



Mémoire de Fin d'Études

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master 2 Recherche

« Toxicologie Fondamentale et Appliquée »

THÈME

**Effet protecteur des antioxydants sur la toxicité du
toluène chez les rats *Wistar***

Soutenu le : 23/06/2024

Présenté Par : -BIACI Asma

-BOUAZIZ Chahinez

Devant le jury composé de :

Dr. GHEID Samira	MCA	Présidente	UCBET
Dr. BOUKARINE Rahma	MAB	Examinatrice	UCBET
Dr. ARkOUB Fatma Zohra	MAB	Encadrante	UCBET

Année universitaire 2023 - 2024

Remerciements

*Tout d'abord, nous remercions **Dieu** Tout-Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce projet.*

*Des simples remerciements ne sont pas suffisants pour exprimer toute notre reconnaissance à notre directrice de mémoire, **Dr ARKOUB Fatma Zohra**. Nous sommes extrêmement reconnaissants pour sa disponibilité, ses compétences scientifiques, ses qualités humaines, ses précieux conseils et l'attention particulière qu'elle a portée à ce projet de mémoire. En dehors de la recherche, nous avons discuté diverses expériences personnelles et professionnelles. Ces discussions nous ont motivés à travailler davantage et à faire les meilleurs efforts possibles. Un vif hommage à elle pour ses encouragements constants.*

Merci pour tout !

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers **Dr GHEID Samira** pour avoir présidé le jury avec compétence et impartialité. Votre expertise dans le domaine a été d'une aide inestimable tout au long du processus d'évaluation.*

*Nous remercions infiniment **Dr BOUKARINE Rahma** de faire partie de ce jury et d'avoir accepté d'examiner ce travail.*



Dédicaces

Avec l'aide d'ALLAH, le tout-puissant, ce travail est achevé

*Je le **dédie** à toutes personnes qui me sont chères ;*

Aux deux être les plus chers au monde qui ont un donnés sens à mon existence, et qui m'ont soutenue nuits et jours durant tout mon parcours.

***Ma très chère mère, GRAICHI Noura** qui a consacré sa vie pour bâtir la mienne, je lui serai éternellement reconnaissante, merci maman.*

***Mon très cher père, Abdelkarim** qui m'a donné un magnifique modèle de volonté. Merci papa, avec mes prières qu'ils soient toujours en bonne santé.*

***A ma très chère sœur, Imen :** Merci d'être toujours là pour me soutenir dans les moments difficiles*

***A mon très cher frère, Salim :** Merci pour votre aide et votre soutien moral, je vous remercie vivement*

A mes grand-mères.

***A mes amies :** Fatima, Asma, kholoud, Faten , Chaima*

***A ma binôme Asma** et toute sa famille.*

A toute la promotion de toxicologie fondamentale et appliquée (2023/2024).

Chahinez



Dédicace

Grâce à **ALLAH** et toujours grâce à Lui, le Tout-Puissant, j'ai pu finaliser ce mémoire.

Je dédie ma graduation d'abord à ma grand-mère défunte, qui a été ma source de force, et ensuite à ma famille.

À ma très chère mère, Louiza : tes prières illuminent mon chemin, ta flamme me guide dans l'obscurité.

À mon père, Djamel : ta sincérité, tes efforts, tes durs travaux m'assurent une vie en roses. Tu es le pilier de la famille.

À mes adorables sœurs, Meriem et Samira : merci pour votre soutien et votre aide. Grâce à vous, j'ai trouvé le courage et la force pour terminer mon travail. Je vous aime énormément.

Au meilleur frère, Nasreddine : merci pour ton soutien et tes encouragements.

À mon grand-père et ma tante, que Dieu les protège.

À mon mari, Mohamed : merci pour tout l'encouragement, le respect et le soutien dont tu as fait preuve pendant la réalisation de mon mémoire. Je voudrais t'exprimer mes affections et ma gratitude.

À ma nièce, Hiba, et mon neveu, Yaakoub : mes chers anges, je vous aime beaucoup.

À mon binôme, Chahinez, et toute sa famille.

À mes meilleures amies : Meriem, Amina, Khouloud et Faten, à qui je souhaite réussite et bonheur.

À toute la promotion de toxicologie fondamentale et appliquée (2023/2024).

Asma

Liste des tableaux

N°	Titre des tableaux	Page
1	Principales caractéristiques physicochimiques de toluène	3
2	Principales espèces réactives de l'oxygène	11
3	Principales sources des ROS	13
4	Les grandes familles de polyphénols	19
5	Classification botanique du grenadier	21
6	Composition phytochimique de <i>Punica granatum</i>	24
7	Comparaison entre le jus de grenade et le jus d'autres fruits : concentration en polyphénols et activité antioxydante.	26
8	Caractéristiques géographiques et climatiques du site de récolte	29
9	Les différents groupes des rats	30

Liste des figures

N°	Titre des figures	Page
1	Schématisation de la balance entre les ERO et les antioxydants	10
2	Principales pathologies s'accompagnant d'un stress oxydant	15
3	Pyramide des systèmes de défenses antioxydants	16
4	Sites d'action des nutriments antioxydants (en rouge) et des enzymes Antioxydantes (en noir)	16
5	Préparation de l'extrait aqueux de la corce de <i>Punica granatum</i>	30
6	Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	31
7	Poids absolu des testicules (g) chez les différents groupes des rats (M±SEM) après 45 jours de traitement.	37
8	Poids absolu des épididymes (g) chez les différents groupes des rats (M±SEM) après 45 jours de traitement.	38
9	Motilité totale des spermatozoïdes dans différents groupes expérimentaux (M ± SEM).	38
10	Motilité progressive et non progressive et spermatozoïdes immobiles dans différents groupes expérimentaux (M ± SEM).	39
11	Taux du MDA testiculaire (nmol/ mg prts) dans différents groupes expérimentaux (M ± SEM)	39
12	Taux du GSH testiculaire (nmol/ mg Prst) dans différents groupes expérimentaux (M± SEM)	40
13	Activité enzymatique de GPx testiculaire (nmol GSH/ mg Prts) dans différents groupes expérimentaux (M ± SEM)	40

Liste des Abréviations

ABM : acide benzylmercapturique.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AE : Acide ellagique.

ATP : adénosine triphosphate.

TDI : D'isocyanate de toluène.

CAT : Catalase.

CES : LA Confédération européenne des syndicats.

Cov : Composés organiques volatils.

CVS : Système Cardiovasculaires.

DTNP : désoxyribonucléoside triphosphate.

EDTA : acide éthylène diamine Tetra acétique.

EGCG : gallate d'épigallocatechine.

EPG : guides de programmation électroniques.

ERA : espèce réactive d'azote.

GPx : glutathion peroxydase.

GSH : glutathion réduit.

GSSG : disulfure de glutathion.

HSP : protéine de choc thermique.

HHDP : hexahydroxydiphenique.

IRM : imagerie par résonance magnétique.

LDL : mauvais cholestérol.

MDA : malondialdéhyde.

NMDA : N_ méthyle_ d aspartate.

Nox : nadph oxydase.

PG : punicalagine.

PI : punicallin.

PUFA : acides gras polyinsaturés.

RL : radicaux libres.

Ros / ERO : espèce réactive de l'oxygène.

SH : GROUPEMENT Sulfhydrile.

SOD : superoxyde dismutase.

SSA : acide sulfosalicylique.

TBA : acide thiobarbiturique.

TBs : solution tampon.

TCA : acide trichloracétique.

Tol : Toluène.

TRXr : thioredoxine réductase.

TRx : thioredoxine.

UV : Ultraviolet.

Table des matières

Résumé

Abstract

المخلص

Introduction	01
1. Etude bibliographique	03
1.1 le toluène	03
1.1.1. Identification et propriétés physico-chimiques	03
1.1.2. Utilisation	04
1.1.3. Principales sources d'exposition	04
1.1.4. Comportement du toluène	04
1.1.5. Toxicocinétique	05
1.1.6. Effets d'exposition sur la santé	06
1.2. Stress oxydant	10
1.2.1. Définition	10
1.2.2. Radicaux libres	11
1.2.3. Sources endogènes de ROS	11
1.2.4. Sources exogènes de ROS	13
1.2.5. Conséquences de stress oxydant	13
1.2.6. Conséquences à long termes	14
1.2.7. Les systèmes de protection (Antioxydants)	15
1.2.8. Définition des antioxydants	15
1.2.9. Mécanismes antioxydants	15

1.2.10. Différentes localisations cellulaires des antioxydants	16
1.2.11. Systèmes Antioxydants enzymatiques	17
1.2.12. Systèmes Antioxydants non enzymatiques	17
1.3. Grenadier (<i>Punica granatum</i>)	20
1.3.1. Généralités sur la plante	20
1.3.2. Historique de la grenade	20
1.3.3. Nomenclature	20
1.3.4. Origine géographique et repartition	21
1.3.5. La production de grenade en Algérie	21
1.3.6. Classification Botanique	21
1.3.7. Description Botanique	22
1.3.8. La composition phytochimique de <i>Punica granatum</i> L.	23
1.3.9. Valeur nutritionnelle de la grenade	24
1.3.10. Bienfaits et propriétés du <i>Punica granatum</i>	25
2. Matériels et Méthodes	29
2.1. Matériel	29
2.1.1. Matériel biologique	29
2.1.2. Matériel végétal	29
1.3. Matériel Chimique	29
2.2. Méthodes	30
2.2.1. Répartition et traitement des rats	30
2.2.2. Sacrifice des animaux et préparation des échantillons	30
2.2.3. Poids absolu des organes	32
2.2.4. Détermination de la biologie des spermatozoïdes	32

2.2.5. Dosage des paramètres de stress oxydant	32
2.2.6. Etude statistique des résultats	36
3. Résultats	37
3.1. Poids des testicules	37
3.2. Poids d'épididymes	37
3.3. Motilité des spermatozoïdes	38
3.4. Taux du malondialdéhyde (MDA)	39
3.5. Taux du glutathion réduit (GSH)	40
3.6. Activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)	40
4. Discussion	41
5. Conclusion et perspectives	44
Références bibliographiques	46

Résumé

L'infertilité masculine a connu une augmentation préoccupante ces dernières années, en partie attribuée aux expositions aux produits chimiques environnementaux qui induisent fréquemment un stress oxydatif accru. Les thérapies antioxydantes présentent un potentiel pour atténuer les dommages oxydatifs aux spermatozoïdes, ouvrant ainsi la voie à la restauration de la fertilité. Cette étude vise à évaluer les effets de l'exposition subchronique au toluène (Tol) sur quelques paramètres de la fonction reproductive et de stress oxydatif et à confirmer le potentiel antioxydant protecteur et thérapeutique de l'extrait aqueux d'écorce fraîche de *Punica granatum* (FPAE) contre les effets délétères de ce solvant. 50 rats mâles adultes ont été répartis en 5 groupes de 10 rats chacun, et ont été traités par voie orale pendant 45 jours comme suit : Témoin (T), témoins positifs (H : 0.3 mL/kg de poids corporel [PC] d'huile de maïs ; FPAE : 400 mg/kg PC d'extrait aqueux d'écorce fraîche de grenade), Tol (550 mg/kg PC de toluène dilué dans l'huile de maïs), et un mélange de FPAE-Tol. À la fin du traitement, les paramètres du sperme et les marqueurs de stress oxydatif ont été étudiés, incluant le poids absolu des testicules et des épидидymes, la motilité des spermatozoïdes, ainsi que les niveaux de GSH, GPx et MDA dans les testicules. Les résultats obtenus ont montré que le Tol a significativement diminué le poids des testicules, la motilité totale, progressive et non progressive des spermatozoïdes, et augmenté le taux des spermatozoïdes immobile. L'impact de toluène sur les paramètres de stress oxydant est représenté par une augmentation significative du marqueur de la peroxydation lipidique (MDA) avec une diminution de l'activité de glutathion peroxydase (GPx) et du glutathion (GSH) au niveau des testicules. Une amélioration significative dans presque tous les paramètres étudiés a été observée dans le groupe FPAE-Tol par rapport aux groupe Tol. En conclusion, cette étude démontre que l'exposition au toluène peut induire un dysfonctionnement testiculaire et des altérations des paramètres de stress oxydatif, et que l'extrait aqueux d'écorce de grenade atténue ces effets grâce à ses propriétés antioxydantes.

Mots clés : Antioxydant, *Punica granatum*, Toluène, Rats, Spermatozoïdes, Stress oxydatif.

Abstract

Male infertility has seen a concerning rise in recent years, partly attributed to environmental chemical exposures that often lead to heightened oxidative stress. Antioxidant therapies hold potential for mitigating oxidative damage to sperm, offering hope for restoring fertility. This study aims to assess the effects of subchronic exposure to toluene (Tol) on various parameters of reproductive function and oxidative stress, and to confirm the protective and therapeutic antioxidant potential of fresh aqueous extract of *Punica granatum* fresh peel (FPAE) against the deleterious effects of this solvent. Fifty adult male rats were divided into 5 groups of 10 rats each and orally treated for 45 days as follows: Control (T), Positive controls (H: 0.3 mL/kg body weight [BW] of corn oil; FPAE: 400 mg/kg BW of pomegranate fresh peel aqueous extract), Tol (550 mg/kg BW of toluene diluted in corn oil), and a combination of FPAE-Tol. At the end of the treatment period, sperm parameters and oxidative stress markers, including absolute weights of testes and epididymides, sperm motility, and levels of GSH, GPx, and MDA in the testes, were studied. The results showed that Tol significantly decreased testicular weight, total, progressive, and non-progressive sperm motility, and increased immotile sperm count. Toluene's impact on oxidative stress parameters was evidenced by a significant increase in the lipid peroxidation marker (MDA) with a decrease in glutathione peroxidase (GPx) activity and glutathione (GSH) levels in the testes. Significant improvements in almost all studied parameters were observed in the FPAE-Tol group compared to the Tol group. In conclusion, this study demonstrates that toluene exposure can induce testicular dysfunction and alterations in oxidative stress parameters, and that the aqueous extract of pomegranate peel attenuates these effects through its antioxidant properties.

Keywords: Antioxidant, *Punica granatum*, Toluene, Rats, Sperm, Oxidative stress.

الملخص

شهد العقم الذكوري زيادة مقلقة في السنوات الأخيرة، يُعزى جزئيًا إلى التعرض للمواد الكيميائية البيئية التي تُسبب غالبًا زيادة في الإجهاد التأكسدي. تُظهر العلاجات المضادة للأكسدة إمكانية الحد من الضرر التأكسدي للحيوانات المنوية، مما يمهد الطريق لاستعادة الخصوبة. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير التعرض الشبه المزمن للتولوين (Tol) على عدة معايير لوظيفة التكاثر والإجهاد التأكسدي، ولتأكيد القدرة المضادة والعلاجية للمستخلص المائي لقشر *Punica granatum* الطازج (FPAE) ضد آثار هذا المذيب الضار. تم تقسيم خمسين ذكر فأر إلى خمس مجموعات، كل مجموعة تتكون من عشرة فئران وتمت معالجتهم عن طريق الفم لمدة 45 يومًا كما يلي: المجموعة الشاهدة (T)، الشواهد الإيجابية (H: 0.3 مل/كغ من وزن الجسم؛ FPAE: 400 مل/كغ من وزن الجسم لمستخلص المائي لقشر الرمان الطازج)، Tol (550 مل/كغ من وزن الجسم من التولوين مخفف في زيت الذرة)، ومزيج من FPAE-Tol. في نهاية فترة العلاج، تم دراسة معايير الحيوانات المنوية والمؤشرات التأكسدية، بما في ذلك الأوزان المطلقة للخصيتين والبربخ، وحركية الحيوانات المنوية، ومستويات GSH، GPx، و MDA في الخصيتين. أظهرت النتائج أن التولوين قلل بشكل كبير من وزن الخصية، والحركية الإجمالية، والتقدمية وغير التقدمية للحيوانات المنوية، وزيادة نسبة الحيوانات المنوية الغير متحركة. كما أن تأثير التولوين على معايير الإجهاد التأكسدي كان واضحًا من خلال زيادة ملحوظة في مؤشر الأكسدة الدهنية (MDA) مع انخفاض في نشاط غلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) ومستويات الغلوتاثيون (GSH) في الخصيتين. أظهرت النتائج تحسنًا ملحوظًا في تقريبًا جميع المعايير المدروسة في مجموعة FPAE-Tol مقارنة بالمجموعة Tol. في الختام، تظهر هذه الدراسة أن التعرض للتولوين يمكن أن يسبب اضطرابات في الخصية وتغيرات في معايير الإجهاد التأكسدي، وأن مستخلص قشر الرمان المائي يخفف هذه الآثار بفضل خصائصه المضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: مضادات الأكسدة، *Punica granatum*، الجرذان، التولوين، الحيوانات المنوية، الإجهاد التأكسدي.

INTRODUCTION

Introduction

Historiquement, les problèmes de reproduction étaient souvent principalement attribués aux femmes, mais les recherches modernes soulignent que l'infertilité masculine est devenue une préoccupation croissante, parallèle à la préoccupation de longue date pour l'infertilité féminine (**Taha et al., 2020**).

L'infertilité masculine peut résulter de diverses causes, notamment les choix de vie qui jouent un rôle crucial. Une mauvaise alimentation, le manque d'exercice, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool et la consommation de drogues peuvent avoir un impact négatif sur la qualité et la quantité des spermatozoïdes (**Ricci et al., 2006 ; Sharma et al., 2016**).

De plus, l'exposition professionnelle à des substances nocives, telles que les solvants et les produits chimiques industriels, aggrave encore les problèmes d'infertilité (**Jensen et al., 2006**).

Le toluène est un hydrocarbure aromatique couramment utilisé comme solvant dans de nombreux produits industriels et domestiques, tels que les peintures, les vernis et les adhésifs. Il est également présent dans l'essence et certains produits de nettoyage. C'est une substance lipophile qui présente une grande affinité pour les lipides et peut se diffuser facilement dans les tissus (**Tas et al., 2011**). L'exposition au toluène peut avoir des effets nocifs sur la santé, notamment des maux de tête, des étourdissements, et des troubles de la mémoire et de la concentration. Une exposition prolongée ou à des niveaux élevés peut entraîner des dommages au système nerveux central, des atteintes rénales et hépatiques, ainsi que des problèmes de la fonction reproductrice (**Bowen, 2006 ; Moro et al., 2012 ; Djemil et al., 2015 ; Shaffie et Shabana, 2019**).

Ces effets sont principalement attribués à la capacité du toluène à induire un stress oxydatif via la génération d'espèces réactives de l'oxygène, l'inactivation des enzymes et la suppression des défenses antioxydantes (**Kamel et Shehata, 2008 ; Moro et al., 2010 ; Wang et al., 2013**).

Vu la diversité et la gravité des maladies provoquées par le stress oxydatif, de nombreuses études se sont concentrées sur la recherche de nouvelles molécules thérapeutiques d'origine naturelle pour combattre le stress oxydatif et ses pathologies associées (**Bidie et al., 2011 ; Bone et Mills, 2013**).

L'intérêt récent pour les antioxydants naturels a fortement augmenté en raison de leurs bienfaits potentiels pour la santé et de leur profil de sécurité par rapport aux alternatives synthétiques. Les

antioxydants naturels se trouvent dans une variété d'épices, d'herbes, de légumes et de fruits (Popovici *et al.*, 2009 ; Bourgou *et al.*, 2016).

Parmi les fruits qui ont pris un grand intérêt et qui ont fait l'objet de plusieurs travaux de recherche, le grenadier (*Punica granatum*). C'est un arbuste originaire de la région allant de l'Iran à l'Inde du Nord, largement cultivé pour son fruit nutritif. Ce fruit est cultivé également dans les régions méditerranéennes depuis des millénaires, et il occupe une place essentielle dans l'alimentation, la culture, et même la symbolique de ces territoires (Holland *et al.*, 2009). En plus d'être consommée fraîche, la grenade est utilisée dans de nombreuses recettes traditionnelles en raison de ses propriétés antioxydantes et de ses bienfaits pour la santé (Gil *et al.*, 2000 ; Tapias *et al.*, 2014). Ces propriétés, ainsi que plusieurs autres fonctions biologiques telles que ses propriétés anti-lipoperoxydation, anti-inflammatoires, cardio-protectrices, antidiarrhéiques, et anticancéreuses, sont attribuées à la présence d'un grand nombre de nutriments potentiellement actifs, principalement trouvés dans son jus et son écorce (Aviram *et al.*, 2002 ; Hong *et al.*, 2008 ; Dkhal *et al.*, 2013 ; Thangavelu *et al.*, 2017 ; Russo *et al.*, 2019).

Sur la base des faits énoncés ci-dessus, cette étude visait à explorer les effets subchroniques du toluène administré par voie orale sur quelques marqueurs de reproduction et de stress oxydatif chez les rats mâles Wistar. De plus, notre objectif était d'évaluer les propriétés antioxydantes d'extrait aqueux de l'écorce de *Punica granatum* contre les altérations induites par ce solvant. Il nous a semblé approprié de présenter notre travail selon le plan suivant :

- Après une introduction générale, la première partie consiste en une étude bibliographique, assez approfondie et comprenant des études menées par des chercheurs renommés dont les résultats sont des références dans le domaine.
- La deuxième partie constitue le contexte de cette étude liée au protocole analytique, qui est basé sur les méthodes utilisées dans cette étude.
- Dans la troisième partie, nous présentons les résultats.
- Enfin, nous discutons en détail des résultats obtenus dans cette étude et suggérons quelques perspectives pour ce travail de recherche.

ÉTUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

1. Etude bibliographique

1.1. Toluène

1.1.1. Identification et propriétés physico-chimiques

Le toluène, également connu sous le nom de méthylbenzène, phénylméthane ou toluol, est un simple dérivé du benzène (Fishbein, 1985 ; Crus *et al.*, 2014).

C'est est un composé aromatique monocyclique où un hydrogène du cycle benzénique est remplacé par un groupe méthyle (formule moléculaire $C_6H_5CH_3$). Il est un liquide volatil, inflammable, explosif, avec une tension de vapeur relativement élevée (MDF, 1984).

Il est moyennement soluble dans l'eau (590 mg/L à 25°C) et miscible à de nombreux solvants organiques comme l'acétone, le chloroforme et l'éthanol (Crus *et al.*, 2014).

Tableau 1 : Principales caractéristiques physico-chimiques du toluène

Caractérisation	Toluène
Propriété chimique	
Formule chimique	C_7H_8 (INRS, 2012)
Synonymes	Méthylbenzène, phénylméthane (INRS, 2012)
État Physique	Liquide (INRS, 2012)
Masse molaire	92,14 g/mol (INRS, 2012)
Couleur	Liquide transparent et incolore (Gouvernement du Canada, 1992)
Propriétés physiques	
Densité	0,867 (INRS, 2012)
Solubilité dans l'eau	0,519 g/L à 25°C (ANSES, 2017)
Température d'inflammation	225°C (CNRS, 2010)
DL50 orale	2,6 g/kg (Chemfax, 2021)

1.1.2. Utilisation

Le toluène est utilisé pour (ATSDR, 2000; Sweere *et al.*, 2011; Malaguarnera, 2012) :

- Élever l'indice d'octane dans les carburants, mélangé avec du benzène et des xylènes.
- Comme solvant d'extraction dans l'industrie cosmétique (parfums) et pharmaceutique.
- Comme solvant dans les peintures, vernis, formulations de pesticides, encres d'impression, adhésifs, mastics, agents de nettoyage et pour les extractions chimiques (Levelton and Associates Ltd., 1990).
- Comme produit de départ pour divers procédés industriels : synthèse du caoutchouc, phénol, TNT, diisocyanate de toluène (TDI), nécessaire pour obtenir la mousse de polyuréthane, benzène, xylènes, nitrotoluène, chlorure de benzyle, benzaldéhyde, acide p-toluènesulfonique, vinyltoluène, etc.
- Dans la fabrication d'adhésifs et de colles.
- Dans le tannage du cuir.
- Étonnamment, le toluène joue un rôle important dans notre capacité à apprécier la célèbre boisson Coca-Cola. Le toluène est impliqué dans l'élimination de la cocaïne des feuilles de coca, qui sont utilisées pour développer le fameux sirop de Coca-Cola.

1.1.3. Principales sources d'exposition

L'essence automobile contenant de 5 à 7 % de toluène est à l'origine d'environ 65 % du toluène anthropique dans l'air, le reste provenant de l'industrie pétrolière et de procédés industriels utilisant le toluène, seulement 2 % résultant de la production (Samoto *et al.*, 2006).

Les volcans et les feux de forêt constituent des sources naturelles d'émission (ATSDR, 2000).

1.1.4. Comportement du toluène

Le toluène peut être très mobile dans l'environnement avec quatre voies principales de transport :

- **Dans l'atmosphère :** Environ 99 % du toluène libéré se trouve dans l'atmosphère, où il se volatilise rapidement et subit une réaction de photo-oxydation, produisant des crésols, du benzaldéhyde et d'autres produits. La durée de vie troposphérique minimale est de 4,5 heures (Finlayson-Pitts et Pitts, 1986 ; Gouvernement du Canada, 1992).

- **Dans les eaux :** Le toluène se dégrade dans l'eau par voie anaérobie et aérobie (**Gouvernement du Canada, 1992**).
- **Dans les sols :** La volatilisation à partir de la surface du sol est rapide avec une demi-vie de neuf secondes (Gilbert et al., 1983). Pour les dix premiers cm de sol, les demi-vies sont de moins de trois jours dans un sol sec et de moins d'un mois dans un sol humide (**SRI, 1980; Gouvernement du Canada, 1992**).
- **Dans les biotes :** Le toluène ne s'accumule pas beaucoup chez les organismes terrestres ou aquatiques et ne semble pas se bioamplifier dans la chaîne alimentaire (**Gouvernement du Canada, 1992**).

1.1.5. Toxicocinétique

➤ **Absorption**

Le toluène est principalement absorbé par inhalation, avec une absorption rapide : 10 à 15 minutes après le début de l'exposition (**Carlsson, 1982; INERIS, 2005**). Environ 50 % de la

➤ **Distribution**

Le toluène se distribue dans les tissus riches en lipides et vascularisés comme le cerveau, le foie, le tissu adipeux et les reins. Il passe la barrière placentaire et se trouve dans le lait maternel (**ATSDR, 2000**).

➤ **Métabolisme**

La voie oxydative (phase I) est considérée comme la principale voie métabolique (80%). Dans le foie, le toluène est oxydé par les monooxygénases du cytochrome P450, principalement CYP 2E1, en alcool benzylique. Il est ensuite converti en benzaldéhyde, qui est à son tour métabolisé en acide benzoïque, principalement par l'aldéhyde déshydrogénase mitochondriale (ALDH)-2. De plus, l'acide benzoïque est conjugué avec la glycine pour former de l'acide hippurique (83-94% des métabolites urinaires) ou avec l'acide glucuronique pour former du benzylglucuronide (3-9% des métabolites urinaires) (**US EPA, 2005 ; Waniusiow et al., 2008**). La voie de conjugaison (phase II) est considérée comme une voie métabolique secondaire (10%). C'est la liaison de l'alcool benzylique au glutathion pour former des conjugués benzylglutathion c-stéin-S et des acides benzylmercapturiques (BMA) (**Tassaneeyakul et al., 1996**).

➤ Élimination

Le toluène est éliminé principalement dans les urines sous forme de métabolites (environ 80 %), le reste étant excrété inchangé dans l'air expiré. Moins de 2 % sont éliminés dans les fèces (CSST, 2004).

1.1.6. Effets d'exposition sur la santé

a. Toxicité aiguë

Après une exposition aiguë chez l'homme, les effets indésirables comprenaient des maux de tête, de la fatigue, une irritation des yeux, une tendance accrue à dormir et des troubles de la mémoire (Echeverria *et al.*, 1991).

Chez l'animal, le toluène est faiblement toxique pour des expositions aiguës : les principaux effets rapportés correspondent à des effets irritants locaux ou des effets neurologiques.

b. Toxicité chronique

La voie respiratoire est la voie usuelle d'intoxication professionnelle. Le syndrome psycho-organique est l'effet toxique majeur du toluène : troubles de la mémoire, de la concentration, de la personnalité avec diminution des facultés intellectuelles. L'incidence de ces troubles augmente avec le niveau d'exposition mais aucune corrélation dose-réponse n'a été établie ; le toluène pourrait agir sur la fonction de reproduction (risque de fausse couche tardive lors d'exposition précoce au cours de la grossesse) ; en cas d'exposition chronique maternelle, risque de retard de croissance intra-utérin (Biomnis, 2013).

c. Effets sur le système nerveux

Le toluène traverse facilement la barrière hémato-encéphalique après avoir été absorbé par l'organisme et a des effets néfastes sur le système nerveux central (Win-Shwe et Fujimaki 2010). Ces effets comprennent une diminution des performances intellectuelles, des troubles de la mémoire et de la concentration et des insomnies (Echeverria *et al.*, 1991). La discrimination des couleurs, la perception visuelle et la dextérité manuelle diminuent dans les tests psychométriques (Kobald *et al.*, 2015).

d. Effets cancérogènes (Cancérogénicité)

Le toluène n'est pas cancérigène chez le rat et la souris exposés par inhalation jusqu'à 1200 ppm, 6,5 h/j, 5 j/sem., pendant 2 ans. Il provoque des lésions non néoplasiques de la cavité

nasale ainsi qu'une néphropathie chez le rat et une hyperplasie de l'épithélium bronchique et des adénomes de l'hypophyse chez la souris. Par voie orale, chez le rat (gavage, 500 mg/kg/j, 4 - 5 j/sem., 2 ans), il induit une augmentation de néoplasmes lymphoréticulaires. Les résultats par voie cutanée chez la souris sont en général négatifs. (NTP.,1990 ; IARC,1999 ; ATSDR.,2000)

e. Effets sur le système génétique

Les époxydes de toluène sont produits par une voie de biotransformation du toluène, qui peuvent produire des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et provoquer un stress oxydatif et des dommages à l'ADN. (Murata *et al.*, 1999 ; Kodavanti *et al.*, 2011). L'oxydation de l'ADN a des conséquences génotoxiques potentielles (Martinez-Alfaro *et al.*, 2010) et est impliquée dans la pathogénèse de plusieurs maladies (Costa *et al.*, 2006), notamment le cancer et les troubles neurodégénératifs (Marlatt *et al.*, 2008). Des études antérieures ont montré qu'une exposition in vivo à diverses doses de toluène (0,5, 1,0 et 1,5 g/kg ip) provoquait une augmentation de la génération de ROS dans différentes régions du cerveau ainsi que dans le sang. Parmi les régions du cerveau, l'hippocampe présentait les niveaux les plus élevés de ROS induites (Mattia *et al.*, 1993). En outre, une augmentation significative des dommages oxydatifs de l'ADN s'est produite dans les lymphocytes des rats exposés à des vapeurs plus fines. En outre, une augmentation significative des dommages oxydatifs de l'ADN s'est produite dans les lymphocytes des rats exposés à des vapeurs plus fines par rapport aux lymphocytes des rats témoins (Martinez-Alfaro *et al.*, 2006). De plus, la corrélation de niveaux de toluène dans le sang et dommages génétiques dans les leucocytes dédiés peintres industriels du Rio Grande do Sul, au Brésil, ont montré que de faibles niveaux d'exposition au toluène peuvent provoquer des dommages génétiques. L'âge, qui est lié au stress oxydatif, à l'âge et au moment d'exposition (Moro *et al.*, 2012).

f. Effets sur les reins

Les rapports décrivent l'acidose tubulaire rénale distale (DRTA) comme une caractéristique commune chez les toxicomanes de toluène (Camara-Lemarroy *et al.*, 2015).

Il peut également provoquer la formation de calculs rénaux et une pyurie en raison de la néphrotoxicité (ATSDR, 2007). Il est évident que le toluène détériore les structures glomérulaires et tubulaires rénales et provoque une émergence rénale (Meydan *et al.*, 2016).

g. Effets sur le foie

Le toluène provoque des changements structuraux dans le tissu hépatique (**Meydan et al., 2019**). Il peut provoquer aussi une dégénérescence hépatocytaire, une hypertrophie sinusoidale et une infiltration focale des cellules mononucléaires (**Esen et Uysal, 2018**). Une étude par **Ayan et al. (2013)** approuve que l'administration de toluène à haute dose provoque une dégénérescence des hépatocytes, une infiltration de cellules mononucléaires et une apoptose. En outre, l'exposition au toluène peut entraîner des signes histopathologiques tels qu'une hémorragie, une vacuolisation et une nécrose (**Meydan et al., 2019**).

h. Effet sur système cardiovasculaire

Les études indiquent que l'exposition professionnelle au toluène peut entraîner : bradycardie sinusale, asystolie, tachycardie et fibrillation ventriculaires, cardiomyopathie dilatée .et fibrillation ventriculaires, cardiomyopathie dilatée, insuffisance cardiaque, infarctus du myocarde et mort subite (**Cruz et al., 2003 ; Tillar et al., 2002**).

i. Effets sur la reproduction et le développement

➤ Effets Reproductifs chez les Femmes

Les femmes exposées au toluène peuvent éprouver des troubles menstruels, y compris des cycles irréguliers et des dysménorrhées (**Chia et al., 2017**). L'exposition au toluène, même à des niveaux inférieurs à 100 ppm, est associée à un risque accru de fausses couches et de naissances prématurées (**ATSDR, 2017**). Ce risque est particulièrement élevé pour les femmes travaillant dans des occupations impliquant une exposition fréquente aux solvants (**Lindbohm et al., 2009**). Les enfants nés de mères exposées à des niveaux élevés de toluène pendant la grossesse peuvent éprouver des problèmes neurodéveloppementaux, tels que des déficits cognitifs et des troubles comportementaux (**Bao et al., 2016**). Le toluène peut traverser la barrière placentaire, affectant le développement cérébral du fœtus. Une exposition à long terme peut entraîner des effets neurotoxiques significatifs, impactant le développement global de l'enfant (**WHO, 2010**).

➤ Effets Reproductifs chez les Hommes

La recherche indique que l'exposition professionnelle au toluène peut entraîner une diminution de la qualité et de la quantité du sperme. Les travailleurs exposés aux solvants organiques, y

compris le toluène, montrent une motilité réduite des spermatozoïdes et un pourcentage accru de spermatozoïdes anormaux (**Xiao et al., 2001**).

L'exposition au toluène a été également associée à des niveaux plus bas de testostérone chez les hommes. Ce déséquilibre hormonal peut affecter la libido, la fonction érectile et la santé reproductive globale (**Nakai et al., 2003**).

Les rats mâles exposés à des niveaux élevés de toluène ont présenté une atrophie testiculaire, une diminution du nombre de spermatozoïdes (**Djemil et al., 2015**).

Dans l'étude de **Yamada (1993)**, aucun effet n'a été observé sur le poids des testicules, de l'épididyme, du canal déférent, des vésicules séminales et de la prostate, ainsi que sur les niveaux de testostérone plasmatique et l'activité de l'acide phosphatase dans la prostate. De plus, le nombre de spermatozoïdes dans l'épididyme n'a pas été affecté par le toluène.

j. Toluène et stress oxydatif

Le toluène est connu pour sa capacité à induire le stress oxydatif, un facteur clé de sa toxicité. L'exposition au toluène entraîne des dommages oxydatifs principalement en raison d'une augmentation de la production de radicaux libres et d'un système de défense antioxydant compromis (**Mattia et al., 1993**). Plusieurs études ont montré que l'exposition au toluène réduit l'activité de plusieurs enzymes antioxydantes importantes telles que la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase. De plus, elle peut diminuer les niveaux de glutathion réduit, aggravant ainsi le stress oxydatif (**Kamel and Shehata, 2008 ; Liu et al., 2010**).

1.2. Stress oxydant

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines (Favier, 2003).

1.2.1. Définition

Le stress oxydatif, appelé aussi stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes de l'organisme en faveur des premiers, ce qui conduit à des dommages cellulaires irréversibles (Pincemail et al., 1999). Le stress oxydatif est un fonctionnement de l'organisme qui est normal tant qu'il ne dépasse pas certaines limites. En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent des radicaux libres qui sont de petites substances chimiques très oxydées par le contact avec l'oxygène, et dont nos cellules savent normalement très bien se débarrasser. Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources antioxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer (Chu et al., 2010).

Le stress oxydant est responsable de dommages moléculaires liés à la forte réactivité des ERO. Les acides nucléiques de l'ADN, les lipides des membranes cellulaires, les protéines enzymatiques ou structurales qui jouent un rôle fondamental pour la survie cellulaire, sont les cibles moléculaires de ces ERO (Goudable et Favier, 1997).

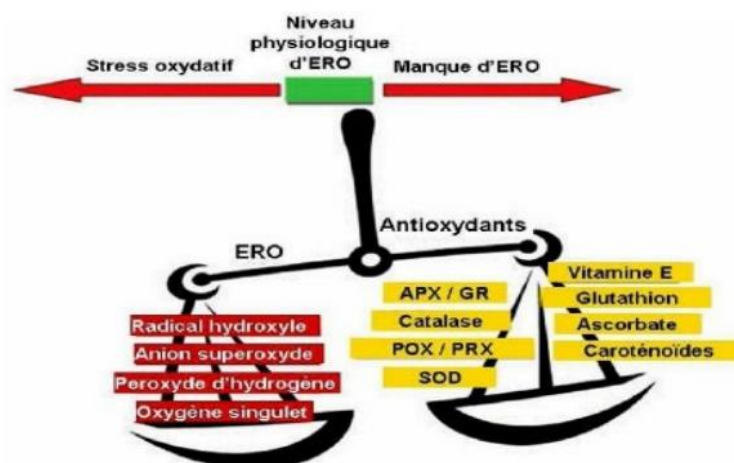


Figure 1 : Schématisation de la balance entre les ERO et les antioxydants (Ait yahia et Zemmoura, 2014).

1.2.2. Radicaux libres

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERA) représentent l'ensemble des espèces oxygénées activées (radicaux libres). Ce sont des entités chimiques, molécules, ou simples atomes possédant un ou plusieurs électrons célibataires, ce qui leurs confèrent une grande réactivité. En effet, un radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable :

il va donc se réduire en oxydant un autre composé (**Halliwell, 2006**).

Toutes les ERO ne sont pas des radicaux libres. Par exemple, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le peroxynitrite ($ONOO^-$) ne possèdent pas d'électrons célibataires et ne peuvent donc pas être considérés comme radicaux libres (**Goudable et Favier, 19997**). Les ERO comprennent l'oxygène singulet (1O_2), l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), le radical hydroxyle ($\bullet OH$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'ozone (O_3). Selon les auteurs, ils incluent également le monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$), l'anion peroxynitrite ($ONOO^-$), également désignés espèces réactives de l'azote (ERN), et les radicaux peroxy ($ROO^{\bullet}$) et alkoxy ($RO^{\bullet}$). Les principales ERO sont énumérées dans (le tableau 02) (**Favier, 2003**).

Tableau 2 : Principales espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

Radicaux libres (RL)	Espèces réactives non radicalaires
Anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$)	Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
Hydroxyle ($OH^{\bullet}$)	Acide hypochlorique ($HOCl$)
Hydroperoxy ($HO_2^{\bullet}$)	Ozone (O_3)
Peroxy ($RO_2^{\bullet}$)	Oxygène singulet (1O_2)
Alkoxy ($RO^{\bullet}$)	Hydroperoxyde ($ROOH$)
Dioxyde de carbone ($CO_2^{\bullet -}$)	Peroxynitrite ($ONOO^-$)

1.2.3. Sources endogènes de ROS

La production de ROS dans la cellule est possible par diverses sources, puisque la plupart des réactions physiologiques cellulaires utilisent de l' O_2 . Par contre, la majeure partie de la production de ROS provient de deux sources principales : les enzymes NADPH oxydase

(NOXs) et la mitochondrie (**Schieber et al., 2014**). Pour ce mémoire, les ROS provenant de la mitochondrie seront plus approfondis à cause du positionnement intracellulaire stratégique des mitochondries.

-NADPH oxydase

La NOX est un complexe enzymatique à 6 passages transmembranaires. Chez les mammifères, il existe 7 isoformes (NOX1 à 5, DUOX1 et DUOX2) (**Landry et al., 2014 ; Konior et al., 2014**). Seul NOX1, 2, 4 et 5 sont exprimés dans l'endothélium vasculaire (**Drummond et al., 2014**). Les complexes enzymatiques NOXs sont les seuls enzymes à avoir pour seule fonction connue la production de ROS. Certains isoformes produisent du O_2^- et d'autres du H_2O_2 . Toutes les NOXs produisent les ROS, non pas comme le déchet d'une réaction, mais bien pour le maintien de la physiologie cellulaire (**Brieger et al., 2012; Drummond et al., 2014**).

-Mitochondrie

Dans la mitochondrie, les ROS sont produits par la chaîne de transport des électrons. Dans la littérature, il est dénombré que la chaîne de transport possède 7 sites où la production de ROS peut survenir (**Brand, 2010 ; Holzerova et al., 2015**). Par contre, ce sont les complexes protéiques I et III qui sont responsables de la majeure partie de la production de ROS mitochondriaux. Aux complexes I et III de la chaîne, il est possible qu'un électron soit « échappé » par les complexes (une fuite d'électron) (**Brand, 2010 ; Jin et al., 2014**). Cet électron libre interagit avec une molécule d' O_2 et cause la formation d'un anion superoxyde (O_2^-) (**Monsalve et al., 2007**). La production de superoxyde fait partie de l'activité basale de la chaîne. Le superoxyde ne passe pas les membranes cellulaires. Ainsi, une fois produit, il est transformé en H_2O_2 par la CAT. Cette molécule traverse les membranes afin d'exercer son effet intracellulaire (**Taverne et al., 2023**). Tout comme le ROS cellulaire, les ROS mitochondriaux (mROS) ont de nombreuses fonctions dans la physiologie cellulaire. En effet, des études démontrent que les mROS ont un rôle à jouer dans l'homéostasie vasculaire (**Godo et al., 2017**), ainsi que dans l'activation de molécules de survie cellulaire (par les voies de signalisation NF- κ B et TNF- α) (**Alevriadou et al., 2017**). Ils participent aussi au recrutement de synapses inhibitrices médié par le neurotransmetteur acide γ -aminobutyrique (GABA) (**Accardi et al., 2014**) et sont une composante importante du système immunitaire, parce que les ROS sont antimicrobiens (**Dryden et al., 2008 ; Brieger et al., 2012**).

1.2.4. Source exogène des ROS

Les êtres vivants sont exposés quotidiennement à des polluants (fumée de cigarette, rayons ultraviolets, radiations...) susceptibles d'être à l'origine de la production de radicaux libres (Justine *et al.*, 2005).

