

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE CONSTANTINE 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

N° :
Série :

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences

Option

Pharmacologie Toxicologie

Pistacia lentiscus L.: Evaluation pharmaco- toxicologique

Soutenue publiquement le 16/04/2014

Par

Zineb MAAMERI -HABIBATNI

Devant le jury :

Président :	KHELIFI D.	Professeur	Université Constantine 1
Directeur de thèse :	HAMDI PACHA Y.	Professeur	E.N.S.V, El Harrach, Alger
Examineurs :	BENALLAOUA S.	Professeur	Université A/Mira de Bejaïa
	BENMEHDI M.	Professeur	E. N. S. V, El Harrach, Alger
	DJEBAR M. R.	Professeur	Université B/Mokhtar d'Annaba
	MERGHEM R	Professeur	Université Constantine 1

Année universitaire 2013 /2014

REMERCIEMENTS

Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent :

A Dieu tout puissant qui m'a permis que je sois ce que je suis aujourd'hui. Car l'homme propose mais Dieu dispose. Seigneur, veuillez toujours diriger mes pas.

A Monsieur HAMDI- PACHA Professeur à L'école Nationale Supérieure Vétérinaire El Harrach, Alger. Tout au long de ce travail vous nous avez donné la confirmation de votre connaissance du domaine pharmacotoxicologie. Votre dévouement pour la recherche et votre rigueur scientifique sont connus de tous. Veuillez trouver dans cet ouvrage l'expression de mes remerciements les plus chaleureux et mes plus profonds respects.

A Monsieur D. KHELIFI Professeur à l'Université Constantine 1 et responsable du laboratoire de recherche Biochimie Génétique. Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury. Votre dévouement pour l'enseignement, la recherche et votre rigueur scientifique ne sont plus à démontrer. Veuillez trouver par ces quelques mots Monsieur le Professeur, l'expression de notre profonde reconnaissance et nos remerciements les plus chaleureux.

A Monsieur S. BENALLAOUA Professeur à l'Université de Bejaia. Notre maître et juge. C'est un réel plaisir pour nous de vous compter parmi les membres de ce jury. Votre simplicité dans l'art de transmettre la connaissance nous a largement convaincu. Veuillez trouver ici l'expression de notre plus profond respect.

A Monsieur R. MERGHEM Professeur à l'Université Constantine 1. C'est pour nous un grand plaisir que vous ayez accepté d'être membre de ce jury. Votre courage et votre détermination pour la recherche et l'enseignement font de vous un exemple exceptionnel à suivre. Veuillez trouver ici notre profonde reconnaissance.

Mes remerciements vont également à Madame le Professeur M. BENMEHDI et Monsieur M. R. DJEBAR qui ont aimablement accepté de juger notre travail.

Je remercie vivement, pour leur précieuse aide et leur assistance Mr Z. Djerrou, maitre de conférence à l'institut des Sciences Vétérinaires El Khroub, Constantine et Melle W. ABDELAZIZ maître assistante à l'Université Constantine 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Toute ma gratitude va également à Melle A. Guira et S. Mwafek pour leur contribution efficace à la réalisation des analyses biochimiques.

Dédicaces

Je dédie mon modeste travail:

A la mémoire de ceux qui n'ont pas pu partager avec moi cet instant de bonheur et de joie ;

- ◆ A mon père et A ma mère que dieu les bénissent.

- ◆ A mon cher époux pour sa disponibilité son soutien moral et surtout sa patience.

- ◆ A mes très chers enfants: Amira, Yasser et Amani que j'adore.

- ◆ A toute la famille MAAMERI et HABIBATNI

- ◆ A toute l'équipe du laboratoire de recherche pharmacotoxicologie: Mesdames: Djaalab, Riachi, Serrakta, Bachtarzi Bellakssera, Kenana et Chari et Mesdemoiselles Halmi et Berroual, ainsi que Messieurs: Belkheri et Djerrou.

- ◆ A toutes mes amies: Ilhem, Mimi, Linda, Nacera, Malika et Karima.

- ◆ A tout le personnel administratif et technique de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Sommaire

Liste des figures.....	VII
Liste des tableaux.....	IX
Lexique des abréviations.....	X
Publications et communications scientifiques.....	XIII
Introduction.....	01

*Revue bibliographique***Chapitre 01: Caractérisation botanique et chimique de *Pistacia lentiscus L.***

1. Etude botanique de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	04
1.1. Taxonomie de la plante.....	04
1.2. Description de la plante.....	04
1.3. Répartition géographique de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	06
2. Etude chimique des dérivés de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	07
2.1. Résine.....	07
2.2. Huile essentielle.....	08
2.3. Huile végétale.....	10
3. Utilisation thérapeutique de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	11

Chapitre 2 : Propriétés pharmacologiques du miel

1. Généralités sur le miel.....	12
1.1. Définition légale.....	12
1.2. Formation et composition.....	12
1.2.1. Formation.....	12
1.2.2. Composition.....	13
2. Propriétés.....	17
2.1. Propriétés bactériennes.....	17
2.2. Propriétés cicatrisantes.....	18
2.3. Autres propriétés attribuées au miel.....	20

Chapitre 03 : Histopathologie de la peau et mécanisme de cicatrisation

1. Histopathologie de la peau.....	25
1.1. Epiderme.....	25
1.2. Derme.....	26
1.3. Hypoderme.....	26
1.4. Annexes cutanés.....	26
1.5. Fonctions de la peau.....	27
2. Brûlures.....	28
2.1. Classification.....	28
2.1.1. Brûlure du premier degré.....	28
2.1.2. Brûlure du deuxième degré.....	28
2.1.3. Brûlure du troisième degré.....	28
2.1.4. Facteurs déterminant la gravité d'une brûlure.....	30
3. Cicatrisation cutanée.....	30
3.1. Phase inflammatoire et formation de caillot.....	31
3.2. Phase de prolifération.....	33
3.3. Phase de remodelage.....	35
3.4. Facteurs néfastes sur la cicatrisation.....	36
3.5. Cicatrisation pathologique.....	37

Chapitre 04 : Données générales sur la toxicologie

1. Introduction.....	39
2. Procédures d'évaluation.....	39
2.1. Toxicité aiguë.....	40
2.2. Toxicité chronique.....	40
3. Les effets toxiques.....	40
3.1. Hépatotoxicité.....	40
3.1.1. Physiologie et anatomie du foie.....	40
3.1.2. Principales lésions hépatiques.....	42
3.1.3. Procédures d'évaluations.....	43
3.2. Néphrotoxicité.....	44
3.2.1. Physiologie et anatomie du rein.....	44
3.2.2. Structure du rein.....	45
3.2.3. Principales lésions rénales.....	46
3.2.4. Procédures d'évaluation.....	46

Etude expérimentale**1. Effet de l'huile de lentisque sur la cicatrisation des brûlures expérimentales chez le lapin**

1.1. Matériel et méthodes.....	48
1.1.1. Mesure des paramètres physico-chimiques de l'huile et du miel.....	48
1.1.2. Médicaments.....	49
1.1.3. Animaux et conditions d'hébergement.....	50
1.1.4. Protocole expérimental.....	50
1.1.5. Traitement et évaluation du processus de cicatriciel.....	53
1.1.6. Modifications cliniques et prise du poids corporel.....	53
1.1.7. Analyse statistique.....	53
1.2. Résultats.....	54
1.3. Discussion.....	59
1.4. Conclusion.....	62

2. Evaluation de l'effet hépato protecteur de l'huile de lentisque chez le rat

2.1. Matériel et méthodes.....	64
2.1.1. Animaux et conditions d'hébergement.....	64
2.1.2. Produits utilisés.....	64
2.1.3. Mode opératoire.....	64
2.1.4. Modifications cliniques et poids corporel.....	65
2.1.5. Analyse biochimique.....	66
2.1.6. Anatomie pathologique et histologie.....	66
2.1.7. Analyse statistique.....	66
2.2. Résultats.....	66
2.3. Discussion.....	73
2.4. Conclusion.....	75

3. Evaluation de la toxicité sub –chronique de l'huile de lentisque chez le lapin

3.1. Matériel et méthodes.....	76
3.1.1. Animaux et conditions d'hébergement.....	76
3.1.2. Médicaments.....	76
3.1.3. Mode opératoire.....	76
3.1.4. Analyse biochimique.....	77

3.1.5. Modifications cliniques et poids corporel.....	78
3.1.6. Anatomie pathologique et histologie.....	78
3.1.7. Analyse statistique.....	79
3.2. Résultats.....	79
3.3. Discussion.....	86
3.4. Conclusion.....	89
Conclusion générale.....	90
Références bibliographiques	
Résumés	

Liste des figures

Figure 1: Arbuste de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	5
Figure 2: Fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	5
Figure 3: Mastic de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	6
Figure 4: Distribution de 11 espèces de <i>Pistacia</i>	7
Figure 5: Composition moyenne du miel.....	13
Figure 6: Structure de la peau.....	25
Figure 7: Peau normale et peau blessée au premier degré.....	29
Figure 8: Peau normale et blessée au deuxième degré.....	29
Figure 9: Peau normale et peau blessée au troisième degré.....	30
Figure 10: Chronologie des différentes phases de la cicatrisation.....	31
Figure 11: Illustration de la phase d'inflammation.....	33
Figure 12: Illustration de la phase de prolifération.....	35
Figure 13: La phase de remodelage	36
Figure 14 : Fibrose chronique	38
Figure 15: Chéloïde.....	38
Figure 16: Tonte du dos d'un lapin avec une tondeuse électrique	51
Figure 17: Anesthésie locale en S/C avec la lidocaïne à 1%.....	51
Figure 18: Localisation des brûlures sur le dos de chaque lapin	51
Figure 19: Brûlure circulaire au premier jour de l'expérience.....	52
Figure 20: Marge d'une plaie tracée sur papier transparent.....	52
Figure 21: Prise du diamètre d'une brûlure avec le pied à coulisse	52
Figure 22: Développement du poids corporel des lapins (n = 8).....	56
Figure 23: Chronologie de la cicatrisation des plaies de brûlures dans le model lapin.....	58
Figure 24: Administration par voie orale de l'huile de lentisque.....	65
Figure 25: Comparaison du poids du foie du groupe témoin et les rats traités par voie orale à différentes doses de PLFO1 ,PLFO2 et CCl4	71
Figure 26: Comparaison du poids des reins du groupe témoin et les rats traités par voie orale à différentes doses de PLFO1, PLFO2 et CCl4.....	72

Figure 27: Comparaison du poids des poumons du groupe témoin et les rats traités par voie orale à différentes doses de PLFO1, PLFO2 et CCl4.....	72
Figure 28: Comparaison du poids de la rate du groupe témoin et les rats traités par voie orale à différentes doses de PLFO1, PLFO2 et CCl4.....	72
Figure 29: Comparaison du poids du cœur du groupe lot témoin et les rats traités par voie orale à différentes doses de PLFO1, PLFO2 et CCl4.....	73
Figure 30: Administration par voie orale de l'huile de lentisque.....	77
Figure 31: Prélèvement sanguin de la veine marginale de l'oreille d'un lapin.....	78
Figure 32: Micrographie du foie en coupe transversale.....	85
Figure 33: Micrographie des reins en coupe transversale.....	85

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Pistacia de lentiscus L.</i>	8
Tableau 2: Constituants majeur de l'huile essentielle de <i>Pistacia de lentiscus L.</i> de différentes origines.....	10
Tableau 3: Principaux sels minéraux et oligoélément présents dans le miel.....	15
Tableau 4: Les formes d'intoxication.....	39
Tableau 5: Détermination des paramètres physicochimiques de l'huile végétale de lentisque.....	48
Tableau 6: Détermination des paramètres physicochimiques du miel.....	49
Tableau 7: Paramètres physico- chimiques de l'huile végétale de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	54
Tableau 8: Paramètres physicochimiques du miel.....	55
Tableau 9: Modification du poids corporel des lapins.....	56
Tableau 10: Pourcentage de contraction des plaies à différents intervalles de temps de différents groupes traités.....	57
Tableau 11: Evolution du poids corporel des rats mâles <i>Wistar</i> traités à l'huile de lentisque et CCl4 comparés avec le lot témoin.....	67
Tableau 12: Paramètres biochimiques des rats mâles <i>Wistar</i> traités à l'huile de lentisque et CCl4 comparés avec le lot témoin.....	69
Tableau 13: Poids des organes des rats mâles <i>Wistar</i> traités à l'huile de lentisque et CCl4 comparés avec le lot témoin.....	70
Tableau 14: Poids corporel des lapins Néo-Zélandais mâles traités à l'huile de lentisque à différentes doses par voie orale.....	80
Tableau 15: L'aspartate amino transférase ASAT (UI/L) des lapins Néo-Zélandais mâles traités à l'huile de lentisque à différentes doses par voie orale.....	81
Tableau 16: L'alanine amino transférase ALAT (UI/L) des lapins Néo-Zélandais mâles traités à l'huile de lentisque à différentes doses par voie orale.....	82
Tableau 17: Glycémie des lapins Néo-Zélandais mâles traités à l'huile de lentisque à différentes doses par voie orale.....	82
Tableau 18: La créatinine des lapins Néo-Zélandais mâles traités à l'huile de lentisque à différentes doses par voie orale.....	83
Tableau 19: L'urée des lapins Néo-Zélandais mâles traités à l'huile de lentisque à différentes doses par voie orale.....	83
Tableau 20: Poids des organes des lapins Néo-Zélandais mâles traités à l'huile de lentisque à différentes doses par voie orale.....	84

Lexique des abréviations

ALAT: Alanine Amino Transférase

A L P: Phosphatase alcaline

ASAT: Aspartate Amino Transférase

°C: Degré Celsius

CCl₃: Trichlorométhyl

CCl₄ : Tétrachlorure de carbone

Cm: Centimètre

Crea : Créatinine

CRL: Control(Témoin)

CTL: Cicatryl®

CSF1: Colony Stimulating Factor 1

DL: Décilitre

DL50: Dose Létale 50

EGF: Epidermalgrowth factor

g: Gramme

GC-MS: Gas chromatography-spectrometry

Glu: Glucose

Gly: Glycémie

h: Heure

FGF: Fibroblast growth factor

IGF: Insulin-like growth factor

IL: Interleukines

IM: Intramusculaire

j : Jour

J.O: Journal Officiel de la république française

Kg: Kilogramme

KGF: Kiratinocyte growth factor

l: Litre

m: Mètre

MCP1: Monocyte chemoattractant protein-1

mg: Milligramme

ml: Millilitre

M L: Miel

mm: Millimètre

MMP-1: Matrix metallopeptidase 1

mn: Minute

MN: Moyenne

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PA: Acide phosphatidique

PDGF: Platelet Derivated Growth Factor

PE: Phosphatidyléthanolamine

PG: Phosphatidylglycérol

PI: Phosphatidylinositol

PL: Glycérophospholipides

PLFO: Fatty oil *Pistacia lentiscus L.*

RI: Indice de rétention

UI: Unité Internationale

t: Trace

TNF: Tumor necrosis factor

TGF alpha: Transforming growth factor alpha

TGF beta: Transforming growth factor beta

TGO: Transaminase glutamique oxaloacétique

TGP: Transaminase glutamique pyruvate

S/C: Sous cutanée

Var: Variance

VEGF: Vascular endothelial growth factor

VLD: Very Low Density Lipoprotein

V/V: Volume/Volume

Vs : Versus

% : Pourcent

Publications

1. **Z. Maameri.**,K. Beroual.,Z. Djerrou.,S. Habibatni.,B. Benlaksira.,M. Serrakta.,H. Mansour -Djaalab.,F. Kahlouche-Riachi.,K. Bachtarzi.,Y. Hamdi-Pacha.(2012).Preliminary study to assess cicatrizing activity of honey and *Pistacia lentiscus* fatty oil mixture on experimental burns in rabbits. *Int. J. Med. Arom. Plants*.Vol. 2, No. 3, pp. X-Y.
2. Djerrou,Z.,**Maameri,Z.**,HamdiPacha,Y.,Serakta,M.,Riachi,F.,Djaalab,H .Boukeloua,A. (2010),Effect of virgin fatty oil of *Pistacia lentiscus* on experimental burn wound's healing in rabbits, *Afr. J. Trad. CAM*. 7(3): 258-263.
3. Djerrou,Z.,HamdiPacha,Y.,Belkhiri,A.M.,Djaalab,H.,Riachi,F.,Serakta,M.,Boukeloua A., **Maameri, Z.** 2011. Evaluation of *Pistacia lentiscus* fatty oil effects on glycemic index, liver functions and kidney functions of New Zealand rabbits. *Afr. J. Tradit Complement Altern Med*. 8(S): 214-219.
4. Zouhir. Djerrou, C. Bensari, K. Bachtarzi, H. Djaalab, F. Riachi, **Z. Maameri**, Y. Hamdi Pacha. 2013. Safety and effecacy of *Pistacia lentiscus* L. fruit's fatty oil for the treatment of dermal burns: A synthesis report. *Int. J. Med. Arom. Plants*.Vol.3, No.4, pp. 464-469.

Communications scientifiques

1. Z.Djerrou.,Y.Hamdi-pacha., A.Belkhiri.,**Z.Maameri.**, M.Serrakta., F.Riachi., H.Djaalab., D. Kraouchi., A.Boukeloua., T. Moulahoum(2010). Evaluation de l'activité cicatrisante de l'huile de lentisque suite à des brûlures expérimentales chez le lapin Néo-Zélandais. *The first Conference on Natural Health, Mostaganem, Algeria, 7th-9th 2010*.
2. **Maameri.Z.**,Habibatni.S.,Djerrou.Z.,Berroual.K.,Djaalab.H.,Riachi.F.,Serrakta.M.,Hamdi Pacha.Y. (2010). Etude comparative de cicatrisation entre l'huile de *Pistacia lentiscus* et le Miel. *Séminaire International de Biologie Végétale et Ecologie, Constantine: 22-25 Novembre 2010*.
3. **Maameri.Z.**,HamdiPacha.Y., Belkheri.A.,Serrakta.A.,Kahlouche.F.,Djaalab.H.(2010). Effet toxicologique de quelques préparations à base de plantes. *The first Conference on Natural Health, Mostaganem, Algeria, 7th-9th 2010*.

4. **Maameri.Z.**,Beroual.K.,HamdiPacha.Y. ,Djerrou.Z.,Serrakta.M.,Kahlouche.F.,Djaalab.H(2011). Etude de l'effet toxicologique d'un onguent à base de plantes. *3^{ème} Journée Nationale d'asthomologie d'allergologie et de tabacologie , Batna ,2011.*
5. **Maameri.Z.**,HamdiPacha.Y,Belkheri.A,Serrakta.A,Khahlouche..F,Djaalab.H,Boukeloua.A.(2011). Etude de l'innocuité d'une préparation topique à base d'ingrédients actifs naturels réalisée sur animal (Lapin albinos). *V^{ème} Journée Internationale de FMC de l'association science & vie des médecins de la wilaya de Constantine, le 30 avril 2011.*
6. **Maameri.Z** ,Beroual.K,Bensaci.S,Djerrou.Z,Bachtarzi.K,HamdiPacha.Y.(2011). Appréciation de l'effet toxicologique d'une préparation à base de plantes sur les paramètres biochimiques. *9^{ème} Journées Nationale de pharmacie, 09 juin 2011, Batna, Algérie.*
7. **Maameri.Z.**,Beroual.K,Bensaci.S,Djerrou.Z,Bachtarzi.K and Hamdi-Pacha.Y.(2011). In vivo Evaluation of the Biological Activity of a Preparation Containing Plants in New Zeland Rabbits. *Mediterranean Conference on Natural Products (MCNP'2011) that place on October 9-10th, 2011 at Tipaza- Algeria.*
8. Habibatni.S,**Maameri.Z.**,FernandaTaviano.M,Miceli.N,Benayeche.S,Atrouz.D,Benayeche.F,DePasqual.R.(2012). Propriet a Antioxidanti di *Spartium junceum* L. *Congress Interdisciplinare Sulte. Plante Medicinali UNIVERSITA' DELLA CALABRIA, 2012.*
9. Bachtarzi.K,HamdiPacha.Y,Djaalab.H,Kahlouche.F,Djerrou.Z,**Maameri.Z.**,Halimi.S.(2012). Phytothérapie et Hépatotoxicité, Toxicitésubaigue de l'extrait aqueux du *teucrium polium* chez les rats. *Journées Internationales, Substances Naturelles et Développement Durable, 22 et 23 juin 2012 à la Faculté des Sciences Rabat, Maroc.*
10. **Maameri.Z.**,Habibatni.S.,Djerrou.Z.,Halimi.S.,Berroual.K.,Djaalab.H.,Riachi.F.,HamdiPach.Y. Evaluation de l'activité cicatrisante d'un mélange de miel et de l'huile grasse de *Pistacia lentiscus* sur les brûlures expérimentales chez le lapin. *VI^{ème} Journées internationales de formation médicale continue, le 7 et 8 Novembre 2012 à la Faculté de Médecine de Constantine, Algérie.*
11. **Maameri. Z.**, Djerrou. Z., Bachtarzi.K., Halimi. S., Beroual. K., Hamdi Pacha. Y. Etude du processus cicatriciel de l'huile de lentisque et du miel suite à des brûlures expérimentales chez le lapin Neozélandais. *Nutrition & Santé, 1^{er} Congrès Internationalde la SAN, CI-SAN 2012, Oran, 05 – 06 décembre 2012.*

Introduction

INTRODUCTION

Depuis la nuit des temps, les hommes ont toujours utilisé les plantes pour se soigner, se nourrir, se parer. La plante est certainement le premier médicament utilisé par l'homme (Catier et Roux, 2007).

Ainsi que pour les produits de la ruche, qui ont été utilisés par les égyptiens à des fins médicinales, en leur attribuant de nombreux pouvoirs thérapeutiques, souvent liés à des valeurs spirituelles et sacrées.

Le miel a été utilisé pour ses propriétés médicinales dans de nombreuses cultures, depuis les anciens temps (Jull et *al.*, 2008). Selon Al-Mamary et *al.*, (2002), le miel a été rapporté comme étant efficace pour le traitement des troubles gastro-intestinaux, la cicatrisation des plaies et brûlures, de fournir une protection contre les lésions gastriques aiguës et chroniques et comme agent antimicrobien. Le miel est principalement composé d'eau et de glucides.

Il contient également des traces de plusieurs minéraux et vitamines, comme, la niacine, calcium, cuivre, riboflavine, fer, magnésium, potassium et le zinc. Le miel contient aussi un mélange de flavonoïdes et des acides phénoliques (Sampath Kumar et *al.*, 2010).

Le traitement des plaies par le miel est utilisé depuis longtemps à travers le monde. Les soins locaux à base du miel, effectués sur les plaies de toute nature, l'efficacité de ce produit a été testée. Les résultats sont appréciables (Ndayisaba et *al.*, 1992; Attipou et *al.*, 1998).

Pistacia lentiscus L. (Anacardiacees) est un arbrisseau très dense, avec forte odeur caractéristique et des feuilles vertes, poussant dans de nombreux pays méditerranéens (Zrira et *al.*, 2003). En Algérie on le trouve sur tout type de sol, subhumide et semi-aride et dispersé tout au long du littoral et se développe dans divers habitats le long d'un gradient climatique qui varie suivant le rayonnement solaire, température et précipitation (Saadoun, 2005; Ait said et *al.*, 2011).

L'huile essentielle et la gomme de cette plante ont été largement utilisées comme aliment et boissons additifs par les médecines traditionnelles de la région méditerranéennes depuis les anciens temps comme les Grecs et les Egyptiens, sans aucune toxicité rapportée chez l'humain (Loutrari et *al.*, 2006; Ghalem et Mohamed, 2009).

L'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* est une huile comestible extraite des fruits de cette plante. En Algérie, cette huile est utilisée par la population dans la médecine traditionnelle comme anti-diarrhéique (Trabelsi et *al.*, 2012), elle est recommandée pour les diabétiques, traitement des douleurs d'estomac et dans le cas de la circoncision (Hmimsa, 2004) et les douleurs du dos (Bellakhdar, 1997), est aussi largement utilisée dans le traitement des troubles respiratoires et brûlures dermiques dans la médecine populaire algérienne (Djerrou et *al.*, 2011).

Testée scientifiquement, l'huile a montré une activité cicatrisante réelle sur les brûlures expérimentales chez le modèle lapin, en diminuant la phase inflammatoire, en favorisant la contraction des plaies et en réduisant la période d'épithélialisation (Djerrou et *al.*, 2010), ainsi que sa fraction insaponifiable (Boulebda et *al.*, 2009).

En dépit de l'utilisation populaire de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* l'évaluation systématique des effets toxiques est absente, l'information sur la toxicité de cette plante est très importante comme point de référence avant d'explorer, de continuer à la développer comme nouveau médicament à base d'herbe (Tahraoui et *al.*, 2010; Harizal et *al.*, 2010).

Dans ce travail, l'intérêt est de prouver scientifiquement les effets pharmacologiques observés dans la médecine traditionnelle de *Pistacia lentiscus L.*, par des essais pré cliniques chez les animaux de laboratoires (lapins et rats).

Le travail est scindé en deux grandes parties :

- La première consiste en une revue bibliographique dans laquelle sont détaillés les chapitres suivants :
 - Caractérisation botanique et chimique de *Pistacia lentiscus L.*
 - Propriétés pharmacologiques du miel.
 - Histopathologie de la peau et mécanisme de la cicatrisation.
 - Données générales sur la toxicologie.

- La deuxième partie est une étude expérimentale, composée de quatre volets :
 - Le premier ; détermination des paramètres physico-chimiques de l'huile de lentisque et du miel.
 - Le deuxième pharmacologique dans lequel l'activité cicatrisante du mélange (miel + huile de lentisque) a été évaluée chez le lapin Néo-Zélandais.
 - Le troisième pharmacologique aussi dans lequel l'effet hépatoprotecteur de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* a été évalué chez le rat *Wistar*.
 - Le quatrième toxicologique comporte une étude de la toxicité sub-chronique de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* chez le lapin Néo-Zélandais.

- Une conclusion générale, avec les références bibliographiques et une partie des annexes clôturent ce manuscrit.

Revue bibliographique

Revue bibliographique

Chapitre 1

Caractérisation botanique et chimique de *Pistacia lentiscus L.*

1. Etude botanique

1.1. Taxonomie

Originnaire du bassin méditerranéen, le lentisque pousse à l'état sauvage dans la garrigue et sur les sols en friche C'est une plante de la famille des *Anacardiaceae* (Isserin, 2007). La classification de cette plante est la suivante : D'après Linné (L., 1753)

- Règne : Végétal
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Sapindales
- Famille : Anacardiaceae
- Genre : Pistacia
 - Nom latin : *Pistacia lentiscus*
 - Nom vernaculaire : Derou (la petite kabylie)(<http://www.cndr.dz/newDB/index.php>) [consulté le 29/10/2012].

1.2. Description

Cet arbrisseau de 1 à 3 mètres de hauteur, est courant en sites arides de la région méditerranéenne (de l'Asie, l'Europe, l'Afrique, jusqu'aux Canaries) (figure1) (Belakhdar, 2003).

- Les feuilles de ce petit ligneux sont persistantes, paripennées, avec 4 à 10 folioles elliptiques, coriaces et luisantes et le pétiole est nettement ailé. On trouve des pieds mâles et femelles distincts (espèce dioïque) qui fleurissent en grappes denses en mois de Mai (Hans, 2007).
- Les fleurs, brunâtres, constituent des denses grappes spiciformes. Elles sont à l'origine de petites drupes rouges, puis noires à maturité, subglobuleuses (Boullard, 2001). On différencie les fleurs femelles des fleurs mâles grâce à leur couleur, vert jaunâtre pour les femelles et rouge foncé pour les mâles.
Les fleurs mâles et femelles poussent sur des arbustes différents, les mâles ont 5 petits sépales dont émergent 5 étamines rougeâtres reposant sur un disque

nectarifère. Les femelles, à 3 ou 4 sépales a un ovaire supère avec un style court à 3 stigmates. Floraison de Mars à Mai (Belfadel, 2009).

- Fruit : Est une baie globuleuse (de 2 à 3 mm), monosperme, remplie par nucléole de la même forme; d'abord rouge, il devient brunâtre à sa maturité, qui est complète à l'automne (figure 2).
- Mastic : Si l'on incise le tronc de ce végétal, il s'en écoule un suc résineux nommé mastic qui, une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie (figure3) (Belfadel, 2009).



Figure 1: Arbuste de *Pistacia lentiscus* L.
([http:// fr.wikipedia.org/wiki/ Pistacia _ lentiscus](http://fr.wikipedia.org/wiki/Pistacia_lentiscus))[Consulté le 20/10/2012].



Figure 2: Fruits de *Pistacia lentiscus* L.
([http:// fr.wikipedia.org/wiki/ Pistacia _ lentiscus](http://fr.wikipedia.org/wiki/Pistacia_lentiscus)) [Consulté le 20/10/2012].



Figure 3: Mastic de *Pistacia lentiscus* L
[http:// en wikipedia.org/ wiki/Mastic _ \(plant _ resin\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Mastic_(plant_resin)) [Consulté le 20/10/2012].

1.3. Répartition géographique

Pistacia lentiscus L. est un arbuste dioïque d'origine méditerranéenne, résineux et aromatique à croissance très lente, très répandu dans les garrigues, maquis, versants rocaillieux secs, clairières et bois clairs, sur tout types de sol. Dans tout le bassin méditerranéen. En France, contrairement au pistachier térébinthe, le pistachier lentisque ne quitte pas la zone méditerranéenne et s'éloigne peu du littoral, sauf dans quelques vallons chauds. Il est très répandu en Corse. Avec l'olivier sauvage, la myrte et la salsepareille, il constitue une fourré impénétrable qui est une formation typiquement méditerranéenne, mais qui est très combustible (Polese, 2010).

