction, la solution obtenue présente une coloration bleue dont on mesure l'absorbance à la longueur d'onde 765 nm.

Les teneurs en phénols totaux des différents extraits exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait) ont été déterminées directement à partir de la courbe d'étalonnage qui présente un coefficient de régression proche de 1 ($r^2 = 0,9836$) (Figure 13).

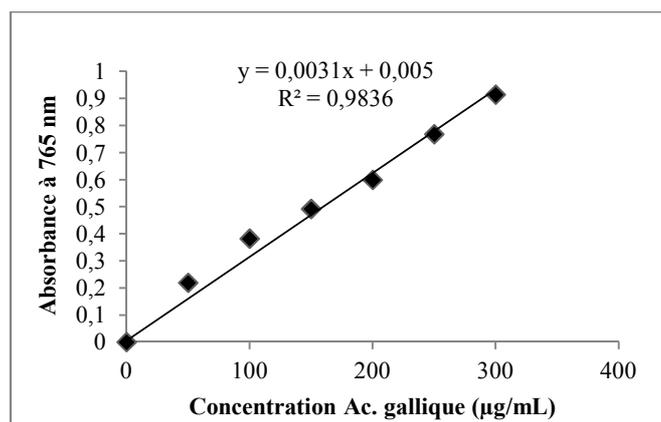


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

1.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes totaux ont été déterminés suivant la méthode décrite par ZHISHEN et ses collaborateurs (1999) avec quelques modifications. Ce dosage est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$. En effet, il a été démontré que ce réactif forme des complexes acides stables soit avec le carbonyle ($C=O$) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Par ailleurs, $AlCl_3$ peut également former des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes.

La quercétine, appartenant à la classe des flavonols, est utilisée en tant que composé standard.

Mode opératoire :

On ajoute à une solution de l'extrait de lentisque (extrait aqueux/ huile) à 1mg/mL (0,5 mL), du méthanol (1,5 mL), du $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ à 10% (0,1mL), de l'acétate de sodium à 1M (0,1 mL) et enfin de l'eau ultra pure (2,8 mL). Le mélange est agité vigoureusement puis laissé pendant 30 minutes à l'obscurité. A la fin, de la réaction, la lecture de l'absorbance est réalisée à 430 nm.

Les teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits exprimées en mg d'équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g extrait) ont été déterminées directement à partir de la courbe d'étalonnage qui présente un coefficient de régression proche de 1 ($r^2 = 0,9924$) (Figure 14).

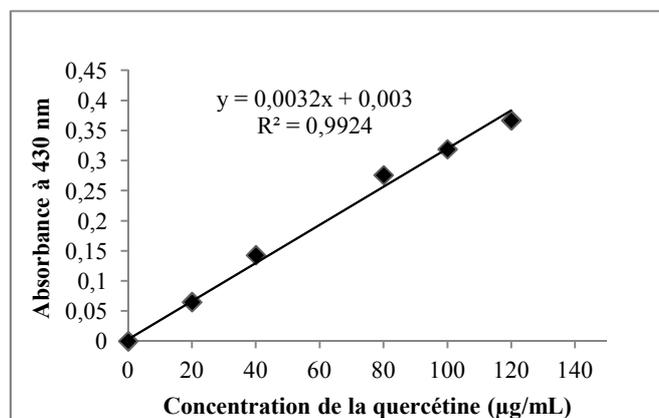


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

1.3.3. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide (JULKENEN-TIITTO, 1985). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré (rouge) dont l'intensité de coloration est proportionnelle aux taux de tanins présents dans le milieu et qui présente un maximum d'absorption à 500 nm.

Mode opératoire :

Deux séries de tubes à essai ont été préparées. 1mL de chaque extrait a été introduit dans un tube de chacune des deux séries. 5 mL du réactif d'analyse (Vanilline 1% + HCl 8%) sont, par la suite, additionnés à 1 minute d'intervalle dans la première série de tubes. De même, 5 mL de la solution d'HCl à 4% sont additionnés à 1 minute d'intervalle dans la deuxième série de tubes. Ensuite, les tubes sont mis dans un bain mari à 30°C pendant 20 minutes. A la fin de la réaction, la lecture des absorbances à 500 nm est réalisée en respectant l'intervalle d'une minute.

L'absorbance des solutions des tubes de la deuxième série (les blancs) est soustraite de celle des tubes correspondants de la première série car le blanc peut être considérable pour les échantillons qui contiennent une quantité importante de pigments.

Les valeurs obtenues sont utilisées pour déduire les concentrations en tanins condensés exprimées en mg d'équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g extrait) à partir de la courbe d'étalonnage qui présente un coefficient de régression proche de 1 ($r^2 = 0,998$) (Figure 15).

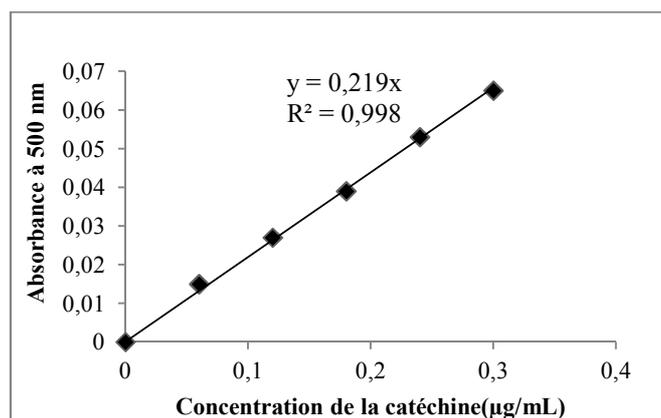


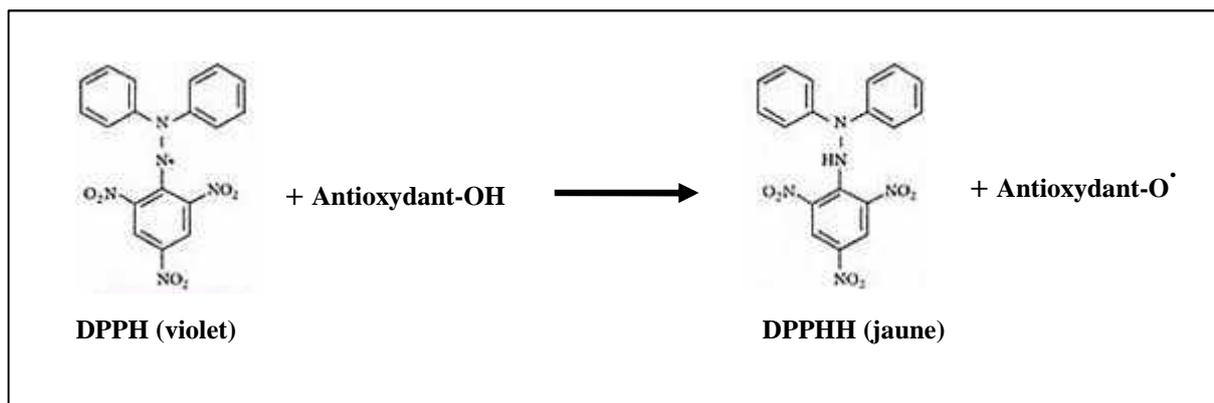
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

1.4. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

1.4.1. Etude de l'activité antioxydante : Méthode DPPH

Ce dosage a été déterminé suivant la méthode de BLOIS (1958) avec quelques modifications. L'activité anti-radicalaire est mesurée par la dégradation du 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH), un radical synthétique donnant une coloration violette en solution. Au contact d'antioxydants, la couche électronique de ce radical est saturée. Il s'agit d'une réduction, qui se traduit par un transfert d'un atome d'hydrogène sur l'atome d'azote du radical DPPH, ce qui a pour résultat sa décoloration. Cette propriété permet de suivre la capacité de l'extrait de la plante à piéger ce radical.

Expérimentalement, la réaction consiste à mettre la solution de DPPH en présence de différentes concentrations d'un extrait susceptible d'avoir un effet anti-radicalaire et de mesurer la capacité de ce dernier à réduire le radical DPPH en DPPH-H selon la réaction suivante :



Mode opératoire :

Diverses dilutions de l'extrait aqueux et de l'huile de lentisque ont été réalisées dans de l'éthanol (Annexe 3). Deux (02) mL de chaque dilution sont mélangées avec 2 mL de la solution de DPPH. Après une période d'incubation de 30 min à 25°C dans l'obscurité, l'absorbance au spectrophotomètre à 517 nm a été enregistrée.

L'expérience est effectuée en appliquant la même procédure à une solution sans la substance d'essai considérée comme le "total".

L'estimation de l'activité anti-radicalaire de chaque solution est exprimée par la valeur du pourcentage d'inhibition (PI), conformément à l'équation suivante :

$$PI (\%) = \frac{DO_{100\%} - DO_{Essai}}{DO_{100\%}} \times 100$$

Avec :

DO_{100%} : absorbance du "total".

DO_{Essai} : absorbance de la solution en présence d'extraits.

La courbe donnant la variation du (PI %) en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux et de l'huile de lentisque (1 ; 0,2 ; 0,1 ; 0,05 et 0,03 mg/mL), permet de déterminer l'activité anti-radicalaire exprimées en tant que CI50, définie comme la concentration de la substance d'essai requise pour provoquer 50% d'inhibition de radicaux libres de DPPH.

1.4.2. Etude de l'activité antioxydante : Méthode NBT

Ce test évalue la capacité d'un produit à capter un radical libre, l'anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$. Ce radical est généré *in vitro* par le système NBT/Riboflavine.

Le piégeage de l'anion superoxyde est déterminé par la méthode de YEN et CHEN (1995), avec quelques modifications. L'anion superoxyde a été dosé par l'oxydation de la riboflavine et la réduction du NBT. Dans cette méthode, le milieu réactionnel contient une molécule photo-sensibilisatrice (la riboflavine) ainsi que le NBT (Nitro-Blue Tétrazolium), molécule capable d'être réduite par l' $O_2^{\cdot -}$, généré par la riboflavine. Ainsi, le radical réduit le NBT de couleur jaune, en bleu de formazan de couleur pourpre qui absorbe à 560 nm.

Mode opératoire :

Diverses dilutions de l'extrait aqueux et de l'huile de lentisque ont été réalisées (Annexe 4).

Le tampon phosphate à 67 mM, pH 7,4 (800 μ L), l'eau distillée (600 μ L), l'EDTA-Na à 0,1M (100 μ L), le NBT à 1,5 mM (100 μ L) et la riboflavine à 0,12 mM (50 μ L) sont mélangés dans un volume final d'environ 1,5 mL (tube **T**otal). A ce même milieu réactionnel sont additionnés 100 μ L d'extrait aqueux ou de l'huile de lentisque (tube **E**chantillon).

Ces deux tubes sont incubés à moins de 20 cm d'une lampe néon pendant 5 minutes à température ambiante avant la lecture des absorbances à 560 nm contre un blanc stocké à l'obscurité.

Les absorbances obtenues permettent de calculer un pourcentage d'inhibition (PI) de la réduction du NBT par rapport au "total", conformément à l'équation suivante :

$$PI (\%) = \frac{DO_{100\%} - DO_{Essai}}{DO_{100\%}} \times 100$$

Avec :

DO_{100%} : absorbance du totale.

DO_{Essai} : absorbance de la solution en présence d'extraits.

Par la suite, la courbe représentant le logarithme du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait aqueux ou de l'huile de lentisque (10 ; 3 ; 1 ; 0,3 et 0,1 mg/mL) est tracée, et la CI50 (concentration inhibant 50% de l'activité) des composés est déterminée.

1.4.3. Etude de l'activité antioxydante : méthode ABTS

Ce dosage a été effectué suivant la méthode de RE et ses collaborateurs (1999) avec quelques modifications. L'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) est un radical libre et stable. Il est très utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant des fluides biologiques, des mélanges complexes ou bien des composés purs. Ce radical est capable de réagir avec des antioxydants classiques de type phénols et thiols mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron.

L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cation entraîne la réduction de ce radical et une diminution de l'absorbance à 734 nm. Cette diminution dépend de l'activité antioxydante des composés testés mais souvent aussi du temps et de la concentration.

Ainsi, le test ABTS (2,2'-azino-bis (acide 3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique)), est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS⁺ de coloration bleue-verte en le transformant en ABTS⁺ incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant.

Mode opératoire :

Après 12h de conservation, dans l'obscurité, de la solution d'ABTS ($K_2S_2O_8+ABTS$), une dilution est effectuée dans le méthanol de façon à avoir une absorbance de $0,7\pm 0,02$ à 734 nm.

Initialement pour chacun des échantillons, cinq dilutions en série ont été réalisées (1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,1 ; 0,05 mg/mL) (Annexe 5) en triplicat afin de mettre en évidence une gamme de concentrations qui encadrent la concentration requise de l'échantillon pour diminuer celle du radical ABTS de 50% (CI_{50}).

Une prise d'essai de 100 μ L de l'échantillon (extrait aqueux/ huile) à différentes concentrations est mélangée avec 2,9 mL de la solution d'ABTS diluée. Six minutes après le début de la réaction, l'absorbance est déterminée à 734 nm.

La capacité antioxydante des extraits testés est exprimée en pourcentage d'inhibition (%), et la valeur de la CI_{50} est calculée à partir de la courbe de régression.

2. Etude des activités biologiques *in vivo*

2.1. Animaux et conditions d'élevage

Pour la réalisation de ce travail, nous avons utilisé 54 rats mâles adultes de la souche Wistar, provenant de l'institut Pasteur d'Alger, d'un poids corporel compris entre 280 et 320g. Ces rats ont été placés dans des cages en polypropylène où ils ont un accès libre à l'eau et à l'alimentation. Les cages sont tapissées d'une litière avec un revêtement en copeaux de bois. L'aliment standard a été acheté auprès de l'Office National des Aliments de Bétails (ONAB) de Bejaia, et sa composition est détaillée dans l'Annexe 6.

Les animaux ont bénéficié d'une période d'adaptation de deux semaines, aux conditions de l'animalerie (température de 20-22°C, et humidité allant jusqu'à 60%) et ont été soumis à des cycles de lumière-obscurité de 12 h.

2.2. Protocole expérimental

2.2.1. Formation des lots et traitements des rats

Les rats ont été divisés en six groupes de neuf individus chacun (Figure 16). Ils ont été sensibilisés à l'ovalbumine et/ou traités avec les deux extraits de la plante.

Les six lots sont constitués de :

Le lot 1 : rats témoins (T), subissant le même traitement que les autres lots mais recevant uniquement de l'eau physiologique.

Le lot 2 : rats traités par voie orale avec l'extrait aqueux de lentisque 200mg/Kg/jour (EQ) (DELLAI et al., 2013).

Le lot 3 : rats traités par voie orale avec 3,3 mL d'huile de lentisque/Kg/jour (H) (ABIDI et al., 2016).

Le lot 4 : rats sensibilisés à l'ovalbumine (OVA), développant un asthme expérimental (MEE-YOUNG et al., 2010).

Le lot 5 : rats sensibilisés à l'OVA et avec l'extrait aqueux de lentisque 200mg/Kg/jour (O/EQ).

Le lot 6 : rats sensibilisés à l'OVA et traités avec 3,3 mL d'huile de lentisque/Kg/jour (O/H).

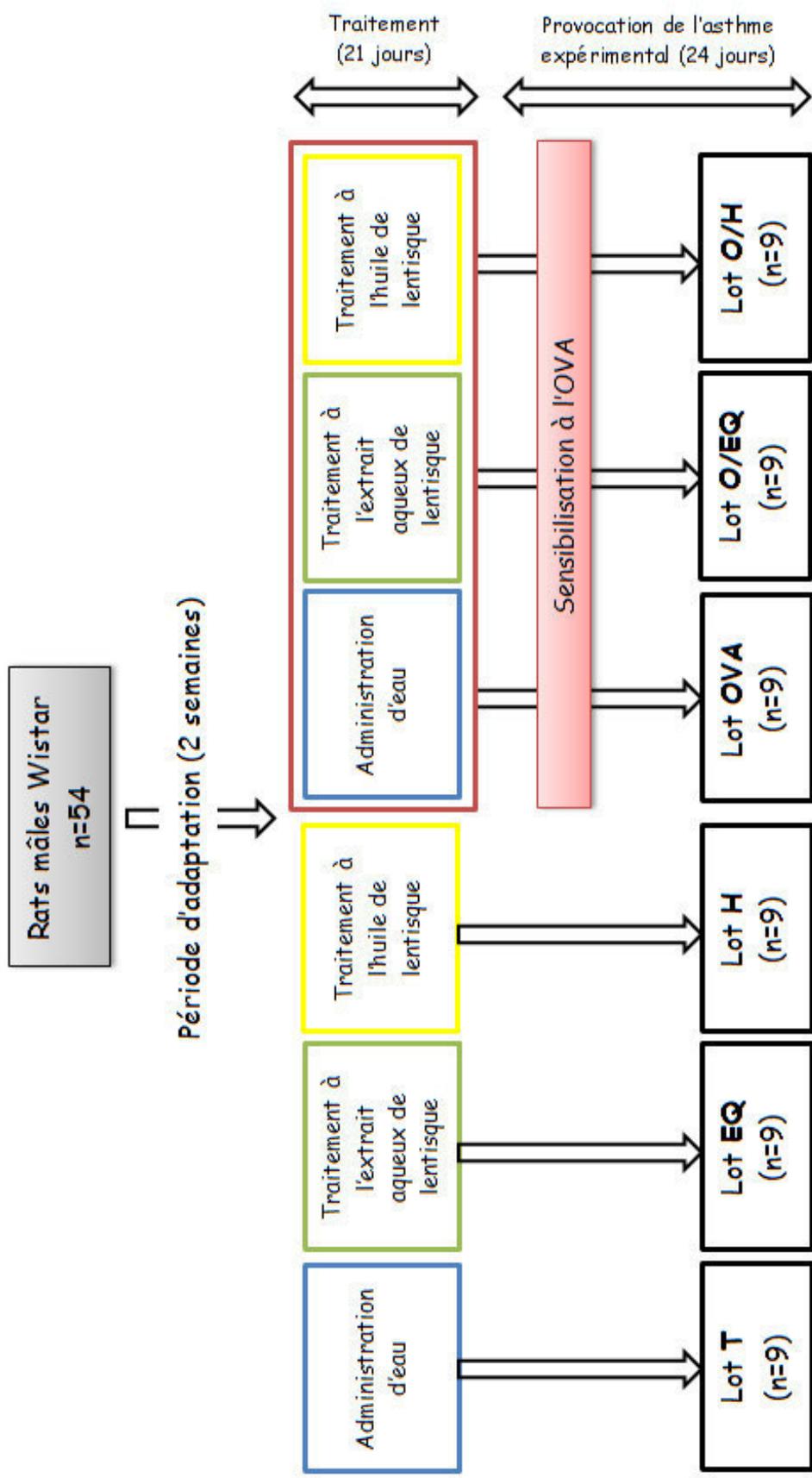


Figure 16 : Compartimentation des rats en six lots traités différemment.

2.2.2. Sensibilisation des rats

Les rats des lots n°4 (OVA), n°5 (O/EQ) et n°6 (O/H) ont été sensibilisés à l'OVA (grade II, Réf. A5253-250G, Sigma Aldrich), selon une méthode provoquant une inflammation aigüe avec un phénotype d'asthme allergique, validée dans la littérature (MEE-YOUNG et al., 2010).

Ainsi, la sensibilisation est effectuée à l'aide de petites quantités d'OVA (1 mg/mL) combinées à un adjuvant d'hydroxyde d'aluminium (Al(OH₃)) (Alum, Sigma Aldrich) dissout à raison de 1 mg/mL dans une solution saline à 9‰. La sensibilisation a lieu par voie intra-péritonéale (IP), au premier jour (J₀) et répétée 13 jours plus tard (J₁₃) (Figure 17).

Les animaux contrôles des lots n°1 (T), n°2 (EQ) et n°3 (H) ont reçu des injections intra-péritonéales de volumes similaires d'une solution saline à 9‰ aux mêmes moments et dans les mêmes conditions (KODESH et al., 2011).

2.2.3. Provocation des animaux par aérosols

Les rats des lots n°4 (OVA), n°5 (O/EQ) et n°6 (O/H) ont été exposés, les jours 21, 22 et 23 après la sensibilisation initiale, à une nébulisation d'ovalbumine à 1 % dans une solution saline à 9‰ (Figure 18). Chaque exposition a duré 30 minutes dans une chambre en plastique (35 cm de diamètre et 18,5 cm de hauteur).

Un nébuliseur à compresseur non chauffant (OMRON NE-C29-E) avec un débit d'air de 0,4 ml/min a été utilisé. Les lots n°1 (T), n°2 (EQ) et n°3 (H) ont été exposés, dans les mêmes conditions, à une nébulisation par la solution saline à 9‰ uniquement (MEE-YOUNG et al., 2010).

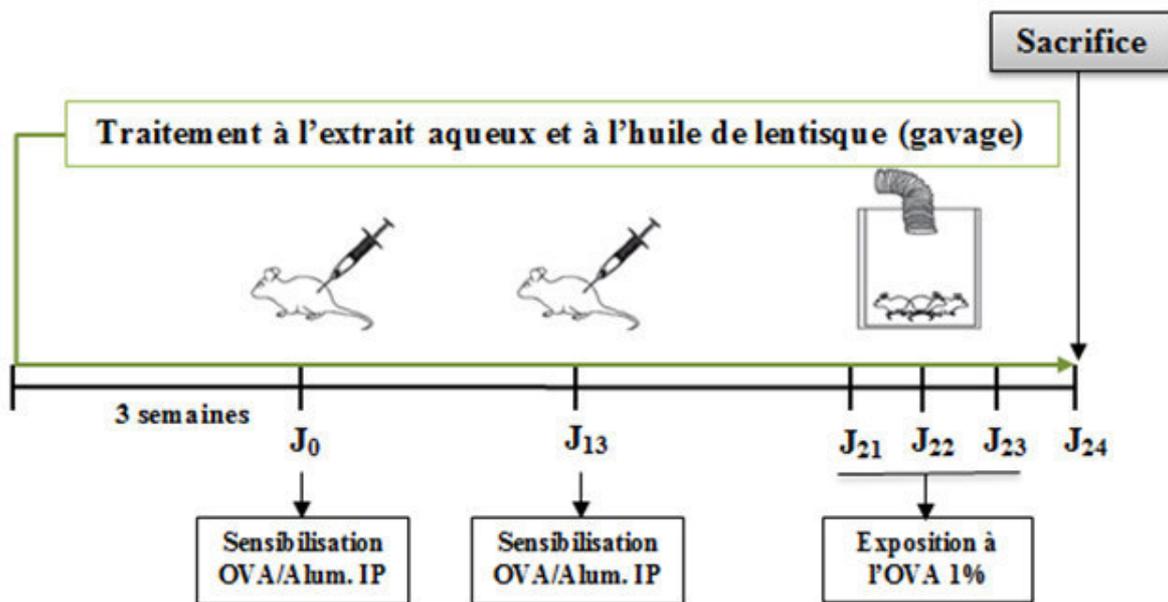


Figure 17 : Protocole de sensibilisation sur 24 jours.

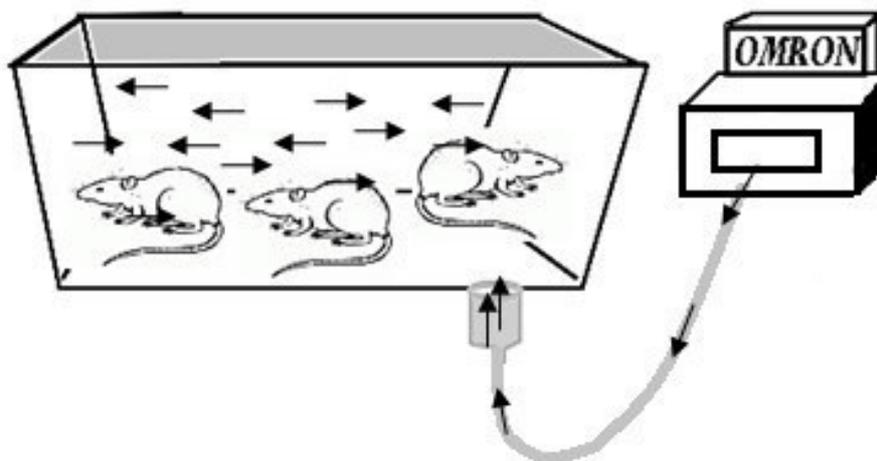


Figure 18 : Dispositif d'inhalation.

2.3. Sacrifice et prélèvement des organes

Le sacrifice, par décapitation, a eu lieu au jour 24, soit 24 heures après la dernière inhalation d'ovalbumine.

2.3.1. Prélèvement sanguin

Le sang est immédiatement recueilli dans deux types de tubes. Le premier, sec, destiné à une centrifugation à 3000 tours/min pendant 15 minutes ; le sérum recueilli servira pour les dosages des protéines totales et de l'IL-4 ; quant au culot érythrocytaire, il sera conservé à – 20°C jusqu'à son utilisation pour le dosage des paramètres du stress oxydant. Le second tube, contenant un anticoagulant (EDTA), est destiné à la fois pour la détermination de la formule de numération sanguine (FNS), mais aussi pour mesurer les paramètres hématologiques.

2.3.2. Technique du lavage broncho-alvéolaire

Grâce à la gaine d'un microfuseurs (Dispositif épicanien avec tubulure en PVC) des Industries Médico-chirurgicales) dont les dimensions sont les suivantes : 0,8 mm × 19 mm × 300 mm (Rouiba-Alger. « sharp » lot 20070722. Industries Medico-Chirurgicales (IMC)), la trachée a été canulée et le lavage broncho alvéolaire (LBA) a été effectué 3 fois avec 1 mL de la solution PBS (OBERHOLZER et PRETORIUS, 2009). Le liquide du LBA a été recueilli puis centrifugé à 1500 g pendant 5 min à 4°C. Une fois le surnageant récupéré et conservé pour les dosages des protéines totales et de l'IL-4, le culot cellulaire a été remis en suspension dans 0,5 mL de la solution PBS pour l'analyse microscopique de l'infiltration cellulaire (OKADA et al., 2013).

2.3.3. Prélèvement des organes

Rapidement après le sacrifice, les animaux ont été disséqués pour le prélèvement des organes, en l'occurrence le foie et le poumon. Ces derniers ont été subdivisés en deux : une première moitié est stockée dans le congélateur pour la préparation ultérieure de l'homogénat qui a servi au dosage des paramètres du stress oxydant. L'autre moitié est fixée dans une solution de formol à 10% afin de réaliser des coupes histologiques.

2.3.4. Préparation des homogénats de tissus

Un gramme de foie ou de poumon de rats récupérés à partir des six lots étudiés, ont été broyés. Après homogénéisation des tissus dans 2 mL de solution tampon phosphate (TBS: Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4) à 1:2 (P/V), et centrifugation de la suspension cellulaire (3500 tours/min, 4°C, 35 min), le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorf puis conservé à -20°C jusqu'à son utilisation.

2.3.5. Préparation des lysats d'érythrocytes

Le culot contenant les érythrocytes est lavé deux fois comme suit : un premier lavage est réalisé avec 2 mL de la solution de lyse des globules rouges [KH_2PO_4 (10 mM), NaCl (150 mM), pH = 7,4]. Après centrifugation à 3000 g pendant 15 minutes à 4°C, le culot est récupéré et lavé une seconde fois avec 2 mL de la même solution de lyse. Après agitation, puis centrifugation à 4000 g pendant 30 minutes à 4°C, le surnageant est enfin prêt à être utilisé.

2.4. Dosage des protéines totales

La concentration des protéines totales a été déterminée par une méthode colorimétrique du biuret (SPINREACT, 2013). En milieu alcalin, les protéines qui possèdent au moins 2 liaisons peptidiques forment avec les ions cuivre II (Cu^{2+}) un complexe bleu-violet (Figure 19). L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des protéines totales dans l'échantillon testé.

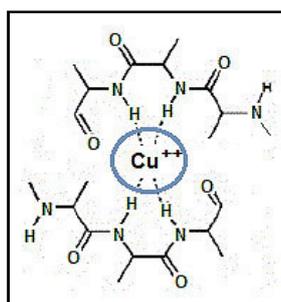


Figure 19 : Complexe entre le cuivre alcalin et les liaisons peptidiques.

Mode opératoire :

20 µl de chaque échantillon sont ajoutés à 1000 µL du réactif du biuret (Annexe 7). Le tout mélangé puis incubé 5 minutes à 37°C. Par la suite, la lecture spectrophotométrique (SECOMAM) est réalisée à 540 nm. Le calcul de la concentration (g/L) se fait selon l'équation suivante :

$$\text{concentration des protéines totales} = \frac{\text{Do échantillon}}{\text{Do étalon}} \times n$$

n, étant la concentration de l'étalon en protéines (g/L).

2.5. Dosage ELISA de l'IL-4

Le dosage de l'IL-4 est réalisé par la méthode ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay), grâce au kit Invitrogen Rat Interleukin-4 (Rt IL-4) qui utilise la méthode ELISA sandwich en phase solide (REF : KRC0041 ; Lot : 1260054A1).

Un anticorps monoclonal spécifique pour l'IL-4 de rat produit et purifié à partir d'ascites de souris par le fabricant a été prédéposé sur les puits des barrettes fournies. La fixation de l'IL-4 dans les puits est révélée par des anticorps marqués à la biotine qui, par la suite, vont se lier au complexe streptavidine-peroxydase.

La révélation est réalisée grâce au substrat de la peroxydase, le Tétraméthyl-Benzidine (TMB) qui se colore en bleu en présence de l'enzyme. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration d'IL-4 à doser (Figure 20).

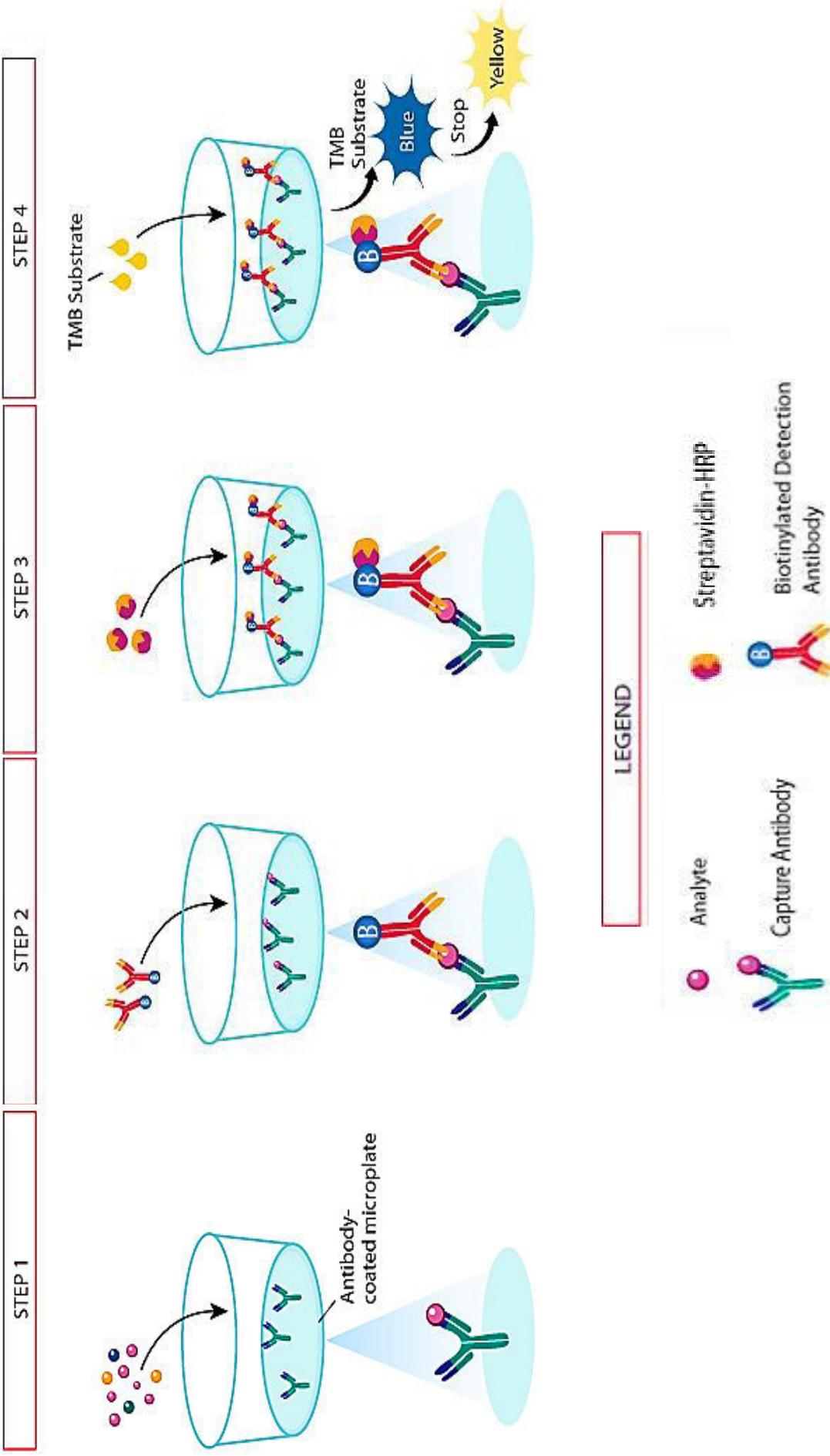


Figure 20: Schéma du principe de la technique ELISA sandwich utilisée.

Mode opératoire :

La réaction ELISA sandwich se réalise en trois temps (INVITROGEN, 2010). Huit puits de la plaque serviront pour la réalisation de la courbe du standard à différentes concentrations (500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,2 ; 15,6 ; 7,8 et 0 pg/mL).

Dans le 1^{er} temps, 100 µL du Tampon diluant standard ainsi que 100 µL de chaque échantillon (sérum/LBA) sont ajoutés dans tous les puits de la plaque (sauf le puits réservé au chromogène). Par la suite, 50 µL de la solution de l'anticorps anti Rt IL-4 conjugué à la biotine ont été déposés dans l'ensemble des puits sauf celui du témoin négatif. Après homogénéisation, la plaque est incubée pendant 2 heures à température ambiante ; puis, lavée quatre fois par la solution de lavage.

Dans le 2^{ème} temps, on ajoute 100 µL de solution de Streptavidin-HRP dans chaque puits (à l'exception du puits chromogène). Après homogénéisation, la plaque est incubée pendant 30 minutes à température ambiante ; puis, lavée quatre fois par la solution de lavage.

Enfin, dans le 3^{ème} temps, on ajoute 50 µL du chromogène stabilisé dans tous les puits. Le mélange commencera à virer au bleu, et la plaque est alors incubée pendant 30 min à température ambiante et à l'obscurité.