Tableau 3 : principales sources des ROS (Durackova *et al.*, 2008)

Source endogène	Source exogène
NADPH Oxydases	Tabagisme
Chaîne respiratoire mitochondriale	Cytokine pro- inflammatoire
Xanthine Oxydase	Chimiothérapie
Atherogénèse	Radiation ionisante
Lipo-Oxygénase	Radiation UV
Phagocytes	Xénobiotique

1.2.5. Conséquences de stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides) (Favier, 2003) pouvant affecter considérablement les mécanismes cellulaires (GardèsAlbert *et al.*, 2003).

a- Effets sur les lipides

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxy (Favier, 2003). Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxy formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué (Favier, 2003).

b- Effets sur Les protéines

Les protéines sont sensibles aux attaques radicalaires surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH) et les ponts disulfures. C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées. Les protéines

modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome (**Friguet, 2003 ; Garait, 2006**).

c- Effets sur ADN

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène figure 05. Parmi dommages oxydatifs médiés par OH, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténaires, des cassures de brins et des pontages ADN protéines Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation (**Favier, 2003**). L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées : 8 oxo guanine, 8 nitro guanine, 8 oxo adénine 5 hydroxy cytosine, 5 hydroxy méthyl uracile (**Singh et al., 2019 ; Poetsch et al., 2020**). Mais le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin (**Pincemail et al., 2001**).

1.2.6. Conséquences à long termes

Une production excessive chronique de radicaux libres accélère le vieillissement de l'organisme et favorise la survenue ou l'aggravation de nombreuses pathologies, surtout de type inflammatoire ou dégénératif. Voici une liste non exhaustive de maladies où le stress oxydatif joue un rôle indéniable : cancers, diabète, maladies neurodégénératives (Parkinson, Alzheimer), maladies de peau (vitiligo, psoriasis), maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (maladie de Crohn), maladies rhumatismales (arthrite rhumatoïde), maladies de l'œil (cataracte), maladies respiratoires (asthme), maladie cardio-vasculaires (athérosclérose) (voir **figure 2**). À ce jour, on relie plus d'une centaine de maladies à l'action néfaste des radicaux libres. Plus on avance en âge, plus les dommages causés par les radicaux libres deviennent apparents, évidents. Rides, taches brunes sur la peau, perte de mémoire, perte de vitalité, essoufflement rapide, raideurs articulaires, fibroses, scléroses, autant de manifestations de l'activité de plus en plus destructrice des radicaux libres (**Le bail, 2009**).

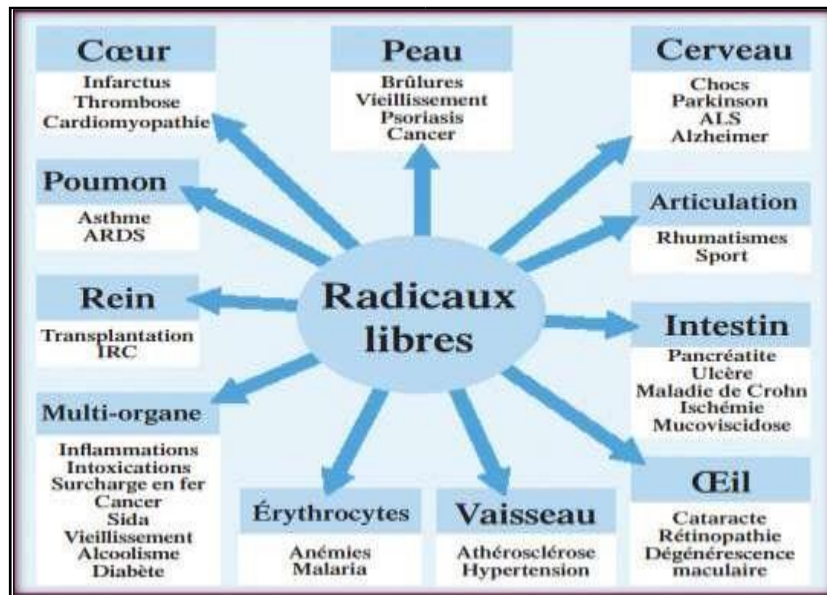


Figure 2 : Principales pathologies s'accompagnant d'un stress oxydant (Favier, 1997).

1.2.7. Les systèmes de protection (Antioxydants)

Pour contourner les dommages causés par les ROS, la cellule fait appel à des systèmes de défense appelés antioxydants (**Halliwell, 2007**)

1.2.8. Définition des antioxydants

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou inhiber la génération d'un oxydant toxique, d'arrêter ceux qui sont déjà produits et de les inactiver, bloquer de ce fait la réaction en chaînes de propagation produite par ces oxydants (**Tang et Halliwell, 2010**).

1.2.9. Mécanismes antioxydants

L'organisme est déterminé d'un ensemble de systèmes de défenses antioxydants très efficaces afin de diminuer la concentration des espèces oxydants dans l'organisme. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques (**Mateos et al., 2001**). Comme on peut voir dans la figure

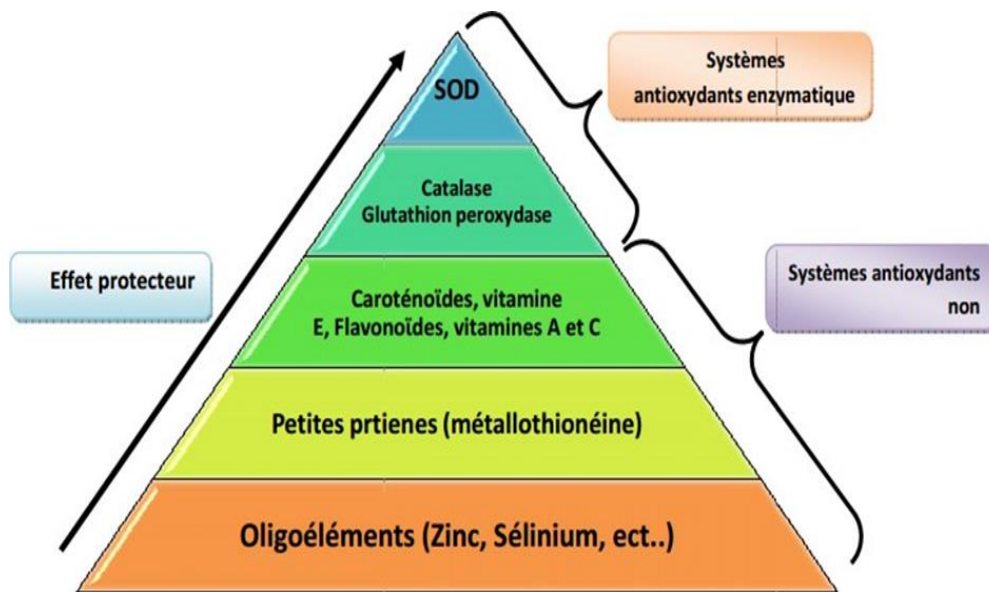


Figure 3 : Pyramide des systèmes de défenses antioxydants (Benghersallah, 2015).

1.2.10. Différentes localisations cellulaires des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés en molécules liposolubles ou hydrosolubles. Selon Leurs caractéristiques physico-chimiques, ils auront une localisation cellulaire préférentielle

- Les membranes cellulaires pour les substances liposolubles et le cytosol
- Le milieu extracellulaire pour les substances hydrosolubles. Ils seront particulièrement efficaces sur les radicaux libres présents dans chaque type de milieu, respectivement.

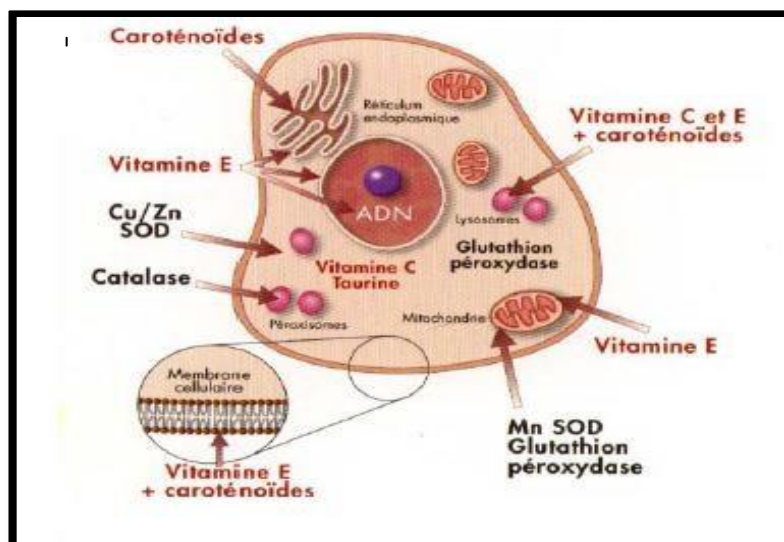


Figure 4 : Sites d'action des nutriments antioxydants (en rouge) et des enzymes Antioxydantes (en noir) (Opara, 2002)

1.2.11. Systèmes antioxydants enzymatiques

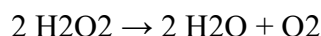
Les principaux systèmes enzymatiques antioxydants les plus efficaces chez les mammifères ainsi que chez les plantes sont la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase (Zibouche et Grimes, 2016).

➤ Superoxyde dismutase

Superoxyde dismutase (SOD) Puissante enzyme antioxydante naturelle, la SOD agit à la source même de la réaction en chaîne induite par les espèces réactives de l'oxygène et constitue donc le premier et l'un des principaux maillons du processus de défense contre les radicaux libres (Menvielle- Bourg, 2005).

➤ Catalase

Catalase C'est une enzyme que l'on retrouve principalement au sein des peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales. Elle catalyse la dismutation de peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau (Desmier, 2016).



➤ Glutathion peroxydase

Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Valko *et al.*, 2006).

➤ Les thiorédoxines (TRx) et la thiorédoxine réductase (TRxR)

Les thiorédoxines sont des enzymes à activité antioxydante intrinsèque comme toutes les protéines à groupement thiol (-SH). Elles jouent aussi un rôle important dans la régulation du système immunitaire. Une fois oxydée, la thiorédoxine est réduite par la thiorédoxine réductase (TRxR) qui est une enzyme possédant un groupement sélénocystéine dans son site actif. La TRxR intervient aussi dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène et dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Hattori *et al.*, 2003).

1.2.12. Systèmes antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant

nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone, le cytochrome c et les vitamines E et C (**Blandine, 2006**).

➤ Oligoéléments

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPX de sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action prooxydante (réaction de Fenton, d'Haber-Weiss) (**Blandine, 2006**).

➤ Glutathion réduit (GSH)

Le glutathion (GSH) est un tri-peptide (acide glutamique-cystéine-glycine) connu par son puissant pouvoir antioxydant (**Menon et al., 2007**). C'est l'antioxydant le plus important dans le contrôle du statut redox (**Biswas et al., 2006**), qui protège non seulement contre les radicaux libres, mais aussi contre les peroxydes (**Tang et al., 2006**).

➤ Vitamine E et vitamine C

Les vitamines E (α -tocophérol) et C (acide ascorbique) semblent être des plus importants dans la lutte contre le stress oxydant. La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique. La vitamine C, hydrosoluble, se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire ; elle peut capter directement l' $O_2^{\bullet-}$ et l' $OH^{\bullet}$. Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E (**Evans, 2000 ; Packer et al., 1997**).

➤ L'acide urique

L'acide urique comme produit final du métabolisme des purines, augmente dans le plasma lors d'efforts physiques intenses (**Baillie et al., 2007**). Il a été proposé comme un des meilleurs antioxydants du plasma in vivo, où il pourrait contribuer à 35-60% de la capacité antioxydante totale (**Johnson et al., 2009**). L'acide urique peut être oxydé en différents produits, puis régénéré par la vitamine C (**Vasconcelos et al., 2007**). Il subsiste certains doutes quant à une réelle fonctionnalité antioxydante de l'acide urique, dont l'augmentation peut aussi bien avoir des conséquences pro-oxydantes que antioxydantes (**Gersch et al., 2009**).

➤ Polyphénols

Les phénols sont des molécules qui contiennent un ou plusieurs noyaux aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyle (OH). Ils peuvent être extraits à partir de plantes ou synthétiques. Une grande partie de ces molécules est présente dans l'alimentation. Les plus connus sont les acides phénoliques (benzoïque ou cinnamique), les flavonoïdes, et les tanins. Les stilbènes et le lignan sont moins connus (Tableau 05) (Tarfaoui, 2020)

Tableau 4 : Les grandes familles de polyphénols (Defraigne et Pincemail, 2008)

Famille	Principaux composés
Acides phénoliques	Acide vallique Acide caféique Acide gallique Acide férulique
Flavonoïdes : Flavonols Flavonones Flavones-3-ols Anthocyanidines	Quercétine Naringénine Catéchine Cyanidine
Stilbènes	Resvératrol
Lignanes	Lignine

➤ Les caroténoïdes

Les caroténoïdes, avec plus de 600 sortes, sont des pigments liposolubles synthétisés par les végétaux à qui ils attribuent une couleur orange, rouge ou jaune. Les plus importants sont Beta-carotène, Alpha-carotène, lycopène, zéaxanthine, Beta-cryptoxanthine et lutéine (Fig.4) (Causse, 2005). Le groupe des caroténoïdes comprend des molécules tétraterpéniques (C40) formées par l'enchaînement de huit unités isopréniques (Derbel et Ghedira, 2005).

1.3. Le grenadier (*Punica granatum*)

1.3.1. Généralités sur la plante

Le grenadier est un arbre fruitier appartenant à la famille des lythracées et anciennement la famille punicacées qui comprend 3 espèces différentes : *punica protopunica*, *punica nana* et *punica granatum*. Cette dernière est la plus connue. Elle possède différents noms communs : Grenadier à fruits, pomme punique, Balaustier, Baloufié, Balanstier, Migrannier. Le mot *Punica* vient du latin qui signifie rouge écarlate, et *granatum* pour la multiplicité des graines contenues dans le fruit (Lemoine, 1998).

1.3.2. Historique de la grenade

La grenade est l'un des plus anciens fruits comestibles, qui n'a pas trop évolué, depuis la découverte de l'agriculture il y a plus de 1000 ans (Seeram *et al.*, 2006 ; Çam *et al.*, 2009). Originaire du moyen orient, il s'est propagé à travers la mer méditerranéenne, vers l'extrême orient en Chine et en Inde et dans le nouveau monde en Californie et Mexique (Lansky et Newman, 2007). L'histoire de la grenade est liée au développement de l'humanité d'une manière impressionnante. La grenade a une place importante dans le Judaïsme, le Christianisme, l'islam, le Bouddhisme et le Zoroastrianism (Lansky et Newman, 2007). Il est dit qu'elle avait 613 graines qui représentent les 613 commandements de la Torah, même si cela n'a pas été confirmé dans les temps modernes (Hebert, 2006). Aimé des caravaniers et navigateurs, sa pulpe gorgée d'eau et légèrement acidulée permet d'étancher la soif durant les longues traversées (Vanier, 2005). Elle est le symbole de la vie, fertilité, longévité, immortalité et divinité (Amjad, 2005 ; Lansky et Newman, 2007).

1.3.3. Nomenclature

Selon les langues parlées dans chaque pays, le nom vernaculaire de *Punica granatum* varie. Ainsi le nom de cet arbre sera :

- ☐ En arabe : الرمان
- ☐ En anglais : Pomegranate ou Pome Granate.
- ☐ En allemand : Granatapfelbaum, Granatbaum, Gemeine Granat, Balluster
- ☐ En espagnol : Granado cultivado, Mangrano.
- ☐ En italien : Granato. (zeghad, 2018)

1.3.4. Origine géographique et repartition

Le grenadier est originaire du nord de l'Iran et de l'Afghanistan ou il couvre de grandes étendues à l'état spontané depuis plus de 4000 ans. On le retrouve également sur des bas-reliefs égyptiens datant de 2500 ans avant le Christ et au jardin botanique de Thoutmosis III créé en 1450 avant JC (**Elodie, 2009**). Des principaux pays de culture du grenadier sont l'Iran, l'Afghanistan la Turquie, le Turkestan (U.R.S.S). Sa culture est développée autour du Bassin Méditerranéen ou son exploitation commerciale est développée : en Espagne principalement et aussi en Italie, en Grèce et au Maroc de façon importante. Il fut introduit en Algérie par les Phéniciens principaux centre de culture en Algérie : ig, Mohammedia, Relizane (l'oranie en générale) et quelques points de la Mitidja. Malheureusement dans la plus part des cas le manque de soin et l'état d'abandon font que le fruit renferme le plus souvent des grains petits, acides, à pépin volumineux à cloison adhérente qui rendent la consommation désagréable (**I.T.D.A.S, 2003, in, Zerrouk, 2018**).

1.3.5. La production de grenade en Algérie

Bien que le grenadier soit peu exigeant, les plantations ne sont pas très importantes en Algérie. Il existe de nombreuses variétés de grenades, de qualités très différentes. Plusieurs sortes de grenadier sont signalées dans des petites jardins en Kabylie, on ne connaît que leur appellation locale (Lahlou, Elmouze,...). Quatorze variétés sont actuellement autorisées à la production et à la commercialisation par l'Etat (**INRAA, 2006**)

1.3.6. Classification Botanique

Le grenadier, *Punica granatum* L. a été décrit par Linné et introduit dans sa classification en 1753. Cette classification encore adoptée est décrite dans le tableau 06 (**Spichiger et al., 2002**).

Tableau 5 : Classification botanique du grenadier (Spichiger et al., 2002)

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Myrtales
Famille	Punicaceae (Lythraceae)
Genre	Punica
Espèce	<i>Punica granatum</i>

Il convient donc de retenir que dans cette nouvelle classification, la famille des Punicacées n'existe plus. Le grenadier appartient à la famille des Lythracées, famille comportant 30 genres et 600 espèces (**Wald, 2009**).

1.3.7. Description botanique

Le grenadier (*Punica granatum*), un gros buisson ou arbuste assez épineux, au feuillage caduc et de bel aspect. Il est depuis longtemps cultivé à but ornemental et pour ses fruits comestibles. Ses fruits possèdent de nombreuses graines, chacune enrobée dans une pulpe gélatineuse rouge cramoisi, le tout entouré dans une peau (écorce) coriace dont la couleur peut aller du jaune au rouge foncé (**Hmid, 2013**) (Figure 05).

a- Les feuilles

Du grenadier sont opposées ou sous-opposées, luisantes, étroites, et de forme oblongues, entières, de 3 à 7 cm de long et de 2 cm de large. Ses fleurs sont rouge vif, de 3 cm de diamètre et ayant cinq pétales (souvent davantage sur les plantes cultivées). Elles sont hermaphrodites, portant de 4 à 8 sépales coriaces et un même nombre de pétales rouges, de nombreuses étamines et un nombre variable de sépales, qui constitue l'ovaire inférieur. Son fruit est une baie, dont la taille varie entre celle d'une orange ou d'un pamplemousse, de 7 à 12 cm de diamètre, de forme hexagonale arrondie ; son écorce est épaisse, rougeâtre et contient de nombreuses graines. Les fruits du grenadier ont un taux de respiration faible et un rythme respiratoire non climatérique (**Ben-Arie et al., 1984**).

b- Les fleurs

La période normale de la floraison de différents cultivars de grenadier se produit généralement entre le mois de mars et de mai. Elle dure jusqu'à 10 –12 semaines et voire plus selon les variétés et les conditions géographiques (**Ben-Arie et Segal, 1984**).

Sur le plan de la biologie florale, le grenadier est une espèce monoïque qui développe, sur le même arbre, des fleurs hermaphrodites fertiles en formes de "vase", et des fleurs mâles stériles avec un style très court et des ovaires atrophiés (**Melgarejo et Salazar, 2000**).

c- fruit

Le grenadier, bien conduit entre en production à partir de la quatrième année. La période de maturité des grenades a lieu entre la fin du mois d'août et de décembre. Le fruit du grenadier est une baie ronde à écorce dure, sa taille est d'une pomme ou d'une orange, son diamètre varie entre de 2 à 12 cm (**Chakass et Carbonnier, 2007**). Il est très coloré, Fruit Le grenadier, bien conduit entre en production à partir de la quatrième année. La période de maturité des grenades a lieu entre la fin du mois d'août et de décembre. Le fruit du grenadier est une baie ronde à écorce dure, sa taille est d'une pomme ou d'une orange, son diamètre varie entre de 2 à 12 cm (**Chakass et Carbonnier, 2007**). Il est très coloré, généralement de teint rouge vif, peut, selon les variétés, avoir une peau lisse de teinte blanc- jaunâtre, ou jaune foncé marbré de rouge ou encore violet très foncé de l'extérieur et d'un beau jaune à l'intérieur du fruit (**Erkan et Kader, 2011**).

d- La racine

La racine est ligneuse, noueuse, dure et très fibreuse. Elle possède une écorce d'un millimètre d'épaisseur environ, qui se présente sous forme de fragments irréguliers. La face interne jaune verdâtre est lisse et finement striée longitudinalement, et face externe de la racine du grenadier est grise jaunâtre ou brunâtre, et contient des rides ou de larges fissures (**Wald, 2009**).

e- L'écorce du fruit de grenadier

L'écorce du fruit de grenadier est également appelée malicorium. Elle a une couleur rouge ou jaune beige à épaisseur de 2 à 3 mm. Elle est la partie dure du fruit. Elle est généralement utilisée sous la forme sèche ou verte rougeâtre à l'extérieur, brillante, jaunâtres sur la face intérieure, concave, portant souvent l'empreinte des graines qui y étaient appliquée. La saveur de l'écorce de grenadier est amère et astringente (**Wald, 2009**).

