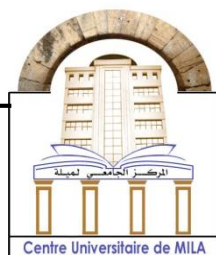


République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Effet de la phytothérapie (*punica granatum* L)
sur des lapins *Oryctolagus cuniculus* exposés
aux solvants (xylène)**

Présenté par :

- BOUSLOUB Hanane
- AMIMOUR Dahbia

Devant le jury :

Président : HARIECH Ouahiba (M.A.A)

Examineur : BOUHALI Imad (M.C.B)

Promoteur : BENDJEDOU Mouna (M.C.B)

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

D'abord, nous voudrions remercier « *ALLAH* » par qui tout est possible, qui nous donnons la santé, le courage pour surmonter les difficultés rencontrées et la volonté de finaliser ce modeste travail.

Nos vifs remerciements vont également au membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche et d'avoir examiné notre travail tout en l'ayant enrichi par leurs propositions :

Nous tenons à remercier Madame *HARIECH* pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Nous tenons à exprimer également nos reconnaissances à monsieur *Bouhali Imed* à qui nous exprimons nos plus profondes reconnaissances et mes sincères remerciements de nos avoirs faits l'honneur d'être examinateur et de participer au jury de ce mémoire.

Nous tenons à exprimer toutes nous reconnaissance à nous directrice de mémoire, Madame *Bendjedou Mouna*. Nous la remercions de nous avoir encadré, orienté, guidé tout au long de ce travail, nous avons très reconnaissante pour sa disponibilité, son aide précieuse et ses encouragements.

Nous remercions en particulier monsieur *Kellab Rabeh* et madame *bouarroudj Samah* pour ses conseils et ses orientations scientifiques tout au long de ce travail, et son aide précieuse lors de la réalisation de la partie pratique.

Un grand merci à notre collègue mademoiselle *Boucheliou Zahra* pour son aide tout le temps.

Finalement, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

A vous tous, un grand merci.

Dédicace

*A l'aide de DIEU tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma
vie, j'ai pu réaliser ce travail.*

A mes très chers parents.

*Aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste
valeur la gratitude et l'amour que je vous porte.*

*J'ai l'honneur de dédier le fruit de mes 18 ans d'études
À la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a
jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort
pour me rendre heureuse : mon adorable mère manouba.*

*À mon modèle et fierté, mon père en signe d'amour, de
reconnaissance et de gratitude pour tout le soutien les sacrifices
dont il a fait preuve à mon égard : mon cher père rabeih.*

*À mes frères et mes sœurs pour ses soutiens moraux et leurs
conseils précieux tout aux longues de mes études.*

*À mes chers amis Safa, Maroua, Chourouk, Narimane pour
leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

*À ma chère binôme Chourouk pour son soutien moral et sa
patience.*

BOUSLOUB Hanane

Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail à mes chers parents

Nadjiba et Abderrahmane

*Pour tous leurs sacrifices, leur tendresse, leur soutien et leurs
prières tout*

Au long de mes études.

*À mes chers frères et Sœurs Nerdjes et Fatima Zohra et leurs
enfants*

Une grande et spéciale dédicace à ma sœur

Nesma et son mari Ammar

Qui m'a toujours conseillé, orienté, et soutenue

*À tous mes amis Kenza, Hanane, Khawla, Chaima, Bouchra,
Hanane, Safa, Marwa, Narimane.*

*À ma partenaire Hanane pour tous les moments de joie et de
tristesse que nous avons passés ensemble et sa famille*

À tous mes collègues, de spécialité biochimie appliquée

*En un mot à tous les personnes qui ont contribué à ma
continuation et à ma*

Réussite de près ou de loin.

Enfin je le dédie à moi-même

Dahbia Amimour

Résumé

Résumé :

Les solvants sont devenus une menace majeure pour l'humanité, ils ont été utilisés dans de nombreux produits importants de la vie quotidienne humaine telle que la peinture, vernie et plusieurs d'autres, en revanche, il y a ce que Dieu a créé dans la nature «le grenadier » qui est considéré parmi les fruits les plus bénéfiques des plantes médicinales.

Ce travail repose sur l'étude de l'effet correctif de grenadier sur l'effet néfaste de xylène sur certains paramètres de reproduction ainsi que certains paramètres biochimiques et hématologiques chez des lapins *cuniculus Oryctolagus*.

Pendant quatre semaines consécutives certains lapins reçoivent une dose de xylène, autres lapins reçoivent une dose de xylène et une dose de grenadier et d'autres ne reçoivent rien (témoins).

Notre expérience est basée sur l'étude de poids des organes telle que les testicules, le foie, l'épididyme et l'étude des paramètres de la fertilité masculine et d'autres paramètres biochimiques et hématologiques.

Les résultats expérimentaux montrent des changements de poids des organes étudié, par ailleurs des changements au niveau des paramètres de fertilité masculine. La glycémie, triglycéride, cholestérol, les paramètres hématologique (FNS) et hormonal (testostérone) ont subi des modifications et tout cela due à l'effet néfaste de xylène. D'autre part ces paramètres ont subi une légère correction dans leurs valeurs en raison de l'effet correctif de grenadier.

En conclusion, cette étude a démontré les effets néfastes de l'exposition au xylène sur les paramètres relatifs à la reproduction, des paramètres biochimiques, hormonal et hématologiques. D'autre part, le grenadier a un effet correctif sur les paramètres précédents.

Mots clés : pollution, xylène, reprotoxicité, grenadier, lapin.

Abstract:

Solvents have become a major threat to humanity, they have been used in many important products of human daily life such as painting, varnishing and many others, on the other hand, there is what God created in nature «the grenadier» which is considered among the most beneficial fruits of medicinal plants.

This work is based on the study of the remedial effect of pomegranate on the harmful effect of xylene on certain reproductive parameters as well as certain biochemical and haematological parameters in cuniculus rabbits *Oryctolagus*.

For four consecutive weeks some rabbits receive a dose of xylene, other rabbits receive a dose of xylene and a dose of pomegranate and others receive nothing (controls).

Our experiment is based on the study of organ weights such as testicles, le foie, epididym and the study of male fertility parameters and other biochemical and haematological parameters.

The experimental results show changes in the weight of the studied organs and also changes in the male fertility parameters. Blood glucose, triglyceride, cholesterol, hematological (SNF) and hormonal (testosterone) parameters have undergone changes and all due to the harmful effect of xylene. On the other hand, these parameters underwent a slight correction in their values due to the remedial effect of grenadier.

In conclusion, this study demonstrated the adverse effects of xylene exposure on reproductive, biochemical, hormonal and haematological parameters. On the other hand, the grenadier has a corrective effect on the previous parameters.

Keywords: pollution, xylene, reprotoxicity, grenadier, rabbit.

ملخص:

اصبحت المذيبات تهديدا كبيرا للبشرية، فقد تم استخدامها في العديد من المنتجات الهامة للحياة اليومية للإنسان مثل الطلاء والورنيش وغيرها الكثير، ومع ذلك، هناك ما خلقه الله في الطبيعة "شجرة الرمان" التي تعتبر من أكثر ثمار مفيدة للنباتات الطبية.

يعتمد هذا العمل على دراسة التأثير التصحيحي للerman على التأثير الضار للزليلين على بعض معايير التكاثر وكذلك بعض المتغيرات البيوكيميائية والدمية في أرانب *Oryctolagus cuniculus*.

لمدة أربعة أسابيع متتالية، تتلقى بعض الأرانب جرعة من الزليلين، بينما تتلقى الأرانب الأخرى جرعة من الزليلين وجرعة من الرمان ولا يتلقى البعض الآخر أي شيء (ضوابط).

تستند خبرتنا إلى دراسة أوزان الأعضاء مثل الخصيتين والكبد والبربخ ودراسة معايير خصوبة الذكور وغيرها من المعايير البيوكيميائية والدمية.

أظهرت النتائج التجريبية تغيرات في وزن الأعضاء المدروسة، وكذلك تغيرات في معايير خصوبة الذكور. تغيرت مستويات السكر في الدم، والدهون الثلاثية، والكوليسترول، وأمراض الدم (FNS) والهرمونات (التستوستيرون) وكل هذا بسبب التأثير الضار للزليلين. من ناحية أخرى، خضعت هذه المعلمات إلى تصحيح طفيف في قيمها بسبب التأثير التصحيحي للقنبلة.

في الختام، أوضحت هذه الدراسة الآثار السلبية للتعرض للزليلين على البارامترات الإنجابية، والبيوكيميائية، والهرمونية، والمتغيرات الدموية. من ناحية أخرى، فإن شجرة الرمان لها تأثير تصحيحي على المعلمات السابقة.

الكلمات المفتاحية: التلوث، الزليلين، السمية التكاثرية، الرمان، الأرانب.

Sommaire

Résumé

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des Figure

Liste des Tableaux

Chapitre I : Étude bibliographique

La première partie : le xylène

Introduction générale :	1
I.1. Le xylène :	5
I.1.1. Définition :	5
I.1.2. Historique :	5
I.1.3. Propriétés physico-chimiques :	6
I.1.4. Source et utilisation :	6
I.1.5. Toxicocinétique du xylène :	8
I.1.5.1 Absorption :	8
I.1.5.2. Distribution :	9
I.1.5.3 Métabolisme :	9
I.1.5.4. Elimination :	10
I.1.6. Mécanisme de toxicité :	10
I.1.7. Effet toxique de xylène :	10
I.1.7.1. Toxicité aiguë :	10
I.1.7.2 toxicité chronique :	12
I.1.8. Effet du xylène sur la santé humaine :	13
I.1.8.1. Effet sur la respiration :	13
I.1.8.2. Effet oculaire :	13
I.1.8.3. Effet neurologique :	13
I.1.8.4. Effet hématologique :	13

I.1.8.5. Effet cancérigène :	14
I.1.8.6. La génotoxicité :.....	14
I.1.9. Effet sur la reproduction et le développement embryonnaire :.....	14
I.1.9.1. La reprotoxicité :	14
I.1.9.2. Effet sur le développement embryonnaire :.....	15

La deuxième partie: Le grenadier (*punica granatum L*)

I.2. Le grenadier (<i>punica granatum L</i>) :	18
I.2.1. Définition :	18
I.2.2. Description :	19
I.2.2.1. Description Botanique :	19
I.2.2.2. Description général :	19
I.2.3. Les constituants de grenadier (<i>punica granatum L</i>) :	22
I.2.4. Utilisations et bienfaits de grenadier :	23
I.2.4.1. Utilisations traditionnelles de grenadier :.....	23
I.2.4.2. Le grenadier en médecine traditionnelle :	24
I.2.5. Les propriétés thérapeutiques de la grenade :	25
I.2.5.1. Activité antioxydant :.....	25
I.2.5.2. Activité anti-inflammatoire :.....	25
I.2.5.3. Activité antidiabétique :.....	26
I.2.6. Toxicité de grenadier (<i>punica granatum L</i>) :.....	26

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériels :	30
II.1.1. Matériels biologique :.....	30
II.1.1.1. Produit chimique :	30
II.1.1.2. Le produit naturel :	30
II.1.2.les conditions d'élevage :.....	31
II.2. Méthodologie :	32

II.2.1. Protocole expérimental :	32
II.2.1.1. Le pesage des lapins :	32
II.2.1.2. Préparation de solvant « xylène » :	33
II.2.1.3. Préparation de produit naturel (jus de grenade) :	33
II.2.1.4. Le traitement des lapins :	33
II.2.1.5. Les prélèvements :	35
II.2.3. Dosage des paramètres biochimiques :	40
II.2.3.1 Dosage du glucose :	40
II.2.3.2. Dosage du cholestérol :	41
II.2.3.3. Dosage des triglycérides :	43
II.2.4. Numérotation de la formule sanguine (FNS) :	46
II.2.5. Etude hormonal :	47
II.2.6. Traitement statistique des résultats :	50
Chapitre III : Résultats	
III.1. Etat pondéral des organes :	52
III.1.1. Testicules :	52
III.1.2. Epididyme :	53
II.1.3. Foie :	54
III.2. Etude de la reproduction :	55
III.2.1. Mobilité :	55
III.2.3. Testostérone :	58
III.3. Etude des paramètres biochimiques :	59
III.3.1. Glycémie :	59
III.3.2. Cholestérol :	60
III.3.3. Triglycérides :	61
III.4. Étude du paramètre hématologique :	62
III.4.1. Globule rouge :	62

III.4.2. Globule blanc : 63

III.4.3. Hémoglobine : 64

Chapitre IV : Discussion

IV. Discussion 67

Conclusion générale : 74

Les références bibliographiques

*Listes des abréviations
des figures
et des tableaux*

Liste des abréviations :

CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

CHE : Cholestérol estérase

CHOD : Cholestérol oxydase

FNS : La numération de la formule sanguine

GPO : Glycérol-3-oxydase

G6P-DH : Glucose-6-phosphate

HK : Hexokinase

LPL : Lipoprotéine lipase

POD : Peroxydase

TCMH : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

VGM : volume globulaire moyen

Liste des Figure :

Figure 1. Structure chimique des trois isomères du xylène.....	05
Figure 2. Utilisation de xylène dans l'industrie pharmaceutique.....	08
Figure 3. Utilisation de xylène dans la production de peinture.....	08
Figure 4. Métabolisme de xylène.....	09
Figure 5. Le grenadier (<i>punica granatum L.</i>).....	18
Figure 6. Feuilles de <i>punica granatum L.</i>	20
Figure 7. Fleure de <i>punica granatum L.</i>	20
Figure 8. Fruit de <i>punica granatum L.</i>	21
Figure 9. Les grains de <i>punica granatum L.</i>	21
Figure 10. L'écorce de <i>punica granatum L.</i>	21
Figure 11. Principaux constituants des extraits des différentes parties de la grenade.....	23
Figure 12. Les différentes utilisations de la grenade.....	24
Figure 13. Le xylène.....	30
Figure 14. Structure 3D de xylène.....	30
Figure 15. Le jus de grenade.....	31
Figure 16. Les lapins dans les cages (Animalerie de centre universitaire de Mila)....	32
Figure 17. Le pesage des lapins.....	32
Figure 18. Préparation de solvant (xylène).....	33
Figure 19. Traitement par xylène.....	34
Figure 20. Traitement par grenadier et xylène.....	34
Figure 21. Les prélèvements de sang.....	35
Figure 22. La dissection de lapins.....	36
Figure 23. (a) et (b) : prélèvement des organes.....	36
Figure 24. Le pesage des organes.....	36
Figure 25. Prélèvement de sperme.....	36
Figure 26. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	37
Figure 27. La dilution de sperme.....	38
Figure 28. Modifications morphologiques caractéristiques des spermatozoïdes exposés à un stress hypo osmotique.....	39
Figure 29. (c) avant centrifugation, (d) après centrifugation, (e) prélèvement de sérum.....	45

Figure 30: Dosage des paramètres biochimiques (réactif, calibrateur).....	46
Figure 31. (f) avant incubation, (g) après 10min d'incubation.....	46
Figure 32 : (h) blanc échantillon, (i) échantillon, (j) observation de résultat.....	46
Figure 33. le test d'FNS.....	47
Figure 34. Variation moyenne ($X \pm SD$) du poids (P) des testicules chez le lot témoin et les lots DI et DII (n= 5).....	52
Figure 35. Variation moyenne ($X \pm SD$) du poids (P) de L'épididyme chez le lot témoin (T) et les lots traités DI, DII (n= 5).....	53
Figure 36. Variation moyenne ($X \pm SD$) du poids (P) de foie chez le lot témoin et les lots traités (n= 5).....	54
Figure 37. Variation moyenne de la mobilité des spermatozoïdes ($X \pm SD$) En (%) entre les trois groupes (n=5).....	55
Figure 38. Variation moyenne de vitalité des spermatozoïdes ($X \pm SD$) en(%) (Après un test de coloration a l'éosine) entre les trois groupes (n=5).....	56
Figure 39. Variation moyenne des types de malformations morphologiques des spermatozoïdes ($X \pm SD$) en (%) (Après un test hypo-osmotique)Entre les trois groupes (n=5).....	58
Figure 40. Variation moyenne ($X \pm SD$) dans le taux de la testostérone (ng/ml) (n=5).....	59
Figure 41. Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique du glucose chez le lot témoin et les lots traités (n=5).....	60
Figure 42. Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique du cholestérol chez le lot témoin et les lots traités par xylène et grenadier (n=5).....	61
Figure 43. Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique des triglycérides chez le lot témoin et les lots traités (n=5).....	62
Figure 44. Variation moyenne ($X \pm SD$) de le taux des globules rouges (million/) (n=5).....	63
Figure 45. Variation moyenne ($X \pm SD$) de taux des globules blancs (million/) (n=5).....	64
Figure 46. Variation moyenne ($X \pm SD$) de taux d'hémoglobine (Million/) (n=5).....	65

Liste des Tableaux :

Tableau 01 : Les propriétés physico-chimique de xylène.....	06
Tableau 02 : les utilisations des isomères de xylène.....	07
Tableau 03 : répartition des lapins.....	34
Tableau 04 : Variation du poids (P) du testicule chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5).....	52
Tableau 05 : Variation du poids absolus de l'épididyme chez le lot témoin (T) et les Lots traités DI, DII (n=5).....	53
Tableau 06 : Variation du poids de foie chez le lot témoin (T) et les lots Traités DI/DII (n=5)..	54
Tableau 07 : Variation du taux de mobilité des spermatozoïdes chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII (n= 5).....	55
Tableau 08 : Variation du taux de vitalité des spermatozoïdes chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII (n= 5).....	56
Tableau 09 : Variation du taux des malformations morphologiques des spermatozoïdes Chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII (n= 5)	57
Tableau 10 : Variation du taux de la Testostérone chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5).....	58
Tableau 11 : Variation de la concentration sérique du glucose chez le témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5).....	59
Tableau 12 : Variation de la concentration du cholestérol chez le témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5).....	60
Tableau 13 : Variation de la concentration sérique des triglycérides chez le témoin (T) et les Lots traités DI/DII (n=5).....	61
Tableau 14 : Variation du taux des globules rouges chez le lot témoin (T) et les lots traités Variation du taux des globules rouges chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5).....	62
Tableau 15 : Variation du taux des globules blancs chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5).....	63
Tableau16 : Variation du taux d'hémoglobine chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5).....	64

Introduction générale

Introduction générale :

Le développement mondial, l'industrialisation continue et l'augmentation rapide de la population mondiale, au cours du 20^{ème} siècle, ont contribué à plusieurs problèmes mondiaux; les changements environnementaux sont l'un d'entre eux qui incluent également les grands problèmes mondiaux comme les changements climatiques, l'appauvrissement de la couche d'ozone, les changements dans les écosystèmes, la diminution de la biodiversité, l'épuisement des ressources naturelles. Ces changements continuent à menacer la santé et le bien-être de l'humanité.

Les activités humaines ont un impact direct sur l'environnement, ils mènent à plusieurs problèmes graves tels que la pollution qui est considéré comme un problème qui cause un impact négatif sur la santé humaine [1]. Elle est due essentiellement à l'émission massive anthropique de polluants tels que les composés organiques volatils [2].

La famille des composés organiques volatils (COV) comprend plus de 500 polluants, dont notamment le benzène, le tétrachloroéthylène, le toluène et les xylènes [3]. Ils sont des solvants largement utilisés dans le milieu industriel, et malgré leurs succès dans ce domaine ils constituent un réel danger sur la santé de la population à cause de leurs propriétés toxicologiques [4]. La toxicité des solvants se manifeste par des effets neurologique, respiratoire, hématologique, dermatologique, dommages de foie et des reins, et des difficultés sexuelles [3][5], notamment la fertilité qui est beaucoup affectée par ces produits toxiques particulièrement le xylène.

Le xylène est un hydrocarbure cyclique et un polluant environnemental. Il est également utilisé dans les teintures, les peintures, les polishes, la technique médicale et différentes industries comme solvant. Le xylène est libéré dans l'atmosphère sous forme d'émissions fugitives provenant des industries pétrochimiques, du feu, de la cigarette, de différents véhicules. L'exposition à court terme au xylène mélangé ou à leurs isomères individuels entraîne une irritation du nez, des yeux et la gorge, ce qui entraîne des effets nocifs sur le système nerveux, le système gastro-intestinal et la reproduction. Cependant, L'exposition à long terme au xylène peut avoir des effets dangereux sur le système respiratoire, le système nerveux central, le système cardiovasculaire et le système rénal [6].

La grande diffusion de ces polluants et leurs effets nocifs ces dernières décennies ont rendu la médecine traditionnelle plus importante c'est ce qui a attiré l'attention sur la

phytothérapie [7]. Ce dernier est à base de plantes médicinales qui jouent depuis longtemps un rôle important dans le maintien de la santé humaine et l'amélioration de la qualité de la vie humaine, continuent de le faire à l'heure actuelle et joueront également un rôle majeur à l'avenir [8].

Les plantes médicinales peuvent être utiles comme médicaments ou suppléments dans le traitement ou la prise en charge de diverses maladies. Un grand nombre de preuves montrent l'immense potentiel des plantes médicinales pour traiter les troubles cardiovasculaires, hépatiques, du système nerveux central, digestifs et métaboliques.

Parmi les plantes médicinales ayant un intérêt thérapeutique important (*punica granatum* L) un fruit ancien avec une histoire médicale illustre à cause de ses caractéristiques anticancéreuses, cardioprotectrices, antioxydantes, antidiabétiques, hypolipémiantes et dermoprotectrices. Ces propriétés suggèrent son utilisation possible comme thérapie ou complément pour la prévention et le traitement de plusieurs types de cancers et de maladies cardiovasculaires, du syndrome métabolique et en complément de l'insuline, l'infertilité masculine et l'obésité [9].

Notre travail se dirige dans cet axe et se base sur une étude expérimentale de l'effet négatif d'un solvant : le xylène sur certains paramètres relatifs à la fonction de reproduction ainsi que quelques paramètres biochimiques et hématologiques chez des lapins mâles et matures de l'espèce *Oryctolagus cuniculus* après une exposition cutanée (injection). Dans notre travail on a essayé aussi de démontrer l'effet positif et correcteur d'un produit naturel : le grenadier (*punica granatum* L) sur les effets négatifs des solvants.

Le manuscrit est subdivisé en quatre chapitres :

- **Le premier** : est une étude bibliographique divisée en deux parties ; la première partie est une généralité sur le xylène et leur effet impact sur la santé et la deuxième partie sur le grenadier et leurs activités.
- **Le second** : traite le procédé expérimental ainsi que les dispositifs expérimentaux utilisés pour la réalisation de ce mémoire.
- **Le troisième** : Les résultats expérimentaux.
- **Le quatrième** : discussion des résultats.

Enfin une conclusion générale résume les principaux résultats obtenus lors de ce travail.