Pour finir, 100 µL de la solution d'arrêt ont été ajoutés dans tous les puits. L'ajout de cette solution dans les puits va changer la coloration du bleu au jaune, et la lecture de l'absorbance est réalisée à 450 nm (TECAN). L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration de l'IL-4 qui est déterminée par comparaison à la gamme-étalon du standard et exprimée en pg/mL.

2.6. Dosage des paramètres hématologiques

Le nombre total des cellules leucocytaires (WBC), la concentration d'hémoglobine (Hb), le volume globulaire moyen (MCV), la distribution des globules rouges du sang (RDW), les plaquettes (Plt) et le volume plaquettaire moyen (MPV) sont mesurés par un analyseur automatique d'hématologie (Erma Coulter, Inc., model : PCE – 210N.).

2.7. Formule leucocytaire

2.7.1. Formule leucocytaire dans le sang

Un frottis sanguin a été préparé, puis fixé avec du méthanol pendant 3 minutes et en fin coloré au May-Grünwald-Giemsa (MGG) (DUTAU, 2004). On calcule les pourcentages des différents types de leucocytes par comptage de 100 cellules sous microscope ($\times 100$) (OPTIKA).

2.7.2. Formule leucocytaire dans le liquide du LBA

Des diapositives pour la numération des cellules leucocytaires dans le LBA ont été préparées à partir du culot cellulaire et colorées avec le MGG. Les globules blancs ont été comptés sous un grossissement de ($\times 100$) en fonction de leurs caractéristiques, leurs morphologies et leurs colorations. Le nombre de cellules sera exprimé en pourcentage par rapport aux leucocytes totaux (PITREZ et al., 2015).

2.8. Etude histologique

Elle a été réalisée à l'hôpital Ibn Rochd d'Annaba, Service d'anatomie pathologique. La technique utilisée est celle décrite par HOULD (1984). Elle comporte les étapes suivantes :

2.8.1. Fixation

La fixation des échantillons (foie et poumon) a été faite dans une solution de formol à 10%. Les prélèvements réalisés sont mis dans des cassettes spéciales à parois retournées afin de permettre le passage des liquides.

2.8.2. Enrobage et obtention des blocs

La réalisation de coupes fines et régulières nécessite l'inclusion des échantillons dans un bloc de paraffine, comme suit :

- **Déshydratation** : Les échantillons sont déshydratés dans un automate (Leica TP1020) qui permet leurs passages automatiques et progressifs dans des bains d'alcools pendant 24h : un bain de formol et six bains d'éthanol.
- **Eclaircissement** : L'éthanol est remplacé par un solvant miscible à la paraffine. Il s'agit du xylène qui élimine l'éthanol et clarifie les tissus (trois bains de 30 minutes chacun).
- **Inclusion** : Les tissus sont tout d'abords maintenus et imbibés dans des bains de paraffine liquide (portée à 56/58°C). Ensuite, le tissu imprégné est enrobé par inclusion dans un bloc de paraffine fondue (Leica EG1160).

2.8.3. Confection des coupes

La réalisation des coupes minces de quelques microns (5µm en moyenne) est possible grâce à un microtome (Leica RM2125RT). Ces dernières sont étalées sur des lames porte-objet, dépliées et fixées par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

2.8.4. Coloration et montage

La technique à l'hématoxyline-Eosine (Hématéine-Eosine) a été utilisée par un automate (Leica ST4040) en suivant les étapes suivantes :

Le déparaffinage et l'hydratation des lames sont effectués par l'eau du robinet, suivie par un rinçage à l'eau distillée. La coloration en bleu violacée des basophiles (noyaux) est obtenue après incubation des lames dans un bain d'hématoxyline de Harris pendant 15 minutes. Ensuite, les coupes sont immergées dans l'alcool acide (1 à 2 plongées) afin de les différencier. Un rinçage avec un bain d'eau est effectué et l'observation par le microscope permet la vérification de la différenciation des lames.

Le bleuissement des lames dans un bain d'eau ammoniacale et l'immersion dans un bain d'éosine (10 minutes) qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasme). Tous ces bains sont séparés par des rinçages à l'eau.

Les préparations ont ensuite été montées par EUKITT (kindler GmbH et Co, lot n°: c70), séchées puis observées au microscope optique (Leica DM LB2) et photographiées.

2.9. Dosage des paramètres du stress oxydant

Pour les besoins de certains de ces dosages, la concentration en protéines, déterminée par rapport à une gamme d'étalonnage d'albumine sérique bovine (Annexe 8), est réalisée selon la méthode de BRADFORD (1976) qui utilise le bleu de Coomassie (G250) comme réactif. La lecture des DO est réalisée à 595 nm contre un blanc.

2.9.1. Dosage du Malondialdéhyde (MDA)

La détection du MDA, issu de la dégradation des acides gras polyinsaturés à 3 ou 4 doubles liaisons peroxydées, constitue une méthode très sensible pour déterminer une lipopéroxydation *in vitro*. Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode d'ESTERBAUER et al. (1992). Le principe de ce dosage est basé sur la condensation du MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique (TBA), pour former un pigment (rose). Ce chromogène peut être mesuré par spectrophotométrie à 530 nm.

Mode opératoire :

A 375 µL de l'homogénat ou du lysat sont ajoutés 150 µL de tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 15 mM, pH = 7.4) et 375 µL de la solution TCA-BHT (TCA 20% et BHT 1%). Le mélange est vortexé puis centrifugé à 1000 tours/min pendant 10 minutes. Ensuite, 400 µL de surnageant sont prélevés et additionnés à 80 µL d'HCl (0,6 M) et 320 µL du tampon Tris-TBA (26 mM et 120 mM, respectivement). Ce dernier mélange est incubé au bain-Marie à 80°C pendant 10 minutes. L'absorbance mesurée à 530 nm, est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant aussi une évaluation précise des lipides peroxydés.

La concentration de MDA est calculée selon l'équation suivante :

$$C \text{ (nmol/mg protéine)} = \frac{Do \times 10^6}{\epsilon \times L \times x \times Fd}$$

Où :

C : concentration du MDA en nmoles par mg de protéines ;

Do : densité optique lue à 530 nm ;

: coefficient d'extinction molaire du MDA = $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$;

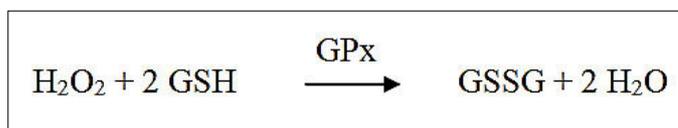
L : longueur du trajet optique (L = 0,779 cm) ;

x : concentration de l'extrait en protéines (mg/mL) ;

Fd : facteur de dilution (Fd = 0,2083).

2.9.2. Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (E.C. 1.11.1.9)

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de FLOHE et GUNZLER (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH). Ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



Mode opératoire :

Un volume de 0,4 mL de GSH (0,1 mM) ainsi que 0,2 mL du tampon TBS (Tris 150 mM, NaCl 150 mM, pH = 7,4) sont ajoutés à 0,2 mL de l'homogénat ou du lysat.

Après incubation au bain marie à 25°C durant 5 minutes, 0,2 mL d'H₂O₂ (1,3 mM) sont ajoutés pour initier la réaction qui dure 10 minutes. Cette dernière est arrêtée par l'ajout de TCA (0,1%). Le mélange est refroidi dans de la glace durant 30 minutes puis centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes.

Enfin, 0,48 mL de surnageant sont mélangés à 2,2 mL du même tampon précédent TBS et 0,32 mL de DTNB (1,0 mM). Une incubation de 5 minutes à température ambiante est nécessaire à la formation d'un complexe jaunâtre dont la DO est mesurée à 412 nm.

L'activité enzymatique du GPx est calculée en déterminant la quantité de GSH consommée par minute et pour chaque mg de protéine, selon l'équation suivante :

$$GPx (\mu\text{mol GSH}/\text{mg protéine}) = \frac{(DO_{\text{échantillon}} - DO_{\text{étalon}}) \times 0,04}{DO_{\text{étalon}}}$$

Où :

DO_{échantillon} : Densité optique de l'échantillon ;

DO_{étalon} : Densité optique de l'étalon ;

0,04 : Concentration de substrat (GSH).

2.9.3. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase (E.C.1.15.1.1)

L'activité de la superoxyde dismutase (SOD) est déterminée à partir de sa capacité d'inhiber la réduction du nitro blue tetrazolium (NBT). Ainsi le milieu réactionnel contient une molécule photosensibilatrice (la riboflavine) ainsi que le NBT, molécule capable d'être réduite par O_2^- généré par la riboflavine.

L'éclairage intense du milieu réactionnel induit l'oxydation de cette dernière qui cède un électron au dioxygène pour former un anion superoxyde qui interagit avec le NBT. Ce dernier incolore forme alors le bleu de formaseu (BEYER et FRIDOVICH, 1987).

Mode opératoire :

1ml d'EDTA (0.1mM)/Méthionine (13 mM), 1830 μ L de Tampon phosphate (pH 7,8) , 85 μ L de NBT (75 μ M) et 22 μ L de riboflavine (2 μ M) sont mélangé dans un volume final d'environ 3 mL (tube **B**lanc). A ce même milieu réactionnel sont additionnés 50 μ L d'homogénat ou de surnageant (tube **E**chantillon). Ces deux tubes sont incubés à moins de 20 cm d'un tube néon pendant 20 minutes à température ambiante avant la lecture des absorbances à 560 nm contre un blanc stocké à l'obscurité.

Une unité d'activité SOD correspond à une inhibition de la réduction du NBT de 50%. L'activité de la SOD est calculée en appliquant la formule suivante :

L'Activité SOD = % d'inhibition / mg de protéine

$$Y = \left(\left[\frac{(DO_B - DO_E)}{DO_B} * 100 \right] \times \frac{20}{[] \text{Protéine mg / mL}} \right) \times \text{Facteur de dilution.}$$

Activité spécifique SOD = Y/50 unité SOD / mg de protéine.

2.9.4. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (E.C.1.11.1.6)

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité porte une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces réactives et en accélérant la réaction spontanée de l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) toxique pour la cellule en eau et en oxygène (AEBI, 1984).

Mode opératoire :

L'activité de la catalase (CAT) est mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible (JENWAY 6105) par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en faisant réagir dans 780 µL de tampon phosphate (100 mM) (pendant 1 minute à pH 7.4) 200 µL de H₂O₂ (500 mM) sur 20 µL d'homogénat ou de lysat, à une température de 25°C. Les résultats sont exprimés en µmoles de H₂O₂ par minute et par mg de protéines.

La quantité de surnageant est déterminée en fonction de la quantité de protéine qui doit être comprise entre 1 et 1,5 mg/mL, soit une quantité de 10 à 20 µL de surnageant dilué. Ensuite, la lecture de l'absorption à 240 nm se fait après 15 secondes de délais et du durant 60 secondes de mesure.

L'activité enzymatique de la catalase peut être calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité CAT } (\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2/\text{min/mg protéine}) = \frac{\Delta DO \times d}{\epsilon \times L \times x \times 0,02}$$

Où :

ΔDO : variation de la densité optique par minute c'est-à-dire pour :

A_I (Absorbance initiale) : 15 seconde ;

A_F (Absorbance finale) : 1 minute.

On fait : $\Delta DO = (A_I - A_F) \times 4/3$ par minute.

d : dilution de l'échantillon ;

ϵ : coefficient d'extinction de H₂O₂ 0,043 mM⁻¹ cm⁻¹ ;

L : distance du cuve = 1 cm ;

x : quantité en protéines (mg/mL).

3. Traitement statistique :

Tous les résultats des tests effectués sont exprimés, selon les paramètres classiques utilisés en biométrie, en moyenne \pm SEM pour les neufs rats de chaque groupe. Ces calculs ont été effectués à l'aide du logiciel Microsoft Excel (2010).

Les comparaisons de données entre les différents groupes traités ont été effectuées en utilisant le test "t" de student, et les différences ont été considérées comme statistiquement significatives à $p \leq 0,05$. La corrélation a été effectuée avec le coefficient de corrélation Pearson, variant entre +1 et -1.

CHAPITRE II. RESULTATS & DISCUSSION

1. La composition chimique & les propriétés antioxydantes des deux extraits de *Pistacia lentiscus*

1.1. Dosage des composés phénoliques

Les dosages des phénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins condensés sont effectués aussi bien pour l'extrait aqueux que pour l'huile de lentisque (Tableau VII).

L'évaluation de la teneur en flavonoïdes totaux et en tanins condensés montre un taux plus élevé dans l'huile de lentisque (respectivement de 186,02% et 116,13 %) par rapport à son extrait aqueux. La différence étant hautement significative (Tableau VII). De même, les résultats obtenus montrent un taux significativement ($p = 0,02$) plus élevé en phénols totaux dans l'huile de l'ordre de 31,98%.

1.2. Activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des différents extraits de la plante a été réalisée par trois méthodes chimiques différentes : le piégeage du radical libre DPPH, la méthode NBT et le test ABTS (Tableau VIII).

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante sur le radical DPPH et sur l'anion superoxyde montrent que l'huile de lentisque possède la plus forte activité antioxydante, avec une valeur de la CI_{50} plus faible que celle de son extrait aqueux (avec une baisse de cette valeur de 13,04% et de 18,93%, respectivement). Ceci a été confirmé par le test ABTS qui montre également une valeur plus faible de la CI_{50} de l'huile de lentisque de l'ordre de 16,48 % par rapport à son extrait aqueux (Tableau VIII).

Tableau VII : Variations des concentrations en composés phénoliques dans les deux extraits de *Pistacia lentiscus*.

	Paramètres	Extrait aqueux	Huile
Composés phénoliques	Phénols totaux (mg EAG/g extrait)	39,138 ± 0,547	51,656 ± 4,153*
	Flavonoïdes totaux (mg EQ/g extrait)	14,48 ± 1,309	41,42 ± 4,456**
	Tanins condensés (mg EC/g extrait)	0,007 ± 0,001	0,017 ± 0,001**

Les valeurs données représentent la moyenne de trois mesures ± SEM

Les différences significatives: p * 0,05; p ** 0,01.

EAG équivalents acide gallique

EQ équivalents quercétine

EC équivalents catéchine

Tableau VIII : Activités antioxydantes des deux extraits de *Pistacia lentiscus*.

	Paramètres	Extrait aqueux	Huile
Activités antioxydantes	Concentration de la substance d'essai requise pour provoquer 50% d'inhibition (mg/mL) sur le radical DPPH	3,14 ± 0,293	2,73 ± 0,187
	Concentration de la substance d'essai requise pour provoquer 50% d'inhibition (mg/mL) sur l'anion superoxyde	3,01 ± 0,261	2,44 ± 0,09
	Concentration de la substance d'essai requise pour provoquer 50% d'inhibition (mg/mL) sur le radical ABTS ⁺	0,802 ± 0,05	0,669 ± 0,093

Les valeurs données représentent la moyenne de trois mesures ± SEM

1.3. Etude des corrélations

Dans le but de confirmer l'efficacité des méthodes de dosage et des activités mesurées, le tableau IX montre les valeurs de corrélation entre chaque méthode de mesure de l'activité antioxydante et les concentrations en phénols totaux des deux extraits. Tous les phénols dosés montrent une corrélation supérieure au test DPPH suivi par le test ABTS et enfin le test NBT. Les plus fortes corrélations sont enregistrées entre les tests de mesure de l'activité antioxydante et la quantité en phénols totaux, suivis par les tanins condensés et enfin les flavonoïdes totaux.

Tableau IX : Corrélations entre la quantité en phénols des extraits et le test DPPH, le test NBT et le test ABTS.

		Teneurs en phénols		
		Phénols totaux	Flavonoïdes totaux	Tanins condensés
Activité antioxydante <i>in vitro</i>	DPPH	0,94	0,68	0,77
	NBT	0,91	0,64	0,73
	ABTS	0,92	0,66	0,75

❖ Discussion

L'intérêt croissant de la recherche pour les antioxydants naturels a conduit à la valorisation d'un grand nombre de ressources végétales facilement accessibles, peu coûteuses, mais d'un intérêt certain. Aujourd'hui, la phytothérapie s'appuie à la fois sur le savoir empirique traditionnel mais aussi sur les découvertes de la médecine moderne. Dans ce contexte, notre choix a porté sur le lentisque (*Pistacia lentiscus*) du fait qu'il soit une plante médicinale locale et dont l'utilisation traditionnelle dans plusieurs pathologies est largement documentée (ABDELJELIL et al., 2011).

Cet arbre, également appelé arbre au mastic, fait partie de la pharmacopée traditionnelle depuis l'époque de l'antiquité. Son usage dans la médecine populaire et traditionnelle européenne et algérienne reconnaissent son efficacité à soigner de nombreuses pathologies et troubles (ABRAHAMI et al., 2010 ; ABDELJELIL et al., 2011).

Des études sur la composition des feuilles et des baies de *P. lentiscus* ont rapporté qu'elle contient différents types de métabolites secondaires (RODRIGUEZ-PEREZ et al., 2013). En effet, l'extrait de son huile est riche en acides gras tels que les acides oléique, palmitique et linoléique (représentant respectivement 50,72%, 23,16% et 21,75% de la fraction lipidique) et les polyphénols (TRABELSI et al., 2012). Ces derniers représentent 7,5% du poids sec de la feuille et comprennent le glucuronide myricétine, le myricétine 3-O-rutinoside et myricétine 3-O-rhamnoside, la quercétine 3-O-rhamnoside, la delphinidine 3-O-glucoside, la cyanidine 3-O-glucoside, les acides phénoliques tel que l'acide gallique et le 5-O-galloyle quinique acide (DAHMOUNE et al., 2014). Ces composés phénoliques possèdent des effets biologiques multiples tels que la capacité antioxydante (BARATTO et al., 2003 ; PROESTOS et al., 2006), antimicrobienne (DJENANE et al., 2011), antifongique (KORDALI et al., 2003), antiathérogénique (DEDOUSSIS et al., 2004), antimutagénique (ABDELWAHED et al., 2007), antiproliférative dans le côlon contre les cellules cancéreuses (BALAN et al., 2007), antiulcéreuse et anti-inflammatoire (DELLAI et al., 2013).

P. lentiscus est aussi utilisé : dans les industries alimentaires, comme astringent, pour le traitement de l'eczéma, de la jaunisse, de la diarrhée et les infections de la gorge. Cette plante a également une action hypotensive, diurétique et antihépatotoxique (JANAKAT et AL-MERIE, 2002 ; DELLAI et al., 2013 ; RODRIGUEZ-PEREZ et al., 2013 ; BAMPOULI et al., 2014).

D'après cette riche littérature concernant cette plante, nous supposons qu'elle peut être utilisée comme source potentielle de composés bioactifs, notamment à activité antioxydante, dans le cas de la pathologie asthmatique.

Ainsi avant de tester les effets des extraits du lentisque local sur un modèle d'asthme expérimental, nous nous sommes attelés à mettre en évidence quelques composés chimiques notamment phénoliques que peuvent contenir aussi bien son huile (obtenue à partir du fruit de l'arbre) que l'extrait aqueux de ses feuilles, ainsi qu'à révéler leurs pouvoirs antioxydants respectifs via un certain nombre de dosages spectrophotométriques.

C'est ainsi que les quantités de phénols totaux et de flavonoïdes contenues dans l'extrait aqueux de *P. lentiscus* ($39,138 \pm 0,547$ mg EAG/g d'extrait ; $14,48 \pm 1,309$ mg EQ/g d'extrait, respectivement) s'accordent avec celles trouvées par ATMANI et al. (2009).

De plus, les concentrations en polyphénols de l'huile de lentisque étudiée sont plus importantes par rapport à celles de l'extrait aqueux de ses feuilles. Des études sur les extraits de feuilles et de fruits de lentisque de nature alcoolique ont, quant à eux, montré une richesse en polyphénols plus importante dans les extraits de feuilles (REMILA et al., 2015).

En effet, il est bien connu que cette espèce de *Pistacia* constitue une riche source d'huile essentielle, d'acides phénoliques, de flavonoïdes et de tannins (BALAN et al., 2007 ; AZAIZEH et al., 2013). Les baies de cette plante sont aussi connus pour leurs richesses en composés phénoliques très réactifs.

Ainsi, ce taux élevé en flavonoïdes dans l'huile de lentisque peut être traduit par l'abondance dans la plante (fruit) d'un composé très actif : la quercétine, qui est un flavonoïde très répondeur. De plus, l'élévation du taux des tanins se traduit par la présence des monomères précurseurs qui sont les flavan-3-ols (catéchine) (RIRA, 2006).

De plus, les différences dans les teneurs constatées dans la même espèce par comparaison à ceux des autres études, sont probablement dues à l'influence du climat car la synthèse des polyphénols, bien que sous la dépendance de facteurs génétiques, elle est particulièrement sensible aux changements de conditions du milieu notamment l'état hydrique, la période de maturation, la température et le rayonnement (HOSSAIN et SHAH, 2015).

De cette richesse en polyphénols découle forcément une activité antioxydante que nous avons tenté d'évaluer via trois méthodes (DPPH, NBT et ABTS).

Le radical DPPH stable et l'anion superoxyde sont largement utilisés dans la littérature (ESWAR KUMAR et al., 2013 ; MISSEBUKPO et al., 2013) pour évaluer l'activité antiradicalaire libre dans de nombreux extraits de plantes. On rappelle que la valeur du CI_{50} est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Ainsi, les valeurs inférieures de la CI_{50} enregistrées dans notre présente étude indiquent l'efficacité de l'huile de lentisque et donc un pouvoir antioxydant plus fort que celui de l'extrait aqueux. Il convient également de souligner que les résultats de l'activité antioxydante par le test de l'ABTS sont en bon accord avec ces données.

Les travaux de BARATTO et ses collaborateurs (2003) montrent que les dérivés quinic 3,5-Odigalloyl quinic, 3,4,5-O-trigalloyl quinic, acide gallique, et le 5-O-galloyl quinic, tous extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* ont une activité antiradicalaire importante vis-à-vis du radical DPPH. Dans une autre étude, il a été rapporté que l'activité antioxydante de cette plante est due à l'acide digallique qui a la capacité de piéger le radical libre $ABTS^+$ (ABDELWAHED et al., 2007). En effet, BHOURI et ses collaborateurs (2010) notent que l'acide digallic, isolé de l'extrait aqueux des fruits de *Pistacia lentiscus*, a une activité potentielle vis-à-vis le radical $ABTS^+$ pour une concentration de 0,15 et 0,2 mg/ml. Ceci peut être expliqué par le fait que la molécule de l'acide digallique, qui est un flavonoïde riche en groupements hydroxyles, et les flavonoïdes stabilisent les espèces réactives de l'oxygène en réagissant avec le composé réactif du radical.

De plus, LONGO et ses collaborateurs (2008) ont montré dans leurs travaux que les anthocyanines, présentes dans les fruits de lentisque, piègent à 92 % le radical DPPH pour une concentration de 0,005 mg/ml (sachant que le contenu total en anthocyanine dans les fruits de *Pistacia lentiscus* est de 0,05 µg/kg de fruits). Cet effet est comparable à celui de l' α -tocophérol. Ces mêmes auteurs suggèrent que cette activité scavenger est probablement due à la présence du monoglucoside de delphinidin, qui possède l'activité scavenger la plus élevée parmi les anthocyanines présentes dans les fruits de *Pistacia lentiscus*.

Nombre d'études s'accordent avec le fait qu'il y a une forte corrélation entre le taux de polyphénols et l'activité antioxydante (KAROU et al., 2005 ; OUEDRAOGO et al., 2015). C'est ainsi, que nous en avons évalué la corrélation en comparant les deux types d'extraits

ensembles, puis aux données de la littérature. Il s'avère que, de fortes corrélations sont enregistrées entre tous les tests de mesure de l'activité antioxydante (DPPH, NBT et ABTS) et la quantité en phénols totaux, suivis par les tanins condensés et enfin les flavonoïdes totaux.

Ceci est en accord avec l'idée que les composés phénoliques ont un rôle clé dans le piégeage des radicaux libres, puisque, l'extrait huileux étant le plus riche en polyphénols est le plus actif contre les radicaux libres.

En effet, des études sur la relation entre la structure chimique des composés phénoliques et leur pouvoir piégeur des radicaux libres ont montré que l'activité anti-radicalaire est dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituants sur les cycles B et C (groupements hydroxyles, metaxylés, glycosylés) et le degré de polymérisation (NANJO et al., 1996 ; PANNALA et al., 2001, KARAMAC et al., 2005, TABART et al., 2009).

Ces mêmes paramètres sont liés également à la polarité des composés. L'activité plus élevée de l'acide gallique (groupement 3,4,5-tri-OH sur le cycle aromatique) peut être attribuée à sa plus forte polarité par rapport aux flavonoïdes (KARAMAC et al., 2005 ; HATZIDIMITRIOU et al., 2007).

2. Les activités biologiques des deux extraits dans un modèle d'asthme expérimental

Suite à la pré-étude phytochimique et la mise en évidence des propriétés antioxydantes de nos différents extraits issus de *P. lentiscus*, nous avons testé leurs effets dans un modèle d'asthme expérimental. Pour cela, nous le rappelons : des rats wistar ont été sensibilisés avec un allergène (l'ovalbumine) et traités avec l'extrait aqueux et l'huile de notre plante. Nous avons, par la suite, mesuré un certain nombre de paramètres (physio-hématologiques, histologiques et ceux du stress oxydant) puis nous avons réalisé des comparaisons entre les lots sensibilisés et/ou traités et les lots témoins.

VARIATIONS DES PARAMETRES PHYSIO-HEMATOLOGIQUES & HISTOLOGIQUES

2.1. Etude du poids corporel et des poids absolu et relatif des organes

Tout au long du protocole expérimental, les rats ont été pesés un jour sur deux. Ceci nous a permis de calculer l'évolution du poids corporel dans les différents lots. De plus, le jour du sacrifice, les poids des poumons et du foie ont été mesurés. Ceci nous a permis de calculer le poids relatif de ces organes ($\text{poids de l'organe} * 100 / \text{poids de l'animal}$) et d'en évaluer la variation entre les différents lots, à l'issue de l'expérimentation.

2.1.1. Variation de la croissance corporelle

La variation du poids absolu des rats, sur la base des valeurs moyennes prises durant les périodes de l'adaptation, du prétraitement, de la sensibilisation intra péritonéale, de l'exposition à l'allergène par inhalation et en fin au moment du sacrifice, est illustrée dans la Figure 21. Nos résultats montrent une diminution du poids absolu de l'ensemble des rats traités, qui est notamment hautement significative chez les trois lots de rats : sensibilisés à l'OVA et/ou traités à l'extrait aqueux (EQ, O/EQ) (respectivement de 6,09%, 5,57% et 5,15%, par rapport au lot témoin). Par ailleurs, l'administration de l'huile de lentisque plus que son extrait aqueux chez les rats sensibilisés, induit un meilleur regain dans le poids corporel (de 2,90%) par rapport au lot sensibilisé (OVA).

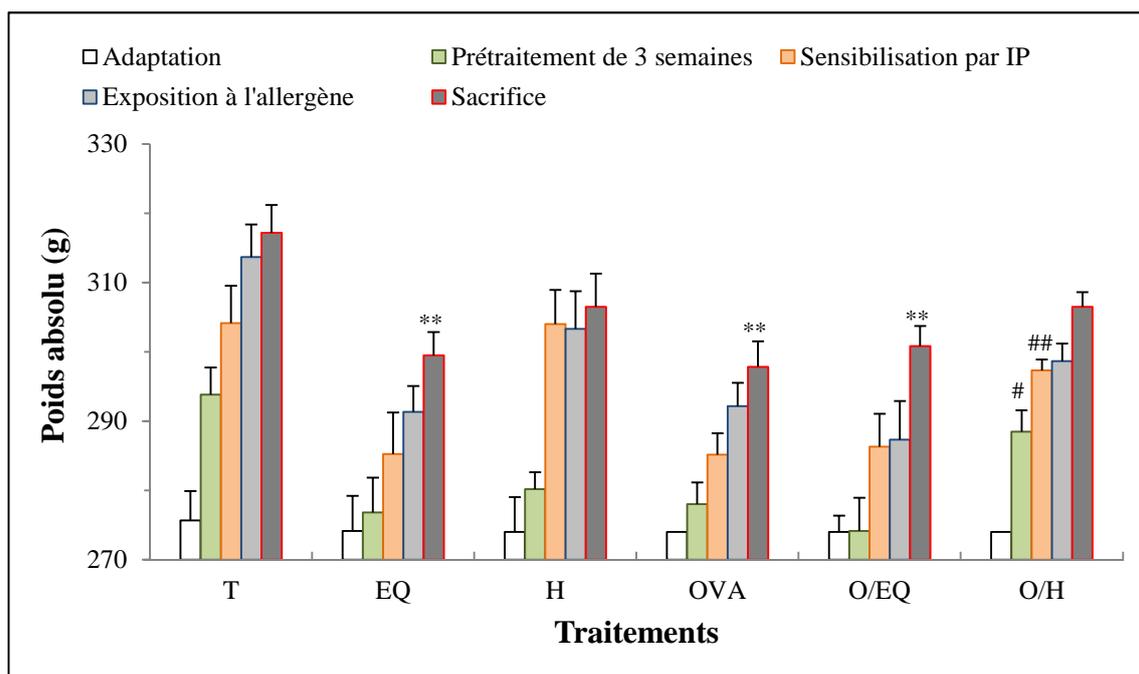


Figure 21 : Variation du poids absolu des rats témoins (T) et traités avec l'extrait aqueux (EQ) ou l'huile de lentisque (H) ainsi que ceux sensibilisés à l'ovalbumine (OVA) et ceux co-administrés respectivement avec l'extrait aqueux (O/EQ) ou l'huile de lentisque (O/H).

Chacune de ces valeurs est exprimée sous forme de moyenne \pm SEM.

Les différences significatives: * par rapport aux témoins ($p^{**} < 0,01$).

par rapport au lot sensibilisé à l'OVA ($p^{\#} < 0,05$; $p^{##} < 0,01$).

2.1.2. Effet sur le poids corporel, le poids relatif et absolu des organes

Les variations du poids corporel des rats et du poids relatif et absolu du foie et des poumons sont présentées dans le Tableau X. La sensibilisation à l'OVA, provoque une diminution du poids corporel ainsi qu'une augmentation significative ($p = 0,04$) du poids absolu des poumons.

L'administration de la plante sous ses deux formes (extrait aqueux et huile) aux rats sensibilisés a permis un retour à la normale du poids absolu des poumons grâce à une baisse de 11,76% et 17,64%, respectivement. Dans ce dernier cas (rats sensibilisés et traités à l'huile), elle est significative par rapport au témoin OVA.

De plus, l'administration de l'extrait aqueux chez les rats des lots (EQ et O/EQ) induit une réduction significative et hautement significative du poids relatif et absolu du foie (respectivement de 8,50% ; 7,43% et 14,51% ; 12,90%) en comparaison avec les rats témoins (Tableau X).

Tableau X: Variations du poids corporel PC (g), des poids absolu PA (g) et relatif PR (g/100g de PC) des organes (foie et poumons).

Paramètres	Lots expérimentaux					
	T	EQ	H	OVA	O/EQ	O/H
Poids corporel (g)	317,16 ± 4,01	299,5 ± 3,34**	306,5 ± 4,80	297,83 ± 3,67**	300,83 ± 2,89	306,5 ± 2,12
Poids absolu du foie (g)	10,33 ± 0,33	8,83 ± 0,30**	9,83 ± 0,30	10,5 ± 0,22	9 ± 0,25###	9,83 ± 0,16#
PR du foie (g/100g de PC)	3,22 ± 0,06	2,94 ± 0,08*	3,20 ± 0,07	3,27 ± 0,14	2,98 ± 0,05	3,24 ± 0,07
Poids absolu du poumon (g)	2,41 ± 0,15	2,16 ± 0,16	2,33 ± 0,21	2,83 ± 0,10*	2,5 ± 0,22	2,33 ± 0,21#
PR du poumon (g/100g de PC)	0,78 ± 0,07	0,72 ± 0,05	0,75 ± 0,05	0,88 ± 0,02	0,82 ± 0,07	0,77 ± 0,07

Chacune de ces valeurs est exprimée sous forme de moyenne ± SEM.

Les différences significatives: * par rapport aux témoins (p * 0,05; p ** 0,01).

par rapport au lot sensibilisé à l'OVA (p # 0,05; p ### 0,001).

2.2. Etude des paramètres de la réponse inflammatoire

Afin d'évaluer les variations dans la réponse inflammatoire, nous présentons ci-après les résultats de quelques paramètres hématologiques. De plus, les résultats de la numération cellulaire, du dosage des protéines totales et du dosage de l'interleukine-4, sont tous effectués aussi bien au niveau du sang qu'au niveau du liquide du lavage broncho-alvéolaire (LBA). L'étude histologique a été réalisée au niveau des poumons et du foie.

2.2.1. Effet sur les paramètres hématologiques

La sensibilisation à l'OVA a provoqué une augmentation significative des taux sanguins de cellules leucocytaires totales (WBC) ainsi que des plaquettes (Plt), respectivement de 141,61% et 10,7% (Tableau XI). De même, on note une augmentation du volume plaquettaire moyen (MPV) seulement, elle n'a pas atteint le seuil de significativité. Par contre, une diminution significative du volume globulaire moyen (MCV) et de la distribution des globules rouges du sang (RDW) a été enregistrée chez ces mêmes rats. Elle est de 4,37% et 6,12%, respectivement.

Les taux d'hémoglobine (Hgb) montre également une baisse chez les rats des trois groupes sensibilisés et/ou traités (OVA ; O/EQ et O/H) ; avec une diminution hautement significative chez les rats sensibilisés et traités à l'extrait aqueux ($p = 0,006$).

Par contre, l'administration de l'huile de lentisque plus que son extrait aqueux a réduit significativement les taux cellulaires de 41,05% chez les rats sensibilisés (O/H) et (O/EQ). (Tableau XI).

Par ailleurs, les lots traités seulement avec les deux extraits (lot EQ et H) montrent une augmentation des taux sanguins de cellules leucocytaires totales ainsi que ceux des plaquettes, respectivement de 39,79%, 14,82%, 37,02% et 12,27%, par rapport au lot témoin (Tableau XI).

Tableau XI : Variations des valeurs des paramètres hématologiques.

Paramètres	Lots expérimentaux					
	T	EQ	H	OVA	O/EQ	O/H
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	9,45 \pm 0,37	13,22 \pm 0,41***	12,96 \pm 0,55	22,85 \pm 1,32***	14,05 \pm 0,21###	13,47 \pm 0,79###
Hgb (g/dL)	16,75 \pm 0,30	16,68 \pm 0,24	16,02 \pm 0,22	16,68 \pm 0,27	15,22 \pm 0,29##	15,94 \pm 0,44
MCV (fL)	59,86 \pm 0,40	58,92 \pm 0,84	58,16 \pm 0,58*	57,24 \pm 0,50**	59,16 \pm 0,65#	58,74 \pm 0,84
RDW (%)	16,32 \pm 0,26	16,28 \pm 0,46	16,34 \pm 0,49	15,32 \pm 0,30*	16,16 \pm 0,38	16,2 \pm 0,32
Plt ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	813,58 \pm 18,86	934,2 \pm 23,24**	913,4 \pm 23,01**	900,66 \pm 24,13*	781,66 \pm 18,79##	720,5 \pm 37,49##
MPV (fL)	6,5 \pm 0,15	6,76 \pm 0,18	6,48 \pm 0,16	6,88 \pm 0,23	6,14 \pm 0,33	7,18 \pm 0,15

Chacune de ces valeurs est exprimée sous forme de moyenne \pm SEM.