1.3.8. La composition phytochimique de *Punica granatum* L.

La grenade est le « fruit du paradis ». Elle occupe une place traditionnelle et reçoit un regain d'intérêt sans précédent des chercheurs et des consommateurs. Les écorces de ce fruit ont un potentiel thérapeutique non négligeable en raison de leur richesse en composés bioactifs (Tableau 3) (**DIB. N et Al.,2023**).

Tableau 6 : composition phytochimique de *Punica granatum* L.(Parseh et al., 2012).

Composant de l'usine	Constituantes
Jus de Grenade	Anthocyanes, glucose, acide ascorbique, acide ellagique, acide gallique ; caféique acide ; catéchine, EGCG, quercétine, rutine ; nombreux minéraux, notamment fer ; acides aminés
Huile de graines de grenade	Acide punique à 95 % ; d'autres constituants, y compris l'acide ellagique ; les acides gras ; stérols.
Péricarpe de grenade (écorce)	Punicalagines; acide gallique et autres acides gras; catéchine, EGCG; quercétine, rutine et autres flavonols; flavones, flavonones; anthocyanidines
Feuilles de grenade	Tanins (punicaline et punicafoline); et des glycosides de flavones, y compris lutéoline et apgénine
Fleurs de grenade	Acide gallique, acide ursolique ; triterpénoïdes, y compris l'acide maslinique et asiatique ; autres constituants non identifiés
Racines et écorce de grenade	Les ellagitanins, y compris la punicaline et la punicalagine ; nombreux pipéridine alcaloïdes

1.3.9. Valeur nutritionnelle de la grenade

La grenade est un fruit très sucré qui peut être acidulé en fonction de sa présence en acide citrique. C'est une bonne source de fibres alimentaires et de folate et une très bonne source de vitamine C. De nombreuses vitamines du groupe B, et plus particulièrement de la vitamine B6 (pyridoxine) sont présentes. La grenade contient également de nombreux oligo-éléments et minéraux, tels que le potassium, phosphore, calcium, magnésium, fer, zinc et cuivre (**Levin,**

1994 ; Roy, 2013). Une grenade pèse en moyenne 155 g, soit 117 kcal. Elle apporte en moyenne 100 g, soit 321 KJ (**Bekir et al., 2013 ; Orhan et al., 2014**)

1.3.10. Bienfaits et propriétés du *punica granatum*

Le grenadier ou *Punica granatum* fait partie des espèces médicinales les plus anciennement connues, l'historique de son utilisation comme plante médicinale date de plus de 3000 ans, ses fruits ainsi que ses graines, son écorce et ses fleurs sont exploités pour leurs propriétés thérapeutiques notables (**meziani, 2020**). Aussi, il est utilisé, de façon empirique, dans les médecines traditionnelles, pour soigner les maladies gastro-intestinales et les affections parasitaires. Le grenadier fait l'objet, depuis une dizaine d'années, d'un regain d'intérêt, tant sur un plan médical et pharmacologique que sur le plan cosmétologique. En effet, la grenade possède des propriétés antioxydantes supérieures à celles du vin rouge ou du thé vert (**Wald, 2009**).

➤ Propriété antioxydante

Les grenades sont parmi les fruits les plus riches en composés phénoliques, la composition des différentes parties du grenadier a montré l'existence de plusieurs types de polyphénols ayant des propriétés antioxydantes très importantes à savoir les tannins que l'on trouve en concentration très élevée dans les tiges et l'écorce du grenadier (**Seeram et al., 2006**).

L'activité anti-oxydante *in vitro* de la grenade et de ses produits dérivés a été évaluée par plusieurs auteurs, qui ont déterminé que la haute capacité anti-oxydante de la grenade et de ses produits dérivés est due à la présence des punicalagines dans sa composition (**Jacob et al., 2018**). Dans le jus de grenade les principaux polyphénols antioxydants sont les ellagitannins et les anthocyanines. Les ellagitannins comptent pour 92 % de l'activité antioxydante du jus de grenade et ils sont concentrés dans les écorces, les membranes et les moelles du fruit (**Seeram et al., 2004**). **Basu et al. (2009)** ont démontré, *in vitro*, que le jus de grenade et les extraits de graines du grenadier ont 2 à 3 fois la capacité antioxydante du thé vert, en piégeant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif des macrophages et la peroxydation lipidique chez les animaux.

La capacité antioxydante de l'écorce de grenade était positivement corrélée avec leur contenu en polyphénol. Les polyphénols les plus abondants dans les écorces de la grenade sont les ellagitannins, qui sont des esters de l'acide hexahydroxydiphenique (HHDP), Punicalagine (PG) est le principal ellagitannin de la peau de grenade, et son contenu peut atteindre 65,75% du total

des polyphénols écorce de grenade. Punicalagine (PG), Punicallin (PL) et acide ellagique (AE) existent naturellement dans la peau de grenade, ils auraient une gamme d'activités biologiques. AE, PL et PG présentent tous de fortes activités antioxydantes *in vitro*, mais leurs capacités antioxydantes relatives variaient de différents types de radicaux libres. AE est plus efficace que PL et PG dans la protection contre les dommages oxydatifs *in vivo*, en particulier pour les lésions intestinales (Sun Yuqing *et al.*, 2017).

D'autres études ont démontré que l'extrait de la peau de grenade diminue la peroxydation lipidique dans les tissus hépatiques, cardiaques, et rénaux (Parmar *et al.*, 2007).

➤ Propriétés antioxydants du jus de grenade par rapport aux autres fruits

Dans une étude Azadzoï *et al.* (2006), basée sur l'analyse spectrophotométrique du jus de grenade, du vin rouge, du jus de myrtille, du jus de canneberge (cranberry), du jus d'orange et du thé vert, on constate que le jus de grenade possède la plus forte capacité de destruction des radicaux libres. Le jus de grenade serait le plus efficace de ces jus de fruits pour diminuer l'oxydation des LDL et inhiber le stress oxydatif cellulaire dans les macrophages.

D'autres expériences ont été menées afin de comparer le pouvoir antioxydant du jus de grenade à celui d'autres jus de fruits. Les résultats de celle-ci sont répertoriés dans le tableau qui suit. Dans ces expériences, d'une part, la teneur en polyphénols des jus de fruits a été mesurée (Afaq *et al.*, 2005).

Tableau 7 : Comparaison entre le jus de grenade et le jus d'autres fruits : concentration en polyphénols et activité antioxydante. (Seeram *et al.*, 2006)

Jus de fruit concentré	Concentration en polyphénols (mmol/L)	Capacité à bloquer les radicaux libres (% de réduction)
Grenade	5.0	95
Prune rouge	4.5	80
Grappe de raisin	3.3	47
Canneberge	2.5	47
Kiwi	2.2	70
Orange	1.6	11
Pamplemousse	1.5	16
Pomme	1.4	55
Ananas	1.1	27
Poire	1.1	5
Pêche	1.0	30

➤ **Activité anti-inflammatoire**

Des études *in vivo* ont démontré que l'huile de graines pressées du grenadier inhibe la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase. La cyclo-oxygénase, enzyme clé dans la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines, a été inhibée de 37% par l'extrait d'huile de graines pressées. La lipo-oxygénase, qui catalyse la conversion de l'acide arachidonique en leukotriènes, ont été inhibés de 75% par le même extrait (**Schubert et al., 1999**). Des rats obèses ayant reçu une supplémentation de jus de grenade ou d'extraits de fruits de grenadier montrent une diminution significative de l'expression des marqueurs de l'inflammation vasculaire, la trombopondine et la cytokine (**Bakhtaoui, 2019**). Cependant, les propriétés anti-inflammatoires du grenadier dans la protection de l'endothélium et dans la diminution de l'athérosclérose n'ont pas été encore validées par des essais cliniques chez l'homme (**Bakhtaoui, 2019**).

➤ **Activité anticancéreuse**

Le cancer décrit le phénomène de croissance cellulaire sans contrôle. De nombreux facteurs contribuent à son développement (**Aiche, 2016**). Les ROS représentent un facteur causal dans le développement du cancer. Des dommages importants aux ROS de l'ADN conduisent finalement à des mutations somatiques et tumeurs des organes.

Le tanin, l'acide ellagique, l'acide phénolique, l'acide caféique, la flavone œstrogénique, la lutéoline et l'acide gras triénoïque conjugué, l'acide punicoïque, sont des composés à action anticancéreuse connus trouvés en quantités substantielles dans les pelures, le jus et l'huile de graines fruit de grenade (**Lansky, 2005**).

EPG réduit le risque de cancer de la peau en inhibant la prolifération des mélanocytes et la synthèse de mélanine. Plusieurs études ont confirmé la capacité des ellagitannins (50010 000 mg /l) de EPG à inhiber la génération de radicaux libres dans la peau humaine irradiée aux UVA et UVB, ainsi la protéger de la Fragmentation de l'ADN, les brûlures cutanées et la dépigmentation. Dans des études antérieures, l'application d'EPG et la génistéine (isoflavone) présentent une inhibition significative plus élevée de cellules MCF-7, et effets cytotoxiques dans le traitement des cellules cancéreuses du sein.

en outre, EPG a montré le potentiel d'inhibition de l'expression du gène rapporteur dépendant du facteur nucléaire kappa B (NFkB) associée à la prolifération, l'invasion et la motilité dans les phénotypes agressifs du cancer du sein (**İsmail, 2012**).

➤ **Propriétés reproprotectrice**

Une étude menée sur des rats a démontré une relation positive entre la consommation de jus de grenade et les paramètres de qualité du sperme. Une augmentation significative de la concentration du sperme épидидymaire, de la mobilité des spermatozoïdes, de la densité des cellules spermatogéniques, du diamètre des tubules séminifères, et de l'épaisseur de la couche des cellules germinales ; ainsi qu'une diminution du taux de spermatozoïdes anormaux. Cette amélioration de la qualité du sperme est due à la capacité antioxydante accrue du jus de grenade à protéger les spermatozoïdes sains contre les dommages de la peroxydation (**Turk et al., 2008**).

MATÉRIELS & MÉTHODES

2. Matériels & Méthodes

2.1. Matériels

2.1.1 Matériel biologique

Des rats mâles adultes de la souche Wistar (230 ± 30 g), fournis par l'Institut Pasteur d'Alger, ont été utilisés pour ce travail. Les animaux étaient maintenus dans des conditions bien contrôlées (température de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ et cycle photopériodique de 11h lumière/13h obscurité), avaient accès à l'eau ad libitum et étaient nourris avec un régime alimentaire équilibré, achetés auprès du complexe agroalimentaire (El-Kseur, Bejaia). Les animaux ont été soumis à une période d'adaptation de 21 jours pour s'adapter à l'animalerie du Département de Biologie de l'université de Badji Mokhtar-Annaba.

2.1.2. Matériel Chimique

Pour notre expérimentation, on a utilisé le toluène (pureté 99,5%) fourni par Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). C'est un composé monocyclique de la famille des hydrocarbures aromatiques et de la formule chimique C_7H_8

2.1.3. Matériel végétal

Des fruits mûrs de *Punica granatum* L. ont été récoltés dans une ferme locale de la région d'El-Tarf (Algérie). Le fruit entier a été lavé, puis pelé manuellement sans séparation des graines. Les écorces ont été conservées, coupées en petits morceaux homogènes. L'extrait aqueux a été préparé en macérant les petits morceaux d'écorce avec un volume d'eau distillée et combiné à température ambiante pendant 72 heures avec agitation occasionnelle (Deore Leena et al., 2016). L'extrait d'écorce a ensuite été filtré à travers des compresses stériles ; enfin, le filtrat a été congelé en aliquotes de 30 mL, stocké à 4°C et décongelé au besoin.

Tableau 8 : Caractéristiques géographiques et climatiques du site de récolte.

Plante	Station	Latitude	Longitude	Sol bioclimatique
<i>Punica granatum</i>	Sidi Djemil-Besbes (El Tarf-Algérie)	36.6710281	36° 40' 15.7" N 7° 46' 24.3" E	Humide



Figures 5 : Préparation de l'extrait aqueux d'écorce de *Punica granatum*

2.2. Méthodes

2.2.1. Répartition et traitement des rats

Après la phase d'adaptation, les rats ont été répartis en 5 groupes gardés dans les mêmes conditions à raison de 10 rats pour chaque groupe ($n = 10$). Le traitement a été effectué par voie orale, quotidiennement pendant 40 jours comme indiqué dans le **tableau 9**.

Tableau 9 : Les différents groupes des rats

Groupes	Traitement
T	Rats témoins, ont reçu l'eau de robinet
H	Rats traités avec 0,3 ml d'huile de maïs
FPAE	Rats traités uniquement avec l'extrait aqueux d'écorce fraîche de grenade à raison de 400 mg/kg pc
Tol	Rats exposés au toluène dilué dans l'huile de maïs à une dose de 550 mg/kg pc
FPAE-Tol	Rats traités par la combinaison de toluène dilué dans l'huile de maïs (550 mg/kg pc) avec l'extrait aqueux d'écorce de grenade (400 mg/kg pc).

2.2.2. Sacrifice des Animaux et Préparation des Échantillons

À la fin de la période de traitement, les rats ont été sacrifiés après un jeûne de 12 heures. Des échantillons de sperme ont été immédiatement collectés pour des analyses spermatiques. Les organes ont été disséqués et nettoyés des tissus adipeux, pesés, et un fragment a été conservé à -20°C jusqu'à utilisation pour étudier les paramètres de stress oxydatif. Les différentes étapes du protocole réalisé dans cette expérimentation ont été schématisées dans la **figure 6**.

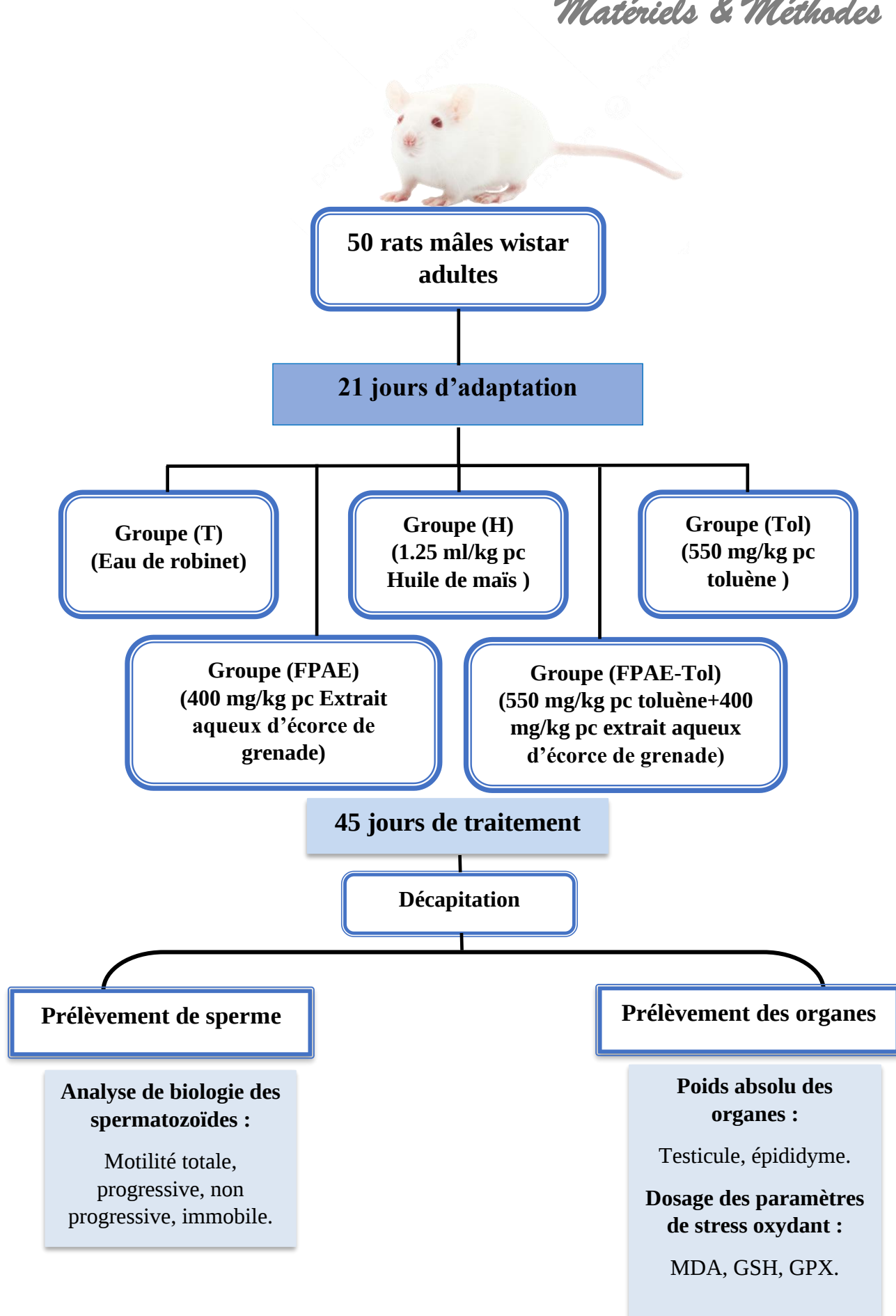


Figure 6 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

2.2.3. Poids absolu des organes

Après la dissection, les testicules et l'épididyme ont été prélevés et débarrassés de leurs tissus adipeux et rincés dans un sérum physiologique (NaCl à 0,9%) puis pesés pour déterminer leur poids absolu. Le poids des organes a été mesuré à l'aide d'une balance de précision (**KERN PRS 320-3**).

2.2.4. Détermination de la biologie des spermatozoïdes

Pour évaluer les caractéristiques de la qualité du sperme, nous avons utilisé l'analyse de sperme assistée par ordinateur (système CASA) (Barcelone, Espagne). Ce système est capable d'offrir une variété de paramètres du sperme, c'est-à-dire la concentration en spermatozoïdes, la motilité totale, la vitesse, et le pourcentage de spermatozoïdes mobiles linéaires, mobiles non progressifs et immobiles. Le sperme collecté a été obtenu de la queue de l'épididyme ; l'analyse a été réalisée immédiatement après une dilution du sperme au rapport 1:8 dans une solution physiologique de NaCl à 0,9%. Une goutte de sperme dilué a été transférée avec une micropipette dans une chambre de comptage GoldCyto de 20 µm. Cette préparation est examinée au microscope maintenu à une température de 37 °C (Nikon-eclipse E200, Barcelone, Espagne) et intégrée dans le micro-ordinateur en utilisant le contraste de phase négative (×4) combiné avec un condenseur de contraste de phase.

2.2.5. Dosage des paramètres de stress oxydant

➤ Dosage du malondialdéhyde (MDA)

-Principe

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiées par les radicaux libres. Dans notre étude, les taux du MDA testiculaire, épididymaire, hépatique et rénal ont été évalués selon la méthode **d'Ohkawa et al. (1979)**. Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100 °C) entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 530 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol.

-Préparation de l'homogénat

250 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 2.5 mL d'une solution de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4), puis ont été broyés à froid (4 °C) en utilisant un broyeur ultra son pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat.

-Mode opératoire

- Prélever 0,5 mL de l'homogénat.
- Ajouter 0,5 mL d'acide trichloracétique (TCA) 20 %.
- Ajouter 1 mL d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %.
- Mélanger et incuber au bain marie à une température de 100 °C pendant 15 minutes. Refroidir et additionner de 4 mL de n-butanol.
- Centrifuger pendant 15 minutes à 3000 tours/min.
- Récupérer le surnageant, et lire la densité optique à 530 nm contre le blanc.

-Calcul de la concentration du MDA

La quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nmol/ gramme de tissu. Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du 1,1',3,3'-tetraethoxypropane faite dans les mêmes conditions.

➤ Dosage du glutathion réduit (GSH)

-Principe

Le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de **(Weckbecker et Cory ,1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion. Selon la réaction suivante **(Figure 7)** :

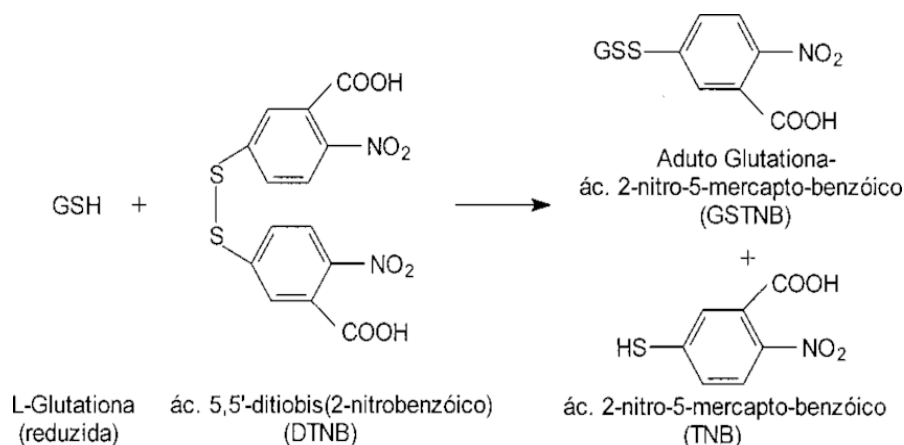


Figure 7 : Le principe du dosage du glutathion

-Préparation de l'homogénat

200 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 8 mL d'une solution d'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) à 0,02 M, puis ont été broyés à froid en utilisant un broyeur ultra son (4 °C) pour obtenir un homogénat.