Selon Thingshuang et al (2008), la distribution des 11 espèces de *Pistacia* est illustrée dans la figure ci-dessous:

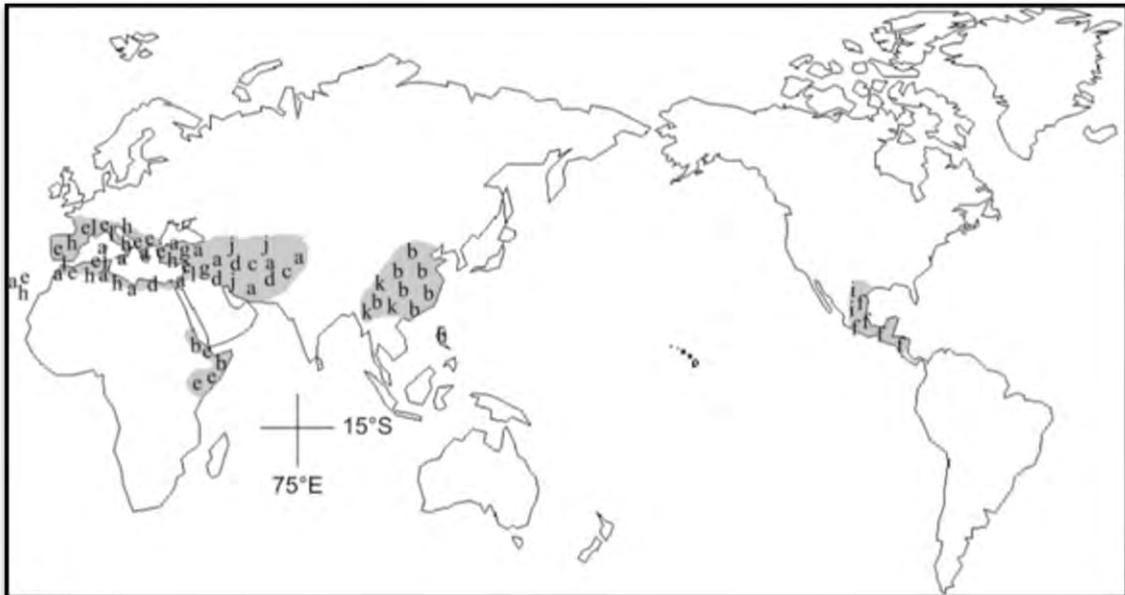


Figure 4: Distribution des 11 espèces de *Pistacia*: a = *P. atlantica*, b = *P. chinensis*, c = *P. integerrima*, d = *P. khinjuk*, e = *P. lentiscus*, f = *P. mexicana*, g = *P. palaestina*, h = *P. terebinthus*, i = *P. texana*, j = *P. vera*, k = *P. weinmannifolia*, l = *P. saportae* (Thingshuang et al ., 2008).

2. Etude chimique

2.1. Résine

La récolte du mastic s'effectue par incision du tronc d'une des variétés, var, chia D.C, dite« de chio »: on obtient ainsi la sécrétion du mastic, issu des canaux à résine du liber : ce mastic s'écoule en larmes jaune pâle, de quelque millimètres de diamètre, dures et brillantes, mais se ramollissant par mastication; ce mastic est d'odeur balsamique et de saveur térébenthinée (Ait youcef, 2006).

Le mastic renferme 1à 3% d'huile essentielle (riche en pinène); il est surtout constitué par une résine: ester d'un alcool triterpénique et d'acides triterpénique (l'acide masti-codiénique et d'acide oléanolique). Il était réputé dans l'antiquité et s'agirait du premier masticatoire connu. Ce topique cutané est également antiseptique, ceci justifie son emploi comme cicatrisant, notamment pour les soins de plaies cutanées (Ait youcef, 2006).

Egypte, la résine du lentisque était utilisée pour embaumer les morts. On l'employa par la suite comme calmant et analgésique, mais aussi comme remède carminatif et diurétique; on l'appliquait sur les eczémas, les furoncles et autres affections cutanées, et en pansement sur les dents cariées (Verlagsellschaft, 2007; Dietrich et al., 2009; Lamendin, 2008). La résine serait efficace contre les affections bronchiques, la toux et la diarrhée (Isserin, 2007).

2.2. Huile essentielle

Les huiles essentielles sont des substances obtenues à partir de plantes, par entraînement à la vapeur d'eau, par hydro distillation ou par expression. Une huile essentielle est composée de plusieurs constituants aromatiques plus ou moins volatils qui appartiennent aux différentes classes de la chimie organique: hydrocarbures (composés terpéniques), alcools (géraniol), aldéhydes (citral) (Billerberck et al., 2002).

L'huile essentielle des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* contient β -caryophylline (31,38%), germaerene (12,05%) et γ -cadinène (6,48%). Hydrodistillation d'huile à partir des feuilles a été analysée par GC-MS et contient le α -pinène, le γ -terpène et de terpène-4-ol. (Nahida et al., 2012).

Tableau 1 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus L.* (Amhamdi et al., 2009).

RI	Composés	% Composition
915	Tricyclene	0.1
928	α -Pinene	2.9
943	Camphene	0.5
971	β -Pinene	2.2
991	Myrcene	39.2
999	α -Phellandrene	0.2
1014	α -Terpinene	0.5
1023	Unknown	0.2
1029	Limonene	10.3
1047	Trans- β -Ocimene	0.6
1058	Γ -Terpinene	0.7
1086	Terpinolene	0.5
1098	Linalol	0.7

1120	Allo-Ocimene	t
1139	Camphor	0.1
1179	Terpineol-	4 1.6
1192	α -Terpineol	0.1
1226	β -Cyclocitral	t
1282	Vitispirane	0.1
1286	Bornylacetate	t
1290	2-Undecanone	0.5
1352	α -Cubebene	0.1
1381	α \acute{R} Copaene	0.7
1390	β -Bourbonene	0.1
1395	β -Elemene	1.0
1403	Methyleugenol	t
1429	β -Gurjunene	7.8
1438	Epi- Bicyclosesquiphellandrene	2.5
1463	α \acute{R} Humulene	2.6
1484	α -Amorphene	1.3
1491	Germacrene D	4 3
1507	α -Muurolene	2.7
1521	Γ -Cadinene	0.3
1530	Δ -Cadinene	2.5
1544	α -Cadinene	0.1
1554	Elemicin	0.1
1562	Nerolidol	0.2
1630	Fonenol	0.2
1664	T-Cadinol	1.2
1767	Benzyl benzoate	0.1

RI: retention indices on HP-5 capillary column. t : trace < 0.1%

Tableau 2 : Constituants majeurs de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus L.* de différentes origines (Amhamdi et al., 2009).

Origines	Chémotype
Maroc (Tafoghalt), Maroc, Algérie, Italie (Sicily), France (Corsica) and Espagne	myrcène
Maroc (Oulmes), Algérie, Tunisie, Grèce, Italie, Espagne et France (Corsica)	α -pinène
Maroc (Chaoun, Mehdiya), Algérie, Turquie et France (Corsica)	terpinène-4-ol
Algérie et France (Corsica)	limonène
Algérie	longifolène
Italie (Sardinia) et Algérie	β -caryophellène
Egypte	d-3-carène

2.3. Huile végétale

L'huile des fruits est extraite par ébullition (dans l'eau) de la poudre des fruits ou de la poudre de leurs graines; ils sont d'abord pilés, réduits en poudre, triturés ; l'huile se sépare ensuite de l'eau en montant à la surface (Ait youcef ,2006).

Selon Trabelsi et al (2012), la composition chimique en acides gras des huiles végétales obtenues à partir des baies de *Pistacia lentiscus L.* récoltées en Tunisie sont : l'acide oléique, suivi par l'acide palmitique et linoléique. D'autres acides sont présents dans des proportions de trace telle que palmitoléique, stéarique, linoléique, acides arachidique et gadoleique. Dans toutes les étapes de maturation seulement quatre stérols ont été identifiés et quantifiés β -sitostérol a été le principal, suivis par campestérol. Le cholestérol et stigmastérol ont été détectés en quantité infimes.

Une étude récente a été réalisée sur trois populations de fruits de *Pistacia lentiscus L.* et qui a montré quatre classes de glycérophospholipides (PL) : Acide phosphatidique (PA), la phosphatidyléthanolamine (PE), le phosphatidylglycérol (PG), phosphatidylinositol (PI). En concluant que les espèces moléculaire prédominante de glycérophospholipides (PL) sont ceux contenant des acides gras C16:0 (acide palmitique), C18:1 (acide oleique), C18:2 (acide

linoléique) et les espèces mineures sont ceux contenant C18:0 (acide stéarique) et C18: 3 (acide linolenique) (Trabelsi et *al.*, 2013).

3. Utilisation thérapeutique

Le lentisque est utilisé, traditionnellement, sous forme de :

- Poudre, ou décoction, d'écorce et de feuilles pour guérir les troubles gastro-intestinaux, traitement de l'eczéma, la diarrhée et les infections de la gorge, et comme un puissant antiulcéreux (Kivçak et Akay, 2005).
- Décoction de feuilles tenues pour diurétiques et emménagogues.
- Huile extraite des fruits, servant de liniment en cas de douleurs dorsales, conseillé pour les diabétiques, pour le traitement des douleurs d'estomac et en cas de circoncision (Hmimsa, 2004). En plus, elle est utilisée comme un remède d'application locale externe sous forme d'onguent pour soigner les brûlures (Bensegueni et *al.*, 2007).
- Résine, aux vertus calmantes et emménagogues. Cette résine(ou « mastic ») est très appréciée en chine où on la tient, en outre, pour astringente, carminative, diurétique, tonique même, et recommandée en cas de gonorrhée ou de spermatorrhée (Boullard, 2001 ; Belfadel, 2009).

Chapitre 2

Propriétés pharmacologiques du miel

1. Généralités

Le miel est défini comme une substance «substance sirupeuse et sucrée, de couleur ambrée, que les abeilles élaborent dans leur jabot avec le nectar des fleurs ou d'autres matières végétales, et qu'elles dégorgent dans les alvéoles des rayons pour la nourriture de leur communauté».

Le mot «miel» est issu du latin *mel*, *mellis* qui signifie «miel» et «douceur» apparenté au grec *meli*, *melitos* ainsi qu'au gothique *milith*. Le miel est ainsi étroitement lié à la notion de douceur, autant dans la littérature que dans l'esprit du consommateur (Joshi et al., 2000).

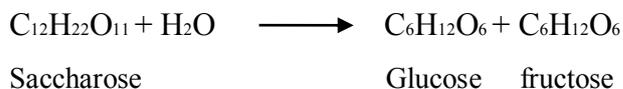
1.1. Définition légale

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles "Apismellifera" à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et murir dans les rayons de la ruche (Codex, 2010).

1.2. Formation et composition

1.2.1. Formation

Selon Gonnet et Vache (1987), le miel est produit par les abeilles selon le processus suivant: le nectar est prélevé par les abeilles butineuses, qu'elles emmagasinent dans leur jabot avec la salive, elles transforment le saccharose en sucre simple (fructose, glucose) selon la réaction chimique suivante sous l'action de Gluco-invertase:



En même temps, les abeilles réduisent la teneur en eau de la solution sucrée à un taux avoisinant 50%, de retour à la ruche, les butineuses transfèrent leurs récoltes à des ouvrières d'intérieur, ces dernières par régurgitations successives complètent et terminent la transformation commencée. Puis, vont dégorgent ce liquide sur des grandes surfaces dans des alvéoles disponibles sur les rayons de cire.

La solution sucrée transformée, contenant encore environ 50% d'eau, va subir une nouvelle concentration par l'évaporation, qui s'effectue sous le double influence d'une part, de

la chaleur régnant dans la ruche qui est de l'ordre de 36 à 37 °C, d'autre part, par la ventilation qui est assurée par les abeilles ventileuses, en créant un puissant courant d'air ascendant dans la ruche par un mouvement très rapide des ailes. Au bout de quelques jours, cette solution contiendra en moyen 18% d'eau, et 80% des sucres. Cette solution représente le miel stocké dans les cellules. Ces dernières, une fois remplies, sont cachetées par un mince opercule de cire, permettant une excellente conservation (Donnadieu, 1984; Gonnet et vache, 1987).

1.2.2. Composition

1.2.2.1. Analyse chimique

Le miel est un produit très complexe dont la fabrication demande plusieurs étapes qui toutes ont une influence sur sa composition chimique finale. En effet, la composition qualitative de ce produit est soumise à de nombreux facteurs très variables qu'il est impossible de maîtriser tels que : la nature de la flore visitée et celle du sol sur le quel poussent ces plantes, les conditions météorologiques lors de la miellée, la race des abeilles, l'état physiologique de la colonie.

La composition moyenne du miel est la suivante :-Hydrates de carbones (sous forme de sucres divers) :79,5% -Eau : 17% -et Autres : 3.5%. Il est évident qu'en réalité, cette composition est beaucoup plus complexe (Bruneau, 2002).

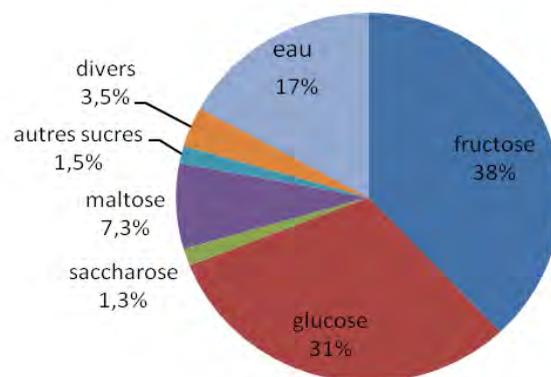


Figure 5: Composition moyenne du miel (Bruneau, 2002).

Les caractéristiques légales de la composition d'un miel destinée à la consommation humaine sont les suivantes:

a. Eau

La teneur en eau varie entre 14 et 25% selon les miels. L'humidité du miel favorisant sa fermentation, pour qu'un miel de fleurs se conserve plus de 2ans, il ne faut pas que sa teneur en eau dépasse 18%. Le législateur a fixé une limite à 20% d'humidité pour la

majorité des miels, à l'exception des miels suivants: 23% d'humidité pour le miel de bruyère *Calluna* destiné à la consommation directe, 23% d'humidité pour les miels destinés à l'industrie, à l'exception du miel de bruyère *Calluna* destinée à l'industrie dont le taux d'humidité peut atteindre 25% (Décret n° 2003-587 du juin 2003).

b. Glucides

Selon les miels les glucides représentent 95 à 99% de la matière sèche. La majorité sont des sucres simples dont le glucose et le fructose qui constituent 85 à 95% des sucres totaux. De nombreux autres sont également présent, leur proportion variant d'un miel à l'autre: maltose, isomaltose, turanose, nigerose (Ballot, 2009).

La proportion des différents sucres présents dans un miel est très aléatoire. Elle dépend, en effet, directement du type de fleurs butinées par les abeilles (Louveau, 1968). Les nectars de ces fleurs sont caractérisés par leur ratio saccharose / (glucose +fructose), qui est constant au sein d'une espèce mais varie grandement d'une espèce à l'autre. Il est par conséquent impossible d'obtenir deux fois le même miel sur le même site, lors de deux récoltes différentes de la même année sur l'autre (Adler ,2000).

c. Les acides organiques

La plupart des acides organiques du miel proviennent des nectars des fleurs ou des transformations opérées par l'abeille. C'est l'acide gluconique dérivé du glucose qui prédomine. On y trouve également une vingtaine d'acides organiques comme l'acide acétique, l'acide citrique, acide lactique, l'acide malique, l'acide oxalique, l'acide butyrique, l'acide pyroglutamique et l'acide succinique. Des traces d'acide formique, d'acide chlorhydrique et d'acide phosphorique sont aussi présentes. D'autres composés, les lactones, dont la présence est constante, ont également une fonction acide. Le pH peut varier de 3.2 à 4.5 mais il est en moyenne de 3.9 (Pham-Délègue, 1999).

d. Les acides aminés et protéines

Ils sont présents en faible quantité dans le miel (0.26%) et la teneur en azote est négligeable, de l'ordre de 0.041%. Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines qui proviennent soit de la plante (nectars, grains de pollen), soit de sécrétions de l'abeille. Il y a également des traces d'acides aminés comme la proline, la trypsine, l'histidine, l'alanine, la glycine, la méthionine. La proline est le plus abondant des

acides aminés du miel. La quantité de proline donne une indication sur la qualité du miel, et elle ne doit pas être inférieure à 183 mg/Kg ((Meda et al., 2005).

e. Les sels minéraux

Les matières minérales ne sont présentes qu'à un taux d'environ 0.1% dans les miels courants, mais sont plus abondantes dans les miels foncés. Les sels de potassium représentent près de la moitié des matières minérales, mais on trouve également du calcium, du sodium, du magnésium, du cuivre, du chlore, du soufre, du silium, du fer ainsi que plus de trente oligo-éléments. Leur teneur dépend des plantes visitées par les abeilles ainsi que du type de sol sur lequel elles poussent. Bien qu'habituellement considéré comme un produit relativement «propre», le miel peut contenir des polluants présents en très faible quantité, comme le plomb et le cadmium. Le dosage de ces polluants constitue un bon indicateur de la pollution de l'environnement (tableau 3) (<http://www.produitsapicoles23Amiel.fr>[Consulté le 05/01/2013]

Tableau 3: Principaux sels minéraux et oligo-éléments présents dans le miel (<http://www.produitsapicoles23Amiel.fr>[Consulté le 05/01/2013]

	mg/kg		mg/kg
Potassium	200 à 1500	Manganèse	0,2 à 10
Sodium	16 à 170	Chrome	0,1 à 0,3
Calcium	40 à 300	Cobalt	0,01 à 0,5
Magnésium	7 à 130	Nickel	0,3 à 1,3
Fer	0,3 à 40	Aluminium	3 à 60
Zinc	0,5 à 20	Cuivre	0,2 à 6,0
Plomb	0,02 à 0,8	Cadmium	0,005 à 0,15

f. Les enzymes

Les enzymes contenues dans le miel sont de deux origines: végétale et animale. Le nectar contient des enzymes produites par les nectaires de la plante. Les abeilles y ajoutent des enzymes provenant de leurs glandes salivaires.

Deux enzymes sont étudiées plus particulièrement: l'invertase, qui provoque scission du saccharose en fructose et glucose, et l'amylase (couramment appelée diastase), qui

provoque la dégradation de l'amidon en dextrine puis en maltose. On trouve également une catalase, une phosphatase et une glucose-oxydase. Cette dernière transforme le glucose en acide gluconique, principal acide du miel (Jeffrey et Echazarreta, 1996).

f. Les vitamines

Le miel ne contient que très peu de vitamines. Les vitamines liposolubles (vitamines A et D) en sont absentes. Mais on trouve des vitamines du groupe B provenant des grains de pollen en suspension dans le miel. Il s'agit de la thiamine B1, de la riboflavine B2, de la pyridoxine, de l'acide pantothénique, de l'acide nicotinique B3, de la biotine et de l'acide folique. On trouve également de la vitamine C, provenant le plus souvent du nectar des menthes. Les vitamines du miel sont d'autant mieux conservées que le pH est faible (Ballot, 2009).

1.2.2.2. Propriétés physiques

Le miel présente selon l'origine de la plante à partir de laquelle il a été fabriqué, et selon la composition de ses sucres, des caractéristiques physico-chimiques particulières.

a. La densité

La densité, c'est-à-dire le rapport de la masse d'un miel avec le même volume d'eau, se détermine au pèse sirop ou au densimètre. La valeur moyenne de la densité du miel est de 1,4225 à 20°C (Garcia, 1986).

b. La viscosité

La viscosité se définit comme la résistance à l'écoulement d'une substance. Dans le cas du miel, elle dépend de sa teneur en eau, de sa composition chimique et de sa température. La plupart des miels se comportent comme des liquides newtoniens (il n'y a pas de résistance à l'écoulement); toutefois il existe des exceptions notamment pour certains miels qui ont une composition particulière (Garcia, 1986).

2. Propriétés

2.1. Propriétés antibactériennes

Depuis que les hommes élèvent des abeilles, ils se sont servis d'une manière empirique des produits de la ruche pour un grand nombre d'utilisations autres que leur nourriture: du miel et de la propolis par exemple comme substances antiseptiques, antiputrides ou antigermes. Ces usages courants en médecine humaine jusqu'à nos jours se retrouvent parfois dans la thérapeutique moderne, par exemple pour la cicatrisation des plaies. Dans de très nombreux pays, on considère encore le miel à l'heure actuelle plus comme un médicament que comme aliment. Cependant jusqu'au début de XX^e siècle tous ces usages étaient strictement empiriques c'est White qui, le premier en 1906 a montré que l'intérieur de la colonie d'abeille a été à peu près dépourvu de micro-organismes.

Après White, il s'agit des recherches de Dold et Coll qui démontrent la présence dans le miel d'un facteur anti-bactérien : « l'inhibine ». Au cours de cette période (1947 à 1949) de nombreux travaux de base, sur le sujet commencent à être publiés. Pavan en 1948 exécute les premières recherches importantes sur les antibiotiques d'origine animale en particulier chez « *Apis mellifica* ». Le travail le plus marquant au point de vue apicole à cette époque est celui de Smith, Beck et Anderson, en 1949 qui ont étudié dans le pollen récolté par l'abeille une substance accélératrice de la sporulation chez *Bacillus larvea* (Chauvin, 1968).

Il est à noter que le pouvoir bactéricide varie d'un miel à un autre. Ainsi Buchner (1969) a montré que le miel du châtaignier, *Pinus pinea* et *Abies alba* avait un très fort pouvoir bactéricide sur *Staphylococcus pyogène aureus*, même dilué tandis que les miels de Pissenlit et de Bruyère avaient un pouvoir bactéricide moyen sur ce même staphylocoque. Le miel peut être fongicide ou fongistatique, ainsi *Aspergillus flavus*, moisissure qui dans certaines conditions, se développe sur les noix, entre autres les pistaches et les arachides et produit l'aflatoxine, corps connu comme cancérigène, ne se développe pas en présence de miel (Jean Marie, 1999).

Des études scientifiques ont montré que l'activité antimicrobienne du miel a deux origines: l'abeille elle-même qui est capable de produire de l'eau oxygénée, un antiseptique puissant et également la source florale dont l'activité antiseptique est attribuée à toute une série de composés chimiques encore relativement peu caractérisés. L'action antibactérienne du miel peut être déterminée par quatre facteurs :

L'effet osmotique du miel qui est hypertonique, peut expliquer en partie ses caractéristiques antiseptiques. Cet effet provient des sucres simples ou monosaccharides essentiellement le fructose et le glucose qui interagissent fortement avec les molécules d'eau contenues dans les bactéries. Les conditions d'hypertonie sont en effet responsables d'une lyse de la membrane bactérienne entraînant d'abord l'inhibition de la croissance et ensuite la mort de l'agent bactérien (Cushine et Lamb, 2005).

Certains auteurs mettent également en exergue, pour expliquer les caractéristiques antiseptiques du miel, son faible pH.

L'effet de l'acidité est principalement dû à la présence du système gluconolactone, acide gluconique résultant de l'activité enzymatique dans le nectar. Ce système contribue à l'activité antimicrobienne du miel contre *Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*.

Le peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée, qu'on qualifie d'inhibine au sens défini plus haut, est présent dans les solutions de miel il est extrêmement agressif contre les bactéries, cette présence est attribuable au système glucose oxydase et catalase (Cooper, 2005).

Les facteurs « non peroxydiques » (la pinocembrine du miel, l'acide syringique, l'acide 2-hydroxyphényl-propionique, le 1.4-dihydroxybenzène, les constituants volatils) sont eux aussi actifs contre les bactéries (Dunning 2003; Cushine, 2005).

Les propriétés antibactériennes du miel sont probablement le fruit d'une combinaison de tous ces facteurs.

2.2. Propriétés cicatrisantes

Les papyrus égyptiens de George Ebers et Edwin Smith relatifs à la médecine il y a 3500 ans, conseillent d'appliquer sur les plaies quatre jours de suite un linge de laine imbibée d'encens et de miel.

Le savant allemand Lucke proposait de soigner les plaies infectées par une pommade à base de miel et d'huile de foie de morue, du fait que le miel agit efficacement dans la désinfection et la cicatrisation des plaies infectées, tandis que l'huile de foie de morue favorise la formation de la croûte (Ioïriche, 1968).

La présence de miel dans la plaie y détermine une brusque élévation du taux de glutathion or le glutathion joue un rôle important dans les processus d'oxydo-réduction de l'organisme ; stimulant la division et la croissance des cellules et par suite favorise la cicatrisation.

La cicatrisation des plaies est due surtout à la présence dans le miel de substances antibiotiques, sous l'effet du miel, il y a afflux de sang et de lymphes vers la zone infectée; la lymphe élimine automatiquement les bactéries tandis que les phagocytes du sang digèrent activement (Ioïriche, 1968).

L'efficacité du miel dans le cadre du traitement des plaies repose sur nombreux composés et activités. Si l'origine de certaines de ces activités du miel n'a pas encore totalement précisé, de nombreuses études ont récemment permis d'expliquer une grande partie de ses effets thérapeutiques.

Les résultats obtenus, autant en pratique humaine que sur les animaux d'expérimentation, plaident en faveur d'une efficacité importante du miel dans le cas des plaies de brûlures du 1^{er} et du 2^{ème} degré. En effet, l'utilisation du miel entraîne en général une diminution significative de la durée de cicatrisation (Subrahmanyam, 1991; Subrahmanyam, 1993; Moissonier, 2002; Kabala R̄Dzik et *al.*, 2004; Bangroo et *al.*, 2005; Jalali et *al.*, 2007).

L'utilisation du miel sur des plaies de brûlures, quel que soit leur degré, peut donc s'avérer très intéressante. En effet, les pansements au miel permettent en général d'obtenir des résultats bien supérieurs à ceux obtenus avec un traitement (sulfadiazine d'argent) en termes de durée de cicatrisation, de contrôle de l'infection et de la pathologie cicatricielle. Mathews et Binnington (2002), rapportent ainsi le cas d'un animal brûlé au 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} degré sur 70% de la surface corporelle et dont les plaies ont été gérées avec succès grâce à des pansements au miel.

Les propriétés antioxydantes du miel, en plus de ses propriétés antibactériennes et de stimulation de la croissance tissulaire, semblent jouer un rôle déterminant dans son efficacité sur les plaies de brûlures (Schultz et *al.*, 2005).

2.3. Autres propriétés

Hormis les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel, le miel possède des vertus médicinales connues depuis des millénaires de façon empirique. Ainsi, on peut dire que le miel possède :

- Une action anti-anémique: Cette action est en relation avec la présence de fer et de cobalt dans le miel. Le cobalt est un composant normal de la vitamine B12 qui intervient dans l'organisme lors de la biosynthèse de nombreuses substances et dans différents mécanismes, notamment comme activateur de l'hématopoïèse.
- Une action antifongique: Il a été démontré que le miel est capable d'éliminer certaines toxines, notamment d'origine fongique. Une solution de miel comparée à une solution isotonique de saccharose inhibe complètement la croissance des moisissures comme *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Candida albicans*, *Penicillium spp*, *Penicillium chrysogenum*
- Une action apéritive et digestive : Les acides présents dans le miel influencent favorablement l'appétit et la digestion.
- Des propriétés antitussives, expectorantes et adoucissantes : En effet, le miel calme la toux, facilite l'expectoration et soulage les maux de gorge.
- Des vertus calmantes: Il les doit essentiellement aux plantes dont il est issu. Il favorise également le sommeil.
- D'autres propriétés du miel ont été avancées, mais ne sont généralement pas supportées par des études scientifiques sérieuses. En effet, le miel:
- Possède une action préventive vis à vis des cancers: Le risque de cancers est accru dans une population qui présente un déficit en vitamines, en oligo-éléments et en certains nutriments indispensables au métabolisme cellulaire et à la production d'enzymes et d'hormones. Ces nutriments qui ont une action inhibitrice sur le processus cancérigène se trouvent pour la plupart dans le miel. On peut notamment citer les flavonoïdes, qui ont la capacité de ralentir le processus d'évolution des tumeurs.
- Régule la fonction cardiaque: De par sa composition en sucres, le miel est un excellent carburant pour le muscle cardiaque. De plus, l'acétylcholine contenue dans le miel permet de ralentir et de régulariser le rythme cardiaque, ce qui favorise la diminution

de la tension artérielle et assure une meilleure circulation sanguine au niveau des artères coronaires.

- **Améliore la circulation sanguine:** En effet, il augmente la résistance capillaire et stimule l'hématopoïèse, ce qui retarde le vieillissement vasculaire et diminue les effets de la sénescence.
- **Lutte contre la constipation chronique:** De par sa forte concentration en fructose, le miel possède un pouvoir laxatif doux.
- **Activerait la croissance:** Des observations faites chez plusieurs centaines d'enfants montrent que le miel ajouté dans les aliments, à la place du sucre, favorise la croissance corporelle. Cet effet serait en relation avec la présence d'oligo-éléments qui améliorent l'absorption et peut-être le transport des minéraux, calcium et magnésium en particulier.
- **Aide l'organisme à se défendre:** Le miel apporte les substances nécessaires pour aider l'organisme à se défendre contre les agressions d'origine interne ou externe, en particulier, des substances anti-oxydantes qui peuvent piéger les radicaux libres et aider l'organisme à éliminer diverses toxines. De plus, le silicium contenu dans le miel est un stimulateur du système immunologique. Le miel permet donc de renforcer le système de défense immunitaire, et ainsi, de mieux résister aux agressions en général (Hakim, 2000).
- **Possède un pouvoir de détoxification du foie:** De par leur nature, les sucres du miel sont susceptibles d'exercer une certaine hépato-protection. Ainsi, certaines intoxications seraient enrayerées par l'absorption de miel. Le miel pourrait protéger contre des empoisonnements d'origine alimentaire ou contre les effets néfastes de l'alcool au niveau du foie. Cette activité protectrice serait en relation avec la métabolisation du fructose qui crée des conditions favorables à l'action de détoxification du foie. De plus, les flavonoïdes présents dans le miel, ont une action antitoxique hépatique.
- **A des propriétés dynamogéniques:** Cet effet s'exerce sur l'ensemble des organes. En effet, le miel augmente la consommation d'oxygène au niveau cellulaire, ce qui accroît la nutrition et la vitalité de chacun des tissus qui interviennent dans la composition du corps (Dubois, 1987).
- **Participe à l'équilibre du système neurovégétatif:** Le miel contient une vaste gamme de minéraux, de vitamines et de nombreux autres éléments à l'état de traces et

dont les quantités varient en fonction de la présence de grains de pollen. Cette association, qui crée les conditions d'une bonne régulation des processus métaboliques, participe aussi au maintien de l'équilibre du système nerveux.

