

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Dr Tahar Moulay – Saida
Faculté des Sciences
Département de Biologie



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
Option : "Biochimie et Physiologie Cellulaire"

Thème

Contribution à l'étude des effets préventifs d'un mélange de jus de légumes verts (Carotte, betterave rouge, céleri et radis) contre les désordres hématologique et immunologique induits par le benzène chez le rat Wistar.

Présenté par :

- Mlle Becharef Salima
- Mlle Soltani Fatiha

Soutenu le : 14 Juin 2015 devant la commission de jury composée de :

Président :	Mr Ammam Abdelkader	Maitre assistant A	Université de Saida.
Examineur :	Mr Kahloula Khaled	Maitre de conférences A	Université de Saida.
Examineur :	Mme Allioui Latifa	Maitre assistant A	Université de Saida.
Encadreur :	Mr Berroukche Abdelkrim	Maitre de conférences A	Université de Saida.

Année universitaire : 2014 – 2015.

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

à celui qui peut être fier et trouver ici le résultat de longue années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. à celui qui j'aime.

.....à mon père.

Qui a œuvré pour ma réussite ,de par son amour,son soutien,tous les sacrifices consentis ,pour toute son assistance et sa présence dans ma vie à la femme la plus exceptionnelle

.....à ma mère.

A celui qui été toujours là pour moi et qui joue le rôle d'un père pour moi

.....à mon frère Kada.

A mes meilleurs sœurs Fatima et Mbaraka qui m'avaient soutenu moralement .

A ma petite sœur Chahira ;je vous souhaite de mon cœur qu'elle va gagner son bac.

A mon adorable petit frère Marouan .

Son oublier Salah eddin, Kouider,Zahira,Rahil,Abd el adim.

Et Abdou et Hasan.

A ma meilleure amis Fatiha et sa famille.

Enfin à tous ceux qui m'aiment

Salima.....

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à celui qui m'a ouvert la porte
de monde Mon Père*

à celle qui m'a donnée la plus charmante vie ma Mère

à mes Grands Pères et Mes Grands Mères

à mes cousins et tous ma Familles

À mes Frères : Boubakeur , Omar et Kadda

À mes amies : Koumita , Basma , Aicha , Nadia

À tous mes amies de les promotions Biologie

À ma copine Salima et sa famille

À tous mes connaissances.

À tous qui m'aiment.....

Remerciements

Avant tous ; nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la patience pour que nous puissions terminer ce modeste travail.

Un infini de merci à notre encadreur, à celui qui reste patient avec nous, tout en donnant des conseils précieux, pour renforcer notre travail, nous voulons lui dire que nous avons cherché beaucoup pour ramener les meilleurs mots afin de lui décrire, mais simple mot trouvable : «c'est l'agréable et le formidable docteur berroukche Abdelkrim.»

Un remerciement particulier, pour monsieur Ammam ; son soutien permanent nous aide bien à avancer plus loin à nos recherches .

Un autre merci à :

Monsieur Kahloula et Madame Alliouï d'avoir accepté de juger notre travail.

Merci encore à tous nos professeurs qui nous ont beaucoup appris et supportés ces cinq années d'études.

Merci à l'équipe de jour de laboratoire de polyclinique de Ain el Hjar.

Merci l'équipe de l'aboratoire d'analyse de sidi Bel Abbes (Dr ismat benzgeir).

Merci aussi à tous ceux qui nous ont aidé.

Abstract

Background. Blood cancers, such as leukemia, have become frequent in Algeria. The occupational use of benzene is one of the main risk factors for toxicity and carcinogenicity of the hematopoietic system. The use of medicinal plants is supported in one hand by their wealth of bioactive compounds and on the other hand the risk of the use of medication known for its toxic effects. The objective of this study is to assess the preventive effects of green vegetables juice mixture against hematological disorders induced by benzene in an animal model.

Material and methods. Part of the study was devoted to the preparation of green vegetable juice mixture (carrot, beetroot, celery and radish). The experiment involved 16 adult male rats divided into 4 groups; GR1 (controls), GR2 (C6H6), GR3 (Juice-C6H6) and GR4 (C6H6-juice). The body weight, hematological parameters (blood count formula or BCF) and the electrophoretic profile of serum proteins (EPS) were determined during the experimental period (42 days).

Results. In rats, exposed to C6H6, a non-significant increase in body weight was recorded, BCF has shown a significant decrease in red and white blood cells, hemoglobin ($p < 0,05$) and a moderate increase in the number of lymphocytes ($p > 0,05$). While in rats of GR3, treated with vegetable juices, it was noted the recovery of hematological parameters. EPS has indicated the response of an immune system in rats, exposed to C6H6, which expressed by a high IgG and IgA secretion. Histological study showed that benzene induced cell damage at the splenic tissue with an expansion of the white pulp and a predominance of neutrophils in the red pulp

Conclusion. Exposure to C6H6 has led to the emergence of significant hematological and immunological changes but treatment with green vegetables juice mixture moderately reduced the benzene-induced toxicity.

Key words: *Leukemia-Benzene-Medicinal plants-Carrot-Beetroot-Celery-Radish.*

Résumé

Introduction. Les cancers du sang, tel que la leucémie, sont devenus fréquents en Algérie. L'utilisation du benzène, en milieu professionnel, est l'un des principaux facteurs de risque de toxicité et de cancérogénèse du système hématopoïétique. Le recours aux plantes médicinales est étayé d'une part par leur richesse en composés bioactives et d'une autre part par le risque de l'usage de la médication connue pour ses effets toxiques. L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets préventifs d'un mélange de jus de légumes verts contre les désordres hématologique et immunologique induits par le benzène chez un modèle animal.

Matériel et méthodes. Une partie de l'étude a été consacrée à la préparation d'un mélange de jus de légumes verts (carotte, betterave rouge, céleri et radis). L'expérimentation a porté sur 16 rats adultes males répartis en 4 groupes ; GR1 (Témoins), GR2 (C6H6), GR3 (Jus-C6H6) et GR4 (C6H6-Jus). Le facteur pondéral, les paramètres hématologiques (formule de numération sanguine ou FNS) et le profil électrophorétique des protéines sériques (ou EPS) ont été déterminés au cours de la période d'expérimentation (42 jours).

Résultats. Chez les rats du GR2, exposés au C6H6 ; une augmentation non significative du poids corporel a été enregistrée, le FNS a montré une diminution significative des globules rouges et blancs, du taux d'hémoglobine ($p < 0,05$) et une augmentation modérée du nombre de lymphocytes ($p > 0,05$). Alors que chez les rats du GR3, traités avec le jus de légumes, il a été noté la restauration de la plupart des paramètres hématologiques. L'EPS a indiqué la présence d'une réponse du système immunitaire chez les rats exposés au C6H6 exprimée par une forte sécrétion des IgG et IgA. L'étude histologique a montré que le benzène a induit des altérations cellulaires au niveau du tissu splénique se traduisant par des expansions de la pulpe blanche et une présence prédominante des polynucléaires neutrophiles dans la pulpe rouge.