Chapitre I :
Étude bibliographique

La première partie :

Le xylène

I.1. Le xylène :

I.1.1. Définition :

Le xylène est un hydrocarbure aromatique organique connu sous le nom de xylole ou de diméthyle-benzène de formule $C_6H_4(CH_3)_2$ [10]. Il existe trois formes de xylène dans lesquelles les groupes méthyliques varient selon le cycle du benzène : le méta-xylène, ortho-xylène et para-xylène (m-, o-, et p-xylène), Il est principalement un produit chimique synthétique, incolore et inflammable avec une odeur sucrée, il s'évapore et brûle facilement. Le xylène ne se mélange pas bien avec l'eau. Cependant, il se mélange avec l'alcool et beaucoup d'autres produits chimiques [11].

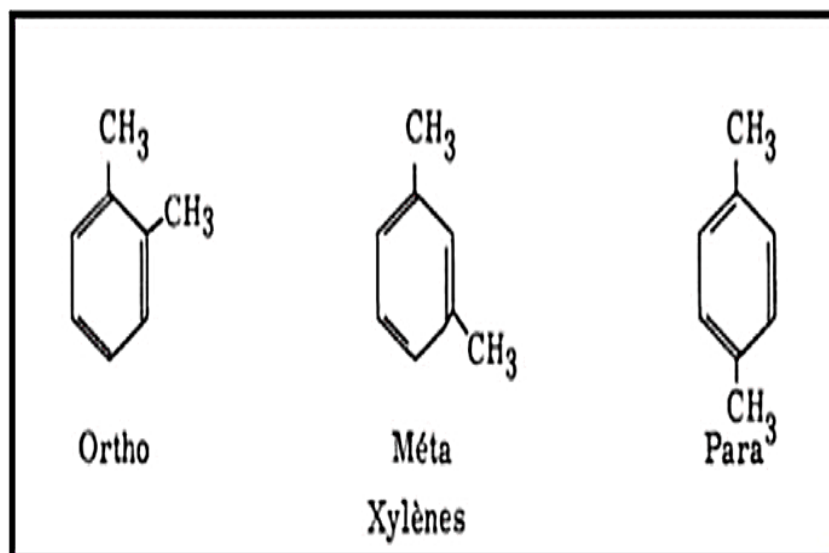


Figure 1 : structure chimique des trois isomères du xylène [12].

I.1.2. Historique :

Le xylène a pris son nom du nom grec xylon qui signifie bois. En 1850 il a été découvert dans des essences naturelles de bois par Cahours. De 1865 à 1877, des isomères de xylène ont été identifiés [13].

I.1.3. Propriétés physico-chimiques :

Tableau 01 : Les propriétés physico-chimique de xylène.

Xylène	o-xylène	m-xylène	p-xylène	Références
Formule Moléculaire	C₆H₄ (CH₃)₂	C₆H₄ (CH₃)₂	C₆H₄ (CH₃)₂	[14]
Etat physique	Liquide	Liquide	Liquide	[15]
Poids moléculaire	106,16 g/mol	106,16 g/mol	106,16 g/mol	[11]
Masse volumique (à 25°C)	0,8760 g/cm³	0,8599 g/cm³	0,8567 g/cm³	[13]
Solubilités dans l'eau à 25°C	170 à 221 mg/l	122 à 223 mg/l	150 à 215 mg/l	[15]
Chaleur de fusion	13,78 kJ/mol	11,56 kJ/mol	17,02 kJ/mol	[13]
Point de fusion	-25,182 °C	-47,87 °C	13,26 °C	[13]
Température d'ébullition	144,4 °C	139,1 °C	138,4 °C	[13]
Demi-vie dans le sang	2.6 h	1.5 h	2.4 h	[16]
Enthalpie de vaporisation (à 1 bar)	36,89 kJ/mol	36,45 kJ/mol	36,00 kJ/mol	[13]
Facteurs de conversion	1ppm = 4,34 mg.m⁻³	1ppm = 4,34 mg.m⁻³	1ppm = 4,34 mg.m⁻³	[11]

I.1.4. Source et utilisation :

Le xylène est l'un des 30 principaux produits chimiques produits aux États-Unis en termes de volume [11]. Les incendies pétroliers et forestiers, les éruptions volcaniques et les émissions volatiles de la végétation représentent les sources naturelles d'exposition du xylène dans

l'environnement. Le xylène provient de produits pétroliers bruts par reformage catalytique ou craquage pyrolytique [17].

Le xylène sert principalement de solvant (liquide susceptible de dissoudre d'autres substances) dans l'industrie de l'imprimerie, du caoutchouc et du cuir. Avec d'autres solvants, le xylène est également largement utilisé en tant qu'agent nettoyant, diluant pour peinture, et dans les vernis à ongle. Dans une moindre mesure, le xylène est utilisé comme un matériau dans des industries chimiques : des plastiques et des fibres synthétiques et comme ingrédient dans le revêtement des tissus et papiers, Il est présent en petites quantités dans le carburant d'avion et l'essence [11].

En dentisterie, le xylène est utilisé dans les laboratoires histologiques pour le traitement des tissus, coloration et couvrir le glissement et aussi dans le retrait endodontique comme un solvant gutta-percha. Son facteur de solvabilité élevé permet un maximum déplacement de l'alcool et rend le tissu transparent, l'infiltration de paraffine [18].

Tableau 02 : les utilisations des isomères de xylène [19].

Isomères de xylène	Utilisations
méta-Xylène	utilisé comme solvant, comme intermédiaire pour les colorants et la synthèse organique, en particulier l'acide isophtalique et insecticides, et dans la carburante aviation.
ortho-xylène	utilisé dans la fabrication de phtaliques anhydride, vitamine et synthèse pharmaceutique, colorants, insecticides, carburants.
para xylène	Utilisé dans la synthèse de l'acide téréphtalique pour les résines et fibres de polyester, vitamine, les synthèses pharmaceutiques et les insecticides.



Figure 02 : utilisation de xylène dans

L'industrie pharmaceutique.



Figure 03 : utilisation de xylène dans

La production de peinture.

I.1.5. Toxicocinétique du xylène :

En raison de leur propriété lipophile, le xylène est rapidement absorbé par toutes les voies d'exposition, rapidement distribué dans tout le corps, et, si non métabolisé, rapidement éliminé dans l'air expiré [11].

I.1.5.1 Absorption :

L'exposition au xylène peut se produire par inhalation, ingestion, yeux et contact avec la peau [20], [21]. L'absorption de xylène se fait rapidement par les voies respiratoires, la quantité de xylènes absorbé correspond à environ 65 % de la quantité inhalée au cours de 10 premier minute [22], quel que soit l'isomère considéré.

Le taux d'absorption de xylène est indépendant de la concentration dans l'air ou de la durée de l'exposition (saturation). L'absorption percutanée des vapeurs de m-xylène est très faible, elle représente environ 1 % de la quantité absorbée par inhalation [23]. Les xylènes liquides sont absorbés par la peau, pour le m-xylène liquide, le flux d'absorption cutanée est de 2 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ (l'immersion des deux mains pendant 15 minutes correspond à une inhalation de 100 ppm pendant la même durée) [24].

L'absorption gastro-intestinale a été peu étudiée. Mais, après l'ingestion d'une dose de 40 mg/kg d'o-xylène ou de m-xylène, un minimum de 34 % d'o-xylène et de 53 % de m-xylène ont été absorbés [16].

I.1.5.2. Distribution :

Les xylènes sont fortement solubles dans le sang et sont facile à absorber dans la circulation générale [15]. L'équilibre de répartition entre le sang et les tissus est atteint en 6h, sauf pour le tissu adipeux atteint au bout de quelques jours [25].

Les xylènes se trouvent majoritairement dans les tissus adipeux. 4 à 8 % des xylènes absorbés par la voie respiratoire se trouvent dans les tissus adipeux après une exposition répétée de 5 à 6 jours à des concentrations de 90 à 200 mg/m³ [26].

I.1.5.3 Métabolisme :

Le xylène est principalement métabolisé dans le foie [21], [20]. Environ 95 % des xylènes absorbés sont oxydés dans le foie et le reste est éliminé tel quel dans l'air expiré [24].

Une fois absorbé, le xylène pénètre dans le sang et il est distribué dans tout le corps, La biotransformation du xylène quel que soit l'isomère /la voie de l'administration procède par l'oxydation d'une chaîne latérale groupe méthylique par oxydases à fonction mixte pour former du méthyle acide benzoïque qui se conjugue à la glycine pour produire du méthylhippurique acide qui est excrété dans l'urine. Moins de 3% de méthylbenzoïques se métabolisent dans le foie en xylénols conjugués [27]. La plupart du xylène qui entre dans le corps part dans les 18 heures suivant la fin de l'exposition [28].

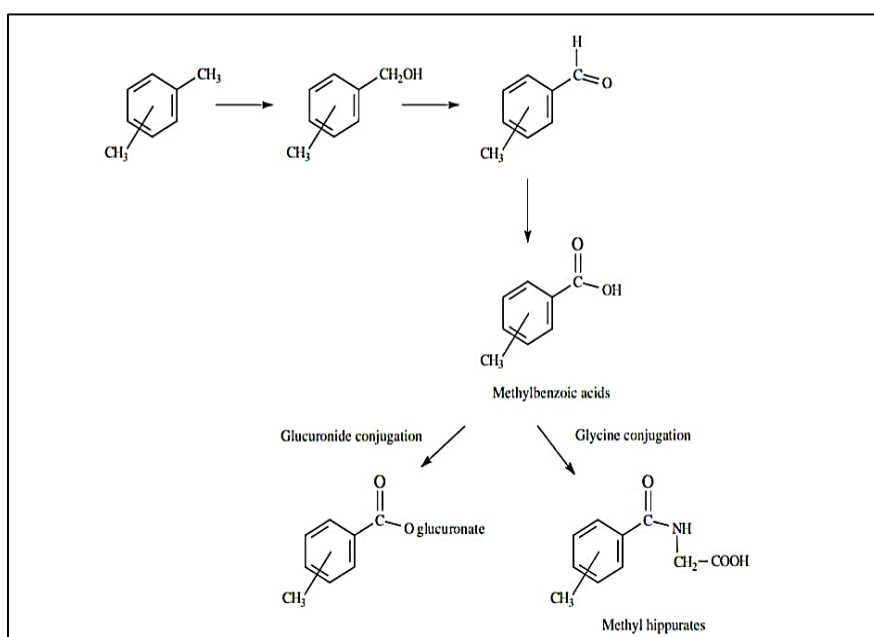


Figure 04 : métabolisme de xylène [29].

I.1.5.4. Elimination :

La principale voie d'élimination passe par les reins. Environ 90 à 95 % des isomères absorbés (méta-, ortho-, para-) sont rapidement éliminés dans les urines, principalement sous forme d'acide méthyle hippurique avec une quantité de xylène (environ 5%) expirés. Deux phases d'éliminations distinctes ont été identifiées, la première rapide avec demi-vie d'une heure et une seconde plus lente avec une demi-vie de 20 heures correspond à une distribution en tissus adipeux [11].

I.1.6. Mécanisme de toxicité :

Les propriétés lipidiques du xylène facilitent la dissolution de la membrane lipidique, ce qui lui permet d'irriter le derme et les muqueuses de l'appareil respiratoire, les yeux [30]. En outre, la propriété lipophile de xylène lui donne une propriété narcotique et anesthésique qui est identique pour les trois isomères [31].

Chez les animaux de laboratoire, les rats soumis à une quantité énorme de m-xylène conduisent à une augmentation de 28 % de t-butylbicyclophosphorothionate, une molécule aux collines/crises d'épilepsie, qui se lie avec le récepteur GABA a été détecté dans le cerveau. L'effet inhibiteur accru de GABAergique neurotransmission dans le cervelet est compatible avec l'effet néfaste de m-xylène sur la coordination motrice [32].

Chez l'homme, le CYP2E1 est l'enzyme le plus important et le plus abondant dans le foie, qui décompose les xylènes en leurs métabolites et forment finalement de l'acide méthyle hippurique [33]. Une exposition aiguë au xylène entraîne l'activation du CYP2E1, ce qui provoque l'assemblage et la nécrose des espèces oxydantes intermédiaires subséquentes. La diffusion de xylène dans les cellules peut endommager l'ADN, ce qui éventuellement mène à la mort cellulaire due à une exposition directe et élevée [34]. Le xylène est très toxique pour le foie et il mène à l'apoptose en raison de la production élevée de caspase-3 et caspase-9 [35].

I.1.7. Effet toxique de xylène :

I.1.7.1. Toxicité aiguë :

➤ Chez animal :

Quelle que soit la voie d'exposition, les animaux présentent des signes d'hyperexcitabilité neurologique (ataxie, tremblements, spasmes) précédant une dépression du système nerveux

central, un ralentissement de l'activité cérébrale, une perturbation de l'apprentissage, l'absence de perception de la douleur et une diminution des interactions sociales. La coordination motrice est impactée uniquement à la plus forte concentration [36].

Au niveau hépatique, le mélange des trois isomères du xylène est un inducteur d'une large variété d'enzymes qui augmente le contenu en cytochrome P450 (concentrations supérieures à 1000 ppm pendant au moins 5 jours). Dans la plupart des cas, cette augmentation se fait sans lésion histopathologique associée [11].

Une cytolysse hépatique dose-dépendante a été rapportée dans une étude où les rats avaient été exposés à des concentrations de 1000 à 2000 ppm pendant 4 heures. Par voie orale, suite à une exposition à 250-1000 ou 2000 mg/kg de chacun des isomères séparément (dans la nourriture pendant 10 jours), le poids du foie est augmenté à la plus forte dose pour les trois isomères [37].

Les études concernant les effets des xylènes sur la fonction rénale ont montré que l'exposition à l'o-xylène induisait une diminution des activités enzymatiques rénales, une augmentation du nombre de cytochromes P-450 rénaux et une augmentation du poids relatif des reins [38], [39].

➤ **Chez l'homme :**

Chez l'homme, l'exposition par voie respiratoire à un mélange de xylènes peut induire la mort. Ainsi, après inhalation de vapeurs de peinture contenant 90 % de xylène, une personne sur trois a trouvé la mort. L'autopsie a permis de mettre en évidence une congestion pulmonaire, une hémorragie intra-alvéolaire, un œdème pulmonaire, une hémorragie cérébrale et des signes d'anoxie. Les deux autres personnes présentaient une cyanose des extrémités et des troubles neurologiques tels que l'amnésie et une confusion temporaire [40].

L'exposition aiguë à des vapeurs de xylène induit des troubles respiratoires, cardiovasculaires, gastro-intestinaux et neurologiques [41], et aussi des irritations de la gorge et du nez ont été rapportés chez des individus exposés au xylène [42].

Le contact direct des vapeurs de xylène avec la peau provoque de l'urticaire chez les individus exposés. Ce symptôme serait dû à une réaction immunitaire [43]. Enfin, après une immersion rapide de la main dans du m-xylène non dilué, une irritation transitoire de la peau

ainsi qu'une vasodilatation, un dessèchement et une desquamation de la peau ont été observés chez les individus exposés [24], [44].

I.1.7.2 toxicité chronique :

➤ Chez l'animal :

Une étude est démontrée que, chez des rats exposés à des concentrations élevées (810 ppm, 8 heures par jour, 6 jours par semaine pendant 110 à 130 jours) d'un mélange d'isomères : une paralysie des pattes postérieures, une perte de poids, une discrète diminution du taux des leucocytes, une augmentation de l'urée sanguine, une hématurie avec albuminurie et une hyperplasie médullaire [45].

Des anomalies hépatiques mal précisées ont été notées chez le rat exposé à 1100 ppm, 8 heures par jour, 7 jours par semaine pendant 1 an. Une augmentation de l'activité enzymatique hépatique et une augmentation de la taille du foie ont été rapportées chez des rats exposés à 1075 ppm d'o-xylène (8 h/j, 7 j/7, pendant 1 an) [46]. D'autre étude est révélé qu'un épaissement de paroi des artères coronaires, une perturbation de la fréquence cardiaque et des cas d'asystolie ont été rapportés chez des rats exposés à 230 ppm de xylènes (6 h/j, 5 j/sem, pendant 4 semaines) [6]. De plus, une augmentation du poids des reins a été constatée chez les rats mâles ayant été exposés à 750 mg/kg/jour d'un mélange de xylènes pendant 90 jours [37].

Des études ont démontré qu'une augmentation de l'agressivité a été également constatée chez les rats ayant été exposés à 1 500 mg/kg/jour d'un mélange de xylènes pendant 90 jours [47].

➤ Chez l'homme :

L'Exposition à la vapeur de xylène de concentration élevée est associée à des difficultés respiratoires et à certains changements dans la fonction pulmonaire [48], [49]. Aussi une irritation du nez et de la gorge [50].

L'inhalation chronique de xylène induit des troubles hématologiques [51], des effets immunologiques, une diminution du nombre des lymphocytes, du taux de complément dans le sérum [52], [53], [54] une diminution de la force musculaire et une réduction de la capacité à saisir des objets [40].

I.1.8. Effet du xylène sur la santé humaine :

I.1.8.1. Effet sur la respiration :

Différentes études ont montré que les effets respiratoires indésirables du xylène détectés chez différents animaux de laboratoire après un passage à court terme ou intermédiaire dans le système respiratoire ont montré les mêmes effets que ceux détectés chez l'homme, à savoir une irritation des voies respiratoires, une respiration difficile, une diminution de la respiration, des hémorragies pulmonaires localisées, du liquide dans les poumons et des lésions des cellules pulmonaires [55], [56], [57],[58].

I.1.8.2. Effet oculaire :

Des études ont rapporté que le contact direct de l'œil avec le xylène chauffé peut entraîner une hémorragie oculaire, une conjonctive et une intolérance à la lumière, une irritation et une perte incomplète de l'épithélium. Alors que dans un cas, une perte d'exposition de la cornée et une rougeur sous-conjonctivale ont été observées. Il est donc conclu que les blessures chimiques entraînent une augmentation des effets oculaires par des lésions thermiques et physiques, ce qui conduit finalement à une déficience visuelle ou à la cécité [59], [60].

I.1.8.3. Effet neurologique :

Le système nerveux central est le principal organe affecté par l'exposition au xylène [13]. De nombreuses études expérimentales ont révélé que le xylène peut provoquer une anomalie du système nerveux chez l'homme et peut entraîner une réponse lente aux stimuli externes, modifient la mémoire, déséquilibrent la démarche corporelle et incoordination [61], [62], [63], [64], [28], [65].

Une exposition à long terme peut entraîner un coma induit par le xylène qui a persisté pendant un jour chez les personnes exposées à une concentration élevée de xylène [6].

I.1.8.4. Effet hématologique :

L'exposition au xylène pendant 5 jours provoque la leucocytose, un taux élevé de transaminase glutamique oxaloacétique sérique (SGOT) et une augmentation de la phosphatase alcaline [40]. Une exposition prolongée au xylène peut entraîner une diminution de l'hémoglobine corpusculaire moyenne, une chute des leucocytes totaux en raison de la

diminution du nombre de cellules différentes due à l'amélioration des monocytes et des réticulocytes [52], [48]. Cependant dans un autre cas il induit la leucocytose par une augmentation absolue du nombre de neutrophiles, alors qu'il entraîne une réduction de l'hémoglobine et du nombre d'érythrocytes, mais le nombre de plaquettes reste élevé [66].

D'autres études montrent que l'exposition au xylène était associée à une thrombocytopénie, une leucopénie et une anémie. Ainsi que la diminution des lymphocytes dans le sang périphérique contenant des lysosomes intacts de N-acétyl-bêta-D-glucosaminidase (NAG-positif) [67].

I.1.8.5. Effet cancérigène :

Différentes études sur des travailleurs exposés au xylène ont examiné les risques de cancer et de leucémie et suggèrent une relation possible entre l'exposition au xylène et de la leucémie [68], [69]. et d'autres études montrent qu'un cancer des ganglions lymphatiques observés comme un effet de xylène chez l'être humain [68].

I.1.8.6. La génotoxicité :

De nombreuses données issues plusieurs tests et systèmes in vivo et in vitro (bactéries, insectes, cellules de mammifères en culture, souris, rats et humains) montrent que le xylène n'est pas mutagène et ne provoque pas d'anomalies chromosomiques [70], [71].

D'autres études montrent qu'il y a une augmentation des lésions de l'ADN au test des comètes a été observée chez 18 travailleurs en laboratoire d'histologie exposés à des solvants organiques, principalement du xylène par voie cutanée et respiratoire, ainsi que chez 17 travailleurs d'une usine de polymères [72], [73].

I.1.9. Effet sur la reproduction et le développement embryonnaire :

I.1.9.1. La reprotoxicité :

Plusieurs études épidémiologiques ont rapporté une toxicité du xylène pour la reproduction. En Chine, une étude a été menée sur des travailleurs exposés à des solvants organiques mélangés dans l'industrie pétrolière. Le résultat de cette étude a montré qu'un tel mélange de solvants organiques entraînait une augmentation de la prévalence de l'oligoménorrhée [74]. Il existe un autre rapport sur les femmes exposées à des solvants contenant des hydrocarbures

aliphatiques et aromatiques organiques. Et l'exposition à ces solvants a entraîné des effets néfastes sur les hormones de la reproduction comme la réduction du 3-glucuronide prégnanediol (pd3g) en phase de corps jaune, l'hormone lutéinisante pré-ovulatoire (LH) et l'estrone 3-glucuronide, et la phase folliculo-folliculaire supérieure pd3g. De plus, la contribution du xylène dans l'incidence de cet effet était supérieure à 50 % [75]. En ce qui concerne l'infertilité masculine, il existe des rapports de diminution de la viabilité des spermatozoïdes et de diminution de la motilité ainsi que d'une libération plus faible de l'action de l'acrosine par les spermatozoïdes qui aident à la pénétration de la zone pellucide, à la diminution de l'action de la γ -glutamyl transférase, à la lactate déshydrogénase C4 (LDH-C4) et à l'élévation du taux de fructose à la suite de l'exposition au xylène [76].

I.1.9.2. Effet sur le développement embryonnaire :

Le xylène provoque des effets toxiques sur le système reproducteur et les fœtus chez les animaux de laboratoire. Comme les déformations chez le squelette du fœtus, l'interruption accrue de la formation osseuse, les rougeurs et le sang dans les organes du fœtus, et peut aussi conduit à réduire le poids du fœtus [77], [78], [79], [80], [81].

Certaines études ont rapporté que l'exposition au xylène pendant les jours de gestation (6 à 15) entraînent une réduction du poids corporel fœtal et de la fente palatine, il y a aussi une réduction du poids du fœtus et développe spécialement la taille de la progéniture avec des déformations squelettiques, alors que le xylène en grande quantité conduit à un effet toxique du fœtus et des parents [82].