- Possède des propriétés antioxydantes: Le mécanisme protecteur antioxydant du miel utilise à la fois les enzymes tels que la catalase et la peroxydase, les composants phénoliques, les flavonoïdes, les acides organiques comme l'acide ascorbique et des acides aminés comme la proline (Meda *et al.*, 2005). Toutefois, les composés phénoliques sont les plus importants dans cette activité (Molan, 2009). Les antioxydants sont des substances qui, présentes à faible concentration, sont capables de supprimer, retarder ou empêcher les processus d'oxydation et ses conséquences. Les sources d'antioxydants sont nombreuses et variées : extrait d'herbe, de miel, de fruits, de légumes, de thé. Les antioxydants sont classés en fonction de leurs mécanismes d'action :
 - - Les antioxydants primaires ou antiradicalaires (type I) : leurs actions reposent sur leurs capacités à inactiver les radicaux libres, car ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents. Les composés phénoliques appartiennent à cette classe.
 - - Les antioxydants secondaires ou préventifs (type II): ils préviennent la formation des radicaux libres par différents mécanismes. Certains chélates (les ions métalliques, réduisant l'effet pro-oxydants des ions; c'est le cas de certains acides organiques et de certaines protéines. D'autres sont des piègeurs d'oxygène comme par exemple l'acide ascorbique, les β -carotènes ou certains systèmes enzymatiques.
 - Certains composés phénoliques possèdent à la fois les modes d'action de type I et II (Genot *et al.*, 2004).
 - En règle générale, les miels foncés et les miels ayant une forte teneur en eau ont une capacité anti-oxydante plus grande que celle des autres miels. De plus, l'activité anti-oxydante des miels est très variable d'un miel à un autre, et elle dépend essentiellement de son origine botanique.
- Améliore la spasmophilie : Le miel contient du magnésium ce qui améliore la spasmophilie (Dubois, 1987).

- Lutte contre le vieillissement : Le miel contient des flavonoïdes capables de neutraliser les radicaux libres par leurs actions antioxydantes et protectrices des sites nucléophiles de l'ADN (l'agression de l'ADN par les radicaux libres peut être à l'origine du vieillissement tissulaire) (Hakim, 2000).

Certaines des propriétés décrites précédemment sont également documentées dans les publications suivantes: (Sable, 1997; Domerego, 2002; Lefief-delcourt, 2010). L'ensemble de ces propriétés donne un champ d'application assez vaste au miel. Toutefois, le miel est avant tout un aliment qui permet vraisemblablement de prévenir ou de ralentir le développement d'un nombre important de maladies et seulement ensuite, un « médicament » susceptible de traiter certains troubles et affections. Malheureusement, l'immense bibliographie que l'on possède sur ses propriétés thérapeutiques, n'est pas toujours d'une grande rigueur scientifique. Généralement, les études ont été correctement conduites, mais le miel n'est pas un produit défini stable; dans de nombreux travaux, ce point n'est pas suffisamment pris en compte, et l'origine et la composition des miels testés ne sont pas bien documentées. Même si les indications que nous avons déjà évoquées et celles que nous allons traiter ci-dessous semblent être réelles, cela ne signifie pas bien sûr, que le miel est toujours capable, à lui seul, de résoudre complètement le trouble ou l'affection considérée. Suivant l'origine et la gravité du trouble ou de l'affection, le miel sera pris seul ou associé à un traitement spécifique.

Voici quelques exemples d'applications (Domerego, 2002; Assie, 2004) :

- Les affections respiratoires: Par son pouvoir antitussif, expectorant et adoucissant, le miel lutte contre les rhinites, sinusites et bronchites.
- Les affections digestives: Il est utilisé pour son action de protection sur la paroi de l'estomac, et on l'emploie pour le traitement des ulcères gastro-duodénaux (notamment le miel de Manuka), des infections intestinales et des insuffisances hépatiques de toutes sortes. Il est également recommandé en cas de perte d'appétit, dans les troubles de l'assimilation ou dans les insuffisances digestives, notamment enzymatiques, ou encore pour son pouvoir laxatif doux.
- Les affections ophtalmiques: L'usage du miel pour le bien être de l'oeil est l'un des plus anciens répertorié dans la pharmacopée apicole. Le miel soulage selon son origine florale (thym ou lavande): la conjonctivite, la kératite (lésion et inflammation de la cornée), la blépharite (inflammation du bord de la paupière), les maladies de la rétine (exemple de la dystrophie). Dans ces cas particuliers, le collyre au miel atténue

la sécheresse des yeux, les larmoiements, la fameuse et désagréable sensation de « grain de sable », la photophobie et l'œdème des paupières.

Chapitre 3

**Histopathologie de la peau et mécanisme
de la cicatrisation**

1. Histopathologie de la peau

La peau est l'organe le plus gros de l'organisme, elle est constituée du derme, de l'épiderme et de l'hypoderme (Schöffler et Menche, 2004) (figure 6).

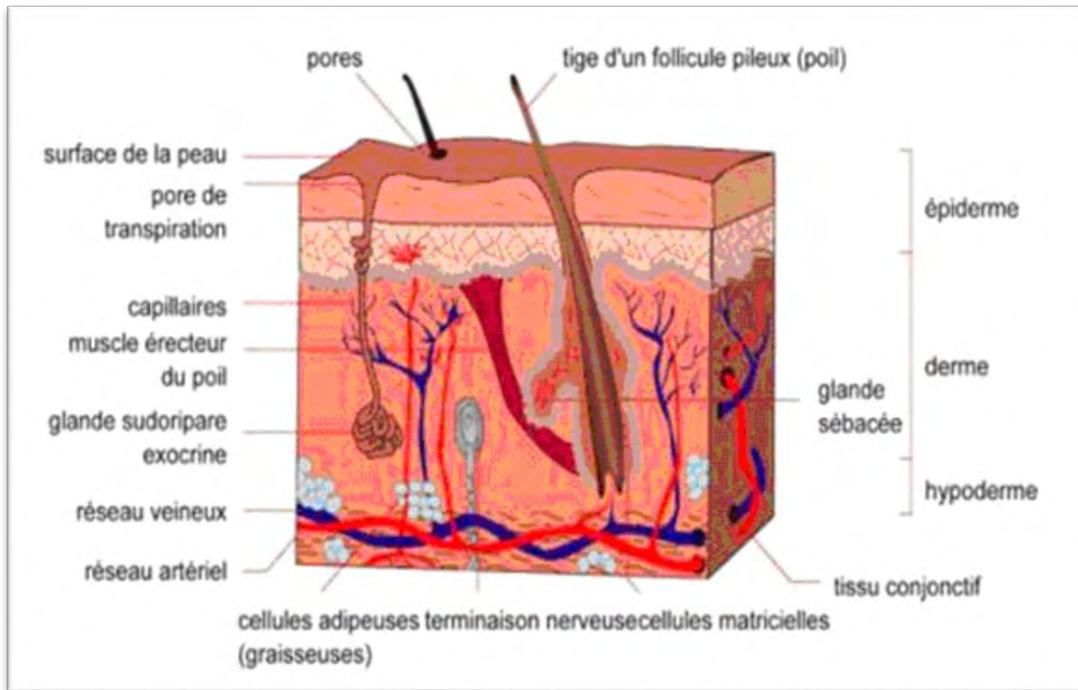


Figure 6: Structure de la peau (Schöffler et Menche, 2004).

1.1. L'épiderme

C'est la couche la plus externe de la peau, elle ne possède pas de vaisseaux sanguins, et est formée d'un épithélium plat corné et multicouche qui est principalement composé de kératinocytes. Il s'agit de cellules qui fabriquent la substance appelée : kératine, celui-ci est hydrofuge et permet à la peau d'être ferme et protégée (Schöffler et Menche, 2004).

Il existe d'autres cellules d'origine et de fonction diverses qui représentent 5 à 10 % des cellules épidermiques : les mélanocytes, cellules immunitaires, (cellules de Langerhans, cellules dendritiques, cellules de Grandstein), cellules de Merkel, l'épaisseur de l'épiderme varie de 0.07 à 0.12 mm au niveau de la peau fine et de 0.8 à 1.4 mm au niveau de la peau épaisse (Schöffler et Menche, 2004; Catherine, 2006).

1.1.1. Stratification de l'épiderme

L'épiderme comporte 5 couches de cellules :

- Couche basale (stratum germinativum) : Dont les cellules produisent les constituants de la membrane basale.
- Couches des cellules à épines (stratum spinosum) : La couche basale du stratum spinosum constitue le corps unique de Malpighi.
- Couche granuleuse (stratum granulosum) : Dont les cellules ne se divisent plus.
- Couche claire (stratum lucideum) : Se retrouve au niveau de l'épiderme épais (palmaire et plantaire).
- Couche cornée (stratum cornéum) : Dont les cellules sont kératinisées et anucléées (Dadoune et Siffroi, 2000).
- Kératinocytes et kératinisation : La plupart des cellules épidermiques sont des Kératinocytes qui produisent en abondance des protéines filamenteuses du cytosquelette et évoluent au cours de la kératinisation en cellules cornées superficielles de l'épiderme.

On distingue deux grandes variétés de Kératine : la kératine molle épidermique riche en lipide et la kératine dure pauvre en lipides (Dadoune et Siffroi, 2000).

1.2. Le derme

Il est formé par le tissu conjonctif contenant un réseau de fibres conjonctives et de fibres élastiques aux quelles la peau doit sa résistance et son élasticité (Fawcett et Jensch, 2002).

1.3. L'hypoderme

Cette couche apparaît comme une extension du derme, la densité et l'organisation de la couche sous cutanée déterminent la mobilité de la peau, cette couche est dépourvue de graisse. La zone superficielle de l'hypoderme contient certaines parties des follicules pileux et des glandes sudoripares (Leeson et Leeson, 1980).

1.4. Les annexes cutanées

Ces annexes dérivent de l'épiderme et ce sont: les poils et les follicules, les angles, les glandes sudoripares et les glandes sébacées (Marieb, 2005).

- **Les glandes sudoripares**

Sont deux types

1. Ecrines : et sont réparties sur la presque totalité du corps.
2. Apocrines : glande dont le produit de sécrétion est expulsé avec une partie de la cellule qui le contient.

- **Les angles**

Sont des plaques de cellules cornées épidermiques assemblées de manière compacte et dure (Schöffler et Menche, 2004).

- **Les poils**

Existent sur la presque totalité de la surface cutanée, ils ont pour mission la protection contre le froid et les forces de pression mécaniques (Schöffler et Menche, 2004).

- **Les glandes sébacées**

Sont en général annexées aux follicules pileux, la partie sécrétrice de la glande siège dans la peau (Schöffler et Menche, 2004).

1.5. Les fonction de la peau

La peau assure quatre grandes fonctions :

- **La protection**

Contre les rayons Ultraviolet, les agressions mécaniques, chimiques et thermiques, cette surface empêche la déshydratation.

- **La sensation**

La peau est l'organe sensoriel le plus étendu de l'organisme et renferme de nombreux récepteurs pour le toucher, la pression, la chaleur et la température.

- **La thermorégulation**

Le corps est protégé de la déperdition calorique par la présence de poils et de tissu adipeux sous cutané.

- **Fonction métabolique**

Le tissu adipeux sous cutané constitue une réserve importante d'énergie (Wheater et *al.*, 2004).

En plus de ces quatre fonctions ; la peau intervient dans la défense immunitaire et la sécrétion de divers facteurs actifs et la production sébum et de vitamine D (Dadoune et Siffroi, 2000).

2. Brûlures

La brûlure est une lésion causée par la chaleur excessive, l'électricité, radioactivité ou des agents corrosifs qui dénaturent les protéines dans les cellules cutanées. Les brûlures suppriment certaines des fonctions homéostatiques majeurs de la peau, notamment la thermorégulation, la protection contre les microorganismes et la déshydratation (Tortora et Derrickson, 2007).

2.1. Classification

On classe les brûlures selon leur gravité.

2.1.1. Brûlures du premier degré

Atteignent uniquement l'épiderme (figure 7). Elles causent une douleur modérée et un érythème (rougeur), mais n'entraînent pas la formation de cloques. Les fonctions de la peau restent intactes. En cas de brûlure premier degré, on peut limiter la douleur et les lésions en appliquant immédiatement de l'eau froide sur la zone touchée. La guérison prend généralement de trois à six jours et peut s'accompagner de desquamation. Les coups de soleil légers sont des brûlures du premier degré (Tortora et Derrickson, 2007; Marieb, 2008).

2.1.2. Brûlures du deuxième degré

Détruisent l'épiderme et une partie du derme (figure 8). Elles suppriment partiellement les fonctions de la peau et entraînent une rougeur, la formation de cloques, un œdème et de la douleur. La formation de cloques est due à l'accumulation de liquide tissulaire qui s'insère entre l'épiderme et le derme. D'ordinaire, les brûlures du deuxième degré laissent intactes les annexes cutanées (par exemple les follicules pileux, les glandes sébacées et les glandes sudoripares). En l'absence d'infection, ce genre de brûlure guérit habituellement en trois ou quatre semaines, mais il peut laisser des cicatrices (Tortora et Derrickson, 2007; Marieb, 2008).

2.1.3. Brûlures du troisième degré

Détruisent l'épiderme, le derme et le fascia superficiel (figure 9). Elles suppriment en outre la plus part des fonctions de la peau. La couleur des lésions peu aller du blanc marbré à l'acajou; dans certains cas, ces brûlures ont un aspect sec et carbonisé. Elles causent un œdème considérable. La destruction des terminaisons nerveuses supprime les sensations dans la région atteinte. La régénération est lente; un abondant tissu de granulation se forme avant

de se recouvrir d'épithélium. La formation de tissu cicatriciel (fibrose) est fréquente (Tortora et Derrickson, 2007; Marieb, 2008).

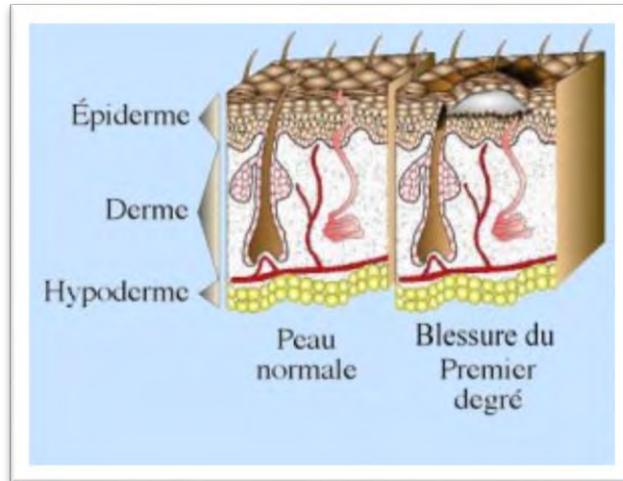


Figure 7: Peau normale et peau blessée au premier degré. (<http://polgm.free.fr/travail/TPE/>)[consulté le 31/10/2012].

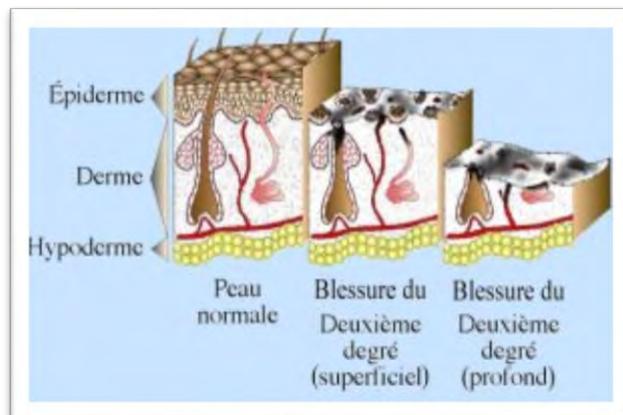


Figure 8: Peau normale, peau blessée au deuxième degré superficiellement et profondément (<http://polgm.free.fr/travail/TPE/>)[consulté le 31/10/2012].

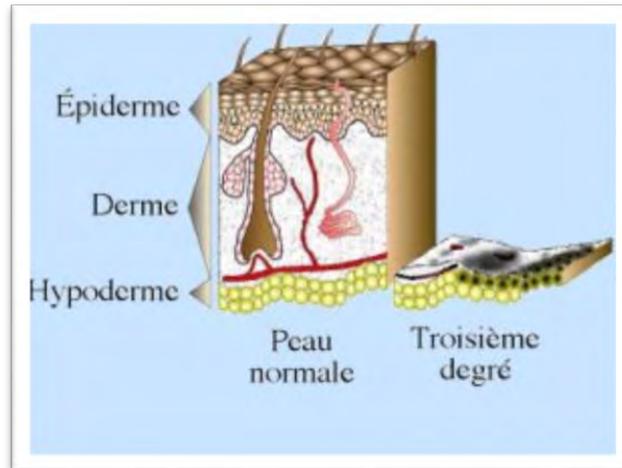


Figure 9: Peau normale et peau blessée au troisième degré (<http://polgm.free.fr/travail/TPE/>)[consulté le 31/10/2012].

2.1.4. Facteurs déterminant la gravité d'une brûlure

La gravité d'une brûlure dépend de son étendue et de sa profondeur, mais aussi de l'âge et de l'état de santé de la victime.

L'étendue de la brûlure, qu'on désigne cliniquement comme la surface corporelle totale brûlée, est mesurée par la proportion de cette surface qui est atteinte. Plusieurs méthodes sont utilisées pour effectuer cette mesure dont la plus courante est appelée la règle des neufs. Cette méthode attribue 9% à la région de la tête et du cou, 9% à chaque bras (y compris la main), 18% à chaque jambe (y compris le pied) et 18% à chaque côté du tronc (dos, poitrine et abdomen). La règle des neuf est utilisée pour les adultes et les enfants âgés de plus de 10ans. Pour les enfants de moins de 10 ans, on utilise le diagramme de Lund-Browder, dans le calcul, on pose l'hypothèse que la paume d'un enfant représente environ 1% de la surface corporelle totale (<http://vulgaris-medical.com>)[consulté le 21/10/2012].

3. Cicatrisation cutanée

La cicatrisation cutanée est un phénomène biologique très complexe, dynamique, qui se met en place après une blessure de manière à rétablir le plus rapidement possible l'intégrité et l'homéostasie de la peau. La fermeture correcte d'une lésion est possible grâce à la coopération entre de nombreux médiateurs solubles (facteurs de croissance et cytokines), la mise en jeu de différents types cellulaires (cellules inflammatoires, endothéliales, sanguines, épithéliales et immunitaires) et les interactions avec la matrice extracellulaire (Singer et Clark, 1999 ; Martin, 1997).

Ainsi, dans la présentation schématique usuelle, le déroulement de la cicatrisation est divisé en trois phases: phase inflammatoire, phase de prolifération et formation de tissu et enfin la phase de remodelage tissulaire. Cette division traditionnelle est quelque peu arbitraire, du fait d'un chevauchement partiel de ces phases, par exemple la formation tissulaire commence alors que l'inflammation est installée (figure 10).

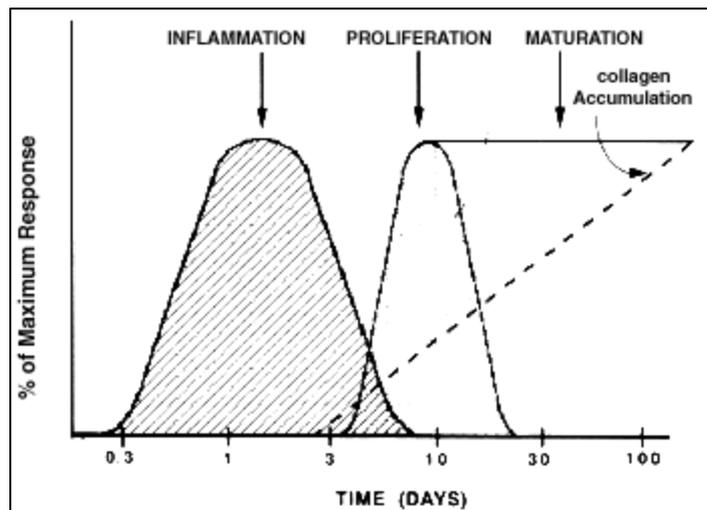


Figure 10: Chronologie des différentes phases de la cicatrisation (Fournier et Mordon, 2005).

La cicatrisation est réglée et synchronisée par un groupe de cytokines, tels que le PDGF, FGF, TNF, IGF, et le TGF α et β (Gambichler et *al.*, 2005). Ces derniers sont sécrétés par les thrombocytes, les macrophages, les neutrophiles, les lymphocytes, cellules endothéliales et les fibroblastes. Ces facteurs interviennent dans toutes les étapes de la cicatrisation (Ferraq, 2007).

Lorsqu'elles ne sont ni trop profondes, ni trop étendues, la plupart des plaies ou brûlures cutanées cicatrisent rapidement en quelques semaines. On distingue 3 phases successives: la phase inflammatoire et formation du caillot (0 à 3 jours), la phase proliférative ou formation de tissu (3 à 12 jours) et la phase de remodelage tissulaire.

3.1. Phase inflammatoire

Son importance et sa durée sont variables selon l'agent agresseur et l'intensité des dégâts tissulaires. Elle associe :

- Vasodilatation
- Œdème et exsudat fibrineux
- Leucodiapédèse

Elle débute en quelques minutes. L'agression tissulaire va générer de nombreux médiateurs vasoactifs et des facteurs chimiotactiques sériques ou libérés par les plaquettes ou par les cellules parenchymateuses lésées. Ces facteurs vont être responsables :

- de la vasodilatation et de l'augmentation de la perméabilité capillaire
- du recrutement des leucocytes et notamment, dans cette première phase.

Ce caillot permet, en même temps, de rétablir l'étanchéité de la peau et de fournir aux kératinocytes une matrice extracellulaire temporaire pour leur migration. Cependant, les plaquettes incluses dans le caillot jouent un double rôle, la coagulation et la libération de médiateurs de guérison, tel que le PDGF, qui attire et active les macrophages et les fibroblastes. Toutefois, en absence d'hémorragie, les plaquettes ne sont pas essentielles à la cicatrisation.

La libération des différents médiateurs vasoactifs et facteurs chimiotactiques par les plaquettes et les cellules épithéliales activées, permettent le recrutement précoce, des cellules immunitaires inflammatoires au niveau du site de la lésion (Clark, 1997).

L'implication de ces cellules commence par l'expression et la sécrétion de certaines molécules (cytokines et interleukines). Ces molécules comportent la sélectine qui permet l'adhésion des leucocytes aux parois de vaisseaux, ainsi que les β 2-intégrines qui permettent la transmigration des leucocytes activés vers l'espace extra-vasculaire. À ces molécules se rajoutent des cytokines pro-inflammatoires tel que l'IL-1 et le TNF α , qui elles même induisent la production d'autres interleukines (figure 11).

En réponse à des chimioattracteurs spécifiques, tels que des fragments de protéine de la MEC, le TGF β , et le MCP1, les monocytes s'infiltrent au niveau du site de la lésion et deviennent des macrophages activés. Ces derniers secrètent des facteurs de croissances telles que PDGF et le VEGF qui initient la formation de tissu de granulation. Les macrophages se lient aux protéines de la matrice extracellulaire à l'aide des récepteurs aux intégrines. Cette action stimule la phagocytose des microorganismes et les fragments de la MEC (Brown, 1995). Ce rôle de détersion est partagé par les neutrophiles infiltrés, qui débarrassent la surface lésée des particules étrangères et des bactéries.

L'adhésion à la matrice extracellulaire stimule aussi la transformation des monocytes en macrophages inflammatoire. Leur adhésion induit la synthèse de puissantes cytokines

inflammatoires tels que le CSF1, le TNF α , ainsi qu'un puissant chimioattracteur et mitogène pour les fibroblastes le PDGF.

D'autres cytokines importantes sont sécrétées par les monocytes et macrophages comme le TGF α , TGF β , interleukin-1 (Rappolee, 1988) et l'ILGF1. Ces facteurs de croissance semblent nécessaires à la mise en place et la propagation du processus de la formation du tissu dans la lésion. Une étude réalisée chez des animaux dépourvus de macrophages a démontré une réparation de blessure défectueuse (Leibovich et Ross, 1975). Ainsi, il apparaît que les macrophages jouent un rôle central dans la transition entre la phase inflammatoire et la formation tissulaire (Riches, 1996).

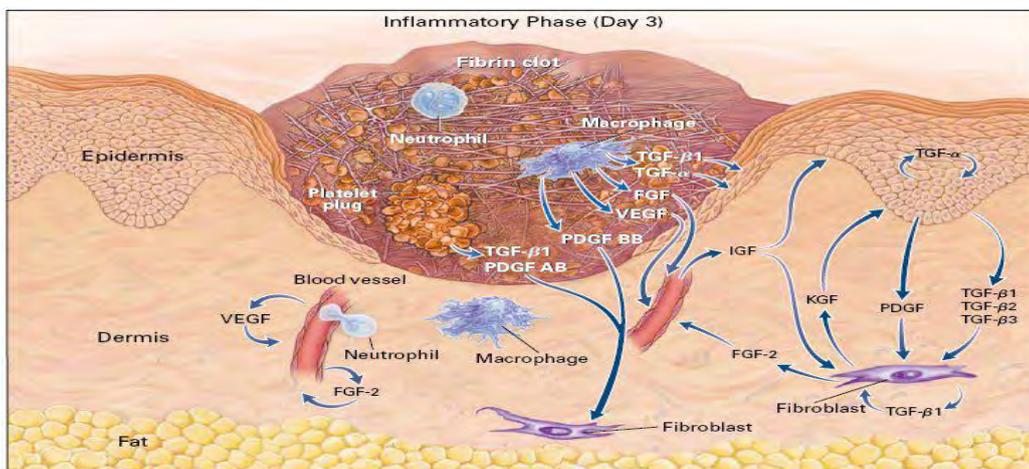


Figure 11: Illustration de la phase d'inflammation (Singer, 1999).

3.2. Phase de prolifération

Au bout de trois jours, le caillot fibrino-plaquettaire se rétracte laissant apparaître le tissu conjonctif sous-jacent qui prend le nom de tissu de granulation, du fait de la présence des granulations roses qui apparaissent à la surface du nouveau derme et qui correspondent aux nombreux capillaires qui l'envahissent. Cette néo-vascularisation est due à l'angiogénèse, qui est déclenchée et entretenue principalement par le VEGF et le β -FGF, sécrétés par les cellules endothéliales lésées et les macrophages.

Au bout de trois jours, le caillot fibrino-plaquettaire se rétracte laissant apparaître le tissu conjonctif sous-jacent qui prend le nom de tissu de granulation, du fait de la présence des granulations roses qui apparaissent à la surface du nouveau derme et qui correspondent aux nombreux capillaires qui l'envahissent. Cette néo-vascularisation est due à l'angiogénèse, qui

est déclenchée et entretenue principalement par le VEGF et le β -FGF, sécrétés par les cellules endothéliales lésées et les macrophages.

La réépithélialisation commence dans les heures qui suivent la blessure. Les cellules épidermiques des annexes de la peau, tel que les follicules de cheveux, par leur prolifération enlèvent rapidement le sang coagulé et le stroma endommagé au niveau de la lésion (figure 12). En même temps, ces cellules subissent une altération phénotypique marquée, qui incluent l'apparition et la rétraction des filaments intracellulaires (Paladini et *al.*, 1996), et la dissolution de la plupart des desmosomes et hémidesmosomes. Ce qui permet d'augmenter la mobilité cellulaire (Gabbiani, 1978 ; Goliger et Paul, 1995.). De la même manière les cellules épidermiques et dermiques n'adhèrent plus les unes aux autres, permettant ainsi le mouvement latéral des cellules épidermiques. L'expression des récepteurs membranaires aux intégrines, leur permet d'interagir avec des protéines matricielles autre que le collagène-I (la fibronectine et la vitronectine) (Clark, 1990 ; Larjava et *al.*, 1993; Clark et *al.*, 1996). Ainsi la migration et la desquamation au niveau des lésions permettent la séparation entre la croûte et le tissu vivant.

La migration des cellules entre le derme et le caillot, nécessite la dégradation de la MEC. Cette dégradation dépend aussi bien de la production des collagénases par les cellules épidermiques (Pilcher et *al.*, 1997), que de l'activation de la plasmine par le "plasminogen activator" produit par ces mêmes cellules (Bugge et *al.*, 1996). Ce dernier, active aussi les collagénases (MMP-1) (Mignatti et *al.*, 1996), et facilite donc la dégradation du collagène et des protéines matricielles.

Un à deux jours après la blessure, les cellules épidermiques migrantes commencent la prolifération derrière les cellules qui migrent activement.

Les stimuli pour la migration et la prolifération durant la ré-épithélialisation n'ont pas été déterminés, mais plusieurs possibilités existent. Ainsi l'absence des cellules voisines lors de la phase de migration (l'effet "free edge") peut être à l'origine de l'activation de la prolifération et la migration des cellules épidermiques. De la même manière, la libération locale des facteurs de croissance et une augmentation de l'expression de leurs récepteurs peuvent aussi stimuler ce processus. Les principaux facteurs de croissance intervenant sont EGF, TGF α , et le KGF (Werner et *al.*, 1994; Abraham, 1996; Nanny, 1996).

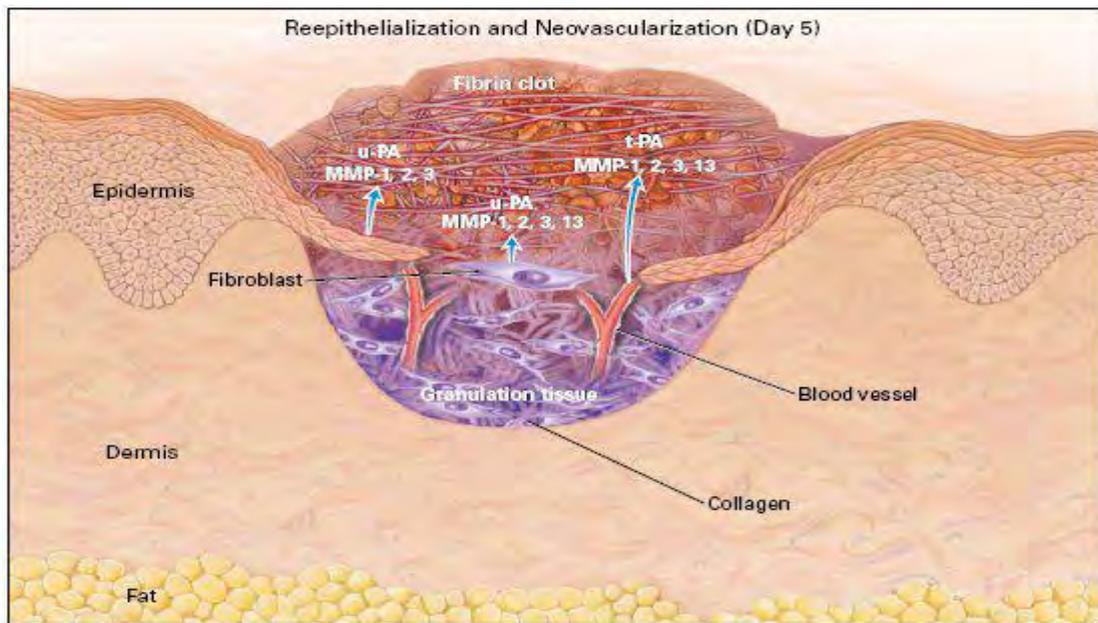


Figure 12: Illustration de la phase de prolifération (Singer, 1999).