Les différences significatives: * par rapport aux témoins (p * 0,05; p ** 0,01 ; p *** 0,001).

par rapport au lot sensibilisé à l'OVA (p # 0,05 ; p ## 0,01 ; p ### 0,001).

WBC White Blood Cells (cellules leucocytaires totales)

Hgb Hemoglobin (hémoglobine)

MCV Mean corpuscular volume (volume globulaire moyen)

RDW Red cell distribution width (distribution des globules rouges du sang)

Plt Platelet (plaquettes)

MPV Mean platelet volume (volume plaquettaire moyen)

2.2.2. Effet sur la population leucocytaire

La numération des cellules leucocytaires a été effectuée aussi bien dans le sang (Figure 22) que dans le liquide du LBA (Tableau XII).

2.2.2.1. Taux des leucocytes dans le sang

Les variations de la population leucocytaire dans le frottis sanguin des différents lots sont présentées dans la Figure 22. La sensibilisation à l'OVA a provoqué une augmentation des taux sanguins de cellules leucocytaires totales de 141,62% et des monocytes de 53,23%. L'augmentation du taux de cellules leucocytaires est d'une part très hautement significative aussi bien pour les éosinophiles ($p < 0,001$) et les lymphocytes ($p < 0,001$), d'autre part, elle est significative pour les basophiles ($p = 0,05$).

Toutefois, le traitement à l'extrait aqueux ainsi qu'à l'huile de lentisque permet un rétablissement de ces valeurs, chez les rats sensibilisés, ce qui s'est manifesté par une diminution très hautement significative du taux d'éosinophiles et de lymphocytes (78,95%, 78,70% et 31,45%, 33,45%). Tout comme, il a été montré que l'administration de l'huile de lentisque plus que son extrait aqueux réduit significativement ($p = 0,06$) les taux des basophiles de 59,56%.

Chez les lots traités avec les deux extraits (lot EQ et H), on note une augmentation hautement significative dans la répartition des cellules leucocytaires par rapport au lot T ($p = 0,005$ et $p = 0,01$, respectivement).

2.2.2.2. Numération des leucocytes dans le liquide du LBA

Le résultat des variations des taux de leucocytes dans le liquide du LBA est présenté dans le tableau XII. On y enregistre respectivement des augmentations hautement significative et significative ($p = 0,004$ et $p = 0,04$) des taux d'éosinophiles et de neutrophiles chez le lot sensibilisé. De même, on relève une augmentation (de 82,76%) du taux de basophiles par rapport au lot témoin.

D'autre part, le traitement des rats sensibilisés avec l'extrait aqueux ou l'huile de lentisque fait diminuer de façon significative les taux d'éosinophiles ($p = 0,01$) dans le liquide du LBA. De même, l'huile de lentisque induit une diminution du taux des neutrophiles et des basophiles de 34,48% et 53,57% par rapport au lot OVA.

Les lots traités avec les deux extraits (lot EQ et H) ne montrent pas de variation significative par rapport au lot T.

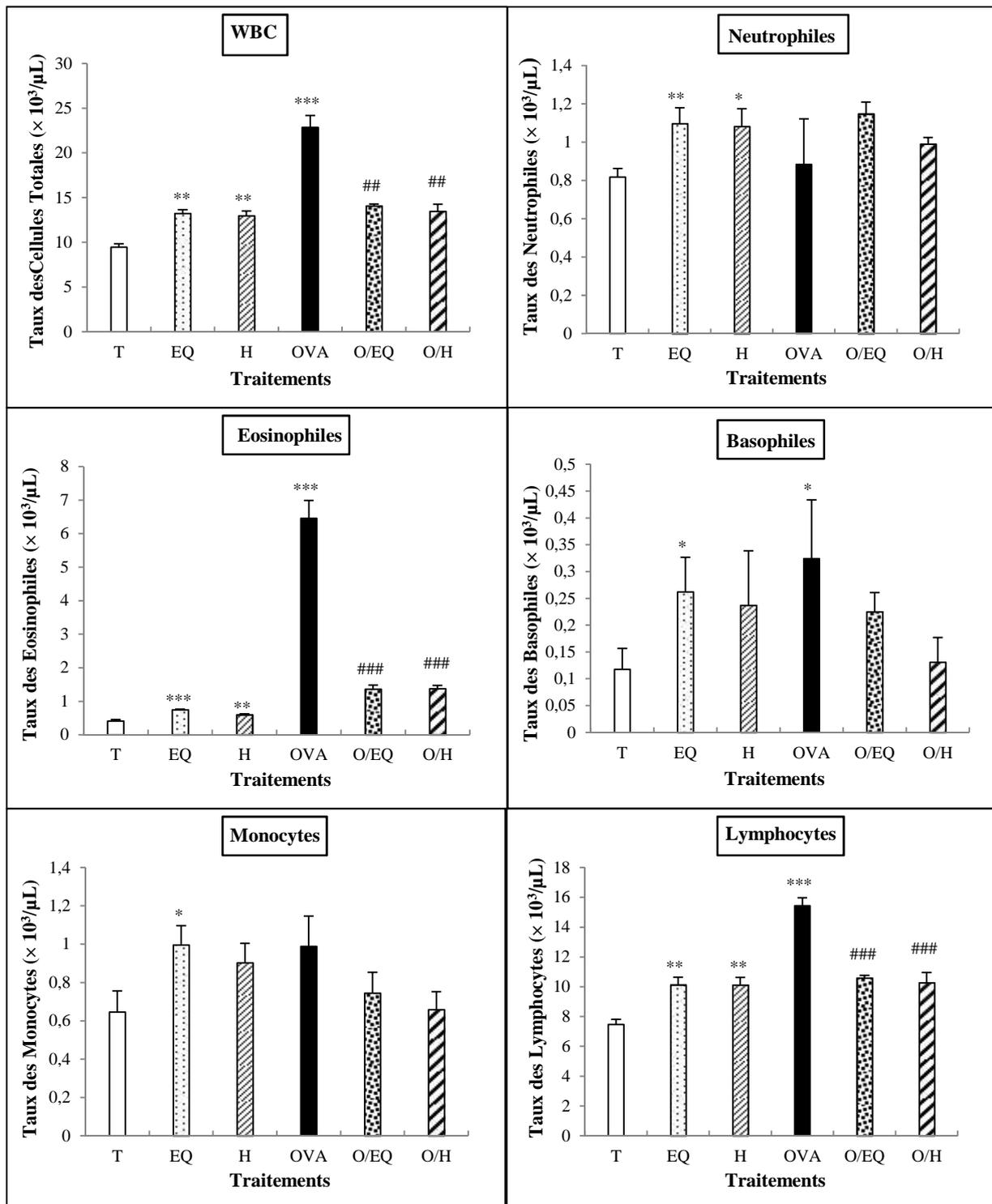


Figure 22 : Répartition des leucocytes dans le frottis sanguin des différents groupes expérimentaux.

Chacune de ces valeurs est exprimée sous forme de moyenne \pm SEM.

Les différences significatives: * par rapport aux témoins ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$).

par rapport au lot sensibilisé à l'OVA ($p < 0,01$; $p < 0,001$).

Tableau XII : Variations des pourcentages de leucocytes dans le liquide du LBA chez les différents groupes expérimentaux.

Paramètres	Lots expérimentaux					
	T	EQ	H	OVA	O/EQ	O/H
Lymphocytes (%)	73,05 ± 3,31	72,42 ± 2,82	74,25 ± 2,26	63,67 ± 0,88	69 ± 2,08	71 ± 2,30#
Monocytes (%)	20,85 ± 2,67	20,92 ± 2,04	19,42 ± 2,53	21,25 ± 1,37	21 ± 1,15	20,33 ± 2,02
Eosinophiles (%)	4,04 ± 0,48	3,66 ± 0,88	3,77 ± 0,22	10,33 ± 0,88**	5,67 ± 0,66##	6 ± 0,57##
Neutrophiles (%)	0,78 ± 0,22	1,33 ± 0,22	1,22 ± 0,39	2,42 ± 0,41*	2,33 ± 0,33	1,58 ± 0,3
Basophiles (%)	1,28 ± 0,64	1,67 ± 0,33	1,33 ± 0,33	2,33 ± 0,33	2 ± 0,57	1,08 ± 0,65

Chacune de ces valeurs est exprimée sous forme de moyenne ± SEM.

Les différences significatives: * par rapport aux témoins (p * 0,05; p ** 0,01).

par rapport au lot sensibilisé à l'OVA (p # 0,05 ; p ## 0,01).

2.2.3. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines totales a été effectué aussi bien dans le sang que dans le liquide du LBA. La Figure 23 illustre les résultats obtenus.

2.2.3.1. Les protéines totales dans le sérum

Les résultats montrent que la sensibilisation à l'OVA provoque une augmentation significative des protéines totales de 4,96% par rapport au lot témoin. Cependant l'administration de l'huile de lentisque (O/H et H) plus que son extrait aqueux révèlent une diminution hautement significative ($p = 0,01$) des protéines sériques par rapport au lot sensibilisé (OVA) et au lot témoin (T). Quant au lot traité avec l'extrait aqueux (lot EQ), il ne montre pas de variation significative par rapport au lot T.

2.2.3.2. Les protéines totales dans le liquide du LBA

Les résultats révèlent que la sensibilisation à l'OVA provoque une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) des protéines totales dans le liquide du LBA de l'ordre de 62,13 %. Toutefois, seule l'administration de l'huile de lentisque induit une baisse significative ($p = 0,01$) des protéines totales dans le liquide du LBA par rapport au lot sensibilisé.

Les lots traités avec les deux extraits (lot EQ et H) ne montrent pas de variation significative par rapport au lot T.

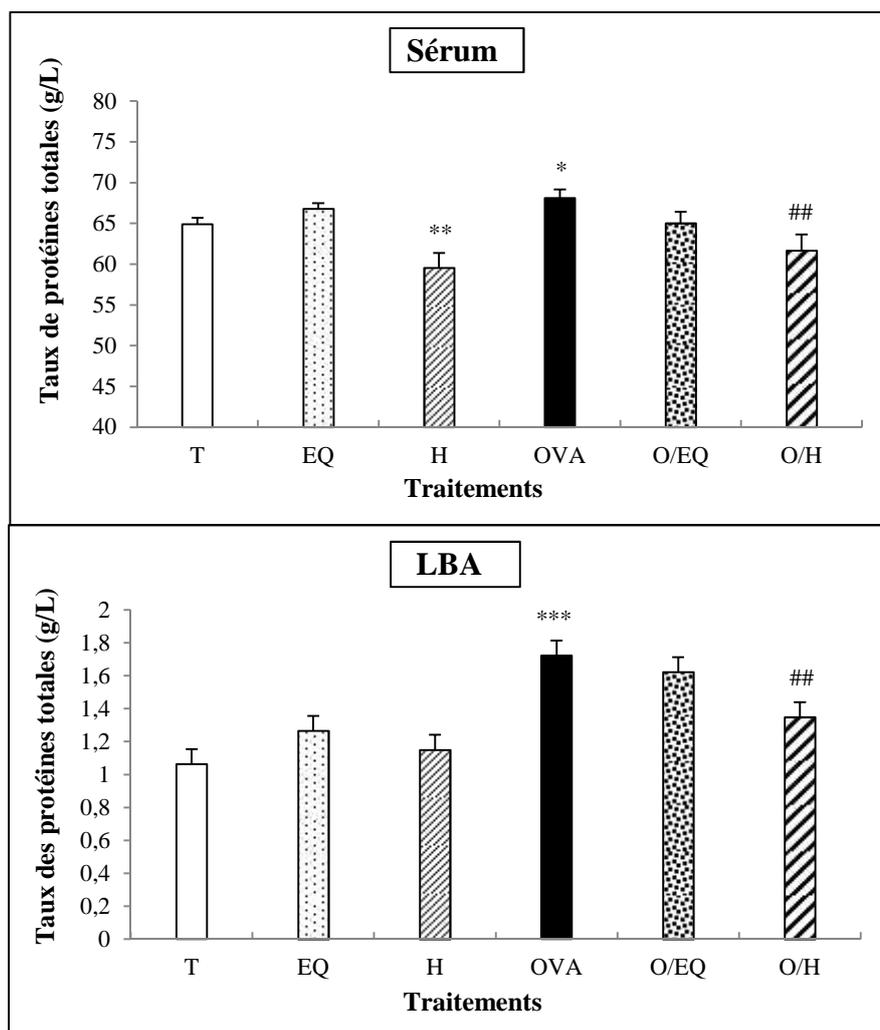


Figure 23 : Variation de la concentration en protéines totales dans le sérum et le liquide du lavage broncho-alvéolaire (LBA) chez les six lots expérimentaux.

Chacune de ces valeurs est exprimée sous forme de moyenne \pm SEM.

Les différences significatives: * par rapport aux témoins ($p < 0,05$; $p^{**} < 0,01$; $p^{***} < 0,001$).

par rapport au lot sensibilisé à l'OVA ($p^{##} < 0,01$).

2.2.4. Dosage de l'interleukine-4

La Figure 24 illustre également les résultats de la variation du taux de l'IL-4, aussi bien dans le sérum que dans le liquide du LBA, chez les rats des différents lots expérimentaux.

2.2.4.1. L'IL-4 dans le sérum

Les résultats révèlent que la sensibilisation à l'OVA provoque une augmentation significative ($p = 0,02$) du taux d'IL-4 de l'ordre de 22,87 % par rapport au lot témoin. Toutefois, le traitement à l'huile ou à l'extrait aqueux de lentisque indique une diminution de son taux par rapport au lot sensibilisé. Cette diminution s'est révélée significative lors du traitement à l'huile de lentisque ($p = 0,03$). Les lots traités avec les deux extraits (lots EQ et H) ne montrent pas de variation significative par rapport au lot T.

2.2.4.2. L'IL-4 dans le liquide du LBA

La Figure 24 montre également que la sensibilisation à l'OVA a provoqué une augmentation significative ($p = 0,05$) de l'IL-4 dans le liquide du LBA de 27,33 %. Cependant, l'administration de l'huile de lentisque ou de son extrait aqueux induit une baisse de son taux respectivement de 23,85 % et de 22,02% par rapport au lot sensibilisé.

Les lots traités avec les deux extraits (lot EQ et H) ne montrent pas de variation significative par rapport au lot T.

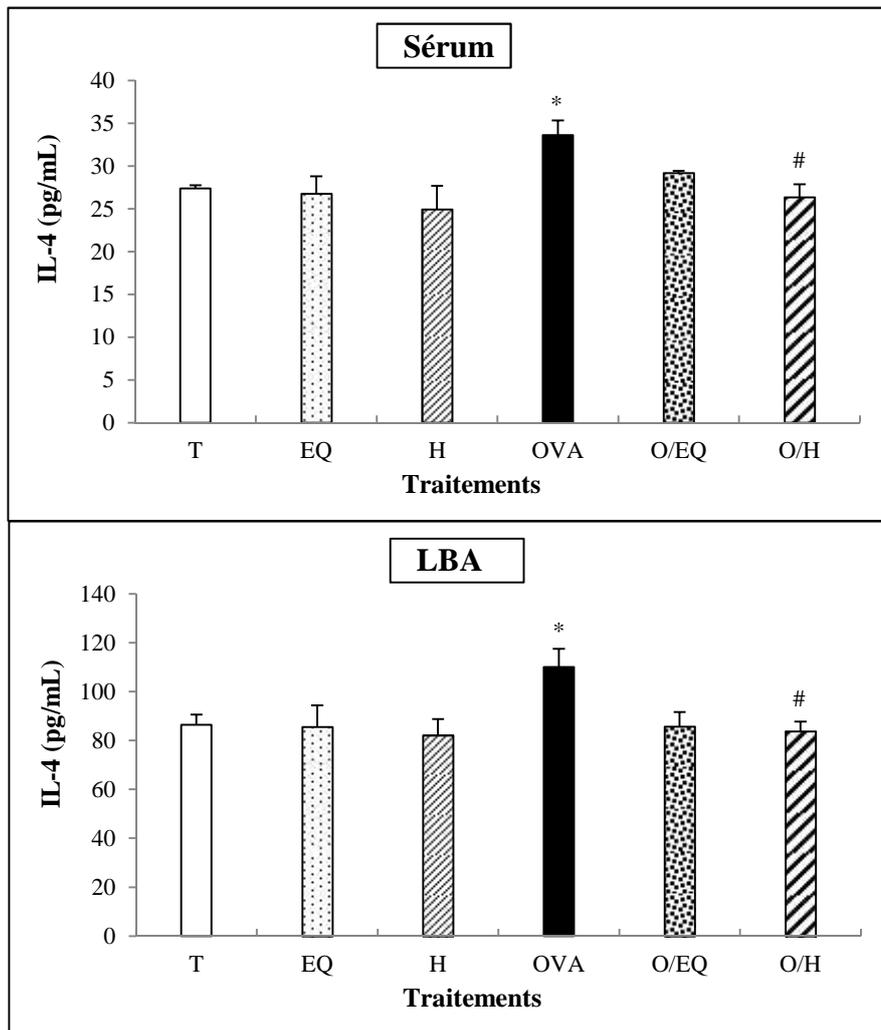


Figure 24 : Variation de la concentration de l'interleukine-4 (IL-4) dans le sérum et le liquide du lavage broncho-alvéolaire (LBA) chez les six lots expérimentaux.

Chacune de ces valeurs est exprimée sous forme de moyenne \pm SEM.

Les différences significatives: * par rapport aux témoins ($p < 0,05$).

par rapport au lot sensibilisé à l'OVA ($p < 0,05$).

2.2.5. Etude histologique

La figure 25-A représente l'observation microscopique dans une section de poumon de rat sain (lot témoin) où sont considérées : les alvéoles (étiquette AV) ainsi que quelques cellules inflammatoires (étiquette CI).

Les sections des poumons des rats traités avec l'extrait aqueux (Figure 25-B) ou à l'huile de lentisque (Figure 25-C) indiquent que la zone inter-alvéolaire (flèche à double sens) est très fine en raison de l'absence de nombreuses cellules inflammatoires.

Quant à la section du poumon des rats sensibilisés par l'ovalbumine, elle montre une infiltration inflammatoire importante dans les poumons avec une zone inter-alvéolaire remplie d'exsudats (Figure 25-D). Cette infiltration a été principalement située autour des petites bronches, des bronchioles et des vaisseaux sanguins. La plupart des cellules inflammatoires sont composées de lymphocytes et d'éosinophiles.

Quant aux sections des poumons des rats sensibilisés à l'ovalbumine et traités soit avec l'extrait aqueux (Figure 25-E) soit à l'huile de lentisque (Figure 25-F), elles indiquent que la zone inter-alvéolaire est beaucoup plus fine que celle observée chez les rats seulement sensibilisés à l'ovalbumine (Figure 25-D). Ces sections ont des espaces plus ouverts et moins encombrés par l'absence d'exsudat avec diminution considérable de cellules inflammatoires.

D'autre part, l'observation microscopique du foie de rats contrôle indique une organisation en lobules dans laquelle les hépatocytes sont séparés par des sinusoides adjacents (Figure 26-A). Le foie des rats traités avec l'extrait aqueux (Figure 26-B) ou à l'huile de lentisque (Figure 26-C) montre un élargissement sinusoidale conduisant à la diminution du diamètre des hépatocytes (DH).

Quant à la section du foie des rats traités par l'ovalbumine, elle révèle une modification cellulaire bien visible, qui se traduit par une hyperplasie, un éclatement des hépatocytes et une infiltration de cellules inflammatoires (Figure 26-D). Pour les sections de foies des rats sensibilisés à l'ovalbumine et traités soit avec l'extrait aqueux (Figure 26-E) soit à l'huile de lentisque (Figure 26-F), elles montrent respectivement l'apparition de la nécrose ainsi qu'une augmentation de la taille des sinusoides.

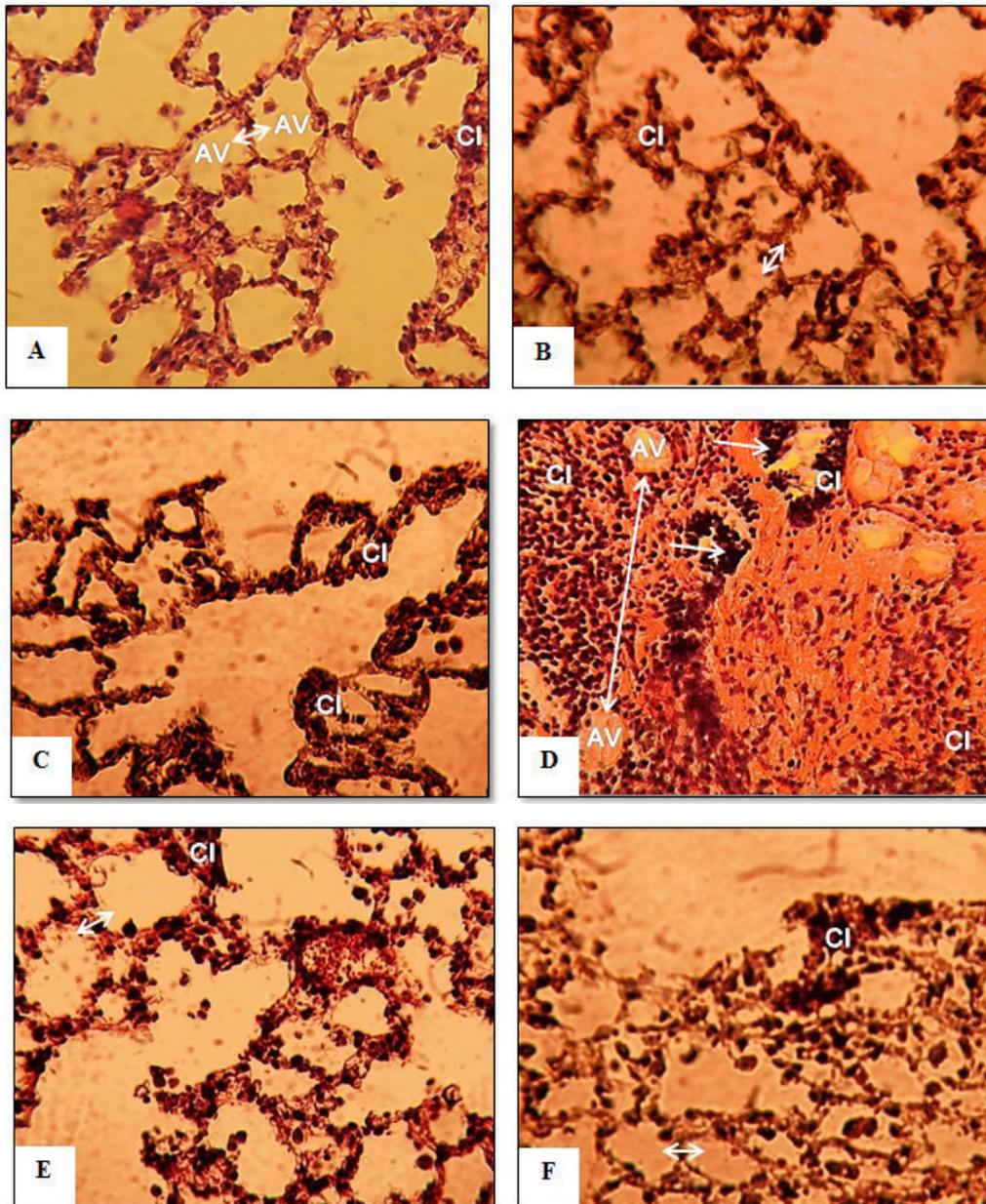


Figure 25 : Coupes histologiques des poumons de rats des six lots expérimentaux (x40).

(A) Poumon d'un rat témoin avec une architecture tissulaire normal ; (B) poumon d'un rat traité avec l'extrait aqueux ; (C) poumon d'un rat traité à l'huile de lentisque ; (D) poumon d'un rat sensibilisé par l'ovalbumine, montrant un afflux de cellules inflammatoires (étiquette CI, flèches) qui se traduit par l'accumulation apparente d'éosinophiles et de lymphocytes ; (E) poumon d'un rat sensibilisé à l'ovalbumine et traité avec l'extrait aqueux ; (F) poumon d'un rat sensibilisé à l'ovalbumine et traité à l'huile de lentisque.

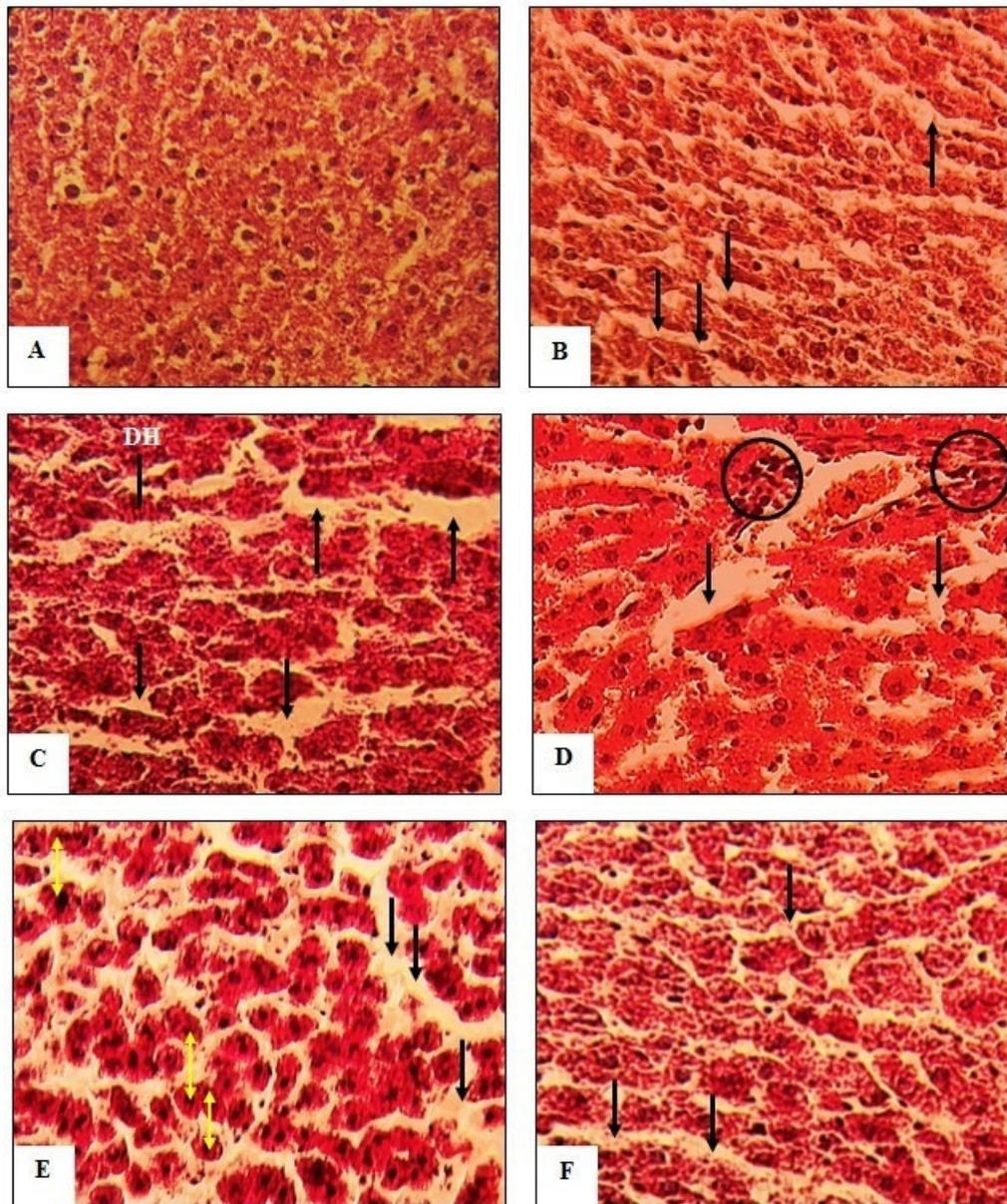


Figure 26 : Coupes histologiques du foie de rats des six lots expérimentaux (x40).

(A) Foie d'un rat témoin, ayant une architecture normale et pas d'anomalies pathologiques ; (B) foie d'un rat traité avec l'extrait aqueux montrant des élargissements sinusoïdales (flèches) ; (C) foie d'un rat traité à l'huile de lentisque, montrant un diamètre inférieur des hépatocytes (DH) et une augmentation de la taille de sinusoïdes (flèches) ; (D) foie d'un rat sensibilisé à l'ovalbumine, montrant une augmentation de la taille de sinusoïdes (flèches) et une infiltration de cellules inflammatoire (cercle) ; (E) foie d'un rat sensibilisé à l'ovalbumine et traité avec l'extrait aqueux, montrant la nécrose dans les hépatocytes (flèche à double sens) et une augmentation de la taille de sinusoïdes (flèches) ; (F) foie d'un rat sensibilisé à l'ovalbumine et traité à l'huile de lentisque montrant des élargissements sinusoïdales (flèches).

❖ Discussion

Les troubles immuno-inflammatoires sont souvent associés à une perte du poids corporel constatée aussi bien dans des études humaines chez des patients asthmatiques (ELWOOD et al., 1992) que dans des modèles animaux chez des rats sensibilisés à l'OVA (ELWOOD et al., 1991 ; AMIT et al., 2013).

En effet, au cours de notre expérimentation chez le rat Wistar, nous avons constaté une réduction dans le poids corporel de tous nos groupes traités, révélée par une diminution hautement significative ($p < 0,01$) chez les rats sensibilisés à l'OVA et traités à l'extrait aqueux (EQ ; O/EQ). On a également enregistré une réduction dans le poids absolu et relatif du foie chez les rats traités par cet extrait. Cette variation pondérale est probablement due à la fois, à l'acide gallique et aux tanins contenues dans *Pistacia lentiscus*, mais aussi à l'immunogénéicité de l'ovalbumine.

En effet, de part leur nature chimique l'acide gallique et les tanins sont responsables de la diminution de la quantité de nourriture, du taux de croissance, de l'énergie métabolique et des protéines de digestion (NIHO et al., 2001).

En outre, l'OVA représente une molécule allergénique sensibilisante jouant aussi le rôle d'un xénobiotique responsable des lésions tissulaires importantes chez les lots traités (TANU et SURESH, 2007), d'où une importante infiltration cellulaire au niveau pulmonaire aboutissant au remodelage des voies aériennes (MASINI et al., 2008).

En effet, MAUSER et ses collaborateurs (2013) ont suggéré que la provocation avec l'allergène (l'ovalbumine) induit une exsudation plasmatique accrue et des oedèmes donc un gonflement de l'organe enflammé. D'ailleurs, ce phénomène inflammatoire se poursuit par la migration des cellules inflammatoires du compartiment vasculaire vers les poumons (diapédèse). Ainsi, cette inflammation dite allergique s'est affirmée par une augmentation significative du poids absolu des poumons chez les rats sensibilisés à l'OVA. Toutefois, la co-administration de l'huile de lentisque, contrairement à son extrait aqueux, induit un retour à la normale du poids absolu des poumons suite à la restriction de cet œdème.

Afin d'évaluer les variations de la réponse inflammatoire déclenchée par le traitement à l'ovalbumine et d'étudier l'effet thérapeutique de l'huile et de l'extrait aqueux de *Pistacia lentiscus*, nous avons en premier lieu examiné quelques paramètres hématologiques.

Nos résultats nous ont permis de constater une augmentation significative du taux de plaquettes chez les rats sensibilisés, ainsi qu'une augmentation du volume plaquettaire moyen (MPV). Ces deux paramètres sont connus pour leurs implications dans l'asthme. En effet, les plaquettes jouent un rôle dans la cascade d'évènements cellulaires qui participent à la réaction d'hypersensibilité immédiate. Elles possèdent des récepteurs FCERII dont la stimulation par l'IgE conduit à l'activation plaquettaire avec libération d'anions superoxydes (PACHECO et al., 1994). Nos résultats rejoignent ceux de l'étude de VOSOOGHI et ses collaborateurs (2013) qui ont également trouvé une augmentation du nombre de plaquettes chez les rats sensibilisés lors de leur étude sur les effets préventifs de l'extrait hydroalcoolique de safran sur les paramètres hématologiques dans un modèle d'asthme expérimental.

En outre, le volume globulaire moyen (MCV) et la distribution des globules rouges du sang (RDW) ont enregistré une diminution significative ($p < 0,01$ et $p < 0,05$) de leurs taux chez les rats sensibilisés. Cette diminution peut être due soit à une carence en vitamine B6 soit à une carence en fer engendrant par la suite une anémie ferriprive (SAMII et al., 2003).

Egalement, on a enregistré une baisse des taux d'hémoglobine (Hgb) chez les rats des trois groupes sensibilisés (et même et/ou traités) (OVA ; O/EQ et O/H). Ces résultats semblent aussi être en accord avec les travaux de STANKOVIC et al. (2015) qui ont trouvé une altération du fer dans l'inflammation aiguë et une diminution du taux de l'hémoglobine sanguine.

Par ailleurs, la synthèse de l'hémoglobine dépend de la disponibilité du fer (GASPARD et TWITE, 2005). Ainsi, la diminution de la libération de fer des macrophages et la diminution de l'absorption du fer par le tractus gastro-intestinal, réduit de ce fait la disponibilité du fer pour la synthèse de l'hémoglobine (NEMETH et al., 2004 ; ROY, 2010).

De plus, dans notre présente étude nous avons examiné les taux cellulaires dans le sang et dans le liquide du lavage bronchoalvéolaire (LBA) par un comptage des cellules leucocytaires.

Nos résultats ont révélé une augmentation accrue des cellules totales leucocytaires chez les rats sensibilisés à l'OVA, essentiellement les éosinophiles qui sont caractéristiques de l'inflammation asthmatique. Ce qui rejoint l'étude de SALAMA et al. (2012) dans laquelle les auteurs ont trouvé une augmentation significative des éosinophiles dans le sang notamment dans les sites de l'inflammation provoquant une libération d'une variété de médiateurs.

D'ailleurs, le nombre des cellules totales était beaucoup plus important dans le lot sensibilisé (OVA) par rapport au lot témoin et cela était due à l'augmentation d'autres types cellulaires comme les lymphocytes et les basophiles. Ces cellules amplifient la réponse immune et participent ainsi à l'apparition d'une inflammation avec une destruction de l'épithélium bronchique aboutissant au remodelage du tissu pulmonaire (HOLGATE, 2008).