La deuxième partie :

Le grenadier

(punica granatum L)

﴿وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ﴾ (99)

Il y a près de 25 siècles, Hippocrate, le Père de la Médecine, a déclaré : « *Que la nourriture soit ton médicament et que le médicament soit ta nourriture* » depuis cette déclaration, à l'heure actuelle, il y a eu un énorme intérêt dans le monde entier pour les nutraceutiques, qui sont connus pour jouer un rôle central dans la gestion de la santé. De nombreuses études différentes ont montré les effets bénéfiques d'une gamme de différents fruits telle que le grenadier [9].

I.2. Le grenadier (*punica granatum* L) :

I.2.1. Définition :

Grenade (*Punica granatum* L), appartenant à la famille *Punica* L. *genus*, *Punicaceae*, est une espèce fruit ancien originaire d'Asie centrale dans des régions s'étendant de l'Iran et du Turkménistan au nord de l'Inde ainsi que dans la région méditerranéenne et au Moyen-Orient [83].

Dans la mythologie grecque, la grenade, emblème de fécondité et de l'amour, est un attribut d'Aphrodite, déesse de la beauté et de l'amour chez les romains, aussi elle symbolisait la fertilité. Depuis le jour où elle naît de l'écume et sort de la mer, partout où elle met le pied surgissent de la terre fleurs, buissons, herbes, c'est lorsqu'elle pose le pied à Chypre que naît ce qui appelé le grenadier [84].

Il a été cultivé dans l'ancienne Egypte et au début de la Grèce, l'Italie et l'Irak Plus tard, il s'est propagé dans Des pays asiatiques comme le Turkménistan, l'Afghanistan, l'Iran, l'Inde, la Chine, Afrique du Nord et Europe méditerranéenne [85].



Figure 05 : le grenadier (*punica granatum* L).

I.2.2. Description :

I.2.2.1. Description Botanique :

I.2.2.1.1. Nomenclature :

Le nom botanique du grenadier (*Punica*) provient du latin *Punicus* (punique), à cause de leur origine qui provient de la région punique romaine, d'où les Romains l'ont importée.

Balaustier, Miouganier, Arosse, Granatier, Migranier, Miougranié, Baloufié sont des noms communs de grenadier [86], et selon les différentes langues du monde la nomenclature de grenadier sera :

- **Nom scientifique** : *Punica granatum*
- **Nom français** : grenadier
- **Nom anglais** : pomegranate
- **Nom espagnol** : Granada
- **Nom italien** : Melograno
- **Nom arabe** : Romane

I.2.2.1.2. Classification :

La première classification de grenadier (*Punica granatum L*) a été décrite par Linné en 1753 après cette classification a été révisée en 2003 par un groupe de botanistes qui donnant la naissance d'une nouvelle classification [87] :

- **Branchements** : Angiospermes
- **Sous branchements** : Dicotylédones vraies
- **Classe** : Rosidées
- **Ordre** : Myrtales
- **Famille** : Lythraceae
- **Genre** : *Punica*
- **Espèce** : *Punica granatum L*

I.2.2.2. Description général :

Le grenadier est un arbre buissonnant de 2 à 5 m de hauteur, Il croît majoritairement dans toute la région méditerranéenne, de façon subspontanée ou cultivée. Il est légèrement épineux, au feuillage caduc et au tronc tortueux [88].

I.2.2.2.1. Feuille :

Les feuilles du grenadier sont opposées ou sous-opposées, luisantes, étroites, et de forme oblongues, entières, de 3 à 7 cm de long et de 2 cm de large [89]. La naissance des feuilles du grenadier se déroule généralement à la fin d'avril sur des rameaux à l'écorce beige [90].



Figure 06 : Feuilles de *punica granatum* L.

I.2.2.2.2. Fleures :

En termes de biologie florale, les grenadiers sont des espèces monoïques, Sur le même arbre se développent des fleurs hermaphrodites fertiles sous forme de "Vase", fleurs mâles stériles à style court et ovaire atrophié [91].

Les fleurs du grenadier ou (balaustes) sont rouge pourpre ou grenat d'aspect froissé et portées par un court pédoncule, solitaires à l'aisselle des feuilles ou réunies par groupe de deux ou trois au extrémités des branches [88]. La naissance du fleures se déroule entre les mois de mai et août [90].

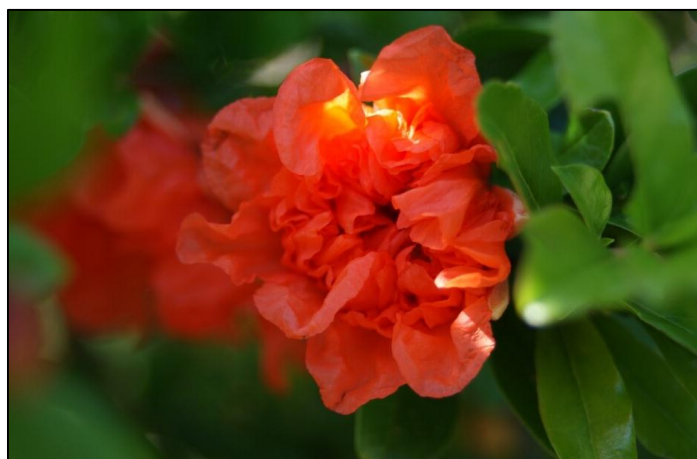


Figure 07 : fleur de *punica granatum* L.

I.2.2.2.3. Fruits :

Le fruit mûr de la grenade peut mesurer jusqu'à cinq pouces de large avec une peau rouge foncé et coriace. Il est en forme de grenade et couronné par le calice pointu. Le fruit contient de nombreuses graines (arilles) séparées par du péricarpe blanc membraneux, et chacune est entourée de petites quantités de jus rouge acidulé [92].



Figure 08 : fruit de *punica granatum* L.

Figure 09 : les grains de *punica granatum* L.

L'écorce du fruit du grenadier est appelée malicorium, c'est la partie dure du fruit. Elle est généralement utilisée séchée, sous la forme de morceaux brillants jaunâtres sur la face intérieure concave et brunâtres ou vert rougeâtre sur la face extérieure [93].



Figure 10 : l'écorce de *punica granatum* L.

I.2.3. Les constituants de grenadier (*punica granatum L*) :

Bien que tous les fruits soient connus pour posséder des propriétés thérapeutiques, certaines études rapportent que même l'écorce, les racines et les feuilles de ces arbres ont des avantages médicaux. Des progrès considérables ont été réalisés au cours de la dernière décennie dans l'établissement des mécanismes pharmacologiques de la grenade et de ses différents constituants.

Les tanins, y compris la punicaline et la punicafoline, et les glycosides de flavones comme la lutéoline et l'apigénine, forment des constituants importants des feuilles de grenade. Les fleurs de grenade sont composées d'acide ursolique, de triterpinoïdes comme l'acide maslinique et d'acide asiatique. Les ellagitannins et les alcaloïdes de la pipéridine sont présents dans les racines.

Le jus de grenade contient des anthocyanes, du glucose, de l'acide ascorbique, de l'acide ellagique, de l'acide gallique, de l'acide caféique, de la catéchine, du gallate d'épigallocatechine (EGCG), de la quercétine, de la rutine, du fer et des acides aminés. L'huile de pépins de grenade est composée principalement d'acide punicoïque et de stérols. Le péricarpe (pelure, écorce) contient des punicalgins, des flavones, des flavonones et d'autres flavanols [94].

La peau du fruit de grenadier contient deux importants acides hydroxybenzoïques, l'acide ellagique et l'acide gallique. Elle renferme également des acides hydroxycinnamiques, il contient des anthocyanidines responsables de la couleur rouge des grenades et des dérivés de flavones responsable de coloration jaune. La punicaline, la punicalagine, la corilagine, la granatine A et la granatine B sont de nombreux ellagitannins présent dans la peau de grenadier [95].

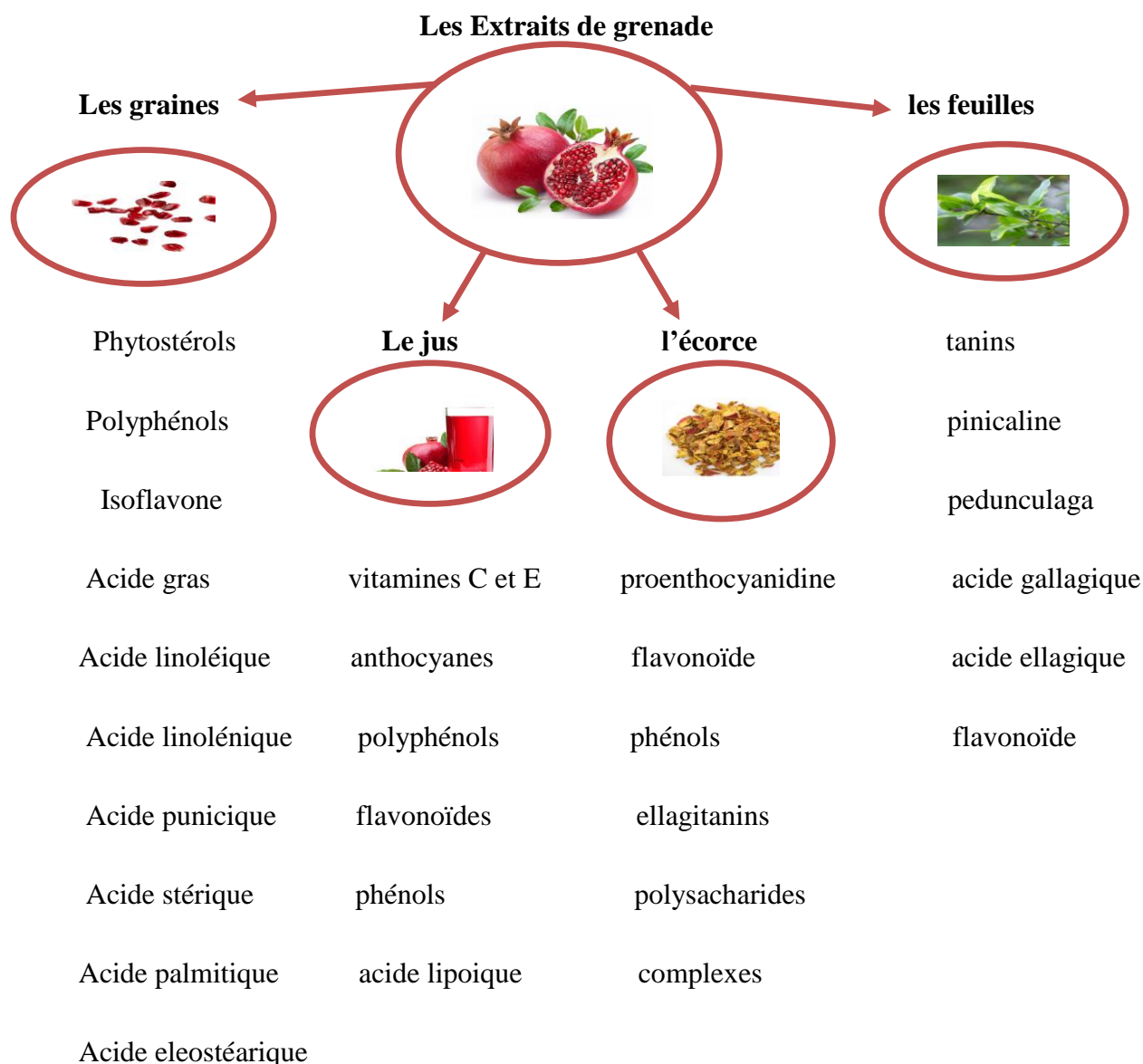


Figure 11 : Principaux constituants des extraits des différentes parties de la grenade [96].

I.2.4. Utilisations et bienfaits de grenadier :

I.2.4.1. Utilisations traditionnelles de grenadier :

La grenade (*Punica granatum* L), est un fruit ancien, mystique et très distinctif [97]. Ce fruit a une longue histoire d'utilisation en médecine naturelle et holistique. En effet, elle a été utilisée pendant des milliers d'années pour guérir nombreux maladies dans le monde entier [87]. D'autres utilisations sont également présentes comme les teintures naturelles, la décoration et en cosmétique [98].

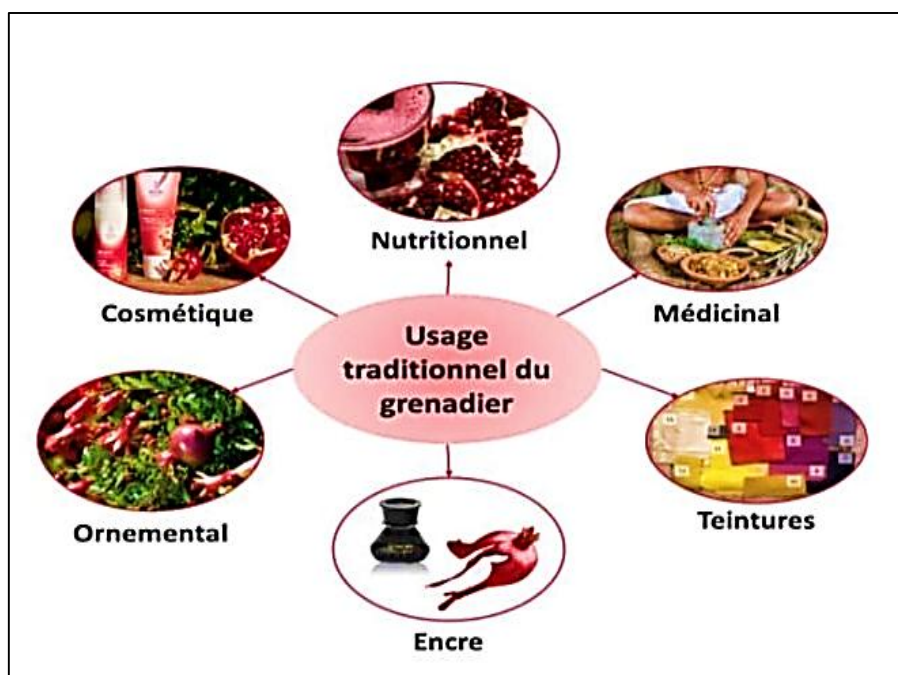


Figure 12 : les différentes utilisations de la grenade [98].

I.2.4.2. Le grenadier en médecine traditionnelle :

La grenade est utilisée historiquement pour traiter les maladies gastro-intestinales et les affections parasitaires [99]. Les différentes parties de la grenade, racines, écorce, fruits, graines, jus sont utilisées pour traiter les maladies :

- Les fleurs séchées sont utilisées pour guérir les bronchites et les inflammations buccales [100].
- L'écorce du fruit est utilisée par de nombreux peuples contre les diarrhées, les ulcères, les parodontoses, les stomatites et les pharyngites [101].
- Le jus et les graines sont considérés comme des médicaments pour l'estomac dont l'action est de faciliter la digestion [102].
- L'écorce de grenade, les racines et les feuilles ont été utilisées en décoction pour traiter les diarrhées, les troubles digestifs et stopper les hémorragies [103].
- Les feuilles et les fleurs, sont recommandées pour lutter contre les diarrhées banales et infectieuses, et les coliques intestinales [104].
- Les alcaloïdes contenus dans les racines, l'écorce de l'arbre et l'écorce du fruit induisent le relâchement du ténia et de son emprise sur la paroi intestinale, ce qui facilite son expulsion [100].

- Le jus de grenade est essentiellement utilisé dans les médecines indigènes pour Réputation d'accroître la fécondité et d'être un antidote à la stérilité [87].

I.2.5. Les propriétés thérapeutiques de la grenade :

I.2.5.1. Activité antioxydant :

La grenade est une source de composés bioactifs importants et utilisée pour les médicaments populaires partout dans le monde [105]. Les extraits de peau de grenade possèdent à la fois antimutagène et antioxydant et donc, agir comme agents de conservation biologiques dans les applications alimentaires et nutraceutiques [106].

Le jus de grenade a été évalué pour démontrer sa contribution maximale à l'action antioxydant et son efficacité dans la prévention de l'athérosclérose [107]. Des études in vitro ont montré que le jus de grenade et l'extrait de pépins de grenade ont une capacité antioxydant 2 à 3 fois supérieure à celle du thé vert pour piéger les radicaux libres, réduire le stress oxydatif et la peroxydation lipidique dans les macrophages animaux [108].

Les résultats d'une étude montrent que la consommation de jus de grenade a entraîné une diminution importante du taux de malondialdéhyde (MDA). De plus, une augmentation marquée des activités de glutathion (GSH), de glutathion peroxydase (GSH-Px), de catalase (CAT) et de vitamine C chez les rats traités avec différentes doses de jus de grenade. La consommation de jus de grenade a augmenté la concentration des spermatozoïdes épидидymiques, la motilité des spermatozoïdes, la densité des cellules spermatogènes, le diamètre des tubules séminifères et l'épaisseur de la couche cellulaire germinale. Il a également diminué le taux de spermatozoïdes anormaux par rapport au groupe témoin. Ces résultats suggèrent que la consommation de jus de grenade améliore la qualité du sperme et l'activité antioxydante des rats [109].

I.2.5.2. Activité anti-inflammatoire :

Les composés anti-inflammatoires dans la grenade ont été principalement étudiés dans les graines et les résultats ont montré des polyphénols et des acides gras étaient les principaux constituants anti-inflammatoires [110]. Les polyphénols dans l'huile de graines pressée à froid ont également été signalés par un autre groupe de recherche pour supprimer la signalisation des cellules inflammatoires dans les cellules cancéreuses du côlon [111].

Des études in vivo ont démontré que l'huile de graines pressées du grenadier inhibe la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase [112].

Le principal ingrédient des acides gras, l'acide punique, est un composé anti-inflammatoire bien connu qui inhibe le développement de l'inflammation en supprimant la biosynthèse de la prostaglandine [113].

Les résultats d'une étude montrent que l'extrait du grenadier produit un effet anti-inflammatoire potentiel en modulant la synthèse de plusieurs médiateurs et cytokines impliqués dans le processus inflammatoire tel que NO, PGE 2, d'IL6 IL- et TNF- α dans des cellules RAW 264,7 [114].

I.2.5.3. Activité antidiabétique :

Des études ont démontré que l'administration 200 mg/kg d'extrait de peau de grenade ont normalisé tous les changements indésirables induits par l'alloxane, un composé largement utilisé pour induire le diabète sucré puisqu'il augmente les niveaux sériques de glucose et d'activité α -amylase et le taux de consommation d'eau et de peroxydation lipidique dans le foie, les tissus cardiaques et rénaux, tout en diminuant les taux sériques d'insuline [115].

Das et autres (2001) ont étudié l'hypoglycémie de l'extrait de graines de grenade chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine. L'extrait de graines (300 et 600 mg/kg, par voie orale) a entraîné une réduction significative de la glycémie chez les rats diabétiques induits de 47 % et 52 %, respectivement, après 12 h [116].

En effet, (Jafri et al, 2000) ont déterminé que l'extrait éthanolé de fleurs de grenadier a une réelle aptitude à faire baisser la glycémie en agissant sur la glycémie postprandiale par un mécanisme similaire à l'acarbose (inhibiteur d'alphaglucosidases) [117].

I.2.6. Toxicité de grenadier (*punica granatum* L) :

La consommation de décoction de l'écorce de l'arbre et, dans une moindre mesure, du péricarpe du fruit, peut provoquer une inflammation acute gastrique sévère et même la mort due à la présence de tanins et d'alcaloïdes [118].

Au XIXème siècle, L'écorce du grenadier été fréquemment utilisée à cause de leurs propriétés anthelminthiques, semble montrer quelques effets secondaires importants. Ainsi,

après avoir pris une décoction d'écorce de racine, il a été observé chez plusieurs patients, l'apparition de vertiges, d'une sorte d'ivresse, d'étourdissements, de légers mouvements convulsifs, et parfois des syncopes. Cependant, ces accidents étant fugaces et ne laissant aucune trace après leur manifestation, ils furent tolérés par les médecins de l'époque [119].

Il a été démontré que les extraits de fruits entiers causent une congestion des organes internes et une augmentation de la créatinine in vivo [120].

Etudes Expérimentale

Chapitre II :
Matériels et méthodes

II.1. Matériels :

II.1.1. Matériels biologique :

Les animaux qui ont servi à cette étude sont composés de 15 lapins mâles (*Oryctolagus Cuniculus*), sexuellement matures âgées de 06 mois, poids corporel moyen 2800 ± 150 g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche.

II.1.1.1. Produit chimique :

Le solvant utilisé dans cette expérimentation est le xylène. Il est largement utilisé comme solvant dans les industries du caoutchouc, de l'imprimerie et du cuir. Il est également utilisé comme diluant pour les peintures, l'agent de nettoyage et dans les vernis. Le xylène est utilisé dans les laboratoires histologiques pour le traitement des tissus.

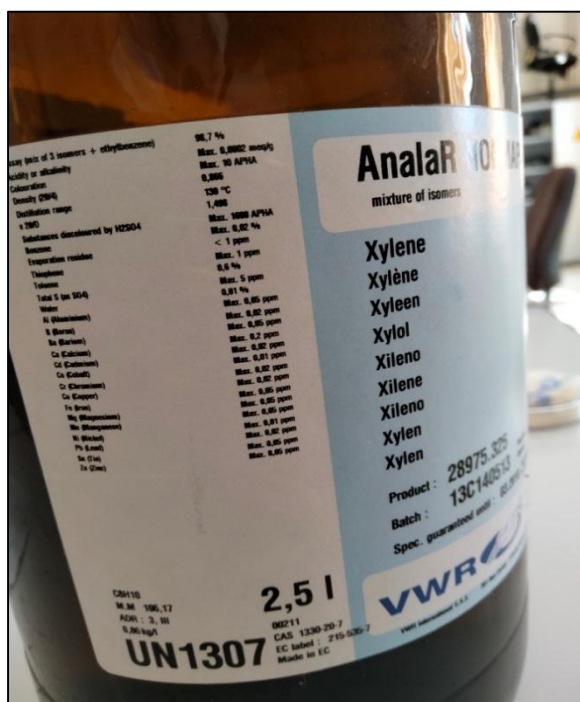


Figure 13 : le xylène.

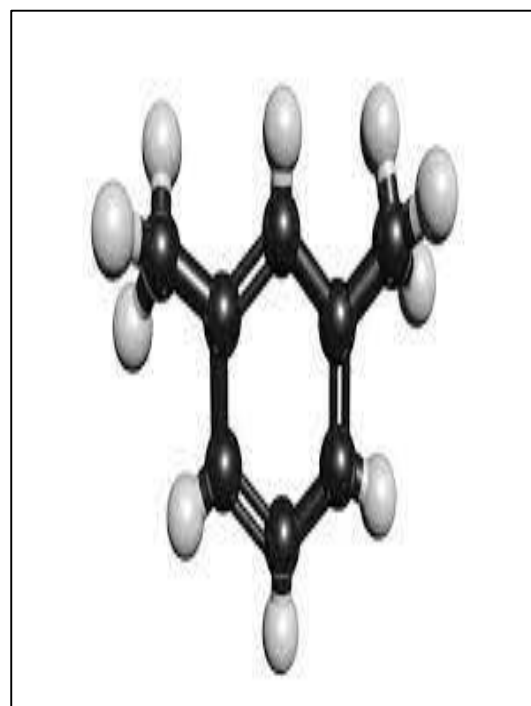


Figure 14 : structure 3D de xylène.