-Mode opératoire

- Prélever 0,8 mL de l'homogénat.
- Déprotéiniser en ajoutant 0,2 mL d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0,25 %.
- Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- Prélever 0,5 mL du surnageant. Ajouter 1 mL du tampon Tris (0,4 M) + EDTA (0.02 M d'EDTA), pH 9,6.
- Mélanger et ajouter 0,025 mL de DTNB à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
- Laisser pendant 5 min à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développé instantanément.
- Lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

-Calcul de la concentration du GSH

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante : $\text{GSH (nmol/GSH/mg protéines)} =$

- D0: Densité optique.
- 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8mL homogénat + 0.2 mL de l'acide salicylique).
- 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 mL surnageant +1 mL Tris + 0.025 mL DTNB).
- 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm.
- 0.8: Volume de l'homogénat.
- 0.5: Volume du surnageant.

➤ Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx)

-Principe

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de **(Flohé et Günzler, 1984)**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



-Préparation de l'homogénat

Le dosage de la glutathion peroxydase a été fait au niveau du foie, et des reins. 250mg de chaque tissu ont été mis en présence de 2,5mL d'une solution TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4), puis ont été broyés à froid (4 °C) en utilisant un broyeur ultra son pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat.

-Mode opératoire

- Prélever 0.2 mL de l'homogénat.
- Ajouter 0.4 mL de GSH (0,1 mM). Ajouter 0.2 mL de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4).
- Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
- Ajouter 0.2mL de H₂O₂ (1,3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes. Ajouter 1 mL de TCA (1 %) pour arrêter la réaction.
- Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
- Prélever 0,48 mL du surnageant.
- Ajouter 2,2 mL de la solution tampon TBS.
- Ajouter 0,32 mL de DTNB (1 mM)
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

-Calcule de l'activité enzymatique de la GPx

La détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante :
 $Q = \text{DO étalon}$

- Q : Quantité de GSH disparue (oxydée)
- DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.
- DO étalon : Densité optique de l'étalon.
- 0.04: Concentration du substrat (GSH).

$$\text{L'activité de la GPx (nmol/GSH/min/mg protéines)} = \frac{Q}{\text{mg protéines}}$$

2.2.6. Etude statistique des résultats

Tous les résultats des analyses effectués ont été exprimés en Moyenne $\pm$ SEM à l'aide du logiciel Prism7. Les comparaisons de données entre les différents groupes traités ont été effectuées par le test one-way ANOVA (Tukey's multiple comparison test). Les résultats sont significatifs à $p < 0,05$.

a : comparaison avec le groupe témoin (T) ; **b** : comparaison avec le groupe H ; **c** : comparaison avec le groupe FPAE ; **d** : comparaison avec le groupe Tol.

RÉSULTATS

3. Résultats

3.1. Poids absolu des testicules

D'après les résultats obtenus dans la figure 8, une diminution significative du poids absolu des testicules a été enregistrée en comparant le groupe traité au Toluène (Tol) avec les groupes témoins (T, H, FPAE). En revanche, la combinaison de Toluène avec l'extrait aqueux d'écorce de grenade (FPAE-Tol) a augmenté le poids absolu des testicules de manière non significative par rapport au groupe Tol.

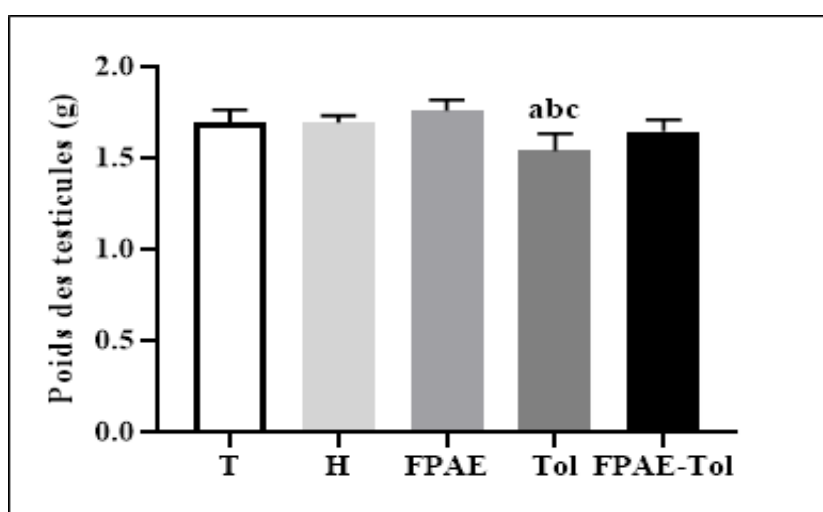


Figure 8 : Poids absolu des testicules (g) chez les différents groupes des rats ($M \pm SEM$) après 45 jours de traitement.

3.2. Poids absolu d'épididymes

Nos résultats ont montré d'une part une diminution non significative chez le groupe de toluène Tol par rapport aux groupe témoins T et témoin positif ; d'autre part une diminution significative a été enregistré chez le même groupe par rapport au groupe FPAE. Nous avons constaté aussi une légère augmentation chez le groupe FPAE-Tol traité avec la combinaison de Toluène avec l'extrait aqueux d'écorce de grenade par rapport au groupe Tol (Figure 9).

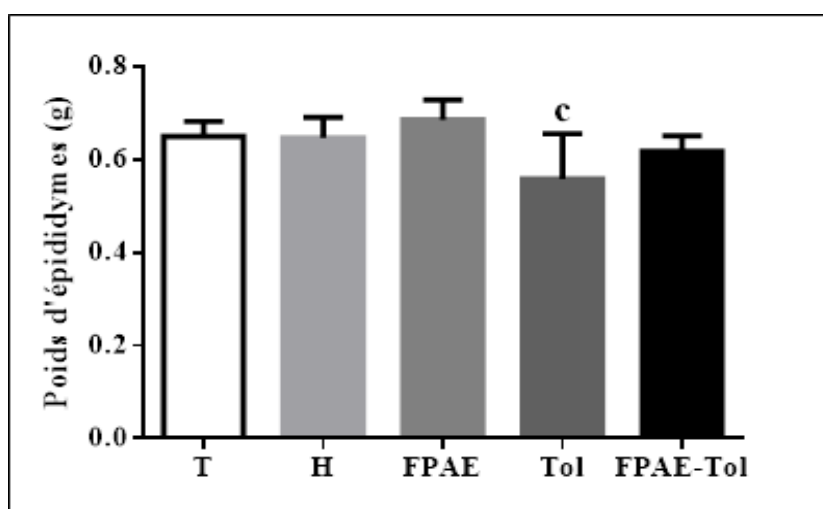


Figure 9 : Poids absolu des épидидymes (g) chez les différents groupes des rats ($M \pm SEM$) après 45 jours de traitement.

3.3. Motilité des spermatozoïdes

D'après les résultats obtenus dans les figures 10 et 11, on a observé une diminution significative du motilité totale, progressive et non progressive des spermatozoïdes, tandis que le pourcentage de spermatozoïdes immobiles a significativement augmenté chez les rats du groupe Tol par rapport aux groupes témoins. Toutefois, l'administration de PAE avec Tol a significativement augmenté la motilité et a diminué le pourcentage de spermatozoïdes immobiles par rapport au groupe traité avec le toluène seul.

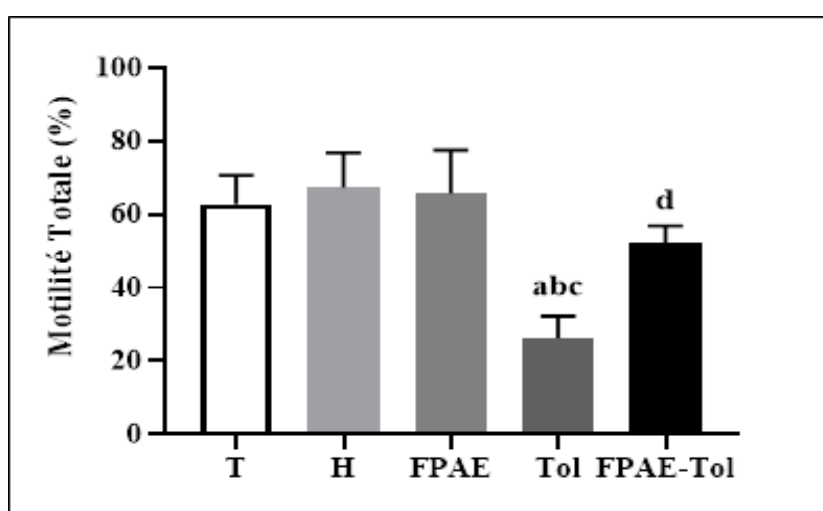


Figure 10 : Motilité totale des spermatozoïdes dans différents groupes expérimentaux ($M \pm SEM$).

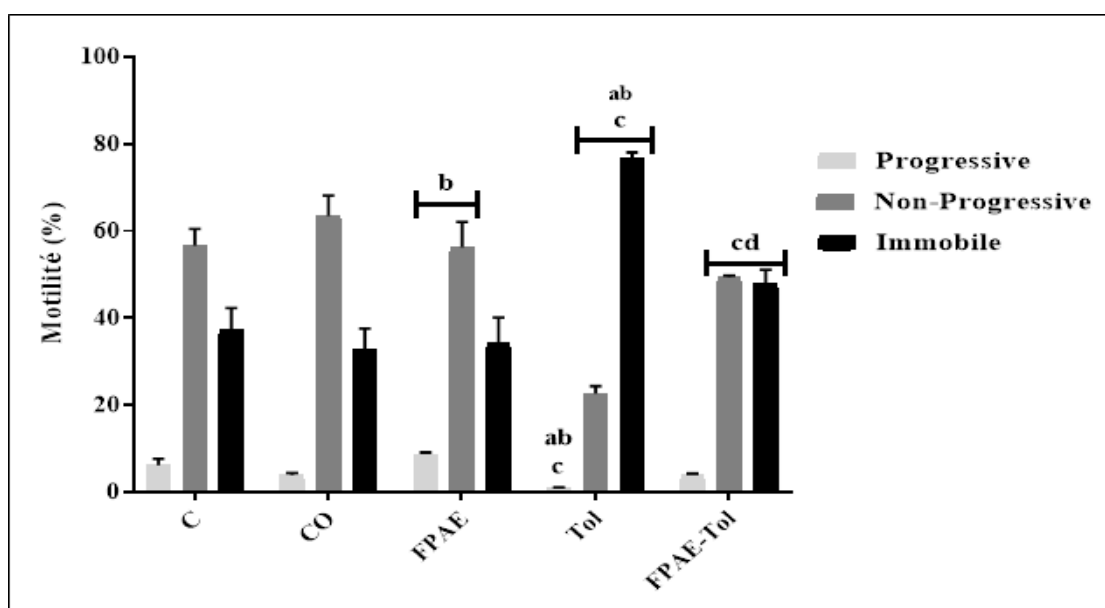


Figure 11 : Motilité progressive et non progressive et spermatozoïdes immobiles dans différents groupes expérimentaux ($M \pm SEM$).

3.4. Taux du malondialdéhyde (MDA)

Selon les résultats décrits dans la figure12. On a remarqué une augmentation significative du taux du MDA testiculaire chez les rats traités par le toluène par rapport aux rats témoins (T, H, FPAE). En revanche, les rats traités par la combinaison (FPAE-Tol) montrent une réduction significative du taux de MDA en comparaison aux rats intoxiqués par le toluène.

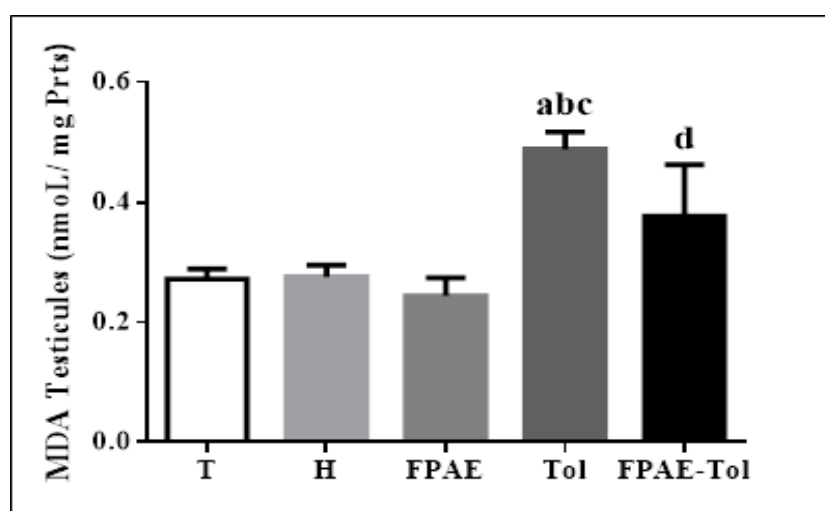


Figure 12 : Taux du MDA testiculaire (nmol/mg prts) dans différents groupes expérimentaux ($M \pm SEM$)

3.5. Taux du glutathion réduit (GSH)

Le traitement des rats par le Toluène a entraîné une diminution significative de la teneur testiculaire en glutathion (GSH). Par contre, la combinaison du toluène avec l'extrait aqueux de l'écorce de grenade (Tol-PAE) a augmenté significativement le taux de GSH dans les testicules comparativement au groupe Tol (Figure13).

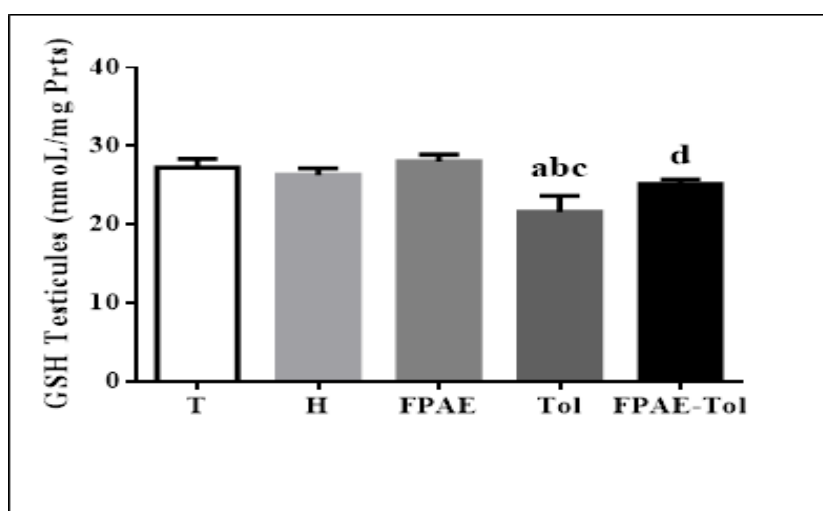


Figure 13 : Taux du GSH testiculaire (nmol/ mg Prst) dans différents groupes expérimentaux (M± SEM)

3.6. Activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) montre une diminution significative au niveau des testicules chez les rats traités au toluène par rapport au rats témoins (T) et témoins positifs (H, FPAE). Par contre, le groupe traité par la combinaison FPAE-Tol montre une élévation significative de taux de GPx par rapport aux rats traités au toluène seul (Figure14).

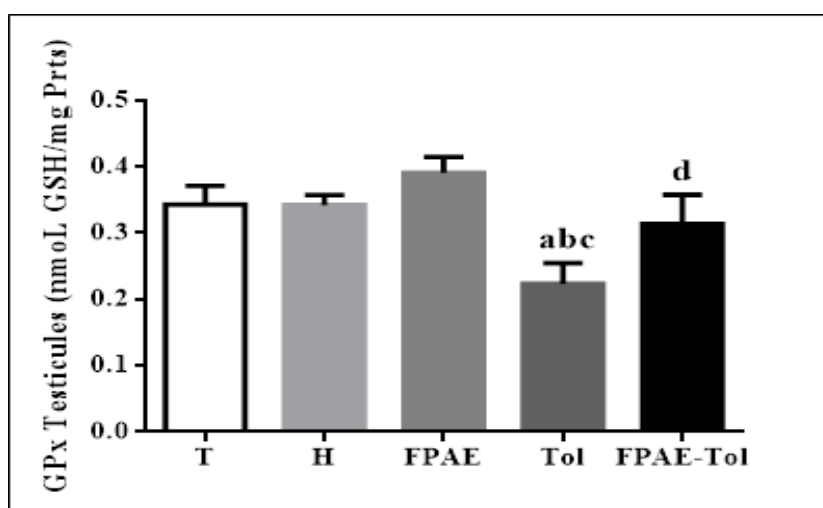


Figure 14 : Activité enzymatique de GPx testiculaire (nmol GSH/ mg Prts) dans différents groupes expérimentaux (M ± SEM)

DISCUSSION

4. Discussion

Les humains sont exposés à de nombreux agents environnementaux qui peuvent nuire à leur capacité de reproduction. La fonction reproductive masculine est connue pour être très sensible à de nombreux agents chimiques et physiques générés par les activités industrielles ou agricoles (**Sharpe et Irvine, 2004**). La nécessité d'un traitement efficace pour lutter contre l'intoxication par ces agents chimiques est une préoccupation majeure liée à l'exposition à ces substances. Cette toxicité peut être atténuée grâce à l'utilisation de mécanismes de défense antioxydants, qui réduisent ou éliminent les espèces réactives de l'oxygène et les radicaux libres (**Halliwell et Gutteridge, 2015**).

Le système de défense antioxydant naturel joue un rôle crucial dans la neutralisation de nombreux effets toxiques dans l'organisme (**Farouk et al., 2021**). Ces dernières années, la recherche sur les plantes médicinales a attiré une attention globale surtout sur les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle comme un complément ou un traitement des maladies humaines, parce que ces plantes sont riches en métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, les tanins, les flavonoïdes..., qui ont plusieurs propriétés : antimicrobienne, antioxydante, ... (**Atanasov et al., 2015**). Dans ce contexte, L'objectif de notre étude a été d'évaluer les effets subchroniques du toluène administré par voie orale sur quelques marqueurs de reproduction et de stress oxydatif chez les rats mâles Wistar. De plus, nous avons également cherché à déterminer les propriétés antioxydantes de l'extrait aqueux de l'écorce de *Punica granatum* contre ces altérations.

Des études menées ont confirmé l'effet reprotoxique des solvants, et ont démontré que les testicules sont les organes cible aux produits toxiques déversés dans l'environnement (**Ren et al., 2005**). Au cours de cette étude nous avons constaté que le toluène a induit une réduction significative du poids absolu des testicules. Cela est en parfait accord avec les travaux de **Djemil et al. (2015)**. Plusieurs études ont montré que les xénobiotiques influencent directement la fonction des cellules de Sertoli, entraînant une altération de la spermatogenèse et une désorganisation de l'épithélium, pouvant conduire à une atrophie tubulaire (**Chouabia et al., 2021**). La diminution de la masse testiculaire peut également être corrélée à une réduction de la synthèse de la testostérone, laquelle est associée à une diminution de la prolifération et de la maturation des cellules germinales dans les tubules séminifères (**Nakai et al., 2003**). Cela entraîne finalement une baisse de la production et du nombre de spermatozoïdes.

De manière cohérente, le toluène provoque une diminution de la motilité des spermatozoïdes. La motilité des spermatozoïdes est la capacité des spermatozoïdes à se déplacer activement et efficacement. Elle est un élément essentiel pour l'évaluation de la fertilité masculine. Il a été documenté que les solvants tels que le toluène peuvent interférer avec les voies de signalisation cellulaire qui régulent la motilité des spermatozoïdes. Selon **Tillar et al. (2002) ; Del Re et al. (2006) ; Scior et al. (2009)**, des niveaux élevés de toluène entraînent une inhibition de la fonction des canaux calcique voltage dépendant (CatSper) canaux potassiques (BK et GirK) et des canaux sodiques sensibles à la tension (Nav).

D'autre part, l'augmentation de la production des ROS peut endommager les structures membranaires des spermatozoïdes, perturbant leur mobilité (**Kamel et Shehata, 2008 ; Kanter, 2010**). Le stress oxydatif peut également endommager les protéines motrices, telles que la dyneine et la kinésine, qui sont cruciales pour le mouvement des flagelles des spermatozoïdes (**Aitken et Baker, 2006 ; Kamel et Shehata, 2008**).

Dans le contexte de la toxicité du toluène, la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) due au métabolisme du toluène peut entraîner des perturbations de la fertilité en submergeant les systèmes antioxydants naturels de l'organisme. Le taux de glutathion et la glutathion peroxydase (GPx) dans les testicules a considérablement diminué chez les rats exposés au toluène, ce qui était accompagné d'une augmentation des niveaux de malondialdéhyde (MDA). Ces résultats sont en accord avec les travaux antérieurs de **Kamel et Shehata, (2008) ; AboueeMehrizi et al. (2020)**. Ces auteurs ont attribué cette diminution pourraient être liés à l'augmentation induite par le toluène (Tol) de la génération de ROS (espèces réactives de l'oxygène), conduisant à la peroxydation des lipides et à l'épuisement des antioxydants, ce qui, à son tour, contribue à l'apparition de l'apoptose cellulaire (**Ahmed et al., 2016 ; Fahim et al., 2016**). On peut supposer que les diminutions marquées de la concentration de GSH étaient liées non seulement à la surproduction de ROS, mais pouvaient également résulter d'une régénération altérée par la GSH réductase qui est l'enzyme responsable de la régénération du GSH à partir de sa forme oxydée (GSSG). Une activité réduite de cette enzyme entraîne une régénération insuffisante du GSH (**Adzic et al., 2011 ; Yan et al., 2019**).

La peroxydation lipidique fournit ainsi une grande variété de produits, le malondialdéhyde (MDA) est un biomarqueur des dommages oxydatifs des lipides et un produit oxydatif majeur des acides gras polyinsaturés peroxydés (**Uzunhisarcikli et al., 2011**).