A la suite de la ré-épithélialisation, les protéines de la membrane basale réapparaissent dans un ordre bien précis de la marge vers l'intérieur de la blessure, d'une manière identique à une fermeture éclair (Clark, 1989). Les cellules épidermiques retrouvent leur phénotype normal une fois qu'elles sont fermement attachées à la membrane basale néoformée.

3.3. Phase de remodelage

La phase de remodelage débute après fermeture de la plaie, par une régression du tissu granuleux qui peut persister pendant 2 ans. La contraction des plaies est achevée vers le 21^e jour associé à un contenu maximal en collagène. De même que la résistance de la cicatrice à l'étirement n'atteint qu'environ 15% de celle de la peau normale (Lawrence, 1998). Enfin cette résistance est augmentée de façon considérable jusqu'à 70%, grâce au remodelage (figure 13). Initialement nécessaires à la migration et à la prolifération cellulaire, la fibronectine et l'acide hyaluronique sont progressivement lysés et remplacés par le collagène, les fibres élastiques et les glycoaminoglycane constituant une matrice plus résistante aux forces de traction.

Différents éléments interviennent dans ce phénomène, des cellules, tels que les polynucléaires et les macrophages, et des enzymes tel que les protéases synthétisées par les fibroblastes. Ces éléments interviennent de façon importante dans les phénomènes de

remodelage matriciel, en favorisant la lyse et la synthèse de nouvelles molécules, mieux orientées et organisées.

L'âge, les forces de tension et la pression influencent la synthèse et l'organisation des molécules de collagène. Toutefois les cicatrices sont, dans tous les cas, moins résistantes et moins élastiques que la peau normale, en partie à cause d'un certain déficit en élastine et en raison de la reconstitution d'une matrice relativement désorganisée (Ferraq, 2007).

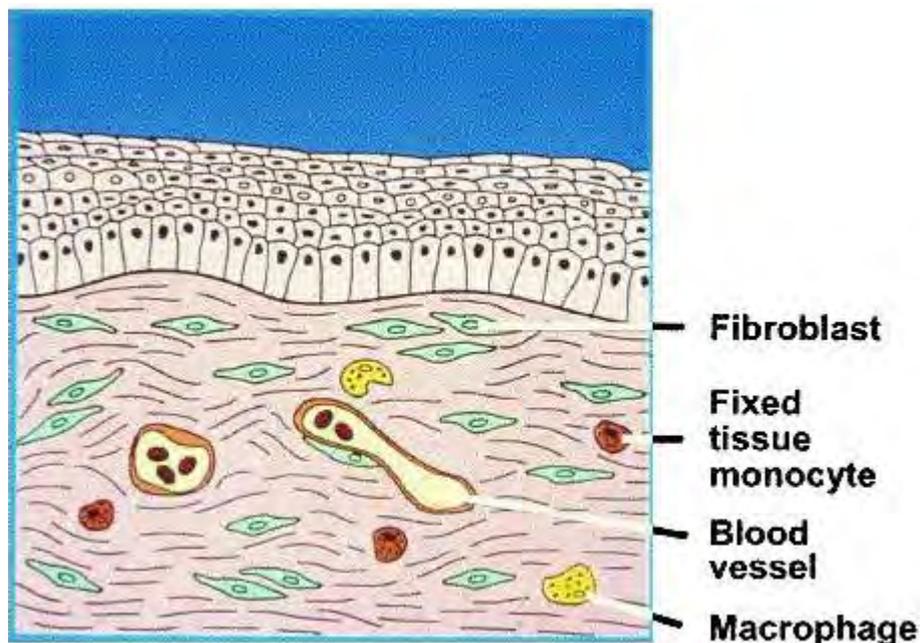


Figure 13 : La phase de remodelage (Diegelmann, 2004).

3.4. Facteurs néfastes

- Obésité: Diminution de la vascularisation du tissu adipeux et augmentation de la tension dans la plaie.
- Tabagisme: Diminution de l'oxygénation de la plaie et anomalies de la coagulation dans les petits vaisseaux sanguins.
- Age avancé: Affaiblissement des défenses immunitaires et diminution de la résistance aux germes pathogènes.
- Diabète: Dysfonctionnement leucocytaire, à cause de l'hyperglycémie. Risque d'ischémie régionale en raison d'une oblitération vasculaire ou de l'épaississement de la membrane basale des capillaires.

- Mauvaise circulation / hypoperfusion: Mauvaise alimentation de la plaie en substances nutritives, en cellules sanguines et en oxygène.
- Malnutrition: Perturbations de la phase inflammatoire et de la synthèse de collagène.
- Médicaments immunosuppresseurs: Diminution de la synthèse de collagène
- Irradiation de la lésion : Diminution de l'irrigation sanguine par suite du rétrécissement de la lumière vasculaire.
- Stress important: L'augmentation du cortisol diminue le nombre de lymphocytes circulants et atténue la réaction inflammatoire.
- Déficit sensitif dans la région de la plaie: Déficit sensitif dans la région de la plaie
- Corticoïdes: Ralentissement de l'épithélialisation et de la néovascularisation, et inhibition de la contraction (<http://infirmiers.com>)[Consulté le 21/10/2012].

3.5. Cicatrisation pathologique

Une anomalie de cicatrisation peut être la conséquence d'une complication survenue à une des étapes de la cicatrisation, comme une infection ou une nécrose. Il peut aussi s'agir d'une maladie de la cicatrisation (Batra, 2005), comme les cicatrices hypertrophiques, les chéloïdes, l'acné et les infections herpétiques (varicelle et zona) qui laissent souvent des cicatrices atrophiques, principalement lorsqu'elles se surinfectent. C'est pourquoi une prise en charge précoce est importante (Andrée Mathieu, 2011).

Les cicatrices hypertrophiques et les chéloïdes apparaissent chez les personnes ayant une prédisposition génétique. Elles sont causées par des anomalies intrinsèques des fibroblastes et des kératinocytes et par des altérations des facteurs de croissance, dont une augmentation du TGF- β , responsables de la formation excessive de collagène (Wolfram et *al.*, 2009). Par ailleurs, certains endroits sont plus propices à la formation des cicatrices hypertrophiques et chéloïdiennes (cou, thorax antérieur et dos). L'incidence de telles cicatrices est aussi plus élevée chez les personnes à la peau foncée, soit de 4 % à 16 % chez les Noirs, et chez les personnes d'origine hispanique. Les cicatrices hypertrophiques ou chéloïdiennes sont plus susceptibles de se former entre 10 et 30 ans ou durant la grossesse. Nous pouvons les prévenir en conseillant aux patients à risque d'éviter le piercing, le tatouage et l'exérèse de lésions bénignes.

Enfin, il est important de différencier cliniquement une cicatrice hypertrophique d'une chéloïde, deux entités distinctes. Les premières apparaissent généralement à partir de la quatrième semaine suivant le traumatisme et ne dépassent pas la bordure de la cicatrice originelle. Elles sont nodulaires, surélevées, érythémateuses et parfois prurigineuses, mais se stabilisent après la première année et peuvent régresser spontanément.

Les chéloïdes (du Grec *chele* signifiant « pince de crabe ») peuvent apparaître longtemps après le traumatisme. Elles s'étendent au-delà des limites de la lésion initiale et peuvent proliférer indéfiniment. Elles sont réfractaires aux traitements et récidivent souvent de façon plus importante après l'excision chirurgicale (Andrée Mathieu, 2011).

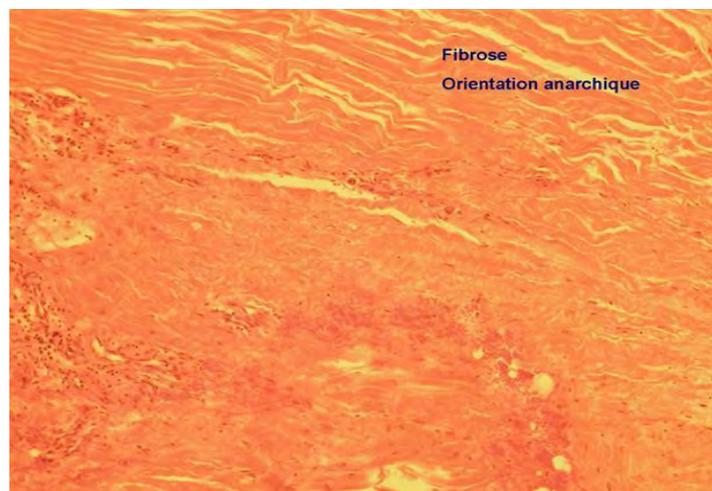


Figure 14 : Fibrose chronique (Verola, 2006).

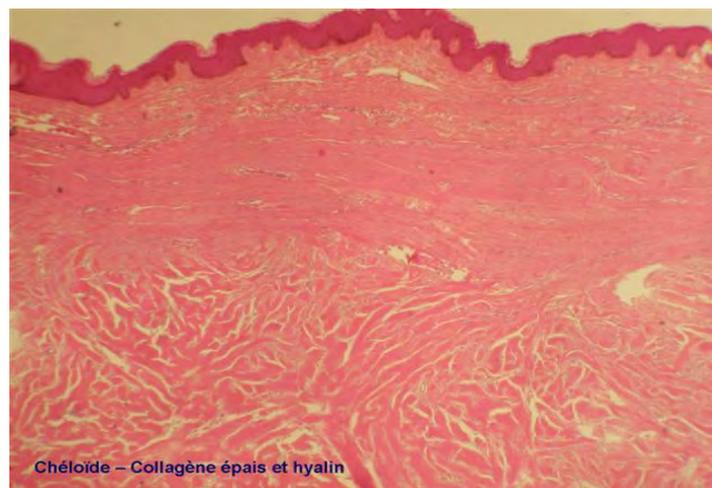


Figure 15 : Chéloïde (Verola, 2006).

Chapitre 4

Données générales sur la toxicologie

1. Introduction

On qualifie le toxique un composé qui peut nuire à la santé des organismes vivants, en particulier à celle des êtres humains (Glomot, 1986; Reichel et *al.*, 2004).

L'effet d'un toxique dépend toujours de l'espèce et de la dose, selon leur origine, on distingue les toxiques synthétiques et les toxiques naturels (toxine) provenant des microorganismes, des animaux ou des plantes (Reichel et *al.*, 2004).

Les tests « in vivo » ne sont pas les seuls qui doivent être réalisés pour l'évaluation des effets toxiques d'une substance. Selon Glomot, (1986) de nombreux autres aspects pharmacotoxicologiques doivent être abordés pour déceler un impact éventuel :

- Effet sur le foie
- Effet sur les reins
- Effet sur la peau
- Effet sur l'œil

2. Procédures d'évaluation

L'évaluation de la toxicité s'appuie sur des études qualitatives (non mesurables) ou quantitative (mesurables) adéquates. Il existe plusieurs types d'études qui nous permettent d'évaluer les effets d'un toxique :

- Les études épidémiologiques;
- Les études expérimentales *in vivo*;
- Les études *in vitro*;
- Les études théoriques par modélisation.

On utilise fréquemment une terminologie pratique mais arbitraire pour désigner les diverses formes d'intoxication selon la fréquence et la durée de l'exposition (tableau 4).

Tableau 4: Les formes d'intoxication (Viala et Botta, 2007)

Forme d'intoxication	Fréquence d'administration	Durée de l'exposition
AIGUË	Unique	≥ 24 heures
SUBAIGUË	Réitérée	2 à 3 mois
CHRONIQUE	Réitérée	≤ 1 ans

2.1. Toxicité aiguë

Une façon pratique de caractériser la toxicité d'une substance consiste à déterminer sa dose létale 50 (DL50). Cette dose permet d'identifier les symptômes de l'intoxication et de comparer les substances entre elles quant à leur potentiel toxique, car elle fournit un minimum de connaissances.

La DL50 correspond à la dose d'une substance pouvant causer la mort de 50% d'une population animale dans des conditions d'expérimentation précises.

2.2. Toxicité chronique

Certains effets néfastes peuvent prendre plusieurs semaines ou de nombreuses d'années avant d'être diagnostiqués et éventuellement se révéler irréversibles. Des études destinées à évaluer la toxicité chronique doivent donc être effectuées. Celles-ci durent plusieurs mois ou années et supposent l'administration de plus d'une dose à des intervalles variant selon la méthode employée (<http://www.reptox.csst.qc.ca>) [consulté le 21/10/2012].

3. Effets toxiques

Un toxique n'affecte pas tous les organes avec la même intensité. Le foie et les reins, qui ont des fonctions métaboliques et excrétoires importantes et bénéficient d'une large irrigation sanguine, sont particulièrement exposés aux toxiques (Viala, 2007).

3.1. Hépatotoxicité

3.1.1. Physiologie et anatomie du foie

Le foie est l'organe le plus volumineux et le plus complexe du corps, il est impliqué dans le métabolisme des nutriments et de la plupart des xénobiotiques, ces derniers sont généralement détoxifiés, mais certains sont bioactifs et deviennent plus toxiques (Frank, 1996).

Ses principales fonctions peuvent se résumer ainsi :

- Métabolisme des graisses :
 - Oxydation des triglycérides pour produire de l'énergie
 - Synthèse de lipoprotéines plasmatiques
 - Synthèse du cholestérol et de phospholipides.

- Métabolisme des hydrates de carbone :
 - Conversion des hydrates de carbone et des protéines en acides gras et en triglycérides.
 - Régulation de la glycémie par les processus de glycogénèse, glycogénolyse et néoglucogénèse
- Métabolisme protéique
 - Synthèse de protéines plasmatique, incluant l'albumine et les facteurs de coagulation.
 - Synthèse d'acides aminés non essentiels.
 - Détoxification des déchets métaboliques.
- Stockage de glycogène, de vitamine et de fer
- Métabolisme intermédiaire :
 - Détoxification de médicaments et toxiques variés, comme l'alcool
- Sécrétion
 - Synthèse et sécrétion de la bile, cette dernière contient de nombreuses produits, résultant des processus précédents (Horn et *al.*, 2005; Young et *al.*, 2008).

La principale cellule fonctionnelle du foie est une forme de cellule épithéliale appelée hépatocyte. Les hépatocytes sont séparées par des fines sinusoides vasculaires à travers les quels circule le sang.

Le foie présente donc la particularité d'être irrigué à la fois par du sang artériel et veineux et d'être drainé par un système veineux distinct.

Après son passage dans les sinusoides, le sang gagne la veine cave inférieure par l'intermédiaire de la veine sus-hépatique.

Les vaisseaux sanguins et canaux les plus volumineux cheminent dans le foie à l'intérieur d'un réseau ramifié de nature collagène formant les espaces portes. Ces espaces contiennent également les canaux biliaires qui transportent les biles vers l'intestin grêle où elle est sécrétée (Horn et *al.*, 2005 ; Young et *al.*, 2008).

3.1.2. Principales lésions hépatiques

Le foie est le site principal des biotransformations des xénobiotiques; toute affection hépatique (stéatose, cirrhose, nécrose), en modifie le métabolisme et par voie de conséquence, la toxicité (Viala, 2007).

3.1.2.1. Stéatose

Un foie stéatosé contient plus de 5% de lipides (en poids). La présence d'un excès de lipides qui peut être visualisée histochimiquement. L'accumulation de lipides dans le foie est la phase finale commune à tous les toxiques, le plus fréquent étant probablement le blocage de la libération des triglycérides hépatiques dans le plasma.

Les triglycérides hépatiques étant sécrétées seulement après combinaison avec des lipoprotéines (formation de lipoprotéines à basse densité **Very Low Density Lipoprotein; VLDL**), l'accumulation des lipides hépatiques peut être la conséquence de plusieurs mécanismes :

- Inhibition de la synthèse de la moitié protéique des lipoprotéines
- Perte de Potassium par les hépatocytes, interférence avec le transport des VLDL à travers la membrane cellulaire.
- Diminution de l'oxydation des lipides par les mitochondries.
- Inhibition de la synthèse des phospholipides, constituants essentielle des VLDL (Frank, 1992).

3.1.2.2. Nécrose hépatique

La nécrose hépatique implique la mort des hépatocytes qui se produit par la rupture de la membrane plasmique. Les modifications morphologiques précoces sont caractérisées par des œdèmes cytoplasmiques, le gonflement du réticulum endoplasmique et la désagrégation des polysomes, puis l'accumulation de triglycérides sous forme des gouttelettes lipidiques dans les cellules.

Les changements biochimiques sont complexes, les hépatotoxiques agissant par différents mécanismes. Le tétrachlorure de carbone(CCl₄) a été la molécule la plus étudiée; il agit principalement par son métabolite réactif, le radical trichlorométhyle, qui se lie de façon covalente avec des protéines et des lipides insaturés et induit une peroxydation lipidique, les membranes cellulaires, riches en lipides insaturés sont très sensibles à ces altérations qui peuvent être la cause de leur rupture (Frank, 1992).

3.1.2.3. Cirrhose

La cirrhose caractérisée par une destruction répétée des hépatocytes, et donc par la présence d'infiltrations de collagène dans la masse hépatique, séparées par les couches fibreuses, les amas d'hépatocytes apparaissent sous forme de nodules.

Dans la cirrhose, les hépatocytes séparées d'un courant sanguin sinusoidal normal, ont une fonction réduite, par exemple synthétisent moins d'albumine et sécrètent moins de bile. Le sang provenant de la veine porte n'est plus drainé hors du foie et une hypertension portale se développe (Frank, 1992 ; Young, 2008).

3.1.3. Procédures d'évaluation

Le produit à tester devrait être administré à l'animal par la même voie que l'exposition humaine prévisible.

3.1.3.1. Examens

- **Examens macroscopiques**

La couleur et l'aspect peuvent souvent indiquer la nature de la toxicité, ainsi que le poids du foie et dans certains cas l'indice le plus sensible de la toxicité.

- **Examens microscopiques**

La microscopie optique peut détecter de nombreuses anomalies histologiques, comme des changements de teneur lipidique, des nécroses, des cirrhoses, des nodules hyperplasiques et des néoplasmes.

La microscopie électronique peut détecter les modifications de diverses structures subcellulaires, souvent utiles pour déterminer le mode d'action des toxiques (Frank, 1992).

- **Tests biochimiques**

La présence dans le sérum de nombreuses enzymes libérées à partir du cytosol et des organites subcellulaire (mitochondries, lysosomes, noyaux) après atteinte hépatique, a été utilisée comme indicateur d'hépatotoxicité, comme l'aspartate amino transférase (TGP) et le glutamate oxalo-acétate transaminase (TGO) qui sont utilisées comme indicateurs et qui augmentent en cas d'atteintes hépatique (Frank, 1992).

La TGO (ASAT) est de 14-113 UI/l alors que la TGP (ALAT) est de 48-80UI/l chez le lapin (Quinton, 2003).

3.2. Néphrotoxicité

3.2.1. Physiologie du rein

Le rein joue un rôle capital dans le maintien de l'équilibre hydrique, électrolytique et acido-basique. Il assure aussi l'excrétion des déchets métaboliques et des produits exogènes, tout en conservant les éléments essentiels à l'organisme (Newman et Price, 2005).

Il possède également des fonctions endocriniennes primaires, en tant que le site de synthèse d'hormones (érythropoïétine, rénine, prostaglandine, calcitriol) et secondaire en étant le site d'action d'hormones synthétisées ou activées ailleurs (Aldostérone, angiotensine II, vasopressine) (Newman et Price, 2005).

Le rein est particulièrement vulnérable à plusieurs substances toxiques qui sont susceptibles de lui causer des dommages à différents sites et de perturber ainsi certains de ses fonctions (Cronin et Henrich, 2005).

Les facteurs de vulnérabilité du rein sont : le haut niveau de livraison de la toxine au rein dû à sa perfusion importante, la grande surface de l'épithélium tubulaire rénal qui procure des sites d'interaction et de capture de la toxine, la disponibilité de transporteurs spécifiques qui prennent en charge l'internalisation, les mécanismes normaux de concentration du rein qui agissent pour augmenter la concentration urinaire et interstitielles des substances non réabsorbées, les processus métaboliques dans les cellules tubulaires qui peuvent conduire à des métabolites toxiques, et finalement le niveau métabolique élevé des cellules rénales requis par leurs fonctions normales (Weinberg, 1993).

3.2.2. Structure rénale

Une molécule néphrotoxique est susceptible de perturber le fonctionnement des reins ou d'altérer leur structure. Ainsi la connaissance de la structure et de la physiologie rénale est-elle indispensable à la compréhension de la pathogénie et de la physiopathologie des différentes néphropathies induites par certaines xénobiotiques.

Les reins occupent une position rétro péritonéale dans la région lombaire supérieure. Chaque rein porte une échancrure médiale (hile rénal) où l'on peut voir l'artère rénale, la veine rénale et l'uretère. Chaque rein est contenu dans une capsule fibreuse résistante. Une capsule de tissu adipeux fixe les reins à la paroi abdominale postérieure.

Sur une coupe frontale d'un rein, on distingue trois parties qui sont, de l'extérieur vers l'intérieur, le cortex rénal, la médulla rénale et le pelvis rénal. Des prolongements du pelvis

rénal (Calices rénaux) entourent les sommets des pyramides rénales et recueillent l'urine qui s'en écoule.

L'artère rénale, qui entre dans le rein, se divise en artère segmentaire puis en artères inter lobaires qui parcourent la médulla rénale et sont orientées vers l'extérieur. Les artères inter lobaires donnent ensuite naissance aux artères arquées qui se divisent en artères inter lobaires, les quelles alimentent le cortex rénal. Les veines qui transportent le sang hors du rein suivent le trajet des artères en direction opposée et ont des noms semblables à ceux de ces artères.

Les néphrons sont les unités structurales et fonctionnelles des reins. Chaque néphron comprend glomérule du rein et tubule rénal. Les subdivisions du tubule rénal sont (à partir du glomérule), la capsule glomérulaire rénale, le tubule contourné proximale, l'anse du néphron et le tubule contourné distal (Marieb, 2008).

3. 2.3. Principales lésions rénales

Toutes les zones du néphron sont potentiellement sujettes aux effets néfastes des toxiques allant légères altérations biochimiques responsables de dysfonctionnements mineurs de la fonction rénale jusqu'à la mort cellulaire conduisent à l'insuffisance rénale (Frank, 1992).

- Nécrose des cellules épithéliales

Dans la nécrose des cellules épithéliales peuvent être atteintes tout au long du système tubulaire, ou avec une prédominance au niveau de la partie distale du tube contourné.

- Vacuolisation épithéliale

Les cellules épithéliales tubulaires peuvent apparaître gonflées, comblant plus ou moins complètement la lumière du tube. Leur cytoplasme clarifié contient de nombreuses petites vacuoles, notamment au niveau des tubes proximaux (Richet, 1988).

3. 2.4. Procédures d'évaluation

Les examens morphologiques et fonctionnels du rein font partie des études de toxicité à court ou à long terme.

- **Analyses des urines**

- **Protéinurie**

En raison de leur taille, seulement une faible partie des protéines de faible poids moléculaire passe le filtre glomérulaire. Ces protéines sont facilement réabsorbées par les tubules proximaux et leur présence en grande quantité dans l'urine est une indication de la perte de la fonction de réabsorption (Frank, 1992).

La valeur des protéines totales chez le lapin est 54-80g/l (Quinton, 2003).

- **Glycosurie**

Le glucose présent dans le filtrat glomérulaire est totalement réabsorbé dans les tubules. La glycosurie et l'absence d'hyperglycémie indiquent une déficience tubulaire (Frank, 1992).

- **Analyse sanguine**

- **Urée sanguine**

L'azote sanguin, dérivé du métabolisme normal des protéines, est excrété dans l'urine. Un taux élevé indique généralement une atteinte glomérulaire.

L'urée chez le lapin varie entre 0.31-0.29 g/l (Quinton, 2003).

- **Créatinine**

La créatinine est un métabolite de la créatine, excrété complétement dans l'urine par filtration glomérulaire. Une élévation de sa concentration dans le sang est une indication de dysfonctionnement rénal (Frank, 1992).

Ce paramètre biochimique est de 5-25mg/l chez le lapin (Quinton, 2003).

Etude expérimentale

Objectifs

1. Déterminer les paramètres physicochimiques de l'huile de lentisque et du miel
- 1- Evaluer l'activité cicatrisante du mélange (miel + huile de lentisque).
- 2- Evaluer l'effet hépato protecteur de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L.
- 3- Evaluer de la toxicité sub-chronique de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L.

1. Effet d'un mélange de miel et de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* sur la cicatrisation des brûlures.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité d'un mélange de miel et de l'huile végétale extraite des fruits de *Pistacia lentiscus L.* pour la cicatrisation des brûlures expérimentales chez le lapin Néo-Zélandais.

1.1. Matériel et méthodes

1.1.1. Mesures des paramètres physico-chimiques de l'huile et du miel

Les tests de détermination des paramètres physico-chimiques de l'huile de lentisque (caractères organoleptiques, densité, indices de réfraction, d'acidité et de saponification) et du miel (examen organoleptiques et sucre inverti) ont été réalisés au niveau d'un laboratoire privé de contrôle de qualité à Constantine.

Les paramètres physico-chimiques mesurés et les méthodes utilisées pour leurs analyses sont résumés dans les tableaux 5 et 6.

Tableau 5 : Détermination des paramètres physico-chimiques de l'huile

Détermination	Méthodes
1- Caractères organoleptiques	
-Odeur et saveur	Olfactive
-Aspect à 20°C	Visuelle
-Couleur	Visuelle
-Consistance	Visuelle
-Hydrosolubilité	Visuelle
2- Indice d'acide	Titration
3- Acidité	Titration
4- Indice de réfraction	Réfractomètre
5- Densité à 20°C	Pycnométrie
6- Matières volatiles à 105°C	Gravimétrie

7-Indice de saponification	Titrage
----------------------------	---------

Tableau 6 : Détermination des Paramètres physico-chimiques du miel.

Détermination	Méthodes
1-Examen organoleptiques -Consistance - Couleur -Saveur	Visuelle Visuelle
2-Sucre interverti« saccharose »	Lane et Eynon

1.1.2. Médicaments

- L'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. a été fournie par un herboriste qui a recueilli les baies en Novembre 2010 à la région d'El Milia (Nord d'Algérie), dont l'extraction a été faite par une méthode traditionnelle (annexe 1). L'huile a été conservée au frais et protégée de la lumière jusqu'à utilisation.

- Cicatryl-Bio® : Produit commercial, a été acheté d'une pharmacie privée, utilisé pour soin complémentaire des peaux abimées par des agressions extérieures : plaies, écorchures, brûlures ou par des traitements physiques (laser, radiothérapie), ses ingrédients sont donnés en annexe 2.

- Miel a été fourni par un apiculteur à Ouled Arama, région de Mila (Nord d'Algérie), dont, la récolte, l'extraction et le conditionnement ont été faits par une méthode traditionnelle (annexe 3).

L'étude a été réalisée au laboratoire de Pharmacotoxicologie, Institut des Sciences Vétérinaires, Université Constantine 1, Algérie.

1.1.3. Animaux.

L'essai a été réalisé sur huit lapins Néo-Zélandais, mâles, adultes en bonne santé, pesant $2,49 \pm 0,1$ Kg au début de l'expérimentation, issus d'une ferme privée située à Ain M'lila (Nord d'Algérie).

Les animaux ont été gardés dans des cages individuelles dans un environnement standardisé, avec une température ambiante de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ et un cycle de lumière de 12h lumière-obscurité. L'aliment et l'eau ont été fournis *ad libitum*.

1.1.4. Protocole expérimental

L'essai préclinique a été réalisé conformément à la technique décrite par Hamdi-Pacha et al. (2002); au niveau du laboratoire pharmaco - toxicologie de l'institut des sciences vétérinaires de l'Université de Constantine 1.

Au jour zéro, les lapins ont été anesthésiés (5mg de diazépam[®], IM). Le dos de chaque lapin a été tondu avec une tondeuse électrique 24h avant le début de la manipulation (figure 16), ensuite les quatre zones à brûler ont été anesthésiées localement (Lidocaine 1 %, SC) (figure 17). Après cela, quatre brûlures circulaires (figure 18, 19), ont été faites sur le dos de chaque lapin de part et d'autre de la colonne dorsolombaire, 2 dorsales (gauche et droite) et 2 lombaires (gauche et droite) à l'aide d'un cylindre métallique (22 mm de diamètre) préalablement immergé dans l'eau bouillante pendant 3 minutes (100°C) et immédiatement séché et déposé sur la peau du lapin pendant 15 secondes sans exercer aucune force. Après refroidissement du cylindre métallique, les autres brûlures ont été réalisées de la même façon. Chaque animal a servi comme son propre contrôle.



Figure 16 : Tonte du dos d'un lapin avec une tondeuse électrique (original).



Figure 17 : Anesthésie locale en S/C avec la lidocaïne à 1% (original).

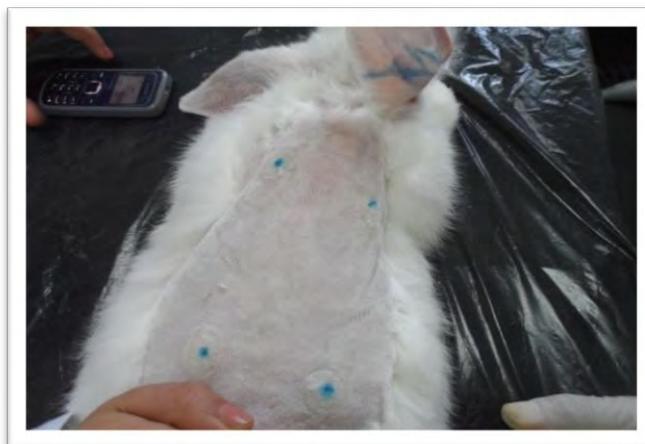


Figure 18 : Localisation des brûlures sur le dos de chaque lapin (original).



Figure 19 : Brûlure circulaire au premier jour de l'expérience (original).



Figure 20 : Marge d'une plaie tracée sur papier transparent (original).



Figure 21 : Prise du diamètre d'une brûlure par le pied à coulisse (original).