Conclusion. L'exposition au C6H6 est responsable de l'apparition d'importants changements hématologique et immunologique mais le traitement avec le jus d'un mélange de légumes verts a modérément atténué la toxicité induite par le benzène.

Mots clés : Leucémie-Benzène-Plantes médicinales-Carotte-Betterave rouge-Céleri-Radis.

ملخص :

-يعتبر سرطان الدم الاكثر انتشارا في الجزائر .
ان استعمال البنزان C6H6 في حياتنا اليومية من بين اكبر عوامل الخطر على صحة الانسان وبالتالي فهو مادة مسرطنة
ان استعمال عصير الخضر (الشمندر الاحمر-الجزر-الكرفس-الفجل الابيض) له دور وقائي ضد السرطان.
الهدف من هذه الدراسة هو اظهار الدور الوقائي لعصير هذه الخضر ضد البنزين لفئران ويستار.
ولهذا تم تقسيم 16 فأر من سن شهرين الى أربع مجموعات.كل مجموعة تضم 4فئران .
1-المجموعة الاولى:كانت بمثابة الفئران الشاهدة التي قدمنا لها مادة العلف والماء طوال مرحلة التجربة.
2-المجموعة الثانية :اعطي لها كل يوم 1مل من البنزين.
3-المجموعة الثالثة:قدم لها 2مل من عصير الخضر وبعد ساعة قدم لها 1 مل من البنزين.
4-المجموعة الرابعة:قدم لها 1مل من البنزين وبعد ساعة قدم لها 2 مل من العصير.
قمنا بتحليل تركيز مكونات الدم كل 10 أيام وتحليل هجرة البروتينات المصلية بعد انتهاء التجربة لمدة 42 يوم .
كانت النتائج كالتالي:
-المجموعة 2 المعرضة للبنزين :ارتفاع غير ملحوظ في الوزن يقابله انخفاض ملحوظ في كريات الدم البيضاء ،
الحمراء،الصفائح والهيموغلوبين وارتفاع عدد اللمفاويات.
-المجموعة 3 المعالجة بعصير الخضر والمعرضة للبنزين: استرجاع لجميع محددات الدم سجلنا استجابة مناعية للفئران
المعرضة للبنزين وبالتالي كانت هناك افرازات قوية للبروتينات المصلية (الأجسام المضادة
عن طريق فحص هجرة البروتينات المصلية
بعض التغيرات النسيجية على مستوى الطحال عن طريق الفحص النسيجي.
-التعرض للبنزين مسؤول عن تغيرات تركيز مكونات الدم ،الجهاز المناعي لكن وجود عصير الخضر قام بتخفيف
التأثيرات السامة الناتجة عن البنزين.

كلمات المفتاحية: البنزان ، سرطان الدم

Abréviations

C6H6 :le benzène

LMC :leucémies myéloïdes chroniques

DL50 : la dose létale de 50% de mort d'animaux

FNS :formule et numération sanguines

VGM :le volume globulaire moyendes hématies

TCMH :la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

CCMH :la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

GR :globule rouge

GB :globule blanc

Hte :Hematocrite

PLT :plaquette

HB :Hemoglobine

Lym :lymphocyte

Grany :granulocyte

EPS :Electrophorèse des protéines sériques

PNN :polynucléaires neutrophiles

RP :pulpe rouge

WP :pulpe blanche

Ppm :poids par mille gramme

Gr :groupe

Liste de Figures

Figure 1 : 1ère échantillon du benzène

Figure 2 : formule du benzène

Figure 3 : Carotte (*Daucus carota* var. *sativus*)

Figure 4 : Betterave rouge (*Beta vulgaris* var.)

Figure 5 : Celeri (*Apium graveolens* var. *dulce*.)

Figure 6 : Radis (*Raphanus sativus*)

Figure 7 : cocktail de jus concentré

Figure 8 : préparation de jus concentré

Figure 9 : variation du poids corporel chez les différents groupes des rats

Figure 10 : variation du taux de globules rouges

Figure 11 : variation du taux de globules blancs

Figure 12 : variation de l'hématocrite

Figure 13 : variation du taux d'hémoglobine

Figure 14 : variation du taux de plaquette

Figure 15 : variation du taux de granulocytes

Figure 16 : variation du taux de lymphocytes

Figure 17 : profil électrophorétique des protéines sériques du groupe des rats témoins

Figure 18 : profil électrophorétique des protéines sériques du groupe des rats exposés du benzène (C_6H_6)

Figure 19 : profil électrophorétique des protéines sériques du groupe des rats traité avec le jus de légume puis exposés du benzène (C_6H_6)

Figure 20 : profil électrophorétique des protéines sériques du groupe des rats exposés du benzène (C_6H_6) puis traités avec le cocktail de jus de légumes

Listes de tableau

Tableau 1 : principales caractéristiques physiques du benzène.

Résumé.....	
Liste des figures.....	
Liste de des abréviation	
Introduction.....	01
Revue Bibliographique.....	
Chapitre I :le Benzène(C₆H₆).....	04
1 -origine et structure du benzène.....	05
2-propriétés physiques.....	05
3 -propriétés chimiques.....	05
4-Voies d'absorption.....	05
5-Propriétés toxicologiques.....	06
5-1 Toxicocinétique.....	06
5-1-1 Absorption.....	06
5-1-2 Distribution.....	06
5-1-3 Métabolisme.....	07
5-1-4 Excrétion.....	07
5-2 Toxicité.....	09
5-2-1chez les animaux.....	09
5-2-1-1 toxicité aigue.....	09
5-2-1-2 toxicité chronique.....	09
5-2-2chez l'homme.....	10
5-2-2-1 toxicité aigue.....	10
5-2-2-2 toxicité chronique.....	10
Chapitre II :légumes à intérêt medicinale.....	
1 -Carotte.....	12
1-1 introduction.....	12
1-2 Description botanique.....	12
1-3 Composition chimique.....	13
1-3-1caroténoïdes.....	13
1-3-2 Fibres.....	13
1-4 Bienfaits de la carotte.....	13
1-4-1 Maladies cardiovasculaires.....	13
1-4-2 Cancer.....	14
1-4-3 Cataractes.....	14
2- La Bettrave rouge.....	15
2-1 Introduction.....	15
2-2 Description botanique.....	15
2-3 Composition chimique.....	16
2-3-1 Composés phénoliques.....	16
2-3-2 Lutéine et zéaxanthine.....	16
2-3-3Minéraux.....	16
2-4 Bienfaits de la bettrave rouge.....	16
2-4-1 Cancer.....	17
2-4-2Pouvoir antioxydant.....	17
2-4-3 Santé oculaire.....	17
2-4-4 Performance sportive.....	17
3-Le celeri.....	18
3-1 Introduction.....	18