Au niveau des testicules se trouvent une grande quantité d'acides gras polyinsaturés. Ces acides gras polyinsaturés donnent au plasma des spermatozoïdes la fluidité dont il a besoin pour participer aux événements de fusion membranaire associés à la fécondation. Cependant, ces molécules sont également vulnérables aux attaques des espèces réactives de l'oxygène (ROS), initiant une cascade de peroxydation lipidique qui peut compromettre sérieusement l'intégrité fonctionnelle de ces cellules (**Wathes, 2007**).

L'ensemble des résultats suggère qu'une augmentation de la formation de radicaux libres par rapport à la perte du système de défense antioxydant peut rendre les testicules plus sensibles aux dommages oxydatifs conduisant à leur inactivation fonctionnelle (**Boujbiha et al., 2009**).

Les groupes des rats prétraités par l'extrait aqueux d'écorce fraîche de grenade individuellement ou en combinaison a été également efficace pour inverser presque tous les changements induits par le toluène.

Les valeurs médicinales de la grenade ont fait l'objet de nombreux rapports. L'activité antioxydante de ses composés phénoliques a été augmenté le nombre de spermatozoïdes, leur motilité et leur viabilité, ainsi qu'il augmentait le diamètre des tubules séminifères et l'épaisseur de l'épithélium (**Zeweil et al., 2013 ; Tapias et al., 2014 ; Utomo et al., 2019**). Il a été également documenté que ces métabolites tels que la catéchine et le quercétine possèdent la capacité d'améliorer la qualité du sperme et de réduire la peroxydation lipidique (**Taepongsorat et al., 2008 ; Boonsorn et al., 2010**). Cet effet a été confirmé par la modulation des niveaux de MDA et de GSH et de l'activité de GPx. Il a été démontré que les constituants actifs de la grenade, tels que les flavonoïdes et l'acide ellagique, rétablissent l'équilibre oxydant/antioxydant en augmentant la C-glutamyl cystéine synthétase, l'enzyme critique dans la synthèse de la GSH (**Moskaug et al., 2005**). Les auteurs ont également trouvé des preuves que la punicalagine extraite du jus et de la pelure de grenade augmente l'activité de la paraoxonase sérique, ce qui peut protéger contre la peroxydation lipidique (**Aviram et al., 2008**). Le fort potentiel des composants phénoliques à éliminer les radicaux peut s'expliquer par leur capacité à donner un atome d'hydrogène à partir de leurs groupes hydroxyle phénoliques (**Mathew et al., 2015**).

La présente étude soulève des inquiétudes quant à la santé reproductive des personnes qui sont professionnellement exposées au toluène, a révélé des effets néfastes significatifs d'exposition à faible dose de Tol sur la reproduction chez les rats mâles. L'administration de l'extrait d'écorce fraîche de grenade a pu contrebalancer l'effet négatif du Tol ce qui permis de protéger les testicules.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

5. Conclusion & Perspectives

Cette étude a exploré les effets néfastes du toluène, un solvant organique, sur la physiologie testiculaire chez les rats Wistar et a évalué les propriétés phytoprotectrices potentielles de l'extrait aqueux d'écorce de *Punica granatum* contre ces effets. À travers une série d'analyses nous avons démontré que l'exposition à 550 mg/kg pc de toluène altérerait significativement la fonction testiculaire. Les résultats obtenus peuvent être résumés dans les points suivants :

- La toxicité du toluène s'est manifestée par une diminution significative du poids absolu des testicules et des épидидymes, motilité totale, progressive et non progressive des spermatozoïdes, avec une augmentation significative de pourcentage des spermatozoïdes immobile.
- Les marqueurs du stress oxydatif ont démontré une augmentation des teneurs testiculaire en MDA, en faveur d'un stress oxydatif évident. Les teneurs en GSH et GPx sont significativement réduites au niveau des testicules chez les rats traités par le toluène.

Le traitement par l'extrait aqueux d'écorce fraîche de *Punica granatum* à la dose de 400 mg/kg pc a permis de réajuster la plupart des paramètres altérés grâce à sa composition riche et variée en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins, qui ont un potentiel antioxydant.

- Une amélioration des poids absolus des testicules
- Une augmentation de la motilité des spermatozoïdes.
- Une réduction de marquer peroxydation lipidique (MDA) avec une élévation de taux de GSH et de GPx.

Les résultats de cette recherche ouvrent plusieurs avenues pour des conseils et des investigations futures :

- Une interdiction définitive de cette substance dans de nombreux produits cosmétiques et industriels a été recommandée par l'OMS.
- L'utilisation des autres parties du grenadier, telles que les fleurs et les feuilles, dans le traitement thérapeutique.

Conclusion & Perspectives

- Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour élucider les mécanismes moléculaires précis par lesquels *Punica granatum* exerce ses effets protecteurs. Comprendre les voies de signalisation impliquées pourrait améliorer le développement de thérapies ciblées contre la toxicité testiculaire.
- Pour approfondir l'étude sur le système radicalaire et évaluer le statut antioxydant global, il serait pertinent de mesurer d'autres paramètres de stress oxydatif tels que l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

- ❖ Abouee-Mehrizi, A., Rasoulzadeh, Y., Mehdipour, A., Alihemmati, A., Rahimi, E. (2020) Hepatotoxic effects caused by simultaneous exposure to noise and toluene in New Zealand white rabbits: A biochemical and histopathological study. *Ecotoxicology*, 30(1): 154-163.
- ❖ Accardi, M. V., Daniels, B. A., Brown, P. M., Fritschy, J. M., Tyagarajan, S. K., & Bowie, D. (2014). Mitochondrial reactive oxygen species regulate the strength of inhibitory GABA-mediated synaptic transmission. *Nature Communications*, 5, 3168. <https://doi.org/10.1038/ncomms4168>
- ❖ Adzic, M., Djordjevic, J., Mitic, M., Simic, I., Rackov, G., Djordjevic, A., Elakovic, I., & Radojcic, M. (2011). Fluoxetine decreases glutathione reductase in erythrocytes of chronically isolated Wistar rats. *Acta Chimica Slovenica*, 58(4), 785–791.
- ❖ Afaq, F., & Malik, A. (2005). Pomegranate fruit extract modulates UV-B mediated phosphorylation of mitogen-activated protein kinases and activation of nuclear factor kappa B in normal human epidermal keratinocytes. *Photochemistry and Photobiology*, 81(1), 38-45. <https://doi.org/10.1562/2004-10-14-RA-348.1>
- ❖ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail (ANSES). (2017). L'élaboration de VTR par voie respiratoire pour le toluène (n° CAS 108-88-3). Saisine n°2009-SA0342, 5-13.
- ❖ Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2000). Toxicological Profile for Toluene. U.S. Department of Health and Human Services.
- ❖ Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2007). Case studies in environmental medicine: Toluene toxicity. Retrieved from <http://www.atsdr.cdc.gov/hec/csem/toluene/docs/toluene>.
- ❖ Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2017). Toxicological profile for toluene. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ❖ Agrawal, A., & Sharma, B. (2010). Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems. *International Journal of Biological & Medical Research*, 1(3), 90-104.
- ❖ Ahmed, O. M., Fahim, H. I., Boules, M. W., & Ahmed, H. Y. (2016). Cardiac and testicular toxicity effects of the latex and ethanolic leaf extract of *Calotropis procera* on male albino

Références Bibliographiques

- rats in comparison to abamectin. SpringerPlus, 5(1), 1644. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-3230-6>
- ❖ Ahmed, S. M., Luo, L., Namani, A., Wang, X. J., & Tang, X. (2016). Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1863(2), 585-597.
 - ❖ Aiche, G., & Iratni. (2016). Activités biologiques d'intérêt médical d'extraits de feuilles *Pistacia lentiscus* et d'*Origanum majorana* (Thèse de Doctorat). Université de Tizi-Ouzou, 12.
 - ❖ Ait Yahia, & Zammora, H. (2014). Étude de l'effet d'un stress oxydatif et le système défensif enzymatique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Université de Constantine 1, 34-44.
 - ❖ Aitken, R. J., & Baker, M. A. (2006). Oxidative Stress, Sperm Survival and Fertility Control. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 250(1-2), 66-69.
 - ❖ Alevriadou, B. R., Shanmughapriya, S., Patel, A., Stathopoulos, P. B., & Madesh, M. (2017). Mitochondrial Ca(2+) transport in the endothelium: Regulation by ions, redox signalling, and mechanical forces. *Journal of the Royal Society Interface*, 14(137). <https://doi.org/10.1098/rsif.2017.0214>
 - ❖ Ali, M., Mukul, S., Gupta, D., Singh, A. K., Kumar, R., Nath, A., Singh, J. K., & Kumar, A. (2012). Endosulfan exposure leads to infertility in male mice. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 3(1), 124-128.
 - ❖ Alper, A. T., Akyol, A., Hasdemir, H., Nurkalem, Z., Güler, O., Güvenç, T. S., & Erdinler, I. (2008). Abus de colle (toluène) : augmentation de la dispersion de l'intervalle QT et relation avec une syncope inexpliquée. *Inhalation Toxicology*, 20, 37-41. <https://doi.org/10.1080/08958370701859606>
 - ❖ Amjad, H. (2005). *Pomegranate: Anatomy of a Divine Remedy*. Lulu.com. ISBN: 1411662784.
 - ❖ Andersson, A. M., Jorgensen, N., Main, K. M., Toppari, J., Rajpert-De Meyts, E., & Leffers, H. (2008). Adverse trends in male reproductive health: We may have reached a crucial tipping point. *International Journal of Andrology*, 31, 74-80. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2007.00856.x>
 - ❖ Ángel, A. (2009). Punicalagine antioxydant naturel de la grenade. Propriétés et bienfaits pour la santé. 9, 24-28.

Références Bibliographiques

- ❖ Anzenbacherova, E., Hudecek, J., Murgida, D., Hildebrandt, P., Marchal, S., Lange, R., & Anzenbacher, P. (2005). Active sites of two orthologous cytochromes P450 2E1: Differences revealed by spectroscopic methods. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338, 477-482. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.09.136>
- ❖ Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E. M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., ... & Stuppner, H. (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology Advances*, 33(8), 1582-1614.
- ❖ Aviram, M., Dornfeld, L., Kaplan, M., Coleman, R., Gaitini, D., Nitecki, S., Hofman, A., Rosenblat, M., Volkova, N., Presser, D., Attias, J., & Hayek, T. (2002). Pomegranate juice flavonoids inhibit LDL oxidation and cardiovascular diseases: Studies in atherosclerotic mice and in humans. *Drugs Exp. Clin. Res.*, 28, 49-62.
- ❖ Aviram, M., Volkova, N., Coleman, R., Dreher, M., Reddy, M.K., Ferreira, D., Rosenblat, M. (2008) Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: Studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient (E0) mice and in vitro in cultured macrophages and lipoproteins. *J. Agric. Food Chem.*, 56(3): 1148-1157.
- ❖ Ayan, M., Tas, U., Sogut, E., Kuloglu, T., Cayli, S., & Kocaman, N. (2012). The apoptotic effect of a high dose of toluene on liver tissue during the acute phase: An experimental study. *Toxicology and Industrial Health*, 29, 728-736.
- ❖ Azadzoï, K., & Schulman, R. (2006). Oxidative stress in arteriogenic erectile dysfunction: Prophylactic role of antioxidants. *The Journal of Urology*, 175(4), 1175-1176. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(05\)00331-2](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)00331-2)
- ❖ Baillie, J. K., Bates, M. G. D., Thompson, A. A. R., Waring, W. S., Partridge, R. W., Schnopp, M. F., Simpson, A., Gulliver-Sloan, F., Maxwell, S. R. J., & Webb, D. J. (2007). Lowland subjects exposed to high altitude plasma antioxidant capacity in healthy endogenous urate production augments. *Chest*, 131(5), 1473-1478. <https://doi.org/10.1378/chest.06-2491>
- ❖ Bakary, A. A., & Mostafa, T. (2014). In vitro study of cypermethrin on human spermatozoa and the possible protective role of vitamins C and E. *Andrologia*, 46(6), 1141-1147. <https://doi.org/10.1111/and.12263>
- ❖ Bakhtaoui, H. (2019a). Effet des extraits phénoliques des écorces de grenade (*Punica granatum* L.) sur l'évolution des paramètres physicochimiques et microbiologiques d'un lait

Références Bibliographiques

- fermenté de type yaourt. Pour l'obtention du diplôme de Master en Sciences Agronomiques, 22.
- ❖ Bakhtaoui, H. (2019b). Effet des extraits phénoliques des écorces de grenade (*Punica granatum* L.) sur l'évolution des paramètres physicochimiques et microbiologiques d'un lait fermenté de type yaourt (Mémoire de Mastère). Université de Mostaganem, 5-18.
 - ❖ Banerjee, B. D., Seth, V., & Ahmed, R. S. (2001). Pesticides induced oxidative stress: Perspectives and trends. *Reviews on Environmental Health*, 16, 1-40. <https://doi.org/10.1515/REVEH.2001.16.1.1>
 - ❖ Bao, Q. S., Lu, C. Y., Song, H., Wang, C. R., & Wang, L. X. (2016). Neurobehavioral effects of exposure to toluene and ethanol among shoe factory workers. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 89(8), 1261-1269.
 - ❖ Basu, A., & Penugonda, K. (2009). Pomegranate juice: A heart-healthy fruit juice. *Nutrition Reviews*, 67(1), 49-56. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2008.00133.x>
 - ❖ Bedwal, R. S., Edwards, M. S., Katoch, M., Bahuguna, A., & Dewan, R. (1994). Histological and biochemical changes in testis of zinc deficient BALB/c strain of mice. *Indian Journal of Experimental Biology*, 32(4), 243-247.
 - ❖ Bekir, J., Mars, M., Vicendo, P., Fterrich, A., & Bouajila, J. (2013). Chemical composition and antioxidant, anti-inflammatory, and antiproliferation activities of pomegranate (*Punica granatum*) flowers. *Journal of Medicinal Food*, 16(6), 544-550. <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.0225>
 - ❖ Ben-Arie, R., Segal, N., & Guelfat-Reich, S. (1984). The maturation and ripening of the 'Wonderful' pomegranate. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 109(6), 898-902.
 - ❖ Benghersallah, N. (2015). Effet du stress oxydatif sur différentes variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) et sur leurs systèmes défensifs (Thèse de doctorat). Université des Frères Mentouri Constantine, 26-34.
 - ❖ Bidie, P., N'guessan, B. B., Yapo, F. A., N'guessani, J. D., & Djamani, A. J. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*, 8(1), 1-11.
 - ❖ Biomnis. (2013). Toluène et acide hippurique. *Biologie Médicale Spécialisée*, 1-2.

Références Bibliographiques

- ❖ Bisson, M., Dallet, M., & Houleix, N. (2016). Toluène (INERIS DRC-16-144327-08075A). INERIS.
- ❖ Biswas, S., Chida, A. S., & Rahman, I. (2006). Redox modifications of protein-thiols: Emerging roles in cell signaling. *Biochemical Pharmacology*, 71(5), 551-564. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.10.007>
- ❖ Blandine, G. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régime alimentaire) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodine (Thèse de doctorat). Université Joseph Fourier – Grenoble 1.
- ❖ Bonde, J. P. (1996). Environmental factors. In F. H. Comhaire (Ed.), *Male infertility, clinical investigation, cause evaluation and treatment* (pp. 267-284). Chapman and Hall.
- ❖ Bone, K., & Mills, S. (2013). *Principles and practice of phytotherapy: Modern herbal medicine* (2nd ed.). HerbalGram, Austin, Texas, USA.
- ❖ Boonsorn, T., Kongbuntad, W., Narkkong, N.A., Aengwanich, W. (2010) Effects of catechin addition to extender on sperm quality and lipid peroxidation in boar semen. *AEJAES.*, 7(3): 283-288.
- ❖ Boujbiha, M. A., Hamden, K., Guermazi, F., Bouslama, A., Omezzine, A., Kammoun, A., & El Feki, A. (2009). Testicular toxicity in mercuric chloride treated rats: association with oxidative stress. *Reproductive toxicology*, 28(1), 81-89.
- ❖ Bourgou, S., Serairi, B. R., Medini, F., & Ksouri, R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *J. New Sci. Agric. Biotech.*, 28(12), 1649-1655.
- ❖ Boussalah, N. (2010). Propriétés antioxydantes de deux variétés de grenade (*Punica granatum* L.) de la région de Béjaia. En vue de l'obtention du diplôme de Magister en Contrôle de Qualité, 3.
- ❖ Bowen, S. E. (2006). Increases in amphetamine-like discriminative stimulus effects of the abused inhalant toluene in mice. *Psychopharmacology*, 186(4), 517-524. <https://doi.org/10.1007/s00213-006-0375-3>
- ❖ Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. ht □ Brand, M. D. (2010). The sites and topology of mitochondrial superoxide production. *Experimental Gerontology*, 45(7-8), 466-472.

Références Bibliographiques

- ❖ Brieger, K., Schiavone, S., Miller, F. J. Jr., & Krause, K. H. (2012). Reactive oxygen species: From health to disease. *Swiss Medical Weekly*, 142, w13659.
- ❖ Çam, M., Hıslı, Y., & Durmaz, G. (2009). Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chemistry*, 112, 721-726.
- ❖ Camara-Lemarroy, C. R., Rodríguez-Gutiérrez, R., Monreal-Robles, R., & González-González, J. G. (2015). Acute toluene intoxication--clinical presentation, management and prognosis: A prospective observational study. *BMC Emergency Medicine*, 15, 19.
- ❖ Campo, P., Lataye, R., Cossec, B., & Placidi, V. (1997). Toluene-induced hearing loss: A mid-frequency location of the cochlear lesions. *Neurotoxicology and Teratology*, 19, 129-140.
- ❖ Cappaert, N. L. M., Klis, S. F. L., Baretta, A. B., Muijsers, H., & Smoorenburg, G. F. (2000). Ethyl benzene-induced ototoxicity in rats: A dose-dependent mid-frequency hearing loss. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology*, 1, 292-299.
- ❖ Cappaert, N. L. M., Klis, S. F. L., Muijsers, H., De Groot, J. C. M. J., Kulig, B. M., & Smoorenburg, G. F. (1999). The ototoxic effects of ethyl benzene in rats. *Hearing Research*, 137, 91-102.
- ❖ Carlsson, A. (1982). Exposure to toluene: Uptake, distribution and elimination in man. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 8, 43-55.
- ❖ Causse, C. (2005). *Les secrets de santé des antioxydants*. Edition Alpen S.A.M.
- ❖ Celik-Ozenci, C., Tasatargil, A., Tekcan, M., Sati, L., Gungor, E., Isbir, M., & Demir, R. (2011). Effects of abamectin exposure on male fertility in rats: Potential role of oxidative stress-mediated poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) activation. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 61(3), 310-317.
- ❖ Chakass, M. A., & Carbonnier Jarreau, M. C. (2007). Étude palynologique de trois variétés du grenadier (*Punica granatum*) au Liban. *Acta Botanica Gallica*, 154, 27-42.
- ❖ Chemfax. (2021). Fiche de données de sécurité. Manufacturer of Speciality Chemicals.
- ❖ Chia, S. E., Foo, S. C., Gan, S. L., Jeyaratnam, J., & Tian, C. S. (1997). Menstrual patterns and reproductive hormones in women exposed to toluene. *Occupational and Environmental Medicine*, 54(6), 403-408.
- ❖ Chouabia, A., Djemli, S., Abdenmour, C., Mallem1, L., Kahalerras, L., Arkoub, F.Z., Bouabdallah, N., Tahraoui, A. (2021). Protective effect of *Salvia officinalis* against

Références Bibliographiques

- cypermethrininduced reprotoxicity in male Wistar rats. *Pharmacognosy Journal*, 13(6), 1413-1421.
- ❖ Chu, W. L., Lim, Y. W., Radhakrishnan, A. K., & Lim, P. E. (2010). Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10(53), 2-8.
 - ❖ Chung, W., Yu, I., Park, C., Lee, K., Roh, H., & Cha, Y. (1999). Decreased formation of ethoxyacetic acid from ethylene glycol monoethyl ether and reduced atrophy of testes in male rats upon combined administration with toluene and xylene. *Toxicology Letters*, 104, 143-150.
 - ❖ Commission de la santé et de la sécurité du travail (CSST). (2004). Service du répertoire toxicologique – Toluène, Numéro CAS : 108-88-3.
 - ❖ Cruz, S. L., Orta-Salazar, G., Gauthereau, M. Y., Millan-Perez Peña, L., & Salinas-Stefanón, E. M. (2003). Inhibition of cardiac sodium currents by toluene exposure. *British Journal of Pharmacology*, 140(4), 653-660.
 - ❖ Cruz, S. L., Rivera-García, M. T., & Woodward, J. J. (2014). Review of toluene action: Clinical evidence, animal studies and molecular targets. *Journal of Drug and Alcohol Research*, 3.
 - ❖ Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants : Mythes et réalités. *Revue Médicale de Liège*, 63, 10-19.
 - ❖ Dehesa-Dávila, M., & Possani, L. D. (1994). Scorpionism and serotherapy in Mexico. *Toxicon*, 32, 1015-1018.
 - ❖ Del Re, A. M., Dopico, A. M., & Woodward, J. J. (2006). Effects of the abused inhalant toluene on ethanol-sensitive potassium channels expressed in oocytes. *Brain Research*, 1087(1), 75-82. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.03.056>
 - ❖ Deore Leena, P., Bachhav Devidas, G., Nikam Vikas, K., Heda Amol, J. (2016) Study of anthelmintic and antimicrobial activity of peel extract of *Punica granatum* Linn. *EJPMR.*, 3(4): 292-297.
 - ❖ Derbel, S., & Ghedira, K. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, 1, 28-34.
 - ❖ Desmier, T. (2016). Les antioxydants de nos jours : Définition et applications (Thèse de doctorat). Université de Limoges, France.