1.1.5. Traitement et évaluation du processus cicatriciel

Immédiatement après la réalisation des brûlures, les substances à tester ont été appliquées sur les plaies comme suit :

- Plaie 1: a été traitée par cicatryl Bio[®] à la dose de 0,5g/379,94mm².
- Plaie 2: a été couverte par le miel à la dose de 0,5g/379,94mm².
- Plaie 3: a reçu de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. (PLFO) à la dose de 0,5ml/379,94mm².
- Plaie 4: a été couverte du mélange miel et l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. à raison de 0,5g de miel + 0,5ml de l'huile lentisque (v/v) à la dose de 0,5g/379,94 mm².

Le traitement des plaies a été rotatif, de façon à ce que chaque produit a été appliqué dans la région dorsale chez les quatre lapins et au niveau des plaies lombaires pour le même nombre de lapins.

Tous les produits ont été appliqués par voie topique une fois par jour jusqu'à ce l'épithélialisation complète ait lieu. Les marges des plaies ont été tracées sur un papier transparent (figure 20), puis le diamètre des plaies a été pris par un pied à coulisse (figure 21); ce dernier a été utilisé pour calculer les surfaces moyennes des plaies en mm². On a mesuré le pourcentage de la contraction de la plaie chaque 4 jour (à j6, 10, 14, 18 et j22), en prenant la taille initiale de la plaie, 379,94 mm², comme 100%, en utilisant l'équation suivante :

Pourcentage de la contraction de la plaie = [(taille de la plaie initiale - taille de la plaie du jour spécifique)/ taille de la plaie initiale] x100 (Srivastava et Durgaprasad, 2008).

1.1.6. Modifications clinique et prise du poids corporel

Les lapins ont été évalués cliniquement chaque jour, l'observation a porté sur des signes cliniques (appétit, changement de comportement, des signes de douleur) et l'état des fèces (solide, liquide, présence de sang).

La prise du poids corporel des lapins a été réalisée une fois par semaine pendant toute la période de l'expérimentation.

1.1.7. Analyse statistique

Les données ont été exprimées en moyenne de 8 répétitions $\pm\delta 2$. Les résultats ont été analysés statistiquement à l'aide d'ANOVA à un facteur pour identifier les différences entre les groupes traités. Les différences ont été considérées significatives à $p < 0,05$.

1.2 Résultats

Les paramètres physico-chimiques de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* rapportés dans le tableau 7, ont révélés que l'huile en question est un liquide visqueux, huileux, de couleur verte, d'odeur et de saveur caractéristiques. Elle est insoluble dans l'eau avec une densité de 0.9154, un indice de réfraction de 1.464, indice de saponification de 187.5 et indice d'acide et d'acidité de 8.5.

Tableau 7: Paramètres physico-chimiques de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.*

Paramètres	Résultats
1-Caractères organoleptiques	
-Odeur et saveur	Caractéristique
-Aspect à 20°C	Liquide visqueux non limpide
-Couleur	Vert -caractéristique
-Consistance	Huileux
-Hydrosolubilité	Insoluble
2-Indice d'acide (mg KOH/g)	8.515
3-Acidité (mg KOH/g)	8.5
4-Indice de réfraction	1.464
5-Densité à 20°C (g/cm³)	0.9154
6-Matières volatiles à 105°C	0.2%
7-Indice de saponification (mg KOH/g)	187.5

Les paramètres physico-chimiques du miel rapportés dans le tableau 8 ont révélés que le miel utilisé; est un liquide visqueux, de saveur agréable avec un taux de sucre interverti «saccharose » de 0,83%.

Tableau 8: Paramètres physico-chimiques du miel.

Paramètres	Résultats
1-Examen organoleptiques	
- Consistance	Liquide visqueux
-Couleur	Miel
-Saveur	Agréable
2-Sucre interverti « saccharose »	0,83%

1.2.1. Evaluation de l'effet cicatrisant du mélange miel et l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.*

Les lapins ont survécu pendant toute la période expérimentale. Tous les animaux ont été en bonne santé et ils ont été disponibles pour l'évaluation. Les paramètres morphologiques ont été utilisés pour évaluer l'efficacité du mélange de l'huile végétale de *pistacia lentiscus L.* (PLFO) et le miel pour la cicatrisation des plaies, comparativement à un médicament de référence (Cicatryl Bio®) ainsi que le miel et l'huile de lentisque utilisés séparément.

PLFO: *Pistacia lentiscus L.* fatty oil

Les poids moyens des lapins traités n'ont pas changé de façon significative ($p < 0,05$) par rapport au poids moyen initial ($2,49 \pm 0,10$). Les poids obtenus après brûlures étaient de $2,54 \pm 0,09$ Kg au jour 7 et de $2,63 \pm 0,13$ au jour 14 et de $2,60 \pm 0,23$ Kg au 22^{ème} jour de l'expérience (tableau 9) et (figure 22).

Tableau 9: Modification du poids corporel des lapins (n=8)

jours	J0	J7	J14	J22
Poids corporel des lapins (moyenne ± variance)	2.49 ± 0.10	2.54± 0.09	2.63 ± 0.13	2.60 ± 0.23

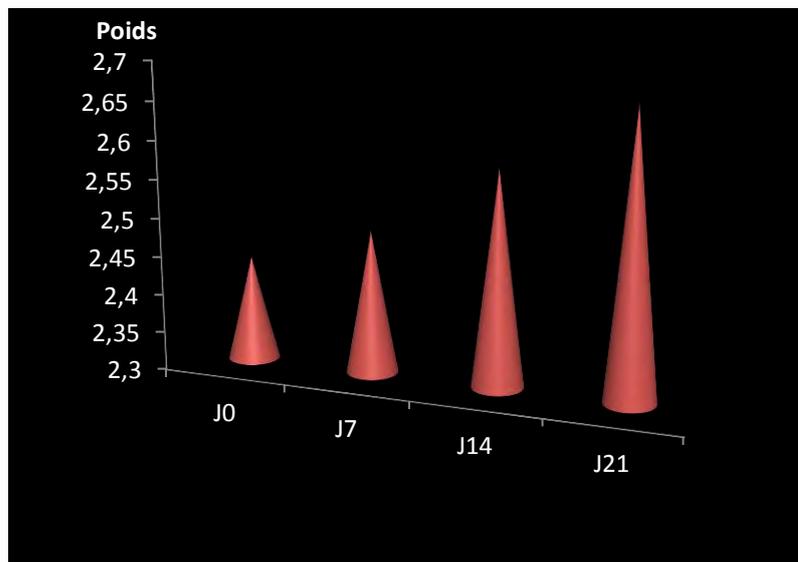


Figure 22: Développement du poids corporel des lapins (n=8)

Les résultats obtenus pour l'évolution des brûlures traitées avec différents produits, ont été donnés dans le tableau 10, en pourcentage de contraction de la plaie calculée chaque 4 jours jusqu'au 22 jour. Généralement, les pourcentages de contraction des plaies traitées avec l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. seul (PLFO), miel seul ou mélange (miel +PLFO) ont été significativement plus élevés que le pourcentage de contraction des plaies traitées par le médicament de référence du 2^{ème} au 22^{ème} jour.

Tableau 10 : Pourcentage de contraction des plaies à différents intervalles de temps de différents groupes traités.

Traitements	Contraction des plaies (%)*					
	J2	J6	J10	J14	J18	J22
Miel	16,15±1,32	20,59±2,63	52,28±1,16	73,81±1,14	94,51±1,36	98,44±0,86
PLFO	24,15±0,58	33,07±1,26	46,13±3,12	79,25±1,04	94,74±1,18	98,83±0,37
Miel+PLFO	19,18±1,95	31,89±1,35	46,11±2,07	70,80±1,77	94,91±1,39	98,22±0,8
Cicatryl®	7,70±1,17	18,41±1,75	24,8±1,42	58±1,61	80,68±0,69	95,79±0,79

Données statistiques

PLFO Vs Miel	S	S	S	S	NS	NS
PLFO Vs Cicatryl®	S	S	S	S	S	S
Miel Vs Cicatryl®	S	S	S	S	S	S
(Miel+PLFO) Vs PLFO	S	NS	S	S	S	S
(Miel +PLFO) Vs Miel	S	S	NS	S	NS	NS
(Miel +PLFO) Vs Cicatryl®	S	S	S	S	NS	NS

*Résultats exprimés en moyenne de 8 répétitions±&

PLFO =*Pistacia lentiscus* fatty oil.

S=*Significatif* ($p < 0,05$).

NS=*non-significatif* ($p > 0,05$).

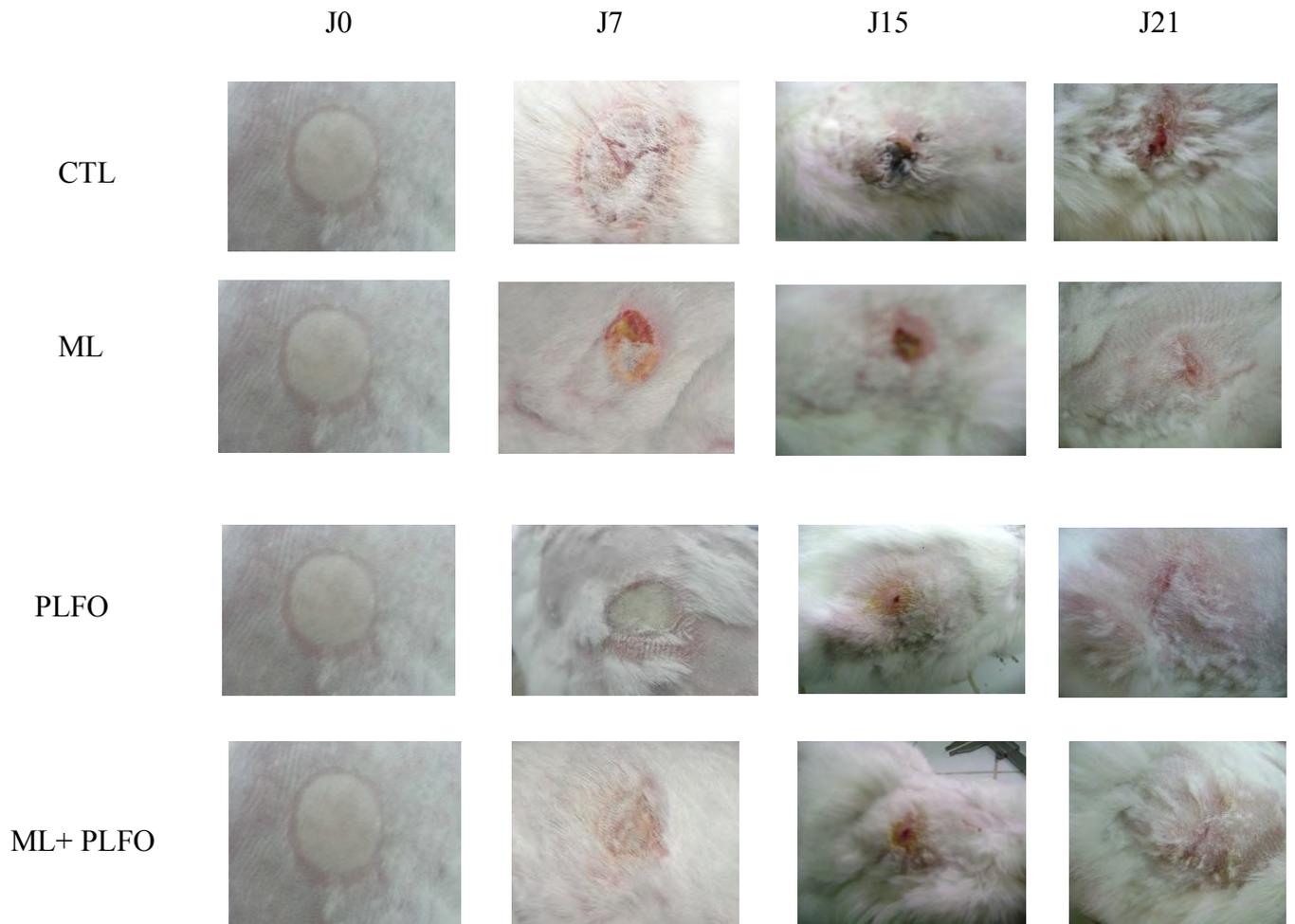


Figure 23: Chronologie de la cicatrisation des plaies de brûlures dans le model lapin (original).

CTL : Cicatryl Bio®

PLFO : *Pistacia lentiscus L.* fatty oil,

ML : Miel,

ML + PLFO: Mélange (miel + l'huile de lentisque)

1.3. Discussion

La détermination de divers indices, largement exigée par les pharmacopées, est intéressante en termes d'évaluation de la qualité des huiles végétales (Bruneton, 2009).

Les propriétés physico-chimiques de l'huile extraite de fruits de *Pistacia lentisque* L. sont indiquées dans le tableau 8.

La densité ou masse volumique dépend de la température et de la composition chimique de l'huile. Elle nous renseigne sur la nature de la composition en acide gras, notamment de la longueur de la chaîne, de la présence d'insaturation et de fonctionnalité sur la chaîne carbonée

La valeur de la densité représentée dans le tableau 8, mesurée pour l'huile de lentisque est de 0.9154g/cm^3 . Cette valeur est en accord avec les valeurs signalées par Boukeloua et *al.* (2012), à savoir une densité de l'ordre de $0,918 \pm 0,02$ pour l'huile de lentisque.

La valeur est de même ordre que celles trouvées pour certaines huiles végétales ; huile d'olive ($0,910 \text{ } \hat{R} \text{ } 0,916$), huile de palme ($0,895 \text{ } \hat{R} \text{ } 0,900$), huile d'avocat ($0,910 - 0,920$) (Karleskind, 1992).

Cependant certaines huiles végétales, comme celles des amandiers ou de l'argan, ont des densités plus faibles, respectivement égale à 0.906 et 0.900 (Francis et *al.*, 1984; Maurin, 1992; Boudjira, 2002).

L'indice de réfraction dépend, comme la densité, de la composition de l'huile et de la température. Il croit avec l'insaturation et la présence sur les chaînes grasses de fonctions secondaires. L'indice de réfraction mesuré pour l'échantillon de notre huile est de 1.464. Cette valeur est proche que celle reportée par Boukeloua et *al.* (2012) pour l'huile de lentisque ($1,465 \pm 0,03$) et celles reportées par Karleskind (1992), concernant les huiles d'olive, de palme et d'avocat, qui sont respectivement ($1,468-1,470$), ($1,453-1,458$) et ($1,464-1,474$).

L'indice d'acide nous renseigne sur le taux d'acides gras libres existant dans l'huile. La valeur de l'indice d'acide pour notre échantillon est de 8,515 mg KOH/g.

Cette valeur est proche de celle reportée par Boukeloua (2009), concernant l'huile de lentisque, qui est de 5,891-6,203.

Charef *et al.* (2008) reporte des valeurs d'acide de 7.7 ± 0.3 et de 24 ± 0.5 mg KOH/g, pour l'huile de lentisque, respectivement extraite des baies noires et rouges. La deuxième valeur, relativement élevée par rapport à notre échantillon (constitué essentiellement de fruit de couleur noirs et mures), signalée par Charef *et al.*(2008), pour les baies de couleur rouge, non encore mures, peut être expliquée par le fait que ces baies renferment un taux d'acides gras libres plus élevés par rapport aux baies mures de couleur noir.

Le résultat propre à l'indice de saponification de l'huile de lentisque figure dans le tableau 8, qui révèle une valeur de 187,5 mg KOH/g huile. Cette valeur est proche de celle reportée par Boukeloua *et al.*(2012) ($193,0 \pm 0,05$), mais elle, semble relativement élevée que celle obtenue par Charef *et al.* (2008), à savoir un indice de saponification de l'ordre de $147,8\pm 0.2$ pour l'huile extraite à partir des fruits noirs de *Pistacia lentiscus L.*, tandis que pour les fruits rouges, cet indice est de 154.6 ± 0.1 . La valeur de l'indice de saponification de l'échantillon de l'huile de lentisque est beaucoup plus en accord avec les valeurs signalées pour d'autres huiles. Selon Karleskind (1992), les huiles végétales d'olive, de palme et d'avocat ont respectivement des indices de saponification de 184 à 196, de 190 à 205 et de 177 à 198.

Quant au miel, la valeur du sucre « interverti » saccharose, représentée dans le tableau 9 est de 0,83%, qui est en accord avec le décret n°2003-587 du 30 juin 2003. En ce qui concerne le saccharose, on ne doit pas en trouver plus de 5g dans 100g de miel. Quelques particularités sont à détailler pour certains miels :

- Le miel d'acacia (*Robinia pseudoacacia*), de luzerne (*Medicago sativa*), d'agrumes et de quelques autres plantes exotiques, ce seuil est de 10g / 100g.
- En ce qui concerne le miel de lavande (*Lavandula spp.*) et de bourrache (*Borago officinalis*), on ne peut dépasser 15g / 100g.

L'évaluation du processus de cicatrisation a plusieurs approches telles que clinique, physique, physiologiques, biochimiques, histologiques et génétiques. L'étude a adopté des paramètres morphologiques, y compris le pourcentage de contraction de la plaie et la période d'épithélialisation.

De J2 à J14, la contraction de la plaie a été mieux dans le groupe traité par le mélange, ce dernier a marqué une meilleure contraction que le miel seul, mais cette contraction a été significativement inférieure ($p < 0,05$) que celle obtenue dans le groupe PLFO.

Dans le 6^{ème} jour, le mélange a été mieux que le miel mais la différence avec le groupe PLFO était non significative ($p > 0,05$).

Au 10^{ème} jour le mélange n'a pas amélioré le pourcentage de contraction de la plaie par rapport au miel ($p > 0,05$), notant que ce pourcentage a été significativement inférieur ($p < 0,05$) que celle obtenue dans les plaies traitées par l'huile seul.

Dans le 14^{ème} jour, la contraction du mélange (PLFO + Miel) a été significativement inférieure ($p < 0,05$) que celle obtenue avec du miel ou de l'huile utilisée séparément.

Aux jours 18 et 22, aucune différence significative ($p > 0,05$) n'a été observée entre le mélange de PLFO et le miel ainsi que les deux produits utilisés séparément, en outre les résultats ont montré un pourcentage de contraction de la plaie semblable en cas de PLFO ou du miel utilisé séparément.

Ces résultats obtenus dans la présente étude confirment d'autres études antérieures qui ont testé PLFO ou du miel séparément.

Si le miel est bien étudié depuis longtemps, peu de rapports sont disponibles sur PLFO. Notre équipe a confirmé scientifiquement les propriétés curatives de PLFO; cette huile végétale a montré une véritable activité de cicatrisation sur les brûlures expérimentales dans le modèle lapin, en diminuant la phase inflammatoire, favorisant la contraction de la plaie et en réduisant la période d'épithélialisation (Djerrou et *al.*, 2010).

Selon la littérature, le miel produit rapidement la régénération tissulaire et réduit l'inflammation, l'œdème et l'exsudation. Sa viscosité élevée offre une barrière de protection pour éviter l'infection des blessures, effectivement sceller la plaie (Molan, 1999). Le miel fournit un pansement humide cicatrisant qui empêche la croissance bactérienne, même si la plaie est fortement infectée Mwipatayi et *al.*, 2004. Un environnement humide est connu pour protéger la plaie, réduire les taux d'infection et la douleur, débrime les tissus nécrosés, favorise la granulation et la formation des tissus (Subrahmanyam, 1998). Le pH du miel est

faible et varie entre 3,2 - 4,5 avec une prédominance de l'acide gluconique (Abdullah Adil Ansari et Clemencia Alexander, 2009).

Le pH acide contribue à un environnement idéal pour l'activité fibroblastique, migration, prolifération et l'organisation du collagène, ce qui entraîne une stimulation de la cicatrisation des plaies (Mwipatayi et *al.*, 2004).

Dans la présente étude, le mélange de PLFO et le miel (v/v) a amélioré l'effet du miel pendant les six premiers jours du traitement; cette période correspond à la phase inflammatoire (Park et Barbul, 2004).

Au 10^{ème} jour, la différence entre le mélange et le miel est devenue non significative sur le plan statistique, mais le mélange a montré une importante réduction de la contraction des plaies au 14^{ème} jour de l'expérience, cette période correspond à la moitié de la seconde phase proliférative et le remodelage (Park et Barbul, 2004) (figure 22).

1.4. Conclusion

Notre étude a mis en évidence certaines informations, concernant les aspects physicochimiques de l'huile de lentisque et le miel. Ce genre de données pourrait contribuer à valoriser ces produits traditionnellement utilisés dans le traitement des plaies et brûlures.

Selon les résultats obtenus :

- L'huile de lentisque a une densité relative et un indice de réfraction très proches aux résultats donnés par d'autres huiles végétales.
- Son acidité et son indice d'acide sont acceptables, comparativement à d'autres valeurs données par d'autres auteurs pour la même huile.
- Un indice de saponification de 187.5, compatible avec d'autres valeurs reportées par d'autres auteurs pour la même huile.
- Quant au miel, la valeur de notre échantillon est dans les normes, selon le décret n°2003-587 du 30 juin 2003.

L'étude a montré que l'huile de lentisque et le miel favorisent la contraction des plaies dans les différents stades de processus de cicatrisation. Cependant, l'huile a montré une meilleure contraction de la plaie pendant la réaction inflammatoire et les phases prolifératives. Le mélange de ces deux produits (v/v) a permis d'améliorer l'effet du miel pendant la réaction inflammatoire progressivement, mais la différence est devenue non significative lors du 10^{ème}

jour et a marqué une importante réduction au 14ème jour. Après les différences n'ont pas été statistiquement significative.

Compte tenu de ces résultats, nous suggérons que le mélange de miel et PLFO peut être justifié pendant la phase inflammatoire du processus de la cicatrisation des brûlures.

2. Effet hépato protecteur de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. chez le rat *Wistar*.

Cette étude consiste à évaluer l'effet hépato protecteur de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. chez le rat *Wistar* intoxiqué par le tétrachlorure de carbone (CCl₄).

2.1. Matériel et méthodes

L'étude a été réalisée au laboratoire de Pharmaco-toxicologie, Institut des sciences vétérinaires, Université Constantine 1, Algérie.

2.1.1. Animaux et conditions d'hébergement

Les animaux d'expérience sont des rats mâles de variété *Wistar* pesant entre 240-260g issus de l'animalerie de l'Université Constantine 1.

Les rats ont été partagés aléatoirement en 4 groupes de 6 dans des cages standards pour une période d'acclimatation (2 semaines) avant d'être utilisés dans cette expérience. Pendant cette période les animaux ont un accès libre à la nourriture et à l'eau et ont été maintenus dans une animalerie à température constante (22±2) °C soumis à un cycle de lumière /obscurité de 12/12h.

2.1.2. Produits utilisés

- Les fruits de *Pistacia lentiscus* L. ont été récoltés dans la région d'El Milia (Nord d'Algérie) et l'huile a été extraite par une méthode traditionnelle (annexe 1).
- CCl₄ et Ether : Produits chimiques ont été obtenus du magasin des produits chimiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Constantine 1, Algérie.

2.1.3. Mode opératoire

Les rats ont été divisés en quatre groupes de six rats chacun et ont été gardés dans les mêmes conditions. Les groupes traités ont été gavés à l'aide d'une sonde gastrique pendant 15 jours (figure 24).

- Groupe I (6 rats) : Contrôle ou témoin sain(CRL), qui reçoit quotidiennement par voie orale 2ml d'eau distillée.
- Groupe II (6 rats) ou groupe PLFO1: Ces rats reçoivent chaque jour par voie orale 2ml/Kg d'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. (PLFO) et le toxique, tétrachlorure de carbone (CCl₄) chaque 3 jours à la dose de 1.5ml/Kg.

- Groupe III (6 rats) ou groupe PLFO2: Ces animaux reçoivent chaque jour par voie orale 4ml/Kg d'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* (PLFO) et le toxique, (CCl4) chaque 3 jours à la dose de 1.5ml/Kg.
- Groupe IV (6 rats) ou groupe CCl4: Ces rats qui reçoivent chaque 3 jours par voie orale le toxique, (CCl4) à la dose de 1.5ml/Kg.

L'administration du toxique, CCl4 a été effectué par voie orale 60 mn après le gavage des rats par l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* (Narayan et al., 2012).



Figure 24 : Administration par voie orale de l'huile de lentisque (original).

2.1.4. Modifications cliniques et prise du poids

Les rats ont été évalués cliniquement, le premier jour toutes les 60 minutes pendant les 8 premières heures, et tous les jours une seule fois à la même heure pour une durée de 15 jours.

Pendant cette période d'observation on note le nombre de mortalité ainsi que les troubles symptomatologiques observés, afin de déceler les effets de l'huile de lentisque.

Ce suivi des signes cliniques inclut l'observation de l'évolution de poids chez les rats des différents groupes expérimentaux tout au long de la période d'expérience.

La prise du poids corporel a été réalisée tous les 7 jours pendant les 2 semaines.

2.1.5. Analyse biochimique

Les animaux traités, qui ont survécu jusqu'à la fin de l'expérience, ils ont été anesthésiés le 16^e jour avec l'éther. Les échantillons du sang ont été prélevés par ponction cardiaque dans des tubes stériles héparines puis centrifugés à 3000rpm pendant 10mn pour récupérer le sérum.

Le dosage des paramètres a été effectué au niveau du laboratoire de Biochimie, Polyclinique de Ain Smara, Constantine, et inclut l'ALAT, l'ASAT, la créatinine (CREA), l'urée, l'acide urique et le glucose (GLU).

2.1.6. Anatomie pathologique et histologie

Dans la présente étude, tous les animaux traités et non traités ont été soumis à une autopsie générale complète et qui a comporté: l'examen de la surface externe du corps, de tous les orifices, des cavités (crânienne, thoracique et abdominale) et de leurs contenus. Le foie, les reins, les poumons, le cœur et la rate ont été conservés dans un milieu approprié (Formaldéhyde à 10%) en vue d'un éventuel examen histopathologique ultérieur (annexe 4).

2.1.7. Analyse statistique

Les résultats ont été analysés statistiquement à l'aide d'ANOVA à un facteur pour identifier les différences entre les groupes de traitement. Les données ont été considérées significatives à $p < 0.05$.

2.2. Résultats

Au cours de la période d'expérimentation, aucune mortalité n'a été observée chez les rats et qui ont été disponibles pour l'évaluation.

2.2.1. Modifications cliniques et poids corporel

Tous les animaux des quatre groupes expérimentaux (PLFO1, PLFO2, CCl4 et groupe témoin (CRL) ont été cliniquement et physiologiquement normaux pendant la période expérimentale, malgré quelques signes cliniques habituels observés comme l'anorexie, l'hypoactivité, qui sont réversibles et sont apparus chez les rats pendant une courte période. L'administration quotidienne de l'huile de menthe à différentes doses ainsi que le CCl4 n'a pas perturbé l'évolution corporelle des rats (tableau11). Le gain de poids obtenu après 15 jours du début de l'expérimentation a été de 34.649 ± 10.82 g/rat dans le groupe PLFO1, il a

été de 23.26 ± 2.51 g/rat dans le groupe PLFO2, a été de 20.83 ± 4.144 dans le groupe CCl4 et de 62.374 ± 14.501 g/rat pour les rats témoins.

Tableau 11: Evolution du poids corporel des rats mâles *Wistar* traités à l'huile de lentisque et CCl4 comparé avec le lot témoin.

Groupes/poids corporel(g)	J0	J7	J15
PLFO1	239.528±28.194	250.996±26.606	274.177±17.381
PLFO2	235.996±20.036	234.14±55.440	259.256±22.546
CCL4	255.47±29.570	273.45±31.910	276.3±33.714
Témoin(CRL)	254.248±33.717	261.285±47.369	316.622±48.218

2.2.2. Analyse biochimique

Les effets de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* sur les enzymes hépatiques (ALAT et ASAT) des rats intoxiqués par CCl4 sont résumés dans le tableau 12.

Les résultats ont montré une augmentation significative de l'ALAT et de l'ASAT dans les groupes des rats intoxiqués par CCl4 par rapport au groupe de contrôle (CRL). Le traitement des rats par l'huile de lentisque à la dose de 2ml/Kg (PLFO1) a montré une diminution non significative de l'ALAT, mais une diminution significative de l'ASAT par rapport au contrôle et au groupe des rats intoxiqués par le CCl4. En revanche le traitement des rats par l'huile de lentisque à la dose de 4ml/Kg(PLFO2) a montré une augmentation significative ($p < 0.05$), des deux enzymes hépatiques (ALAT et ASAT) par rapport au groupe témoin ainsi qu'au lot des rats intoxiqués par CCl4.

Le traitement des rats par l'huile de lentisque à la dose de 4ml/Kg (PLFO2) a montré une augmentation significative des transaminases par rapport au groupe traité à la dose de 2ml/Kg (PLFO1).

Donc dans le groupe PLFO2, l'huile n'a pas réussi à réduire l'activité de l'une des deux enzymes hépatiques mesurés (ALAT et ASAT).

Le traitement avec l'huile de lentisque à la dose de 4ml/Kg (PLFO2) n'a montré aucun effet hépato protecteur comme en témoignent les paramètres hépatiques élevés.

Les résultats exposés dans le tableau 14, ont montré qu'il n'a pas eu d'importantes modifications sur la glycémie et les indicateurs des reins (CREA, urée et acide urique).

Tableau 12: Paramètres biochimiques des rats mâles *Wistar* traités à l'huile de lentisque et CCl4 comparés avec le lot témoin.

Para -biochi Groupes	ALAT (UI/L)		ASAT (UI/L)		GLU (g/L)		CREA (mg/L)		UREE (mg/L)		Acide urique (mg/L)	
	M N	Var	MN	Var	MN	Var	MN	Var	MN	Var	MN	Var
CRL	45.25	10.91	150.75	7.56	0.94	0.013	6.25	10.92	0.32	0.0092	16.8	140.7
CCl4	93.40	5.85	178.6	8.58	1.05	0.303	6.4	3.80	0.174	0.0024	8.83	17.77
PLFO 1	91.25	0.96	150	9.20	1.5	0.192	4.5	3.00	0.178	0.0015	10.20	45.20
PLFO 2	108	27.20	236	2.00	1.026	0.146	5.5	3.7	1.04	2.057	10.25	65.58
CRL versus CCl4	S		S		NS		NS		NS		NS	
CCl4versus PLFO1	NS		S		NS		NS		NS		NS	
CCl4 versus PLFO2	S		S		NS		NS		NS		NS	
PLFO1versusPLFO2	S		S		NS		NS		NS		NS	

Para-biochi : Paramètres biochimiques, MN : Moyenne, Var : Variance *Significatif à p<0.05*

3.2.3. Anatomie et histopathologie

L'aspect général des organes des lapins traités a été normal mais leurs poids relatifs ont été affectés, malgré que l'étude statistique a montré aucune différence significative entre les différents groupes (tableau 13, figures 25, 26, 27, 28 et 29). Ces organes font l'objet d'étude anatomopathologique et histologique, vu que certains produits pourraient altérer l'une ou l'autre des fonctions de ces organes. Ces études ont porté essentiellement sur les organes suivants: foie, reins, poumons, rate, et le cœur.