D'autre part, le traitement des rats avec l'extrait aqueux et l'huile de lentisque seulement (lots EQ et H) ne montre pas de changements significatifs par rapport au lot témoin. On constate donc des taux normaux de leucocytes dans le liquide du LBA, mais, une augmentation significative a été enregistrée au niveau du sang chez ces mêmes lots.

Cependant, l'administration de la plante chez les rats sensibilisés à l'OVA a permis de réduire significativement l'infiltration pulmonaire par ces cellules inflammatoires. Ces diminutions affirment la diminution de l'inflammation pulmonaire, plus marquée lors du traitement par l'huile. Ce qui suggère que le traitement à l'extrait aqueux et l'huile de lentisque permet de diminuer l'état inflammatoire en ramenant les taux de leucocytes vers leur valeur normale et en diminuant le recrutement d'éosinophiles au niveau des poumons. Ceci est probablement dû à l'effet inhibiteur de l'acide gallique sur la libération d'histamine médiée par l'AMPc et le calcium intracellulaire (KIM et al., 2006).

En effet, d'après les travaux de KIM et al. (2006), réalisés sur des mastocytes, l'acide gallique a diminué le taux de phorbol 12-myristate 13-acétate en plus du calcium ionophore qui stimule le gène d'expression des cytokines pro-inflammatoires et leurs productions (tels que le TNF- α et IL-6). Ces dernières sont sencées stimuler les cellules endothéliales pour exprimer les molécules d'adhérences, telles que l'ICAM-1 et le VCAM-1 (JAE-HYUN et al., 2013). Ces molécules d'adhérence captent les neutrophiles, les éosinophiles et les lymphocytes de la circulation sanguine et facilitent leur migration vers le tissu enflammé (ROGERIO et al., 2007 ; AGRAWAL et SHAO, 2010 ; LIU et al., 2013).

A ce titre, et parmi les cytokines pro-inflammatoires, nous avons dosé aussi bien au niveau sanguin que dans le liquide du LBA, les taux de l'interleukine-4. Nos résultats indiquent une augmentation significative des niveaux d'IL-4 dans les deux compartiments étudiés, et ce chez le lot sensibilisé à l'OVA. Ces augmentations sont de l'ordre de 22,87% dans le sérum et de 27,33% dans le LBA.

Au niveau des poumons, cette élévation du taux d'IL-4 est donc expliquée par l'augmentation de nombre des lymphocytes Th2 activées dans les alvéoles pulmonaires (BRIGHTLING et al., 2002 ; OBERHOLZER et PRETORIUS, 2009 ; AGRAWAL et SHAO, 2010). En effet, plusieurs études ont prouvé que les lymphocytes Th2 jouent un rôle important dans le déclenchement et la progression des maladies allergiques, y compris l'asthme, en libérant dans le compartiment sanguin notamment l'IL-4 (RENAULD, 2001 ; BRIGHTLING et al., 2002).

Par contre, le traitement des rats sensibilisés par l'extrait aqueux et l'huile de lentisque fait diminuer la concentration de l'IL-4 de 13,21% et 21,62% dans le sérum et de 22,02 % et 23,85 % dans le liquide du LBA, respectivement. D'autre part, les lots traités avec les extraits de la plante (lots EQ et H) seulement ne montrent pas de différences notables par rapport au lot témoin.

La réduction de la concentration d'IL-4 peut être associée à un rétablissement de la balance entre les cytokines Th1 et les cytokines Th2. Ceci a été suggéré par plusieurs études effectuées sur les molécules bioactives des plantes. Nous citons à titre d'exemple l'étude de PANKAJ et al. (2011) dans laquelle les auteurs ont expliqué que la chrysine, un flavonoïde de type flavone, diminue l'infiltration des cellules inflammatoires dans un modèle d'asthme murin en rétablissant la balance Th1/Th2.

D'autre part, KANDASAMY et al. (2012) supposent que l'activité antiasthmaticque des flavonoïdes est probablement due à l'inhibition du facteur NF- κ B. En tout cas, plusieurs autres études comme celles de JUNG et al. (2010), ALLAN et DEVEREUX (2011) et KANDASAMY et al. (2012) ont tous rapporté l'effet bénéfique des composés phénoliques sur les symptômes asthmatiques.

L'analyse biochimique a montré une augmentation significative du taux des protéines totales sériques et celles du liquide bronchoalvéolaire chez les rats sensibilisés. Sachant que les protéines sont des composés organiques macromoléculaires répartis largement dans l'organisme, elles fonctionnent comme des éléments structurels et de transport.

Ainsi, l'augmentation des protéines totales reflète l'augmentation des médiateurs de l'inflammation et sont donc considérées comme des biomarqueurs de l'inflammation pulmonaire provoquée par l'OVA (OLIVENSTEIN et al., 1997, SALAMA et al., 2012). Toutefois, l'administration de l'huile de lentisque ou de son extrait aqueux réduit considérablement leurs taux. Cela peut être également dû à l'effet inhibiteur de l'acide gallique et des flavonoïdes. En

effet, CARMONA, 1996 et LIAO et *al.*, 2012, ont enregistré une diminution des niveaux de protéines et ont démontré que l'acide gallique et les polyphénols (tanins) ont la capacité de complexer et de précipiter les protéines. Par ailleurs, il a été montré que l'huile de lentisque est significativement plus efficace que son extrait.

Dans le but de conforter les résultats précédents, les effets anti-inflammatoires de la plante ont aussi été illustrés par l'examen histopathologique du foie et des poumons. Plusieurs caractéristiques ont été observées au niveau pulmonaire. Les coupes des rats témoins ont montré une architecture normale avec un espace inter-alvéolaire très réduit.

En revanche, les rats sensibilisés à l'OVA affichent une infiltration dense de cellules inflammatoires (essentiellement les éosinophiles) dans les régions périvasculaires et péribronchiques, où la zone inter-alvéolaire est encombré et rempli d'exsudats, contenant des globules blancs, des globules rouges et de la fibrine (OBERHOLZER et PRETORIUS, 2009).

Ces résultats sont semblables à ceux de ZENG et al. (2001), YOU SOOK et al. (2004), KODESH et al. (2011), MAHMOUD (2012), SALAMA et al. (2012) qui ont tous étudié les changements pathologiques des voies aériennes périphériques et le tissu pulmonaire dans des modèles d'asthme expérimentaux.

En effet, les éosinophiles soutiennent la prolifération de fibroblastes, la synthèse de collagène et la maturation des myofibroblastes, qui contribuent, par conséquent, au dépôt de collagène et aux dommages alvéolaires (KAY et al., 2004).

De plus, l'augmentation des taux de cytokines inflammatoires (l'IL- 4 et l'IL-5) stimule la transformation profibrotique du TGF- β , qui est exprimé dans diverses cellules pulmonaires comme les macrophages alvéolaires, les fibroblastes et les cellules endothéliales, en induisant l'accumulation de la matrice extracellulaire et l'épaississement des septa inter-alvéolaires (GAO et al., 2009 ; HALWANI et al., 2011). Ces changements structurels et architecturaux au niveau des bronches contribuent au phénomène connu sous le nom de remodelage des voies respiratoires.

Cependant, les poumons des animaux sensibilisés à l'OVA et traités (à la fois à l'huile de lentisque ou avec son extrait aqueux), ont montré une réduction importante du nombre de cellules inflammatoires et du mucus généré, et, par conséquent, une nette amélioration de l'état inflammatoire de l'asthme.

En effet, l'hypersécrétion de mucus est atténuée par les effets supprimeurs de l'huile de lentisque et de son extrait aqueux sur la production de cytokines et sur l'éosinophilie bronchique (SHIROLE et al., 2014).

Ce résultat est cohérent avec les résultats présentés dans la Figure 22 (p. 79), qui indiquent que l'huile ainsi que l'extrait aqueux de lentisque réduisent significativement l'infiltration des voies aériennes et ce, grâce à l'effet inhibiteur de l'acide gallique et des flavonoïdes sur la libération d'histamine ainsi que le recrutement des éosinophiles, la production d'IgE, et la sécrétion de mucus (KIM et al., 2006 ; ROGERIO et al., 2007).

Par ailleurs, l'observation d'une section du tissu pulmonaire des rats sensibilisés et traités à l'huile de lentisque a montré une réduction plus marquée dans l'infiltration cellulaire et dans la sécrétion du mucus, par rapport à celle des rats sensibilisés et traités avec l'extrait aqueux. De plus, les lots non sensibilisés EQ et H ne montrent pas de différences par rapport au lot témoin.

D'autre part, au niveau du foie, plusieurs caractéristiques ont été observées lors de l'analyse histopathologique du tissu hépatique. Considérant que l'inflammation allergique provoque un état de stress oxydatif, l'augmentation des taux cellulaires de la peroxydation lipidique (MDA), l'augmentation des radicaux libres et la diminution de l'activité enzymatique de la GPx, de la CAT et de la SOD sont autant de facteurs responsables des lésions tissulaires observées et concrétisées par l'éclatement des hépatocytes chez les rats sensibilisés à l'ovalbumine. En effet, des résultats similaires ont été trouvés dans la littérature évoquant des modifications intracellulaires des hépatocytes caractérisées par des cytolyses et une hyperplasie bien visibles chez des lots traités avec des agents provoquant un stress oxydatif tels que l'arsenic (ALLEN et RANA, 2007), le cadmium (EL HENI et al., 2008) et la thyroxine (MESSARAH et al., 2010). En outre, une infiltration de cellules inflammatoires dans le groupe sensibilisé à l'OVA a également été observée.

De plus, les résultats de l'observation des coupes histologiques du foie ont démontré un élargissement sinusoidale conduisant à la diminution du diamètre des hépatocytes (DH) ; et l'apparition de la nécrose chez les rats exposés à *P. lentiscus*.

Cependant, l'extrait aqueux utilisé à raison de 200 mg/kg/j a été plus dévastateur au niveau du foie (Figure 26). En effet, nous savons que les feuilles de cette plante contiennent

des tanins condensés dont l'hépatotoxicité a été prouvée (OELRICHS et al., 1994, DECANDIA et al., 2000).

La nécrose observée dans le tissu hépatique des rats du groupe OVA + EQ pourraient être due à l'activité excessive de l'animal pour se débarrasser de la substance toxique de son corps pendant le processus de désintoxication. En outre, l'incapacité du foie dans la régénération de nouvelles cellules peut entraîner une nécrose (PATEL et BAHADUR, 2011).

VARIATIONS DES PARAMETRES DU STRESS OXYDANT

Un état de stress oxydant par augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène et/ou par carence en micro-nutriments anti-oxydants ou cofacteurs des systèmes enzymatiques anti-oxydants, est fréquent au cours des syndromes inflammatoires chroniques, participant à la genèse et/ou l'entretien de l'inflammation et des lésions qui en résultent (REIMUND, 2002).

A cet égard nous avons dosé certains paramètres du stress oxydant (la glutathion peroxydase, la catalase, la superoxyde dismutase et le malondialdéhyde) au niveau des érythrocytes, du foie et des poumons ; ce qui nous a permis dans un premier temps de constater l'établissement d'un état de stress oxydatif lors de la sensibilisation et d'autre part d'apprécier l'effet thérapeutique antioxydant éventuel de *P. lentiscus*.

2.3. La glutathion peroxydase

Les résultats révèlent que la sensibilisation à l'OVA provoque une diminution significative ($p = 0,05$; $p = 0,05$ et $p = 0,02$) du taux de GPx de 22,30% ; de 16,86% et de 16,54%, respectivement, par rapport au lot témoin au niveau des érythrocytes, du foie et des poumons. Cependant, l'administration de l'huile de lentisque ou de son extrait aqueux a rétablit les taux de l'activité antioxydante suscitée. En effet, l'huile ainsi que l'extrait aqueux de lentisque ont induit une augmentation hautement significative ($p = 0,004$ et $p = 0,002$) (respectivement de 22,50% et de 27,74%) de l'activité de cette enzyme au niveau hépatique en comparaison avec le lot sensibilisé (OVA) (Figure 28).

2.4. La catalase

D'après les résultats obtenus, on observe une diminution très hautement et hautement significative du taux de catalase au niveau des érythrocytes, du foie ($p < 0,001$) et des poumons ($p = 0,01$) (respectivement de 37,81%, de 43,28% et de 33,75%) chez les rats sensibilisés par l'OVA en comparaison avec le groupe T. En outre, l'administration de l'extrait aqueux a été significativement plus efficace ($p = 0,05$) que l'huile de lentisque avec une augmentation significative du taux de cette enzyme au niveau érythrocytaire (de 21,93%) (Figure 27).

On note également une augmentation significative ($p = 0,001$ et $p = 0,05$) au niveau des deux tissus (foie et poumons) respectivement de 118,68% et de 30,44% pour les lots sensibilisés à l'OVA et traités à l'extrait aqueux.

De même, l'huile de lentisque a fait apparaître une augmentation de ce taux de l'ordre de 96,61% et de 4,03 %, respectivement au niveau du foie et des poumons.

2.5. La superoxyde dismutase

La sensibilisation a provoqué une diminution hautement significative du taux de la SOD au niveau des érythrocytes, du foie ($p = 0,003$) et des poumons ($p = 0,002$) (respectivement de 26,05% ; de 51,83% et de 50,42%). Cependant, l'huile ainsi que l'extrait aqueux de lentisque ont induit une augmentation significative ($p = 0,05$ et $p = 0,02$) respectivement, de 58,87% et de 63,90%, de l'activité de cette enzyme chez les rats sensibilisé à l'OVA au niveau hépatique (Figure 28).

De plus, ces deux extraits ont aussi permis d'améliorer l'activité de cette enzyme de l'ordre de 65,11% et 41,08%, respectivement au niveau pulmonaire (Figure 29).

2.6. La peroxydation lipidique (dosage du malondialdéhyde)

D'après les résultats obtenus, on observe une augmentation très hautement et hautement significative au niveau des érythrocytes, du foie ($p = 0,001$) et des poumons ($p = 0,01$) du taux du MDA chez les rats sensibilisés par l'OVA en comparaison avec le groupe témoin (respectivement de 61,63% ; de 109,73% et de 40,37%). Toutefois, l'administration des deux extraits de lentisque ont permis une réduction significative de la peroxydation lipidique. En effet, l'administration de l'extrait aqueux chez les rats sensibilisés provoque une diminution hautement significative ($p = 0,01$ et $p = 0,003$) (de 27,51% et de 26,48%) aussi bien dans les poumons que dans les érythrocytes en comparaison au lot sensibilisé. On note également une diminution significative ($p = 0,04$) dans le foie de 23,95% (Figure 28). De même, l'huile de lentisque révèle une diminution très hautement significative ($p = 0,001$) au niveau des érythrocytes de 40,37% (Figure 27), et une diminution significative ($p = 0,03$) au niveau du foie et des poumons de 31,63% et de 16,87%.

Les lots traités avec les deux extraits (lot EQ et H) ne montrent pas de variation significative par rapport au lot T dans les différents paramètres du stress oxydant dosés (GPx, CAT, SOD et MDA).

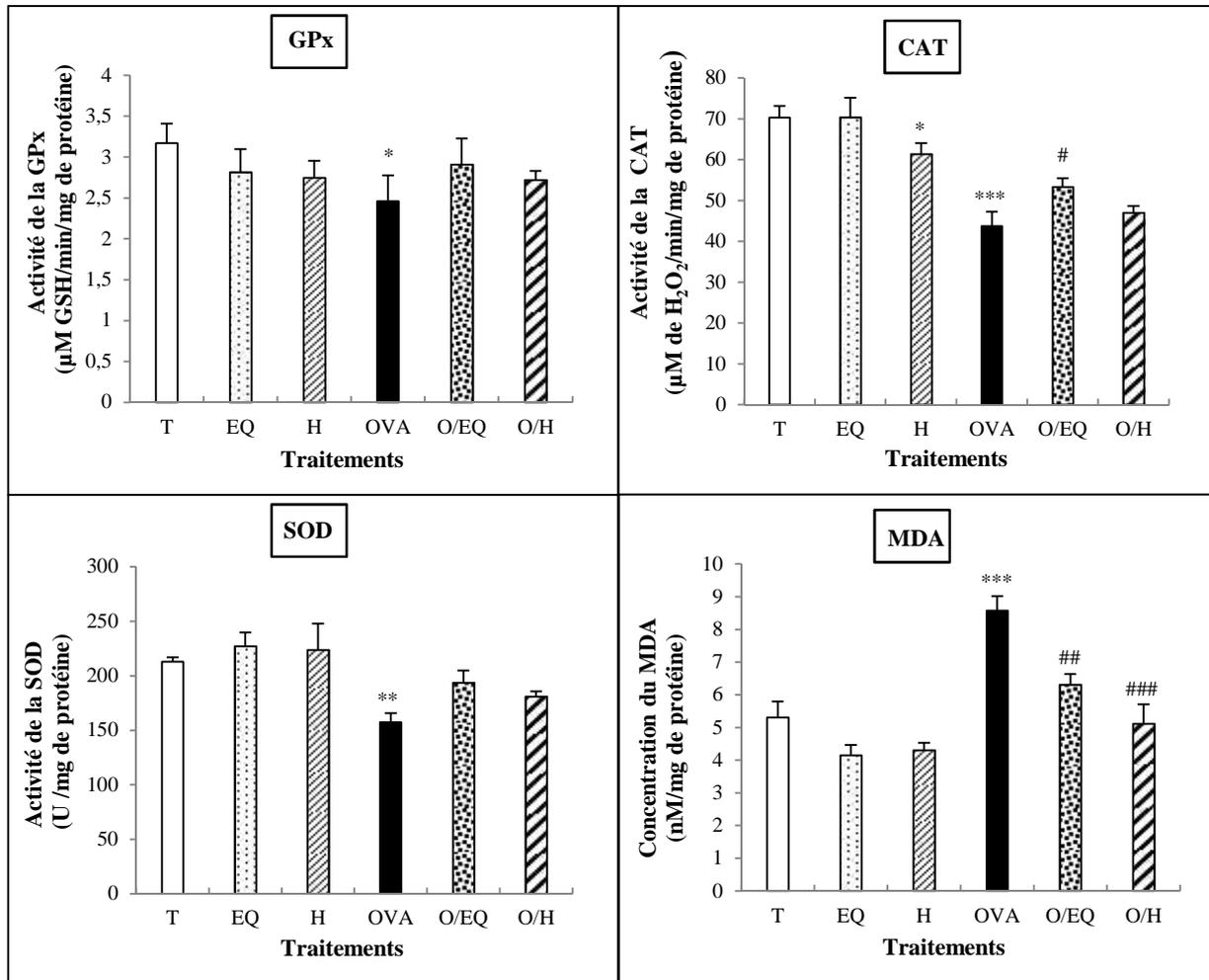


Figure 27 : Variations des activités enzymatiques de la glutathion peroxydase (GPx), de la catalase (CAT), de la superoxyde dismutase (SOD) et du taux de malondialdéhyde (MDA) dans les érythrocytes des rats témoins, sensibilisés et traités.

Chacune de ces valeurs est exprimée sous forme de moyenne \pm SEM.

Les différences significatives:

* par rapport aux témoins (p * 0,05; p ** 0,01 ; p *** 0,001).

par rapport au lot sensibilisé à l'OVA (p # 0,05 ; p ## 0,01 ; p ### 0,001).

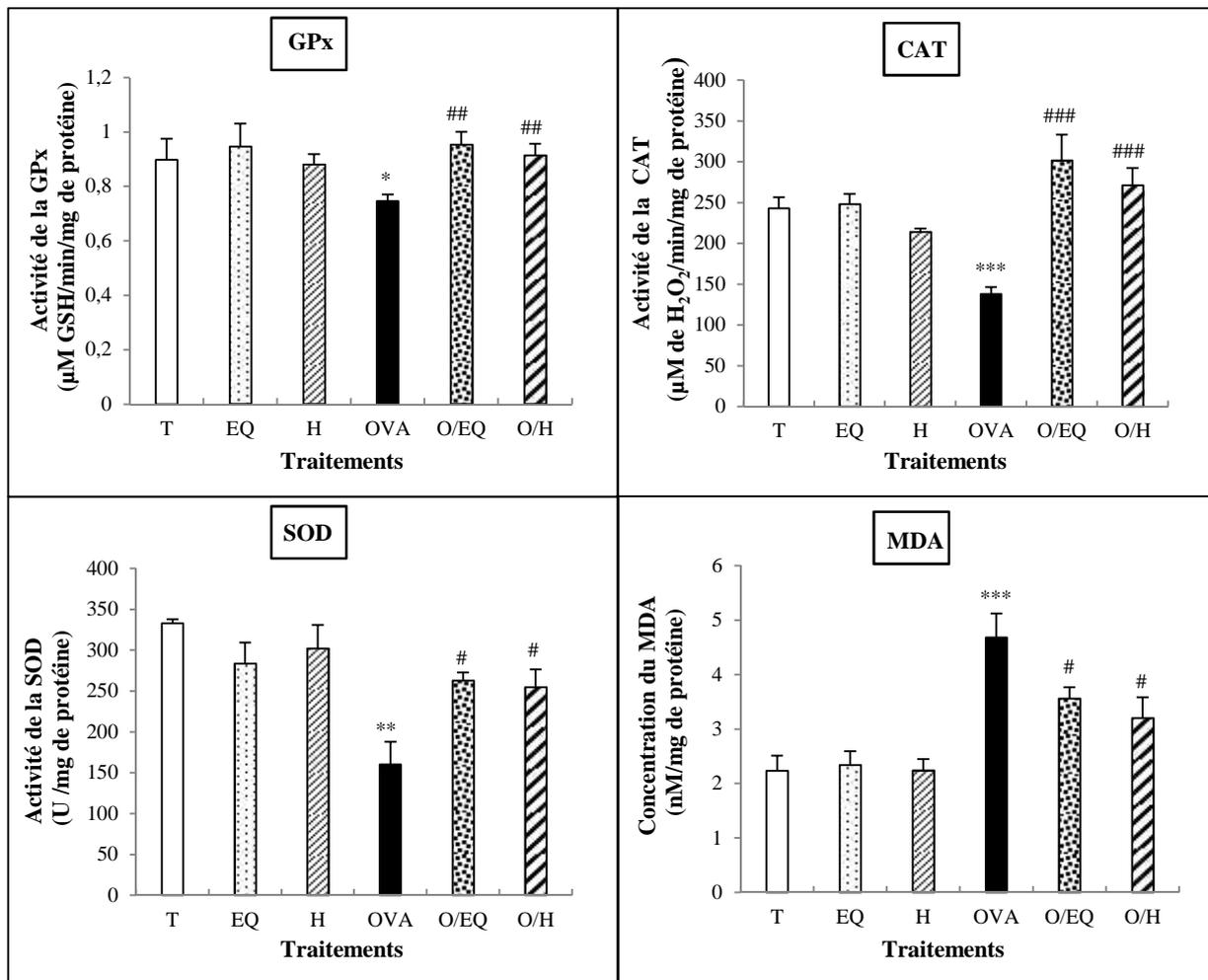


Figure 28 : Variations des activités enzymatiques de la glutathion peroxydase (GPx), de la catalase (CAT), de la superoxyde dismutase (SOD) et du taux de malondialdéhyde (MDA) dans le foie des rats témoins, sensibilisés et traités.

Chacune de ces valeurs est exprimée sous forme de moyenne \pm SEM.

Les différences significatives:

* par rapport aux témoins (p * 0,05; p ** 0,01 ; p *** 0,001).

par rapport au lot sensibilisé à l'OVA (p # 0,05 ; p ## 0,01 ; p ### 0,001).

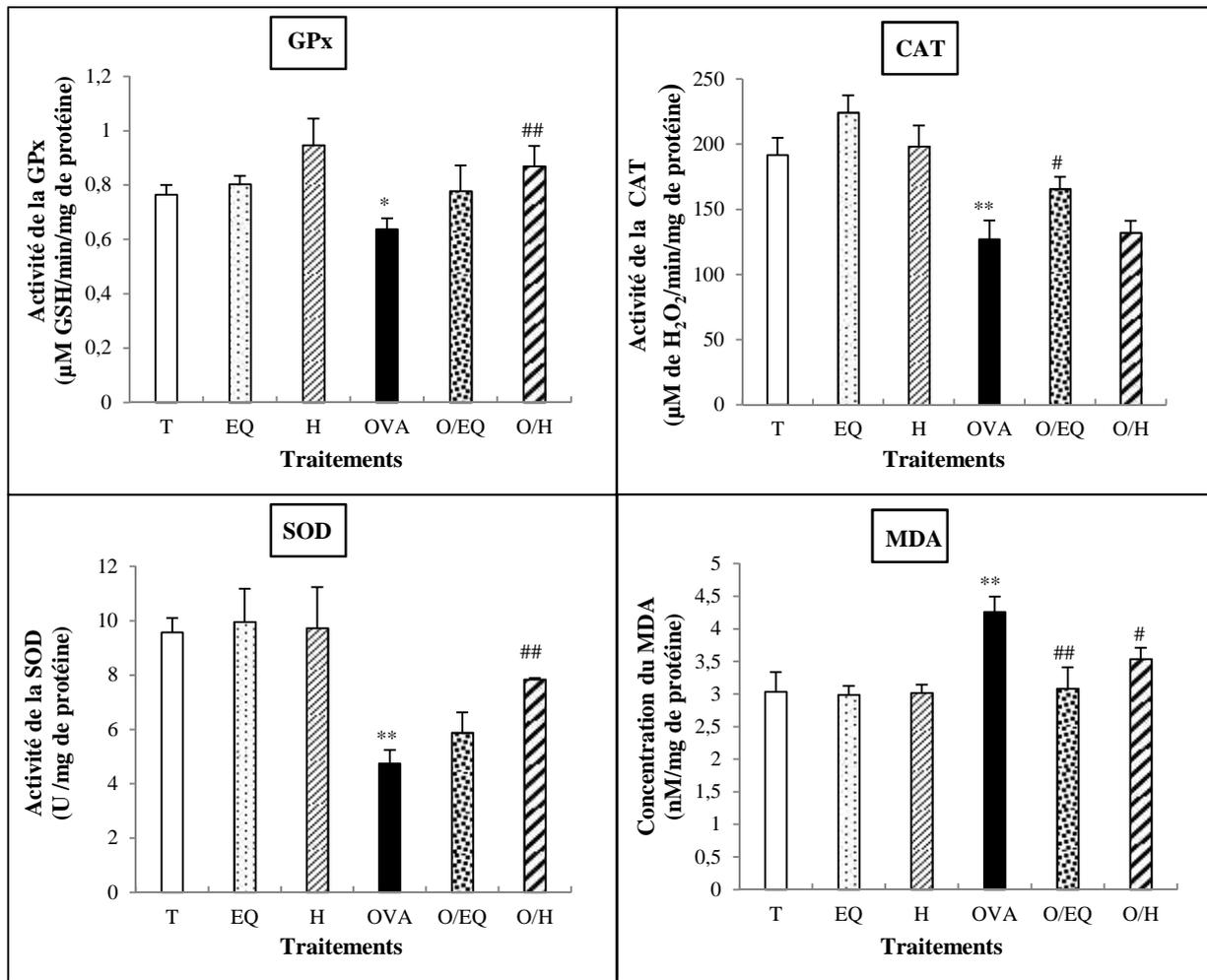


Figure 29 : Variations des activités enzymatiques de la glutathion peroxydase (GPx), de la catalase (CAT), de la superoxyde dismutase (SOD) et du taux de malondialdéhyde (MDA) dans le poumon des rats témoins, sensibilisés et traités.

Chacune de ces valeurs est exprimée sous forme de moyenne \pm SEM.

Les différences significatives:

* par rapport aux témoins ($p < 0,05$; $p^{**} < 0,01$).

par rapport au lot sensibilisé ($p \# < 0,05$; $p \#\# < 0,01$).

2.7. Etude de la corrélation entre les paramètres mesurés

Dans cette partie, nous avons jugé utile de rechercher le lien entre les différents paramètres évalués au cours de notre travail expérimental en calculant les coefficients de corrélations correspondants. Nous rappelons que lorsque la relation est positive, les deux paramètres varient dans le même sens, c'est-à-dire si l'on observe que les valeurs fortes de l'un correspondent généralement aux valeurs fortes de l'autre et vice versa. Par contre, une relation est négative si les deux paramètres varient en sens inverse, c'est-à-dire si l'on observe que les valeurs fortes de l'un correspondent généralement aux valeurs faibles de l'autre et vice versa.

2.7.1. Corrélations entre les paramètres *in vivo*

Le Tableau XIII résume les corrélations entre les marqueurs immuno-hématologiques de l'inflammation bronchique (à savoir les taux sanguins de leucocytes, d'éosinophiles, de lymphocytes, de monocytes, de neutrophiles et de basophiles, ainsi que les concentrations d'IL-4 et de protéines totales dans le sang et dans le liquide du LBA) en lien avec les marqueurs du stress oxydatif (à savoir les activités enzymatiques GPx, CAT et SOD ainsi que le taux de MDA) évalués dans les poumons lors du traitement à l'extrait aqueux et à l'huile de lentisque.

On observe qu'il existe des corrélations qui sont soit faibles ($R^2 = 0,50$) (par exemple entre les basophiles dans le sang et la CAT lors du traitement par l'huile) ou moyennes ($0,51 < R^2 < 0,89$) (par exemple entre la CAT et le taux d'IL-4 et de monocytes dans le LBA lors du traitement par l'huile) à fortes ($0,90 < R^2 < 1$) (par exemple entre la SOD et le taux d'éosinophiles dans le LBA lors du traitement à l'huile).

Ainsi, lors du traitement à l'extrait aqueux nous notons dans le compartiment sanguin des corrélations significatives entre le taux d'éosinophiles et la GPx ainsi que ce même taux et le MDA ; le taux d'IL-4 et la GPx, la CAT et le MDA. Quant aux dosages effectués dans le liquide du LBA, des corrélations significatives sont retrouvées entre le taux d'éosinophiles et la GPx ainsi que ce même taux avec le MDA ; le taux de monocytes et le MDA ; le taux d'IL-4 et la GPx ainsi que ce même taux et le MDA ; et enfin le taux des protéines totales avec la SOD.

Tandis que, lors du traitement à l'huile de lentisque, nous notons toujours dans le compartiment sanguin des corrélations significatives entre le taux d'éosinophiles et la SOD ainsi que ce même taux et le MDA ; le taux de leucocytes et la SOD ; le taux d'IL-4 ainsi que la concentration des protéines totales, ainsi que ce même taux et la GPx. Pour les dosages effectués dans le liquide du LBA, il existe une corrélation significative entre les taux

d'éosinophiles et celui des neutrophiles ainsi que la SOD et le MDA ; le taux de monocytes et la GPx ; et le taux des protéines totales et la SOD ainsi que ce même taux et le MDA.

2.7.2. Corrélations entre les paramètres *in vivo* versus *in vitro*

D'après le Tableau XIV, il existe une corrélation forte entre la teneur en phénols et le stress oxydatif au niveau des poumons (GPx). De plus, le taux de phénols totaux a donné une corrélation moyenne avec la peroxydation lipidique (MDA).

On note, également, de fortes corrélations entre les teneurs en polyphénols et les paramètres de l'inflammation bronchique, aussi bien au niveau du sang qu'au niveau du liquide du LBA, et ce essentiellement pour le taux d'IL-4.

Par ailleurs, l'activité antioxydante (évaluée par trois tests : DPPH, NBT et ABTS) semble être corrélée aux paramètres de l'inflammation bronchique au niveau du sang et du LBA (notamment une corrélation significative entre ces trois tests et les taux de monocytes, de neutrophiles, de basophiles et de leucocytes au niveau sanguin ; ainsi que pour les taux de neutrophiles au niveau du LBA).

De plus, cette même activité antioxydante est corrélée moyennement à l'ensemble des paramètres du stress oxydatif étudiés.

Tableau XIII: Corrélations entre les marqueurs de l'inflammation bronchique et ceux du stress oxydatif.

Marqueurs du stress oxydatifs Marqueurs de l'inflammation		Coefficient de corrélation Pearson (R)							
		GPx		CAT		SOD		MDA	
		EQ	H	EQ	H	EQ	H	EQ	H
Sang	Eosinophiles	-0,96*	-0,80	-0,85	-0,72	-0,79	-0,97*	0,99**	0,95*
	Lymphocytes	-0,83	-0,57	-0,75	-0,71	-0,80	-0,92	0,91	0,92
	Monocytes	-0,35	-0,28	-0,08	-0,16	-0,19	-0,54	0,51	0,52
	Neutrophiles	0,54	0,80	0,30	0,15	-0,04	0,28	-0,41	-0,25
	Basophiles	-0,55	-0,42	-0,44	-0,30	-0,59	-0,67	0,69	0,65
	Leucocytes	-0,86	-0,64	-0,78	-0,71	-0,80	-0,94*	0,93	0,93
	IL-4	-0,95*	-0,94*	-0,94*	-0,63	-0,90	-0,91	0,96*	0,89
	Protéines T.	-0,69	-0,99***	-0,39	-0,49	-0,38	-0,74	0,80	0,71
LBA	Eosinophiles	-0,95*	-0,78	-0,93	-0,84	-0,88	-0,99***	0,97*	0,99**
	Lymphocytes	0,89	0,84	0,91	0,80	0,93	0,99**	-0,93	-0,98**
	Monocytes	-0,89	-0,95*	-0,86	-0,55	-0,87	-0,67	0,94*	0,66
	Neutrophiles	-0,54	-0,56	-0,75	-0,83	-0,93	-0,95*	0,62	0,96*
	Basophiles	-0,68	-0,80	-0,76	-0,46	-0,90	-0,84	0,77	0,81
	IL-4	-0,98**	-0,89	-0,81	-0,61	-0,70	-0,91	0,99**	0,89
	Protéines T.	-0,61	-0,67	-0,79	-0,86	-0,94*	-0,98**	0,69	0,99**

p * 0,05; p ** 0,01 ; p *** 0,001.