3-2 Description botanique.....	18
3-3 composition chimique.....	18
3-3-1 Antioxydants.....	18
3-3-2 Vitamines principaux.....	19
3-4 Bienfaits du celeri.....	19
4 -le Radis.....	20
4-1 Introduction.....	20
4-2 Description botanique.....	20
4-3 Composition chimique.....	21
4-3-1 Antioxydants.....	21
4-3-2 Glucosinolates.....	21
4-3-3 Méthylisogermabullone.....	21
4-4 Bienfaits du radis.....	21
4-4-1 cancer.....	22
4-4-2Maladies cardiovasculaires.....	22
4-4-3 Système digestif.....	22
4-4-4 Mémoire.....	22
Objectif.....	24
Matériel et Methodes.....	
1-Matériel végétal.....	26
1-1 Provenance des légumes.....	26
1-2 Préparation du melange de jus de légumes.....	27
2-Matériel animal.....	28
2-1 Préparation des animaux.....	28
2-2 Groupes d'animaux.....	28
2-3 Choix de la dose toxicologique.....	29
2-4 Administration par voie orale(gavage).....	29
3-détermination de la formule et numération sanguines(FNS).....	29
3-1 Prélèvement du sang.....	29
3-2 etude quantitative des hematies et des leucocytes.....	30
3-2-1 principe de mesure.....	31

3-2-2 Echantillon.....	31
3-2-3 Lignée érythrocytaire.....	31
3-2-4 Lignée plaquettaire.....	31
3-2-5 Lignée leucocytaire.....	32
4- Electrophorèse des proteins sériques(EPS).....	32
4-1 Principe de mesure.....	32
5.Technique d'examen histologique du tissu splénique (ou rate) prélevé	32
5.1.Etude macroscopique	33
5.2.Etude microscopique	33
5.2.1.Fixation	33
5.2.2.Déshydratation	33

5.2.3.Imprégnation et inclusion à la paraffine	33
5.2.4.Réalisation des coupes	34
5.2.5.Coloration	34
5.2.6.Montage des coupes	34
6.Analyses statistiques.....	35
Resultats.....	37
Discussion.....	53
Conclusion.....	58
Annexes.....	
Références bibliographiques.....	

Introduction

Introduction

L'idée de notre projet de recherche a pris naissance après avoir entendu parlé de la cure Breuss. Ce traitement médical particulier a été mis au point à partir d'un grimoire de Moyen Age, par un thérapeute autrichien, Rudolph Breuss. Cette cure, présentée comme une "cure anti-cancer" a provoqué de nombreuses polémiques mais selon certains milieux des résultats étonnants ont été obtenus grâce à ce protocole. La cure Breuss est une cure de santé qui rétablit la plupart des fonctions métaboliques et permet de guérir ou d'améliorer un nombre impressionnant de maladies. La cure Breuss est une méthode simple nécessitant la consommation d'une importante quantité de jus frais préparé à partir de légumes verts et de fruits (<http://www.alternativesante.fr/cancer/la-cure-anti-cancer-rudolph-breuss>)

L'incidence de la leucémie aigue, cancer du sang, est en nette progression en Algérie. Cette pathologie touche essentiellement des enfants. Le taux d'incidence annuelle de la leucémie aigue, en Algérie, est de 0,9 cas / 100000 habitants versus 3 cas / 100000 habitants / an dans les pays développés. Les leucémies aiguës sont des proliférations malignes de cellules jeunes myéloïdes ou lymphoïdes au niveau de la moelle osseuse, origine de toutes les cellules sanguines.

Chez un modèle animal, par exemple un rongeur, les désordres hématologiques peuvent être déclenchés volontairement par l'usage d'une substance chimique toxique. Dans ce cas, le benzène est souvent utilisé pour induire une leucémie aigue. Il s'agit d'un agent cancérigène qui a pour cibles le système hématopoïétique et les cellules sanguines.

Il est raisonnable de penser à substituer les produits pharmacologiques industriels par les plantes aromatiques à intérêt thérapeutique. En outre des effets indésirables, l'usage de médicaments ouvre une voie de toxicité qui s'ajoute à celle résultant de l'exposition au benzène sous ses différentes formes.

Les plantes médicinales renferment des composés naturels ayant des pouvoirs antimicrobien, anti oxydant et antitumoral. Au cours de ces 20 dernières années, il y a eu un grand intérêt pour l'exploration et la recherche de molécules bioactives naturelles comme source de nouveaux agents anti oxydant, antibactérien et anti tumoraux (**Mary Helen et al., 2012**).

Différents extraits sous différentes formes (huile essentielle, macération, décoction.....) testés sur des animaux, végétaux et microorganismes ont montré leur efficacité et pouvoirs préventif et curatif (**Chehregani et al., 2007**).

Les effets thérapeutiques des plantes médicinales dépendent de l'existence de substances chimiques (ou aromatiques) qui produisent une action physiologique chez l'homme.

Les principaux constituants, biologiquement actifs, rencontrés dans les plantes médicinales sont les alcaloïdes, flavonoïdes, tannins et composés phénoliques (**Kala et al., 2011**).

L'objectif de cette présente étude est d'évaluer les effets préventif et curatif d'un jus constitué d'un mélange de légumes verts (carotte, betterave rouge, céleri et radis) sur les désordres hématologique et immunologique induits par le benzène chez le rat Wistar.

Chapitre I : Le Benzène

1. Origine et structure du benzène

Le benzène est un hydrocarbure de formule brute C_6H_6 , liquide à la température ordinaire, facile à cristalliser à $5,5\text{ }^{\circ}C$, d'indice de réfraction élevé, voisin de celui du verre. En 1834, E. Mitscherlich a préparé le benzène en chauffant de l'acide benzoïque en présence de chaux et lui a donné son nom. Kathleen Lonsdale détermina en 1929 la structure précise du benzène par diffraction des rayons X.



Figure 1: 1^{ère} échantillon du benzène (G. Dupuis 2013)

Plusieurs formules ont été proposées pour rendre compte de la structure du benzène. Kékulé proposa une formule cyclique formée par l'alternance de liaisons simples et doubles. Un tel système est appelé système conjugué (G. Dupuis 2013)

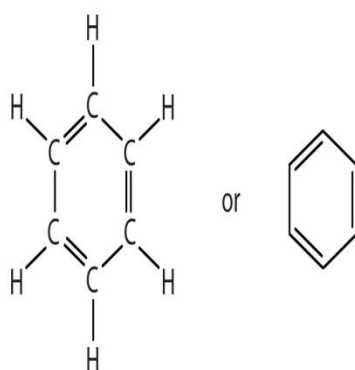


Figure 2: formule du benzène (G. Dupuis 2013)

2. Propriétés physiques

Le benzène est un liquide incolore, d'odeur aromatique, perceptible à l'odorat à des concentrations de l'ordre de 5ppm. Il renferme moins de 0,1% non aromatiques (0,04%); méthyl cyclo hexane + toluène représentent (0,02 %). (Kirk Othmer 1992)

Il est pratiquement insoluble dans l'eau (0,180g pour 100g à 25°C), miscible à la plupart des solvants organiques. C'est un excellent solvant pour un grand nombre de substances naturelles ou de synthèse (huiles, graisses, résines...). Ses principales caractéristiques physiques sont mentionnées dans le tableau suivant:

Tableau 1 : principales caractéristiques physiques du benzène (Henderson RF 2001)

3.