II.1.1.2. Le produit naturel :

Le fruit de la grenade pourrait être considéré comme un aliment fonctionnel parce qu'il contient des composés précieux dans différentes parties du fruit qui présentent des effets fonctionnels et médicinaux, tel que le jus de grenade qui possède des caractéristiques anti-

athérosclérotiques, antihypertenseurs, anti-âge et anti-oxydantes puissantes. Il est largement recommandé dans le traitement de l'infertilité.



Figure 15 : le jus de grenade.

II.1.2.les conditions d'élevage :

Dans cette expérience les lapins que nous avons utilisés, nous les avons regroupés Ces lapins ont été regroupés à raison de 2 ou 3 lapins/cage dans des cages spécifiques de (60x50x35 cm), grillagée, munies par des abreuvoirs d'eau. Les cages sont nettoyées régulièrement et tapissée avec une litière qui est changée chaque jour.

Les lapins ont été soumis à environ d'une semaine d'adaptation et Ils sont nourris quotidiennement. Leur alimentation est composée d'aliment sec pellet constitué de maïs, tourtereaux de soja, issues, calcium, phosphates, acide aminé, oligo-éléments, poly vitaminés, antioxydant, luzerne, acides foliques et huile de soja.



Figure 16 : les lapins dans les cages (Animalerie de centre universitaire de Mila).

II.2. Méthodologie :

II.2.1. Protocole expérimental :

II.2.1.1. Le pesage des lapins :

Une cohorte de quinze lapins a été répartie en trois groupes égaux de 5 lapins chacun à 2 ou 3 lapin par cage. les lapins témoins et traités sont pesé chaque début et fin de semaine, durant la période de traitement.



Figure 17 : le pesage des lapins.

II.2.1.2. Préparation de solvant « xylène » :

- ❖ Nous avons mélangé 20 ml de xylène avec 180 ml de sérum physiologique.
- ❖ Nous avons agité le mélange à l'aide d'agitateur jusqu'à ce qu'il devienne homogène.

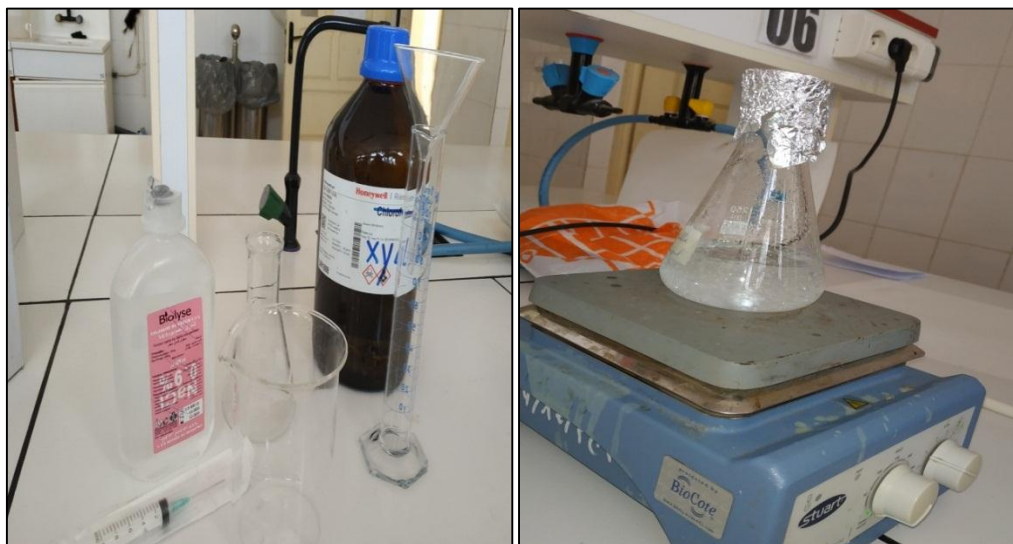


Figure 18 : préparation de solvant (xylène).

II.2.1.3. Préparation de produit naturel (jus de grenade) :

- **Extraction du jus de grenade à l'extracteur de jus :**
 - Epépinez les grenades dans un bol puis mettez les graines dans un extracteur de jus et le mixer bien.
 - L'appareil va broyer les grains en les filtrant pour récupérer un jus de grenade pure.

II.2.1.4. Le traitement des lapins :

Les traitements ont été effectués comme suite :

- ❖ **Groupe 1** : les lapins témoin (T) qui ne reçoit rien durant la période du traitement.
- ❖ **Groupe 2** : les lapins traités par le xylène de 1cc fréquemment par voie cutanée (injection) une fois par jour d'une dose de 1ml en moyenne 6 jours par semaine et pendant 4 semaines.

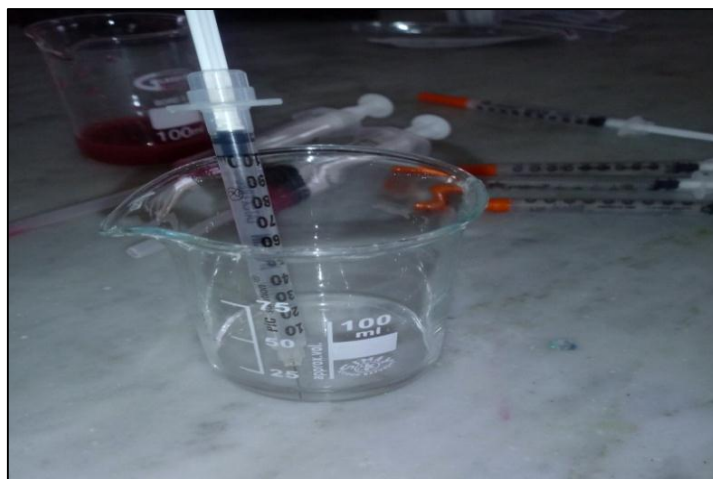


Figure 19 : traitement par xylène.

- ❖ **Groupe 3** : les lapins traités par le xylène de 1cc fréquemment par voie cutanée (injection) à la fois ils sont traités par le jus de grenade (*punica granatum* L) d'une dose de 2 ml par gavage. Ces traitements sont conférés une fois par jour en moyenne 6 jours par semaine et pendant 4 semaines.



Figure 20 : traitement par grenadier et xylène.

Tableau 03 : répartition des lapins

Groupes	Témoins	Groupe DI	Groupe DII
Nombre de groupe	05	05	05
Doses	Ne reçoit rien	1cc de xylène	1cc de xylène + 2 ml de jus de grenade

II.2.1.5. Les prélèvements :

Le sacrifice et la dissection des lapins ont été effectués dans la matinée après les 4 semaines de traitement.

➤ Prélèvement sanguin :

Les échantillons de sang ont été pris après décapitation rapide, le sang a été recueilli dans des tubes (Sec, EDTA, Lithium Héparine).

- ❖ Tube Sec : sans anticoagulant qui subit une centrifugation de 3000 tours par minute, pendant 10 minutes, le sérum obtenu est mis au -20°C jusqu'au moment du dosage hormonale (testostérone).
- ❖ Tube EDTA : pour le dosage des paramètres hématologiques (nombres des globules blancs et rouges, hématocrite, hémoglobine, les constantes hématologiques (VGM, CCMH, TGMH)).
- ❖ Tube Lithium Héparine : anticoagulant pour le dosage des paramètres biochimiques (Glucose, Cholestérol et Triglycéride).

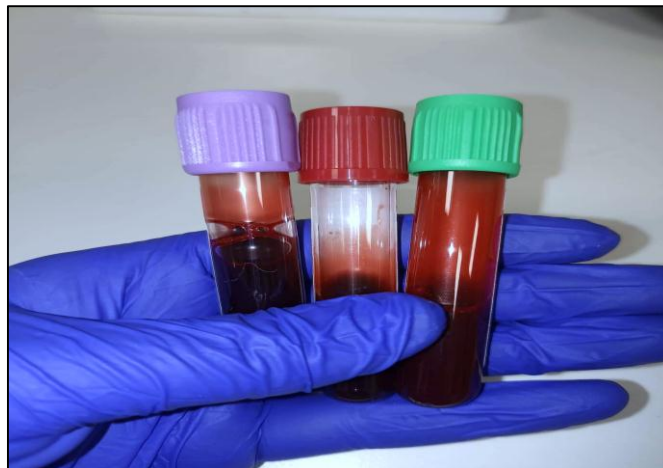


Figure 21 : les prélèvements de sang.

➤ Prélèvement des organes :

Après la dissection des lapins, Les testicules, l'épididyme et le foie sont prélevés, débarrassés de leurs tissus adipeux, ensuite ils sont rincés dans une solution chlorure de sodium à 0.9%, et finalement ils sont pesés.



Figure 22 : la dissection de lapins

Figure 23:(A) et (B) : prélèvement des organes



Figure 24 : le pesage des organes.

➤ **Prélèvement du sperme :**

Après la dissection le sperme est prélevé à partir de l'épididyme à l'aide d'une lame.



Figure 25 : prélèvement de sperme.

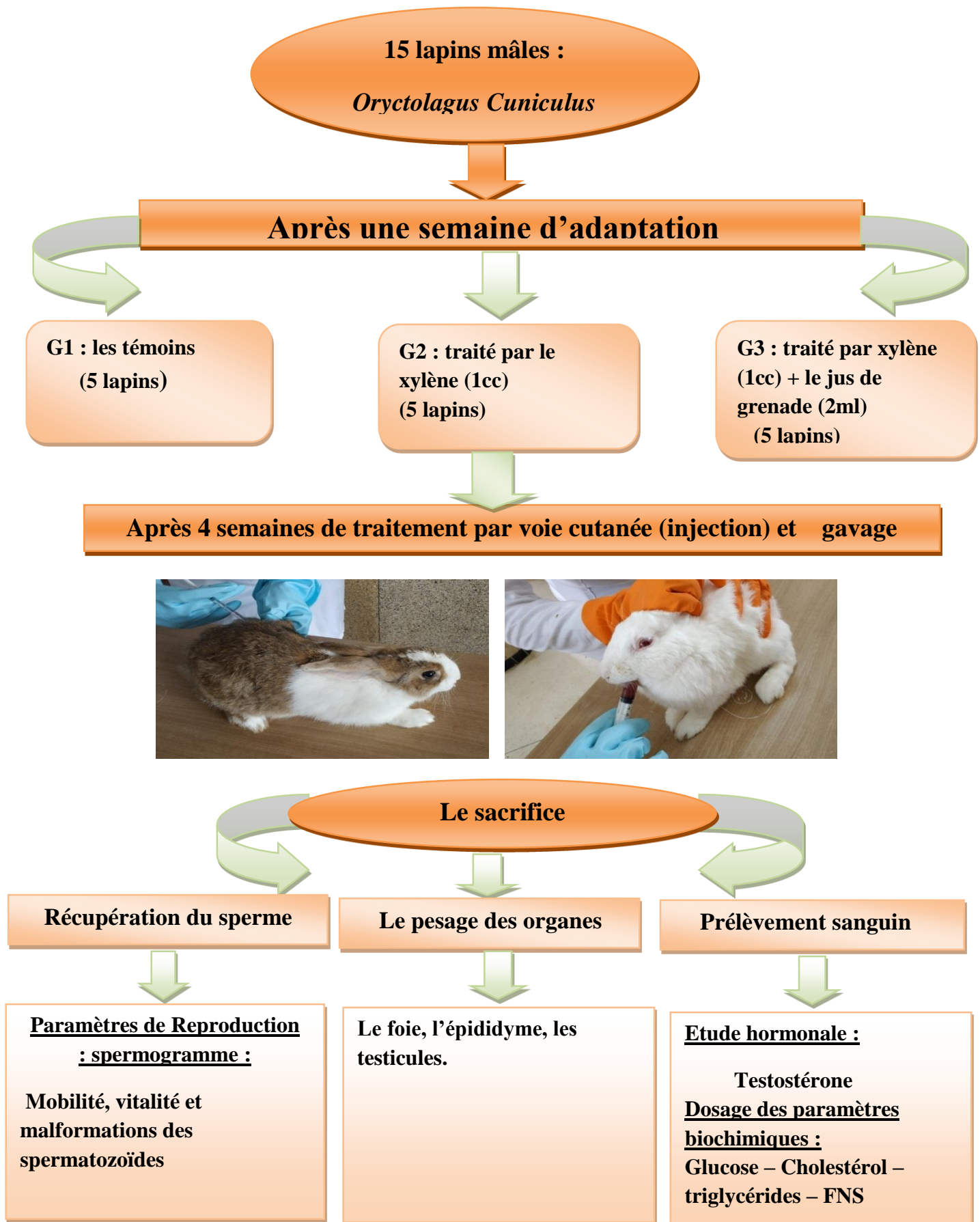


Figure 26 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

II.2.2. Etude des paramètres indicateurs de la fertilité masculine :

Après la dissection de lapins, on a été prise les testicules puis l'épididyme qui être constitué d'un liquide blanc c'est le sperme qui a été utilisée pour l'étude des paramètres de la reproduction (concentration, vitesse, mobilité et la vitalité). Et pour cette étude, on met une goutte (1ul) du sperme et ont ajoutée dans 49 μ l d'eau physiologique Na cl 0.9%.



Figure 27 : la dilution de sperme.

✓ **Mobilité des spermatozoïdes :**

Une goutte de sperme est mise entre une lame et une lamelle ensuite il est examiné sous microscope optique par grossissement 40.

La mobilité des spermatozoïdes est déterminée par la numération des spermatozoïdes mobiles et immobiles dans 3 champs d'observation, et après la calcul de pourcentage des spermatozoïdes mobiles. (OMS ; 1993).

✓ **La vitalité des spermatozoïdes :**

➤ **Coloration vitale :**

La coloration vitale est une technique de coloration repose sur le principe des cellules mortes ayant des membranes plasmiques lésées laissent certaines colorant de pénétrer. Le Réactif utilisé dans cette technique c'est l'Eosine à 1%.

Une goutte de sperme est mise entre une lame et une lamelle en ajoutant une goutte d'éosine (1%). On laisse 2 à 3 min. après on examine sous le microscope par grossissement 40.

La. Vitalité est déterminée par la numération des spermatozoïdes colorés et incolores dans 3 champs d'observation, et après la calcul de pourcentage de chaque catégorie (spermatozoïdes colorés et incolores). (OMS ; 1993)

❖ **Test de gonflement hypo osmotique :**

Ce test est réalisé pour étudier les modifications morphologiques des spermatozoïdes exposées à un stress hypo osmotique.

❖ **Solution utilisée :**

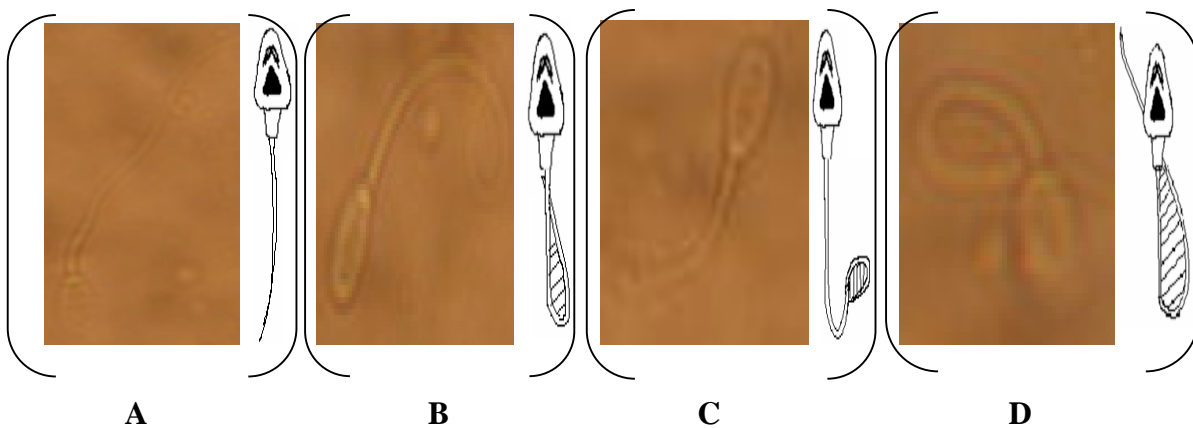
Dissoudre 0.675g de fructose et 0.367g de citrate de sodium ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dans 50ml d'eau distillée.

❖ **Méthode :**

- À une température de 37 °C le réchauffement de 1ml de la solution placée dans un tube Eppendorf fermé pendant environ 5 minutes.
- Ajouter 0.1ml de sperme liquide et mélanger doucement à l'aide d'une pipette.
- Laisser le mélange incuber à une température de 37 °C pendant 30 minutes.

❖ **Observation microscopique :**

Observation des spermatozoïdes sous le microscope à un grossissement de 40. Enfin la calcul de pourcentage des spermatozoïdes présentant des modifications du flagelle (vivants) sur le total de spermatozoïdes comptés (OMS ; 1993 ; Jeyendran et al ; 1984).



A : normale (morts).

B : faible modification du flagelle.

C : modification importante au niveau du flagelle.

D : modification importante au niveau du flagelle et de la pièce intermédiaire.

Figure 28 : Modifications morphologiques caractéristiques des spermatozoïdes exposés à

Un stress hypo osmotique.

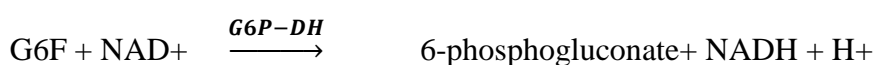
II.2.3. Dosage des paramètres biochimiques :

II.2.3.1 Dosage du glucose :

Le dosage se fait Selon la fiche technique **Spinreact**.

❖ Principe :

En présence d'ATP la phosphorylation du glucose en 6-phosphogluconate se fait selon les réactions suivant :



L'augmentation de la concentration de NADH dans le milieu est proportionnelle à la concentration de glucose présente dans l'échantillon testé [1], [2].

❖ Réactif utilisés :

réactifs	Compositions	Concentrations
R 1 Tampon	TRIS pH 7,5 ATP Mg ²⁺	4 mmol/L 2,1 mmol/L 0,8 mmol/L
R 2 Enzymes	NAD ⁺ Hexokinase (HK) Glucose-6-phosphate (G6F-DH)	2 mmol/L 1000 U/L 1000 U/L
GLUCOSE CAL	Calibrateur primaire de glucose	100/dL

❖ Préparation des réactifs de travail (RT) :

- Dissoudre le contenu d'un flacon de R 2 Enzymes dans un flacon de R 1 Tampon.
- Boucher le flacon et mélanger doucement jusqu'à dissolution du contenu.

La Stabilité de réactif de travail (RT) est 1 mois au réfrigérateur (2-8°C) ou 7 jours à température ambiante (15-25°C).

❖ **Echantillons :**

- Sérum sans hémolyse [1].
- Le sérum doit être séparé le plus tôt possible du coagulum à l'aide d'une centrifugeuse.

La Stabilité de glucose en sérum est de 3 jours à 2-8°C.

❖ **Procédure :**

- Conditions de l'essai : Longueur d'onde : 340 nm, Cuve : 1 cm d'éclairage, Température : 37°C / 15-25°C.
- Régler le spectrophotomètre à zéro avec de l'eau distillée.
- Pipeter dans une cuve.

	Blanc	Étalon	Échantillon
RT	1,0	1,0	1,0
Étalon(µl)	...	10	...
Échantillon (µL)	10

- Mélanger et incubé 5 minutes à 37°C ou 10 min à température ambiante (15-25°C).
- Lire l'absorbance (A) du calibrateur et l'échantillon contre le blanc de réactif.

❖ **Calculs :**

$$\frac{(A) \text{ echantillon} - (A) \text{ blanc}}{(A) \text{ Étalon} (A) \text{ Blanc}} \times 100 = \text{mg/dL de glucose dans l'échantillon}$$

La concentration d'étalon = 100 mg/dL

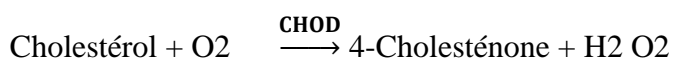
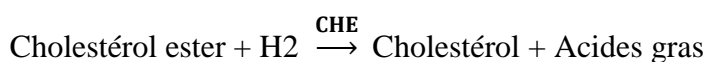
Facteur de conversion : mg/dL x 0,0555= mmol/L.

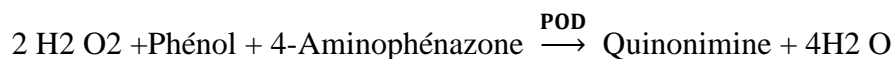
II.2.3.2. Dosage du cholestérol :

Le dosage de cholestérol se fait Selon la fiche technique **Spinreact**.

❖ **Principe :**

Le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré, suivant la réaction suivante :





L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol présent dans l'échantillon testé [1], [2].

❖ **Réactifs utilisés :**

Réactifs	Compositions	Concentrations
R1	PIPES pH	90 mmol/L
Tampon	6,9 phénols	26 mmol/L
R2	Cholestérol estérase (CHE)	300 U/L
enzymes	Cholestérol oxydase (CHOD)	300 U/L
	Peroxydase (POD)	1250 U/L
	4 - Aminophénazone (4-AF)	0,4 mmol/L
Cholestérol cal	Patron primaire de détection du cholestérol	200 mg/dL

❖ **Préparation de réactifs du travail (RT) :**

- Dissoudre le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans un 1 flacon de tampon R 1.
- Refermer et mélanger doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout.

La Stabilité de réactif de travail (RT) est 4 mois au réfrigérateur (2-8°C) ou 40 jours à 15-25°C. Conserver à l'abri de la lumière.

❖ **Echantillon :**

Sérum.

La Stabilité d'échantillon est 7 jours à 2-8°C et 3 mois si l'échantillon est congelé (-20°C).

❖ **Procédure :**

- Conditions de test : Longueur d'ondes 505 nm (500-550), Cuvette 1 cm d'éclairage, Température 37°C/15-25°C.
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée.
- Pipeter dans une cuvette.

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µl)	...	1,0	...
Echantillon (µl)	1,0

Mélanger et incuber pendant exactement 5 minutes à 37°C ou 10 min. à température ambiante.

- Lire l'absorbation (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 60 minutes.

❖ **Calculs :**

$$\frac{(A)Echantillon - (A)Blanc}{(A)Etalon - (A)blanc} \times 200 = \text{mg/dL de cholestérol dans l'échantillon}$$

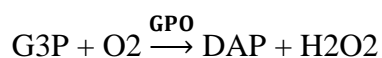
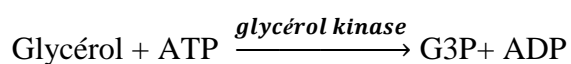
La Concentration d'étalon = 200mg/dL.

Facteur de conversion : mg/dL x 0,0258= mmol/L.