□ R² 0,50 □ 0,51 R² 0,89 □ 0,90 R² 1

Tableau XIV: Corrélations entre les teneurs en composés phénoliques, l'activité antioxydante et les paramètres de l'inflammation bronchique et ceux du stress oxydatif

			Teneurs en phénols et activité antioxydante <i>in vitro</i>					
			Phénols totaux	Flavonoïdes totaux	Tanins condensés	DPPH	NBT	ABTS
Paramètres de l'inflammation bronchique	Sang	Eosinophiles	0,76	0,39	0,50	0,94	0,96	0,94
		Lymphocytes	0,97	0,76	0,84	0,99*	0,98	0,98
		Monocytes	0,88	0,57	0,67	0,99*	0,99*	0,99*
		Neutrophiles	0,96	0,73	0,81	0,99*	0,99*	0,99*
		Basophiles	0,92	0,65	0,74	0,99*	0,99*	0,99*
		Leucocytes	0,95	0,72	0,80	0,99*	0,99*	0,99*
		IL-4	-0,84	-0,99	-0,97	-0,60	-0,55	-0,57
		Protéines T.	-0,48	-0,82	-0,74	-0,15	-0,08	-0,11
	LBA	Eosinophiles	-0,86	-0,55	-0,65	-0,98	-0,99*	-0,99*
		Lymphocytes	0,39	0,76	0,67	0,05	-0,006	0,01
		Monocytes	-0,65	-0,92	-0,86	-0,35	-0,30	-0,32
		Neutrophiles	0,91	0,63	0,72	0,99*	0,99*	0,99*
		Basophiles	0,41	-0,03	0,09	0,7	0,74	0,72
		Protéines T.	0,66	0,29	0,39	0,88	0,91	0,90
Paramètres du stress oxydatif	GPx	0,81	0,98	0,96	0,57	0,52	0,53	
	CAT	0,46	0,021	0,14	0,74	0,78	0,76	
	SOD	0,62	0,21	0,33	0,85	0,88	0,87	
	MDA	-0,62	-0,21	-0,33	-0,85	-0,88	-0,87	

p * 0,05

R² 0,50
 0,51 R² 0,89
 0,90 R² 1

❖ Discussion

L'asthme est une maladie inflammatoire chronique des voies respiratoires où l'inflammation est souvent associée avec une production accrue de ROS créant un déséquilibre de la balance oxydant/antioxydant (CARAMORI et PAPI, 2004 ; NADEEM et al., 2008). En effet, des recherches récentes suggèrent que le stress oxydant intervient dans la physiopathologie et/ou dans la genèse de l'asthme et pourrait être partiellement associé à un déficit d'apport en éléments antioxydants (KOSHY et al., 2014).

Malgré d'importants progrès en matière de diagnostic et de traitement de cette pathologie, les traitements phytothérapeutiques reçoivent toujours une attention renouvelée (DELLAI et al., 2013). Les produits naturels et les remèdes à base de plantes utilisées en médecine traditionnelle ont été de ce fait la source de nombreux médicaments (BATTEL et al., 2005). Beaucoup de plantes médicinales présentent des activités biologiques et pharmacologiques intéressantes et sont donc utilisées comme agents thérapeutiques (DELLAI et al., 2013).

Pour ces raisons, dans la présente étude, nous avons étudié l'effet anti-inflammatoire et anti-oxydant de *Pistacia lentiscus*, ce buisson étant très répandu en Algérie et très largement utilisé en médecine traditionnelle locale, notamment contre les brûlures mais aussi dans les affections respiratoires (FERRADJI, 2011).

Pour cela, nous avons entrepris une étude comparative entre ses deux formes, huileuse et aqueuse, dans le traitement de l'asthme dans un modèle murin sensibilisé à l'ovalbumine.

Ainsi, au cours de la sensibilisation allergénique, les cellules inflammatoires recrutées (les éosinophiles, les basophiles et les lymphocytes) ont une capacité exceptionnelle de production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (TIWARI et al., 2014). Ceci engendre une augmentation du stress oxydatif, reconnu comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défense antioxydants et la production de ces ERO (FAVIER, 1997).

Il existe plusieurs techniques qui permettent de mesurer les biomarqueurs ou les produits finaux des processus médiés par les ERO, donnant ainsi une estimation de l'importance du stress oxydant (HAJ MOUHAMED et al., 2012). Dans le but d'explorer ce dernier, nous avons mesuré les variations d'un certain nombre de paramètres impliqués dans l'équilibre pro-oxydant/antioxydant, et l'effet protecteur et antioxydant du traitement à l'huile et à l'extrait aqueux de lentisque au niveau de certains tissus : sanguin (érythrocytes), hépatique et pulmonaire.

En effet, les flavonoïdes et l'acide gallique contenus dans cette plante ont la capacité de piéger les radicaux libres et sont donc considérés comme de puissants antioxydants (HÄMÄLÄINEN et al., 2007 ; GARDELI et al., 2008 ; BAMPOULI et al., 2014 ; DAHMOUNE et al., 2014, BAMPOULI et al., 2015).

Il est d'ailleurs bien connu que les ERO surproduits, dans les conditions asthmatiques, sont cytotoxiques et peuvent amplifier l'inflammation, mais surtout ils seraient à l'origine de plusieurs dysfonctionnements enzymatiques (ZHANG et al., 2007). A ce titre, la mesure de l'activité des enzymes impliquées serait un outil valable pour déterminer les causes réelles de l'amplification de la toxicité lorsque les organismes sont exposés à un allergène. A ce titre, le foie, les poumons et le sang sont dotés de plusieurs antioxydants enzymatiques telles que : la glutathion peroxydase (GSH-Px), la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT) pour lutter ensemble contre la toxicité des agents étrangers qui pénètrent dans l'organisme.

Ainsi, les SODs fonctionnent comme première ligne de défense contre le stress oxydant et convertissent les radicaux superoxydes en peroxyde d'hydrogène. Cette fonction n'est efficace que si son activité est suivie par les actions de la CAT et la GPx, car le peroxyde d'hydrogène produit par la SOD est subséquemment nettoyé par ces dernières (DEVAKI et al., 2011).

Cette coopération entre les enzymes antioxydants est perturbée par la libération élevée des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (LARSEN et al., 2000). Ceci explique le fait que nous retrouvons, dans notre présente étude, des diminutions significatives pour les activités enzymatiques de la GPx, la SOD et de la CAT chez les rats sensibilisés, au niveau des trois tissus étudiés.

En fait, la SOD étant une cible pour la nitration et l'oxydation de la tyrosine, ceci pourrait être à l'origine de la déperdition de la fonction de cette enzyme (COMHAIR et al., 2005, JANSSEN et al., 2005). De plus, l'augmentation des taux des radicaux libres générés au cours du stress oxydant déstabilise la structure de la SOD et favorise ainsi le dégagement du Zn à partir de son emplacement actif (BECKMAN, 1997 ; JOHNSON, 2001).

Par ailleurs, la GPx est une enzyme antioxydante clé qui règle le niveau des ERO par sa capacité de réduire non seulement le peroxyde d'hydrogène en eau, mais aussi les hydroperoxydes résultants de l'oxydation des acides gras insaturés.

De cette façon, cette enzyme parviendrait à protéger les cellules contre les dégâts générés par les agents étrangers comme l'ovalbumine (MAK et al., 2004 ; BANO et al., 2012). Ayant besoin du glutathion et du sélénium pour fonctionner correctement, sa diminution significative enregistrée dans la présente étude serait principalement due à une surproduction de peroxyde d'hydrogène et l'épuisement du sélénium et de GSH. En effet, selon MISSO et al. (2005), la conjugaison du GSH aux peptides antigéniques pourrait être la voie majeure de leur élimination. On suppose donc que le glutathion a été utilisé pour l'élimination et la détoxification de l'allergène administré, ce qui a engendré une baisse des taux de ce dernier (TOLANDO et al., 2000 ; SHILA et al., 2005).

La catalase, quant à elle, est un élément important du système de défense antioxydant endogène du poumon. C'est l'une des principales enzymes antioxydantes qui protège les macromolécules biologiques contre les dommages oxydatifs (MISSEBUKPO et al., 2013).

L'augmentation des ERO conduit à la modification et à l'altération des fonctions des protéines, parmi lesquelles la perte de la capacité antioxydante de la catalase ; qui s'est révélée dans notre étude par une diminution significative de son activité chez les rats sensibilisés. Nos résultats confirment ceux de COMHAIR et ERZURUM (2010) ; SUMOZA-TOLEDO et al. (2013) et TIWARI et al. (2014), qui ont montré l'inactivation oxydante de la catalase.

Ce déséquilibre entre les systèmes de défense et de production des radicaux libres entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organisme, parmi lesquelles on note des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique (AL-AFALEG et al., 2011 ; TERZIEV et al., 2012).

Ainsi, l'analyse des radicaux libres dans les membranes biologiques a été effectuée par un test qui nous a permis de déterminer le degré de peroxydation lipidique par une simple mesure spectrophotométrique du malondialdéhyde (MDA), un des produits de dégradation des endoperoxydes cycliques générés pendant l'oxydation des lipides.

Ce paramètre, le MDA, constitue un indicateur précoce d'une agression étrangère et est souvent utilisé comme biomarqueur du stress oxydatif (LADHAR-CHAABOUNI et al., 2007 ; GIGUERE et al., 2003). Ainsi, suite à l'administration de l'ovalbumine (constituant ici l'agression étrangère), le taux de MDA augmente dans le lot sensibilisé témoignant ainsi de la survenue des dommages au niveau des membranes cellulaires des tissus étudiés.

Ce résultat est en accord avec les résultats d'autres études qui ont mis en évidence une augmentation de la peroxydation lipidique après traitement par divers allergènes (ovalbumine, LPS, acariens.. etc.) (HAJ MOUHAMED et al., 2012 ; MISSEBUKPO et al., 2013). Sa teneur est donc en relation étroite avec les dégradations de la membrane cellulaire et permet de montrer l'effet de la pénétration de l'ovalbumine dans l'organisme.

En effet, l'impact de l'ovalbumine sur les activités des enzymes antioxydantes s'accompagne d'une augmentation de la quantité des radicaux libres, dûe à l'augmentation du nombre des cellules inflammatoires activées dans les alvéoles pulmonaires, qui à leur tour peuvent initier la peroxydation lipidique (BULANI et al., 2011 ; TERZIEV et al., 2012 ; MISSEBUKPO et al., 2013).

D'ailleurs, les marqueurs de l'inflammation bronchique sont corrélés positivement avec le MDA et négativement avec le reste des marqueurs du stress étudiés (GPx, CAT et SOD), c'est à dire que l'augmentation des paramètres de l'inflammation bronchique s'accompagne de l'augmentation du MDA, marqueur de la peroxydation lipidique, et de la diminution des enzymes antioxydantes (GPx, CAT, SOD).

En effet, lorsque l'inflammation bronchique s'intensifie et par conséquent le recrutement des cellules inflammatoires augmente, il s'accompagne par l'augmentation du taux des ERO, provoquant un état de stress oxydatif. Ce qui explique une peroxydation lipidique élevée et la diminution d'antioxydants tels que le GPx, la CAT et la SOD.

De plus, dans notre présente étude les lots EQ et H, chez lesquels seuls les extraits de la plante ont été administrés, ne montrent aucune variation significative du taux de MDA par rapport au lot témoin. Les deux extraits maintiennent les systèmes de défense antioxydant et n'influent pas sur la peroxydation lipidique.

D'autre part, leur administration chez les rats sensibilisés à l'OVA a eu un effet bénéfique protecteur en rétablissant les taux des activités anti-oxydantes suscités ainsi que l'inhibition de la peroxydation lipidique. Ce rééquilibre de la balance est dû au potentiel antioxydant élevé de la plante étudiée en raison du pouvoir lié à ses métabolites secondaires (flavonoïdes, polyphénols et acides phénoliques) (BARATTO et al., 2003 ; LJUBUNCIC et al., 2005). Ces derniers sont capables de piéger les radicaux hydroxyles (OH•), les anions superoxydes (O₂•-) et les radicaux peroxylipidiques (PUNITHAVATHI et al., 2011). En effet, l'acide gallique et les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur

groupement hydroxyle (C3-OH) fortement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production des radicaux hydroxyles (OH•) (GHEDIRA, 2005 ; UTRERA et ESTEVEZ, 2013).

Les résultats de BARATTO et al. (2003) et ABDELWAHED et al. (2007) ont aussi suggéré que l'acide gallique et ses dérivés isolés à partir des feuilles de *Pistacia lentiscus* ainsi que les polyphénols isolés à partir de ces fruits ont une activité inhibitrice sur la peroxydation lipidique, telle que nous l'avons trouvé dans cette présente étude.

CONCLUSION

Conclusion

Au terme de notre présente étude, il en ressort que l'huile et l'extrait aqueux de la plante que nous avons choisi, à savoir *Pistacia lentiscus*, ont une activité anti-inflammatoire et antioxydante.

Ainsi, nous avons confirmé le potentiel thérapeutique des deux extraits de cette plante, riches en polyphénols, dans la pathogénèse du processus inflammatoire asthmatique via un modèle d'asthme expérimental murin. En effet, nous avons étudié, en plus des marqueurs de l'inflammation pulmonaire, quelques autres paramètres contribuant à souligner le rôle du stress oxydatif dans la pathogénèse de l'asthme.

Dans ce contexte, nous avons appréhendé l'inflammation allergique via le dosage de certains marqueurs du stress oxydant, tels que le MDA, la GPx, la SOD et la CAT. Les résultats obtenus ont démontré une perturbation du système de défense antioxydant avec un important état d'inflammation au niveau pulmonaire révélé par l'envahissement des voies aériennes par les cellules inflammatoires. Ce qui suggère que le déséquilibre de la balance entre les radicaux libres et les systèmes antioxydants, en faveur des premiers, est l'une des causes principales de l'installation et l'exacerbation de l'asthme allergique.

Toutefois, le traitement par l'huile de lentisque, ou par son extrait aqueux, a permis de stabiliser les changements et le remodelage provoqués dans les poumons par le processus inflammatoire impliqué dans l'asthme. Cette plante, grâce aux métabolites secondaires qu'elle contient, a également diminué de manière significative les éosinophiles et le taux de l'IL-4 dans le sérum et dans le liquide du LBA des animaux asthmatiques, et a eu un effet additif sur l'activité de protection des enzymes antioxydantes.

D'autre part, les résultats obtenus à partir de l'étude histologique du foie, ont montré que l'extrait aqueux de la feuille de lentisque à cette dose (200mg/kg/jour) peut être hépatotoxique.

Ainsi, l'huile de *Pistacia lentiscus*, plus que son extrait aqueux, déjà utilisée dans la médecine traditionnelle, s'est avéré dotée d'activité anti-inflammatoire et antioxydante et possède un pouvoir pharmacologique certain, ce qui explique son usage, fort recommandé, pour le traitement de l'asthme.

Nos résultats ouvrent également d'autres perspectives pour compléter notre travail dont certaines sont présentées ci-dessous :

En ce qui concerne les dérivés phénoliques de la plante qui représentent de bonnes sources d'antioxydants naturels, une étude supplémentaire serait nécessaire afin d'identifier plus de composés ; et ce grâce à des méthodes plus performantes par exemple : la chromatographie liquide à Haute performance couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS). De plus, la recherche du mécanisme moléculaire d'action de ces composés phytochimiques pour l'évaluation de leur potentiel sur les signalisations impliquées dans le processus inflammatoire, ainsi que les enzymes impliquées dans la production des espèces réactives de l'oxygène.

Du point de vue méthodologique, nous pourrions élargir notre étude en appréhendant le stress oxydant et l'inflammation via des marqueurs moléculaires. En effet, les ROS peuvent induire une réponse inflammatoire en médiant/activant des kinases sensibles au stress, lesquelles activent des facteurs de transcription nucléaires sensibles au redox tels que le facteur NFK β (nuclear transcription factor K β). Ces facteurs de transcription, essentiels pour l'expression de gènes inductibles associés avec les réponses inflammatoires et immunitaires, peuvent facilement être étudiés par la technique du western blot.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Abdeldjelil, M.C., Messaï, A., Beghoul, S., Agabou, A., Benazouz, H. et Bensegueni, A. (2011). Pistachier lentisque : place dans la pharmacopée traditionnelle algérienne (cas de la région de Constantine). Le 2ème Séminaire International sur les Plantes Médicinales SIPM'2, Ouargula, P. 27.
- Abdelwahed, A., Bouhlel, I., Skandrani, I., Valenti, K., Kadri, M., Guiraud, P., Steiman, R., Mariotte, A.-M., Ghedira, K., Laporte, F., Dijoux-Franca, M.-G. et 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.
- Abidi, A., Srairi Beji, R., Kourda, N., Ennigrou, S., Ksouri, R. et Jameleddine S. (2016). Effect of *Pistacia lentiscus* oil on inflammatory infiltrate in experimental lung fibrosis in rats. *La tunisie Medicale*, 94 (7): 401-406.
- Abrahami, A., AlkalIn, A., Banatski, B. et Chaoborus, C. (2010). *Pistacia lentiscus*. <http://www.doc-developpement-durable.org/file/Huiles-vegetales.pdf> (Page consultée le 28/03/2017).
- Aebi, H. (1984). Catalase. In: Bergmeyer, H.U. (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. 2. Academic Press, New York, 673–884.
- Agrawal, DK. et Shao, Z. (2010). Pathogenesis of allergic airway inflation curr allergy. *Current Allergy and Asthma Reports*, 10 (1): 39-48.
- Agrobio, R. (2009). Evaluer la capacité antioxydante par des tests *in vitro*. <http://www.agrobio-rennes.com/fr/evaluer-la-capacite-antioxydante-par-des-tests-vitro> (Page consultée le 27/04/2015).
- A.H.Y, A.-R. et A.M.Y., S. (1975) Mastic as antioxidant. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 52, P. 423.
- Al-Afaleg, N.O., Al-Senaïdy, A. et El-Ansary, A. (2011). Oxidative stress and antioxidant status in Saudi asthmatic patients. *Clinical Biochemistry*, 44, 612-617.
- Alkhatib, R. (2010). Étude phytochimique et activité cytotoxique des métabolites secondaires de *Ferula elaeochytris* Korovin et *Ferula lycia* Boiss. (Apiacées). Thèse de Doctorat de l'Université Lille Nord De France, 148 p.
- Allan, K. et Devereux, G. (2011). Diet and Asthma: Nutrition Implications from Prevention to Treatment. *J Am Diet Assoc.*, 111, 258-268.
- Allen, T. et Rana, SVS (2007). Effect of n-propylthiouracil or thyroxine on arsenic trioxide toxicity in the liver of rat. *Journal of trace Element in Medicine and Biology*, 21, 194-203.
- Amit, D., Kandharea, S., Bodhankara, L., Vikas, S. Vishwaraman, M. et Prasad, A. T. (2013). Anti-asthmatic effects of type-A procyanidine polyphenols from cinnamon bark in ovalbumin-induced airway hyperresponsiveness in laboratory animals. *Biomed & Aging Patho.*, 3, 23–30.

- Atmani D., Chafer N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N. et Atmani D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112, 303–309.
- Azaizeh, H., Halahlah, F., Abbas, N., Marcovics, A., Muklada, H., Ungar, DE., et Landau, SY. (2013). Polyphenols from *Pistacia lentiscus* and *Phillyrealatifolia* impair the exsheathment of gastro-intestinal nematode larvae. *Vet Parasitol*, 191, 44–50.
- B**ach, J.F et Chatenoud, L. (2002). Immunologie: hypersensibilité liée aux immunoglobulines E. 4ème édition. Paris. médecine- science. Lavoisier. P 131.
- Balan, K.V., Prince, J., Han, Z., Dimas, K., Cladaras, M., Wyche, J.H., Sitaras, N.M. et Pantazis, P. (2007) Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. *chia*. *Phytomedicine*, 14, 263-272.
- Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine, E-H., Ibijbijen, J. et Nassiri, L. (2015). Valorisation du lentisque « *Pistacia lentiscus* L. » : Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences*, 86, 7966– 7975.
- Bampouli, A., Kyriakopoulou, K., Papaefstathiou, G., Louli, V., Krokida, M. et Magoulas, K. (2014). Comparison of different extraction methods of *Pistacia lentiscus* var. *chia* leaves: Yield, antioxidant activity and essential oil chemical composition. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 1, 81–91.
- Bampouli, A., Kyriakopoulou, K., Papaefstathiou, G., Louli, V., Aligiannis, N., Magoulas, K. et Krokida, M. (2015). Evaluation of total antioxidant potential of *Pistacia lentiscus* var. *chia* leaves extracts using UHPLC–HRMS. *Journal of food engineering*, 167, 25-31.
- Bano, T., Kumar, N. et Dudhe, R. (2012). Free radical scavenging properties of pyrimidine derivatives. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 2, P. 34.
- Baratto, M.C., Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Romani, A., Visioli, F., Basosi, R. et Pogni, R. (2003). Antioxidant activity of galloyl quinic derivatives isolated from *P. lentiscus* leaves. *Free Radical Research*; 37, 405-412.
- Barnes, P.J. et Kharitonov, S.A. (1996). Exhaled nitric oxide: a new lung function test. *Thorax*, 51(3): 233-237.
- Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medicine sciences*, 22, 3, 266-272.
- Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P. et Angioni, A. (2007). Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (17) : 7093–7098.
- Barrett, N.A. et Austen, K.F. (2009). Innate cells and T helper 2 cell immunity in airway Inflammation. *Immunity*, 31 (3): 425-437.
- Batra, V., Musani, AI., Hastie, AT., Khurana, S., Carpenter, KA., Zangrilli, JG. et Peters, SP. (2004). Bronchoalveolar lavage fluid concentrations of transforming growth factor

- (TGF)-beta 1, TGF-beta2, interleukin (IL)-4 and IL-13 after segmental allergen challenge and their effects on alpha-smooth muscle actin and collagen III synthesis by primary human lung fibroblastes. *Clin Exp Allergy*, 34(3): 437-444.
- Battel, T.E., Arbisser, J., et Frank, D.A. (2005). The natural product honokiol induces caspase-dependent apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia (B- CLL) cells. *Blood*, 106, 690–697.
- Battu, V. et Saint-Paul, A. (2014). L’asthme: Maladie et diagnostic. *Actualité pharmaceutiques*, 537, 1-4.
- Baytop, T. (1984). The rapy with medicinal plants in turkey (past and present). Vol. 3255, 1st ed. Istanbul: Publications of the Istanbul University. P 305.
- Baytop, T. (1999). The rapy with medicinal plants in turkey- Past and Present, Seconded. Nobel Publishers, Istanbul. P 20.
- Beckman, JS. (1997). Decreased zinc affinity of amyotrophic lateral sclerosis associated superoxide dismutase mutants leads to enhanced catalysis of tyrosine nitration by peroxynitrite. *J Neurochem*, 69, 1936–1944.
- Belfadel, Z. (2009). Huile de fruits de *Pistacia lentiscus*. Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat), Mémoire de magister en chimie organique, phytochimie, 31 (19), 28-30.
- Berger, P. et Tunon de Lara, J-M. (2007). Mastocytes et asthme, EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Pneumologie, 6-039-A-43.
- Bertrand, D. et Dufour E. (1987). La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques .Ed. Tec et doc, Paris. 55-193
- Beta, T., Nam, s., Dexter, J.E., et Sapirstein, H.D. (2005). Phenolic content and antioxydants Activity of Pearled wheat and Roller-Milled. *Fractions*. Cereal chem, 82 (4): 390-393.
- Beyer, W.F. et Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Anal Biochem.*, 161, 559-566.
- Bhourri, W., Derbel, S., Skandrani, I., Boubaker, J., Bouhleb, I., Sghaier, M. B., Kilani, S., Mariotte, A. M., Dijoux-Franca, M.G., Ghedira, K. et Chekir Ghedira L. (2010). Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicol In Vitro*, 24, 509–515.
- Bice, J.B., Leechawengwongs, E. et Montanaro A. (2014). Biologic target therapy in allergic asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 112 (2):108-115.
- Blanc, F. (2008). développement d’un modèle cellulaire de déclenchement de la réaction allergique. Thèse de doctorat, écoles doctorale ABIES, Paris, 267 p.
- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*, 26, 1199–1200
- Bouaziz, A. (2014). Mise au point d'une forme stable de l'allergène Der P3 de Dermatophagoides pteronyssinus pour le diagnostic rapide et le développement de nouvelles approches d'immunothérapie de l'allergie aux acariens. Thèse de doctorat en

- Biochimie, Biophysique et Biologie moléculaire. Université de Liège, Belgique, 104 p.
- Boulet, L. P. (1997). L'asthme. Université Laval. Québec, 95 p.
- Boumendjel, A. (2012). Synthèse des IgE et asthme allergique: Aspects moléculaires et rôles de l'IL-27 Etude clinicobiologique dans une population pédiatrique asthmatique à Annaba. Presses Académiques Francophones. 176 p. ISBN 978-3-8381-7026-8
- Boyce, J. (2007). Mast cells and eicosanoid mediators: a system of reciprocal paracrine and autocrine regulation. *Immunol. Rev.*, 217, 168-185.
- Bradford M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- Brightling, C.E., Symon F. A., Birring, S.S., Bradding, P., Pavord, I.D. et Wardlaw, A.J. (2002). Th2 cytokine expression in bronchoalveolar lavage fluid T lymphocytes and bronchial submucosa: a feature of asthma and eosinophilic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol*, 110, 899-95.
- Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier (4e ed.) Paris. P 1243.
- Bulani, V., Biyani, K., Kale, R., Joshi, U., Charhate, K., Kumar, D. et Pagore, R. (2011). Inhibitory effect of *Calotropis gigantea* extract on Ovalbumin-induced airway inflammation and Arachidonic acid induced inflammation in a murine model of asthma. *International Journal of Current Biological and Medical Science*, 1(2): 19 – 25.
- Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S., Vasson, M.-P., Hasselmann, M. et Leverve, X. (2007). Traité de nutrition artificielle de l'adulte : nourrir l'homme malade. 3^e éd, Springer, Paris. P 443.
- Caramori, G. et Papi A. (2004). Oxidants and asthma. *Thorax*, 59, 170-173.
- Cariello, C. (2012). La spectrométrie de masse MALDI-TOF et le diagnostic microbiologique <http://www.essante.ch/wp-content/uploads/2013/02/La-spectrom%C3%A9trie-de-masse-MALDI-TOF-et-le-diagnostic-microbiologique.pdf> (page consultée le 22/04/2016).
- Carmona, A. (1996). Tannins: thermostable pigments which complex dietary proteins and inhibit digestive enzymes. *Archives of Latino-american Nutrition*, 44 (4): 31-35.
- Caughey, G.H. (2007). Mast cells, tryptases and chymases in inflammation and host defense. *Immunol Rev*, 217, 141-154.
- Chang, R.H., Feng, M.H., Liu, W.H., et Lai, M.Z. (1997). Nitric oxide increased interleukin-4 expression in T lymphocytes. *Immunology*, 90 (3): 364-369.
- Cheng, S. S., Liu, J. Y., Chang, E. H. et Chang S. T. (2008). Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bioresource Technology*, 99(11): 5145-5149

- Cherot- Kornobis, N. (2012). Evaluation méthodologique et clinique des marqueurs de l'atteinte pulmonaire dans l'air exhalé : comparaison de sujets présentant une pathologie respiratoire chronique et des sujets témoins. *Human health and pathology*. Université du Droit et de la Santé- Lille II. French, P 13.
- Comhair S.A.A., Xu W., Ghosh S., Thunnissen F.B.J.M., Almasan A., Calhoun W.J., Janocha A.J., Zheng L., Hazen S.L. et Erzurum S.C. (2005). Superoxide Dismutase Inactivation in Pathophysiology of Asthmatic Airway Remodeling and Reactivity. *American Journal of Pathology*, 166 (3) : 663-674.
- Comhair, S.A. et Erzurum, S.C. (2010). Redox control of asthma: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*, 12 (1): 93-124.
- Conforti, F., Sosa, S., Marrelli, M., Menichini, F., Statti, G. A., Uzunov, D., Tubaro, A. et Loggia, R. D. (2008). In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(1): 144-15.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4): 564-582.
- Crystal (2016). Effets secondaires de mastic. <http://www.terre-acadie.com/xOqKpAbX.html> (page consultée le 28/03/2017).
- Cushnie, T.P.T. et Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343-356.
- D**ahlen, S.E. (2006). Treatment of asthma with antileukotrienes: first line or last resort therapy, 1. *Eur. J. Pharmacol*, 533 (1-3) : 40-56.
- Dahmoune, F., Spigno, G., Moussi, K., Remini, H., Cherbal, A. et Madani, K. (2014). *Pistacia lentiscus* leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction. *Industrial Crops and Products*, 61, 31-40.
- De Waal Malefyt, R., Abrams, J.S., Zurawski, S.M., Lecron, J.C., Mohan-Peterson, S., Sanjanwala, B., Bennett, B., Silver, J., De Vries, J.E. et Yssel, H. (1995). Differential regulation of IL-13 and IL-4 production by human CD8⁺ and CD4⁺ Th0, Th1 and Th2 T cell clones and EBV-transformed B cells. *Int Immunol*, 7(9): 1405-1416.
- Decandia, M., Sitzia, M., Cabiddu, A., Kababya, D. et Molle, G. (2000). The use of polyethylene glycol to reduce the anti-nutritional effects of tannins in goats fed woody species. *Small Ruminant Research, The Journal of the International Goat Association*, 38, 157-164.
- DeFranco, A.L., Locksley, R.M. et Robertson, M. (2009). L'asthme. In immunité : la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. De Boeck Edition. 1^{er} Edition, Paris. P 365.
- Dedoussis, G.V.Z, Kaliora, A.C., Psarras, S., Chiou, A., Mylona, A., Papadopoulos, N.G. et Andrikopoulos, N.K. (2004). Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*, 174, 293-303.

- Dellai, A., Souissi, H., Borgi, W., Bouraoui, A. et Chouchane, N. (2013). Antiinflammatory and antiulcerogenic activities of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts. *Industrial Crops and Products*, 49, 879-882.
- Delmas, M.-C. et Fuhrman, C. (2010). L'asthme en France : synthèse des données épidémiologiques descriptives. *Revue des Maladies Respiratoires*, 27, 151 – 159.
- Devaki, M., Nirupama, R. et Yajurvedi, H.N. (2011). Reduced antioxidant status for prolonged period due to repeated stress exposure in rat. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7 (2): 139-147.
- Dizier, M.H., Besse-Schmittler, C., Guilloud-Bataille, M., Annesi-Maesano, I., Boussaha, M., Bousquet, J., Charpin, D., Degioanni, A., Gormand, F., Grimfeld, A., Hochez, J., Hyne, G., Lockhart, A., Luillier-Lacombe, M., Matran, R., Meunier, F., Neukirch, F., Pacheco, Y., Parent, V., Paty, E., Pin, I., Pison, C., Scheinmann, P., Thobie, N., Vervloet, D., Kauffmann, F., Feingold, J., Lathrop, M. et Demenais, F. (2000). Genome screen for asthma and related phenotypes in the French EGEA study. *Am. J. Respir. Crit Care Med.*, 162 (5) : 1812-1818.
- Djenane, D., Yangüela, J., Montañés, L., Djerbal, M. et Roncalés, P. (2011). Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control*, 22, 1046-1053.
- Donatien, K. (2009). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes-extraction, identification d'alcaloïdes- caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante, Thèse de doctorat soutenue à la Faculté des Sciences et Techniques de Bamako. France, 188 p.
- Dong, M.W. (2006). Modern HPLC for practicing scientists. 1ère éd. Wiley.Pp. 304.
- Dutau, G. (2004). Biologie en allergologie: Conduite à tenir devant une hyperéosinophilie. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 44, 664-667.
- E**l Ftouh, M., Yassine, N., Benkheder, A., Bouacha, H., Nafti, S., Taright, S., Fakhfakh, H., Ali-Khoudja, M., Texier, N. et El Hasnaoui, A. (2009). Asthma in North Africa : the Athma In sights an Reality in the Maghreb (AIRMAG) Study. *Respir Med*, 13, 21-29.
- El Heni, J., Messaoudi, I., Hamouda, F. et Kerkeni, A. (2008). Protective effects of selenium (Se) and zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver and kidney of the rat: Histology and Cd accumulation. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2008, 3522-3527.
- Elwood, W., Lotvall, J.O., Barnes, P.J. et Chung, K.F. (1991). Characterization of allergen-induced bronchial hyperresponsiveness and airway inflammation in actively sensitized brown-Norway rats. *J Allergy Clin Immunol.*, 88, 951–960.
- Elwood, W., Barnes, P. et Chung, K.F. (1992). Airway hyperresponsiveness is associated with inflammatory cell infiltration in allergic Brown-Norway rats. *Int Arch Allergy Immunol.*, 99, 91–97.

- Erzurum, S.C. (2015). Asthma Department of Pathobiology. <http://www.lerner.ccf.org/pathobio/labs/erzurum/research.php> Serpil C. Erzurum. asthma (Page consultée le 17/03/2015).
- Eswar Kumar, K., Harsha, K. N., Sudheer, V. et Giri Babu N. (2013). In vitro antioxidant activity and in vivo hepatoprotective activity of aqueous extract of *Allium cepa* bulb in ethanol induced liver damage in Wistar rats. *Food Science and Human Wellness*, 2, 132–138.
- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H. et Jungens, G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic. Biol. Med.*, 13, 341-390.
- F**avier, 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). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. Pp. 108-115.
- Flohe, L. et Gunzler, W.A. (1984). Analysis of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.*, 105, 114–121.
- Ferradji, A. (2011). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies de *Pistacia lentiscus*. Mémoire de magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas Sétif (Algérie), 67 p.
- Finkelman, FD. (2007). Anaphylaxis : lessons from mouse models. *J Allergy Clin Immunol*, 120 (3): 506-515.
- Froment, R. (2015). L'allergie alimentaire: nos animaux de compagnie aussi. <http://www.sciencepresse.qc.ca/blogue/2015/03/12/lallergie-alimentaire-nos-animaux-compagnie-aussi>. (page consultée le 12/03/2015).
- G**alli, S.J., Grimbaldston, M.A. et Tsai, M. (2008). Immunomodulatory mast cells : negative, as well as positive, regulators of immunity. *Nature Rev Immunol*, 8, 478-486.
- Gao, G.X., Li, Q.M. et Shena, H.H. (2009). Effect of Astragali-Cordyceps Mixture on TGF- β /Smad signal pathway in the lung of asthma airway remodeling. *Journal of Ethnopharmacology*, 125 (1): 68-74.
- 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, Université Joseph Fourier, Grenoble (FRANCE), P 195.
- Gardeli, C., Papageorgiou, V., Mallouchos, A., Theodosis, K. et Komaitis, M. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107, 1120-1130.
- Gaspard, K.J. et Twite, K. (2005). Hematopoietic Function. C.M. Porth (Ed.), *Pathophysiology: Concept of Altered Health States*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 277–337.

- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4, 162-169.
- Giguère, A., Couillard, Y., Campbell, P.G., Perceval, O., Hare, L., Pinel-Alloul, B. et Pellerin, J. (2003). Steady-state distribution of metals among metallothionein and other cytosolic ligands and links to cytotoxicity in bivalves living along a polymetallic gradient. *Aquatic Toxicology*, 64 (2): 185–200.
- Gobbi, R. et Khebbaz, W. (2014). Traçabilité de l'identification des métabolites secondaires végétaux. Mémoire de Licence. Université Kasdi Merbah, Ouargla (Algérie). Pp 36-38.
- Gosselin, O.M. (2001). Role des endothelines dans un modèle murin d'asthme allergique. Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'université Laval pour l'obtention du grade de maître des sciences (M.Sc.).Canada.119 p.
- Gravot, A. (2009). Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. <https://perso.univ-rennes1.fr/antoine.gravot/Métabolites%20secondaires2009.doc> (Page consulté le 13/04/2016)
- Guenzet, A. (2012). Effets des extraits aqueux lyophilisés de *Portulaca oleracea* et *Zygophyllum gaetulum* sur le profil lipidique et le statut redox, chez les rats rendus diabétiques par injection de streptozotocine. Mémoire de magister en nutrition clinique et métabolique, université d'Oran (Algérie). 12-13.
- Guignard, J.L. (2000). Biochimie végétale. 2ème édition Dunod. 188 p.
- Gusbin, N., Garzaniti, N. et Louis R. (2006). Asthme et tabac. *Rev Med Liege*, 61 (2): 81-86.
- Gould, H. J. et Sutton, B. J. (2008). IgE in allergy and asthma today. *Nat Rev Immunol*, 8(3): 205-217.
- H**aj Mouhamed, D., Ezzaher, A., Neffati, F., Douki, W., Gaha, L. et Najjar, M.F. (2012). Risque d'hyperthyroïdie dans une population de fumeurs tunisiens. *Annales de Biologie Clinique*, 70 (2) : 199-206.
- Halwani, R., Al-Muhsen, S., Al-Jahdali, H. et Hamid, Q. (2011). Role of transforming growth factor- β in airway remodeling in asthma. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 44 (2): 127-133.
- Hämäläinen, M., Nieminen, R., Vuorela, P., Heinonen, M. et Moilanen, E. (2007). Antiinflammatory effects of flavonoids: genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein inhibit STAT-1 and NF-kappaB activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only NF-kappaB activation along with their inhibitory effect on iNOS expression and NO production in activated macrophages. *Mediators of Inflammation*, 2007, 10 p.
- Hamid, Q. et Tulic, M. (2009). Immunobiology of asthma. *Annu Rev Physiol*, 71, 489-507.
- Hammad, H. et Lambrecht, B.N. (2006). Rôle des différentes populations de cellules dendritiques dans l'asthme allergique. *Revue française d'allergologie et d'immunologie Clinique*, 46, 128-130.

- Hammad, H. et Lambrecht, B.N. (2008). Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma. *Nat. Rev. Immunol.*, 8 (3) : 193-204.
- Has, (2009). Asthme de l'enfant de moins de 36 mois : diagnostic, prise en charge et traitement en dehors des épisodes aigus. <http://www.has-sante.fr/>. (Page consultée le 22/03/2015)
- Hatzidimitriou, Ef., Nenadis, N. et Tsimidou, M.Z. (2007). Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity (aw) conditions. *Food Chemistry*, 105, 1504-1511.
- Holgate, S.T. (2008). Pathogenesis of asthma. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* ; 38(6):872-897.
- Hopkins, W.G. (2003). Physiologie végétale. De Boeck Université. Paris, 1er édition. 515 p.
- Hossain, M. A. et Shah, M. D. (2015). A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia borneensis*. *Arab. J. Chem.*, 8, 66-71.
- I**nvitrogen corporation, (2010). Elisa-Kit Rat IL-4. Catalog KRCCO041. 20 p.
- Isidoro-García, M., Dávila, I., Laffond, E., Moreno, E., Lorente, F. et González-Sarmiento, R. (2005). Interleukin-4 (IL4) and Interleukin-4 receptor (IL4RA) polymorphisms in asthma: a case control study. *Clin Mol Allergy*, 15(3): 7 p.
- J**ae-Hyun, L., Jung-Ho, S., Su Yeon, R., Chein-Soo, H., Kyung, D.M. et Jung-Won, P. (2013). A novel human anti-VCAM-1 monoclonal antibody ameliorates airway inflammation and remodelling. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 17 (10): 1271-1281.
- Janakat, S. et Al-Merie, H. (2002). Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *Journal of Ethnopharmacology*, 83, 135-138.
- Janssen-Heininger, Y., Ckless, K., Reynaert, N. et vand, V. (2005). SOD inactivation in asthma: bad or no news. *Am J Pathol*, 166, 649-652.
- Johnson, M.A., Macdonald, T.L., Mannick, J.B., Conaway, M.R. et Gaston, B. (2001). Accelerated s-nitrosothiol breakdown by amyotrophic lateral sclerosis mutant copper, zinc-superoxide dismutase. *J Biol Chem*, 276 (43) : 39872–39878.
- Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A. et Stevens P. (2002). Botanique systématique : une perspective phylogénétique. De Boeck Université. 1er édition. Bruxelles, 467 p.
- Julkenen –Tiito, R. (1985). Phenolics constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *J Agric food chem*, 33, 213-217.
- Jung, C.H., Lee, J.Y., Park, J.H., Cho, B.J., Sim, S.S. et Kim, C.J. (2010). Flavonols attenuate the immediate and late-phase asthmatic responses to aerosolized ovalbumin exposure in the conscious guinea pig. *Fitoterapia*, 81, 803–812.

- K**andasamy, R.G.R., Hellermann, S.S., Mohapatra, R.F. et Lockey, A. (2012). Flavonoid-Rich Alcoholic Extract of Leaves of *Achyranthes Aspera* Reduces Inflammation in a Murine Model of Ova- Induced Asthma. *J Allergy Clin Immunol.*, 129, AB78.
- Karamac, M., Kosicska, A. et Pegg, R.B. (2005). Comparison of radical-scavenging activities for selected phenolic acids. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 14/55 (2): 165-170.
- Karnouf, N. (2009). Effet des extraits de *Capparis spinosa L.* sur la dégranulation et le chimiotactisme des neutrophiles humains. Mémoire de MAGISTER. Université de Farhat Abbas, Setif, 79 p.
- Karou, D., Dicko, M.H., Simpore, J., et Traore, A.S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *AJB.*, 4(8): 823-828.
- Kay, A.B., Phipps, S. et Robinson, D.S. (2004). A role for eosinophils in airway remodeling in asthma. *Trends in Immunology*, 25 (9): 477-482.
- Khajeh, M., Yamini, Y., Bahramifar, N., Sefidkon, F. et Pirmoradei, M.R. (2005). Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*, 91, 639-644.
- Kharitonov, S.A., Yates, D., Robbins, R.A., Logan-Sinclair, R., Shinebourne, E.A. et Barnes, P.J. (1994). Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet*, 343(8890), 133-135.
- Kim, H.P., Son, K.H., Chang, H.W. et Kuang, S.S. (1996). Flavonoids: Potential anti-inflammatory agents. *Nat Prod Sci*, 2(1) : 1-8.
- Kim, S.-H., Chang-Duk, J., Kyongho, S., Byung-Ju, C., Hyunjeung, L., Seunja, P., Seung, H.L., Hye-Young, S., Dae-Keun, K. et Tae-Yong, S. (2006). Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells. *Toxicological Sciences*, 91 (1) : 123-131.
- Kim, N.S. et Lee, D.S. (2002). Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.*, 982, 31-47.
- Kirkham, P. et Rahman, I. (2006). Oxidative stress in asthma and COPD: antioxidants as atherapeutic strategy. *Pharmacology and Therapeutic*, 111 (2) : 476-494.
- Kleis, S., Louis, R. et Bartsch, P. (2003). Ozone et asthme : un couple dans l'air du temps. *Rev Med Liege*, 58 (3) : 132-138.
- Kodesh, E., Zaldivar, F., Schwindt, C., Tran, P., Yu, A., Camilon, M., Nance, D.M., Leu, S.-Y., Cooper, D. et Adams, G.R. (2011). A rat model of exercise-induced asthma: a nonspecific response to a specific immunogen. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 300 (4): 917-924.
- Koehlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*, 20, 165-177.

- Kordali, S., Cakir, A., Zengin, H. et Duru, M. E. (2003). Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in Turkey. *Fitoterapia*, 74, 164–167.
- Koshy, S., Huq, R., Tanner, M.R., Atik, M.A., Porter, P.C., Khan, F.S., Pennington, M.W., Hanania, N.A., Corry, D.B. et Beeton, C. (2014). Blocking KV1.3 channels inhibits Th2 lymphocyte function and treats a rat model of asthma. *The Journal of Biological Chemistry*, 289 (18) : 12623-12632.
- Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes* Schweinfurth) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat. Muséum National D'histoire Naturelle. Paris, 346 p.
- Kuipers, H. et Lambrecht, B.N. (2004). The interplay of dendritic cells, Th2 cells and regulatory T cells in asthma. *Curr Opin Immunol*, 16(6) : 702–708.
- L**adhar-Chaabouni, R., Gargouri, R. et Hamza Chaffai, A. (2007). Effect of cadmium on some biomarkers in the clam *Ruditapes decussatus*: metallothionein quantification using two techniques. *International Journal of Environment and Pollution*, 30 (3-4): 593–605.
- Lagunez Rivera, L. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, Toulouse, 331 p.
- Larsen, G.L., White, C.W., Takeda, K., Loader, J.E., Nguyen, D.D., Joetham, A., Groner, Y. et Gelfand, E.W. (2000). Mice that overexpress Cu/Zn superoxide dismutase are resistant to allergen-induced changes in airway control. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 279 (2): 350–359.
- Laskin, D. L., Pendino, K. J., Punjabi, C. J., Rodriguez del Valle, M. et Laskin, J.D. (1994). Pulmonary and hepatic effects of inhaled ozone in rats. *Environ. Health Perspect*, 102(10) : 61-64.
- Lawrence, S. G. (1999). Asthma, Oxidant stress and diet. *Nutrition*, 15, 899 -907.
- Leprieur, M., (1860). Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques. Journal de médecine, chirurgie et de pharmacie, 3ème volume, Publié par la société de science médicale et naturelle de Bruxelles. (BELGIQUE). 614-615.
- Li, N., Hao, M., Phalen, R.F., Hinds, W.C. et Nel, A.E. (2003). Particulate air pollutants and asthma a paradigm for the role of oxidative stress in PM-induced adverse health effects. *Clinical Immunology*, 109 (3) : 250–265.
- Liao, C-L., Lai, K-C., Huang, A-C., Yang, J-S., Wu, S-H., Wood, W. G., Lin, J-G., Lin, J-J. et Chung, J-G. (2012). Gallic acid inhibits migration and invasion in human osteosarcoma U-2 OS cells through suppressing the matrix metalloproteinase-2/-9, protein kinase B (PKB) and PKC signaling pathways. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 1734-1740.
- Liu, K.Y. P., Hu, S., Chan, B. C. L., Wat, E. C. L., Lau, C.B. S., Hon, K.L., Fung, K.P., Leung, P.C., Hui, P. C. L., Lam, C.W. K. et Wong, C. K. (2013). Anti-Inflammatory

- and Anti-Allergic Activities of Pentaherb Formula, Moutan Cortex (Danpi) and Gallic Acid. *Molecules*, 18, 2483-2500.
- Ljubuncic, P., Song, H., Cogan, U., Azaizeh, H. et Bomzon, A. (2005). The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *Australian Journal of Ethnopharmacology*, 100, 198–204.
- Longo, L., Platini, F., Scardino, A., Alabiso, O., Vasapollo, G. et Tessitore, L. (2008). Autophagy inhibition enhances anthocyanin-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer Ther*, 7, 2476-2485.
- Louis, R., Schleich, F., Corhay, J-L. et Louis, E. (2012). L’asthme : une maladie complexe mettant en jeu facteurs environnementaux et terrain génétique. *Rev Med Liège*, 67 (5-6) : 286-291.
- M**acheix, J-J., Fleuriet, A. et Billot, J. (1990). Fruit phenolics, CRC press, Boca Roton. In : les polyphénols en agroalimentaire Sarni-Manchado P, Cheynier Vol. 2006., Tec et Doc Lavoisier, Paris, 378 p.
- Macheix, J-J., Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d’importance économique. Presse polytechniques et universitaires Romandes, Lausanne (Italie), 187 p.
- Magiatis, P., Melliou, E., Skaltsounis, A., Chinou, I. B. et Mitaku, S. (1999). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var. *chia*. *Planta Med*, 65, 749-751.
- Mahmoud, Y.I. (2012). Grape seed extract attenuates lung parenchyma pathology in ovalbumin-induced mouse asthma model: An ultrastructural study. *Micron*, 43 (10): 1050-1059.
- Maire, B., Ben Romdhane, H., Atek, M., Kolsteren, P., Padilla, M., Gaigi, S. et Houti, L. (2007). Epidemiological Transition And Health Impact In North Africa. www.and.s.dz/insp/DOC_ENS_Novembre_2007_tahina.pdf. (Page consultée le 01/02/2015)
- Mak, J.C. W., Leung, H. C. M., Ho, S. P., Law, B. K. W., Lam, W. K., Tsang, K. W. T., Ip, M. S. M. et Chan-Yeung, M. (2004). Systemic oxidative and antioxidative status in Chinese patients with asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114 (2) : 260-264.
- Malecky, M. (2008). Métabolisme des terpénoides chez les caprins. Thèse de Doctorat de l’Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l’Environnement, AgroParisTech, 205 p.
- Manthey, J.M. (2000). Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirc*, 7, 28-34.
- Marone, G., Triggiani, M. et De Paulis, A. (2005). Mast cells and basophils: friends as well as foes in bronchial asthma. *Trends Immunol*, 26(1): 25-31.
- Marrouf A. et Tremblin G. (2009). Abrégé de biochimie appliqué, EDP science. 1er Edition, Grenoble, 484 p.

- Masini, E., Giannini, L., Nistri, S., Cinci, L., Mastroianni, R., Xu, W., Comhair, S.A. A., Li, D., Cuzzocrea, S., Matuschak, G.M. et Salvemini, D. (2008). Ceramide: a Key Signaling Molecule in a Guinea Pig Model of Allergic Asthmatic Response and Airway Inflammation. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 324 (2): 548–557.
- Mausser, P. J., House, H., Jones, H., Correll, G., Boyce C. et Chapman R.W. (2013). Pharmacological characterization of the late phase reduction in lung functions and correlations with microvascular leakage and lung edema in allergen-challenged Brown Norway rats. *Pulmon Pharmacology & Therapeutics*, 26 (6) : 677-684.
- Medina-Tato, D.A, Watson, M.L et Ward, S.G, (2006). Leukocyte navigation mechanisms as targets in airway diseases. *Drug Discovery Today*, 11 (19-20) : 866-879.
- Mee-Young, L., Chang-Seob, S., Nam-Hun, L., Heykyung, H., Jin-Ah, L., Hoyoung, L., Kyoung-youl, L. et Hyeun-Kyoo, S. (2010). Anti-asthmatic effect of schizandrin on OVA-induced airway inflammation in a murine asthma model. *International Immunopharmacology*, 10, 1374–1379.
- Messarah, M., Boumendjel, A., Chouabia, A., Klabet, F., Abdennour, C., Boulakoud, M.S. et Feki, A.E. (2010). Influence of thyroid dysfunction on liver lipid peroxidation and antioxidant status in experimental rats. *Experimental and Toxicological Pathology*, 62, 301-310.
- Miara, M.D., Ait Hammou, M. et Hadjadj Aoul, S. (2013). Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*, 11, 206-218
- Missebukpo, A., Metowogo, K., Diallo, A., Lawson-Evi, P., Eklu-Gadegbeku, K., Aklikokou, K. A. et Messanvi, G. (2013). Antioxidant effects of *Ixora coccinea* Linn. in a rat model of ovalbumin-induced asthma. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7 (42) : 2794-2800.
- Misso, N.L., Brooks-Wildhaber, J., Ray, S., Vally, H. et Thompson, P.J. (2005). Plasma concentrations of dietary and nondietary antioxidants are low in severe asthma. *European Respiratory Journal*, 26 (2) : 257-264.
- Munitz, A. et Levi-Schaffer F. (2004). Eosinophils: new roles for old cells. *Allergy*, 59, 268-275.
- Nadeem, A., Masood, A. et Siddiqui, N. (2008). Oxidant-antioxidant imbalance in asthma: scientific evidence, epidemiological data and possible therapeutic options. *There. Adv. Respir. Dis.*, 22, 15-35.
- Nait Achour K. (2012). Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces eucalyptus poussent dans la région de tizi ousou. Mémoire de magistère. Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, 123p.
- Namgoong, S.Y., Son, K.H., Chang, H.W., Kang, S.S. et Kim, H.P. (1994). Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Sci.*, 54(5) : 313-320.

- Nanjo, F., Goto, K., Seto, R., Suzuki, M., Sakai, M. et Hara, Y. (1996). Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radic Biol Md.*, 21(6): 895-902.
- Nemeth, E., Rivera, S., Gabayan, V., Keller, C., Taudorf, S., Pedersen, B.K. et Ganz, T. (2004). IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J. Clin. Invest.*, 113, 1271–1276.
- Neuzil, J. et Stocker, R. (1993). Bilirubin attenuates radical- mediated damage to serum albumin. *FEBS Letters*, 331, 281-284.
- Niho N., Shibutani M., Tamura T., Toyoda K., Uneyama C., Takahashi N. et Hirose M. (2001). Subchronic toxicity study of gallic acid by oral administration in F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*, 39, 1063-1070.
- Novartis (PHARMA SAS) (2006). Xolair Omalizumab. 18-20.
- O**berholzer, H. M. et Pretorius, E. (2009). Investigating lung remodeling in Modul8-treated BALB/c asthmatic animals. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 40 (8): 775-782.
- Oelrichs, P.B., Pearce, C.M., Zhu, J. et Filippich, L.J. (1994). Isolation and structure determination of terminalin A toxic condensed tannin from *Terminalia oblongata*. *Natural Toxins*, 2, 144-150.
- Okada, S., Hasegawa, S. , Hasegawa, H. , Ainai, A., Atsuta, R., Ikemoto, K., Sasaki, K., Toda, S., Shirabe, K., Takahara, M., Harada, S., Morishima, T. et Ichiyama, T. (2013). Analysis of bronchoalveolar lavage fluid in a mouse model of bronchial asthma and H1N1 2009 infection. *Cytokine*, 63(2):194–200.
- Olivenstein, R., T., Du, L.J., Xu et J.G.M. (1997). Microvascular leakage in the airway wall and lumen during allergen induced early and late responses in rats. *Pulm Pharmacol Ther.*, 10, 223-230.
- Ouedraogo, R.A., Koala, M., Dabire, C., Hema, A., Bazie, V.B.E.J.T., Ouattara, L.P., Gnoula, C., Pale, E. et Nebie, R. H.C. (2015). Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d'oignons (*Allium cepa* L.) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9(1): 281-291.
- Ouis, N. (2015). Eude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de Doctorat, Université d'Oran, 223p.
- P**acheco, Y., Cheria Sammari, S., Chabannes, B., Gormand, F., Aloui, R., Perrin-Fayolle, M. et Lagarde, M. (1994). Perturbations des métabolismes lipidique et oxydatif dans les processus inflammatoires immuno-allergiques. *Rev. fr. Allergol.*, 34 (2) :117-126.
- Pankaj, G., Wadibhasme, M. Ghaisas, M.M. et Prasad, A. (2011). Thakurdesai Anti-asthmatic potential of chrysin on ovalbumin-induced bronchoalveolar hyperresponsiveness in rats. *Pharmac Bio.*, 49, 508–515.

- Pannala, A.S., Chan, T.S., O'Brien, P.J. et Rice-Evans, C.A. (2001). Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: Fast reaction kinetics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 282, 1161-1168.
- Park, H.S., Kim, S.R. et Lee, Y.C. (2009). Impact du stress oxydatif sur les maladies pulmonaires. *Pneumologie* ; 14 (1) : 27-38.
- Patel, J.M. et Bahadur, A. (2011). Histopathological manifestations of sub lethal toxicity of copper ions in *Catla catla* (Hamilton). *American Eurasian journal of toxicological science*, 3, 01-05.
- Pearce, N., Aït-Khaled, N., Beasley, R., Mallol, J., Keil, U., Mitchell, E. et Robertson, C. (2007). Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms, Phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax*, 62, 758 – 766.
- Penchev, P.I. (2010). Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat université Toulouse, 229 p.
- Peters-Golden, M. (2004). The alveolar macrophage: the forgotten cell in asthma, *Am J Respir Cell Mol Biol*, 31(1): 3–7.
- Petsky, H.L., Kynaston, J.A., Turner, C., Li, A.M., Cates, C.J., Lasserson, T.J. et Chang, A.B. (2007). Tailored interventions based on sputum eosinophils versus clinical symptoms for asthma in children and adults. *Cochrane Database Syst Rev*, 18(2): 30 p.
- Pham Van, L. (2010). Modulation de la réponse immunitaire par des agonistes de la voie de signalisation TLR/IL-1R dans le modèle d'asthme. Thèse de Doctorat à l'Université de Paris Descartes, Paris, 252 p.
- Pin, I. (2004). Asthme du nourrisson et de l'enfant. *Supplément des Archives de Pédiatrie*, 9, 337-421.
- Pitrez, P.M., Gualdi, L.P., Barbosa, G.L. , Sudbrack, S. , Ponzi, D. , Cao, R.G. et Silva, A.C.A. (2015). Effect of different helminth extracts on the development of asthma in mice: The influence of early-life exposure and the role of IL-10 response. *Experimental Parasitology*, 156, 95–103.
- Plé, C., Tsicopoulos, A. et Duez, C. (2012). Cellules Natural Killer et asthme allergique. *Revue française d'allergologie*, 52, 86–89.
- Plé, C. (2010). Rôle des cellules natural killer dans l'asthme Allergique. Thèse de doctorat en sciences de la vie et de la sante en immunologie. Université de lille II. 298 p.
- Poisson, J.E. (2011). Alcaloïdes, *Encyclopædia Universalis* [en ligne]. <http://www.universalis.fr/encyclopedie/alcaloïdes>
Page consultée le : 08/04/2017
- Proestos, C., Boziaris, I.S., Nychas, G.-J.E. et Komaitis, M. (2006). Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 95, 664-671.

- Punithavathi, V.R., Prince, P. S. M., Kumar, R. et Selvakumari, J. (2011). Antihyperglycaemic, antilipid peroxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats. *European Journal of Pharmacology*, 650, 465-471.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. et Pouységu, L. (2011). Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie - International Edition*, 50(3): 586-621.
- Ragendra Sozhan, S., Yang, S. R., Edirisinghe, I., Yao, H., Adenuga, D. et Rahman, I. (2008). Deacetylases and NF κ B in redox regulation of cigarette smoke induced lung inflammation: epigenetics in pathogenesis of COPD. *Antioxid Redox Signal*, 10(4) : 799-811.
- Rahmani, I., Biswas, S.K. et Kode, A. (2006). Oxydant et l'équilibre antioxydant dans les voies respiratoires et les maladies des voies respiratoires. *Eur J Pharmacol*, 533, 222-239.
- Re R., Pellegrini N., Proteggenete A., Pannala A., Yang M. et Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation the colorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Reimund, J-M. (2002). Stress oxydant au cours des syndromes inflammatoires chroniques. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16, 275–284.
- Remila, S., Atmani-Kilani, D., Delemasure, S., Connat, J-L., Azib, L., Richard, T. et Atmani, D. (2015). Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*, 7, 274–286.
- Renauld, J.C., (2001). New insights into the role of cytokines in asthma. *J ClinPathol*, 54, 577–589.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. et Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7): 933-956.
- Rira, M. (2006). Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins, mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Magister en : biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine (Algérie). P 14.
- Rivera, J. et Gilfillan, A.M. (2006). Molecular regulation of mast cell activation. *J Allergy Clin Immunol*, 117, 1214-1225.
- Robert, V., Triffaux, E., Savignac, M. et Pelletier, L. (2011). Implication des canaux calciques dans la fonction de lymphocytes T responsables de l'asthme allergique. *Revue française d'allergologie*, 51, 541-547.
- Rodríguez-Pérez, C., Quirantes-Piné, R., Amessis-Ouchemoukh, N., Segura-Carretero, A. , Fernández-Gutierrez, A. et Madani, K. (2013). A metabolite-profiling approach allows

- the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 77, 167-174.
- Rogério, A. P., Kanashiro, A., Fontanari, C., Da Silva, E. V. G., Lucisano-Valim, Y. M., Soares, E. G. et Faccioli, L. H. (2007). Anti-inflammatory activity of quercetin and isoquercitrin in experimental murine allergic asthma. *Inflammation Research*, 56, 402-408.
- Roy, C.N. (2010). Anemia of inflammation. *Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program.*, 2010, 276-280.
- Sackesen, C., Ercan, H., Dizdar, E., Soyer, O., Gumus, P., Tosun, B. N., Bu'yu'ktuncer, Z., Karabulut, E., Besler, T., et Kalayci, O. (2008). A comprehensive evaluation of the enzymatic and nonenzymatic antioxidant systems in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 122(1) : 78-85.
- Sadatsafavi, M., McTaggart-Cowan, H., Chen, W. et FitzGerald, J. M. (2015). Quality of Life and Asthma Symptom Control: Room for Improvement in Care and Measurement. *Value in Health*, 18, 1043–1049.
- Salama, A.A.A., Zaki, H.F., El-Shenawy, S.M., EL-Denshary, E.S.M., El-Kassaby, I.I. et Shaffie, N.M. (2012). Effects of Fish oil and Dexamethasone in Experimentally-Induced Bronchial Asthma. *Australian Journal of Applied Sciences de base*, 6 (13): 497-506.
- Samii, K., Tajeddin, M. et Stalder, H. (2003). Anémies. *Primary Care*, 3, 822-826.
- Scarino, A. (2012). Évaluation de la toxicité pulmonaire de l'ozone, des nanoparticules de dioxyde de titane et des vapeurs d'éthanol dans un modèle animal d'asthme allergique. Thèse de Doctorat. Québec, Université du Québec, Institut National de la Recherche Scientifique, 155 p.
- Schaub B., Lauener R. et Mutius Ev. (2006). The many faces of the hygiene hypothesis. *J Allergy Clin Immunol*, 117, 969-977.
- Schleimer, R.P., Kato, A., Kern, R., Kuperman, D. et Avila, P.C. (2007). Epithelium: at the interface of innate and adaptive immune responses. *J Allergy Clin Immunol*, 120, 1279-1284.
- Schneider, E., Tonanny, M.B., Lisbonne, M., Leite-de-Moraes, M., et Dy, M., (2004). Pro-Th1 cytokines promote Fas-dependent apoptosis of immature peripheral basophils. *J. Immunol.* 172 (9): 5262-5268
- Schneider, E., Machavoine, F., Pléau, J.M., Bertron, A.F., Thurmond, R.L., Ohtsu, H., Watanabe, T., Schinkel, A.H. et Dy, M. (2005). Organic cation transporter 3 modulates murine basophil functions by controlling intracellular histamine levels. *J. Exp. Med.*, 202(3): 387-393.
- Schroeder, J.T. (2009). Basophils beyond effector cells of allergic inflammation. *Adv Immunol*, 101, 123-161.

- Servais, S. (2004). Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effets de l'âge et d'une supplémentation en omega-3, Thèse de doctorat, université Claud Bernard lyon 1. Pp. 20-40.
- Shahidi, F. et Naczk, M. (2003). Phenolics in Food and Nutraceuticals. Boca Raton, FL. CRC Press, 558 p.
- Shila, S., Ramanathan, K., Tamilselvan, J. et Panneerselvam, C. (2005). Protein oxidative damage in arsenic induced rat brain: influence of dl- α -lipoic acid. *Toxicology Letters*, 155 (1) : 27-34.
- Shirole, R.L., Kshatriya, A.A., Kulkarni, R., Shirole, N.L. et Saraf, M.N. (2014). Investigation into the mechanism of action of essential oil of *Pistacia integerrima* for its antiasthmatic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 153 (3): 541-551.
- Sibille, Y. et Reynolds, H.Y. (1990). Macrophages and polymorphonuclear neutrophils in lung defense and injury. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 141 (2):471-501.
- Snyder, L.R., Kirkland, J.J. et Dolan, J.W., (2009). Introduction to modern liquid chromatography, 3ème édition. New-York : éd. John Wiley & Sons, 960 p.
- Spinreact (2013). Proteines totales: détermination qualitative de protéines totales.1p.
- Stankovic, M. S., Turuntas, V., De Luka, S. R., Jankovic, S., Stefanovic, S., Puskas, N., Zaletel, I., Milutinović-Smiljanic, S. et Trbovich, A. M. (2015). Effects of IL-33/ST2 pathway on alteration of iron and hematological parameters in acute inflammation. *Experimental and Molecular Pathology*, 99, 687–692.
- Steinke, J.W. et Borish, L. (2001). Th2 cytokines and asthma. Interleukin-4: its role in the pathogenesis of asthma, and targeting it for asthma treatment with interleukin-4 receptor antagonists. *Respir Res*, 2(2):66-70.
- Sumoza-Toledo, A., Fleig, A. et Penner, R. (2013). TRPM2 channels are not required for acute airway inflammation in OVA-induced severe allergic asthma in mice. *Journal of Inflammation*, 10(1) : 10-19.
- T**abart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J. et Dommes, J. (2009). Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry*, 113, 1226-1233.
- Tahina (2007). Institut National de Santé Publique. Transition épidémiologique et système de santé. Synthèse de l'enquête morbidité. Enquête TAHINA Alger. https://www.researchgate.net/profile/Achour_Ait_Mohand2/publication/276162154_La_transition_epidemiologique_et_le_systeme_de_sante_en_Algerie_Enquete_Nationale_Sante_2005/links/5551b51108ae739bdb9224af/La-transition-epidemiologique-et-le-systeme-de-sante-en-Algerie-Enquete-Nationale-Sante-2005.pdf
Page consultée le: 07/04/2017
- Tanu, A. et Suresh, V.S.R. (2007). Effect of n-propylthiouracil or thyroxine on arsenic trioxide toxicity in the liver of rat. *Journal of trace Element in Medicine and Biology*, 21, 194–203.

- Taylor-Robinson, A.W., Liew, F.Y., Severn, A., Xu, D., McSorley, S.J., Garside, P., Padron, J. et Phillips, R.S. (1994). Regulation of the immune response by nitric oxide differentially produced by T helper type 1 and T helper type 2 cells. *Eur. J. Immunol.*, 24(4) : 980-984.
- Terziev, L. G., Shopova, V. L., Dancheva, V. Y., Stavreva, G. T. et Stoyanova, A.M. (2012). Effects of L-2-oxothiazolidine-4-carboxylic acid on the lung antioxidant defense system in an asthma mouse model. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 42 (5): 901–905.
- The Global Asthma Report, (2014). *Global Asthma Network* Auckland, New Zealand. www.globalasthmareport.org/Global_Asthma_Report_2014.pdf
Page consultée le: 07/04/2017
- Tiwari, M., Dwivedi, U.N. et Kakkar, P. (2014). Tinospora cordifolia extract modulates COX-2, iNOS, ICAM-1, pro-inflammatory cytokines and redox status in murine model of asthma. *Journal of Ethnopharmacology*, 153, 326–337.
- Teran, L.M., Carroll, M., Frew, A.J., Montefort, S., Lau, L.C., Davies, D.E., Lindley, I., Howarth, P.H., Church, M.K. et Holgate, S.T. (1995). Neutrophil influx and interleukin-8 release after segmental allergen or saline challenge in asthmatics. *Int Arch Allergy Immunol*, 107(1-3):374–375.
- Tolando, R., Jovanović, A., Brigelius-Flohé, R., Ursini, F. et Maiorino, M. (2000). Reactive oxygen species and proinflammatory cytokine signaling in endothelial cells: effect of selenium supplementation. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(6): 979-986.
- Trabelsi, H., Cherif, O.A.F., Sakouhi, F., Villeneuve, P., Renaud, J., Barouh, N., Boukhchina, S. et Mayer, P. (2012). Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of Pistacia lentiscus L.growing wild in Tunisia. *Food Chemistry*, 131, 434-440.
- Tuder, R.M., Zhen, L., Cho, C.Y., Taraseviciene-Stewart, L., Kasahara, Y., Salvemini, D., Voelkel, N.F. et Flores, S.C. (2003). Oxidative stress and apoptosis interact and cause emphysema due to vascular endothelial growth factor receptor blockade. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 29, 88-97.
- Turrens, J.F. (1997). Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Bioscience Reports*, 17, 3-8.
- U**trera, M. et Estévez, M. (2013). Impact of trolox, quercetin, genistein and gallic acid on the oxidative damage to myofibrillar proteins: The carbonylation pathway. *Food Chemistry*, 141, 4000-4009.
- V**andenplas, O., Dressel, H., Wilken, D., Jamart, J., Heederik, D., Maestrelli, P., Sigsgaard, T., Henneberger, P. et Baur, X. (2011). Management of occupational asthma: cessation or reduction of exposure, A systematic review of available evidence. *Eur Respir J*, 38, 804-811.
- Villar, A., Sanz, M. J. et Payo, M. (1987). Hypotensive effect of Pistacia lentiscus L. *Int J Crude Drug Res*, 25, 1-3.

Vosooghi, S., Mahmoudabady, M., Neamati, A. et Aghababa, H. (2013). Preventive effects of hydroalcoholic extract of saffron on hematological parameters of experimental asthmatic rats. *Avicenna J Phytomed*, 3(3) : 279-287.

Who/Nhlbi workshop report (2009). Global strategy for asthma management and prevention. <http://www.ginasthma.com>.
(Page consultée le 30/11/2015).

Wolfe, K., Wu, X. et Liu, R.H. (2003). Antioxidant activity of apple peels. *J Agric food chem*, 51, 609-614.

Yen, G.C. et Chen, H.Y. (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J Agric Food Chem*, 43, 27-32.

Yomna, I. M. (2012). Grape seed extract attenuates lung parenchyma pathology in ovalbumin-induced mouse asthma model: An ultrastructural study. *Micron*, 43, 1050-1059.

You, S. C., Jaechun, L., Tae-Hoon, L., Eun, Y. L., Ki-Up, L., Joong, Y. P., et Hee-Bom, M. (2004). α -Lipoic acid inhibits airway inflammation and hyperresponsiveness in a mouse model of asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114 (2): 429-435.

Zeng, Z., Cui, D., Liang, Y., Peng, R. et Wang, D. (2001). A pathologic study on the bronchioles and lung tissues in guinea pig asthma models. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, 40 (3): 158-161.

Zhang, Q.F., Wang, S.Y., Lou, P.Z. et Dong, D.J. (2007). Effect of heavy metal stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of two mangrove plant seedlings. *Chemosphere*, 67 (1) : 44-50.

Zhishen, J., Mengcheng, T., et Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.*, 64, 555-559.

Zock, J -P., Plana, E., Jarvis, D., Antó, J. M., Kromhout, H., Kennedy, S. M., Künzli, N., Villani, S., Olivieri, M., Torén, K., Radon, K., Sunyer, J., Dahlman-Hoglund, A., Norbäck, D., et Kogevinas, M. (2007). The use of household cleaning sprays and adult asthma: an international longitudinal study. *Am J Respir Crit Care Med*, 176 (8) : 735-741.

Annexes

Annexe1 : Méthode d'extraction de l'huile de lentisque.

L'extraction de l'huile de lentisque est faite de manière artisanale. Ce procédé est pénible et donne de faibles rendements en huile (pour 10Kg de baies de lentisque, seulement ½ L d'huile est extraite).

Dans un premier temps, les fruits mûrs sont broyés par des pierres meules, la pâte est ensuite malaxée par les pieds et laissée au repos pendant 24h.

Le jour suivant, le malaxage est répété, la pâte est ensuite chauffée jusqu'à l'ébullition puis mise dans un tissu et pressée par les mains séparant le jus des tourteaux.