Références Bibliographiques

- ❖ DiB, N., Harouche, T., & Ladraa, L. (2023). Activité antimicrobienne et propriétés biologiques du grenadier « *Punica granatum* L. » (Mémoire de Master). 40-41.
- ❖ Dionne, J. Y. (2008). SOS OS: Des os solides à tout âge. John Wiley & Sons, Canada.
- ❖ Djemil, R., Khelili, K., Abdennour, C., & Boulakoud, M. S. (2015). Evaluation of toluene and xylene toxicity on reproductive function in male rabbits. *Advances in Environmental Research*, 9(14), 104-111.
- ❖ Dkhil, M. A., Al-Quraishy, S. A., & Abdel-Moneim, A. E. (2013). Effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice and methanolic peel extract on testis of male rats. *Pakistan Journal of Zoology*, 45(5), 1343-1349.
- ❖ Drummond, G. R., & Sobey, C. G. (2014). Endothelial NADPH oxidases: Which NOX to target in vascular disease? *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 25(9), 452-463.
- ❖ Dryden, M. (2018). Reactive oxygen species: A novel antimicrobial. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 51(3), 299-303.
- ❖ Durackova, Z., Djrolo, F., HOUNGBE, H., Avode, G., Attoulou, V., Addra, B. B., Kodjoh, N., & Avimadj, M. (2008). Oxidants, antioxidants and oxidative stress. In Gvozdzakova (Ed.), *Mitochondrial medicine* (pp. 19-43).
- ❖ Echeverria, D., Fine, L., Langolf, G., Schork, T., & Sampaio, C. (1991). Acute behavioural comparisons of toluene and ethanol in human subjects. *Occupational and Environmental Medicine*, 48, 750-761.
- ❖ Einav, S., Amitai, Y., Reichman, J., & Geber, D. (1997). Bradycardie dans l'empoisonnement au toluène. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 35(3), 295-298.
- ❖ El-Kashoury, A. A., Salama, A. F., Selim, A. I., & Mohamed, R. A. (2010). Chronic exposure of dicofol promotes reproductive toxicity in male rats. *Life Science Journal*, 7(3), 5-19.
- ❖ Elodie, W. (2009). Le grenadier (*Punica granatum*) plante historique et évolutions thérapeutiques récentes (Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie). Université Henri Poincaré Nancy 1.
- ❖ Environmental Protection Agency (EPA). (1994). US Environmental Protection Agency, prepared by the Office of Pollution Prevention and Toxics. Chemical Summary of Toluene. EPA 749-F94-021a.

Références Bibliographiques

- ❖ Erkan, M., & Kader, A. A. (2011). Pomegranate (*Punica granatum* L.) (Thèse de Doctorat). Paris.
- ❖ Esen, M., & Uysal, M. (2018). Protective effects of intravenous lipid emulsion on malathion-induced hepatotoxicity. Bratislava Medical Journal, 119, 373-378.
- ❖ Evans, W. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. American Journal of Clinical Nutrition, 72, 647S-652S.
- ❖ Fahim, H. E., Ahmed, O. M., Boules, M. W., & Ahmed, H. Y. (2016). Nephrotoxic effects of abamectin and Calotropis procera latex and leaf extract in male albino rats. American Journal of Medicine and Medical Sciences, 6(3), 73-86.
- ❖ Fahim, M. A., AlMalki, A. L., Al-Sheikh, Y. A., & Rehman, S. (2016). Role of mitochondrial dysregulation in oxidative stress associated with neurodegenerative diseases. Journal of Clinical and Experimental Neuroimmunology, 1(2), 1006.
- ❖ Farouk, S. M., Gad, F. A., Almeer, R., Abdel-Daim, M. M., & Emam, M. A. (2021). Exploring the possible neuroprotective and antioxidant potency of lycopene against acrylamide-induced neurotoxicity in rats' brain. Biomedicine & Pharmacotherapy, 138, 111458.
- ❖ Favier, A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 108-115.
- ❖ Favier, A., & Goudable, J. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme, 11, 115-120.[tps://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- ❖ Filley, C. M., Halliday, W., & Kleinschmidt-Demasters, B. K. (2004). The effects of toluene on the central nervous system. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology, 63(1), 1-12.
- ❖ Finlayson-Pitts, B. J. F., & Pitts, J. N. Jr. (1986). Atmospheric chemistry: Fundamentals and experimental techniques. John Wiley.
- ❖ Fishbein, L. (1985). An overview of environmental and toxicological aspects of aromatic hydrocarbons. II. Toluene. Science of the Total Environment, 42(3), 267-288.
- ❖ Flohé, L., & Günzler, W. A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. Methods in Enzymology, 105, 114-121.

Références Bibliographiques

- ❖ Formazzari, L., Wilkinson, D. A., Kapur, B. M., & Carlen, P. L. (1983). Cerebellar, cortical and functional impairments in toluene abusers. *Acta Neurologica Scandinavica*, 67(5), 319-329.
- ❖ Fort, D. J., Stover, E. L., Bantle, J. A., Dumont, J. N., & Finch, R. A. (2001). Evaluation of a reproductive toxicity assay using *Xenopus laevis*: Boric acid, cadmium and ethylene glycol monomethyl ether. *Journal of Applied Toxicology*, 21(1), 41-52.
- ❖ Friguet, B. (2003). Le vieillissement moléculaire et cellulaire et ses futurs enjeux. *L'actualité chimique*, 103-107.
- ❖ Gagnaire, F., & Langlais, C. (2005). Relative ototoxicity of 21 aromatic solvents. *Archives of Toxicology*, 79(6), 346-354.
- ❖ Gagnaire, F., Langlais, C., Grossmann, S., & Wild, P. (2007). Ototoxicity in rats exposed to ethylbenzene and to two technical xylene vapours for 13 weeks. *Archives of Toxicology*, 81(2), 127-143.
- ❖ Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique gazeuse et effet de la glisodin (Thèse de doctorat). Université Joseph Fourier, 22-23.
- ❖ Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique? *L'actualité chimique*, 91-96.
- ❖ Gersch, C., Palii, S. P., Imaram, W., Kim, K. M., Karumanchi, S. A., Angerhofer, A., Johnson, R. J., & Henderson, G. N. (2009). Reactions of peroxynitrite with uric acid: Reactive intermediates, alkylated products, and triuret, and in vivo production of triuret under conditions of oxidative stress. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 28(2), 118-149.
- ❖ Ghomri, R. (2021). Étude cinétique et thermodynamique de l'adsorption de toluène et de benzène sur les feuilles de palmier traitées chimiquement (Mémoire de master). p. 15-3.
- ❖ Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M., & Kader, A. A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4581-4589.
- ❖ Gilbert, D., Woodruff, C., Preston, A., Thomas, R., & Wood, M. (1983). Exposure and risk assessment for toluene. National Technical Information Service, PB85-221505, 182 p.

Références Bibliographiques

- ❖ Godo, S., & Shimokawa, H. (2017). Endothelial functions. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 37(9), e108-e114.
- ❖ Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11(2), 115-120.
- ❖ Gouvernement du Canada. (1992). Loi canadienne sur la protection de l'environnement, Liste des substances d'intérêt prioritaire, Rapport d'évaluation – toluène. Ottawa, 29 p.
- ❖ Greenberg, M. M. (1997). Central nervous system and exposure to toluene: a risk characterization. *Environmental Research*, 72(1), 1-7.
- ❖ Gunes, F., Akbal, E., Sen, H., & Temiz, A. (2013). Cardiomyopathie dilatée et tachyarythmie ventriculaire dues à une exposition au toluène. *International Journal of Clinical Research*, 1(1), 22-23.
- ❖ Haddou, S., Messika, A., & Nazoun, S. (2018). Étude de l'effet antibactérien in vitro des extraits polyphénoliques de la peau de grenade *Punica granatum* vis-à-vis des souches d'entérobactéries productrices de Bêta-Lactamase à Spectre Étendu (Mémoire de master). Université d'ElBlida-1, p. 6-8.
- ❖ Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141(2), 312-322.
- ❖ Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine* (4th ed.). Oxford University Press.
- ❖ Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.
- ❖ Hannigan, J. H., & Bowen, S. E. (2010). Reproductive toxicology and teratology of abused toluene. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 56(3), 184-200.
- ❖ Hattori, I., Nakamura, H., & Masutai, H. (2003). Thioedoxin-dependent redox regulation-implication in aging and neurological diseases. In R. G. Cutler & H. Rodriguez (Eds.), *Critical review of oxidative stress and aging* (Vol. II, pp. 87-101). World Scientific.
- ❖ Heber, D. (2006). Preface. In *Pomegranates Ancient Roots to Modern Medicine* (Ed.), CRC Press Taylor & Francis Group Medicinal and aromatic plants—industrial profiles (pp. 263). ISBN: 08493-9812-6.
- ❖ Hinchman, C., & Ballatori, N. (1990). Glutathione-degrading capacities of liver and kidney in different species. *Biochemical Pharmacology*, 40, 1131-1135.

Références Bibliographiques

- ❖ Hmid, I. (2013). Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punica granatum*) : Caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais (Doctoral dissertation, Université d'Angers). Page 179.
- ❖ Holland, D., Hatib, K., & Bar-Ya'akov, I. (2009). Pomegranate: Botany, horticulture, breeding. In J. Janick (Ed.), Horticultural Reviews (pp. 127-191). John Wiley & Sons, Inc.
- ❖ Hong, M. Y., Seeram, N. P., & Heber, D. (2008). Pomegranate polyphenols downregulate expression of androgen-synthesizing genes in human prostate cancer cells overexpressing the androgen receptor. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 19(12), 848-855.
- ❖ Hsieh, G. C., Sharma, R. P., & Parker, R. D. R. (1989). Immunotoxicological evaluation of toluene exposure via drinking water in mice. *Environmental Research*, 49, 93-103.
- ❖ Hulin, M., Caillaud, D., & Annesi-Maesano, I. (2010). Indoor air pollution and childhood asthma: Variations between urban and rural areas. *Indoor Air*, 20, 502–514.
- ❖ Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (INERIS). (2005). Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Toluène, 50p.
- ❖ Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA). (2006). Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture.
- ❖ Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS). (2012). Toluène (FT 74) - Fiche toxicologique.
- ❖ International Agency for Research on Cancer (IARC). (1999). Toluene. In IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans (Vol. 71, pp. 829-864). Lyon.
- ❖ Ismail, T., Sestili, P., & Akhtar, S. (2012). Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 143, 397–405.
- ❖ Jacob, J., Lakshmanapermalsamy, P., Illuri, R., Bhosle, D., Sangli, G. K., & Mundkinajeddu, D. (2018). In vitro evaluation of antioxidant potential of isolated compounds and various extracts of peel of *Punica granatum* L. *Pharmacognosy Research*, 10(1), 44.
- ❖ Jensen, T. K., Bonde, J. P., Joffe, M., & Olsen, J. (2006). The influence of occupational exposure on male reproductive function. *Occupational Medicine*, 56(8), 544–553.

Références Bibliographiques

- ❖ Jin, H., Kanthasamy, A., Ghosh, A., Anantharam, V., Kalyanaraman, B., & Kanthasamy, A. G. (2014). Mitochondria-targeted antioxidants for treatment of Parkinson's disease: Preclinical and clinical outcomes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1842(8), 1282-1294.
- ❖ Johnson, A. C., & Canlon, B. (1994). Progressive hair cell loss induced by toluene exposure. *Hearing Research*, 75, 201-208.
- ❖ Johnson, R. J., Sautin, Y. Y., Oliver, W. J., Roncal, C., Mu, W., Sanchez-Lozada, L. G., Rodriguez-Iturbe, B., Nakagawa, T., & Benner, S. A. (2009). Lessons from comparative physiology: Could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society? *Journal of Comparative Physiology B*, 179(1), 67-76.
- ❖ Jorgensen, N., Joensen, U. N., Jensen, T. K., Jensen, M. B., Almstrup, K., & Olesen, I. A. (2012). Human semen quality in the new millennium: A prospective cross-sectional population-based study of 4867 men. *BMJ Open*, 2.
- ❖ Justine, O., & Pastre, C. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques (Thèse).
- ❖ Kahramanoglu, I. (2016). Pomegranate production and marketing. CRC Press Taylor & Francis Group.
- ❖ Kamboj, S. S., Kumar, V., Kamboj, A., & Sandhir, R. (2008). Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in rat brain induced by carbofuran exposure. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 28, 961-969.
- ❖ Kamel, E. N., & Shehata, M. (2008). Effect of toluene exposure on the antioxidant status and apoptotic pathway in organs of the rat. *British Journal of Biomedical Science*, 65(2), 75-79.
- ❖ Kanter, M. (2010) Thymoquinone re-establishes spermatogenesis after testicular injury caused by chronic toluene exposure in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 27(2), 155-166.
- ❖ KERBOUA, Kh., BOUDJENAH, S., & Tarfaoui, N. (2020). Étude du stress oxydant dans l'envenimation scorpionique. Mémoire de master, Université Kasdi Merbah Ouargla, 77 pages.
- ❖ Kobald, S. O., Wascher, E., Blaszkewicz, M., Golka, K., & van Thriel, C. (2015). Neurobehavioral and neurophysiological effects after acute exposure to a single peak of 200 ppm toluene in healthy volunteers. *NeuroToxicology*, 48, 50-59.

Références Bibliographiques

- ❖ Kodavanti, P. R., Royland, J. E., Richards, J. E., Besas, J., & Macphail, R. C. (2011). Toluene effects on oxidative stress in brain regions of young-adult, middle-age, and senescent Brown Norway rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 256, 386-398.
- ❖ Koechlin, R. C. (2000). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20, 165-177.
- ❖ Konior, A., Schramm, A., Czesnikiewicz-Guzik, M., & Guzik, T. J. (2014). NADPH oxidases in vascular pathology. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(17), 2794-2814.
- ❖ Landry, W. D., & Cotter, T. G. (2014). ROS signalling, NADPH oxidases and cancer. *Biochemical Society Transactions*, 42(4), 934-938.
- ❖ Lansky, E., & Newman, R. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 109, 177-206.
- ❖ Lansky, E., Harrison, G., Froom, P., & Jiang, W. (2005). Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC prostate cancer cell invasion across Matrigel. *Investigational New Drugs*, 23, 121-122.
- ❖ Lataye, R., & Campo, P. (1997). Combined effects of a simultaneous exposure to noise and toluene on hearing function. *Neurotoxicology and Teratology*, 19, 373-382.
- ❖ Le Bail, D. (2009). Le stress oxydatif. *Nature Reviews*, 11, 60-63.
- ❖ Lemoine, E. (1998). Guide des fruits du monde. In E. Lemoine (Ed.), *Les fruits de nos régions, les variétés exotiques* (p. 151). Collection Les compagnons du naturaliste. Editions Delachaux et Niestlé.
- ❖ Levin, G. M. (1994). Pomegranate (*Punica granatum*) plant genetic resources in Turkmenistan. *Bulletin des Ressources Phytogénétiques* (IPGRI/FAO).
- ❖ Lindbohm, M. L., Taskinen, H., Sallmén, M., et al. (2009). Effects of exposure to organic solvents on fertility, menstrual cycle length, and spontaneous abortion among laboratory technicians. *Occupational and Environmental Medicine*, 66(5), 270-274.
- ❖ Malaguarnera, G. (2012). Toxic hepatitis in occupational exposure to solvents. *World Journal of Gastroenterology*, 18(22), 27-56.

Références Bibliographiques

- ❖ Marlatt, M. W., Lucassen, P. J., Perry, G., Smith, M. A., & Zhu, X. (2008). Alzheimer's disease: Cerebrovascular dysfunction, oxidative stress, and advanced clinical therapies. *Journal of Alzheimer's Disease*, 15, 199-210.
- ❖ Martinez-Alfaro, M., Carabez-Trejo, A., Gallegos-Corona, M. A., Pedraza Aboytes, G., Hernandez-Chan, N. G., & Leo-Amador, G. E. (2010). Thinner inhalation effects on oxidative stress and DNA repair in a rat model of abuse. *Journal of Applied Toxicology*, 30, 226-232.
- ❖ Martinez-Alfaro, M., Palma-Tirado, L., Sandoval-Zapata, F., & Carabez-Trejo, A. (2006). Correlation between formamidopyrimidine DNA glycosylase (Fpg)-sensitive sites determined by a comet assay, increased MDA, and decreased glutathione during long exposure to thinner inhalation. *Toxicology Letters*, 163, 198-205.
- ❖ Mateos, R., Espartero, J. L., Trujillo, M., Rios, J. J., Leon-Camacho, M., Alcudia, F., & Cert, A. (2001). Food Chemistry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2285.
- ❖ Mathew, S., Abraham, T.E., Zakaria, Z.A. (2015) Reactivity of phenolic compounds towards free radicals under in vitro conditions. *J. Food Sci. Technol.*, 52(9): 5790-5798.
- ❖ Mattia, C. J., Ali, S. F., & Bondy, S. C. (1993). Toluene-induced oxidative stress in several brain regions and other organs. *Molecular and Chemical Neuropathology*, 18, 313-328.
- ❖ MDE (Environnement Canada). (1984). Toluene: Environmental and Technical Information for Problem Spills. Service de protection de l'environnement, Environnement Canada, Hull (Québec). Publications du Gouvernement du Canada, n° de cat. En48-10/9-1984E, 104 p.
- ❖ Mehta, A., Verma, R. S., & Srivastava, N. (2008). Chlorpyrifos-induced DNA damage in rat liver and brain. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 49(5), 426-433.
- ❖ Melgarejo, P., & Salazar, D. M. (2000). Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. *Food Research International*, 33(3-4), 185-190.
- ❖ Menon, S. G., & Goswami, P. C. (2007). A redox cycle within the cell cycle: Ring in the old with the new. *Oncogene*, 26, 1101-1109.
- ❖ Menvielle-Bourg, F. J. (2005). La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. *Phytothérapie*, 3, 118-121.

Références Bibliographiques

- ❖ Meydan, S., Esrefoglu, M., Selek, S., Akbas Tosunoglu, E., Ozturk, O., Kurbetli, N., Bayındır, N., Bulut, H., & Meral, I. (2019). Protective effects of caffeic acid phenethyl ester and thymoquinone on toluene induced liver toxicity. *Biotechnic & Histochemistry*.
- ❖ Meydan, S., Nacar, A., Oztürk, H. O., Tas, U., Köse, E., Zararsiz, I., & Kus, I. (2016). The protective effects of caffeic acid phenethyl ester against toluene-induced nephrotoxicity in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 32(1), 15-21.
- ❖ Meziani, N. (2020). Synthèse bibliographique sur les propriétés biologiques de la grenade (Mémoire de Master). Université [Nom de l'Université], p. 2.
- ❖ Miloud, R. (2019). Contribution à la valorisation d'une plante médicinale de grenadier (*Punica granatum* L) de la région de Biskra (Mémoire de Master). Université de Biskra, pp. 13-15.
- ❖ Mohammadi-Sardoo, M., Mandegary, A., Nabiuni, M., Nematollahi-Mahani, S.-N., & Amirheidari, B. (2018). Mancozeb induces testicular dysfunction through oxidative stress and apoptosis: Protective role of N-acetylcysteine antioxidant. *Toxicology and Industrial Health*, 34(11), 798-811. doi: 10.1177/0748233718778397.
- ❖ Monsalve, M., Borniquel, S., Valle, I., & Lamas, S. (2007). Mitochondrial dysfunction in human pathologies. *Frontiers in Bioscience*, 12, 1131-1153.
- ❖ Moro, A. M., Brucker, N., Charão, M., Bulcão, R., Freitas, F., Baierle, M., Nascimento, S., Valentini, J., Cassini, C., Salvador, M., Lindene, R., Thiesen, F., & Buffon, A. (2012). Evaluation of genotoxicity and oxidative damage in painters exposed to low levels of toluene. *Mutation Research*, 746(1), 42-48.
- ❖ Moro, A. M., Charão, M., Brucker, N., Bulcão, R., Freitas, F., Guerreiro, G., Baierle, M., Nascimento, S., Waechter, F., Hirakata, V., Linden, R., Thiesen, F. V., & Garcia, S. C. (2010). Effects of low-level exposure to xenobiotics present in paints on oxidative stress in workers. *Science of the Total Environment*, 408(20), 4461-4467.
- ❖ Morvai, V., Hudak, A., Ungvary, G., & Varga, F. (1976). Modifications de l'ECG chez des rats empoisonnés au benzène, au toluène et au xylène. *Acta Medica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 33, 275-286.
- ❖ Mosbah, R., Djerrou, Z., & Mantovani, A. (2017). Protective effect of *Nigella sativa* oil.
- ❖ Moskaug, J., Carlsen, H., Myhrstad, M.C., Blomhoff, R. (2005) Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1): 277S-283S.