II.2.3.3. Dosage des triglycérides :

❖ **Principe :**

Les triglycérides présents dans l'échantillon forment un complexe coloré selon la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l'échantillon testé [1], [2], [3].

❖ Réactifs utilisés :

Réactifs	Compositions	Concentrations
R 1	GOOD pH 7,5	50 mmol/L
Tampon	p-Chlorophénol	2 mmol/L
R 2	Lipoprotéine lipase (LPL)	150000 U/L
Enzymes	Glycérol kinase (GK)	500 U/L
	Glycérol-3-oxydase (GPO)	2500 U/L
	Peroxydase(POD)	440 U/L
	4 – Aminophénazone (4-AF)	0,1 mmol/L
	ATP	0,1 mmol/L
triglycérides cal	Patron primaire de détection de triglycérides	200 mg/dL

❖ Préparation réactif de travail (RT) :

- Dissoudre le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 et un flacon de tampon R 1.
- Reconstituer le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans 10 ml de tampon R 1.
- Refermer et agiter doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout.

La Stabilité du RT est 6 semaine au réfrigérateur (2-8°C) ou une semaine à 15-25°C.

❖ Echantillon :

- Sérum héparinisé ou EDTA

La Stabilité de l'échantillon : 5 jours à 2- 8°C.

❖ Procédure :

- Conditions de test : Longueur d'ondes 505 nm (490-550), Cuvette 1 cm d'éclairage, Température 37°C/15-25°C 2.
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée.
- Pipeter dans une cuvette.

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µl)	...	1,0	...
Echantillon (µl)	1,0

- Mélanger et incuber 5 minutes à 37°C ou 10 min. à température ambiante.

- Lire l'absorption (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif.
La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

❖ **Calculs :**

$$\frac{(A)\text{échantillon}}{(A)\text{Etalon}} \times 200 = \text{mg/dL de triglycéride dans l'échantillon}$$

Concentration d'étalon = 200 mg/dL.

Facteur de conversion : mg/dL x 0,0113 = mmol/L.

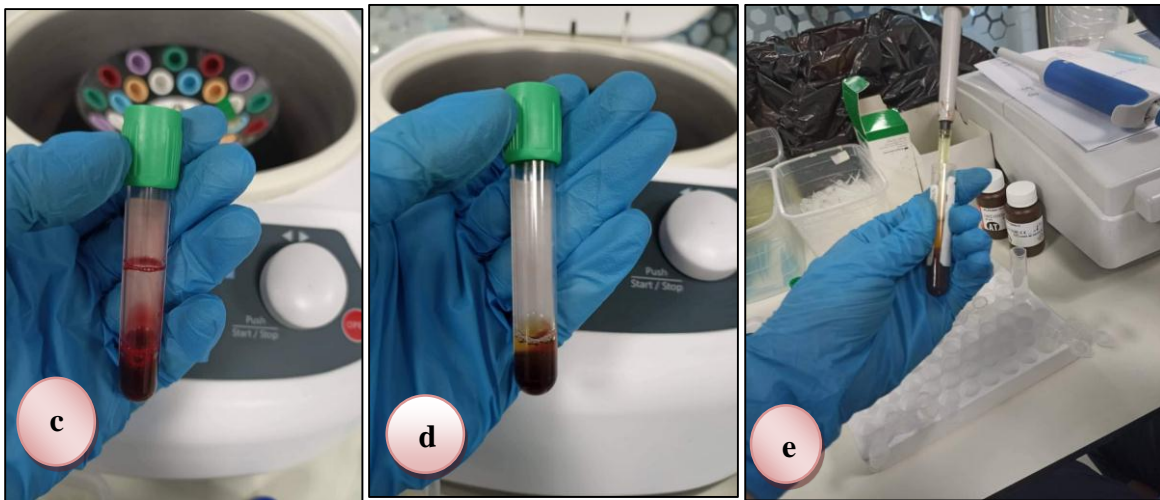


Figure 29 : (c) avant centrifugation, (d) après centrifugation, (e) prélèvement de sérum.



Figure 30 : Dosage des paramètres biochimiques (réactif, calibrateur).



Figure 31 : (f) avant incubation, (g) après 10min d'incubation.



Figure 32 : (h) blanc échantillon, (i) échantillon, (j) observation de résultat.

II.2.4. Numérotation de la formule sanguine (FNS) :

❖ Principe :

La numération de la formule sanguine (NFS) ou L'hémogramme est l'examen biologique le plus prescrit toutes pathologies confondues. Il permet de comptabiliser tous les éléments du sang : globules rouges, blancs et plaquettes. Il est également permis d'apprécier des paramètres qualitatifs du sang (VGM, TCMH, CCMH).

❖ Echantillons :

Sang prélevé dans un tube EDTA.

❖ **Procédure :**

- Le tube doit être agité bien pour éviter la formation de microcaillots.
- Passer le tube sur l'automate d'hématologie muni trois réactifs : détergent, rince et la lyse.
- Observation de résultat.

L'examen doit être réalisé rapidement d'une période inférieure de 2 heures après le prélèvement.



Figure 33 : le test d'FNS.

II.2.5. Etude hormonal :

Selon la fiche technique **Testostérone ELISA (RE52151)**. Le test immuno-enzymatique sur phase solide (ELISA) est basé sur le principe de compétition. La quantité inconnue d'antigènes présents dans l'échantillon et une quantité fixe d'antigènes conjugués à une enzyme entrent en compétition pour les sites de fixation des anticorps coatés dans les puits. Après incubation, les puits sont lavés pour arrêter la réaction de compétition. L'intensité de la couleur développée suivant la réaction substrat est inversement proportionnelle à la quantité d'antigène présente dans l'échantillon. Les résultats des échantillons peuvent être déterminés directement à partir de courbe étalon.

❖ Réactifs utilisés :

Les réactifs	Composition	Concentration
MTP	Microplaque Barrettes sécables. Recouvert de anticorps de souris anti testostérone (monoclonal).	1 x 12 x 8
ENZCONJ	Conjugué Enzymatique Prêt(e) à l'emploi. Contient : Testostérone conjuguée à HRP, stabilisateurs	1 x 25 mL
CAL A – G	Étalon A-G : 0 ; 0.2; 0.5; 1.0; 2.0; 6.0; 16 ng/mL Prêt(e) à l'emploi. Contient : Testostérone, Sérum, stabilisateurs.	1 x 7 x 1 mL
CONTROL 1 + 2	Contrôle 1 + 2 Prêt(e) à l'emploi. Contient : Testostérone, Sérum, stabilisateurs	2 x 1 mL
TMB SUBS	Solution Substrat TMB Prêt(e) à l'emploi. Contient : TMB, Tampon, stabilisateurs.	1 x 12 mL
TMB STOP	Solution d'Arrêt TMB Prêt(e) à l'emploi. 1 M H ₂ SO ₄ .	1 x 12 mL
WASHBUF CONC	Tampon de Lavage Concentré (10x)	1 x 100 mL
FOIL	Feuille adhésive	2 x

❖ Préparation de réactifs du travail (RT) :

- Diluer 100 ml de Composant (**WASHBUF**) avec 900 ml d'eau bidist (Diluant) puis
Mélanger vigoureusement.

La Stabilité du RT est 8 semaines à 2 -8 °C.

❖ Echantillons :

Sérum.

Les échantillons d'apparence turbide doivent être centrifugés avant l'analyse pour éliminer toute particule gênante).

La Stabilité d'échantillon est 7 jours à 2-8°C et 6 mois à une température inférieure de -20°C (\leq -20°C (Aliquots)).

❖ Procédure :

- Pipeter 25 μ L de chaque Etalon, Contrôle et échantillon dans les puits respectifs de la Microplaque.
- Pipeter 200 μ L de Conjugué Enzymatique dans chaque puits.
- Couvrir la plaque avec une feuille adhésive. Bien mélanger pendant 10 secondes.
- Incuber 60 min à TA (18-25°C).
- Retirer la feuille adhésive. Jeter la solution d'incubation. Laver la plaque 3 x avec 300 μ L de Tampon de Lavage dilué. Egoutter l'excès de solution en frappant la plaque retournée sur du papier absorbant.
- Pipeter 100 μ L de Solution Substrat TMB dans chaque puits.
- Incuber 15 min à TA (18-25°C).
- Arrêter la réaction substrat en ajoutant 100 μ L de Solution d'Arrêt TMB dans chaque puits. Mélanger rapidement le contenu en agitant la plaque. La couleur vire du bleu au jaune.
- Mesurer la densité optique avec un photomètre à 450 nm (longueur d'onde de référence : 600-650 nm) dans les 10 min suivant l'ajout de la Solution d'Arrêt.

❖ Calcul :

Les densités optiques (DO) des étalons (axe y, linéaire) sont reportées en fonction de leurs concentrations (axe x, logarithmique) soit sur papier graphique semi-logarithmique soit en utilisant une méthode automatisée. Une bonne analyse est obtenue avec les méthodes cubic spline, Logistics 4 Paramètres ou Logit-Log.

Pour le calcul de la courbe étalon, appliquer chaque signal des étalons (une valeur apparemment fautive d'un double dosage peut ne pas être prise en compte et peut être remplacée par une valeur plus plausible).

La concentration des échantillons peut être lue à partir de courbe étalon.

Les échantillons montrant une concentration supérieure à celle de l'étalon le plus concentré doivent être dilués de la façon décrite dans les préparations préalables au test et testés de nouveau.

Les résultats des échantillons ayant été prédilués doivent être multipliés par le facteur de dilution appliqué.

Conversion:

Testosterone (ng/mol) x 3.47 = nmol/L.

II.2.6. Traitement statistique des résultats :

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins (Moy \pm SEM) l'écart type moyen, les moyennes ont été comparées par un test de Student.

L'analyse statistique des données a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (Version 15).

Les différences sont considérées comme :

- Significatives lorsque ($P \leq 0,05$).
- Non significative lorsque ($P \geq 0,05$).
- Hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).
- Très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).
- P : Seuil de signification.

Chapitre III :
Résultats

III.1. Etat pondéral des organes :

Nous avons suivi l'évolution des poids des organes suivants : testicules, épididyme et foie chez les lapins témoins et les lapins recevant de xylènes et de xylènes + le grenadier.

III.1.1. Testicules :

On note une diminution non significative ($P \geq 0,05$) du poids du groupe DI recevant de xylène comparant au témoin et une augmentation non significative du poids des testicules du groupe DII recevant de xylène + le grenadier comparativement au groupe DI (**tab .04; fig. 34**).

Tableau 04 : Variation du poids (**P**) du testicule chez le lot témoin (**T**) et les lots traités

DI/DII (n=5)

les lots expérimentaux			
Organe	Témoins	DI (traité par le xylène)	DII (traité par xylène +grenadier)
Testicules	2,94±0,30	1,32±0,57	2,06±0,43

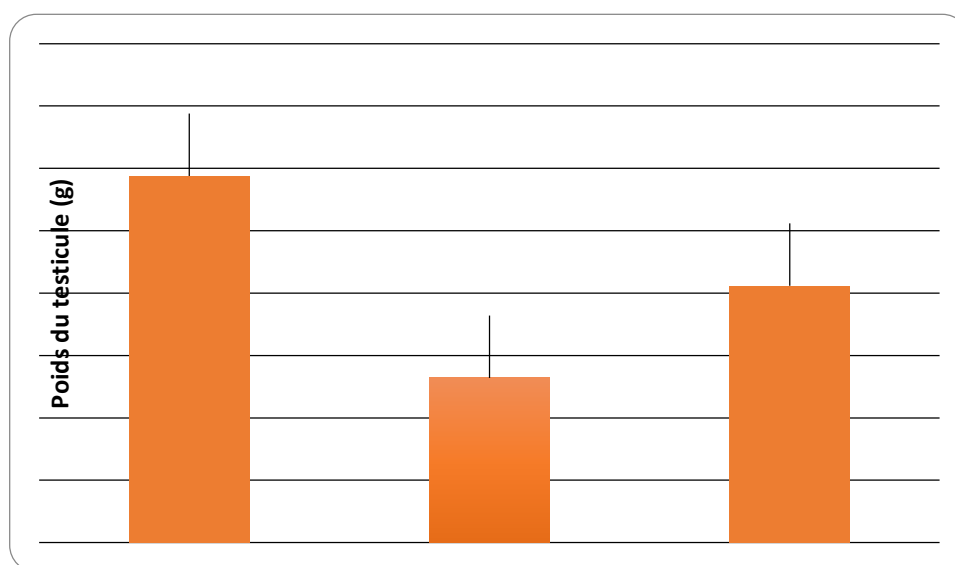


Figure 34 : Variation moyenne ($X \pm SD$) du poids (**P**) des testicules chez le Lot témoin et les lots DI et DII (n= 5).

III.1.2. Epididyme :

Les résultats démontrent une diminution non significative ($P \geq 0,05$) du poids de l'épididyme chez le groupe traité par xylène par rapport au groupe témoin et une augmentation non significative ($P \geq 0,05$) chez le groupe traité par xylène + le grenadier (**tab.05; fig.35**).

Tableau 05 : Variation du poids absolus de l'épididyme chez le lot témoin (T) et les Lots traités DI, DII (n=5).

Les lots expérimentaux			
Organe	témoins	DI (traité par xylène)	DII (traité par xylène + grenadier)
Epididyme	0,79±0,24	0,34±0,26	0,45±0,14

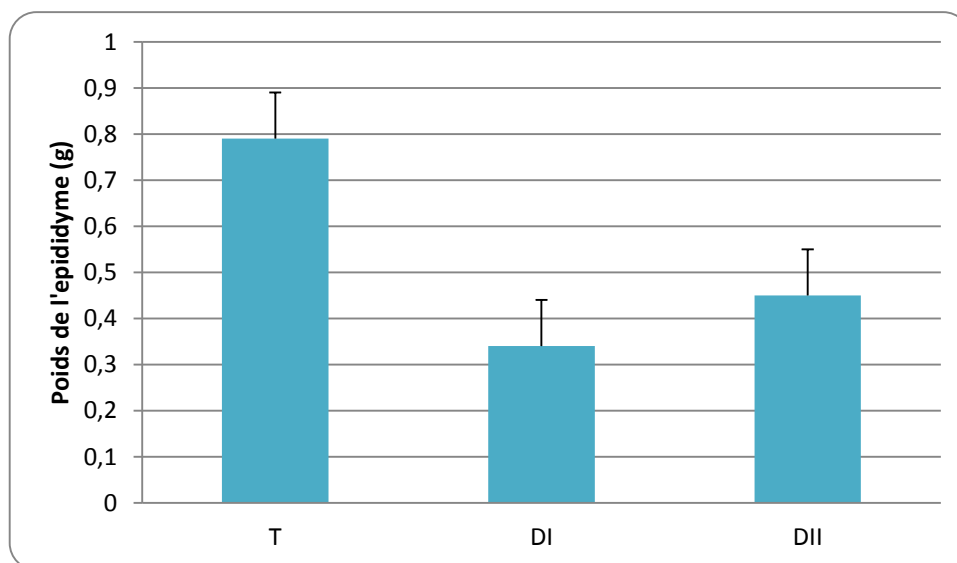


Figure 35 : Variation moyenne ($X \pm SD$) du poids (**P**) de L'épididyme Chez le lot témoin (**T**) et les lots traités DI, DII (n= 5).

II.1.3. Foie :

Les résultats illustrent une augmentation non significative ($P \geq 0,05$) de poids de foie de groupe traité par xylène comparant au groupe témoin et une diminution non significative ($P \geq 0,05$) chez le groupe traité par xylène + le grenadier (**tab.06; fig.36**).

Tableau 06 : Variation du poids de foie chez le lot témoin (T) et les lots Traités DI/DII (n=5).

les lots expérimentaux			
Organe	témoins	DI (traité par xylène)	DII (traité par xylène +grenadier)
Foie	42,16±3 ,41	54,13±7,64	44,14±2,92

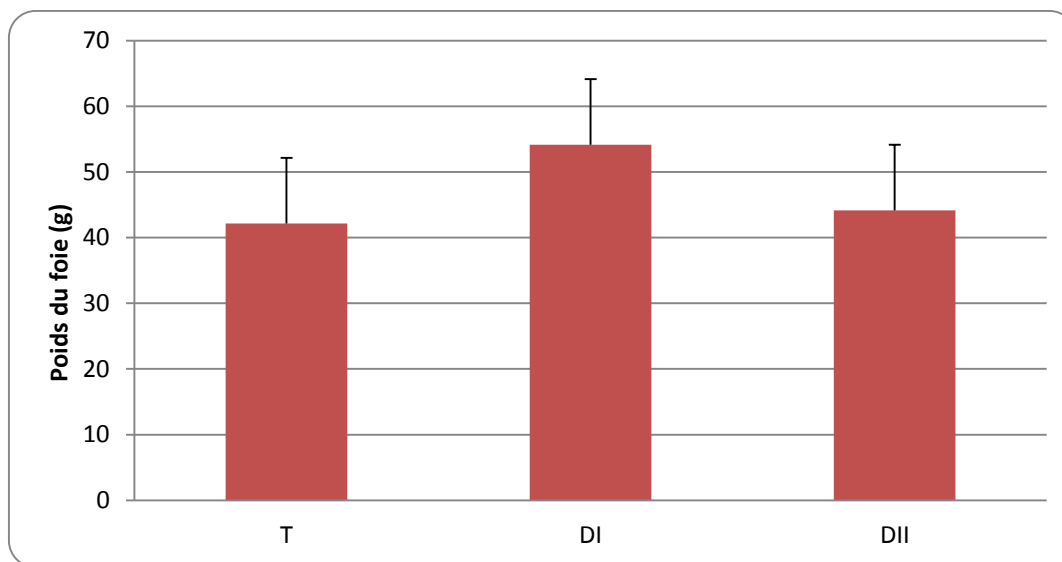


Figure 36 : Variation moyenne ($X \pm SD$) du poids (**P**) de foie chez le lot témoin Et les lots traités (n= 5).

III.2. Etude de la reproduction :

III.2.1. Mobilité :

Concernant la mobilité, les résultats obtenus montrent une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) chez le groupe traité par xylène par rapport au groupe témoin et une augmentation significative ($P \leq 0,05$) du groupe DII comparativement au groupe DI (**tab.07; fig.37**).

Tableau 07 : Variation du taux de mobilité des spermatozoïdes chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII (n= 5).

Les lots expérimentaux			
Paramètre	Témoins	DI (traité par xylène)	DII (traite par xylène +grenadier)
Mobilité (%)	70 ± 1,58	36,6 ± 2,70 ***	64,2 ± 4,27 *

*: Différence significative par rapport au témoin ($p \leq 0.05$).

*** : Différence très hautement significative par rapport au témoin ($p \leq 0.001$).

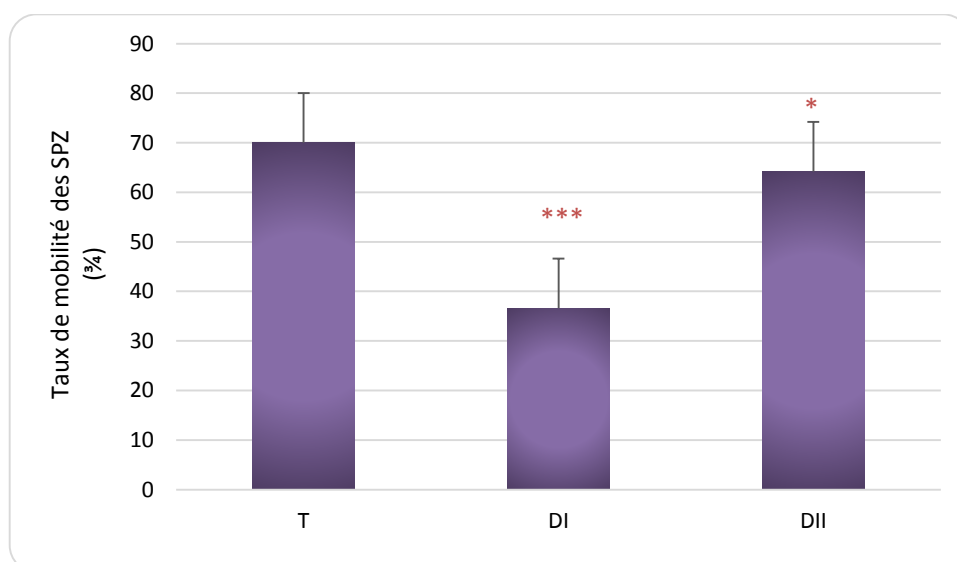


Figure 37 : Variation moyenne de la mobilité des spermatozoïdes ($X \pm SD$) En (%) entre les trois groupes (n=5).

III.2.2. Vitalité :

III.2.2.1. Coloration vitale :

Les résultats de cette expérience montrent une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) du taux des spermatozoïdes morts chez le lot traité par xylène par rapport au lot témoin et une diminution non significative ($P \geq 0,05$) chez le lot DII comparativement au lot DI.

Concernant le taux des spermatozoïdes vivants, les résultats montrent une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) chez le lot DI comparant au lot témoin et une augmentation non significative ($P \geq 0,05$) chez le lot DII par rapport au lot DI (**tab.08; fig.38**).

Tableau 08 : Variation du taux de vitalité des spermatozoïdes chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII (n= 5).

Paramètre	Les lots expérimentaux					
	Témoin (T)		DI (traité par xylène)		DII (traité par xylène + Grenadier)	
Vitalité	TSV	TSM	TSV	TSM	TSV	TSM
		83,6±13,68	16,4±13,68	32,4±18,01	67,6±18,01	87±1,87
			***	***		

*** : Différence très hautement significative par rapport au témoin ($p \leq 0.001$).

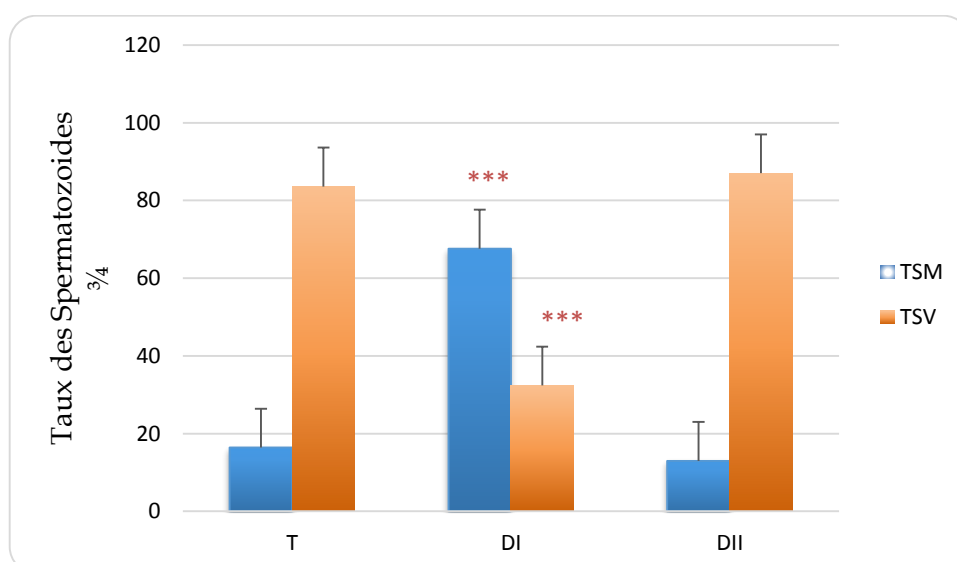


Figure 38 : Variation moyenne de vitalité des spermatozoïdes ($X \pm SD$) en (%) (Après un test de coloration à l'éosine) entre les trois groupes (n=5).