Enfin, la phase liquide est chauffée, permettant la séparation nette de l'huile et de l'eau. L'huile qui surnage est ainsi récupérée et filtrée.

Annexe 2 : Calcul du rendement de l'extrait aqueux.

Le rendement d'extraction de l'extrait aqueux de lentisque est calculé selon la formule:

$$R (\%) = 100 M_{\text{ext}}/M_{\text{éch}}$$

où:

R : le rendement en %;

M_{ext} : la masse de l'extrait en mg (après l'évaporation du solvant) ;

$M_{\text{éch}}$: la masse sèche de la plante en mg.

Nous avons utilisé du broyat de lentisque en macération avec l'eau bouillante pendant 20 min. Le rendement de l'extraction est de : $50,41 \pm 0,55$ %.

(La valeur donnée représente la moyenne de trois mesures \pm SEM).

Annexe 3 : Les différentes dilutions des extraits étudiés dans le dosage du DPPH.

Concentration EQ/H (mg/mL)	1	0,2	0,1	0,05	0,03	Total
V_i (μ L)	2000	400	200	100	60	/
V_{Ethanol} (μ L)	0	1600	1800	1900	1940	2000
V_{DPPH} (mL)	2 (pour chaque tube)					

Annexe 4: Les différentes dilutions des extraits étudiés dans le dosage du NBT.

Concentration EQ/H (mg/mL)	10	3	1	0,3	0,1
V_i (μ L)	10000	3000	1000	300	100
V_{Eau} (μ L)	0	7000	9000	9700	9900

Annexe 5: Les différentes dilutions des extraits étudiés dans le dosage de l'ABTS.

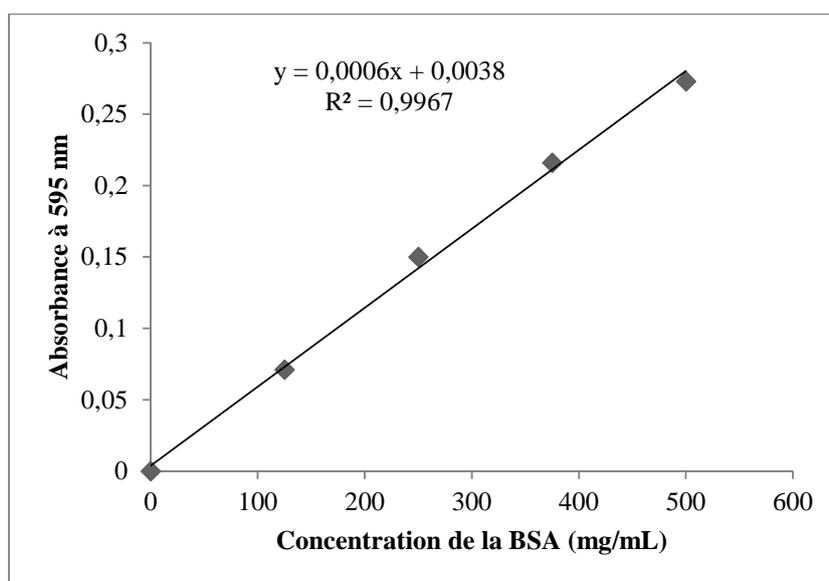
Concentration EQ/H (mg/mL)	1	0,5	0,25	0,1	0,05
V_i (μ L)	100	50	25	10	5
V_{MeOH} (μ L)	0	50	75	90	95

Annexe 6 : Composition de l'aliment pour 1 kilogramme de nourriture (ONAB, Bejaïa)

Matière alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	Pourcentage (%)
Mais	620	62
Soja	260	26
Phosphate	16	1.6
Calcaire	9	0.9
Cellulose	10	1.0
Minéraux	10	1.0
Vitamines	10	1.0

Annexe 7 : Composition du réactif utilisé pour le dosage des protéines totales.

Composition du réactif	Quantités (mmol/ L)
Tartrate de potassium de sodium	15
Iodure de sodium	100
Iodure de potassium	5
Sulfate de cuivre (II)	5



Annexe 8 : La gamme d'étalonnage réalisée à partir d'une solution mère de BSA à 1 mg/mL.

Annexe 9 : Liste des réactifs chimiques spécifiques utilisés.

Réactifs	Nom complet (code)	Firme
Acide ortho-phosphorique 85%	-----	Sigma Aldrich
BHT	Hydroxy toluène butylé	Sigma Aldrich
Bleu de Coomassie	-----	MERCK
BSA	Bovine Serum Albumine lyophilized	Fluka
DTNB	Acide 5-5'-dithiobis-2-nitro benzoïque	Sigma Aldrich
GSH	Glutathion	Sigma Aldrich
Méthionine	L-Méthionine	Biochem. Chemopharma
NBT	Nitro Blue Tetrazolium	Sigma Aldrich
Riboflavine	-----	Biochem. Chemopharma
TBA	Acide thiobarbiturique	Sigma Aldrich
TCA	Acide trichloracétique	Sigma Aldrich
RFC	Réactif Folin-Ciocalteu	Sigma
AG	Acide gallique	Biochem. (Chemopharma)
Quercétine	-----	Aldrich
Vanilline	-----	Biochem. (Chemopharma)
Catéchine	-----	Sigma
DPPH	2,2-diphényle-1- picrylhydrazyl	ALDER
Riboflavine	-----	Biochem. Chemopharma
NBT	Nitro Blue Tetrazolium	Sigma Aldrich
ABTS	2,2'-azino-bis(3- ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid)	Sigma
Trolox	6-Hydroxy-2,5,7,8- tetramethylchromane-2- carboxylic acid	Sigma

Annexe 10 : Solutions utilisées pour le dosage des paramètres du stress oxydant.

Solutions	Compositions	Quantités
Solution de lavage (pH=7,4)	- KH ₂ PO ₄ . - NaCl. - Eau distillée.	1,36 g. 9 g. 1 litre.
Solution de BRADFORD	- Bleu de Coomassie (G-250). - Ethanol 95%. - Acide ortho-phosphorique. - Eau distillée.	100 mg. 50 ml. 100 ml. 1 litre.
Tampon phosphate (pH=7,4)	- Tris 50 mM. - NaCl 150 mM.	6,057 g. 8,775 g.
TCA-BHT	- TCA. - BHT. - Eau distillée.	20 g. 1 g. 100 ml.
Tris-TBA	- Tris. - TBA. - Eau distillée.	0,315 g. 1, 729. 100 ml.
Tampon TBS (pH=7,4)	- NaCl 150 mM. - Tris 50 mM. - Eau distillée.	4,387 g. 3,028 g. 500 ml.
GSH	- GSH. - Eau distillée.	0,491 g. 16 ml.
DTNB	- DTNB. - Eau distillée.	5,151 g. 13 ml.
TCA	- TCA. - Eau distillée.	0,4 g. 40 ml.
H₂O₂ (30V)	- H ₂ O ₂ . - Eau distillée.	130 µl. 1litre.

**Publications
&
Communications scientifiques**

Publication internationale

In

International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.

42(1), january-February 2017; Article No 15, pages : 77-84.

**ANTI-INFLAMMATORY AND ANTIOXIDANT EFFECTS OF TWO
EXTRACTS FROM *PISTACIA LENTISCUS* IN LIVER AND
ERYTHROCYTES, IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF ASTHMA**

**Narimène CHEKCHAKI, Taha KHALDI , Zineb ROUIBAH , Meriem
ROUAG , Omar SEKIOU , Mahfoud MESSARAH and Amel BOUMENDJEL**



Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects of Two Extracts from *Pistacia lentiscus* in Liver and Erythrocytes, in an Experimental Model of Asthma

Narimène Chekchaki^{*1,2}, Taha Khaldi¹, Zineb Rouibah¹, Meriem Rouag¹, Omar Sekiou¹, Mahfoud Messarah¹, Amel Boumendjel¹
 Laboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology¹, Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Laboratory of applied Biochemistry and Microbiology², Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University, Annaba. Algeria.
 *Corresponding author's E-mail: amelboumendjel@gmail.com

Received: 25-10-2016; Revised: 19-12-2016; Accepted: 05-01-2017.

ABSTRACT

The aim of this work was to study the comparative anti-inflammatory and antioxidant effects of the oil of *Pistacia lentiscus* (H) obtained from the fruit of the tree, and its aqueous leaf extract (EQ), on an experimentally induced asthma. Fifty-four males Wistar rats were sensitized with ovalbumin (OVA) and in parallel with the oil (H) and the aqueous extract (EQ). For measuring the intensity of the airway inflammation, the percentage of inflammatory cells and the level of total proteins in the serum were measured. Histopathological study in liver sections is performed and oxidative stress parameters are analyzed in erythrocytes and liver. Our results showed that sensitization of the OVA-group, induce an increase in total proteins levels and leukocyte mainly eosinophils. The administration of *Pistacia lentiscus* oil, more than its aqueous extract, reduces significantly those measured parameters. Harmful effects of allergic inflammation caused by OVA sensitization and the treatment with two plant extracts on hepatic tissue architecture revealed a degeneration of liver plates, a slight inflammatory infiltration, an increased sinusoids size and a minor focal necrosis. The results also show that this inflammatory state induce a severe lipid peroxidation, revealed by significant increase in MDA levels and significant activity reduction of various antioxidant systems (GPx, SOD and CAT), both in erythrocytes and in the liver. However, pretreatment with aqueous extract is more effective than oil by restoring the activity of antioxidant enzymes. Conversely, the administration of oil had a better reducing effect that EQ on lipid peroxidation. These results are in favor of anti-inflammatory and antioxidant effects which the extract of *P. lentiscus* are endowed.

Keywords: Experimental asthma, *Pistacia lentiscus*, ovalbumin, oxidative stress, inflammatory cells.

INTRODUCTION

Asthma is an inflammatory pulmonary disease that involves increased oxidative stress. As in any inflammatory condition, the physiological antioxidant system is altered during this disease¹. Indeed, the infiltrations of leukocyte inflammatory cells release reactive oxygen species (ROS) in the surrounding tissue².

Therefore, the development of an experimental asthma protocol in Wistar rats sensitized with ovalbumin (OVA) has all its interest in order to remedy this disease. Owing to the chronic nature and the increasing prevalence of this disease, in addition to the ineffective drugs currently used to permanently cure asthma and fear of their known side effects, there is a pressing need to find new therapies. In this regard, natural products and herbal remedies plants used in traditional medicine were thus the source of many drugs^{3,4,5}.

Many medicinal plants have interesting biological and pharmacological activities and are used as therapeutic agents⁶. *Pistacia lentiscus* known as mastic is an evergreen shrub, belonging to the Anacardiaceae family consists of more than eleven species⁷. It is widely distributed in "extreme" of Mediterranean ecosystems. In Algeria, the tree is widespread in the forest, alone or combined with other tree species (such as oaks, olive trees and carob trees)⁸. Studies on the composition of the leaves and berries *Pistacia lentiscus* reported that this plant contains different types of secondary metabolites, known for their great healing properties⁹.

This study helps to spread the disease characteristics induced by ovalbumin in serum and liver and to evaluate the therapeutic effects (antioxidant and anti-asthmatic) of *Pistacia lentiscus*.

MATERIALS AND METHODS

Plant

Mastic, *Pistacia lentiscus*, a shrub of the Anacardiaceae family which was used in this study grows in the region of Annaba and specifically Cheurfa (located east of Algeria). This plant is catalogued in herbarium of Pr. Gérard de Belair (Voucher specimen number: 060_29) and identified by Mr. Pr Azeddine CHEFROUR, botanist at the Biology department (Faculty of Natural Sciences and Life, University of Souk Ahras - Algeria).

Preparation of aqueous extract

The fresh leaves collected in January 2014, are dried for 07-10 days at room temperature, and then crushed and stored until the preparation of the aqueous extract. The aqueous extract was prepared daily from the leaf powder subjected to decoction, by boiling for 15-20 min. The aqueous phase is filtered and the extract is then stored at 4°C.

Extraction of *Pistacia lentiscus* oil

The oil is extracted in a traditional press from ripe fruit (blackberries) mastic collected in December 2013. It was stored in glass bottles protected from light until use.

Animals

Fifty-four Wistar albino male rats weighing between 280 and 320g, obtained from Pasteur institute (Algiers, Algeria) were used for the experimental procedures. All protocols used in this study were used in accordance with the guidelines of the Committee on Use of Laboratory Animals and approved by the Ethical Committee of Directorate General for Scientific Research



and Technological Development at Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research. Animals were acclimated for 2 weeks under the same laboratory conditions of photoperiod, an average relative humidity of 60 % and room temperature of 20 ± 2 °C. Food (standard food, supplied by the "ONAB, Bejaia", Algeria) and water were available ad libitum.

Experimental group design

The rats were distributed in six groups of nine ($n=9$) male receiving the following treatments: the first group served as a control (T). The second group (EQ) was treated with aqueous extract of mastic (200 ml / kg body weight / day by gavage), while the third group (H), was treated with mastic oil (3.3 ml / kg body weight / day by gavage)^{6, 10}. The fourth group was sensitized to ovalbumin (OVA). The fifth group (OVA + EQ) was sensitized and treated with aqueous extract of mastic (200 ml / kg). The sixth group (OVA + H) was sensitized and treated with mastic oil (3.3 ml / kg).

Sensitization and airway challenge

Rats groups (N°4, 5, 6) were sensitized to OVA (grade II, Item A5253-250G, Sigma. Aldrich) in a manner causing acute inflammation with allergic asthma phenotype, validated in the literature. Thus, the sensitization is carried with an intraperitoneal injection of 1 mg/ml of OVA, combined with an aluminum hydroxide adjuvant (Al (OH)₃) (Alum, Sigma Aldrich) dissolved in an amount of 1mg/ml in a saline solution (9 ‰) on days 0 and 13. Rats were exposed to the airway with OVA (1%, w/v, in saline solution (9 ‰)) for 30 min using a nebulizer unheated compressor (OMRON NE-C29-E) on days 21, 22 and 23 after initial sensitization¹¹. Control animals of groups (N°1, 2, 3) were sensitized and exposed to similar volumes of saline solution (9 ‰) at the same times and in the same conditions¹².

Samples Preparation

Blood Collection

Blood samples were immediately collected into two groups of ice-cold polypropylene tubes. The first one was dry, which has been centrifuged at $3,000 \times g$ for 15 min. The collected serum used for the determination of total proteins; as to the sediment (containing erythrocytes) was stored at -20 °C until to be used for the determination of oxidative stress parameters. The second group contained anticoagulant (EDTA) was used for determination of the number of white blood cells.

Preparation of Erythrocytes and Liver Homogenates

The sediment containing erythrocytes were twice suspended in phosphate buffer saline [KH₂PO₄ (10 mM), NaCl (150 mM), pH 7.4] and centrifuged at $3,000 \times g$ for 15 min at 4°C for the first washing; and at $4,000 \times g$ for 30 min at 4°C for the second washing. The hemolysats were then aliquoted and stored at -20 °C before use for antioxidant enzyme activities, and the determination of malondialdehyde (MDA).

Livers were quickly removed, washed in 0.9 % NaCl solution and weighed after the careful removal of the surrounding connective tissues, and then, a quantity of 1 g was homogenized in 2 ml of phosphate buffer solution (TBS: Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4) at 1:2 (w/v), in ice-cold condition. Homogenates were centrifuged at $3,000 \times g$ for 35 min at 4°C; the supernatants were divided into aliquots and then stored at -20 °C.

Total proteins

The total proteins concentration was determined by a colorimetric method biuret¹³. 20 µl of each sample (serum)

were added to 1000 µl of the biuret reagent and mixed then incubated for 5 minutes at 37°C. Thereafter, the spectrophotometric reading (SECOMAM) is carried out at 540 nm.

Determination of leukocyte formula

A blood smear was prepared and then fixed with methanol for 3 minutes and finally stained with May-Grünwald-Giemsa (MGG)¹⁴. The percentages of the different types of leukocytes were calculated by counting 100 cells under microscope ($\times 100$) (OPTIKA).

Determination of oxidative stress parameters

Activities of glutathione peroxidase (GPx, E.C. 1.11.1.9), superoxide dismutase (SOD, E.C.1.15.1.1) and catalase (CAT, E.C.1.11.1.6) in erythrocytes and liver homogenates were done using reported protocols¹⁵⁻¹⁷. Further the extent of lipid peroxidation and total protein were estimated in erythrocytes and liver homogenates by the formation of malondialdehyde (MDA) using thiobarbituric acid (TBA) according respectively to the methods^{18, 19}.

Histo pathological Examination

Liver was dissected and immediately fixed in formol solution to 10% for 24 h, processed by using a graded ethanol series, and then embedded in paraffin (increased to 56/58°C). The paraffin sections were cut into 5-µm thick slices using a microtome (Leica RM2125RT), followed by a staining with hematoxylin and eosin (Leica ST4040) and a mounting EUKITT (kindler GmbH co lot No: c70)²⁰. Finally, the sections were observed and analyzed under an optical microscope (Leica DM LB 2) and then photographed.

Statistical Analysis

All data are expressed as mean \pm SD for nine rats of each group. These calculations were performed using Microsoft Excel (2010). Significant differences between the group's means were determined by Student's t test. The statistical signification of difference was taken as $p \leq 0.05$.

RESULTS

Effects of treatments on body weight, relative and absolute liver weight

Changes in body weight and the relative and absolute liver weight are presented in **Table 1**. A highly significant decrease in body weight in rats groups EQ, OVA and O/EQ (respectively, 5.57%, 6.09% and 5.15%) were registered. Administration of the aqueous extract in rats groups (EQ and O/EQ) induced a significant and highly significant reduction in the relative and absolute liver (respectively, 8.50% 7.43% and 14.51%; 12.90%) compared with control rats. However, mastic oil induces a better boost in body weight compared to OVA group.

Effect on leukocyte population

Changes in leukocyte counts in the blood smear are presented in **Fig. 1**. Sensitization to OVA caused an increase in total leukocyte cells and monocytes (respectively, 141.62%, 53.23%). The increase in the leukocyte cell count is highly significant for both eosinophils and lymphocytes; on the other hand, it is significant for basophils. However, treatment with the aqueous extract as well as mastic oil allows recovery of these values, in sensitized rats, which was expressed by a very significant decrease in eosinophils and lymphocytes (78.95%, 78.70% and 31.45%, 33.45%). It has been demonstrated that the administration of more mastic oil than its aqueous extract ($p =$



0.06) reduced significantly basophils rates of 59.56%.In the treated groups with both extracts (EQ and H), there was a

significant increase in the distribution of leukocyte cells relative to group T.

Table 1: Changes in Body Weight and Absolute and Relative Liver Weight of Control and Treated Rats.

Parameters	Experimental groups					
	T	EQ	H	OVA	O/EQ	O/H
Body weight (g)	317,166 ± 4,015	299,5 ± 3,344**	306,5 ± 4,808	297,833 ± 3,674**	300,833 ± 2,892**	306,5 ± 2,125
Absolute liver weight (g)	10,333 ± 0,333	8,833 ± 0,307***###	9,833 ± 0,307	10,5 ± 0,223	9 ± 0,258***###	9,833 ± 0,166#
Relative liver weight (g/100g de PC)	3,221 ± 0,062	2,947 ± 0,088*	3,206 ± 0,073	3,279 ± 0,142	2,982 ± 0,058**	3,246 ± 0,07

Values are given as mean±SD. Significant difference: all treated groups compared to the control one (*p≤0.05, **p≤0.01), all treated groups compared to the OVA treated one (# p≤0.05, ### p≤0.001).

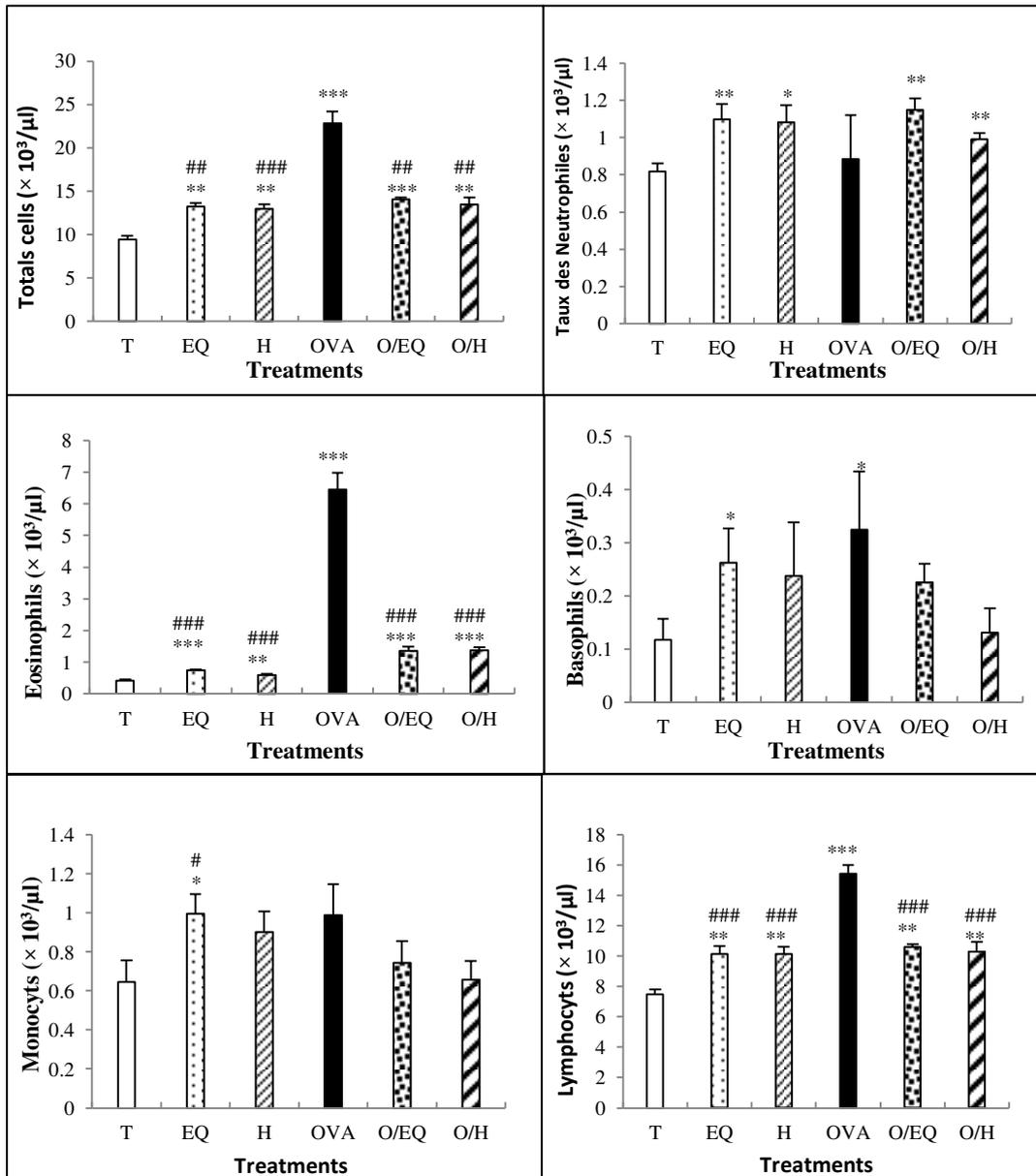


Figure 1: Distribution Of Leukocytes In The Blood Smear Of Different Experimental Groups.

Values are given as mean ± SD. Significant difference: all treated groups compared to the control one (*p≤0.05, **p≤0.01,***p ≤ 0.001), all treated groups compared to the OVA treated one (# p≤0.05, ###p≤0.01, ### p≤0.001).

Effect on the total proteins

The results show that the OVA sensitization causes a significant increase of the total protein of 4.96%

compared to the control group (Fig. 2). However the administration of mastic oil (O/H and H) more than its aqueous extract revealed a highly significant decrease in serum proteins 9.46% and 8.22% respectively compared



to sensitized group (OVA) and control group (T). As for the group treated with the aqueous extract (EQ), it shows no significant change compared to group T.

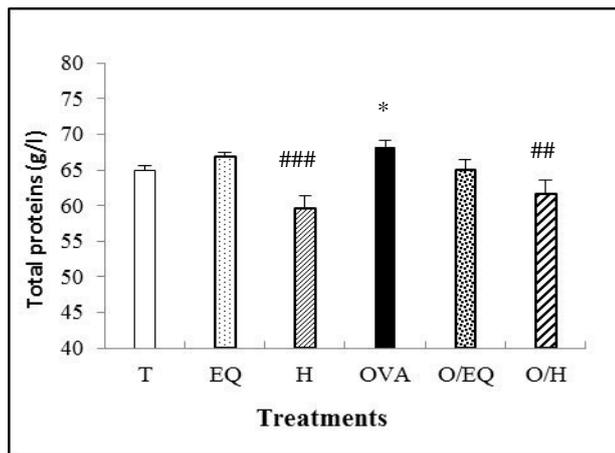


Figure 2: Changes in Total Proteins Concentration of Control and Treated Rats.

Values are given as mean ± SD. Significant difference: all treated groups compared to the control one (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$), all treated groups compared to the OVA treated one (## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$).

Study of oxidative stress parameters

Data concerning liver antioxidant enzyme activities (GPx, SOD and CAT) are presented in Fig.3. In OVA group, GPx, SOD and CAT activities were decreased significantly compared to the control (group T). Indeed, administration of oil and aqueous extract of *P. lentiscus* showed an improvement of enzyme activities in OVA+H and OVA+EQ groups compared to the OVA group.

Results of various antioxidant enzyme activities measured in erythrocytes are presented in Fig. 4. In

OVA-group, GPx, SOD and CAT activities were declined compared to the control, but the supplementation of oil and aqueous extract of mastic has diminished. In addition, the administration of the aqueous extract was more effective ($p = 0.05$) than the mastic oil with a significant increase in the levels of CAT.

The results show that the OVA sensitization causes a lipid peroxidation revealed by significant increase malondialdehyde (MDA) contents in liver (Fig. 3) and erythrocyte (Fig. 4) compared to control groups. However, the administrations of two mastic extracts have allowed a significant reduction of the MDA levels. It was shown that mastic oil is more effective than its aqueous extract with a better reduction of lipid peroxidation.

Histopathological Results

Microscopic observation of rat liver control shows organization into lobules wherein the hepatocytes are separated by adjacent sinusoids (Fig. 5-A). The livers of treated rats with the aqueous extract (Fig. 5-B) and mastic oil (Fig. 5-C) shows a sinusoidal enlargement leading to the decrease of hepatocyte diameter (DH). As for the section of the liver of treated rats with ovalbumin, it reveals a prominent cell change, which results in hyperplasia, a burst of hepatocytes and infiltration of inflammatory cells (Fig. 5-D). For liver sections of rats sensitized with ovalbumin and treated with either the aqueous extract (Fig. 5-E) or the mastic oil (Fig. 5-F), they respectively show the appearance of the necrosis, an increase in the size of the sinusoids.

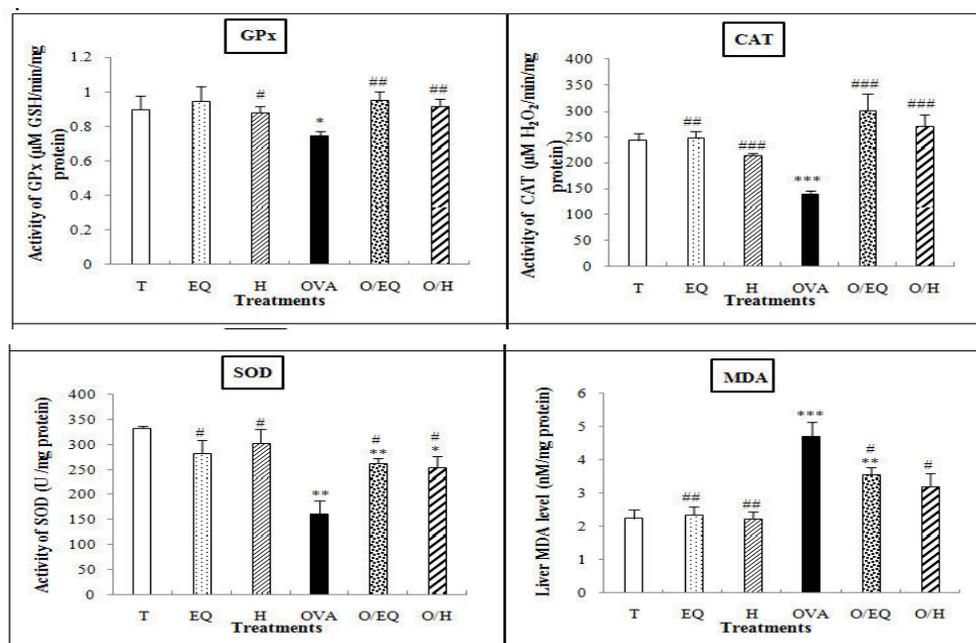


Figure 3: Antioxidant Enzyme activities and Malondialdehyde levels in liver of control and treated rats.

Values are given as mean ± SD. Significant difference: all treated groups compared to the control one (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$), all treated groups compared to the OVA treated one (# $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$).

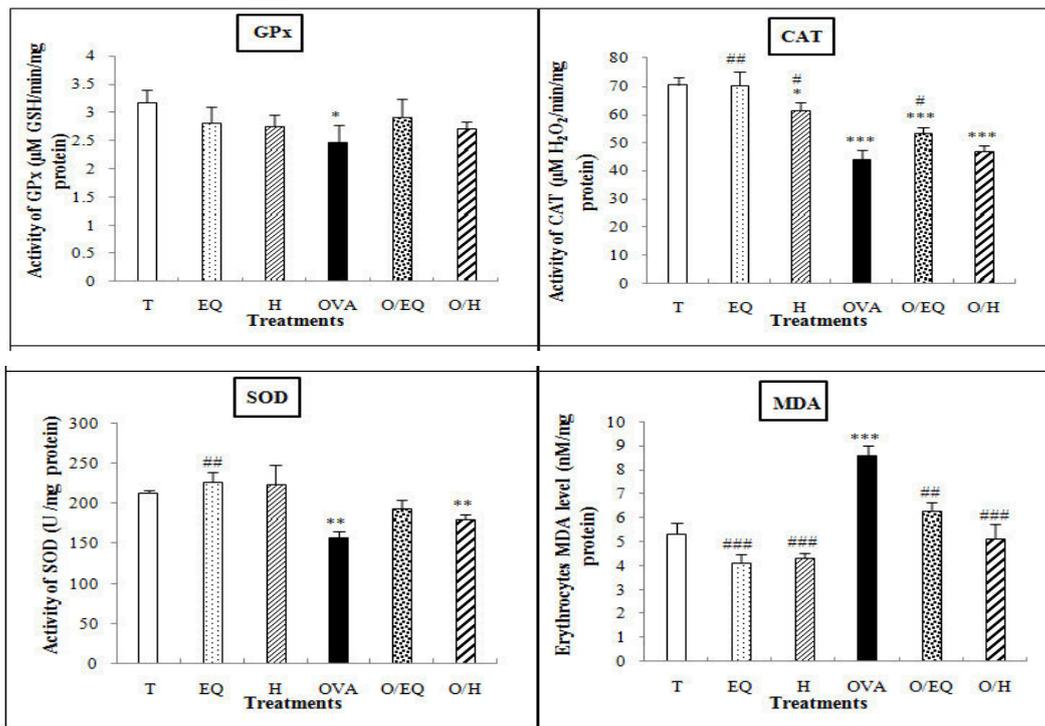


Figure 4: Antioxidant Enzyme activities and Malondialdehyde levels in Erythrocytes of control and treated rats. Values are given as mean ± SD. Significant difference: all treated groups compared to the control one (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$), all treated groups compared to the OVA treated one (# $p \leq 0.05$, ## $p \leq 0.01$, ### $p \leq 0.001$).

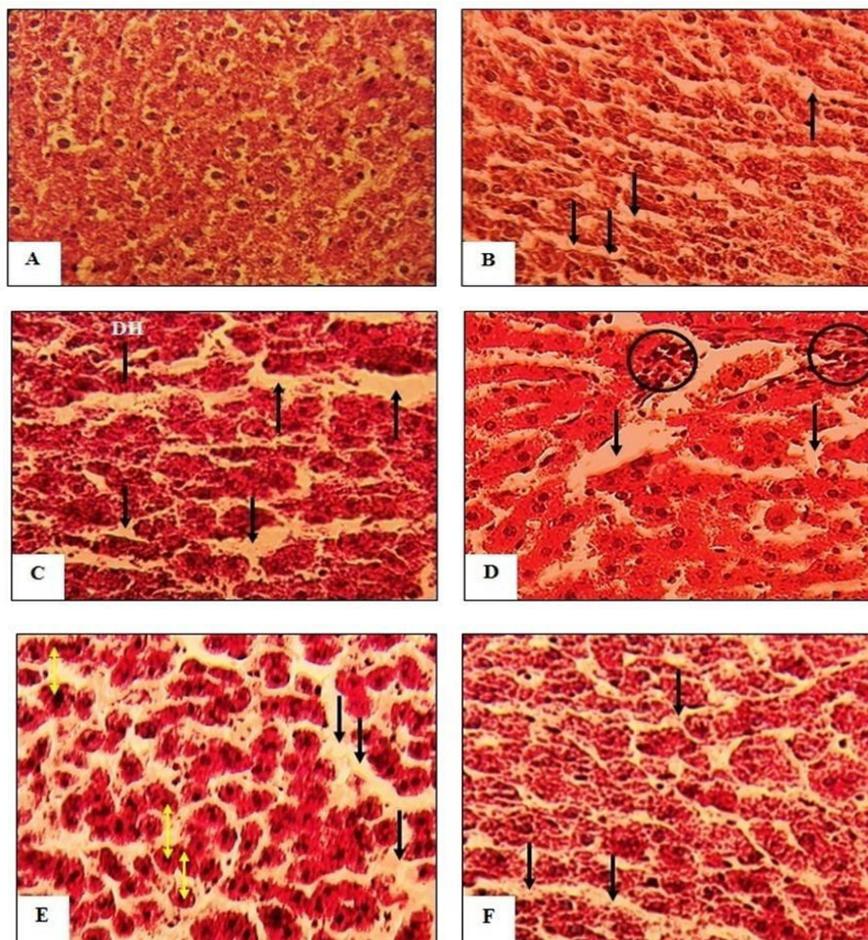


Figure 5: Histological sections of the Liver in rats of different Experimental groups (X40).

(A) Liver of a control rat, with normal architecture and no pathological abnormalities; (B) liver of a treated rat with aqueous extract showing sinusoidal enlargements (arrows); (C) liver of a treated rat with mastic oil, showing a smaller diameter hepatocytes (DH) and an increase in the size of sinusoids

(arrow); (D) liver of a treated rat with ovalbumin, showing an increase in the size of sinusoids (arrow) and an inflammatory cell infiltration (circle); (E) liver of a rat sensitized to ovalbumin and treated with aqueous extract; showing necrosis in hepatocytes (double arrow direction) and an increase in the size of sinusoids (arrow); (F) liver of a rat sensitized to ovalbumin and treated with mastic oil showing sinusoidal enlargements (arrows).