Masse Molaire	78,11
Point de fusion	5.5°C°
Point d'ébullition	80.1°C°
Densité D20_4	0.879
Densité de vapeur (air=1)	2.7
Tension de vapeur	9.97Kpa à 20°C° 12.6kpa à 25°C°
Indice d'évaporation (oxyde de d'iéthyle=1)	3
Coefficient de partage (n=octanol/eau) log ₁₀ K _{ow}	2,13
Point d'éclair (en coupelle fermée)	11°C°
Température d'auto inflammation	55°C° 538°C° à 580°C° Selon les sources

Propriétés chimiques

Le benzène est peu soluble dans l'eau mais soluble dans la plupart des solvants organiques. Il a une odeur aromatique agréable, perceptible à l'odorat pour une concentration de l'ordre de 12 ppm. (INRS 2011).

4. Voies d'absorption

- Chez l'humain, la principale voie d'absorption du benzène est l'inhalation, considérant l'exposition par l'air ambiant et les activités domestiques (ATSDR, 2007). Lorsqu'il est

inhalé, le benzène est absorbé rapidement et son absorption chez l'humain est approximativement de 50 % à des concentrations inférieures à 70 ppm (ATSDR, 2007)

- Chez les animaux, l'absorption gastro-intestinale du benzène est complète à des doses en-deçà de 100 mg/kg. Chez l'humain, cette absorption est mal caractérisée, mais est tout de même estimée être complète ((ATSDR, 2007). L'absorption du benzène par la peau est faible et varie en fonction du temps d'exposition, de la concentration ainsi que de l'état (liquide < aqueux < gazeux) du benzène (ATSDR, 2007).

5. Propriétés toxicologiques

Le benzène est absorbé principalement par les voies respiratoires. L'absorption des vapeurs de benzène par la peau est négligeable alors que l'absorption du benzène liquide est importante. L'absorption par les voies digestives est possible mais peu probable en milieu de travail.

5.1. Toxicocinétique

5.1.1. Absorption

L'absorption du benzène par inhalation (2 à 100 ppm) est très rapide. Des volontaires exposés au benzène par inhalation (47 à 110 ppm, pendant 2 à 3 heures) ont démontré une absorption très élevée au cours des 5 premières minutes (70 à 80 %) et plus faible par la suite (50 %)(Cincinnati, OH , ACGIH. (2000). Le taux d'absorption du benzène par application cutanée est de 2 à 3 fois plus élevée chez l'animal que chez l'homme. L'absorption par inhalation augmente de façon linéaire chez les rongeurs aux concentrations allant jusqu'à 200 ppm. Chez l'animal, l'absorption par voie orale est complète. Chez le rat et la souris exposés par voie orale (0,5 à 150 mg/kg), l'absorption par la voie gastro-intestinale est de plus de 97 % (Cincinnati, Ohio : ACGIH. (2001).

5.1.2. Distribution

Chez l'humain, suite à une exposition par inhalation, on retrouve du benzène surtout dans les graisses et les tissus riches en lipides, mais également dans les liquides biologiques et plusieurs autres tissus (sang, cerveau, foie, rein, estomac, bile et placenta).

Chez l'animal, le benzène est distribué dans les tissus riches en lipides ou largement perfusés (tels que les reins, les poumons, le foie, le cerveau ou la rate).

Chez le rat exposé par inhalation à 500 ppm de benzène, un état d'équilibre est atteint en 4 heures dans le sang (11,5 µg/mL), en 6 heures dans les graisses (164,4 µg/g) et en moins de 2 heures dans la moelle osseuse (37 µg/g) (N. Bonnard M. 2011) . On a retrouvé des métabolites (tels que le phénol, le catéchol et l'hydroquinone) dans le sang et la moelle osseuse 6 heures

après l'exposition par inhalation au benzène (**Lauwerys, R.R Masson.1999**)La concentration des métabolites était plus élevée dans la moelle osseuse que dans le sang. La concentration du phénol dans le sang et dans la moelle osseuse diminuait plus rapidement que le catéchol et l'hydroquinone, suggérant que ces derniers peuvent s'accumuler .

Chez l'animal exposé par voie cutanée, on a retrouvé du benzène dans le duodénum, les graisses, la moelle osseuse, l'oesophage, le pancréas, le poumon, le coeur, la rate, le cerveau, le sang, le thymus, la glande thyroïde, les glandes surrénales, les testicules (**Rangan, U. et Snyder, R 1998**).

Chez le rat exposé par voie orale (0,15, 1,5, 15, 150 ou 500 mg/kg), on a retrouvé du benzène dans le foie et le rein (en plus forte concentration), dans le sang, dans les tissus de la cavité nasale et dans les glandes mammaires (en plus faible concentration) pour des doses de 0, 15 et 1,5 mg/kg(**Inoue, Osamu et al .1988**)Le benzène s'accumulait dans la moelle osseuse et le tissu adipeux. On retrouvait également de l'hydroquinone (un métabolite) en plus forte concentration dans le foie, le rein et le sang, et du phénol (un autre métabolite) en plus forte concentration dans la cavité orale, la cavité nasale et le rein. Les tissus contenant le plus de métabolites conjugués (sulfate de phényle et le glucuronide d'hydroquinone) étaient le sang, la moelle osseuse, la cavité orale, le rein, le foie. On a retrouvé aussi de l'acide muconique dans ces tissus (**ATSDR. 2007**).

5.1.3.Métabolisme

Le métabolisme du benzène est similaire chez l'humain et chez l'animal. Le benzène est métabolisé essentiellement dans le foie (qui contient une plus grande quantité de cytochromes P-450) mais aussi dans les autres tissus où il se fixe, notamment la moelle osseuse. La première étape conduit à la formation de benzène époxyde (catalysée par un système de monooxygénases à cytochromes P-450). Il possède une activité toxique qui pourrait être à l'origine de la myélotoxicité (moelle osseuse) (**N.bonnard M 2011**).