III. 2.2.2. Test hypo-osmotique :

Les résultats démontrent une diminution significative ($p \leq 0.05$) des spermatozoïdes à malformation au niveau de la tête **A** chez le lot traité par xylène (DI) et une augmentation non significative (NS) chez le lot traité par xylène + grenadier (DII).

Une diminution hautement significative ($P \leq 0,01$) du nombre de spermatozoïdes à malformations au niveau de la pièce intermédiaire **B** chez le lot traité par xylène (DI) et une augmentation non significative (NS) chez le lot traité par xylène+ grenadier (DII).

Dans le cas de modification type C, les résultats montrent une diminution hautement significative ($P \leq 0,01$) du nombre de spermatozoïdes avec des malformations au niveau du flagelle pour le groupe DI une augmentation non significative (NS) ($P \geq 0.05$) chez le groupe DII (tab.09; fig.39).

Tableau 09 : Variation du taux des malformations morphologiques des spermatozoïdes

Chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII (n= 5).

Paramètre	Les lots expérimentaux											
	Témoins				DI (traité par xylène)				DII (traité par xylène + grenadier)			
	A	B	C	N	A	B	c	N	A	B	c	N
Malformations Morphologiques (%)	31,8±8,41	21,8±6,14	21±7,42	25,4±8,82	21,2±7,76 *	13,2±4,60 **	7,8± 7,36**	57,8± 4,97	35±1,73	25±3,24	20±1,87	20±6,28

* : Différence significative par rapport au témoin ($p \leq 0.05$).

** : Différence hautement significative par rapport au témoin ($p \leq 0.01$).

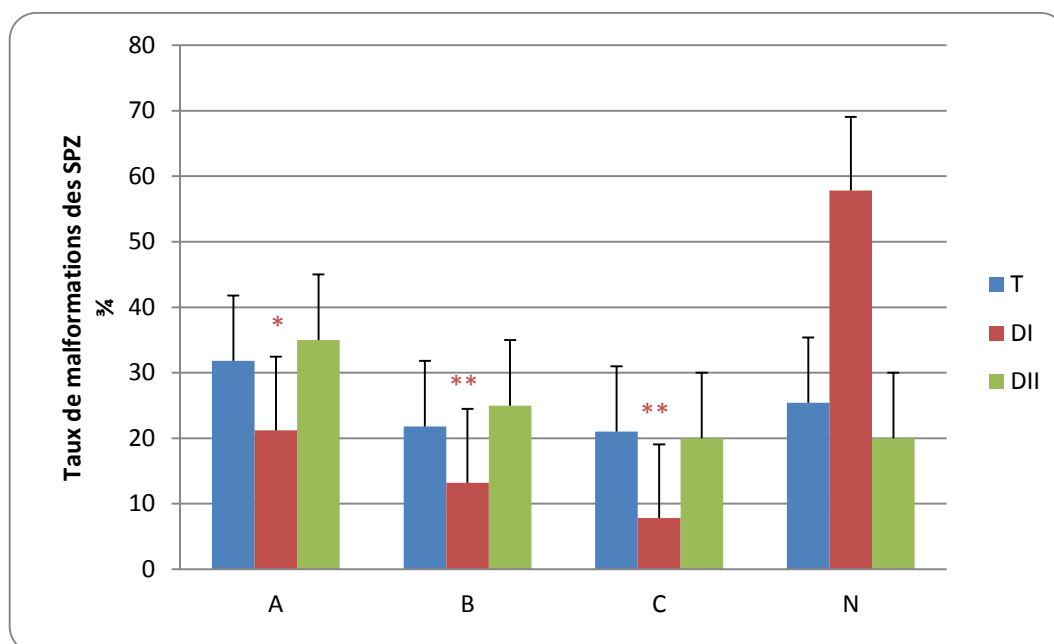


Figure 39 : Variation moyenne des types de malformations morphologiques Des Des spermatozoïdes ($X \pm SD$) en (%) (Après un test hypo-osmotique) Entre les trois groupes ($n=5$).

III.2.3. Testostérone :

L'effet de xylène sur le taux plasmatique de la testostérone apparaitre chez les lapins du lot DI, traités par xylène. Effectivement, chez ces lapins, la teneur plasmatique de la testostérone montre une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$), Elle passe de 1.73 ± 0.23 ng/ml chez les témoins à 0.66 ± 0.34 ng/ml chez les lapins du lot traité par xylène et pour le lot traité par grenadier on note une augmentation significative $P \leq 0,05$ (tab.10; fig.40).

Tableau 10 : Variation du taux de la Testostérone chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII ($n=5$).

Paramètres	les lots expérimentaux		
	Témoins	DI (traité par xylène)	DII (traité par xylène+grenadier)
Testostérone (ng/ml)	$1,73 \pm 0,23$	$0,66 \pm 0,34$ ***	$1,15 \pm 0,45$ *

* : Différence significative par rapport au témoin ($p \leq 0.05$).

*** : Différence très hautement significative ($p \leq 0.001$).

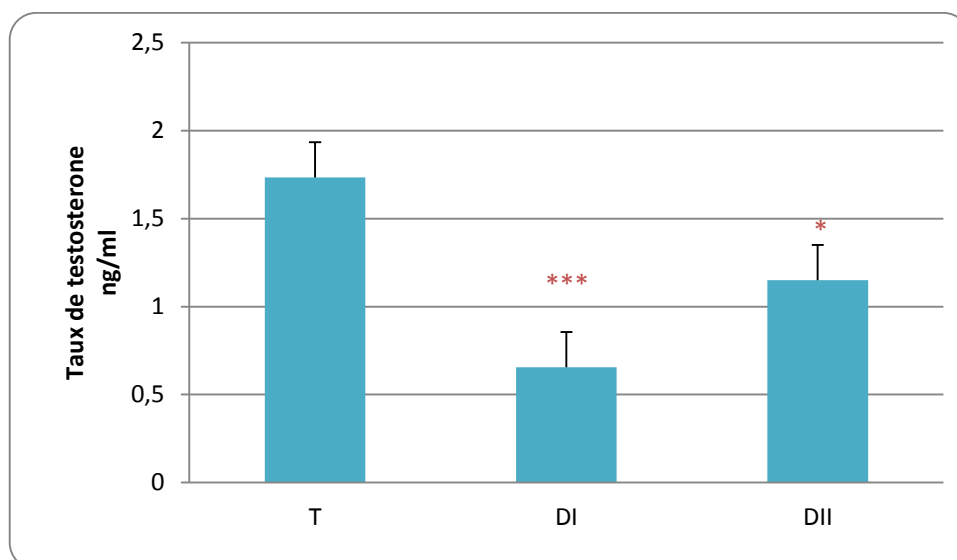


Figure 40 : Variation moyenne ($X \pm SD$) dans le taux de la testostérone (ng/ml) (n=5).

III.3. Etude des paramètres biochimiques :

III.3.1. Glycémie :

Les résultats montrent une diminution non significative de la concentration sérique du glucose entre le lot témoin et le lot traité par le xylène (DI), ($p \geq 0,05$) et une augmentation non significative chez le lot traité par xylène et grenadier (DII), ($p \geq 0,05$) (**tab.11; fig.41**).

Tableau 11 : Variation de la concentration sérique du glucose chez le témoin (T) et les Lots traités DI/DII (n=5).

Paramètre	les lots expérimentaux		
	Témoins	DI (traité par xylène)	DII (traité par xylène+ grenadier)
Glucose	1,29±0,16	1,09±0,13	1,13±0,23

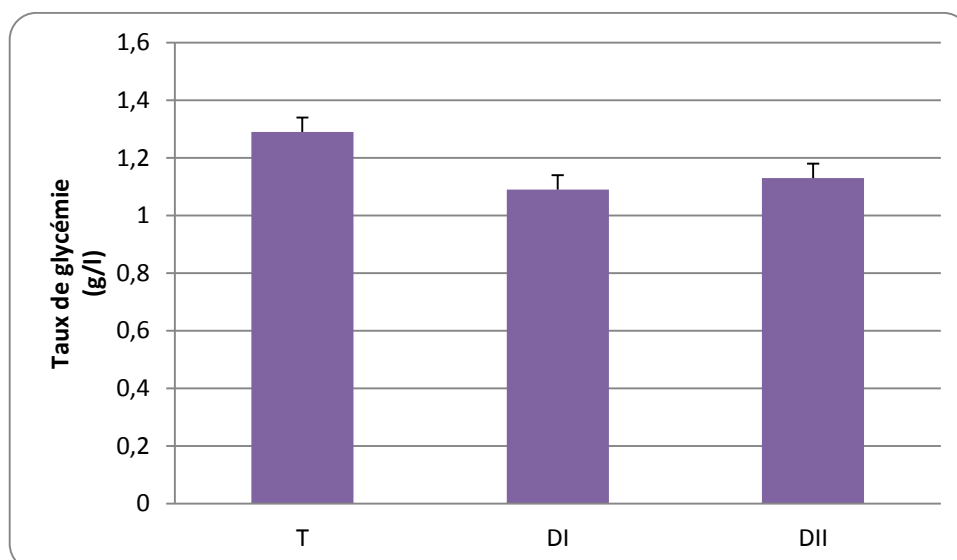


Figure 41 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique du Glucose chez le lot témoin et les lots traités (n=5).

III.3.2. Cholestérol :

Les résultats illustrent une augmentation non significative du taux de cholestérol chez le lot DI par rapport au témoin et une diminution non significative chez le lot DII par rapport au lot DI, ($p \geq 0,05$) (tab.12; fig.42).

Tableau 12 : Variation de la concentration du cholestérol chez le témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5).

Paramètre	les lots expérimentaux		
	Témoins	DI (traité par xylène)	DII (traité par xylène+ grenadier)
Cholestérol (g/l)	1,03±0,08	1,39±0,92	1,14±0,13

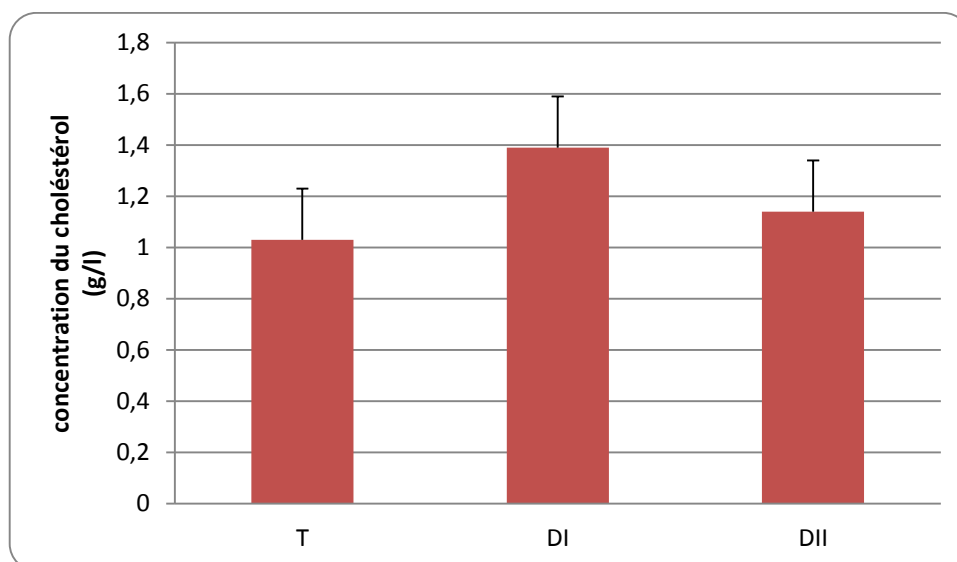


Figure 42 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique du Cholestérol chez le lot témoin et les lots traités par xylène et Grenadier (n=5).

III.3.3. Triglycérides :

En note d'après nos résultat une augmentation statistiquement non significative des triglycérides chez les lapins traités par le xylène ($p \geq 0,05$) par rapport au témoin, et une diminution non significative chez les lapins traité par xylène et grenadier ($p \geq 0,05$) (**tab.13; fig.43**).

Tableau 13 : Variation de la concentration sérique des triglycérides chez le témoin (T) et les Lots traités DI/DII (n=5).

Paramètre	les lots expérimentaux		
	Témoins	DI (traité par xylène)	DII (traité par xylène+grenadier)
Triglycérides (g/l)	2,94±0,30	1,32±0,57	2,06±0,43

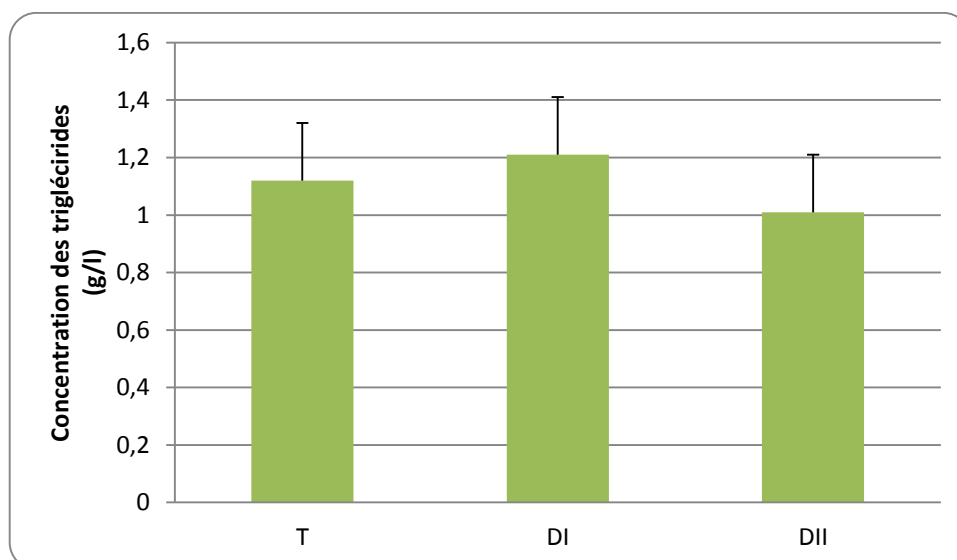


Figure 43 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique des Triglycérides chez le lot témoin et les lots traités (n=5).

III.4. Étude du paramètre hématologique :

III.4.1. Globule rouge :

Les résultats illustrent une diminution non significative du taux du globule rouge chez le lot traité par xylène ($p \geq 0,05$) par rapport aux lots témoins et une augmentation non significative chez le lot traité par xylène et grenadier (DII) par rapport au groupe DI, ($p \geq 0,05$) (**tab.14; fig.44**).

Tableau 14 : Variation du taux des globules rouges chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5).

Paramètre	les lots expérimentaux		
	Témoins	DI (traité par xylène)	DII (traité par xylène+grenadier)
Globules rouges (million/ μ l)	6,08 \pm 0,57	4,8 \pm 0,33	5,97 \pm 1,28

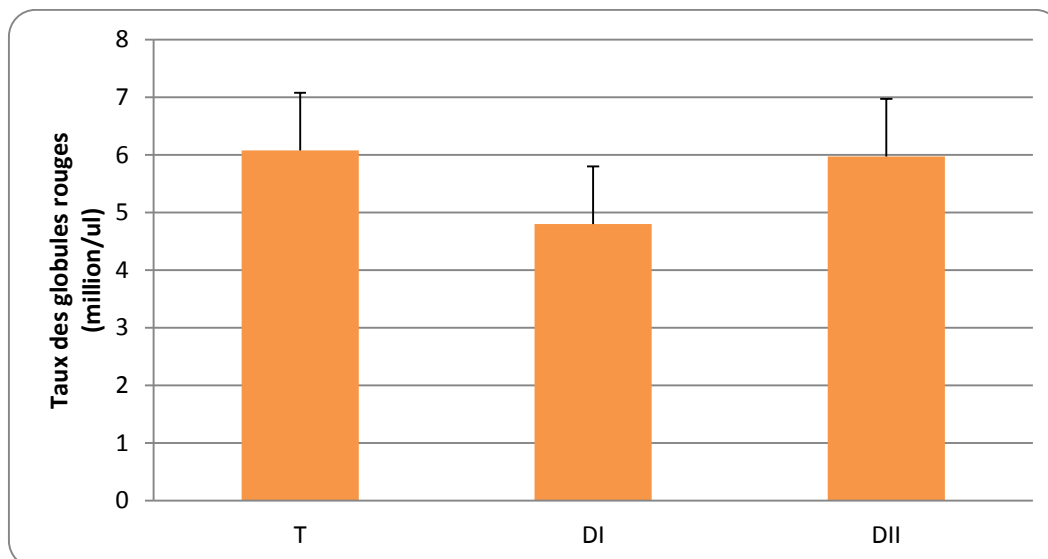


Figure 44 : Variation moyenne ($X\pm SD$) de taux des globules

Rouges (million/ μl) ($n=5$).

III.4.2. Globule blanc :

D'après nos résultats en remarque une augmentation non significative du taux des globules blancs chez le lot DI par rapport aux lots témoins et une diminution non significative chez le lot DII par rapport au lot DI ($p \geq 0,05$) (tab.15; fig.45).

Tableau 15 : Variation du taux des globules blancs chez le lot témoin (T) et les lots traités

DI/DII ($n=5$).

Paramètre	les lots expérimentaux		
	Témoins	DI (traité par xylène)	DII (traité par xylène+ grenadier)
Globules blancs (million/ μl)	5,02±0,68	8,18±1,23	7,48±1,59

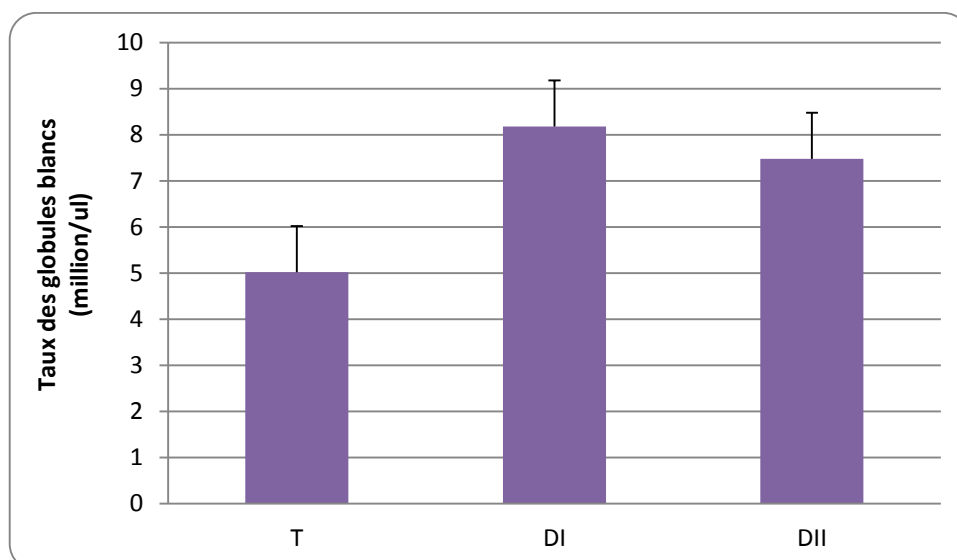


Figure 45 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de taux des globules
Blancs (million/ μ l) (n=5).

III.4.3. Hémoglobine :

Concernant les résultats obtenus d'hémoglobine on note une diminution non significative du taux d'hémoglobine chez les lapins traité par xylène ($p \geq 0,05$) par rapport aux témoins, d'autre part une augmentation non significative chez les lapins traité par xylène et grenadier comparativement aux lapins du groupe DI ($p \geq 0,05$) (**tab.16; fig.46**).

Tableau16 : Variation du taux d'hémoglobine chez le lot témoin (T) et les lots traités
DI/DII (n=5).

Paramètre	les lots expérimentaux		
	Témoins	DI (traité par xylène)	DII (traité par xylène+grenadier)
Hémoglobine	14,12±0,71	12,12±0,73	14,36±1,71

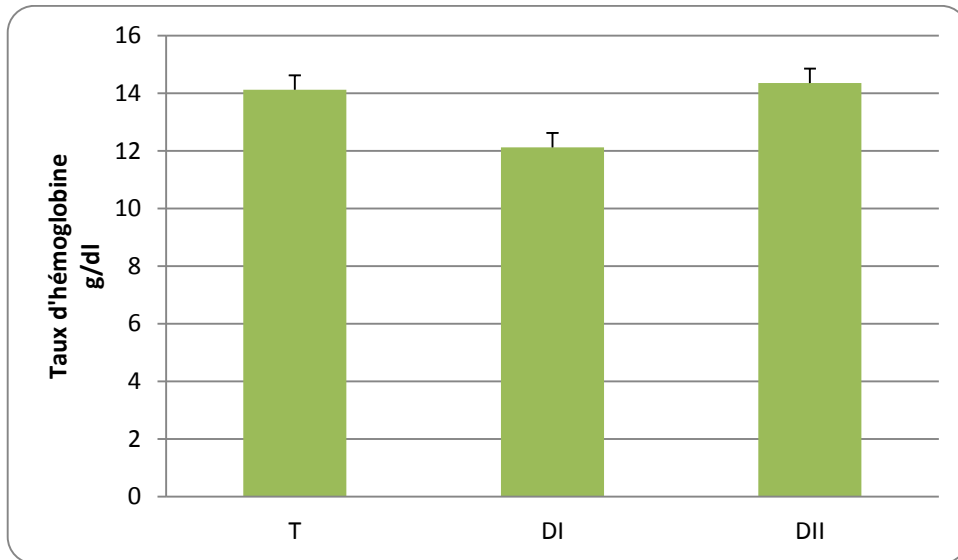


Figure 46 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de taux d'hémoglobine
(Million/ μ l) (n=5).

Chapitre IV :

Discussion

IV. Discussion

De nombreux travailleurs sont en contact, parfois sans le savoir, avec des solvants : peinture, nettoyage des métaux ou des textiles, décapage, fabrications des parfums.....

Une exposition régulière, même à faible dose, peut entraîner à long terme des atteintes à la santé, dont certains sont irréversibles [130].