La structure histologique des différents organes n'a montré aucune anomalie à l'examen microscopique des coupes après préparation et coloration à l'hématoxyline-éosine.

Tableau 13: Poids des organes des rats mâles *Wistar* traités à l'huile de lentisque et CCl4 comparés avec le lot témoin.

	Foie	Rein	Poumons	Rate	Cœur
CRL	7.777 ± 0.893	0.873 ± 0.122	2.025 ± 0.22	0.840± 0.209	1.042±0.189
PLFO1	9.287 ± 0.982	0.857 ± 0.052	2.044 ± 0.212	0.74 ± 0.084	0.95± 0.060
PLFO2	10.038 ± 2.005	1.1 ± 0.343	2.371 ± 0.346	0.737± 0.068	1.165±0.109
CCl4	9.244 ± 1.327	0.900 ± 0.130	2.428 ± 0.643	0.682± 0.142	0.947±0.139

CRL vs CCl4	NS	NS	NS	NS	NS
CCl4 vs PLFO1	NS	NS	NS	NS	NS
CCl4 vs PLFO2	NS	NS	NS	NS	NS
PLFO1 vs PLFO2	NS	NS	NS	NS	NS

Significatif à p<0.05.

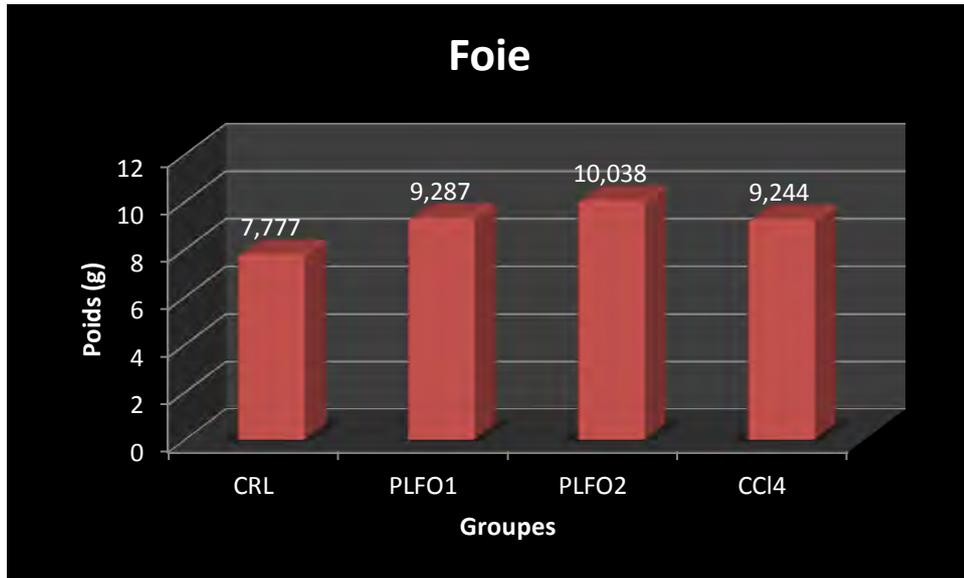


Figure 25 : Comparaison du poids du foie du groupe témoin et les rats traités par voies orales à différentes doses de PLFO1, PLFO2 et CCl4.

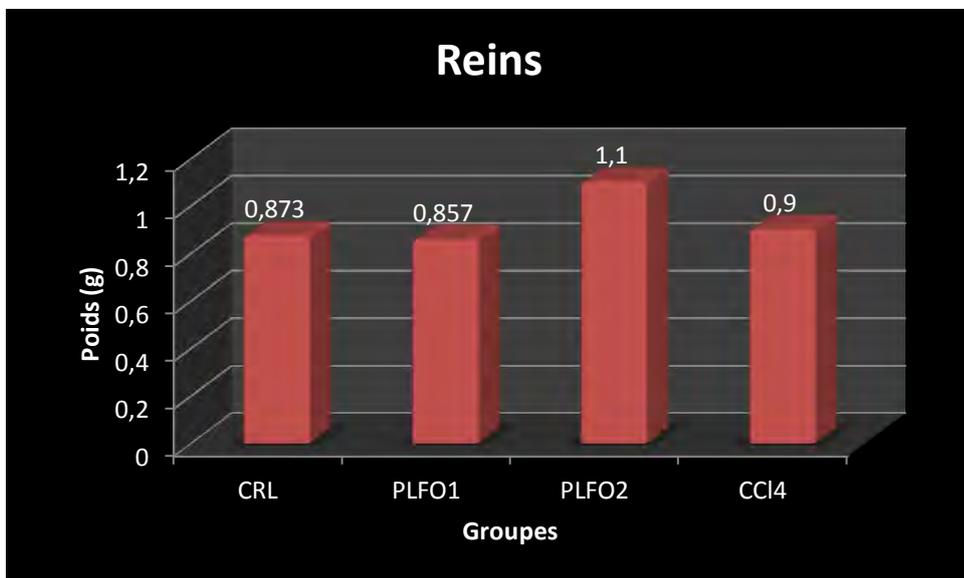


Figure 26 : Comparaison du poids des reins du groupe témoin et les rats traités par voies orales à différentes doses de PLFO1, PLFO2 et CCl4.

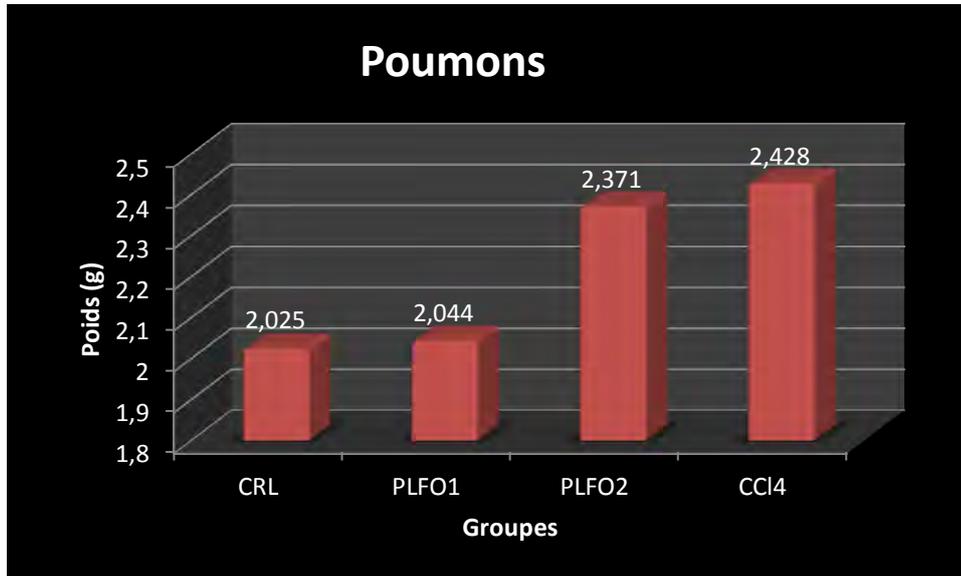


Figure 27 : Comparaison du poids des poumons du groupe témoin et les rats traités par voies orales à différentes doses de PLFO1, PLFO2 et CCl4.

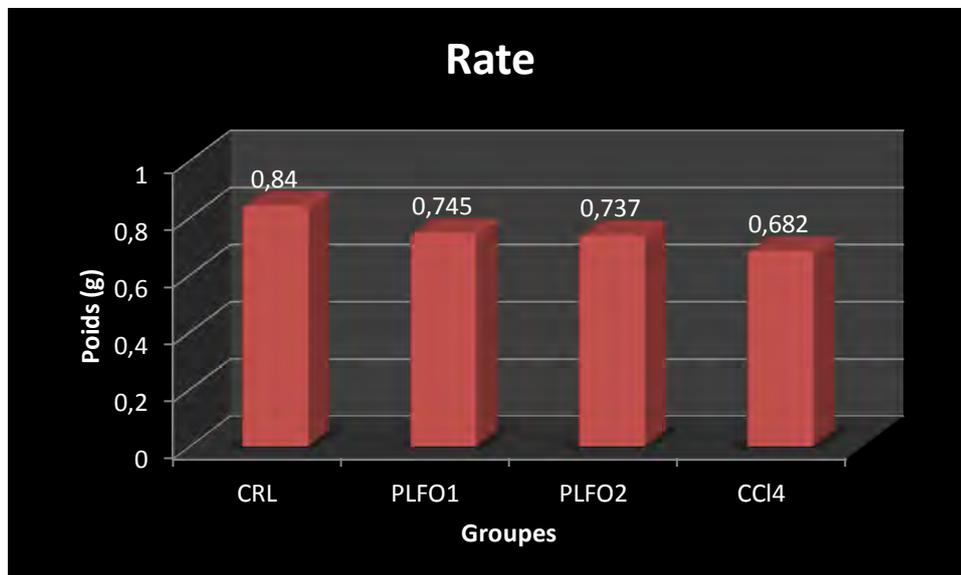


Figure 28 : Comparaison du poids de la rate du groupe témoin et les rats traités par voies orales à différentes doses de PLFO1, PLFO2 et CCl4.

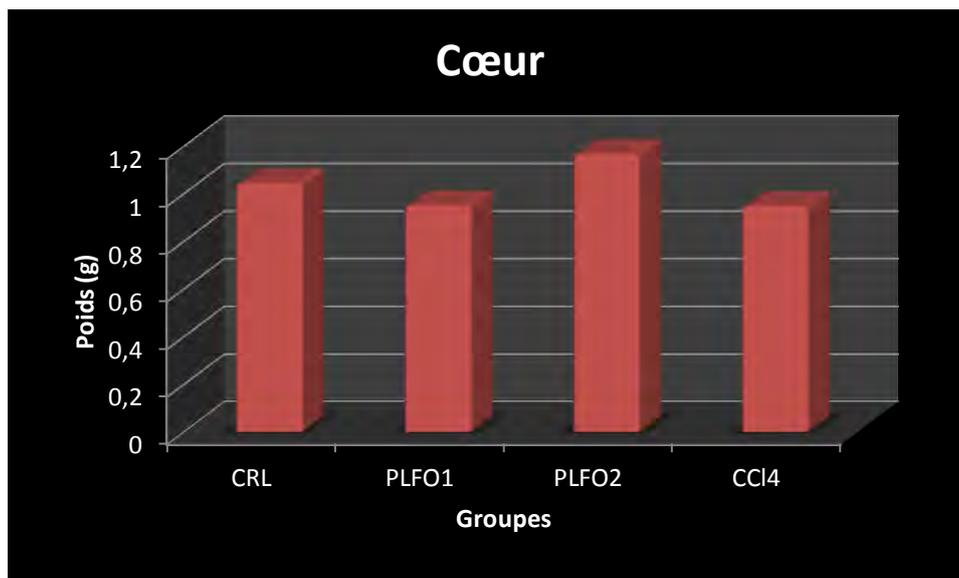


Figure 29: Comparaison du poids du cœur du lot témoin et les rats traités par voie orale à différentes doses de PLFO1, PLFO2 et CCl4.

2.3. Discussion

Le foie est un organe vital, qui joue un rôle majeur dans le métabolisme des xénobiotiques de l'organisme. Les lésions hépatiques ou le dysfonctionnement du foie est un problème de santé majeur qui interpelle non seulement les professionnelles de la santé mais aussi l'industrie pharmaceutique et les organismes de réglementation des médicaments (Ramkanth *et al.*, 2010).

Les changements biochimiques sont complexes, les hépatotoxiques agissant par différents mécanismes. Le tétrachlorure de carbone (CCl₄) est utilisé pour induire l'hépatotoxicité expérimentale car il est le plus communément utilisé d'une part et d'autre part, il induit une pathologie rencontrée en clinique : lésions de stéatose, nécrose hépatocytaire et même cirrhose (Youssef *et al.*, 2003). Le tétrachlorure de carbone est la molécule la plus étudiée, qui se transforme au niveau des microsomes hépatique (oxydation par le cytochrome P 450) en radical trichlorométhyle CCl₃[•], ce dernier se lie de façon covalente avec des protéines et des lipides insaturés et induit une peroxydation lipidique suivie d'une série de perturbations biochimiques comme l'accumulation des triglycérides due à l'obstruction dans la synthèse de la lipoprotéine, désagrégation polyribosomiale, dépression de la synthèse des

protéines, des niveaux élevés d'enzymes marqueurs sériques (ALAT, ASAT et ALP), l'épuisement du glutathion, oxydation lipidique accrue, décomposition membranaire et mort cellulaire (Malaya Gupta et *al.*, 2007 ; Narayan et *al.*, 2012).

Les membranes cellulaires, riches en lipides insaturés sont très sensibles à ses altérations qui peuvent être la cause de leur rupture, qui se traduit par la présence dans le sérum de nombreuses enzymes libérées à partir du cytosol et des organites subcellulaires (mitochondries, lysosomes, noyaux) après atteinte hépatique, a été utilisé comme indicateur d'hépatotoxicité (Frank C, 1992).

La capacité hépatoprotectrice d'un médicament pour réduire les effets préjudiciables ou pour préserver le mécanisme hépatophysologique normal qui a été perturbé par une hépatotoxine est l'indice de ses effets protecteurs (Narayan et *al.*, 2012).

L'estimation des enzymes (ALAT et ASAT) comme marqueurs sériques peut faire une évaluation de la fonction hépatique.

Dans notre étude, les profils biochimiques des rats traités et témoins sont présentés dans le tableau 14. Il y a eu une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'ALAT et l'ASAT chez les rats intoxiqués par CCl₄, en comparaison avec ceux du groupe normal.

Le traitement par l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* a montré une augmentation significative de l'ASAT et de l'ALAT dans le groupe PLFO2 par rapport au groupe PLFO1. Une diminution non significative ($p > 0.05$) de l'ALAT, mais avec une diminution significative ($p < 0.05$) de l'ASAT à la dose 2ml/Kg (PLFO1) en comparaison avec le lot CCl₄ a été enregistrée.

Pour l'ALAT, les résultats comparatifs ont montré une augmentation significative ($p < 0.05$) de PLFO2 en comparaison avec le groupe CCl₄ et une augmentation significative ($p < 0.05$) aussi de PLFO2 par rapport au PLFO1. En revanche les résultats ont montré une diminution non significative ($p > 0.05$) de PLFO1 comparé au groupe CCl₄.

Les niveaux accrus des enzymes marqueurs sériques (ALAT et ASAT), ont été observés chez les rats traités par CCl₄ dans notre expérience. En revanche une stabilisation du niveau de l'ASAT près de la normale est observée dans le groupe PLFO1.

La dose de 4ml/Kg de l'huile de lentisque (PLFO2) a provoqué une aggravation des lésions déduites par rapport à la morphologie du foie est ces paramètres biochimiques spécifiques.

Une variété d'enzymes normalement situées dans le cytosol ; sont libérées dans la circulation sanguine. L'augmentation en parallèle de l'ASAT et de l'ALAT reflète l'étendu de la cytolysé hépatique dans les hépatites infectieuses Révirales ou toxiques -, la cirrhose et le syndrome de cholé stase (Kubab et *al.*, 2006).

Les altérations biochimiques étaient inhibées partiellement par un prétraitement avec l'huile de lentisque (PLFO1). En revanche ce prétraitement à dose élevée (PLFO2) des rats intoxiqués par CCl4 a aggravé l'effet hépatotoxique. On suggère que le traitement préventif par l'huile de lentisque à la dose 2ml/Kg(PLFO1) peut agir comme un agent hépato protecteur.

Dans des travaux antérieurs, l'extrait aqueux non bouilli des fleurs de *Pistacia lentiscus L.* a montré une activité anti-hépatotoxique, en réduisant de manière significative les quatre paramètres (ALAT, ASAT, ALP et bilirubine). Les résultats de cette étude ont révélé une efficacité de *Pistacia lentiscus* dans le traitement de l'ictère hépatique chez le rat, et il peut donc être utilisé comme un traitement potentiel promoteur de l'ictère humain (Janakat et Al-Merie, 2002).

2.4. Conclusion

Dans ce travail une tentative a été faite pour prouver scientifiquement l'utilisation de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* dans la prévention des maladies du foie. Nous pouvons conclure qu'à la dose de 4ml/Kg, une augmentation excessive des taux des enzymes sériques a été enregistrée, mais à la dose de 2ml/Kg, une diminution non significative ($p > 0.05$) de L'ALAT, avec diminution significative de l'ASAT ont été notées. Donc cette dernière dose 2ml/Kg peut être recommandée dans la prévention des maladies du foie.

3. Evaluation de la toxicité sub-chronique de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* chez le lapin Néozélandais.

Cette étude consiste à déterminer la toxicité sub-chronique de l'huile de lentisque par voie orale. Le but recherché est de déterminer d'éventuelle toxicité de *Pistacia lentiscus L.* sur les lapins en fonction des doses administrées.

3.1. Matériel et méthodes

L'étude a été réalisée au laboratoire de Pharmaco-toxicologie, Institut des sciences vétérinaires, Université Constantine 1, Algérie.

3.1.1. Animaux

L'essai de toxicité sub-chronique a été réalisé sur 28 jours, sur des lapins mâles de race Néozélandaise (albinos), pesant entre 2,5-3Kg au début de l'expérience, issus d'une animalerie à Ain M'Lila (Nord d'Algérie).

Les animaux ont été répartis en trois groupes, de six lapins, dans des cages individuelles standard, dans un environnement standard avec une température de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, 50 à 75% d'humidité et un cycle de lumière de 12h de lumière- obscurité. L'alimentation et l'eau ont été fournies *ad libitum*.

3.1.2. Médicament

L'huile végétale de *Pistacia lentiscus* a été fournie par un herboriste qui a recueilli les baies en Novembre 2010 à la région d'EL Milia (Nord d'Algérie), dont l'extraction a été faite par une méthode traditionnelle (annexe1).

3.1.3. Mode opératoire

L'étude a été réalisée sur dix-huit lapins. Après une acclimatation de sept jours dans les conditions du laboratoire, les animaux ont été divisés suivant le poids en trois lots, de six lapins et qui ont été traités par l'huile de lentisque comme suit:

- Lot I: reçoit 0,5ml/ Kg;
- Lot II: reçoit 1ml/ Kg;
- Lot III: reçoit une dose de 2ml/Kg.

Tous les traitements se font par voie orale, une fois par jour pendant 28jours (Albert et *al.*, 2011)(figure 30).

Les animaux ont été observés sur le changement de comportement général et de mortalité pour une période de 28jours.



Figure 30: Administration par voie orale de l'huile de lentisque (original).

3.1.4. Analyse biochimique

Des prélèvements sanguins ont été effectués, sur tubes héparinés, de la veine marginale de l'oreille du lapin à J0 et J28 (figure 31).

Le sérum obtenu par centrifugation à 3000 rpm pendant 10mn, a été conservé à -20°C jusqu'à son utilisation pour l'analyse (Albert et *al.*, 2011).

Les paramètres sanguins sélectionnés ont été réalisés, dans le laboratoire de biochimie du Centre Hospitalo-Universitaire de Batna, par un analyseur biochimique (Architecte CI 2800), inclus aspartate amino transférase (ASAT), alanine amino transférase (ALAT), la créatinine sanguine(CREA), la glycémie(Glu) et l'urée.



Figure 31: Prélèvement sanguin de la veine marginale de l'oreille du lapin (original).

3.1.5. Modification clinique et détermination du poids

Les lapins ont été évalués cliniquement chaque jour, l'observation a porté sur l'état physiologique, mortalité et d'autres signes cliniques observés (par exemple, appétit, changement de comportement, des signes de douleur) et l'état des fèces (solide, liquide, présence de sang et de mucus).

Le poids corporel des animaux a été enregistré à la fin de chaque semaine.

3.1.6. Anatomie pathologique et histologie

Les animaux traités ont été soumis à une autopsie générale complète et qui a comporté : l'examen de la surface externe du corps, de tous les orifices, des cavités (crânienne, thoracique et abdominale) et de leurs contenus.

Le foie, reins, poumons, cœur et rate ont été pesés à l'état humide, le plutôt possible après dissection, pour éviter leur dessiccation.

Les organes et tissus suivants ont été conservés dans un milieu approprié (formaldéhyde 10%) en vue d'un éventuel examen histopathologique ultérieur : Foie, Reins, Poumons, Œsophage, Intestin et Estomac (annexe 4).

3.1.7. Analyse statistique

Les résultats des différents paramètres ont été analysés statistiquement à l'aide d'ANOVA à un facteur pour identifier la différence entre les différents groupes de traitement. Les données ont été considérées significatives à $p < 0.05$.

3.2. Résultats

Au cours de la période d'expérimentation, aucune mortalité n'a été observée chez les animaux. Tous les lapins ont resté en bonne santé et ils ont été disponibles pour l'évaluation.

3.2.1. Modifications cliniques et poids corporel

Après administration de l'huile lentisque à des doses graduelles (0.5,1,2ml/Kg), les animaux n'ont montré aucun symptôme clinique grave de souffrance durant les 28 jours d'observation, malgré quelques signes cliniques habituels comme l'anorexie, l'hypoactivité et écoulement nasal, ce dernier est apparu chez les lapins du lot traité à la dose de 2ml/Kg, vers le 4^{ème} jours et qui a persisté jusqu'à la fin de l'expérimentation avec la mort d'un lapin du même lot au 22^{ème} jour.

Aucune différence significative n'a été observée dans le poids corporel des trois lots, début de l'expérimentation et la fin. Aucun changement n'a été observé dans la prise du poids chez les trois groupes (tableau 14).

Tableau 14 : Poids corporel des lapins Néo-Zélandais mâles traités à l'huile de lentisque à différentes doses par voie orale.

Groupes/Poids corporel(g)	JO		J7		J14		J21		J28		ANOVA (J0-J28)
	MN	Var	MN	Var	MN	Var	MN	Var	MN	Var	
0.5ml/Kg(PLFO1)	2.66	0.145	2.546	0.163	2.546	0.141	2.53	0.144	2.55	0.087	NS
1ml/Kg(PLFO2)	2.69	0.156	2.71	0.046	2.74	0.033	2.79	0.014	2.828	0.008	NS
2ml/Kg(PLFO3)	2.708	0.179	2.548	0.132	2.793	0.642	2.51	0.045	2.49	0.084	NS

PLFO2 vs PLFO1	NS	NS	NS	NS	NS
PLFO3 vs PLFO1	NS	NS	NS	NS	NS
PLFO3 vs PLFO2	NS	NS	NS	S	S

MN: Moyenne

Significatif à $p < 0.05$

Var : Variance

3.2.2. Analyse biochimique

L'analyse statistique des paramètres biochimiques a été enregistrée dans les tableaux 15, 16, 17, 18 et 19. Les taux d'enzymes hépatiques ont été réduits chez les lapins traités aux doses (1ml et 2ml/Kg) par PLFO.

L'Aspartate amino transférase (ASAT) a montré une diminution significative ($p < 0.05$) chez les lapins du lot II et III (tableau 15), tandis que l'Alanine amino transférase (ALAT) a été réduite de manière non significative chez les trois lots traités à différentes doses par le PLFO (tableau 16). En revanche la glycémie plasmatique a été significativement plus élevée chez les lapins du lot I (0.5ml/Kg) par rapport aux lots II et III (1 et 2ml/Kg) (tableau 17). Pour les indicateurs des reins (l'urée et la créatinine), les résultats ont montré des perturbations chez les lapins des 3 lots traités par l'huile de lentisque à différentes doses (tableaux 18 et 19).

Tableau 15 : L'aspartate amino transaminase ASAT des lapins Néo-Zélandais mâles traités à l'huile de lentisque à différentes doses par voie orale.

Groupes /ASAT (IU/L)	J0		J28		ANOVA (J0-J28)
	MN	Variance	MN	Variance	
0.5ml/Kg(PLFO1)	43	398	31	76.8	NS
1ml/Kg(PLFO2)	60.66	321.06	30.66	70.26	S
2ml/Kg(PLFO3)	63.66	283.46	33.66	73.86	S

PLFO2 versus PLFO1	NS	NS
PLFO3 versus PLFO1	NS	NS
PLFO3 versus PLFO2	NS	NS

MN : Moyenne

Significatif à $p < 0.05$

Tableau 16: L' amino alanine transaminase ALAT des lapins Néo-Zélandais mâles traités à l'huile de lentisque à différentes doses par voie orale.

Groupes/ ALAT (IU/L)	JO		J28		ANOVA (JO-J28)
	MN	Variance	MN	Variance	
0.5ml/Kg(PLFO1)	26	143.6	43	299.2	NS
1ml/Kg(PLFO2)	34.33	8026	30	51.2	NS
2ml/Kg(PLFO3)	39	560	28	62	NS

PLFO2 versus PLFO1 NS NS

PLFO3 versus PLFO1 NS NS

PLFO3 versus PLFO2 NS NS

MN : Moyenne

Significatif à $p < 0.05$

Tableau 17 : La glycémie des lapins Néo-Zélandais mâles traités à l'huile de lentisque à différentes doses par voie orale.

Groupes/ GLU (g/L)	JO		J28		ANOVA (JO-J28)
	MN	Variance	MN	Variance	
0.5ml/Kg(PLFO1)	1.33	0.003	1.24	0.002	S
1ml/Kg(PLFO2)	1.22	0.01	1.25	0.005	NS
2ml/Kg(PLFO3)	1.27	0.01	1.12	0.175	NS

PLFO2 versus PLFO1 NS NS

PLFO3 versus PLFO1 NS NS

PLFO3 versus PLFO2 NS NS

Significatif à $p < 0.05$

MN : Moyenne

différentes doses par voie orale.

Groupes/ CREA (mg/L)	J0		J28		ANOVA (J0-J28)
	MN	Variance	MN	Variance	
0.5ml/Kg(PLFO1)	11.33	0.666	15.16	0.566	S
1ml/Kg(PLFO2)	10.66	0.666	15.33	1.466	S
2ml/Kg(PLFO3)	11.66	1.466	13	4	NS

PLFO2 versus PLFO1 NS NS

PLFO3 versus PLFO1 NS S

PLFO3 versus PLFO2 NS S

MN : Moyenne
Significatif à $p < 0.05$

Tableau 19: L'urée des lapins Néo-Zélandais mâles traités à l'huile de lentisque à différentes doses par voie orale.

Groupes /Urée (g/L)	J0		J28		ANOVA (J0-J28)
	MN	Variance	MN	Variance	
0.5ml/Kg(PLFO1)	0.23	0.006	0.706	0.152	S
1ml/Kg(PLFO2)	0.3	2^{E-4}	0.316	0.0029	NS
2ml/Kg(PLFO3)	0.37	5.6^{E-4}	0.266	0.0017	S

PLFO2 versus PLFO1 NS S

PLFO3 versus PLFO1 S S

PLFO3 versus PLFO2 S NS

MN : Moyenne
Significatif à $p < 0.05$

3.2.3. Anatomie et histopathologie

L'aspect général des organes des lapins traités ainsi que leurs poids relatifs ont été non affectés (tableau 21) sauf les poumons du lapin mort (2ml/Kg), avait un poids relativement supérieur (hypertrophie). Ces organes font l'objet d'étude anatomopathologique et histologique, vu que certains produits pourraient altérer l'une ou l'autre des fonctions de ces organes.

Ces études ont porté essentiellement sur les organes suivants : foie, reins, œsophage, poumon, intestin et estomac.

L'histologie de différents organes des animaux traités a montré, qu'ils étaient en meilleur état morphologique et architectural. Aucune anomalie à l'examen microscopique des coupes après préparation et coloration à l'hématoxyline-éosine (figure 32 et 33).