Après la formation de benzène époxyde, deux voies métaboliques sont possibles :

La première voie implique l'hydroxylation de l'anneau benzénique et la deuxième voie implique l'ouverture de l'anneau. L'hydroxylation de l'anneau conduit à la formation de phénol qui est convertit en hydroquinone, laquelle est à son tour oxydée en benzoquinone. Le phénol peut être aussi métabolisé en catéchol et en trihydroxy-1,2,4 benzène (**Cincinnati, OH : ACGIH. (2000)**)

Le métabolisme du benzène époxyde conduit à la formation de benzènediol par l'époxyde hydrolase. Le catéchol peut être formé aussi par le benzènediol avec l'aide de déshydrogénases.

Le benzène époxyde est convertit en acide phénylmercaptopurique par la conjugaison au glutathion tandis que le phénol peut former aussi des conjugués de glucuronides ou de sulfates (**Lauwerys, R.R Masson. (1999)**)

Le benzène époxyde peut subir aussi une oxydation au niveau de l'ouverture de l'anneau et former l'acide t,t-muconique (t,t-MA) en formant l'aldéhyde muconique comme intermédiaire.

Les principaux métabolites qui exercent une action toxique sur la moelle osseuse sont le benzène époxyde, le catéchol, le benzènetriol-1,2,4, l'hydroquinone, les benzoquinones 1,2- et 1,4- et l'aldéhyde muconique (**Rangan, U. et Snyder, 1998**).

Chez l'animal, il y a des différences quantitatives dans les métabolites du benzène entre les espèces, la souris étant plus sensible à la toxicité du benzène que le rat.

5.1.4.Excrétion

Environ le tiers du benzène absorbé est excrété rapidement dans l'urine sous forme de phénols conjugués avec l'acide glucuronique, l'acide sulfurique et des dihydroxyphénols (**Löf, A. et Johanson, G 1998**).

Le reste est dégradé et incorporé aux tissus ou expiré sous forme de dioxyde de carbone (CO₂). On peut retrouver également du benzène sous forme inchangée dans l'air expiré

Le benzène inhalé est éliminé principalement dans l'urine sous forme de phénols (30 à 40 % du benzène absorbé) et d'acide muconique Environ 90 % des phénols urinaires se trouvent sous forme sulfoconjuguée. L'élimination se poursuit pendant 24 à 36 heures (**Lauwerys, R.R Masson. (1999)**)

Des volontaires exposés par inhalation au benzène (47 à 110 ppm pendant 2 à 3 heures) ont démontré que de 16,4 à 41,6 % du benzène retenu est excrété par les poumons en 5 à 7 heures. Le taux d'excrétion du benzène est plus grand durant la première heure. Il y a seulement de 0,07 à 0,2 % du benzène retenu qui est éliminé dans l'urine.

Des travailleurs exposés à 100 ppm de benzène ont excrété dans l'urine du phénol (13,2 %), de l'hydroquinone (10,2 %), de l'acide t,t-muconique (1,9 %), du catéchol (1,6 %) et du benzènetriol-1,2,4 (0,5 %). De petites quantités de benzène non métabolisé ont été également détectées dans l'urine (**Lauwerys, R.R Masson. (1999)**)

5.2.Toxicité

La toxicité du benzène sur le système hématopoïétique chez l'homme comme dans des modèles animaux est à présent reconnue. Ce polluant est aussi responsable de l'apparition de leucémies, en particulier des leucémies myéloïdes chroniques (LMC) .

5.2.1.Chez les animaux (l'exemple des rongeurs)

5.2.1.1.Toxicité Aiguë

La toxicité aiguë du benzène est faible par voie orale, inhalatoire ou cutanée mais il provoque des irritations persistantes sur la peau et l'œil (**draft 2003**)

Les données de DL50 par voie orale chez les rongeurs varient entre 810 et 10 000 mg/kg mais elle se situe vraisemblablement autour de 5 000 mg/kg, avec une sensibilité accrue des jeunes rats (DL50 est de 3 400 mg/kg chez les rats âgés de 14 jours) par inhalation de 13700 ppm pour une exposition de 4 heures chez le rat et de 10 400 ppm pour 7 heures chez la souris .

L'inhalation est responsable :

- D'effets neurologiques centraux : excitation, mouvements anormaux, tremblements, puis somnolence à partir de 2000 ppm chez la souris (durée non précisée)
- D'effets hématologiques : diminution des cellules souches chez la souris exposée à 4 680 ppm pendant 8 heures .
- D'effets cardiaques : Chez le rat après exposition à 50 ppm pendant plus de 600 heures. Aucune donnée n'est disponible sur la sensibilisation (**Draft 2003**).

5.2.1.2.Toxicité chronique

Le principal organe cible du benzène est le système hématopoïétique et il provoque chez l'animal une diminution des taux de globules blancs, de globules rouges et de nombreuses cellules souches Les effets critiques après administration répétée de benzène se manifestent sur le système hématopoïétique quelle que soit la voie d'administration.

- Par inhalation chez le rat : Une diminution des globules blancs et des lymphocytes est notée à partir de 300 ppm, 6 h/j, 5 jours par semaine, pendant 90 jours donc l'inhalation de benzène pendant 4 semaines ne modifie pas les fonctions immunitaires jusqu'à 200 ppm chez le rat .

- Par voie orale chez le rat: le benzène induit une leucopénie ainsi qu'une diminution du taux de lymphocytes à partir de 200 mg/kg et 50 mg/kg chez les mâles exposés respectivement pendant 17 et 103 semaines, et à partir de 25 mg/kg chez les femelles; une diminution des cellules lymphatiques dans la rate (**Draft2003**).

5.2.2 Chez l'homme

5.2.2.1.Toxicité Aiguë

Le benzène partage la toxicité aiguë de tous les solvants hydrocarbonés. L'ingestion provoque : des troubles digestifs (douleurs abdominales, nausées, vomissements), des troubles neurologiques (troubles de conscience, ivresse puis somnolence pouvant aller jusqu'au coma, convulsions à très hautes doses) et une pneumopathie d'inhalation (due à l'inondation des voies respiratoires par le produit et aggravée par les vomissements éventuels)(**LARC 1987**). Lors d'intoxications par inhalation, les mêmes symptômes neurologiques apparaissent pour des concentrations variables selon les individus ; les chiffres suivants sont donnés à titre indicatif : pas d'effet à 25 ppm, céphalées et asthénie de 50 à 100 ppm, symptômes plus accentués à 500 ppm, tolérance seulement pendant 30 à 60 minutes à 3000 ppm, mort en 5 à 15 minutes à 20 000 ppm (**Grant M 1986**). Des convulsions sont observées aux plus hautes doses. En application cutanée, le benzène est irritant. La projection oculaire de solutions de benzène entraîne une sensation modérée de brûlure mais seulement des lésions peu importantes et transitoires des cellules épithéliales(**Gamier R_bismuth c et al 2000**).