Notre étude pondérale des testicules et d'épididyme chez les lapins traités uniquement au xylène a mis en évidence des altérations importantes traduites par une diminution significative de poids de ces derniers. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Yamada (1993)** qui a exposé des rats Wistar mâles âgés de sept à huit semaines au xylène par inhalation. Les résultats montrent que l'exposition au xylène était associée à une réduction du poids des testicules et des organes reproducteurs mâles accessoires [131]. Au même contexte **Chung et al. (1999)** ont mené une étude sur les effets testiculaires d'un mélange de solvants auquel les peintres humains sont couramment exposés, des rats mâles Sprague-Dawley, pesant de 250 à 300 grammes (g), ont reçu des solvants par gavage quotidien dans un véhicule à huile d'olive après quatre semaines de traitement, les animaux exposés ont montré une atrophie testiculaire [132].

Dans d'autres études sur les animaux des diminutions du nombre de spermatozoïdes et du poids des épидидymes ont été observées chez des rats mâles exposés à 2 000 ppm (7 540 mg/m³) pendant 90 jours (6 heures/jour) [133].

Nos résultats d'expérimentation suggèrent aussi que le xylène a plusieurs effets sur l'appareil reproducteur des lapins mâles, traduit par une diminution très hautement significative au niveau de la mobilité et vitalité des spermatozoïdes chez les lots traités au xylène par rapport aux témoins. Cette diminution est probablement due à l'effet des métabolites de xylène sur le système de reproduction (l'axe reproducteur = hypothalamus-hypophyse-testicule), spécifiquement sur les cellules germinales [134].

Le xylène favorise l'infertilité masculine, une diminution de la viabilité et la motilité des spermatozoïdes, ainsi qu'une diminution de l'acrosine libérée par les spermatozoïdes qui favorisent la pénétration de la zone pellucide, la diminution de l'activité γ -Glutamyl transférase, le lactate déshydrogénase C4 (LDH-C4), le taux de fructose résultant de l'exposition au xylène [76]. Il interfère également avec les fonctions des testicules et des organes reproducteurs

Une diminution très hautement significative du taux de testostérone a été observée dans nos résultats chez le lot traité par rapport au lot témoin qui sont en accord avec les travaux de **Yamada (1993)** qui a également observé une baisse du taux plasmatique de testostérone, ainsi qu'une réduction de l'activité de la phosphatase de l'acide prostatique [131]. Selon **Cai YZ et al, (1996)**. L'exposition au xylène abaisse les niveaux de FSH (Hormone Folliculo-Stimulante) et de LH (Hormone Lutéinisante) ce qui peut causer par la suite la diminution du taux de testostérone [135].

Parmi nos résultats on note une augmentation du poids du foie ce qui a été confirmé dans les études de **Uchida et al (1993)** qui ont prouvé que à des niveaux d'exposition très élevés, le xylène peut blesser le foie et les reins. En général, ces dommages sont réversibles [50].

Une augmentation du volume du foie et des reins a aussi été observée chez des rats ayant reçu par gavage oral des mélanges de xylènes de 750 mg/kg p.c. et plus par jour pendant 90 jours consécutifs [37].

Bien que les analyses des xylènes visent d'autres tissus, il semble que les xylènes causent moins de stress oxydatif, comme le montrent les indicateurs de dommages oxydatifs dans les reins, mais non dans le foie [136],[137] et l'absence de corrélation entre l'exposition et l'excrétion de marqueurs urinaires [138] Ces lésions tissulaires peuvent s'expliquer par l'induction de l'apoptose, de l'inflammation et de la prolifération cellulaire, qui mène à des effets toxiques dans les organes affectés.

En ce qui concerne les résultats des paramètres biochimiques, nous avons enregistré une diminution du taux de glucose et une augmentation du taux de cholestérol et des triglycérides chez le lot traité au xylène par rapport au lot témoin.

Ce qui peut être due à un déséquilibre du métabolisme qui est due aux dommages au niveau du tissu et de la fonction du foie, plusieurs études ont montré que ce solvant a la capacité d'agir sur les enzymes du foie et en particulier sur les cytochromes P450 ce qui affecte le foie. [139], [140].

Le changement au niveau du taux de cholestérol et due aux dommages du foie, ce changement peut être dû à un déséquilibre dans les enzymes responsables de la transformation

du cholestérol au hormones sexuels, ce qui a conduit à une diminution dans le taux de testostérone [141].

D'autre part nous avons observé dans nos résultats une diminution dans le taux de globules rouges et hémoglobine chez le lot traité par rapport au lot témoins, alors que nous avons observé une augmentation au niveau du taux des globules blancs chez le lot traité.

D'après (**Hipolito, 1980**), le xylène cause des troubles hématologiques et une diminution du nombre des lymphocytes. Des cas antérieurs de faible numération des globules rouges (anémie) peuvent avoir été signalés en raison de la contamination du xylène par le benzène [48].

Cette diminution peut être due à l'effet du xylène sur le contenu nucléaire des cellules de la moelle osseuse, ce qui à affecter le processus de formation des globules rouges [142].

Nos résultats ont montré une augmentation du poids du testicule et de l'épididyme chez le groupe traité par grenadier plus xylène par rapport au groupe traité seulement par xylène. Les travaux de **Gaffari Turk et al 2008**,¹ chez des rats traités par plusieurs doses de jus de grenades pendant sept semaines ont montré que le poids des testicules et d'épididyme des rats étaient numériquement plus élevé que ceux du groupe témoin [109].

D'autre part, on enregistre une diminution non significative du poids de foie chez le groupe traité par xylène plus grenadier comparativement au groupe traité par xylène. ce qui est confirmé par les résultats de **fatma labib ahmed hossin (2009)**, qui montre une diminution hautement significative de poids de foie par rapport au poids corporel pour tous les rats administrés avec différentes doses de grenadier en comparaison au groupe témoin [143].

Nos résultat d'expérimentation illustrent que La combinaison entre grenadier plus xylène a marqué une augmentation des paramètres de reproduction : mobilité et vitalité et une diminution par rapport au groupe traité seulement au xylène.

Turk et coll., (2008) ont évalué l'effet du jus de grenade sur la qualité du sperme, la densité des cellules de la spermatogénèse, et le taux de testostérone chez les rats mâles. Les observations de l'étude de consommation de jus de la grenade ont montré des résultats positifs par augmentation de la concentration épидидymale des spermatozoïdes, motilité des spermatozoïdes, densité des cellules spermatogènes, diamètre des tubes séminifères, et l'épaisseur de la couche des cellules germinales. Baisse du taux de spermatozoïdes anormaux. [109]. Le jus de grenadier a provoqué une diminution significative du taux de malondialdéhyde

(MDA). De plus, une augmentation marquée des activités du glutathion (GSH), de la glutathion peroxydase (GSH-Px), de la catalase (CAT) et du taux de vitamine C a été observée chez les rats traités avec différentes doses de jus de grenadier. Ces résultats suggèrent que la consommation de jus de grenadier améliore la qualité du sperme et l'activité antioxydante des rats [144]. et nos résultats sont en accord avec cette étude.

Sur le plan hormonal, nos résultats suggèrent une augmentation significative du taux de testostérone chez le lot traité par grenadier plus xylène comparativement au lot traité uniquement par xylène. L'étude de **Seeham A et Abeer S (2020)**, a évalué les effets du jus de *Punica granatum* sur le niveau d'hormone de testostérone chez des lapins mâles qui sont traité par une dose de jus de grenade pendant une période de 15 à 30 jours, les résultats mis en évidence une augmentation statistiquement significative des taux de testostérone dans le groupe traité par rapport au valeur moyenne de contrôle [145]. Et nos résultats sont en accord avec cette étude.

Hung M et all (2008), confirment que la grenade est considérée comme une bonne source de phénolique, des tanins ellagiques, des anthocyanes et d'autres composés dont l'hormone de testostérone a déjà fait la preuve en diminuant les hormones de stress (comme le cortisol) [146].

Kaye K et al (2005), démontrent qu'une relation négative entre l'hormone de cortisol et la synthèse de testostérone, l'augmentation des niveaux d'hormone cortisol à l'intérieur du corps L'augmentation de l'hormone de stress (cortisol) pousse le corps à interrompre la libération de la principale gonadotrophine stimulante hormone de libération (GnRH), qui est responsable de la numération des spermatozoïdes. , et l'activité sexuelle [147], aussi la présence du zinc et de la vitamine C favorise le niveau hormonal et la fertilité en raison de son activité comme un bon antioxydant nutritif [148].

Notre résultat montre une augmentation de la glycémie chez le lot traité par xylène et grenadier comparativement au lot traité par xylène ce qui est en accord avec les résultats de **Das et Sama (2009)**, qui ont révélé que les extraits de graines présentaient une augmentation de la glycémie [149].

Les résultats que nous avons obtenus illustrent une diminution de cholestérol chez les le groupe DII traité au xylène et grenadier par rapport au groupe DI traité uniquement au xylène.

Esmailzadeh et al (2006), ont montré, que l'administration de jus de grenade au Volontaires pendant huit semaines provoque une réduction significative de cholestérol. IL diminué l'absorption du cholestérol, augmenté l'excrétion fécale et amélioré les enzymes métabolisant le cholestérol, améliorant ainsi le rapport cholestérol total / HDL et LDL / HDL. Ce qui confirme nos résultats [150].

Nous enregistrons aussi une diminution non significative de la concentration des triglycérides chez le lot traité par xylène et grenadier ce qui est due à l'effet positif sur la fonction hépatique, Les mêmes résultats de l'étude menés par **Ahmed MM et al, (2015)** indiquent que la consommation de jus de grenadier diminue le taux de triglycérides et cholestérol chez des rats wistar traités par le jus de la grenade [151].**Osman HF et al ,(2012)** mettent en évidence en ce qui concerne les niveaux de lipides, des réductions significatives dans les niveaux de cholestérol de 162 à 138 mg/dL et de triglycérides de 141 à 112 mg/dL après 4 semaines de livraison 5 mL/kg de poids corporel de jus de grenade a des rats [152].

Nous résultats ont été confirmer aussi par d'autres études qui suggèrent que chez les rats mâles traités quotidiennement par gavage oral avec 600 mg/kg de d'extrait de *P. granatum*. La valorisation thérapeutique des produits naturels dans les troubles hépatiques a été remarquée au cours des dernières années, et divers produits naturels et synthétiques ont été testés par des chercheurs pour réduire les dommages hépatiques [153]. Récemment, la grenade a attiré toute l'attention en raison de sa fonction potentielle dans différentes voies métaboliques et dans l'amélioration du système antioxydant lié à des tissus et des organes spécifiques, y compris le foie. **Shishavan et al.,** ont constaté un effet bénéfique sur les enzymes antioxydantes du foie des rats [154].

Une augmentation des globules rouges et hémoglobine et une diminution léger des globules blanc aussi ont été remarqués chez les lapins traité par xylène plus grenadier par apport au groupe traité par xylène. Une étude sur des lapins traités par le jus de grenade pendant 60 jours montre l'effet de *Punica granatum* sur les paramètres hématologiques, Il y a eu une augmentation significative de l'érythrocyte compté, d'hémoglobine et les leucocytes ne sont pas modifiés [155].

Les rapports d'étude de **Riaz et al,** confirme l'antianémique propriété de *Punica granatum*. Ils ont mené l'étude sur modèles de lapin sains. Le jus de grenade efficacement travaillé sur les érythrocytes, l'hémoglobine et la corpusculaire moyenne concentration

d'hémoglobine. Il a également réduit la plaquette l'agrégation et la concentration en fibrinogènes, alors que la protéine C, Augmentation des niveaux de complexes antithrombiniques qui a montré le comportement antianémique du jus [155].

Nos résultats sont corrélés avec les résultats de Riaz et Khan concernant l'augmentation des globules rouges et d'hémoglobine.

Les résultats de **Hosseini E et al (2014)**, illustrent que le jus de grenade provoque une diminution proportionnelle à la dose des globules blancs. Ce qui confirme nos résultats concernant les globules blancs [156].

D'une part, Il a été démontré lors des études in vivo que l'extrait de grenade et plus précisément l'acide ellagique qui possède des pouvoirs anti-inflammatoires. Il permet ainsi de lutter contre l'inflammation tout en conservant les fonctions physiologiques des organes tels que le rein et l'estomac intacts. De ce fait, il n'y a aucun risque de provoquer ou d'aggraver un ulcère de l'estomac en utilisant des extraits de grenade comme anti-inflammatoire [87], [98].

Il y a de nombreuses preuves scientifiques qui démontrent clairement la propriété anti-inflammatoire de la grenade et de ses produits dérivés [95], [157], [158], [159].

Contrairement au xylène Ce qui peut être la cause de la régulation du taux des globules blancs Dont le nombre été augmenté chez le lot traité par le xylène a cause de l'inflammation.

Conclusion générale

Conclusion générale :

À la lumière des résultats disponibles nous avons confirmé que l'exposition cutanée (injection) de xylène sur des lapins males et matures pendant 4 semaines provoque une toxicité sur les paramètres relatifs à la reproduction parmi lesquels une diminution de mobilité, de vitalité, et une diminution de taux de testostérone. Ainsi qu'une diminution du poids de testicule et d'épididyme.

Une augmentation du poids du foie et une augmentation du taux de cholestérol et de triglycéride et une diminution de la glycémie sont démontré d'après les résultats des paramètres biochimiques. D'autre part les paramètres hématologiques ont été affectés par l'effet toxique de xylène.

Le grenadier a un effet correcteur sur les paramètres de reproduction ainsi que les paramètres biochimique, hématologiques et hormonal ce qui a été confirmés par les résultats du traitement des lapins par voie orale (gavage).

Les toxicologues accordent donc une attention particulière aux effets nocifs de xylène avec son utilisation à long terme sur la santé publique. Et à partir de là, des efforts visant à réduire les risques pour la santé dans l'environnement devraient être faits pour créer une atmosphère de vie plus sûre en familiarisant les services de santé environnementale avec les dangers pour la santé du xylène, les mesures de sécurité et les procédures d'urgence.

Notre étude nous a amené à vous proposer plusieurs conseils :

- ✓ On vous conseille d'éviter tout possible le contact direct ou indirect avec le xylène et s'il y aura un contact prend le jus de grenadier pour éviter les problèmes sanitaires et corriger les dégâts de xylène.
- ✓ L'utilisation d'un équipement de protection individuelle appropriée est essentielle, comme une hotte à fumée décente, une blouse blanche appropriée et un protecteur oculaire, un masque pour couvrir le nez et la bouche.
- ✓ Informer les gens exposés des dangers de cette substance pour la fertilité et de l'importance du respect des mesures de prévention.
- ✓ Une interdiction définitive de cette substance dans de nombreux produits cosmétiques et industriels par l'OMS.
- ✓ Conseiller les gens par la consommation du jus de grenadier surtout chez ceux qui sont exposés au xylène.

*Les références
bibliographiques*

Les références bibliographiques :

- 1- **PECB (professional evaluation and certification board). (2021).** LES IMPACTS DE LA POLLUTION ENVIRONNEMENTALE SUR LA SANTÉ.1 <http://pecb.com/site/renderPage?param=139>.
- 2- **Rabinowitz, Joseph, GREPPIN, Hubert. (1997).** Effets de la pollution de l'air. Médecine & Hygiène. vol. 55, no. 2158.717-722.
- 3- **Hulin M, Annesi-Maesano I. (2012).** Les composés organiques volatils : sensibiliser le public pour limiter les risques liés à la pollution de l'air intérieur.140-142.
- 4- **Testud F, (1993).** Pathologie toxique en milieu de travail. Lyon : éditions Alexandre Lacassagne.
- 5- **Valérie D, Dominique C, Gérard L, Philippe P, Ann-Christin J, Thais M. (2002).** Les effets ototoxiques des solvants : revue de la littérature. 142.
- 6- **Kamal N, Haji B, Faheem M, Mohammad A. (2015).** A review of environmental and occupational exposure to xylene and its health concerns. 1167.
- 7- **Bhat ZA, Kumar D, Shah MY. (2011).** *Angelica archangelica* Linn. Est un ange sur terre pour le traitement des maladies. Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis.1 :36-50.
- 8- **Prajapati R, Kalariya M, Umbarkar R, Parmar S, Sheth N. (2011).** *Colocasia esculenta*: A potent indigenous plant. Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis .1 :90-6.
- 9- **Bhandari PR. (2012).** Pomegranate (*Punica granatum* L). Ancient seeds for modern cure? Review of potential therapeutic applications. Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis .2:171-84.
- 10- **Roney N, Navarro H.A. (1994).** Toxicological Profile for Toxaphene: Draft (US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry).
- 11- **ATSDR. (2007).** Toxicological profile for xylene. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, Georgie.1-2, 496 ,12.
- 12- **Lefebvre G. chimie des hydrocarbures. Paris. (1978).** 46-182. ISBN : 2.7108-0342-9.
- 13- **Fabri J, Graeser U, Simo A. T. Xylene (2000).** Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.
- 14- **Mackay, Dshiu, WY, MA, KC. (1992).** Illustrated handbook of physical-chemical proprieties and environmental fate for organic chemicals, Volume 1, Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.
- 15- **CSST (Commission de la santé et de la sécurité du travail) (2007b).** Service du répertoire toxicologique – Xylène, Numéro CAS : 1330-20-7, [En ligne]

http://www.reptox.csst.qc.ca/Produit.asp?no_produit=92619&nom=Xylene (Page consultée le 28 février 2010).

16- Brice K, Derwent R. (1978). Emission inventory for hydrocarbons in the United Kingdom. *Atmos Environ.* 12, 2045-2054.

17-INERIS (Institut national de l'environnement et des risques) (2006a). Données technicoéconomiques sur les substances chimiques en France : Xylène .29.

18- Toxicological profile for xylene. (1993). U.S Department of Health and Human Services, public health service, Agency for toxic substance and disease registry.

19- Lewis R.J., Jr. (1993). *Hawley's Condensed Chemical Dictionary*, 12th Ed., New York, Van Nostrand Reinhold. 1235.

20- Sedivec V, Flek J. (1997). Exposure test for xylenes. *Int Arch Occup Environ Health.* 37:219-32.

21-Ogata M, Tomokuni K, Takatsuka Y. (1970). Urinary excretion of hippuric acid and m- or p-methylhippuric acid in the urine of persons exposed to vapours of toluene and m- or p-xylene as a test of exposure. *Br J Ind Med.* 27 :43-50.

22- INRS (Institut national de recherche et de sécurité) (2009). Fiche toxicologique FT77 (xylène), Paris.10.

23- Riihimäki V, Pfäffli P. (1978). Percutaneous absorption of solvent vapors in man. *Scand J Work Environ Health.* 4(1): 73-85

24- Engström K, Husman K, Riihimäki V. (1977). Percutaneous absorption of m-xylene in man. *Int Arch Occup Environ Health.* 39: 181–189, 3.

25-Ogata M, Yamasaki Y, Sugihara R. (1979). Quantitation of urinary o-xylene metabolites in rats and human beings by high-performance liquid chromatography. *Ind Health.*17 : 123-125.

26- Negraia G. (2010). Impact écotoxicologique des hydrocarbures monoaromatiques dans l'environnement au Canada. Université de Sherbrooke.50.

27- INRS. (2010). Xylène fiche Déméter Document pour l'évaluation médicale des produits toxiques vis-à-vis de la reproduction. N°DEM007 Québec. 1-6

28-Riihimäki V, Savolainen K. (1980). Human exposure to m-xylene: Kinetics and acute effects on the central nervous system. *Ann Occup Hyg.* 23:411-22-422.

29- Low LK, Meeks JR, Mackerer CR. (1989). Health effects of the alkylbenzenes. II. Xylenes. *Toxicol. ind. Health;*5, 85–105.

- 30- **Riihimäki V, Pfäffli P, Savolainen K, Pekari K. (1979).** Kinetics of m-xylene in man: general features of absorption, distribution, biotransformation and excretion in repetitive inhalation exposure. *Scand J Work Environ Health*.5:217-31.
- 31- **Fang Z, Sonner J, Laster MJ, Ionescu P, Kandel L, Koblin DD, et al. (1996).** Anesthetic and convulsant properties of aromatic compounds and cycloalkanes: implications for mechanisms of narcosis. *Anesth Analg*.83:1097-104.
- 32- **Ito T, Yoshitome K, Horike T, Kira S. (2002).** Distribution of inhaled m-xylene in rat brain and its effect on Gabaa receptor binding. *J Occup Health*.44:69-75.
- 33- **Tassaneeyakul W, Birkett DJ, Edwards JW, Veronese ME, Tukey RH, Miners JO. (1996).** Human cytochrome P450 isoform specificity in the regioselective metabolism of toluene and o-, m-and p-xylene. *J Pharmacol Exper Ther*.276:101-8.
- 34- **Rogers JV, Gunasekar PG, Garrett CM, McDougal JN. (2001).** Dermal exposure to m-xylene leads to increasing oxidative species and low molecular weight dna levels in rat skin. *J Biochem Mol Toxicol*.15:228-30.
- 35- **Al-Ghamdi SS, Raftery MJ, Yaqoob MM. (2003).** Organic solvent-induced proximal tubular cell toxicity via caspase-3 activation. *Clin Toxicol*.41 :941-5.
- 36- **Armenta-Reséndiz M, Rios-Leal E, Rivera-Garcia MT, Lopez-Rubalcava C et al. (2019).** Structure-activity study of acute neurobehavioral effects of cyclohexane, benzene, m-xylene and toluene in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*.376: 38-45.
- 37- **Condie LW., Hill JR, Borzelleca JF. (1988).** Oral toxicology studies with xylene isomers and mixed xylenes. *Drug Chem Toxicol*. 11, 4, 329-354.
- 38- **Elovaara E, Zitting A, Nickels J, Aitio A. (1987)** - m-Xylene inhalation destroys cytochrome P-450 in rat lung at low exposure. *Arch Toxicol*. 61, 1, 21-26.
- 39- **Toftgard R, Nilsen OG. (1982).** Effects of xylene and xylene isomers on cytochrome P-450 and in vitro enzymatic activities in rat liver, kidney and lung. *Toxicology*. 23, 2-3, 197-212.
- 40- **Morley R, Eccleston DW, Douglas CP., Greville WE, Scott DJ, Anderson J. (1970).** Xylene poisoning: a report on one fatal case and two cases of recovery after prolonged unconsciousness. *Br Med J*, 3, 720, 442-443.
- 41- **I N E R I S. (2006).** Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques o-, m-, p-XYLENES ET LEURS MELANGES.19.
- 42- **Nelson KW., Ege JF, Ross M. (1943).** Sensory response to certain industrial solvent vapors. *J Ind Hyg Toxicol*. 25, 282-285.