Tableau 20: Poids des organes des lapins Néo-Zélandais mâles traités à l'huile de lentisque à différentes doses par voie orale

Groupes/ Poids des organes (g)	Foie		Reins(2)		Poumons		Cœur		Rate	
	MN	Var	MN	Var	MN	Var	MN	Var	MN	Var
0.5ml/Kg (PLFO1)	65.306	1.814	15.023	2.518.	11.233	0.256	7.955	0.123	1.52	0.161
1ml/Kg (PLFO2)	71.19	23.55	14.25	4.564	10.376	6.496	9.403	0.03	2.043	0.842
2ml/Kg (PLFO3)	61.43	72.346	15.06	4.733	11.32	4.027	7.853	1.352	1.89	0.166
PLFO2 vs PLFO1	S		NS		NS		S		S	
PLFO3 vs PLFO1	NS		NS		NS		NS		NS	
PLFO3 vs PLFO2	S		NS		NS		S		NS	
MN: Moyenne Var : Variance Significatif à P<0.05										

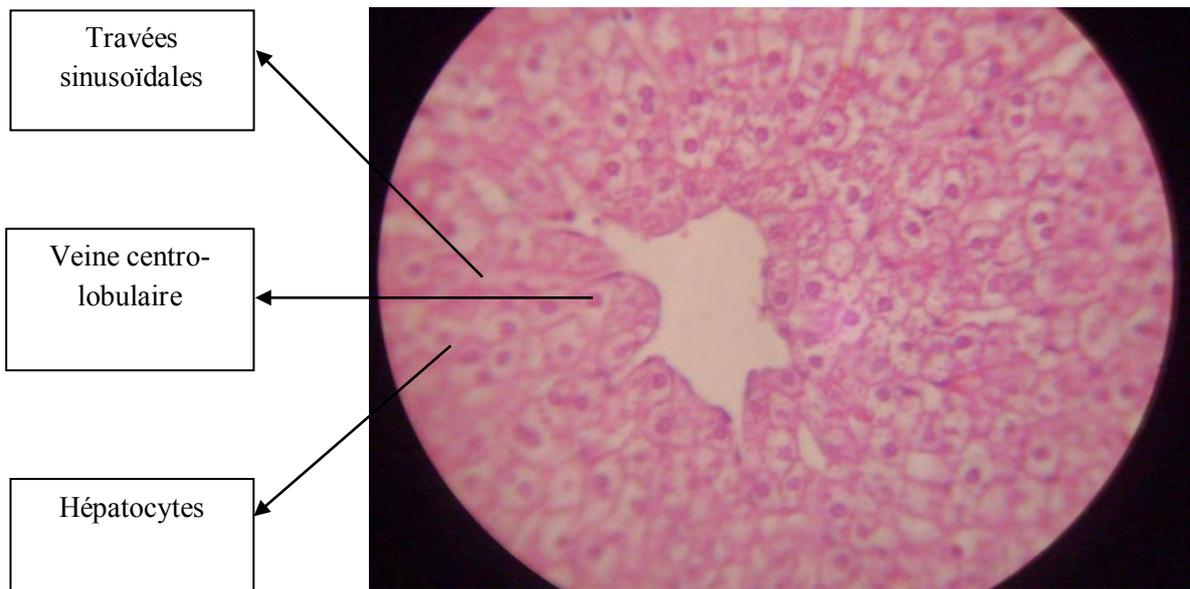


Figure 24 : Micrographie du foie en coupe transversale (G:40X10) (original)

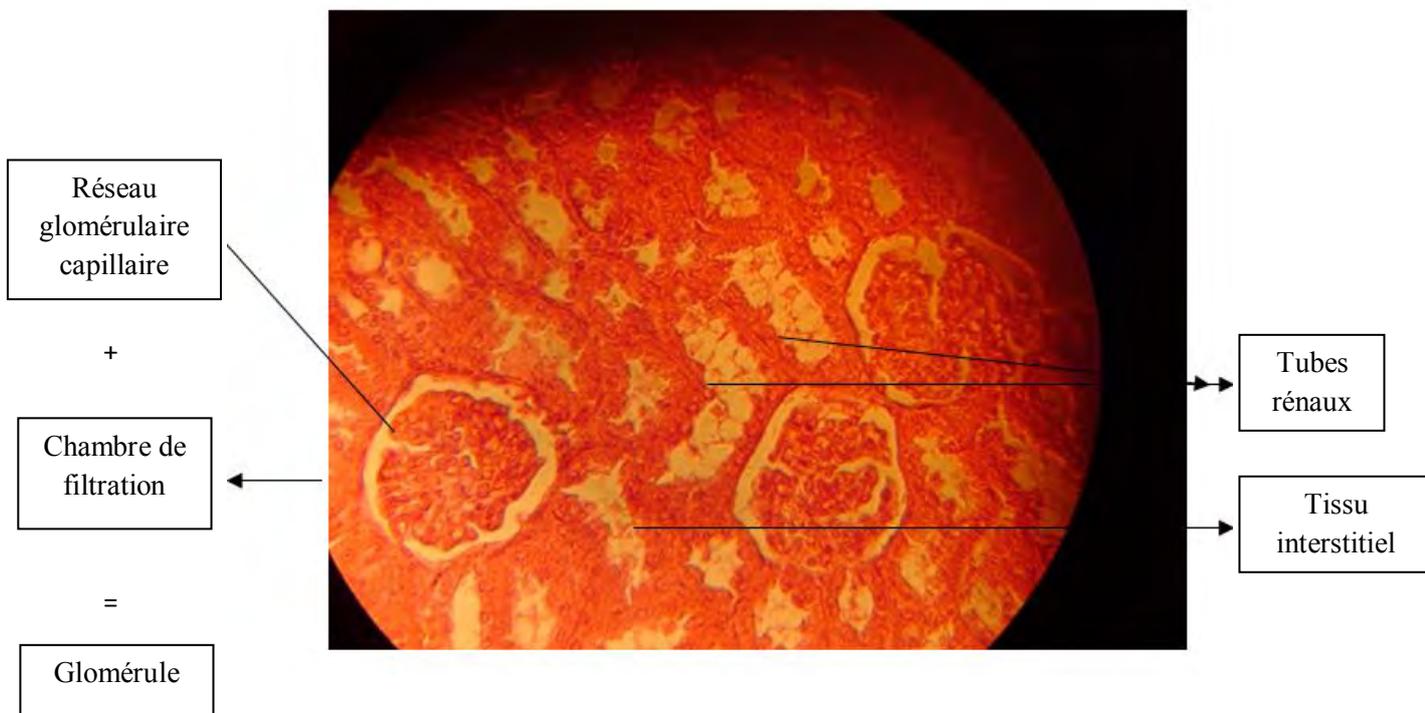


Figure 25 : Micrographie du rein en coupe transversale (G:40X10) (original)

3.3. Discussion

Dans la présente étude, les lapins n'ont pas présenté de signes de toxicité pendant toute la période expérimentale. Les animaux des trois lots ont montré un comportement normal.

Aucune différence significative n'a été observée dans la prise du poids corporel des trois lots traités, ainsi que le poids des organes (tableau 14, 21).

L'analyse des paramètres sanguins est pertinente pour l'évaluation des risques et que les changements dans le système sanguin ont une valeur prédictive pour la toxicité humaine, lorsque les données sont converties à partir des études animales (Adel et *al.*, 2010). Lorsque les cellules du foie sont endommagées, une variété d'enzymes sont libérées dans la circulation sanguine (Narayan et *al.*, 2012).

Lorsque l'on compare les trois lots, l'ANOVA a révélé des perturbations dans l'urée, la créatinine(CREA) et l'ASAT. Ce pendant l'ALAT et la glycémie(Glu), n'ont pas changé de manière significative dans les trois lots traités.

Dans notre cas, la fonction hépatique a été évaluée par la mesure des transaminases (ALAT et ASAT). La fonction rénale a été évaluée par la mesure des concentrations de l'urée et la créatinine plasmatiques. (Manjeshwar et *al.*, 2004, Adel et *al.*, 2010, Harizal et *al.*,2010 ,Albert et *al.*, 2011). En ce que concerne les données biochimiques, tous les paramètres biochimiques sanguins étudiés dans cette étude étaient dans les limites physiologiques tel que rapporté par Quinton, (2003). En outre, nos résultats ont montré une diminution significative de l'ASAT. Les concentrations en UI/L étaient de 43 à J0, 31 à J28 pour le lot I (0.5ml/Kg), de 60.66 à JO, 30.66 à J28 pour le lot II (1ml/Kg) et de 63.66 à JO, 33.66 à J28 pour le lot III (2ml/Kg) (tableau 15).

En général, du J0 à J28 l'activité de l'ASAT a été significativement réduite dans le lot II et dans le lot III traité respectivement à la dose 1 et 2ml /Kg du poids corporel, ces résultats s'accordent avec ceux trouvés par Djerrou et *al* (2011) à la dose de 1ml par voie rectale. Selon cette étude, la diminution de l'ASAT (Aspartate Amino Transaminase) des lapins traités à différentes doses pourrait indiquer une amélioration de la fonction hépatique en raison d'une possible activité hépatoprotectrice de l'huile de lentisque. Cette propriété pharmacologique a été étudiée chez *Pistacia lentiscus* par Al-Janakat et Al-Merie (2002) sur l'extrait aqueux de cette plante (à la fois bouilli et non bouilli) ont marqué l'activité anti-

hépatotoxique contre CCl₄ (Tétrachlorure de Carbone) en réduisant l'activité des trois enzymes (ALP, ALAT et ASAT) et le taux de bilirubine. Ils ont conclu que *Pistacia lentiscus* est efficace dans le traitement de l'insuffisance hépatique (jaunisse) chez le rat.

La glycémie a été diminuée de façon significative dans le lot I (0.5ml/Kg) de 1.33 à J0, 1.24 à J28, augmentée non significativement dans le lot II (1ml/Kg) de 1.22 à J0, 1.25 à J28 et diminution non significative dans le lot III (2ml/Kg) de 1.27 à J0, 1.12 à J28.

AJ28 aucune différence significative entre les différents lots à différentes doses. Ces perturbations ont été dans la fourchette des normes physiologiques comme a été rapporté par Quinton (2003).

Pour l'urée la comparaison entre les différents lots de l'étude a montré qu'à J0, une augmentation non significative entre le lot II et I a été enregistrée, mais une augmentation significative entre le lot III et I ainsi que pour le lot III et II. A J28 une diminution significative a été enregistrée entre le lot II et I ainsi que pour le lot III et I contre une diminution non significative entre le lot III et II.

De J0 à J28, une augmentation significative à la dose 0,5 ml/Kg (PLFO1), mais cette augmentation est non significative à la dose de 2ml/Kg (PLFO3), contre une diminution significative à la dose de 1ml/Kg (PLFO2). Ces perturbations ont été dans la fourchette des normes physiologiques comme a été rapporté par Quinton (2003).

Au début de l'expérimentation la créatinine a été significativement plus élevée dans le lot III que dans le groupe I, ainsi que dans le lot III par rapport au lot II. Par contre, une diminution non significative dans le lot II par rapport au lot I a été enregistrée. A J28, les résultats ont montré une augmentation significative entre le lot III et I, ainsi que pour le lot III et II, contre une diminution non significative entre le lot II et I.

De J0 à J28, une augmentation significative à la dose de 0,5 et 1ml/Kg, contre une augmentation non significative à la dose de 2ml/kg. Ces perturbations ont été dans la fourchette des normes physiologiques comme a été rapporté par Quinton (2003).

Dans la présente étude, l'administration par voie orale de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* n'a eu aucun effet sur les paramètres biochimiques, à l'exception d'une diminution significative de l'ASAT à la dose de 1ml et 2ml/Kg conduisant à un impact positif de cette huile sur la fonction hépatique, une diminution significative de la glycémie à la dose de

0.5ml/Kg a été enregistré laissant penser à un effet hypoglycémiant possible et des perturbations des indicateurs de la fonction rénale (créatinine, l'urée). L'ALAT a été non affecté (tableau 16, 18 et 19).

Il est raisonnable d'en déduire que l'administration subchronique de PLFO n'a pas causé des dommages au foie et aux reins. Ceci a été confirmé par l'examen histopathologique des organes sélectionnés (foie et reins) récupérés à partir des animaux traités montrant une architecture normale. L'histologie hépatique des lots traités, présente des hépatocytes mal conservés, travées dissociées, pas de nécrose, parenchyme avec des sinusoides dilatés donc pas d'altération cellulaire. Au niveau rénal, il y avait un léger œdème interstitiel, mais sans retentissement sur la fonction rénale.

L'examen histopathologique suggère qu'il n'y avait pas de troubles morphologiques provoqués par l'administration quotidienne par voie orale de PLFO pendant 28 jours, même à la dose la plus élevée (2ml/Kg).

Compte tenu de la dose humaine de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* dans la médecine traditionnelle en Algérie, qui est environ deux cuillères à café à deux cuillères à soupes selon l'âge, et le fait que l'huile végétale n'est jamais prise par voie intra péritonéale, il est prudent de penser que l'utilisation traditionnelle de PLFO ne pose pas de risque de toxicité .

D'après Boukeloua et *al*, (2012), la DL50 de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* par voie orale et de 37ml/Kg de poids corporel et de 2.52 ml/Kg de poids corporel par voie intra péritonéale. Ces résultats montrent la faible toxicité de cette huile.

Un soutien supplémentaire vient du fait que les animaux sont plus sensibles à la toxicité orale que l'homme (Tahraoui et *al.*, 2012).

Les résultats suggèrent qu'aux doses administrées par voie orale, l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* est non toxique chez le model lapin.

Pour confirmer la nature non toxique d'un produit d'origine végétale, on doit prendre en considération plusieurs facteurs qui peuvent modifier son profil de toxicité y compris le stade de croissance, de maturité de la plante, la partie spécifique utilisée de la plante (feuilles, racines, graines), la saisonnalité, variation de l'abondance relative des composés

phytochimiques, les conditions de stockage du produit (fraichement prélevé ou stocké pour une longue période), etc.

Pour équilibrer les effets de ces variables, les études devraient être menées avec l'extrait végétal fait avec des plantes entières, fraîchement récoltées de différents stades de croissance.

Des études supplémentaires à long terme avec des doses progressives sont nécessaires pour se prononcer sur les effets indésirables à long terme avec l'utilisation d'un grand effectif d'animaux pour mieux comprendre la cause des perturbations notamment celles de la fonction rénale.

3.4. Conclusion

Les doses orales testées pour l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.*, dans l'étude de toxicité sub-chronique chez le lapin, peuvent être considérées comme non toxique. Elles n'ont pas causé de létalité, de changement dans le comportement général des animaux ainsi que les paramètres biochimiques.

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans la présente étude, l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* a été fournie par un herboriste qui a récolté les baies et extrait l'huile par une méthode traditionnelle. Cette étude a pu mettre en évidence certaines informations notamment sur les aspects physico-chimiques, quelques effets pharmacologiques tels que l'évaluation de l'efficacité du mélange miel et l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* dans le traitement des brûlures cutanées chez le model lapin ainsi que l'évaluation de son activité hépato protectrice chez le rat intoxiqué par le CCl₄.

Le test toxicologique a été porté sur l'évaluation de la toxicité sub-chronique de cette huile qui nous a retenus l'attention par sa réputation en médecine traditionnelle.

A la lumière des résultats obtenus, on peut tirer les conclusions suivantes :

L'étude a permis de mesurer certains paramètres physico-chimiques de l'huile de lentisque, à savoir :

- L'huile de lentisque a une densité relative et un indice de réfraction très proche aux résultats donnés par d'autres huiles végétales ;
 - Son acidité et son indice d'acide sont acceptables, comparativement à d'autres valeurs données par d'autres auteurs pour la même huile ;
 - Son indice de saponification est de 185.5
-
- Le test de l'évaluation de l'activité cicatrisante du mélange huile de lentisque et miel, a révélé que l'huile et le miel ont montré des propriétés cicatrisantes .Cependant, l'huile végétale a montré une meilleure contraction de la plaie pendant la réaction inflammatoire et les phases prolifératives. Le mélange de ces deux produits (v/v) a permis d'améliorer progressivement l'effet du miel pendant la réaction inflammatoire, mais la différence est devenue non significative lors du 10^e jour (P>0.05) et a marqué une importante réduction au 14^ejour. Après la différence n'était pas statistiquement significative (P>0.05). Compte tenu de ces résultats, nous suggérons que le mélange miel et l'huile peut être justifié pendant la phase inflammatoire du processus de cicatrisation.

- De même une tentative a été faite pour prouver scientifiquement l'utilisation de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* dans le traitement des maladies du foie. Nous pouvons conclure qu'à la dose de 2ml/Kg, l'effet toxique du CCl₄ a été contrôlé de manière significative par la restauration des enzymes hépatiques (ALAT et ASAT), mais à la dose de 4ml/Kg une augmentation excessive des taux des enzymes sériques a été enregistrée. Donc cette dernière peut être recommandée dans le traitement des maladies du foie à la dose de 2ml /Kg.
- Quant à la toxicité subchronique de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.*, cette dernière a été bien tolérée, aucune perturbation anatomique ou fonctionnelle n'a été constatée. L'administration par voie orale de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* n'a eu aucun effet sur les paramètres biochimiques, à l'exception d'une diminution significative de la glycémie à la dose de 0.5ml/Kg et une diminution significative de l'ASAT pour les doses de 1ml et 2ml/Kg. Les indicateurs de la fonction rénale (créatinine, l'urée) ont montré des perturbations significatives, mais qui ont été dans la fourchette des normes physiologiques. L'ALAT a été non affectée. Nous pouvons conclure que les doses orales testées pour l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* dans l'étude de toxicité subchronique chez le lapin, peuvent être considérées comme non toxique, elles n'ont pas causé de létalité, de changement dans le comportement général, ainsi que des paramètres biochimiques.

Les paramètres physicochimiques mesurés sont d'une étendue limitée, car propre à un échantillonnage limité à la région d'El Milia. Etendre ces déterminations à d'autres huiles provenant de diverses régions du pays, permettra certainement d'apprécier l'indice de la variabilité naturelle sur l'expression métabolique, reflétée par les propriétés physico-chimiques de l'huile.

En somme, plusieurs interrogations, se posent, notamment l'identité des molécules à l'origine de la cicatrisation observée chez les lapins et l'effet hépatoprotecteur observé chez le rat, de même que la cause des perturbations des paramètres biochimiques, en l'occurrence la créatinine et l'urée pour le test de toxicité sub-chronique.

Des recommandations peuvent être faites :

- Étendre les essais d'innocuité à la mesure de la toxicité (aigue, subaiguë et chronique) la tératogenèse, la mutagenèse et la carcinogenèse.
- Doser les alphas globulines et les Gama Globulines Transpeptidase qui sont plus spécifique au foie.
- Augmenter l'effectif des lapins pour une meilleure étude statistique.

Ces données d'efficacité et d'innocuité permettront de mieux juger le rapport bénéfice/risque de ce produit, largement utilisé par la médecine traditionnelle, malgré le peu de connaissance entourant sa toxicité et notamment son innocuité.

Références bibliographiques

Références

1. Abdullah Adil Ansari and Clemencia Alexander, 2009. Effect of natural honey (Produced by African scutellaria in Guyana) against bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) and fungus (*Candida albicans*). *World J. Dairy & Food Sci.*, 4 (1):73-77.
2. Abraham J. 1996. The molecular and cellular biology of wound repair, C. RAF, Editor. 1996, New York: Plenum Press. p. 195-248.
3. Adel Tahraoui, Zafar H. Israili, Badiaa Lyoussi. 2010. Acute and sub-chronic toxicity of lyophilized aqueous extract of *Centaurium erythraea* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 132(2010)48-55.
4. Adler L.S. 2000. The ecological significance of toxic nectar. *OIKOS*, 91, 409-420
5. Ait said S, Fernandez C, Greff S, Torre F, Derridj A, Ganquelin T, Mery J.P. 2011. Inter population variability of terpenoid composition leaves of *Pistacia lentiscus L.* from Algeria: A chemoeological approach. *Molecules* 2001, 16, 2646-2657; doi: 10.3390/molecules16032646.
6. Ait Youssef M. 2006. Plantes médicinales de Kabylie. Ed: *Ibis Press*, p261, 261.
7. Albert D. Atsamo, Téléphore. B. Nguéléfack, Jacques. Y. Datté, Albert Kamany. 2011. Acute and subchronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae) in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 134(2011) 697-702.
8. Al-Mamarya M, Ali Al-Meerib, Molham Al-Haborib. 2002. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22: 1041–1047.
9. Amhamdi H, Fatima Aouinti, Jean Paul Wathelet et Ali Elbachiri. 2009. Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus L.* from Eastern Morocco. *Rec. Nat. Prod.* 3:2(2009)90-95.
10. Andrée Mathieu – Serra. 2011. La cicatrisation indispensable à la survie ou une affection à vie? *Le médecin du Québec*, volume 46, numéro 10, Octobre 2011.
11. Assie B, Descottes B. 2004. Le miel comme agent cicatrisant. Thèse d'exercice: Médecine. Toulouse: Toulouse III. p115.
12. Attipou K, Anoukoum T, Ayite A, Missouhou K, James K. 1998. Traitement des plaies au miel. Expérience du CHU de Lomé. *Medicine d'Afrique Noire*: 1998, 45(11).
13. Ballot F.C. 2009. Miels et gelée royale: Leur origine, leur nature, leur composition et leurs propriétés reconnues. *Phytoter.* 7(2):87-90.
14. Bangroo A.K, Khatri R, Chauhan S. 2005. Honey dressing in pediatric burns. *J Indian Assoc Pediatr Surg.* 10 (3):172-175.

15. Batra R S. 2005. Surgical techniques for scar revision. *Skin Therapy Lett* 2005; 10 (4): 4-7.
16. Belfadel F.Z.2009. Huile de fruits de *Pistacia lentiscus*-Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques. Mémoire présentée pour obtenir le diplôme de Magistère en chimie organique, Université Constantine 1, 2009, p 139.
17. Bellakhdar J. 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. *Ibis Press*, Paris, p 764.
18. Bensegueni A, Belkhiri A, Boulebdia N, Keck G. 2007. Evaluation de l'activité cicatrisante d'un onguent traditionnel de la région de Constantine sur les plaies d'excision chez le rat. *Sciences & Technologie C* – N°26, décembre (2007), p.83-87.
19. Billerberck V. G, Roques C, Vanière P, Marquier P. 2002. Hygienes. 2002. *Volume X - N°3*.
20. Boudjira M. 2002. Contribution à l'étude Biochimiques de l'huile d'Arganier (*Argania spinosa L.*)Mem. Ing. Agro., I.N.A, p55.
21. Boukeloua A. 2009. Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia lentiscus L.* (ANACARDIACEAE). Mémoire de magister en biologie. Université Constantine1, 2009, p50.
22. Boukeloua A, Belkheri A, Djerrou Z, Behri L, Boulebdia N, Hamdi- pacha Y. 2012. Acute toxicity of *Opucia ficus indica* and *Pistacia lentiscus* seed oils in mice. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* (2012) 9(4):607-611
23. Boullard B.2001. Dictionnaire des plantes médicinales du monde: Réalités et Croyance, Ed: Estem, p414, 415.
24. Boulebdia N, Belkheri A, Belfadel, FZ, Bensegueni A, Bahri L. 2009. Dermal wound healing effect of *Pistacia lentiscus* fruit's fatty oil.*Pharmacognosy research[Phgog Res.]1(2):66-71.*
25. Bugge T.H, Kombrinck K.W, Flick M. J, Daugherty C. C, Danton M. J, Degen J. L, 1996. Loss of fibrinogen rescues mice from the pleiotropic effects of plasminogen deficiency. *Cell.*, 1996. 87(4): p. 709-19.
26. Brown E.J.1995. Phagocytosis. *Bioessays.*, 1995. 17(2): p. 109-17.
27. Bruneton. 2009. Pharmacognosie, phytothérapie, plantes médicinales. Ed : Tec et Doc. p 151.
28. Bruneau. 2002. Les produits de la ruche. *In Le traité rustica de l'apiculture.* Paris, Rustica, 2002, p. 354-384.
29. Charef M, Yousfi M, Saidi M , Stocker P. 2008. Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria. *J Am Oil Chem Soc* (2008) 85:921–924.

30. Carherine, P- Squarcioni.2006. Histologie de la peau et des follicules pileux. *M/S, médecine sciences*, Vol-22, n° 2, 2006, p.131-137.
31. Chauvin R. 1968. Action physiologique et thérapeutique des produits de la ruche. In: *Traité de biologie de l'abeille*. Ed: Masson et Cie, Paris, Tome 3, 116-154.
32. Clark R.A.1989. Wound repair. *Curr Opin Cell Biol.*, 1989.1(5): p. 1000-8.
33. Clark R. A. 1990. Fibronectin matrix deposition and fibronectin receptor expression in healing and normal skin. *J Invest Dermatol.*, 1990. 94(6 Suppl): p. 128S-134S.
34. Clark R. A, Ashcroft G. S, Spencer M. J, Larjava H, Ferguson M. W. 1996. Re-epithelialization of normal human excisional wounds is associated with a switch from alpha v beta 5 to alpha v beta 6 integrins. *Br J Dermatol.*, 1996. 135(1): p. 46-51.
35. Clark R.A.F.1997.Wound Repair overview and general considerations, in themolecular and cellular biology of wound repair, R.A.F. Clark, Editor. 1997, Plenum Press: *New York*. p. 636.
36. Catier O, Roux D. 2007. Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, 3^{ème} édition, Ed: Wolkers Kluwer, p. 9.
37. Cooper R. A. 2005. The antimicrobial activity of honey. In White R, Cooper R. Molan P. Honey: a modern wound management product. *Advancis Medical* (Ed.): 24-32.
38. CODEX ALIMENTARIUS 2010 – CX/RVDF 10/19/10 Discussion paper on veterinary drugs in honey production.
39. Cushine T.P, Lamb A. J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents*.26 (5):343-356.
40. Cronin R.E., Henrich W.L, ToxicNephropathies, in Hillal G, Albert C, Vallée M. 2005. Mecanismes impliqués dans la néphrotoxicité, *Ann Biol Clin Québec*, 2005; 42 (3), p.29.
41. Dadoune J.P., Siffroi J.P. 2000. Histologie 2^{ème} édition. Médecine Sciences Flammarion, p. 267-269.
42. Diegelmann R.F, Evans M.C.2004. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing, *Frontiers in Bioscience* 9, 283-289, January 1, 2004.
43. Dietrich Frohne, Hans Jürgen Pfänder, Robert Anton. 2009. Plantes à risques. Ed: Tec & Doc, p. 11.
44. Djerrou Z, Hamdi-PachaY, BelkhiriA .M, DjaalabH, Riachi F, Serakta M, Boukeloua A, Maameri Z. 2011. Evaluation of *Pistacia lentiscus* fatty oil effects on glycemic index, liver functions and kidney functions of New Zealand rabbits. *Afr J Tradit Complement Altern Med*.8(S):214-219.

45. Djerrou Z, Maameri Z, Hamdi-Pacha Y, Serakta M, Riachi F, Djaalab H, Boukeloua A. 2010. Effect of virgin fatty oil of *Pistacia lentiscus* on experimental burn wound's healing in rabbits. *Afr. J. Trad. CAM.* 7(3): 258-263.
46. Djerrou, Z. 2010. Effets de quelques molécules naturelles en médecine: Activité cicatrisante et innocuité de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* Thèse de doctorat d'état en sciences vétérinaires. Université Constantine 1, 2010, p. 03.
47. Domergo R. 2002. Santé, bien-être, apithérapie. In *Le traité rustica de l'apiculture*. Paris, Rustica, 2002, p. 390-416.
48. Donadieu Y. 1984. Miel. Les thérapeutiques naturelles. Ed: Maloine. Paris, p. 14-46.
49. Dubois. 1987. Les produits de la ruche dans la médecine d'aujourd'hui. *Aujourd'hui l'apithérapie*, 1987, supplément n°465, p. 13-15.
50. Dunning D. 2003. Surgical wound infection and use of antimicrobials. In Slatter D. *Textbook of small animal surgery*, third edition. Ed.: WB Saunders. p 113-122.
51. Fawcett Don W., Jensch R. P. 2002. L'essentiel de l'Histologie. (ed.). Maloine. p.268.
52. Frank C. Lu. 1992. Toxicologie, données générales procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Ed : Masson, p. 179,184.
53. Farines M, Soulier J, Charrouf M, Cave A, 1984. Etude de l'huile de graines d'*Argania spinosa* L. Sapotaceae, Sterol alcools Triterpéniques et Méthyl stérol de l'huile d'Argan, *Revue Française des corps gras*, n°11, p. 443-448.
54. Ferrag M. Y. 2007. Développement d'un modèle de cicatrisation épidermique après une désépidermisation laser. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse III, p. 28,32.
55. Fournier, N. and S. Mordon. 2005. Nonablative remodeling with a 1,540 nm erbium: glass laser. *Dermatol Surg.*, 2005. 31(9 Pt 2): p. 1227-35; discussion 1236.
56. Gambichler T, Moussa G, Sand M. 2005. Applications of optical coherence tomography in dermatology. *J Dermatol Sci.*, 2005. 40(2): p. 85-94. Epub 2005 Aug 31.
57. Garcia S, Barroco M, Adria M. A. 1986. Interpretation of rheogrammic functions in holm oak honey. *S.T.P. PHARMA*, 1986, vol. 2, n°15, p. 307-312.
58. Gabbiani G, C. Chaponnier, and I. Huttner. 1978. Cytoplasmic filaments and gap junctions in epithelial cells and myofibroblasts during wound healing. *J Cell Biol.*, 1978. 76(3): p. 561-8.
59. Genot C., Eymard S., Viau M. 2004. Comment protéger les acides gras polyinsaturés à longues chaînes oméga 3 vis-à-vis de l'oxydation ? *Oléagineux, corps gras, lipides*, 2004, vol. 11, n°2, p. 133-141.

60. Ghalem B. R, Mohamed B. 2009. Antimicrobial activity evaluation of the oleoresin oil of *Pistacia vera* L. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 3 (3). pp. 092-096. March, 2009.
61. Goliger, J.A. and D.L. Paul. 1995. Wounding alters epidermal connexin expression and gap junction-mediated intercellular communication. *Mol Biol Cell.*, 1995.6(11): p. 1491-501.
62. Glomot R. 1986. Etude toxicologique in vivo, dans Derache R. 1986. Toxicologie et sécurité des aliments. Ed: Lavoisier, p. 08.
63. Gonnet M, Vache G. 1987. Le miel. *Aujourd'hui l'apithérapie*, 1987, supplément n°465, p. 20-21.
64. Gupta M, Mazumder U. K, Thamilselvan V, Manikandan L, Senthilkumar G.P, Suresh R and Kakotti B. K. 2007. Potential hepatoprotective effect and antioxidant role of extract of *Oldenlandia umbellata* in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in Wistar rats. *Iranian journal of pharmacology & therapeutics* 6: 5-9, 2007.
65. Hakim H. 2000. Les produits de la ruche contre le vieillissement. *Apithérapie : la science de l'abeille pour l'énergie et le bien-être*, 2000, n°0704G79436, p. 44-45
66. Hamdi-Pacha Y, Belkhiri A, Benazzouz, Benhamza L, and Bensegueni, L. 2002. Evaluation de l'activité cicatrisante suite à des brûlures expérimentales de quelques plantes algériennes. *Revue Méd. Pharm. Afri*, 16: 1-7.
67. Hans W. Koth. 2007. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed: Terre. p 242.
68. Harizal. S. N, Mansor S. M, Hasnan J, Tharakan J. K. J, Abdullah J. 2010. Acute toxicity study of the standardized methanolic extract of *Mitragyna speciosa* Korthin Rodent. *Journal of ethnopharmacology* 131 (2010) 404-409.
69. Hmimsa Y. 2004. L'agrobiodiversité dans les agrosystèmes traditionnels de montagnes: Cas du Rif marocain. *Mémoire de troisième cycle*, Université Abdelmalek Essaâdi, Faculté des Sciences, Tétouan, Maroc, p. 100.
70. Horn F, Lindenmeier G, Grillhos C, Moc I, Berghold S, Schneider N, Munster B. 2005. Biochimie humaine. Ed: Flammarion, p. 512.
71. Ioïriche N. 1984. Les abeilles, pharmaciennes ailées. 3e édition complétée. Editions MIR, Moscou, p. 240.
72. Isserin.P. 2007. La rousse des plantes médicinales. Ed: Larousse, p. 250.
73. Larjava H, Salo T, Haapasalmi K, Kramer RH, Heino J. 1993. Expression of integrins and basement membrane components by wound keratinocytes. *J Clin Invest.*, 1993. 92(3): p. 1425-35.
74. Janakat Sana, Al-Merie Hela. 2002. Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *Journal of Ethnopharmacology*, 83.135-138.