5.2.2.2.Toxicite chronique:

L'inhalation de benzène provoque des troubles neuro-psychiques: irritabilité, diminution des capacités d'attention et de mémorisation, syndrome dépressif et troubles du sommeil. Des troubles digestifs, tels que nausées, vomissements, épigastralgies, peuvent être également observés(**thtruhant R 1977**).

Par contact cutané prolongé, le benzène entraîne des irritations locales. Aucune étude n'a prouvé la responsabilité du benzène dans la genèse des cancers autres que ceux du système hématopoïétique et lymphopoïétique(**Wright A_P et al 1964**).

Chapitre II : Légumes à intérêt médicinale

1. Carotte (*Daucus carota* var *sativus*)

1.1. Introduction

Apparu dans la langue française en 1564, le terme « carotte » vient du latin *carota* qui fut emprunté au grec *karôton*. Le terme « ombellifères » désignait jusqu'à tout récemment la famille dont fait partie la carotte. Il vient du latin *umbella* (parasol) et *ferre* (porter), en référence à la forme des fleurs qui ressemblent à de petits parapluies. La nouvelle appellation pour cette famille est aujourd'hui « apiacées » (Bub A, Watzl B, Abrahamse L *et al* 2000). Étant donné son importance actuelle dans l'alimentation occidentale, on a du mal à s'imaginer que jusqu'à récemment, la carotte n'était consommée que de façon marginale. Les anciens Grecs la mentionnaient dans leurs ouvrages. Mais, comme sa forme primitive était plutôt amère et fibreuse, on s'est surtout intéressé à ses nombreuses propriétés médicinales.

1.2. Description botanique

La carotte (*Daucus carota*) est une plante bisannuelle de la famille des Apiacées (anciennement ombellifères), largement cultivée pour sa racine pivotante charnue, comestible, de couleur généralement orangée, consommée comme légume. C'est une racine riche en carotène. La carotte est un tubercule d'hypocotyle, c'est-à-dire un tubercule formé en partie par l'hypocotyle et en partie par la région supérieure de la racine, et qui s'est tubérisé (*World Carrot Museum* 2010).

Nom commun	carotte
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Sous-famille	Apioidae
Tribu	Scandiceae
Sous-tribu	Daucinae
Genre	Daucus



Figure 3: *Daucus carota* var *sativus* -la carotte (graines-schletzer1870)

1.3. Composition chimique

La racine de la carotte riche en carotène , caroténoïdes et les fibres .

1.3.1. Caroténoïdes

Les principaux caroténoïdes retrouvés dans la carotte (crue, cuite ou en jus) sont le bêta-carotène, la lutéine et le zéaxanthine. La carotte possède des propriétés anti-oxydantes, capables de neutraliser les radicaux libres dans l'organisme (**Statistics, World Carrot Museum. 2010**) La consommation des aliments riches en caroténoïdes serait reliée à un risque moindre de souffrir de plusieurs maladies, comme le cancer, maladies cardiovasculaires et certaines maladies liées au vieillissement, par exemple la cataracte. Plusieurs caroténoïdes sont également des précurseurs de la vitamine A, c'est-à-dire que le corps les transforme en vitamine A selon ses besoins .Les caroténoïdes auraient un effet protecteur contre le cancer, puisque les aliments qui en contiennent diminueraient les dommages oxydatifs à l'ADN (**Pool-Zobel BL, Bub A, Muller H et al1997**). Lorsque l'ADN est endommagé, il peut y avoir un plus grand risque de cancer. Il est également démontré que les personnes souffrant de fibrose kystique présentent des taux sanguins de caroténoïdes plus bas que les limites normales (**Schupp C, Olano-Martin E, Gerth C et al2004**) Quelques études ont révélé que la prise de suppléments de bêta-carotène par des patients atteints de fibrose kystique améliorerait leur capacité antioxydante plasmatique (**Winklhofer-Roob BM, Puhl H, Khoschorur G et al 1995**)À ce jour, aucune étude n'a toute fois évalué les effets de la consommation de carottes sur les taux de caroténoïdes des personnes atteintes.

1.3.2. Fibres

Des auteurs ont avancé que l'apport simultané des fibres et des caroténoïdes, tous deux présents dans la carotte, augmenterait l'effet protecteur de ce légume (**Nicolle C, Gueux E, Lab C et al 2004**).En effet, il a été démontré que certains types de fibres, notamment les fibres solubles, pouvaient réduire le cholestérol et prévenir le processus d'athérosclérose chez l'animal ainsi que chez l'humain(**Nicolle C, Gueux E, Lab C et al 2004**)Le jus de carotte contient plusieurs sources de vitamines (A,B1,B2,B3,B6,K,C et E) et des oligo-éléments (Fe, P et K (*Fichier canadien sur les éléments nutritifs, 2010.*)

1.4. Bienfaits de la carotte

1.4.1. Maladies cardiovasculaires

Deux études chez l'animal ont montré que la consommation de carottes agissait sur certains facteurs favorisant la santé cardiovasculaire. Ainsi, consommer des carottes ou du jus, mais dans une moindre mesure(**Abbey M, Noakes M, Nestel PJ 1995 Bub A, Watzl B, Abrahamse L et al 2000**).améliorerait la capacité anti-oxydante et le taux de vitamine E dans

le sang, en plus de diminuer le cholestérol et les triglycérides du foie (**Nicolle C, Cardinault N, Aprikian O *et al* 2003**) et dans le sang (**Nicolle C, Gueux E, Lab C *et al* 2004**).

1.4.2. Cancer

La consommation de carottes aurait des effets protecteurs contre le cancer du poumon (**Nyberg F, Agrenius V, Svartengren K *et al* 1998**) Une étude effectuée auprès de plus de 120 000 femmes a conclu que celles qui consommaient de 2 à 4 portions de carottes par semaine présentaient 40 % moins de risque de souffrir d'un cancer du poumon comparativement à celles qui n'en consommaient pas(**Speizer FE, Colditz GA, Hunter DJ *et al* 1999**) Avec une consommation de 5 portions ou plus, la diminution du risque atteignait 60 %. Par ailleurs, une étude d'observation a permis de constater que les personnes qui consommaient 2 portions ou plus de carottes ou d'épinards par semaine avaient 44 % moins de risque d'avoir un cancer du sein que celles qui n'en consommaient pas(**Longnecker MP, Newcomb PA, Mittendorf R *et al* 1997.**)

1.4.3. Cataractes

Deux études observationnelles ont conclu à une diminution de la prévalence de cataractes chez les hommes et les femmes ayant davantage d'alpha et de bêta-carotène dans le sang (**Gale CR, Hall NF, Phillips DI *et al* 2001**). Les mêmes résultats ont été observés chez ceux qui consomment le plus de lutéine et de zéaxanthine (**Brown L, Rimm EB, Seddon JM *et al.* 1999** Chasan-Taber L, Willett WC, Seddon JM *et al* 1999;70:509-516).