- 43- **Palmer KT, Rycroft RJ. (1993).** Occupational airborne contact urticaria due to xylene. *Contact Derm.* 28, 1, 44.
- 44- **Riihimäki V. (1979b).** Percutaneous absorption of m-xylene from a mixture of m-xylene and isobutyl alcohol in man. *Scand J Work Environ Health.* 5, 2, 143-150.
- 45- **Korsak Z, Wisniewska-Knypl J, Swiercz R. (1994).** Toxic effects of suchronic combined exposure to n-butyl alcohol and m-xylene in rats. *Int J Occup Med Environ Health.* 7(2): 155-166.
- 46- **Tatrai E, Ungvary G, Cesh IR, Manyai S et al. (1981).** – The effect of long-term inhalation of ortho-xylene on the liver. 1981 In: Gut I et al. (ed): *Industrial and environmental xenobiotics.* Berlin: Springer-Verlag. 293- 300.
- 47- **Wolf MA, Rowe VK, Mc Collister DD, Hollingsworth RL, Oyen F. (1956).** Toxicological studies of certain alkylated benzenes and benzene: Experiments on laboratory animals. *Arch Ind Health,* 14, 387-398.
- 48- **Hipolito RN. (1980).** Xylene poisoning in laboratory workers: Case reports and discussion. *Lab Med .*11, 593-895.
- 49- **Roberts FP, Lucas EG., Marsden CD, Trauer T. (1988).** Near-pure xylene causing reversible neuropsychiatric disturbance. *Lancet,* 2, 8605, 273.
- 50- **Uchida Y, Nakatsuka H, Ukai H, Watanabe T, Liu YT, Huang MY, Wang YL, Zhu FZ, Yin H, Ikeda M. (1993).** - Symptoms and signs in workers exposed predominantly to xylenes. *Int Arch Occup Environ Health.* 64, 8, 597-605.
- 51- **ECETOC. (1986).** Joint assessment of commodity chemicals: Nà 6. Xylenes European Chemical Industry Ecology and Toxicology Center. Brussels, Belgium.
- 52- **Moszczyński P, Lisiewicz J. (1983).** Occupational exposure to benzene, toluene and xylene and the T lymphocyte functions. *J Clin Hematol Oncol.* 17:449-453,13
- 53- **Moszczyński P, Lisiewicz J. (1984).** Occupational exposure to benzene, toluene and xylene and the T lymphocyte function. *Haematologia.* 17, 449-453.
- 54- **Smolik R., Grzybek-Hryniewicz K, Lange A, Zatoski W. (1973).** Serum complement level in workers exposed to benzene, toluene and xylene. *Int Arch Arbeitsmed .*31, 3, 243-247.
- 55- **Furnas DW, Hine CH. (1958).** Neurotoxicity of some selected hydrocarbons. *AMA Arch Ind Health.* 18:9.
- 56- **Korsak Z, Sikal JA, Wasiela T, Swiercz R. (1990).** Toxic effects of acute exposure to particular xylene isomers in animals. *Pol J Occup Med.* 3 :221–222.
- 57- **De Ceaurriz JC, Micillino JC, Bonnet P, Guenier JP. (1981).** Sensory irritation caused by various industrial airborne chemicals. *Toxicol Lett.* 9:137–143.

- 58- **Carpenter CP, Kinkead ER, Geary DL, Sullivan LJ, King JM. (1975).** Petroleum hydrocarbon toxicity studies. V. Animal and human response to vapors of mixed xylenes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 33:543–558.
- 59- **Narvaez J, Song CD. Reply to “Trujillo F, Dang D, Starck T. (2003).** Xylene keratopathy: a case report and review of the literature” *Cornea.* 22:495
- 60- **Ansari EA. (1997).** Ocular injury with xylene: a report of two cases. *Hum Exp Toxicol.* 16:273–275.
- 61- **Savolainen K, Riihimäki V, Linnoila M. (1979).** Effects of short-term xylene exposure on psychophysiological functions in man. *Int Arch Occup Environ Health.* 44:201–211.
- 62- **Dudek B, Gralewicz K, Jakubowski M, Kostrzewski P, Sokal J. (1990).** Neurobehavioral effects of experimental exposure to toluene, xylene and their mixture. *Pol J Occup Med.* 3:109–116.
- 63- **Savolainen K, Riihimäki V. (1981).** An early sign of xylene effect on human equilibrium. *Acta Pharmacol Toxicol.* 48:279–283.
- 64- **Savolainen K, Riihimäki V, Luukkonen R, Muona O. (1985).** Changes in the sense of balance correlate with concentrations of m-xylene in venous blood. *Brit J Ind Med.* 42:765–769.
- 65- **Savolainen K, Kekoni J, Riihimäki V, Laine A. (1984).** Immediate effects of m-xylene on the human central nervous system. *Arch Toxicol (Suppl).* 7:412–417
- 66- **d'Azevedo, PA, Tannhauser M, Tannhauser SL, Barros HM. (1996).** Hematological alterations in rats from xylene and benzene. *Vet Human Toxicol.* 38 :340–344.
- 67- **Moszczyński P, Lisiewicz J. (1985).** Exposition professionnelle au benzène, au toluène et au xylène et au lymphocyte lysosomale N-acétyl-bêta-d-glucosaminidase. *Ind Santé.* 23:47-51.
- 68- **Arp EW Jr, Wolf PH, Chekaway H. (1983).** Lymphocytic leukemia and exposures to benzene and other solvents in the rubber industry. *J Occup Med.* 25:598-602.
- 69- **Wilcosky TC, Checkoway H, Marshall EG, et al. (1984).** Cancer mortality and solvent exposures in the rubber industry. *Am Ind Hyg Assoc J.* 45:809-811.
- 70- **DeMarini DM, Lawrence BK, Brooks HG, et al. (1991).** Compatibility of organic solvents with the microscreen prophage-induction assay: Solvent-mutagen interactions. *Mutat Res.* 263 :107-113.
- 71- **Richer C-L, Chakrabarti S, Senecal-Quevillon M, et al. (1993).** Cytogenetic effects of low-level exposure to toluene, xylene and their mixture on human blood lymphocytes. *Int Arch Occup Environ Health.* 64:581-585.

- 72- **Ladeira C, Gajski G, Meneses M, Gerić M, Viegas S. (2020).** The genotoxicity of an organic solvent mixture: A human biomonitoring study and translation of a real scenario exposure to in vitro. *Regul Toxicol Pharmacol* .116:104726.
- 73- **Dimethylbenzene. (2020)** In: Reprotox. Reproductive Toxicology Center. (<https://reprotox.org/>).
- 74- **Cho SI, Damokosh AI, Ryan LM, Chen D, Hu YA, Smith TJ, et coll. (2001).** Effets de l'exposition aux solvants organiques sur la durée du cycle menstruel. *J occup environ med.* 43:567-575.
- 75- **Reutman SR, Iemasters GK, Knecht EA, Shukla R, Lockey JE, Burroughs GE, et coll. (2002).** Evidence of reproductive endocrine effects in women with occupational fuel and solvent exposures. *Environ Health Perspect* .110:805-811
- 76- **Xiao GB, Pan CB, Cai YZ, Lin H, Fu ZM. (2001).** Effet du benzène, du toluène, du xylène sur la qualité du sperme et la fonction des gonades accessoires des travailleurs exposés. *Ind Santé* .39:206-210
- 77- **Ungváry G, Tatrai E. (1985).** On the embryotoxic effects of benzene and its alkyl derivatives in mice, rats and rabbits. *Arch Toxicol (Suppl)*.8:425–430.
- 78- **Ungváry GY. (1985).** The possible contribution of industrial chemicals (organic solvents) to the incidence of congenital defects caused by teratogenic drugs and consumer goods - an experimental study. *Prog Clin Biol Res*.163:295.
- 79- **Mirkova E, Zaikov C, Antov G, Mikhailova A, Khinkova L, Benchev I. (1982).** Prenatal toxicity of xylene. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* .27:337–343.
- 80- **Balogh T, Tatrai E, Barczai G. (1982).** Study of the embryotoxic effect of xylene mixtures. *Egeszsegtudomány* .26:42–48.
- 81- **Hass U, Jakobsen BM. (1993).** Prenatal toxicity of xylene inhalation in the rat: a teratogenicity and postnatal study. *Pharmacol Toxicol*. 73:20–23.
- 82- **Saillenfait AM, Gallissot F, Morel G, Bonnet P. (2003).** Developmental toxicities of ethylbenzene, ortho-, meta-, para-xylene and technical xylene in rats following inhalation exposure. *Food Chem Toxicol* .41:415–429.
- 83- **Holland D, Hatib K, and Bar-Ya'akov I. (2009).** “Pomegranate: botany, horticulture, breeding,” in *Horticultural Reviews*, ed J. Janick (New Jersey, NJ: John Wiley & Sons, Inc). 127–191.
- 84- **Ducourthial G. (2003).** Flore magique et astrologique de l'Antiquité. Editions Belin. 655: 69, 187-188, 513.

- 85- **Melgarejo M.P, Martínez V.R. (1992)**. El Granado. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, S.A.163.
- 86- **Planchon G, Collin E. (1875)**. Traité pratique de la détermination des drogues simples d'origine végétale. Librairie F. Savy. Tome I. 235-236, 307-308. In : **Wald E. (2009)**. Le grenadier (*punicagranatum*) : Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Nancy 1 : Université Henri Poincare.158.
- 87- **Wald E. (2009)**. Le grenadier (*Punicagranatum*) : plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en pharmacie. Nancy 1 : université HENRI POINCARE-Nancy 1. 158 ,159.
- 88- **Garnier G, Bezanger-beauquesne L, et al. (1961)**. - Ressources médicinales de la flore française. Editions Vigot Frères. Tome II. 1511: 838-842.
- 89- **Ben-Arie R, Segal N, Guelfat-Reich S. (1984)**. The maturation and ripening of the 'Wonderful' pomegranate. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 109(6): 898-902.
- 90-**BenYahkem M.L, Hadjadj S, Others. (2018)**. Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des trois espèces : *Punicagranatum* L. (Grenadier) ; *Zeamays* L.(Maïs) et *Lawsoniainermis* L.(Henné).
- 91- **Melgarejo P, Salazar D.M.S. (2003)**. Tratado De Fruticultura Para Zonas Áridas Y Semiáridas. Vol. 2 : Algarr. 416.
- 92- **Jurenka J. (2008)**. Applications thérapeutiques de la grenade (*Punica granatum* L.) : Une revue. Altern Med Rev .13 :128-44. †
- 93- **Planchon G, Collin E. (1875)**. Traité pratique de la détermination des drogues simples d'origine végétale. Librairie F. Savy. Tome I. 235-236,307-308.
- 94- **Tiwari S. (2012)**. *Punica granatum* - A 'Swiss Army Knife' in the field of ethnomedicines. J Nat Prod .5:4. †
- 95- **Lansky E. P., Newman R. A. (2007)**. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. Journal of ethnopharmacology. N°109.177-206,10.
- 96- **Al-Muammar M.N, Khan F. (2012)**. Obesity:the preventive role of the pomegranate (*Punicagranatum*), Nutrition. 28, 595–604.
- 97- **Coskun U, Semir O, Michele S, and Paolo E. P. (2013)**. The pharmacological use of ellagic acid-rich pomegranate fruit.1.
- 98- **Sitzia G. (2009)**. Livre : La Grenade, une bombe de jeunesse.
- 99- **Edeas M. (2010)**. Polyphénols and jus de grenade. Phytothérapie. 8 :16-20.

- 100- **T. Desmier. (2016)**. Thèse de Doctorat, Les antioxydants de nos jours : définition et applications, Université de Limoges.14, 15, 20, 22, 50-54.
- 101 - **Belyagoubi-Benhammou N. (2012)**. Thèse de doctorat, Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien, Université de Tlemcen.11-12.
- 102- **PADMA., (2015)**. Plantes / Descriptifs botaniques, Le grenadier (*Punica granatum L.*) [en ligne]. Disponible sur : <http://www.padma.ch/fr/plantes/descriptifs-botaniques/m-r/punicagranatum-le-grenadier/> (consulté le 29.11.2015).
- 103- **Stover E, Mercure E. W. (2007)**. The Pomegranate: A New Look at the Fruit of Paradise HortScience. 42(5): 1088-1092.
- 104- **Bottine Djamel Eddine. (2011)**. Evaluation de l'activité antioxydante et antibacterienne d'une Plante endemique Algerienne *Ampelodesma mauritanica* [en ligne]. Thèse Magister. Annaba: Universite Badji Mokhtar .90.
- 105- **Muhammad M, Ali N. R, Bakhtawar S, Lufeng W, Shafeeqa I, Muhammad N S, Mian A M, Muhammad N, Shahid M, Ghulam M, Hafz R N. (2021)**. A comprehensive review on phytochemistry, bioactivity and medicinal value of bioactive compounds of pomegranate (*Punica granatum*).
- 106- **Negi PS, Jayaprakasha GK, Jena BS. (2003)**. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. Food Chem. 80:393–397. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00279-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00279-0).
- 107- **Li Y, Guo C, Yang J et al. (2006)**. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. Food Chem. 96:254–260. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.033>
- 108- **Basu A, Penugonda K. (2009)**. Pomegranate juice: a heart-healthy fruit juice. Nutr Rev. 67(1):49-56.
- 109- **Türk G, Sönmez M, Aydın M, Yüce A, Gür S, Yüksel M, et al. (2008)**. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. Clin Nutr. 27:289-96,293.
- 110- **Schubert SY, Lansky EP, Neeman I., (1999)**. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. Journal of Ethnopharmacology. 66: 11-17.
- 111- **Adams LS, Seeram NP, Aggarwal BB. (2006)**. Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54 : 980-985.

- 112- **Chahinez S. (2013)**. Effet de l'Irradiation sur les propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et cytoprotectrices de l'écorce de *Punica granatum*. These doctorate. Université de Carthage.
- 113- **Nugteren DH, Christ-Hazelhof E. (1987)**. Naturally occurring conjugated octadecatrienoic acids are strong inhibitors of prostaglandin biosynthesis. *Prostaglandins*. 33: 403-417.
- 114- **Jianjun Xu, Yongxin Zhao, Haji Akber Aisa. (2017)**. Anti-inflammatory effect of pomegranate flower in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 macrophages. *PHARMACEUTICAL BIOLOGY*.55: NO. 1. 2095–2101.
- 115- **Parmar HS, Kar A. (2007)**. Antidiabetic potential of *Citrus sinensis* and *Punica granatum* peel extracts in alloxan-treated male mice. *BioFac*. 31(1):17–24
- 116- **Das AK, Mandal SC, Banerjee SK, Sinha S, Saha BP, Pal M. (2001)**. Studies on the hypoglycaemic activity of *Punica granatum* seed in streptozotocin induced diabetic rats. *Phytother Res*.15(7):628–9.
- 117- **Jafri MA, M,Aslam M, Javed K, Singh S. (2000)**. Effect of *Punicagranatum* Linn. (Flowers) on blood glucose level in normal and alloxan-induced diabetic rats.*Journal of Ethnopharmacology*.70(3): 309-314.
- 118- **Squillaci G, Di Maggio G. (1946)**. Acute morbidity and mortality from decoctions of the bark of *Punica granatum*. *Bollettino Societa Italiana Biologia Sperimentale*. 1095–1096.
- 119- **CAZIN F J. (1868)**. *Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigènes et acclimatées*. Editions de l'envol. 1189 : 497-501.
- 120- **Vidal A, Fallarero A, Pena B R, Medina M E, Gra B, Rivera F, Gutierrez Y., Vuorela P M. (2003)**. Studies on the toxicity of *Punica granatum* L. (Punicaceae) whole fruit extracts. *Journal of Ethnopharmacology*.89 : 295–300.
- 121- **OMS (organisation Mondiale De La santé). (1993)**. Analyse de sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical. Ed. INSERM.
- 122- **Jeyendran RS, Vander Ven HH, Perez-Pelaz M, Gabob G, Zameveld LJD. (1984)**. development of an assay to assess the functional integrity of human sperm membrane and its relationship to the other semen characteristics. *J Rep Fert*.70:219-228.
123. **Kaplan LA, Glucose, Kaplan A, et al. (1984)**. *Clin Chem the C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton* .1032-1036.
124. **Trinder P. (1969)**. *Ann Clin Biochem*. 6: 24-33.
125. **Naito HK, Cholesterol, Kaplan A ,et al. (1984)**. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*. 1194-11206 ,437.

126. **Meiattini F, et al. (1978).** The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. *Clin Chem.* 24 (12): 2161-2165.
127. **Buccolo G, et al. (1973).** Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. *Clin Chem.* 19 (5) : 476-482.
128. **Fossati P, et al. (1982).** *Clin. Chem.* 28(10) : 2077-2080.
129. **Kaplan A, et al. (1984).** Tryglycerides. *Clin Chem the C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton.* 437 and *Lipids* 1194-1206.
- 130-**Inrs. (2011).** Santé et sécurité au travail .1 <https://www.inrs.fr/>
- 131-**Yamada K. (1993).** Influence of lacquerthinner and someorganicsolvents on reproductive and accessory reproductive organs in the male rat. *Biol Pharm Bull* 16: 425-427.
- 132- **Chung WG, IJ YU, CS Park, HK Roh, YN Cha. (1999).** *Letters de toxicology.* Elsevier.
- 133- **Ono A, Sekita K, Ogawa Y, Hirose A, Suzuki S, Saito M, Naito, K, Kaneko T, Furuya T, Kawashima K, Yasuhara K, Matsumoto K, Tanaka S, Inoue T. et Kurokawa Y. (1996).** Reproductive and developmentaltoxicitystudies of toluene II. Effects of inhalation exposure on fertility in rats. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 15: 9-20.
- 134-**Xiao G, Pan G, Caz L N H, Fuz.(1999).** Effect of benzene, toluene and xylene on the semen quality exposed workers.
- 135- **Cai YZ, Xiao GB, Wang TY, Fu ZM. (1996).** Effect of benzene, toluene, xylène on male sexual hormone. *Chin J Pub Health.* 15,198-9.
- 136-**Kum C, Kiral F, Sekkin S, Seyrek K et Boyacioglu M. (2007a).** Effects of xylene and formaldehyde inhalations on oxidative stress in adult and developing rats livers. *Exp. Anim.* 56: 35-42.
- 137-**Kum C, Sekkin S, Kiral F. et Akar F. (2007b).** Effects of xylene and formaldehyde inhalations on renal oxidative stress and some serum biochemical parameters in rats. *Toxicol. Ind. Health.* 23: 115-120.
- 138-**Chang F K, Mao I F, Chen M L. et Cheng S F. (2011).** Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage in workersexposed to ethylbenzene. *Ann. Occup. Hyg.* 55: 519-525.
- 139-**Stumph MJ, Weir FW, Noall MW. (1985).** Comparison of blood and braintoluene concentrations and circulatingtriglyceridelevelsresultingfrom acute and repeatedexposures in rats. *Am IndHyg Assoc J.* 46(5):244-50.
- 140- **Poon R, Chu I, bjamason S. (1994).** Inhalation toxicitystudy of methanol, toluene, and

methanol/toluene mixtures in rats: effects of 28-day exposure. *Toxicology and Industrial Health*. 10(3): 231-45.

141-**Husmann DS, Mephaul MJ. (1991)**. Time specific and rogenb lockage with fluramide in Hibits testicular deseent in the rat. *Endocrinol*. 129:1409-1416

142-**IARC (International Agency for Research on Cancer). (1999)**. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans. Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. Lyon, France.71: 829- 864.

143-**Fatma Labib Ahmed Hossin. (2009)**. Effect of Pomegranate (*Punica granatum*) Peels and It's Extract on Obese Hyper cholesterolemic Rats. *Pakistan Journal of Nutrition*. 8: 1251-1257

144- **Azadzoï KM, Schulman RN, Aviram M, Siroky MB. (2005)**. Oxidative stress in arteriogenic erectile dysfunction: prophylactic role of antioxidants. *The Journal of urology*. 174(1):386-93.

145- **Seeham Ali Qasim, Abeer Salih Ali. (2020)**. Effect of Pomegranate Juice and Fresh Leaves of *Eruca vesicaria* on Testosterone Hormone Level in Blood Serum of Male Rabbits. .1211-1214.

146- **Hong M, Y N, Seeram p, and Heber D. (2008)**. Pomegranate polyphenols down-regulate expression of and rogen synthesizing genes in human prostate cell overexpressing the androgen receptor. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 19(12):848–85.

147- **Kaye K, I, Brown, WM, Alex CH, Anthon. (2005)**. Relationship Between Circulating Cortisol and Testosterone: Influence of Physical Exercise *J Sports Sci Med*. Mar; 4(1): 76–83.

148-**Alahmar A T. (2018)**. The effects of oral antioxidants on the semen of men with idiopathic oligosathenoteratozoo spermia. *Clin Exp Reprod. Med*. Jun; 45(2): 57-66.

149- **Das S, Sama G. (2009)**. Antidiabetic Action of Ethanolic Extracts of *Punica granatum* Linn. in Alloxan-induced Diabetic Albino Rats. *Stamford Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2(1):14-21. 4.

150- **Esmailzadeh A, Tahbaz F, Gaieni I, Alavi-Majd H, Azadbakht L. (2006)**. Cholesterol-lowering effect of concentrated pomegranate juice consumption in type II diabetic patients with hyperlipidemia. *Int. J. Vitamin Nutr. Res*. 76, 147–151. [CrossRef].

151-**Ahmed MM, Samir E-SA, El-Shehawi AM, et al. (2015)**. Anti-obesity effects of Taif and Egyptian pome-granates: Molecular study. *Biosci Biotechnol Bio-chem* .79(4):598–609.

152-**Osman HF, Eshak MG, El-Sherbiny EM, Bayoumi MM. (2012)**. Biochemical and genetical evaluation of pomegranate impact on diabetes Mellitus induced by alloxan in female rats. *Life Sci J*.9(3):1543-53.

- 153-**Li S, Tan H Y, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, Feng Y. (2015).** The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 26087–26124. [Cross Ref].
- 154- **Shishavan, N.G.; Abbasi, M.M.; Afshar, R.A.; Milani, P.Z.; Yahyavi, F.** The effects of pomegranate (*Punica granatum L.*) peel methanolic extract on methotrexate induced chang.
- 155- **Riaz A, Khan RA. (2016).** Anticoagulant, antiplatelet and antianemic effects of *Punica granatum* (pomegranate) juice in rabbits. *Blood Coagulation & Fibrinolysis.* 2016 Apr 1; 27(3):287-93.
- 156-**Hosseini E , Mehrabani D, Ghaedi H R.(2014).** The Effects of Pomegranate Juice On Homogram in Adult Male Rats. 25-30.
- 157-**Shukla K,Gupta, Rasheed Z, Khan KA Y Haqqi TM. (2008).** Consumption of hydrolyzable tannins-rich pomegranate extract suppresses inflammation and joint damage in rheumatoid arthritis. *Nutr* 24: 733–743.
- 158-**Larrosa M, González-Sarriás A, Yáñez-Gascón MJ, Selma MV, Azorín-ORTUÑO M, Toti S, Tomás-Barberán F, Dolara P Y Espín JC. (2010):** Anti-inflammatory properties of a pomegranate extract and its métaboliteurolithin-A in a colitis rat model and the effect of colon inflammation on phenolic metabolism. *J Nut Biochem* 21(8): 717–725.
- 159-**Lee CJ, Chen LG, Liang WL Y Wanga CC. (2010).** Anti-inflammatory effects of *Punica granatum Linne* in vitro and in vivo. *Food Chem* 118: 315–322.