75. Jalali FK, Tajik H, Saifzadeh S, Fartash B. 2007. Topical application of natural urmia honey on experimental burn wounds in the dogs clinical and microbiological studies .*Asian J anim Vet Adv.*2(3):133-139.
76. Jean Marie.PH.1999. Le guide de l'apiculture. Ed: Edisud la calade 1999.
77. Jeffrey A.E, Echazarreta C.M. 1996. Medical uses of honey. *Rev Biomed.*7(1): 43-49
78. Joshi S. R, Pechaker H, Willam A, Von DerOhe W. 2000. Physico-chemical characteristics of *Apis dorsata*, *Apis cerana* and *Apis mellifera* honey from Chitwan district, central Nepal. *Apidologie*, 31, (3), 367-375.
79. Jull AB, Rodgers A, Walker N. 2008. Honey as a topical treatment for wounds. *Cochrance Database Syst Rev.*2008.oct 8;(4):CD005083.
80. Kabala-Dzik A, Stojko R, Szaflarska-Stojko E, Wroblewska-Adamek I, Stojko A, Stojko J. 2004. Influence of honey-balm on the rate of scare formation during experimental burn wound healing in pigs. *Bull Vert Inst Pulawy.* 48(3):311-316.
81. Kaleskind A. 1992. Manuel des corps gras, Tec & Doc Lavoisier, Tome (I –II), p. 768, 1571.
82. Kivçak B, Akay S. 2005. Quantitative determination of α -tocopherol in *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia* and *Pistacia terebinthus*by TLC-densitometry and colorimetry. *Fitoterapia* 76 (2005) 62–66.
83. Lamendin H. 2008. Précurseurs de la phytothérapie bucco-dentaire accidentelle, Ed : L'harmattan, p.36, 58.
84. Lawrence W.T. 1998. Physiology of the acute wound. *Clin Plast Surg.*, 1998.25(3):p. 321-40.
85. Leeson TS., Leeson CR. 1980. Histologie. 2^{ème} édition. Masson. p. 277.
86. Lefief-Delcourt A. 2010. Le miel malin. Paris, Leduc, 2010, p.176.
87. Leibovich, S.J. and R. Ross.1975. The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol.*, 1975.78(1): p. 71-100.
88. Loutrari H, Sophia M, Anastasia P, Vasiliki K, Fragiskos N.Kolisis, Andreas P, and Charis R. 2006. Mastic oil from *Pistacia lentiscus* var. *chia* inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis. *Nutrition and Cancer*, 55(1): 86–93.
89. Louveaux J. 1968. Composition, propriétés et technologie du miel. In chauvin R. Traité de biologie de l'abeille. Editions Masson & Cie, Paris, Tome 3, 277-324.

90. Manjeshwar Shrinath B, Ganesh Chandra J, Jagadish N. Ullor, Manjeshwar Poona. B. 2004. The evaluation of the acute toxicity and long term safety of hydrialecoholic extract of Saphthaparna (*Alstonia scholaris*) in mice and rats. *Toxicology Letters*, 151 (2004)317-326.
91. Marieb N E. 2005. Anatomie et Physiologie humaine. Ed: Pearson Education. p.161.
92. Marieb, NE. 2008. Biologie humaine principes d'anatomie et de physiologie. 8^{ème} édition. Ed: Pearson Education, p.117-118, 107, 563, 306.
93. Martin P. 1997. Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. *Science*.276:75-81.
94. Mathews K. A, Binnington A. G. 2002. Wound management using honey. *Compend Contin Educ Pract Vet* .24(1):53-60.
95. Maurin R.1992. L'Huile d'argan *Argania spionsa L.* Skeels Sapotaceae, Revue Française des corps gras, 1992, n°5-6, p .139-145.
96. Meda A, Lamien C. E, Marco R. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoïde and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 2005, vol. 91, n°3, p.571-577.
97. Mignatti, P. Rifkin DB, Welgus HG. 1996. Proteinases and tissue remodeling, in The molecular and cellular biology of wound repair, e. In: Clark RAF, Editor. 1996, New York 53. Plenum Press. p. 427-74.
98. Molan P.C. 1999. The role of honey in the management of wounds. *J Wound Care* , 8 (8) : 415-418.
99. Molan P.C. 2009. Why honey works. In Cooper R, Molan P, White R. Honey in modern wound management. *Wounds UK* (Ed.): p 7-20.
100. Moissonier P.2002. La cicatrisation des plaies. *Action Vet. Edition spécial chirurgie* : 3-6
101. Mwipatayi B.P, Angel D, Norrish J, Hamilton M.J, Scott A & Sieunarine, K. 2004. The use of honey in chronic leg ulcers: a literature review. *Primary Intention*, 12(3):107-112.
102. Nanny L. 1996. The molecular and cellular biology of wound repair, C. RAF, Editor.1996, New York: Plenum Press. p. 171-94.
103. Nahida S.H. Ansari, A.N Siddiqui. 2012. *Pistacia lentiscus*: A review on phytochemistry and pharmacological properties. *Int J PharmPharm Sci, Vol 4, Suppl 4, 16-20*.
104. Narayan Dolai, Indrajit Karma kar RB Suresh Kumar, Biswa kanth Kar, Asis Bala, Pallab Kanti Halder.2010. Free radical scavenging activity of *Castanopsis indica* mediating hepatoprotective activity of carbon tetrachloride intoxicated rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* (2010), S 242-S 251.
105. Ndayisaba G, Bazira L, Habonimana E.1992. Evolution Clinique et bactériologique des plaies traitées par le miel. Analyse d'une série de 40 cas. *Medecine d'Afrique Noire* : 1992 ,39 (8/9).

106. Newman DJ., Price CP., Renal Function and Nitrogen Metabolites dans Hilal G, Albert C, Vallée M. 2005. Mécanismes impliqués dans la néphrotoxicité, *Ann Biol, Clin Québec*, 2005; 42 (3), p:29.
107. Ouatara Y, Sakande B, Simpore J, Kabore I.Z, Guisso I.P, Sawadogo L. 2003. Evaluation de l'activité hepatoprotectrice des extraits aqueux de plantes medicinales face à une Hepatotoxicité letale induite chez la souris. *Annales de l'université de Ouagadougou-Serie C*, Vol. 001, 2003.
108. Paladini R.D, Takahashi K, Bravo N.S, Coulombe P.A. 1996. Onset of re-epithelialization after skin injury correlates with a reorganization of keratin filaments in wound edge keratinocytes: defining a potential role for keratin 16. *J Cell Biol.*, 1996. 132(3): p. 381-97.
109. Park J.E, Barbul. A. 2004. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *Am J Surg*, 187(S): p 6-11.
110. Pharm-Delegue M.-H.1999. *Les abeilles*. Genève, Minerva, 1999, p 206.
111. Pilcher B.K, Dumin K.A, Sudbeck B.D.1997. The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte emigration on a type I collagen matrix. *J Cell Biol.*, 1997. 137(6): p 1445-57.
112. Polese, J-M. 2010. Arbres & Arbustes de Méditerranée. Ed: Edisud, p. 85
113. Quinton, J.F. 2003. Nouveaux animaux de Compagnie : Petites Mammifères. Ed: Maloine, p. 66.
114. Rappolee D A, Mark D, Banda M. J, Werb Z. 1988. Wound macrophages express TGF-alpha and other growth factors in vivo: analysis by mRNA phenotyping. *Science.*, 1988. 241 (4866): p. 708-12.
115. Reichel J, Benecke N, Eckert K G, Erber B, Golly I C, Kreppel H, Liebel B , Mukte H, Szinicz L, Zilker T. 2004. Guide pratique de toxicologie. Ed: DeBoeck, p. 04.
116. Richet G.1988. Néphrologie. Ed: Ellipses/Aupelf. p.361.
117. Riches DWH. 1996. Macrophage Involvement in wound repair, remodeling and fibrosis, in the molecular and cellular biology of wound repair, i. C. RAF, Editor. 1996, Plenum Press: New York. p. 95-141.
118. Saadoune N. Smail. 2005. Types stomatiques du genre Pistacia: *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* et *Pistacia lentiscus* L. *Options Méditerranéennes, Serie A, Numero63*. (2005). Disponible sur: www.cituelike.org/user/millivacs/article/8437723[consulté le 05/11/2012].
119. Sable. 1997. Propriétés, valeur nutritionnelle et diététique du miel, cas du miel de tournesol. *Apithérapie : la science de l'abeille pour l'énergie et le bien-être*, 1997, n°57950, p. 25-32.

120. Saleem M. T. S, Madhusudha C. C, Ramkanth S, Rajan V. S. T, Mahesh K. K, Gauthamam. 2010. Hepatoprotective herbs – A Review. *Int. J. Res. Pharm. Sci.* Vol-1, 1-5, 2010.
121. Sampath Kumar, K.P, Debjit B howmik, Chiranjib Biswajit and Chandira M.R. 2010. Medicinal uses and health benefits of Honey: An Overview. *J. Chem. Pharm. Res*, 2(1): 385-395.
122. Schäffler A., Menche N. 2004. Anatomie Physiologie Biologie. 2ème édition. Maloine. p. 153, 155, 158, 160.
123. Schultz G, Ladwig G, Wysocki A. 2005. Extracellular matrix: review of its role in acute and chronic wounds. *World Wide Wounds*.
124. Singer A.J. and R.A. Clark. 1999. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med.*, 1999.341(10): p. 738-46.
125. Srivastava P. and Durgaprasad S. 2008. Burn wound healing properties of *Cocos nucifera* –An appraisal. *Indian J Pharmacol*, 40:144-146.
126. Subrahmanyam, M. 1998. A prospective randomized clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine. *Burns* .24(2):157-161.
127. Subrahmanyam M. 1991. Topical application in treatment of burns. *Br J Surg*. 78(4):497-498.
128. Subrahmanyam M. 1993. Honey impregnated gauze versus polyurethane film (Opsite) in the treatment of burns – a prospective randomized study. *Br J plast Surg* .46(4):322-323.
129. Tahraoui A, Zafar H. Israili, Badiia Lyoussi. 2010. Acute and sub-chronic toxicity of lyophilized aqueous extract of *Centaurium erythraea* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 132(2010)48-55.
130. Thingshuang Yi, Jun Wen, Avi Golan-Goldhirsh, and Dane Parfitt. 2008. Phylogenetics and reticulate evolution in *Pistacia* (ANACARDIACEAE). *American Journal of Botany*, 95(2):241-251.
131. Tortora, Derrickson. 2007. Principes d'anatomie et de physiologie. 4^e édition. Ed: de boeck. P. 176-177.
132. Trabelsi H, Cherif, O. A, Sakouhi F, Villeneuve P, Renauld J, Barouh N, Boukhchina, S And Mayer P. 2012. Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food chemistry*, 131: 434-440.
133. Trabelsi H, Renauld J, Herch W, Khoudja ML, Boukhchina S, Mayer P. 2013. LC-ESI-QTOF- MS, MS/MS Analysis of Glycerophospholipid Species in Tunisian *Pistacia lentiscus* Fruit Populations. *Journal American Oil Chemists' Society*. May 2013, Volume 90, Issue 5, pp 611-618

134. Verlagsgesellschaft. G. 2007. 100 Plantes aromatiques et médicinales .Ed: Terres, Naumann, p.242.

135. Viala A, Botta A. 2007. Toxicologie. 2^{ème} édition. Ed: Lavoisier, p.03-10,20-21.

136. Verola O. 2006. Aspects anatomo-pathologiques de la cicatrisation. Disponible sur [www. Cicatrisation](#). [Consulté le 05/11/2012].

137. Weinberg J M. The Cellular Basis of Nephrotoxicity, dans Hillal G, Albert C, Vallée M. 2005. Mécanismes impliqués dans la néphrotoxicité, *Ann Biol Clin Québec*, 2005; 42 (3), p29.

138. Werner S, Breeden M, Hubner G, Greenhalgh DG, Longaker T. 1994. Induction of keratinocyte growth factor expression is reduced and delayed during wound healing in the genetically diabetic mouse. *J Invest Dermatol.*, 1994. 103(4): p. 469-73.

139. Wheather PR, Young B, Heath JW. 2004. Histologie fonctionnelle. Ed.: DeBoeck. p 157.

140. Wolfram D, Tzankov A, Pulzi P. 2009. Hypertrophic scars and keloids. A review of their pathophysiology, risk factors, and therapeutic management. *Dermatol Surg* 2009; 35: 171-81. Revue.

141. Young B, Lowe J. S, Stevens A, Heath J W. 2008. Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater. 2^{ème} édition. Ed: DeBoeck, p.288,294,402.

142. Yvette M. 2001. Comprendre le processus de cicatrisation. *Sommaire*. Volume 9 Num 1.

143. Zrira S, Elamrani, A, Benjilali, B. 2003. Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus L.* from Morocco – Aseasonal variation. *Flavour and Fragrance Journal*, 18:475–480.

Sites Web consultés

144. <http://www.cndr.dz/new DB/index. php> [Consulté le 29/10/2012]

145. http:// fr.wikipedia.org/wiki/ Pistacia _ lentiscus [Consulté le 20/10/2012].

146. [http:// en wikipedia.org/ wiki/Mastic _ \(plant _ resin\)](http:// en wikipedia.org/ wiki/Mastic _ (plant _ resin)) [Consulté le 20/10/2012].

147. <http://www.produitsapicoles23Amiel.fr> [Consulté le 05/01/2013].

148. <http://polgm.free.fr/travail/TPE/>[Consulté le 31/10/2012].

149. <http://vulgaris-medical.com>[Consulté le 21/10/2012].

150. <http://infirmiers.com>[Consulté le 21/10/2012].

151. <http://www.reptox.csst.qc.ca> [Consulté le 21/10/2012].

Annexes

Annexe 1

➤ **Méthode d'extraction de l'huile de Pistacia lentiscus en Algérie :**

- Récolte des baies de lentisque : la récolte de fruits a été faite pendant le mois de novembre, au cours des matinées ensoleillées. Le choix a été porté sur des arbustes dont le stade de pigmentation des baies était semi-noir ou noir en évitant le stade vert ou rouge. Ce dernier stade de maturité dite précoce pourrait influencer le rendement de production de l'huile ainsi que sa conservation.
- Effeuilage : Cette opération a été effectuée manuellement dans le but de se débarrasser des rameaux et des feuilles récoltés avec les fruits.
- Lavage : les baies ont été lavées avec de l'eau courante pour éviter d'éventuelles contamination et en éliminant les baies moisies qui flottent sur l'eau.
- Séchage : les baies lavées ont été égouttées et en suite séchées dans un endroit aéré à l'abri de la lumière pendant 7 jours.
- Broyage et malaxage : les baies de lentisque ont été ensuite écrasées, y comprises les enveloppes et les graines, et malaxées pour les transformer en une pâte. Un peu d'eau froide a été ajoutée en triturant soigneusement le mélange.
- Décantation : le mélange obtenu a été versé dans une jarre contenant de l'eau froide. Dans cette étape l'huile a été séparée de l'eau et des déchets par décantation naturelle. L'huile remonte naturellement à la surface puisque sa densité est inférieure à celle de l'eau. Généralement, 30 à 36 heures sont nécessaires pour cette opération.
- Stockage : L'huile obtenue a été stockée dans des bouteilles en verre bien remplies (95% de leur capacité) et fermées hermétiquement. Elles étaient gardées au frais à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

Annexe 2

➤ Récolte et conditionnement de miel

a. Récolte du miel

En fonction des miellés, on peut effectuer plusieurs récoltes dans l'année. La récolte a été faite pendant le mois de juillet.

Dans une journée ensoleillée, les cadres étaient récoltés un à un, puis brossés afin de chasser les abeilles pour être acheminés à la miellerie.

Les cadres remplis de miel sont désoperculés (désoperculer consiste à enlever la pellicule de cire bâtie par les abeilles, et qui obstrue les alvéoles afin de préserver le miel de possibles altérations).

Une fois le rayon désoperculé, le miel pourra alors s'écouler au cours de l'extraction, il désopercule manuellement les cadres à l'aide d'un couteau à désoperculer.

Les cadres désoperculés sont placés dans un extracteur mécanique en vue de l'extraction du miel.

Les cadres tournent à toute vitesse, évacue le miel des alvéoles, le miel est projeté sur les parois du cylindre. Il se dépose au fond. Il suffit d'ouvrir un robinet et de le filtrer pour le débarrasser des débris de cire et des impuretés.

b. Conservation du miel

Pour conserver le miel, il faut qu'il soit placé dans des pots parfaitement clos pour éviter les fermentations et les dénaturations de toutes sortes.

Mettez-les à l'abri de la lumière car elle peut détruire certains constituants. Il vaut mieux utiliser le verre, le carton paraffiné ou le plastique. Le miel doit être stocké dans un endroit où il fait 10 à 15°

Annexe 3

➤ **Composition du Cicatryl**

- Aqua ;
- Cetylalcohol;
- Petrolalum ;
- Isopropyl myristate ;
- Sorbitol;
- Glyceryl stearate;
- Hydroxypropyl starch phosphate;
- PEG 75-stearate;
- Chlorhexidinedigluconate;
- Tocopheryl acetate;
- Cteth-20;
- Stearath -20;
- Polyacrylamide;
- C13-14isoparaffin;
- Laureth7;
- Methylparaben;
- Propylparaben;
- Imidazolidinylurea.

Annexe 4

Etude histologique

L'étude histologique a été réalisée à la fin des expérimentations, après sacrifice des animaux et prélèvement d'organes utilisés dans cette étude : foie, reins, rate, cœur, œsophage.

- Fixation des pièces

Les éléments histologiques sont fixés dans le formol à 10% qui agit par coagulation ménagée du protoplasme cellulaire, du noyau de leurs constituants et de leur enclave. Les pièces prélevées et lavées ont été mises dans des piluliers et recouvertes de formol à 10%, hermétiquement fermés et étiquetés selon les lots.

Les étapes suivantes ont toutes été réalisées au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique à la clinique rénale de DAKSI (Constantine).

-Déshydratation

Au niveau du laboratoire, les pièces du pilulier ont été tirées, mises dans des cassettes à inclusion, et lavées sous l'eau courante pour les débarrasser de l'excès du fixateur.

Avant de les inclure dans de la paraffine, les pièces doivent être soigneusement déshydratées. La déshydratation est réalisée automatiquement via un appareil « le Technicon ». Cet appareil comporte plusieurs flacons déposés en série et remplis d'alcool à concentration croissante (70%, 80%, 90%, 100%) et de xylène pur selon un ordre bien déterminé où les cassettes contenant les pièces vont séjourner successivement pendant des durées variables.

Le temps total de passage des pièces dans le technicon est de 16h, après cette période les pièces sont récupérées pour passer à l'inclusion.

- Inclusion

Le paraffinage a lieu grâce à un appareil muni d'un compartiment alimenté en chaleur pour faire couler la paraffine (56°C-58°C), et d'une plaque refroidissant sur laquelle est mis un moule métallique contenant les cassettes où les pièces sont mises à nu. Une fois les pièces couvertes de paraffine liquide sont laissées refroidir sur une plaque à froid, ainsi, on obtient les blocs qui seront utilisés pour donner de fines coupes. Les blocs sont conservés au froid jusqu'à la coupe des pièces.

- Coupe des pièces

Cette étape permet d'obtenir des coupes destinées à l'examen au microscope. Ces coupes doivent être minces pour que la lumière les traverse aisément et avoir une solidité suffisante pour être manipulées.

Pour cela un microtome à avance mécanique et couteau d'acier est utilisé. C'est un instrument assez complexe permettant de faire passer les pièces à couper devant le rasoir, à chaque passage celui-ci enlève une tranche d'épaisseur variable (4 à 6µm).

Mettre en place la cassette sur le microtome, convenablement orientée, pour présenter correctement la face à couper devant le rasoir. Celui-ci est à son tour placé et orienté de façon à attaquer la pièce après quelques passages.

Pour enlever l'excès de paraffine, lorsque la pièce est affranchie et qu'elle paraît complète dans la coupe sur toute son étendue, on règle l'épaisseur avec un dispositif spécial. Le mouvement remis en marche, à chaque passage de la pièce, il se fait une coupe qui se colle automatiquement au bord de la coupe précédente. Ce qui nous permet d'obtenir un ruban de coupe.

Le ruban fractionné est porté sur une lame de verre par des aiguilles sur lesquelles on a mis une goutte de gélatine, dans la position où il se présente à la sortie du rasoir, pour y adhérer solidement en vue des manipulations ultérieures.

La lame est mise sur une plaque chauffante pour permettre un bon étalement et éviter la formation des plis. Ensuite elle est mise dans un plateau, prête pour la coloration.

Les lames ont été toutes marquées sur leur bord pour porter le numéro et la nature du tissu considéré, par un stylo à diamant.

-Coloration

La coloration est obtenue en plongeant la coupe dans des bains colorants comme suit :

1- Déparaffiner la coupe : Plonger la lame dans le premier bain de xylène pendant 20mn, puis dans le second pendant 20mn, pour dissoudre la paraffine.

2- Hydrater la coupe : Pour faire disparaître le xylène faire passer la lame dans trois bains d'alcool absolu pendant des durées respectives de 10mn, 10mn et 5mn. Faire passer la lame dans l'eau courante, puis dans l'eau distillée.

3- Coloration à l'hématoxyline : Plonger la coupe bien hydratée dans un bain d'hématoxyline pendant 20mn, faire un lavage à l'eau courante puis la faire passer dans l'eau distillée.

4-Coloration à l'éosine : Plonger la lame dans le bain d'éosine pendant 25mn, puis effectuer un lavage à l'eau courante.

- **Déshydratation** : Faire passer la lame dans l'alcool absolu, puis dans le xylène, ensuite la plonger dans un bain de xylène pendant 15mn, égoutter les lames et les faire sécher à l'aide d'une gaze.

- **Montage** : Déposer une goutte d'une solution permettant l'adhésion (Enthelan) sur la lame, et présente une lame couvre- objet propre et sèche en l'inclinant progressivement de façon que la solution s'étende peu à peu et recouvre la coupe sans emprisonner les bulles d'air. La solution ne doit pas déborder, la lamelle est adhérente et la préparation prête pour l'observation microscopique.

-**Observation au microscope et prise de photos** : les lames passent ensuite à l'observation au microscope optique à différents grossissements. Un tri judicieux a été réalisé puis les lames sont prises en photo numérique.

Résumés

***Pistacia lentiscus L.*: Evaluation pharmaco-toxicologique**

Résumé :

Pistacia lentiscus L. est un arbrisseau (de 1 à 3m de haut) courant en sites arides de la région méditerranéenne (de l'Asie, l'Europe, l'Afrique jusqu'aux Canaries). L'huile végétale de cette plante est un remède naturel bien connu dans la médecine traditionnelle en Algérie. Elle est largement utilisée dans le traitement des douleurs dorsales, troubles respiratoires, et les brûlures cutanées. Cette étude est une contribution scientifique à la détermination de certains paramètres physico-chimiques, ainsi que l'étude de quelques effets pharmacologiques et toxicologiques de l'huile de lentisque qui a retenu notre attention par sa réputation en médecine traditionnelle.

Les paramètres physico-chimiques obtenus pour cette huile sont comparables à ceux publiés pour des huiles similaires [densité : 0.915 ; indice de réfraction: 1.46; indice d'acide (mg KOH/g) :8.4; indice de saponification (mg KOH/g) :187.5].

L'huile en question a été mélangée au miel (v/v), pour évaluer l'activité cicatrisante sur des brûlures cutanées. Le processus de cicatrisation a été évalué par le pourcentage de contraction de la plaie à J2, 6, 10, 14, 18 et 22. Les résultats ont montré que le miel et l'huile utilisés séparément ainsi que le mélange (Miel + l'huile) favorisent de façon significative ($p < 0,05$) la contraction de la plaie par rapport au médicament standard à différents intervalles de temps. L'huile de lentisque peut améliorer les propriétés curatives du miel lorsqu'elle est mélangée avec, pendant la phase inflammatoire du processus cicatriciel dans le modèle lapin.

Le test de toxicité subchronique chez le lapin à différentes doses (0.5, 1 et 2ml/Kg) pendant 28jours n'a entraîné aucun signe de toxicité. Les résultats biochimiques révèlent que cette huile maintient les taux de l'ALAT et l'ASAT dans les normes physiologiques. Une diminution significative de la glycémie a été enregistrée mais toujours dans les normes physiologiques.

Le test de l'évaluation de l'effet hépato protecteur de cette huile a été conduit chez le rat *Wistar*. L'hépatotoxicité a été induite par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) chez des rats par voie orale (1.5ml/Kg, une fois/ 72h pendant 15jours de traitement). L'huile a été administrée quotidiennement par voie orale (dose de 2 ou 4ml/kg) pendant 15 jours. L'activité hépatoprotectrice a été évaluée par l'estimation des paramètres biochimiques de la fonction hépatique (ALAT et ASAT). Chez les animaux traités par l'huile à la dose de 2ml/Kg, l'effet toxique du CCl₄ a été contrôlé de manière significative par la restauration des paramètres biochimiques (ALAT et ASAT). En revanche les animaux traités par l'huile à la dose de 4ml/Kg, l'effet toxique du CCl₄ a été aggravé de manière significative par l'augmentation des paramètres biochimiques (ALAT et ASAT). Ces données suggèrent que l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* à la dose de 2ml/Kg peut exercer un effet hépatoprotecteur.

Mots clés : *Pistacia lentiscus L.*, miel, huile végétale, cicatrisation cutanée, toxicité, fonction hépatique.

***Pistacia lentiscus L.*: Pharmaco toxicological evaluation**

Abstract:

Pistacia lentiscus L. is a shrub (1 to 3m high) current arid site in the Mediterranean region (Asia, Europe, Africa to the Canary Islands). Vegetable oil of this plant is a well known natural remedy in Algerian traditional medicine. It is widely used in the treatment of back pain, respiratory disorders, and skin burns. This study is a scientific contribution to the determination of some physicochemical parameters and the study of some pharmacological and toxicological effects of lentisk oil which has kept us attention by its reputation in traditional medicine.

The physico-chemical parameters obtained for this oil are similar to those reported for similar oils [density: 0.915, refractive index: 1.46; acid value (mg KOH / g): 8.4; saponification value (mg KOH / g): 187.5].

The oil in question was mixed with honey (V / V) to evaluate the healing activity of skin burns. The healing process was evaluated by the percentage of wound contraction in d2, 6, 10, 14, 18 and 22. The results showed that the honey and oil used separately as well as the mixture (honey + oil) promote significantly ($p < 0.05$) wound contraction compared with the standard drug at different time intervals. Lentisk oil can improve the healing properties when mixed with honey, in the inflammatory stage of the healing process in the rabbit model.

The sub-chronic toxicity test in rabbits at different doses (0.5, 1 and 2ml/Kg) for 28 days did not result in any signs of toxicity. The biochemical results indicate that oil retention rates of ALT and AST in the physiological norms. A significant decrease in blood glucose was registered, but always within the physiological standards.

Test evaluation of the liver protective effect of this oil was conducted in Wistar rats. Hepatotoxicity was induced by carbon tetrachloride (CCl₄) in rats orally (1.5ml/Kg once / 72 hours for 15 days of treatment). The oil was administered daily orally (dose of 2 or 4ml/kg) for 15 days. The hepatoprotective activity was assessed by estimating biochemical parameters of liver function (ALT and AST). In animals treated with oil at a dose of 2ml/Kg, the toxic effect of CCl₄ was controlled significantly by restoration of biochemical parameters (ALT and AST). In contrast, animals treated with oil at a dose of 4ml/kg, the toxic effect of CCl₄ was significantly aggravated by the increase in biochemical parameters (ALT and AST). These data suggest that the vegetable oil of *Pistacia lentiscus L.* at a dose of 2ml/Kg may exercise hepatoprotective effect.

Keywords: *Pistacia lentiscus L.*, honey, vegetable oil, skin healing, toxicity, liver function.

المخلص:

نبات الضرو (*Pistacia lentiscus L.*) هو شجيرة يمتد طولها من (1 إلى 3م) تتواجد في منطقة البحر الأبيض المتوسط.

الزيت المستخلص من هذا النبات معروف في الطب التقليدي الجزائري كعلاج طبيعي. ويستخدم على نطاق واسع في علاج آلام الظهر، ومشاكل الجهاز التنفسي، وحروق الجلد.

هذه الدراسة هي مساهمة علمية لتحديد بعض المعلومات الفيزيوكيميائية و بعض التأثيرات العلاجية والسمية لهذا الزيت .

العناصر الفيزيائية والكيميائية التي تم الحصول عليها لهذا الزيت شبيهة لزيت اخرى (الكثافة : 51915 ; معامل الانكسار : 146 ; معامل الحموضة 84 ; معامل التصبن : 18715).

لقد تم مزج الزيت مع العسل (ح/ح) لدراسة نشاطه العلاجي للحروق الجلدية. اما تقييم عملية الشفاء فكان عن طريق قياس نسبة انكماش الجرح في يوم 2، 6، 10، 14، 18 و 22.

أظهرت النتائج أن استخدام العسل والزيت بشكل منفصل وكذلك خليط (العسل + زيت) تساهم بشكل كبير ($P < 5155$) في انكماش الجرح مقارنة مع الدواء المرجعي في فترات زمنية مختلفة . يمكن للزيت تحسين الخصائص العلاجية عندما يخلط مع العسل، في المرحلة الالتهابية من عملية الشفاء عند الحيوان النموذج (الأرنب).

عند اختبار السمية شبه المزمنة لدى الأرانب في جرعات مختلفة (0.5، 1 و 2مل/كغ) لمدة 28 يوما لم تنتج أي سمية. اظهرت النتائج البيوكيميائية أن الزيت يحفظ الانزيمات ALT و AST في الحدود الفسيولوجية. كما سجل انخفاض في مستوى السكر في الدم، ولكن دائما ضمن الحدود الفسيولوجية.

اما تقييم حماية الزيت لكبد فئران ويستار.من تسمم بواسطة رابع كلوريد الكربون (CCl4) المعطى عن طريق الفم (1.5 مل). وتم تقييم النشاط الكبدي عن طريق القياسات البيوكيميائية (ALT و AST) اظهرت النتائج ان الحيوانات التي اخذت جرعة 2 مل/كغ ، تمت السيطرة على التأثير السام ل CCl4 بشكل كبير بالحفاظ على القياسات البيوكيميائية (ALT و AST). بالمقابل، الحيوانات التي اخذت جرعة 4 مل/كغ تقاوم التأثير السمي لل CCl4 بشكل ملحوظ بزيادة في القياسات البيوكيميائية (ALT و AST).

وبهذا فان زيت الضرو *Pistacia lentiscus L.* بإمكانه حماية الكبد. عند تناول جرعة 2 مل/كغ.

كلمات مفتاحية: *Pistacia lentiscus L.* ، العسل، الزيت النباتي، تضميد جراح الجلد، سمية، وظيفة الكبد.