2. Betterave rouge (*Beta vulgaris* var.)

2.1. Introduction

Le terme « betterave » est apparu dans la langue française au XVII^e siècle. Ce mot dérive de « bette », plante dont la betterave est directement issue, et de « rave », qui désigne toute plante potagère que l'on cultive pour sa racine; la betterave rouge, descendant d'un ancêtre commun (*Beta vulgaris* var. *maritima*), originellement cultivé pour ses feuilles. C'est d'ailleurs le cas de la bette à carde (*Beta vulgaris* var. *cicla*), qui appartient à la même espèce. La plante vient des côtes de la Méditerranée, où elle pousse toujours à l'état sauvage et d'où elle se serait diffusée vers l'est à une époque très ancienne (**Boswell Victor R1949**).

2.2. Description botanique

La betterave rouge est une plante herbacée bisannuelle.

La première année la racine pivotante et la rosette de feuilles se développent. La betterave charnue est pour l'essentiel produite par un épaississement de l'hypocotyle, c'est-à-dire la partie de la tige située sous les cotylédons. Il en résulte que la croissance de la betterave se fait principalement au-dessus du niveau du sol.

Les feuilles forment une rosette insérée directement sur le tubercule. De forme oblongue-ovale, aux bords du limbe ondulés, elles mesurent de 15 à 30 cm de long et sont longuement pétiolées.

La deuxième année, se développe la tige pouvant atteindre 1,5 m de haut et portant l'inflorescence. Les fleurs, hermaphrodites, à symétrie pentamère, de couleur verte ou vert-rougeâtre, sont isolées ou groupées par paires ou en verticilles.

Les semences sont en fait des glomérules qui contiennent une à quatre graines. Il est donc nécessaire de supprimer des plants après la levée (démariage). En général, il faut 55 à 65 jours de la germination à la récolte des racines. (**Grubben, G.J.H2004**).

Nom commun :	Betterave
Règne	Plantae
Classe	Equisetopsida
Sous-classe	Magnoliidae
Super-ordre	Caryophyllanae
Ordre	Caryophyllales
Famille	Amaranthaceae
Genre	Beta
Espèce	Beta vulgaris
Sous-espèce	Beta vulgaris subsp. vulgaris



Figure 4: Beta vulgaris var. la Betterave rouge(2009 par Clémentine Desfemmes)

2.3. Composition chimique

2.3.1. Composés phénoliques

La betterave contient des composés phénoliques, dont les flavonoïdes (**Kujala TS, Vienola MS, et al 2002 Waldron KW, Ng A, et al 1997**) la betterave contiendrait au moins 3 fois plus de composés phénoliques que la chair (**Kujala TS, Loponen JM, et al. 2000 November**). Ses feuilles en sont également très riches. Une étude a démontré que le contenu en composés phénoliques du jus de feuille de betterave fraîche est le plus élevé parmi plusieurs végétaux, dépassant le contenu du jus d'épinard et de brocoli (**Ninfali P, Bacchiocca M 2003 April**).

2.3.2. Lutéine et zéaxanthine

Les feuilles de betterave (cruées ou cuites) contiennent de la lutéine et de la zéaxanthine, deux composés antioxydants de la famille des caroténoïdes (**Ribaya-Mercado JD, Blumberg JB 2004 December**) Ces composés auraient des effets bénéfiques sur certains cancers et sur la santé oculaire. En effet, ils se concentrent particulièrement dans la macula et la rétine (**Bone RA, Landrum JT, et al 1988**) protégeant ainsi l'œil d'un stress oxydatif (**Roberts RL, Green J, Lewis B 2009**) qui pourrait lui causer des dommages.

2.3.3. Minéraux

La feuille de betterave est une source de plusieurs vitamines (A, K, B2, B5 ; B6, C et E) et oligo-éléments (Cu, Fe, Mg, Mn, Ca et K) (**Fichier canadien sur les éléments nutritifs, 2010.**)

2.4. Bienfaits de la betterave rouge

La betterave est une excellente source de folate et une bonne source de manganèse, Sa variété rouge offre de grandes quantités de fer et d'acide folique, elle possède des bienfaits pour la santé.

2.4.1. Cancer

Une étude a démontré que la consommation de bétanine, un des pigments donnant à la betterave sa couleur caractéristique, diminuait l'apparition de cancer de la peau, du foie et du poumon chez l'animal (**Kapadia GJ, Azuine MA, et al 2003 Kapadia GJ, Tokuda H, et al**). De plus, des recherches indiquent que les caroténoïdes des feuilles de betterave pourraient contribuer à prévenir certains cancers, notamment le cancer du sein et le cancer du poumon (**Ribaya-Mercado JD, Blumberg JB 2004**).

2.4.2. Pouvoir anti-oxidant

La betterave est un des légumes ayant le meilleur pouvoir antioxydant (**Stintzing FC 2004**) Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres. Ces derniers sont des molécules très réactives qui seraient impliquées dans l'apparition des maladies cardiovasculaires (**He FJ, Nowson CA, et al 2007**), de certains cancers (**Soerjomataram I, Oomen D, et al 2010**), et d'autres maladies chroniques (**Wojcik M, Burzynska-Pedziwiatr I, Wozniak LA 1998**).

2.4.3. Santé oculaire

Selon plusieurs études, un apport régulier de lutéine et de zéaxanthine, des caroténoïdes contenus dans les feuilles de betterave (**Ribaya-Mercado JD, Blumberg JB 2004**) et de rétinite pigmentaire (**Ma L., Lin X.-M 2010**). Toutefois, des études de plus grande envergure sont nécessaires pour confirmer ces effets (**Ma L., Lin X.-M 2010**).

2.4.4. Performance sportive

Certaines études ont démontré que le jus de betterave, riche en nitrates, aurait des effets bénéfiques sur les performances sportives en diminuant le coût en oxygène lors d'efforts continus (**Peeling P1, Cox GR, Bullock N, Burke LM 2014**) La consommation d'une dose de jus de betterave aurait également des effets bénéfiques sur la performance cardiovasculaire en altitude (**Muggeridge DJ1, Howe CC, Spendiff O, Pedlar C, James PE, Easton C 2014**). D'autres études n'ont démontré aucun effet mais il semblerait que certains sujets répondraient de manière plus marquée à la supplémentation en jus de betterave que d'autres (**Boorsma RK1, Whitfield J, Spriet LL 2014**).

3. Céleri (*Apiumgraveolens* var. *dulce*.)

3.1. Introduction

Le céleri a d'abord été appelé « ache », un mot dérivé du latin *apia*, apparu dans la langue au XIIe siècle. Il signifie « qui croît dans l'eau », il désignait un groupe assez étendu de plantes (dont le persil et la livèche), avant d'adopter le sens restreint de « céleri » (*Fichier canadien sur les éléments nutritifs, 2010*).