Références Bibliographiques

- ❖ Murata, M., Tsujikawa, M., & Kawanishi, S. (1999). Oxidative DNA damage by minor metabolites of toluene may lead to carcinogenesis and reproductive dysfunction. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 261(2), 478-483.
- ❖ Nakai, N., Murata, M., Nagahama, M., Hirase, T., Tanaka, M., Fujikawa, T., Nakao, N., Nakashim, K., Kawanishi, S. (2003) Oxidative DNA Damage Induced by Toluene is Involved in its Male Reproductive Toxicity. *Free Radic. Res.*, 37(1): 69-76.
- ❖ Nakajima, T., & Wang, R. (1994). Induction of cytochromes P450 by toluene. *International Journal of Biochemistry*, 26, 1333-1340.
- ❖ National Research Council. (1980). The alkyl benzenes. Committee on Alkyl Benzene Derivatives, Board of Toxicology and Environmental Health Hazards, Assembly of Life Sciences. National Academy Press.
- ❖ National Toxicology Program (NTP). (1990). Toxicology and carcinogenesis studies of toluene (CAS No. 108-88-3) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies). Research Triangle Park, NC: National Institutes of Health, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services. (National Toxicology Program Technical Report Series No. 371).
- ❖ Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358.
- ❖ Opara, E. S. (2002). Oxidative stress, micronutrients, diabetes mellitus and its complications. *Journal of the Royal Society for the Promotion of Health*, 122, 28-34.
- ❖ Orhan, E., Ercisli, S., Esitken, A., & Sengul, M. (2014). Molecular and morphological characterization of pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes sampled from Coruh Valley in Turkey. *Genetics and Molecular Research*, 13, 6375-638.
- ❖ Ozen, O. A., Akpolat, N., Songur, A., Kus, I., Zararsiz, I., & Ozcakmak, V. H. (2005). Effect of formaldehyde inhalation on Hsp70 in seminiferous tubules of rat testes: An immunohistochemical study. *Toxicology and Industrial Health*, 21(9), 249-254.
- ❖ Pareek, A., Godavarthi, A., Issarani, R., & Prakash Nagori, B. (2013). Antioxidant and hepatoprotective activity of *Fagonia schweinfurthii* (Hadidi) Hadidi extract in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in HepG2 cell line and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 150, 973-981.

Références Bibliographiques

- ❖ Parkinson, A. (1996). An overview of current cytochromes P450 technology for assessing the safety and efficacy of new material. *Toxicologic Pathology*, 45, 241-298.
- ❖ Parmar, H. S., & Kar, A. (2008). Medicinal values of fruit peels from *Citrus sinensis*, *Punica granatum*, and *Musa paradisiaca* with respect to alterations in tissue lipid peroxidation and serum concentration of glucose, insulin, and thyroid hormones. *Journal of Medicinal Food*, 11(2), 376-381.
- ❖ Pereira, V. R., Pereira, D. R., Vieira, T. M. K., Carlos José Leopoldo Constantino, C. J., Antunes, P. A., & Favareto, A. P. (2019). Sperm quality of rats exposed to difenoconazole using classical parameters and surface-enhanced Raman scattering: Classification performance by machine learning methods. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(11), 35253–35265.
- ❖ Pincemail, J. C., Heusele, F., Bonté, R., & Limet, O. J. (2001). Defraigne stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. *Acta Medica*, 4, 158-165.
- ❖ Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J. O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : Une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, 4(5).
- ❖ Poetsch, A. R. (2020). The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 207-219.
- ❖ Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, 4, 25-39.
- ❖ Prasada Rao, S. K., Joyce, E. R., Debra, A. M., Jonathan Besas, Judy E. R., Tracey E. B., Paul Evansky, & Philip J. B. (2015). Acute and subchronic toxicity of inhaled toluene in male Long–Evans rats: Oxidative stress markers in brain. *Elsevier*, 51(26), 10-19.
- ❖ Ranjan, B., Daundkar, P. S., Rampal, S., Travison, T. G., Araujo, A. B., O'Donnell, A. B., Kupelian, V., & McKinlay, J. B. (2007). A population-level decline in serum testosterone levels in American men. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92, 196–202.
- ❖ Ren, J. C., Banan, A., & Keshavarzian, A. (2005). Exposure to ethanol induces oxidative damage in the pituitary gland. *Alcohol*, 35(2), 91-100.
- ❖ Ricci, E., Al Beitawi, S., Cipriani, S., Candiani, M., Chiaffarino, F., Viganò, P., Noli, S., Parazzini, F., & Bulfoni, A. (2017). Semen quality and alcohol intake: A systematic review and meta-analysis. *Reproductive Biomedicine Online*, 34(1), 38–47.

Références Bibliographiques

- ❖ Risk Assessment Information System. (1994). Toxicity summary for toluene. Toxicity profiles.
- ❖ Roy, E. (2013). Les plantes exotiques dans les cosmétiques (réel intérêt ou effet marketing) Thèse de doctorat, Université de Nantes.
- ❖ Rumchev, K. (2004). Association of domestic exposure to volatile organic compounds with asthma in young children. *Thorax*, 59, 746–751. <https://doi.org/10.1136/thx.2003.015032>
- ❖ Russo, M., Cacciola, F., Arena, K., Mangraviti, D., de Gara, L., Dugo, P., & Mondello, L. (2019). Characterization of the polyphenolic fraction of pomegranate samples by comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled to mass spectrometry detection. *Natural Product Research*, 34(1), 39-45.
- ❖ Sakar, S. A., & Shalaby, S. Y. (2011). Ginger extract protects metalaxyl-induced histomorphological and histochemical alterations in testes of albino mice. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 20(10), 36-42.
- ❖ Samoto, H., Fukui, Y., Ukai, H., Okamoto, S., Takada, S., Ohashi, F., Moriguchi, J., Ezaki, T., & Ikeda, M. (2006). Field survey on types of organic solvents used in enterprises of various sizes. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 79, 558-567.
- ❖ Sanaa, C. (2013). Effet de l'irradiation sur les propriétés antioxydantes, antimicrobiennes & cytoprotectrices de l'écorce de *Punica granatum* [Master's thesis, University name].
- ❖ Sano, K., Ikegami, Y., & Uesugi, T. (2001). Initial intraorgan formation of mercapturic acid. *Biochemical Pharmacology Bulletin*, 24, 1324-1328.
- ❖ Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*, 24(10), R453-R462. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034>
- ❖ Schubert, S. Y., Lansky, E. P., & Neeman, I. (1999). Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology*, 66, 11-17. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00134-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00134-9)
- ❖ Scior, T. R. F., Martínez-Morales, E., Cruz, S. L., & Salinas-Stefanon, E. M. (2009). In silico modeling of toluene binding site in the pore of voltage-gated sodium channel. *Journal of Receptor and Ligand Channel Research*, 2, 1-9.
- ❖ Seeram, N. P., Henning, S. M., Zhang, Y., Suchard, M., Li, Z., & Heber, D. (2006). Pomegranate juice ellagitannin metabolites are present in human plasma and some persist

Références Bibliographiques

- in urine for up to 48 hours. *The Journal of Nutrition*, 136(10), 2481-2485.
<https://doi.org/10.1093/jn/136.10.2481>
- ❖ Seeram, N. P., Zhang, Y., Reed, J. D., Krueger, C. G., & Vaya, J. (2006). Pomegranate phytochemicals. In N. P. Seeram, N. S. Risa, & D. Heber (Eds.), *Pomegranates: Ancient Roots to Modern Medicine* (pp. 263). CRC Press.
 - ❖ Seeram, N., & Schulman, R. (2006). *Pomegranates: Ancient roots to modern medicine*. Taylor & Francis.
 - ❖ Sekita, K., & Ogawa, Y. (1996). Reproductive and developmental toxicity studies of toluene. II. Effects of inhalation exposure on fertility in rats. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 15(1), 9-20.
 - ❖ Shaffie, N., & Shabana, M. E. (2019). Role of citicoline as a protective agent on toluene-induced toxicity in rats. *Journal of Arab Society for Medical Research*, 14(1), 14-24.
 - ❖ Sharma, R., Harlev, A., Agarwal, A., & Esteves, S. C. (2016). Cigarette smoking and semen quality: A new meta-analysis examining the effect of the 2010 World Health Organization laboratory methods for the examination of human semen. *European Urology*, 70(4), 635–645. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.01.007>
 - ❖ Sharpe, R. M., & Irvine, D. S. (2004). How strong is the evidence of a link between environmental chemicals and adverse effects on human reproductive health? *BMJ*, 328(7437), 447-451.
 - ❖ Shimada, T., Mimura, M., Inoue, K., Nakamura, S., Oda, H., Ohmori, S., & Yamazzaki, H. (1997). Cytochromes P450-dependent drug oxidation activities in liver microsomes of various animal species including rats, guinea pig, dogs, monkeys, and human. *Archives of Toxicology*, 71, 401-408. <https://doi.org/10.1007/s002040050414>
 - ❖ Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., & Kukreti, S. (2019). Oxidative stress: A key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules*, 24(1583), 1-20. <https://doi.org/10.3390/molecules24081583>
 - ❖ Smith, L. B., & Walker, W. H. (2014). The regulation of spermatogenesis by androgens. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 30, 2-13. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.01.007>
 - ❖ Spichiger, R.-E., Savolainen, V. V., Fig, M., & Jeanmonod, D. (2002). *Botanique systémique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes*

Références Bibliographiques

- des régions tempérées et tropicales (2nd ed.). Presse Polytechnique et Universitaire Romandes. ISBN: 2-88074-502-0.
- ❖ Spilmon, M. (2013). Intérêt de la grenade dans la prévention nutritionnelle de l'ostéoporose : rôle des fractions lipidiques et polyphénoliques, approches physiologiques, cellulaires et moléculaires [Doctoral dissertation, University name].
 - ❖ Spira, A., & Multigner, L. (1998). The effect of industrial and agricultural pollution on human spermatogenesis. *Human Reproduction*, 13, 2041-2042. <https://doi.org/10.1093/humrep/13.7.2041>
 - ❖ SRI International. (1980). Health effects of chemicals series: Toluene (R. L. Joiner, Ed.). SRI International.
 - ❖ Sun, Y., Xin, T. A. O., Men, X., Xu, Z., & Tian, W. (2017). In vitro and in vivo antioxidant activities of three major polyphenolic compounds in pomegranate peel: Ellagic acid, punicalin, and punicalagin. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(8), 1808-1818. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61453-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61453-6)
 - ❖ Suzuki, T., Kashimura, S., & Umetsu, K. (1983). Thinner abuse and aspermia. *Medical Science and Law*, 23, 199-202.
 - ❖ Sweere, J. J., Dabco, D. C., & Dacboh, F. (2011). Hearing loss in the workplace: Noise exposure and toluene. *Dynamic Chiropractic*, 29(3).
 - ❖ Taepongsorat, L., Tangpraputgul, P., Kitana, N., Malaivijitnond, S. (2008) Stimulating effects of quercetin on sperm quality and reproductive organs in adult male rats. *Asian J. Androl.*, 10(2): 249-258.
 - ❖ Taha, S. H. N., Zaghloul, H. S., Ali, A. A. E. R., Rashed, L. A., Sabry, R. M., & Gaballah, I. F. (2020). Molecular and hormonal changes caused by long-term use of high dose pregabalin on testicular tissue: The role of p38 MAPK, oxidative stress and apoptosis. *Molecular Biology Reports*, 47, 8523-8533. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05910-3>
 - ❖ Taleb-Senouci, D., Ghomari, H., Krouf, D., Bouderbala, S., Prost, J., Lacaille-Dubois, M. A., & Bouchenaka, M. (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 16, 623-631. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.02.003>
 - ❖ Tang, F. T., Chen, S. R., Wu, X. Q., Wang, T. Q., Chen, J. W., Li, J., Bao, L. P., Huang, H. Q., & Liu, P. Q. (2006). Hypercholesterolemia accelerates vascular calcification induced by

Références Bibliographiques

- excessive vitamin D via oxidative stress. *Calcified Tissue International*, 79, 326-339. <https://doi.org/10.1007/s00223-006-0007-1>
- ❖ Tang, S. Y., & Halliwell, B. (2010). Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394(1), 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.01.167>
 - ❖ Tapias, V., Cannon, J. R., & Greenamyre, J. T. (2014). Pomegranate juice exacerbates oxidative stress and nigrostriatal degeneration in Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*, 35(5), 1162-1176. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.11.012>
 - ❖ Tas, U., Ogeturk, M., Meydan, S., Kus, I., Kuloglu, T., Ilhan, N., Kose, E., & Sarsilmaz, M. (2011). Hepatotoxic activity of toluene inhalation and protective role of melatonin. *Toxicology and Industrial Health*, 27(5), 465-473. <https://doi.org/10.1177/0748233710388315>
 - ❖ Tassaneeyakul, W., Birkett, D. J., Edwards, J., Veronese, M. E., Tassaneeyakul, W., Turkey, R. H., & Miners, J. O. (1996). Human cytochromes P450 isoform specificity in the regioselective metabolism of toluene and o-, m-, and p-xylene. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 276, 101-108.
 - ❖ Taverne, Y. J., Bogers, A. J., Duncker, D. J., & Merkus, D. (2013). Reactive oxygen species and the cardiovascular system. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 862423. <https://doi.org/10.1155/2013/862423>
 - ❖ Thangavelu, A., Elavarasu, S., Sundaram, R., Kumar, T., Rajendran, D., & Prem, F. (2017). Ancient seed for modern cure – Pomegranate review of therapeutic applications in periodontics. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 9, 11-14. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_176_16
 - ❖ Tillar, R., Shafer, T. J., & Woodward, J. J. (2002). Toluene inhibits voltage-sensitive calcium channels expressed in pheochromocytoma cells. *Neurochemistry International*, 41(6), 391-397. [https://doi.org/10.1016/S0197-0186\(02\)00019-1](https://doi.org/10.1016/S0197-0186(02)00019-1)
 - ❖ Tsao, J. H., Hu, Y. H., How, C. K., Chern, C. H., Hung-Tsang Yen, D., & Huang, C. I. (2011). Anomalie de conduction auriculo-ventriculaire et acidose métabolique hyperchlorémique lors de l'inhalation de toluène. *Journal of Formosan Medical Association*, 110(10), 652-654. [https://doi.org/10.1016/S0929-6646\(11\)60102-5](https://doi.org/10.1016/S0929-6646(11)60102-5)

Références Bibliographiques

- ❖ Turk, G., Sonmez, M., Aydin, M., Yuce, A., Gur, S., Yuksel, M., Aksu, E. H., & Aksoy, H. (2008). Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clinical Nutrition*, 27, 289-296. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2007.12.006>
- ❖ Turkoglu, C., Aliyev, F., Celiker, C., Uzunhasan, I., & Kocas, C. (2010). Coeur lent et cerveau lent : conséquence d'une exposition professionnelle de courte durée au toluène chez une jeune femme : quel est le véritable mécanisme ? *Clinical Cardiology*, 33, E68-E71. <https://doi.org/10.1002/clc.20574>
- ❖ United States Environmental Protection Agency (US EPA). (2005). Toxicological review of toluene. National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development: Washington, DC.
- ❖ US Environmental Protection Agency (USEPA). (1987). Occurrence of synthetic organic chemicals in drinking water, food, and air. Office of Drinking Water, Washington, D.C., PB89-192520, 175p.
- ❖ US Environmental Protection Agency (USEPA). (2005a). Toxicological review of toluene. EPA/635/R-05/004. US Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- ❖ US Environmental Protection Agency (USEPA). (2005b). Toxicological review of n-hexane. EPA/635/R-02/005. US Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- ❖ Utomo, B., Daningtia, N.R., Yuliani, G.A., Yuniarti, W.M. (2019) Effects of a standardized 40% ellagic acid pomegranate (*Punica granatum* L.) extract on seminiferous tubule histopathology, diameter and epithelium thickness in albino Wistar rats after heat exposure. *Veterinary World*, 12(8): 1261-1265.
- ❖ Uzunhisarcikli, M., Kalender, Y., Dirican, K., Kalender, S., Ogutcu, A., Buyukkomurcu, F., & Kalender, H. (2011). Protective effects of vitamin C and E against cisplatin-induced nephrotoxicity in Balb/c mice: A biochemical and histopathological approach. *Journal of Nephrology*, 24(1), 42-49. <https://doi.org/10.5301/JN.2010.5951>
- ❖ Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., & Telser, J. (2006). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266(1-2), 37-56. <https://doi.org/10.1007/s11010-005-9001-x>

Références Bibliographiques

- ❖ Van Doorn, R., Leijdekkers, C. M., Bos, R. P., & Brouns, R. M. E. (1981). Alcohol and sulfate intermediates in the metabolism of toluene and xylenes to mercapturic acids. *Toxicology*, 1, 236-242. [https://doi.org/10.1016/0300-483X\(81\)90011-0](https://doi.org/10.1016/0300-483X(81)90011-0)
- ❖ Vasconcelos, S. M. L., Goulart, M. O. F., Moura, J. B. F., Manfredini, V., Benfato, M., & Kubota, L. T. (2007). Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Química Nova*, 30(5), 1323-1338. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000500045>
- ❖ Veith, G. D., Macek, K. J., Petrocelli, S. R., & Carroll, J. (1980). An evaluation of using partition coefficients and water solubility to estimate bioconcentration factors for organic chemicals in fish. In J. G. Eaton, P. R. Parish, & A. C. Hendricks (Eds.), *Aquatic Toxicity (ASTM STP 707, pp. 116-129)*. American Society for Testing and Materials.
- ❖ Vidyasagar, J., Kamnagar, N., Reddy, M. S., Rajnarayana, S. T., & Krishna, B. R. (2004). Oxidative stress and antioxidant status in acute organophosphorous insecticide poisoning. *Indian Journal of Pharmacology*, 36(2), 76-79.
- ❖ Vural, M., Dayi, S. U., Tartan, Z., Kaşıkçıoğlu, H., Okmen, E., & Cam, N. (2003). Un cas d'infarctus du myocarde développé après une exposition à un diluant pour peinture. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*, 3(4), 363-365.
- ❖ Wald, E. (2009). Le grenadier (*Punica granatum* L.): plante historique et évolutions thérapeutiques récentes (Thèse de doctorat). Université Henri Poincaré-Nancy.
- ❖ Wang, F., Li, C., Liu, W., & Jin, Y. (2013). Oxidative damage and genotoxic effect in mice caused by sub-chronic exposure to low-dose volatile organic compounds. *Inhalation Toxicology*, 25(5), 235-242.
- ❖ Wang, J. D., & Chen, J. D. (1993). Acute and chronic neurological symptoms among paint workers exposed to a mixture of organic solvents. *Environmental Research*, 61.
- ❖ Waniusiow, D., Campo, P., Cossec, B., Cosnier, F., Grossman, S., & Ferrari, L. (2008). Toluene-induced hearing loss in acivicin-treated rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 30(3), 154-160.
- ❖ Wathes, D. C., Abayasekara, D. R. E., & Aitken, R. J. (2007). Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biology of Reproduction*, 77(2), 190-201.

Références Bibliographiques

- ❖ Weckbecker, G., & Cory, J.G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells *in vitro*. *Cancer Lett.*, 40(3), 257- 264.
- ❖ Win-Shwe, T.-T., & Fujimaki, H. (2010). Neurotoxicity of toluene. *Toxicology Letters*, 198(2), 93-99. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.06.001>
- ❖ World Health Organization (WHO). (2010). Toluene. Environmental Health Criteria 52. Geneva: World Health Organization.
- ❖ Wrighton, S. A., & Stevens, J. C. (1992). The human hepatic cytochromes P450 involved in drug metabolism. *Critical Reviews in Toxicology*, 22(1), 1-21.
- ❖ Xiao, G., Pan, C., Cai, Y., Lin, H., Fu, Z. (2001). Effect of Benzene, Toluene, Xylene on the Semen Quality and the Function of Accessory Gonad of Exposed Workers. *Ind. Health*, 39, 206-210.
- ❖ Yağmur, E. A., Damla, G. K., Bahar, U. K., Tuğçe, B., Narin, Ö., Alper, O., ... Gül, Ö. (2020). Reproductive effects of subchronic exposure to acetamiprid in male rats. *Scientific Reports*, 10, 89-85.
- ❖ Yamada, K. (1993). Influence of lacquer thinner and some organic solvents on reproductive and accessory reproductive organs in male rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 16(4), 425-427.
- ❖ Yan, X., Zhang, X., Wang, L., Zhang, R., Pu, X., Wu, S., Li, L., Tong, P., Wang, J., Meng, Q. H., Jensen, V. B., Girard, L., Minna, J. D., Roth, J. A., Swisher, S. G., Heymach, J. V., & Fang, B. (2019). Inhibition of Thioredoxin/Thioredoxin Reductase Induces Synthetic Lethality in Lung Cancers with Compromised Glutathione Homeostasis. *Cancer Research*, 79(1), 125–132.
- ❖ Yilmaz, B., Canpolat, S., & Sandal, S. (2006). Paint thinner exposure inhibits testosterone synthesis and secretion in a reversible manner in the rat. *Reproductive Toxicology*, 22(6), 791-796. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2006.08.009>
- ❖ Zeghad, N. (2018). Évaluation des propriétés biopharmacologiques, standardisation chimique et valorisation des agroressources fonctionnelles : cas de *Vitis vinifera*, *Punica granatum*, *Citrus aurantium* et *Opuntia ficus-indica* (Mémoire de master, Université des Frères Mentouri Constantine 1).

Références Bibliographiques

- ❖ Zerrouk, M. (2018). Étude ethnobotanique des plantes médicinales de la famille des Lythracées, le grenadier (*Punica granatum* L.) et le henné (*Lawsonia inermis* L.) : cas de la région d'Oued Righ (p. 56).
- ❖ Zeweil H.S., El Nagar S., Zahran S.M., Ahmed M.H., El-Gindy Y. (2013) Pomegranate Peel as a natural antioxidant Boosts Bucks' Fertility under egyptian summer conditions. World Rabbit Sci., (21): 33-39.
- ❖ Zhang, S., Ito, Y., Yamanoshita, O., Yanagiba, Y., Kobayashi, M., Taya, K., ... Nakajima, T. (2007). Pesticides and oxidative stress: A review. Medical Science Monitor, 10, 141-147.
- ❖ Zibouche, M., & Grimes, C. (2016). Contribution à l'étude des flavonoïdes et de l'activité antioxydante de l'orge : *Hordeum vulgare*. Constantine: Université des Frères Mentouri Constantine, p. 25.