DISCUSSION

In the present study, the effect of *Pistacia lentiscus* (under two comparative forms: oil and aqueous extract) on hepatic alterations in a murine allergic asthma model was investigated.

In our experiment, we first found a reduction in body weight basically treated groups aqueous extract (EQ; O/EQ) and sensitized to OVA. The relative and absolute liver weight in rats treated with the aqueous extract is also reduced (Table 1). These changes in weight are probably due to both, the toxicity of ovalbumin, but also gallic acid and tannins contained in *Pistacia lentiscus* whose are responsible for the decrease in the amount of food ingested, in the rate of growth, in metabolic energy and digestive proteins²¹.

The subsequent administration of the allergen by inhalation induced inflammatory airway response as has been shown in many studies^{22, 23, 24}. Many molecules involved in inflammation are proteins synthesized by the liver in response to foreign aggression, here; in this case, it is the allergen consisting of ovalbumin and adjuvant, aluminum hydroxide. Indeed, our results showed in Fig. 1 an increased leukocyte recruitment of total cells in rats sensitized with OVA, mainly eosinophils and lymphocytes which are a main feature of asthma and a significant increase in serum total protein (Fig. 2).

However, pretreatment of the rats, whether with the aqueous extract of the leaves or oil of mastic attenuate significantly the rate increases previously reported and it's probably due to their richness in secondary metabolites, such as phenolic acids, flavonoids, tannins, terpenoids and phyto sterols found in fruits^{6, 25}.

According to KIM et al., gallic acid and its derivatives cause inhibition of the activation of p38 MAPK, and the inhibition of binding of NF- κ B essential for the expression of pro-inflammatory cytokines such as histamine, TNF- α and IL-6²⁶. Also, XAGORARIET al. identify the luteolin, present in the leaves, as the most powerful flavonoid tested in the inhibition of TNF- α , activation of NF- κ B induced by lipopolysaccharide (LPS), and activation of AP-1²⁷. In addition, the ability of tannins to inhibit phospholipase A2 is already established which will participate in the inhibition of prostaglandins and leukotrienes²⁸.

Inflammatory cells recruited to asthmatic airways have exceptional ROS-producing capability. Moreover, many human studies have reported the role of eosinophils in allergic inflammation; up to consider that the evaluation of the serological levels of ECP (eosinophil cationic protein) seems to be a good biological marker of asthma²⁹. The production of ROS is essential for the

inflammatory response by activating redox transcription factors and pro-inflammatory signaling pathways. At the same time, the endogenous antioxidant mechanisms that are present to reduce the imbalance between these two opposite mechanisms could lead to chronic illness and more severe inflammatory condition³⁰.

Consistent with thesis findings, our data show evaluation of certain parameters of oxidative stress in liver and erythrocytes. The elevated level of MDA in the OVA challenged group could be linked to the peroxidation damages of biological membranes, caused by an increased reactive Fe⁺² and/or inactivation of enzymes involved in antioxidant defense. A decreased GPx, SOD and CAT activities showed in these results confirmed this theory (Fig. 3, Fig. 4).

Our results confirm those of TIWARI et al.³¹, which showed experimental work in its oxidative inactivation of SOD, catalase, glutathione reductase, glutathione peroxidase and the decrease in MDA formation in Ova Treated asthmatic rats. Moreover, this antioxidant enzyme activities increase in substantially is suppressed by extracts *P.lentiscus*. This antioxidant stimulation is more pronounced when treated with aqueous extract of mastic. However, mastic oil has a better reduction of lipid peroxidation.

This rebalancing of the balance is due to the high antioxidant potential of the plant to study because of the power associated with these secondary metabolites (flavonoids, phenolic acids and polyphenols)^{32, 33}. They are able to scavenge hydroxyl radicals (OH \bullet), superoxide anion (O₂⁻) and peroxy lipidic radicals³⁴. Indeed, gallic acid and flavonoids inactivate and stabilize free radicals thanks to its hydroxyl group (C3-OH) highly reactive. They are also able to chelate metal ions (dropped from their mounting or transport proteins) that can strengthen these deleterious effects by producing hydroxyl radicals (OH \bullet)^{35, 36}.

In an effort to secure the above results, histopathological analysis was performed in the liver tissue. Several features were observed. Increased cellular levels of lipid peroxidation (MDA), the increase of free radicals and decrease the enzymatic activity of GPx, catalase and SOD are many factors responsible for the tissue damage observed and materialized the bursting of hepatocytes in rats sensitized to ovalbumin. Indeed, there are similar results in the literature suggesting intracellular changes of hepatocytes characterized by cytolysis and visible hyperplasia in batches treated with agents causing oxidative stress such as arsenic, cadmium and thyroxine^{37, 38, 39}. Moreover, an infiltration of inflammatory cells in the OVA Challenged group was observed.



Also in this study, histological Findings Increase in indicated essentially year sinusoids size and necrosis in the liver of the rats exposed to *P. lentiscus*. However, aqueous extract was more devastating (Fig. 5). Indeed, we know the leaves of this plant contain condensed tannins are proven that hepatotoxins^{40, 41}.

Focal necrosis of the liver tissue observed in OVA+EQ group could be driven from the animal's excessive activity to get rid of the toxicant from its body during the process of detoxification. Also, the liver incapability in regenerating new cells may lead to necrosis⁴².

CONCLUSION

The results revealed that the sensitization to OVA induced disruption of antioxidant defense system with a significant state of inflammation. However, extracts *Pistacia lentiscus* allowed through secondary metabolites decreased significantly this inflammation and have an additive effect on the activity of protective antioxidant enzymes.

Moreover, the aqueous extract of mastic proved with antioxidant properties relatively higher than its oil. Furthermore, the data obtained from the study, showed that the leaf of this plant can be hepatotoxic.

REFERENCES

- Nounou HA, Deif MM, ArafahM, The influence of dexamethasone and the role of some antioxidant vitamins in the pathogenesis of experimental bronchial asthma, *Journal of Experimental Pharmacology*, 2, 2010, 93-103.
- Hoffmann PR, Saux CJ-L, Hoffmann FW, Chang PS, Bolt O, He Q, Tam EK, Berry MJ, Arole for dietary selenium and selenoproteins in allergic airway inflammation. *Journal of Immunology*, 179, 2007, 3258-3267.
- Battel TE, Arbisser J, Frank DA, The natural product honokiol induces caspase-dependent apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia (B- CLL) cells, *Blood*, 106, 2005, 690-697.
- Yomna IM, Grape seed extract attenuates lung parenchyma pathology in ovalbumin-induced mouse asthma model: An ultrastructural study. *Micron*, 43, 2012, 1050-1059.
- Zemmouri H, Boumendjel A, Messarah M, Effets de l'extrait de feuilles d'*Urticadioica* sur les paramètres du stress oxydants dans un modèle murin d'asthme expérimental, *Revue Française d'Allergologie*, 55, 2015, 238.
- Dellai A, Souissi H, Borgi W, Bouraoui A, Chouchane N, Antiinflammatory and antiulcerogenic activities of *Pistacialentiscus* L. Leaves extracts, *Industrial Crops and Products*, 49, 2013, 879-882.
- Trabelsi H, Cherif OAF, Sakouhi F, Villeneuve P, Renaud J, Barouh N, Boukhchina S, Mayer P, Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacialentiscus* L. growing wild in Tunisia, *Food Chemistry*, 131, 2012, 434-440.
- Dahmoune F, Spigno G, Moussi K, Remini H, Cherbal A, MadaniK, *Pistacia lentiscus* leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultra sound-assisted and conventional solvent extraction, *Industrial Crops and Products*, 61, 2014, 31-40.
- Rodríguez-Pérez C, Quirantes-Piné R, Amessis-Ouchemoukh N, Segura-Carretero A, Fernández-Gutierrez A, Madani K, A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 77, 2013, 167-174.
- AbidiA, Ben BrahimM, Kourda N, Gharbi L, NigrouS, Ben KhamsaS, Effect of *Pistacia lentiscus* soil on inflammatory infiltrate in experimental lung fibrosis in rats....2010
- Mee-Young L, Chang-Seob S, Nam-Hun L, Heykyung H, Jin-Ah L, Hoyoung L, Kyoung-young L, Hyeun-Kyoo S, Anti-asthmatic effect of schizandrin on OVA-induced airway inflammation in a murine asthma model, *International Immuno pharmacology*, 10, 2010, 1374-1379.
- Kodesh E, Zaldivar F, Schwindt C, Tran P, Yu A, CamilonM, Nance DM, Leu S-Y, Cooper D, Adams GR, A rat model of exercise-induced asthma: a nonspecific response to a specific immunogen, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2011, 300, 917-924.
- Spinreact, Proteinestotals: determination qualitative de proteinestotals, 2013, 1.
- Dutau G, *Biologie en allergologie: Conduite à tenir devant une hyperéosinophilie*, *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 44, 2004, 664-667.
- Flohe L, Gunzler WA, Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymology*, 105, 1984, 114-121.
- Beyer WF, Fridovich I, Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions, *Analytical Biochemistry*, 161, 1987, 559-566.
- Aebi H, Catalase. In: Bergmeyer, H.U. (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*, 2, Academic Press, New York, 1974, 673-884.
- Bradford M, A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding, *Analytical Biochemistry*, 72, 1976, 248-254.
- Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jungens G, The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL, *Free Radical Biology and Medicine*, 13, 1992, 341.
- Hould R, Techniques d'histopathologie et de cytopathologie, Ed Maloine, 19-21, 1984, 225-227.
- Niho N, Shibutani M, Tamura T, Toyoda K, Uneyama C, Takahashi N, Hirose M, Subchronic toxicity study of gallic acid by oral administration in F344 rats, *Food and Chemical Toxicology*, 39, 2001, 1063-1070.
- Oberholzer HM, Pretorius E, Investigating lung remodeling in Modul8-treated BALB/c asthmatic animals, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 40, 2009, 775-782.
- Salama AAA, ZakiHF, El-Shenawy SM, EL-Denshary ESM, El-KassabyII and Shaffie NM, Effects of fish oil and



- dexamethasone in experimentally-induced bronchial asthma, *Australian Journal of Applied Sciences de base*, 13,2012, 497-506.
24. MissebukpoA, MetowogoK, DialloA, Lawson-EviP, EklugadegbekuK, AklidikouK A, Messanvi G, Antioxidant effects of *Ixoracoccinea Linn.* in a rat model of ovalbumin-induced asthma, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7,2013, 2794-2800.
 25. BampouliA, KyriakopoulouK, PapaefstathiouG, Louli V, KrokidaM, MagoulasK, Comparison of different extraction methods of *Pistacia lentiscus* var. chia leaves: Yield, antioxidant activity and essential oil chemical composition, *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 1,2014, 81-91.
 26. Kim S-H, Chang-Duk J, Kyongho S, Byung-Ju C, Hyunjeung L, Seunja P, Seung Ho L, Hye-Young S, Dae-Keun K, Tae-Yong S, Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells, *Toxicological Sciences*, 91,2006, 123-131.
 27. XagorariA, Papaetropoulos A, MauromatisA, EconomouM, Fotsis T, Roussos C, Luteolin inhibits an endotoxin-stimulated phosphorylation cascade and pro inflammatory cytokine production in macrophages, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 296, 2001, 181-187.
 28. Silva SLD, CalgarottoAK, Chaar JS, MarangoniS, Isolation and characterization of ellagic acid derivatives isolated from *Caseariasylvestris* SW aqueous extract with anti-PLA2 activity, *Toxicon*, 52,2008, 655-666
 29. BoumendjelA, TridonA, MessarahM, UghettoS, MeharziS, BoulakoudMS, Eosinophilic activity and bronchial hyperresponsiveness within an asthmatic paediatric population, *Allergologia et Immunopathologia*, 40, 2012, 301-305.
 30. Al-Afaleg NO, Al-SenaidyA, El-AnsaryA, Oxidative stress and antioxidant status in Saudi asthmatic patients, *Clinical Biochemistry*, 44, 2011, 612-617.
 31. Tiwari M, Dwivedi UN, Kakkar P, *Tinosporacordifolia* extract modulates COX-2, iNOS, ICAM-1, pro-inflammatory cytokines and redox status in murine model of asthma, *Journal of Ethnopharmacology*, 153,2014, 326-337.
 32. Barotto MC, Tattini M, Galardi C, Pinelli P, Romani A, Visioli F, Basosi R, Pogni R, Antioxidant activity of galloylquinic derivatives isolated from *P. lentiscus* leaves, *Free Radical Research*, 37,2003, 405-412.
 33. LjubuncicP, Song H, Cogan U, Azaizeh H, BomzonA, The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacialentiscus* in experimental liver disease, *Australian Journal of Ethnopharmacology*, 100,2005, 198-204.
 34. Punithavathi VR, Prince PSM, Kumar R, Selvakumari J, Antihyperglycaemic, antilipidperoxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats, *European Journal of Pharmacology*, 650,2011, 465-471.
 35. Ghedira K, Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique, *Phytothérapie*, 4, 2005, 162-169.
 36. UtreraM, EstévezM, Impact of trolox, quercetin, genistein and gallic acid on the oxidative damage to myofibrillar proteins: The carbonylation pathway, *Food Chemistry*, 141,2013, 4000-4009.
 37. Allen T, Rana SVS, Effect of n-propylthiouracil or thyroxine on arsenic trioxide toxicity in the liver of rat, *Journal of trace Element in Medicine and Biology*, 21,2007, 194-203.
 38. El Heni J, Messaoudi I, Hamouda F, Kerkeni A, Protective effects of selenium (Se) and zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver and kidney of the rat: Histology and Cd accumulation, *Food and Chemical Toxicology*, 46,2008, 3522-3527.
 39. Messarah M, Boumendjel A, Chouabia A, Klibet F, Abdennour C, Boulakoud MS, Feki AE) Influence of thyroid dysfunction on liver lipid peroxidation and antioxidant status in experimental rats, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62, 2010, 301-310.
 40. Oelrichs PB, Pearce CM, Zhu J, Filippich LJ, Isolation and structure determination of terminalin A toxic condensed tannin from *Terminalia oblongata*, *Natural Toxins*, 2,1994, 144-150.
 41. Decandia M, Sitzia M, Cabiddu A, Kababya D, Molle G, The use of polyethylene glycol to reduce the anti-nutritional effects of tannins in goats fed woody species. Small Ruminant Research, *The Journal of the International Goat Association*, 38,2000, 157-164.
 42. Patel JM, BahadurA, Histopathological manifestations of sub lethal toxicity of copper ions in *Catlacatla* (Hamilton), *American Eurasian journal of toxicological science*, 3,2011, 01-05.

Source of Support: Nil, Conflict of Interest: None.



Résumé publié

dans la Revue française d'allergologie. Volume 55, Issue 3, Avril 2015, Page
269.

**EFFETS ANTI-INFLAMMATOIRE DE *PISTACIA LENTISCUS* DANS
UN MODELE D'ASTHME EXPERIMENTAL**

**N. CHEKCHAKI, A. BOUMENDJEL, S. DEBABI, L. H. SALEM et M.
MESSARAH**

Download PDF

Export

More options...

Search ScienceDirect



Advanced search

Article outline

Introduction
Méthodes
Résultats
Discussion
Conclusion
Déclaration d'intérêts



Revue Française d'Allergologie

Volume 55, Issue 3, April 2015, Pages 269

10ème Congrès Francophone d'Allergologie



The-10

Effets anti-inflammatoires de *Pistacia lentiscus* dans un modèle d'asthme expérimental

N. Chekchaki, A. Boumendjel, S. Debabi, L.H. Salem, M. Messarah

Show more

doi:10.1016/j.reval.2015.02.171

Get rights and content

Introduction

Le but de ce présent travail est d'étudier l'effet de *Pistacia lentiscus* dans un asthme expérimental.

Méthodes

Cinquante-quatre rats Wistar ont été répartis en : lot témoin, lot traité à l'extrait aqueux (EA) de lentisque (200 mL/kg/jour), lot traité à l'huile de lentisque (HL) (3,3 mL/kg/jour), lot sensibilisé avec l'ovalbumine (OVA) mélangée à l'hydroxyde d'aluminium (1 mg/mL), lot sensibilisé et traité avec l'EA et un lot sensibilisé et traité avec l'HL. Les paramètres hématologiques, ceux de la croissance et les protéines totales (PT) ont été mesurés.

Résultats

La sensibilisation provoque une diminution du poids corporel ainsi qu'une augmentation significative ($p = 0,04$) du poids absolu des poumons tout en augmentant les taux sanguins de cellules leucocytaires totales, des éosinophiles et des lymphocytes, respectivement de 141,61 %, 1466,97 % et 106,76 %. Des augmentations des taux de PT dans le sérum ($p = 0,02$) ainsi que dans le liquide broncho-alvéolaire ($p = 0,0002$) ont été enregistrées. L'HL induit un regain dans le poids corporel avec un retour à la normale du poids absolu des poumons. De plus, l'EA induit une réduction hautement significative du poids absolu du foie ($p = 0,01$). Il a également été montré que l'administration de l'HL plus que son EA réduit significativement les taux cellulaires de 41,05 %. L'HL diminue considérablement les taux de PT sériques et dans le LBA (9,46 % et 21,74 %, respectivement).

Discussion

L'inflammation allergique, provoquée par la sensibilisation à l'OVA est résorbée par l'effet anti-inflammatoire observé aussi bien par l'HL que par son EA. La richesse de cette plante en tanins, flavonoïdes, phytostérols, ayant tous une activité anti-inflammatoire, serait en partie responsable de cet effet.

Conclusion

Ces résultats sont en faveur d'un effet anti-inflammatoire dont est doté *Pistacia lentiscus*, notamment sous forme d'huile.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs n'ont pas transmis de déclaration de conflits d'intérêts.

Auteur correspondant.

Copyright © 2015 Published by Elsevier Masson SAS

About ScienceDirect
Terms and conditions

Contact and support
Privacy policy



Copyright © 2015 Elsevier B.V. or its licensors or contributors. ScienceDirect® is a registered trademark of Elsevier B.V.

Cookies are used by this site. To decline or learn more, visit our [Cookies](#) page.

[Switch to Mobile Site](#)

■ This article belongs to a special issue

10ème Congrès Francophone d'Allergologie

Résumé publié

dans la Revue française d'allergologie. Volume 56, Issue 3, Avril 2016, Page
302.

**EFFETS DE *PISTACIA LENTISCUS* SUR LES VARIATIONS DES
NIVEAUX D'INTERLEUKINE-4 ET DE PROTEINES TOTALES
SERIQUES ET DANS LE LIQUIDE DU LAVAGE
BRONCHOALVEOLAIRE DANS UN MODELE D'ASTHME
EXPERIMENTAL**

**CHEKCHAKI N., ROUIBAH Z., ROUAG M., MESSARAH M. et
BOUMENDJEL A.**

Purchase

Export

Search ScienceDirect



Advanced search

Article outline is loading...



Revue Française d'Allergologie

Volume 56, Issue 3, April 2016, Pages 302

11ème Congrès Francophone d'Allergologie - 19-22 avril 2016 - Paris,
Palais des Congrès

Imm-03

Effets de *Pistacia lentiscus* sur les variations des niveaux d'interleukine-4 et de protéines totales sériques et dans le liquide du lavage bronchoalvéolaire dans un modèle d'asthme expérimental

N. Chekchaki, Z. Rouibah, M. Rouag, M. Messarah, A. Boumendjel

Laboratoire de biochimie et de toxicologie environnementale, département biochimie, faculté des sciences, université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie

Available online 5 April 2016



Show less

Introduction

Le but de ce travail est d'étudier l'effet anti-inflammatoire de *Pistacia lentiscus* dans un asthme induit expérimentalement.

Méthodes

Des rats mâles de la souche Wistar ont été sensibilisés avec l'ovalbumine (OVA) et parallèlement traités soit à l'extrait aqueux (EA), soit à l'huile de lentisque (HL). Le dosage de l'IL-4 est réalisé par la méthode Elisa Sandwich en phase solide (in vitro) et le dosage des protéines totales est déterminé par la méthode colorimétrique au Biuret. Ces deux paramètres sont analysés au niveau sérique et dans le liquide du lavage bronchoalvéolaire (LBA).

Résultats

La sensibilisation à l'OVA provoque une augmentation significative et très hautement significative des protéines totales sériques et dans le liquide du LBA (de l'ordre de 4,96 % et de 62,13 %, respectivement) par rapport au lot témoin. Cependant, l'administration de l'HL a montré une diminution significative de leurs taux (de l'ordre de 9,46 % et de 21,74 %, respectivement) par rapport au lot sensibilisé (OVA). De plus, l'HL s'est révélée être significativement plus efficace que son EA ($p = 0,01$). Nous avons aussi enregistré une augmentation significative du taux de l'IL-4 aussi bien dans le sérum que dans le liquide du LBA (de l'ordre de 22,87 % et de 27,33 %, respectivement). Toutefois, les traitements, à l'HL et à son EA, indiquent une diminution de son taux par rapport au lot sensibilisé. Cette diminution s'est révélée significative dans le sérum lors du traitement à l'HL ($p = 0,03$).

Discussion

L'élévation du taux de l'IL-4 et des protéines provoquées par la sensibilisation à l'ovalbumine est résorbée par l'effet anti-inflammatoire observé aussi bien par l'huile que par l'EA de la plante. La richesse de cette plante en tanins, flavonoïdes et phytostérols serait probablement responsable de son effet anti-inflammatoire.

Conclusion

Ces résultats sont en faveur d'un effet anti-inflammatoire dont sont dotés les extraits (d'avantage huileux) de *P. lentiscus*.

Auteur correspondant.

Copyright © 2016 Published by Elsevier Masson SAS

Communication internationale

IIIème Congrès International de Biotechnologie et Valorisation des Bio-
ressources (AT-BVBR)

Tabarka, Tunisie. du 20 au 23 Mars 2015

**EFFETS DE *PISTACIA LENTISCUS* SUR LES PARAMETRES DU
STRESS OXYDANT ET LES VARIATIONS HISTOPATHOLOGIQUES
PULMONAIRES DANS UN PROTOCOLE D'ASTHME
EXPERIMENTAL**

**CHEKCHAKI N., BOUMENDJEL A., KHALDI T., SEKIOU O. et
MESSARAH M.**

ASSOCIATION TUNISIENNE
DE BIOTECHNOLOGIE ET VALORISATION
DES BIORESSOURCES



Congrès International de Biotechnologie et
Valorisation des Bioressources

الجمعية التونسية لتكنولوجيا وتنمية الموارد الطبيعية
مؤتمر دولي في التكنولوجيا وتنمية الموارد الطبيعية

TUNISIAN ASSOCIATION
OF BIOTECHNOLOGY AND
BIORESOURCES VALORISATION

ATTESTATION DE PARTICIPATION

Le comité d'organisation du III^{ème} congrès international de Biotechnologies et Valorisation des Bio-Ressources (AT-BVBR), tenu à l'hôtel Itrapika, Tabarka, Tunisie, du 20 au 23 mars 2015, atteste que :

a participé activement aux journées et a présenté la communication par affiche intitulée :

AF12 : EFFETS DE *Pistacia lentiscus* sur les PARAMETRES DU STRESS OXYDANT ET LES VARIATIONS HISTOPATHOLOGIQUES PULMONAIRES DANS UN PROTOCOLE D'ASTHME EXPERIMENTAL

Chekchaki N., Boumendjel A., Khaldi T., Sekiou O. et Messarah M.

Pour le comité d'organisation

Valorisation des Bio-Ressources
M. Lamjed Marzouki
الجمعية التونسية لتكنولوجيا وتنمية الموارد الطبيعية

Le président: M^{ed} Lamjed MARZOUKI

Communication internationale

IIème Congrès International CI-SAN Alimentation méditerranéenne et santé

Alger, Algérie. du 13 au 15 Octobre 2015

Résumé publié

dans la Revue Nutrition et santé. Volume 4, N 1, 2015, Page 118

**EFFETS DE *PISTACIA LENTISCUS* SUR LES PARAMETRES DU
STRESS OXYDANT AUX NIVEAUX SPLENIQUE ET
ERYTHROCYTAIRE, DANS UN MODELE D'ASTHME
EXPERIMENTAL**

**CHEKCHAKI N., BOUMENDJEL A., KHALDI T., SEKIOU O. et
MESSARAH M.**



Société Algérienne de Nutrition

2^{ème} CONGRÈS INTERNATIONAL

CI-SAN 2015

ALGER, 13-15 OCTOBRE 2015

Attestation de participation

Je soussignée, Malika BOUCHENAK, Présidente de la Société Algérienne de Nutrition, atteste que

Narimene CHEKCHAKI

A assisté au 2^{ème} Congrès International de la SAN le 14 et 15 octobre 2015 à Alger, Sheraton Club des Pins et a présenté une communication affichée intitulée : **Effets de *Pistacia lentiscus* sur les paramètres du stress oxydant au niveau splénique et érythrocytaire, dans un modèle d'asthme expérimental**

Co-auteurs : BOUMENDJEL A., KHALDI T., SEKIOU O., MESSARAH M.

Fait à Alger, le 15 octobre 2015

Pr Malika BOUCHENAK

Présidente



P219 : EFFETS DE PISTACIA LENTISCUS SUR LES PARAMÈTRES DU STRESS OXYDANT AU NIVEAU SPLÉNIQUE ET ÉRYTHROCYTAIRE, DANS UN MODÈLE D'ASTHME EXPÉRIMENTAL

Narimene CHEKCHAKI^{1,2}, BOUMENDJEL A.¹, KHALDI T.¹, SEKIOU O.¹, MESSARAH M.¹

¹Laboratoire de Biochimie et de Toxicologie Environnementale, Département de Biochimie, Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie.

²Laboratoire de Biochimie et de Microbiologie Appliquées, Département de Biochimie, Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie

Introduction. *Pistacia lentiscus* est une des plantes médicinales les plus intéressantes, au vu de ses diverses propriétés antimicrobienne, antimutagénique et antiulcéreuse. **Objectifs.** Le but de ce présent travail est d'étudier l'effet antioxydant de l'huile de *Pistacia lentiscus* obtenue à partir du fruit de l'arbre et ce dans le cadre d'un asthme induit expérimentalement. **Matériels et méthodes.** Des rats mâles adultes de la souche Wistar ont été sensibilisés avec l'ovalbumine (OVA) et parallèlement traités à l'huile de lentisque (3,3 ml/kg de poids corporel/jour). Les paramètres du stress oxydant sont analysés dans le foie et les érythrocytes. La concentration du MDA est mesurée selon la méthode d'Esterbauer *et al.*, (1992) et l'activité enzymatique de la GPx est déterminée suivant la méthode de Flohe & Gunzler, (1984). **Résultats.** La sensibilisation à l'OVA provoque une diminution significative du taux de la GPx ($p < 0,01$) par rapport au lot témoin aussi bien dans le foie que dans les érythrocytes. L'administration de l'huile de lentisque a un effet additif sur l'activité de protection de cette enzyme, révélée par une augmentation très hautement significative au niveau hépatique. Quant à la concentration du MDA, elle augmente significativement chez les rats sensibilisés par l'OVA dans les deux tissus étudiés. L'administration de la plante révèle une diminution significative de son taux. **Conclusion.** La sensibilisation à l'OVA a induit un état d'inflammation avec une perturbation du système de défense antioxydant. L'administration de l'huile de lentisque révèle des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de cette plante.

P220 : EFFET DE PIMPINELLA ANISUM L (ANIS VERT) SUR LA FONCTION RENALE CHEZ DE JEUNES RATS EXPOSÉS AU PLOMB

Amina BEKARA¹, AIT HAMADOUCHE N.¹, KAHLOULA K.², SADIN., AOUESA.¹

¹Laboratoire de Bio-Toxicologie, Bio-Dépollution et Phyto-Remédiation, Département de Biologie, Faculté

des Sciences de la Nature et de la Vie, Université d'Oran 1, Algérie. ²Laboratoire de Biochimie Appliquée, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université du Dr Taher Moulay, Saida, Algérie

Introduction. L'intoxication par le plomb induit une néphro-toxicité qui est associée à des troubles de fonctions rénales chez l'animal et l'homme, ainsi *Pimpinella anisum L* est largement connue par ces vertus thérapeutiques. **Objectif.** Evaluer l'effet bénéfique de l'administration orale de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L* sur la néphrotoxicité induite par le plomb. **Matériel et Méthodes.** Des rats jeunes sont exposés à 0,2% de plomb (Pb) pendant la gestation et la lactation. Après sevrage, les rats sont traités par l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L* (E.A.P) pendant 15 jours. La fonction rénale est évaluée à travers certains marqueurs plasmatiques tels que: l'urée, la créatinine, l'acide urique, les gamma-GT et tissulaires tels que le dosage des protéines et la détermination de la peroxydation lipidique. **Résultats.** Le plomb provoque des dommages au niveau rénal, observés par l'augmentation des concentrations de l'urée, de la créatinine, de l'acide urique et des gamma GT. Le traitement par *Pimpinella anisum L* a permis de diminuer le taux de ces marqueurs avec des pourcentages de 71%, 1,2%, 1,8% et 6%, respectivement. De plus, l'administration orale de *Pimpinella anisum L* a permis de diminuer la peroxydation lipidique (-14%) et d'augmenter le taux des protéines (+9%) au niveau des reins. **Conclusion.** *Pimpinella anisum L* pourrait avoir un potentiel néphro-protecteur contre les effets nuisibles dus à l'intoxication au plomb.

P221 : WORMWOOD EXTRACT AND MERCURY TOXICITY IN RAT BRAIN

Nouria HALLAL, KHAROUBIO.

University of Oran 1 Ahmed Ben Bella, Faculty of Natural and Life Sciences, Department of Biology, Oran, Algeria

Introduction. Mercury is released in the environment by human activity such as mining, smelting, extensive industrial and agricultural usage, combustion of fossil fuels and other industrial release. It enters the body in variety of chemical forms that are elemental, inorganic and organic, exhibiting its toxicology characters including neurotoxicity, nephrotoxicity, reproductive toxicity. **Objectives.** The present in vivo study was designed to access the effects of mercuric chloride (HgCl₂) on antioxidant status and the ability of wormwood extract to reduce its deleterious effect in diffe-

Communication internationale

Première Colloque International en « Toxicologie et Santé »

Guelma, Algérie. le 28 – 29 Novembre 2016

**ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET EFFETS DE *PISTACIA LENTISCUS*
SUR LES PARAMETRES DU STRESS OXYDANT AUX NIVEAUX
PULMONAIRE DANS UN MODELE D'ASTHME EXPERIMENTAL**

**CHEKCHAKI N., SEKIOU O., KHALDI T., DJELLAL I., KHALFAOUI S.,
MESSARAH M. et BOUMENDJEL A.**



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et
des Sciences de la Terre et de l'Univers



Le Premier Colloque International en "Toxicologie et Santé"



Attestation de participation

La présidente du Premier colloque International en "Toxicologie et Santé" organisée le 28 - 29 novembre 2016, atteste que Mlle/Mme/Mr:

Chekchaki Narimène

A présenté une communication par affiche intitulée:

« *Activité antioxydante et effets de Pistacia lentiscus sur les paramètres du stress oxydant au niveau pulmonaire dans un modèle d'asthme expérimental.* »

Co-auteurs: O. Sekiou, T. Khaldi, I. Djellal, S. Khalfaoui, M. Messarahet A.

Présidente du colloque:

Awatif Boumaza

Président du ICTH 2016



Communication internationale

6èmes Journées Scientifiques de L'Association Tunisienne de Toxicologie

Tabarka, Tunisie. Du 20 au 23 Janvier 2017

**EFFETS DE *PISTACIA LENTISCUS* SUR LES VARIATIONS DES
TAUX DE LA SOD ET DE LA CAT DANS UN MODELE D'ASTHME
EXPERIMENTAL**

**CHEKCHAKI N., SEKIOU O., KHALDI T., MESSARAH M. et
BOUMENDJEL A.3**



6^{èmes} Journées Scientifiques de l'ATT «Processus Toxiques-Bioactivité-Biosurveillance»
Tabarka, 21-23 Janvier 2017

Attestation de Participation

Le comité d'organisation des 6^{èmes} Journées Scientifiques de l'ATT, tenues à
Tabarka du 21 au 23 Janvier 2017, atteste que **17^{ème} Che.Kchaki...Na.r.i.mène**
a participé aux journées et a présenté une communication par affiche
n°**92**...

Le Secrétaire Général de l'ATT
Pr. Leila Chekir Ghedira

Association Tunisienne
de Toxicologie
A.T.T.
الجمعية التونسية للتسمم

Association Tunisienne de Toxicologie (ATT), Faculté de Médecine Dentaire, Rue Avicenne, 5019 Monastir.
Site web: www.attox.org Tél: + 21673425550, Fax: + 216 73461150

Communication par affiche N°92 :

Effets de *Pistacialentiscus* sur les variations des taux de la SOD et de la CAT dans un modèle d'asthme expérimental

Chekchaki Narimène^{1,2}, Sekiou Omar¹, Khaldi Tah¹, Messarah Mahfoud¹ et Boumendjel Amel¹

¹ Laboratoire de biochimie et de toxicologie environnementale, département biochimie, Faculté des sciences, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie

² Laboratoire de biochimie et de microbiologie appliquées, département de biochimie, Faculté des sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie.

Correspondance : chekchaki_narimene@outlook.com

Résumé

Le but de ce travail est d'étudier l'effet antioxydant de l'huile de *Pistacia lentiscus* obtenue à partir du fruit de l'arbre et dans le cadre d'un asthme induit expérimentalement.

Pour ce faire, des rats mâles adultes de la souche Wistar ont été sensibilisés avec l'ovalbumine (OVA) et parallèlement traités à l'huile de lentisque. Les paramètres du stress oxydant sont analysés dans les poumons et les érythrocytes. L'activité enzymatique de la CAT est mesurée selon la méthode de Aebi, 1974 et celle de la SOD est déterminée suivant la méthode de Beyer & Fridovich, 1987.

Nos résultats montrent que la sensibilisation à l'OVA provoque une diminution hautement et très hautement significative du taux de la catalase ($p = 0,01$ et $p = 0,0004$) par rapport au lot témoin aussi bien dans les poumons que dans les érythrocytes. De même, l'activité de la SOD, diminue significativement chez les rats sensibilisés dans les deux compartiments précédents ($p = 0,002$ et $p = 0,003$, respectivement). Cependant, l'administration de l'huile de lentisque a eu un effet additif sur l'activité protectrice de la catalase et a permis d'améliorer l'activité de la SOD. Cet effet a été révélé notamment par une augmentation hautement significative de la SOD au niveau pulmonaire.

Pour conclure, la sensibilisation à l'OVA a induit un état d'inflammation avec une perturbation du système de défense antioxydant. Par contre, la co-administration de l'huile de lentisque a révélé les propriétés antioxydantes de cette plante.

Mots clés : asthme expérimental, rat wistar, stress oxydant, *Pistacialentiscus*.