3.2. Description botanique

Le **céleri** (*Apium graveolens* L.) ou ache des marais, persil des marais ou encore **cèleri** (en nouvelle orthographe), est une plante herbacée bisannuelle de la famille des Apiacées, cultivée comme plante potagère pour ses feuilles et sa racine tubérisée consommées comme légumes. (Robert Matthews O & A 2010)

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Apium</i>



Figure 5: *Apiumgraveolens* var. *dulce* le celeri (wékipidia)

3.3. Composition chimique

3.3.1. Antioxydants

Le céleri, autant les feuilles que les graines, contient certains types de poly acétylènes en quantités importantes. Auparavant, on croyait que ces composés bioactifs étaient nocifs. des études ont démontré que certains poly acétylènes auraient des effets anti-inflammatoires et antibactériens en plus d'empêcher la multiplication des cellules cancéreuses *in vitro*

(**Christensen LP, Brandt K. 2006**). Le fenouil contient aussi des poly acétylènes. La concentration de ces composés dans le fenouil est toutefois mineure comparativement à celle du persil et du céleri (**Zidorn C, Johrer K, et al 2005**) Les effets que pourraient procurer les poly acétylènes chez l'humain lorsqu'il consomme du fenouil restent à démontrer.

Les graines de céleri contiendraient également de l'apigénine (**Somerset SM, Johannot L 2008**) un antioxydant ayant des effets anti tumoraux. Le céleri fournirait également un apport alimentaire important en lutéine, un antioxydant de la famille des caroténoïdes .

3.3.2. Vitamines principaux

Le céleri est une source de plusieurs vitamines telle que la vitamine K, la vitamine B6 et la vitamine C (**Santé Canada. 2010**)

3.4. Bienfaits du céleri

Plusieurs études épidémiologiques ont démontré qu'une consommation élevée de légumes et de fruits diminuait le risque de maladies cardiovasculaires de certains cancers (**Soerjomataram I, Oomen D, et al 2010**) et d'autres maladies chroniques (**Harding AH, Wareham NJ, et al 2008**). La présence d'antioxydants dans les légumes et les fruits pourrait jouer un rôle dans cette protection contre le cancer.

Certains composés contenus dans le céleri (des poly acétylènes) auraient la capacité d'empêcher in vitro la prolifération de plusieurs types de cellules cancéreuses humaines (**Christensen LP, Brandt K 2006**). Les graines de céleri ont aussi démontré un effet protecteur contre la formation de cellules cancéreuses au niveau du foie chez l'animal (**Sultana S, Ahmed S, Jahangir T, Sharma S 2005**) Puisque ces travaux de recherche ont utilisé des extraits concentrés, il reste à savoir si la consommation de céleri ou des graines à l'état naturel peut apporter le même effet. Une autre étude a démontré que l'apport en lutéine provenant de la consommation de céleri diminuait la probabilité d'apparition du cancer du côlon diagnostiqué avant l'âge 67 ans (**Slattery ML, Benson J, et al 2000**).

4. Radis (*Raphanus sativus*)

4.1. Introduction

Dans la langue populaire du XIXe siècle, le terme « radis » désignait une petite pièce de monnaie, puis il a pris le sens de « petite quantité d'argent ». D'où l'expression « ne plus avoir un radis » qui persiste encore aujourd'hui. Pour les Grecs de l'Antiquité, c'était l'inverse. Ils portaient un tel respect à ce légume que leurs offrandes de radis au dieu Apollon étaient présentées dans des assiettes en or. La betterave et le navet n'avaient droit qu'à l'argent et au plomb (**Santé Canada 2010**).

4.2. Description botanique

Le radis, *Raphanus sativus* (du latin *radix*, *radicis*, « racine, raifort », du grec « rave, navet »), dit « ravanet » en provençal, est une plante potagère bisannuelle, de la famille des Brassicacées, cultivée pour son hypocotyle charnu, consommé cru, comme légume. Le terme désigne aussi le légume.

La partie comestible, une racine pivot à chair blanche, est la partie gonflée, souterraine, de la tige, au-dessus de la racine. La peau du radis peut être de différentes couleurs, dont la plus courante est le rouge. Certaines variétés peuvent être à peau rose, blanche, ou gris-blanc (**Ph. Fr. Na. Fabre d'Églantin**)

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Capparales
Famille	Brassicaceae
Genre	Raphanus



Figure 6: *Raphanus sativus* – (le radis-durcette 2010)

4.3. Composition chimique

4.3.1. Antioxydants

Le radis renferme différents types d'antioxydants, des composés qui protègent les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres et préviendraient le développement de maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies liées au vieillissement (**Willcox JK, Ash SL, Catignani GL 2004**) Le radis rouge contient des anthocyanines, principalement des pelargonidines (**Otsuki T, Matsufuji H, et al 2002**) tandis que le radis blanc renferme du kaempferol ; il s'agit d'un flavonoïde (**Miean KH, Mohamed S 2001**) Les différentes variétés de radis contiennent aussi de la peroxydase, une enzyme antioxydante.

Ces composés ont démontré *in vitro* et chez l'animal des effets prometteurs pour la prévention du cancer (**Wang L, Wei L, et al 2002**) mais d'autres études sont cependant nécessaires pour déterminer si les effets seraient similaires chez l'humain.

4.3.2. Glucosinolates

Comme la majorité des légumes crucifères, le radis renferme des glucosinolates. Les glucosinolates du radis ont la capacité de se transformer en molécules actives (des isothiocyanates) lorsque l'aliment qui en contient est haché, mastiqué ou au contact de la flore bactérienne intestinale. La cuisson des légumes crucifères entraîne cependant une perte de glucosinolates dans l'eau de cuisson.

Le radis noir renfermerait de deux à cinq fois plus de glucosinolates que certaines variétés de radis rouges ou blancs Plusieurs de ces molécules contribueraient à limiter le développement de certains cancers D'autres études doivent cependant être menées afin de vérifier si ces propriétés s'appliquent à l'humain. (**Miean KH, Mohamed S 2001**)

4.3.3. Méthylisogermabullone

Des chercheurs ont identifié un composé présent dans la racine du radis, le méthylisogermabullone, qui aurait la propriété d'accentuer la motilité intestinale chez l'animal (**Jeong SI, Lee S, et al 2005**). Ces travaux pourraient expliquer l'emploi du radis en médecine traditionnelle, pour stimuler le système digestif et favoriser l'élimination intestinale. D'autres études chez l'humain sont cependant nécessaires pour approfondir cette question.

4.4. Bienfaits du radis

Plusieurs études épidémiologiques ont démontré qu'une consommation élevée de légumes et de fruits diminuait le risque de maladies cardiovasculaires (**He FJ, Nowson CA, et**

al. 2007), de certains cancers (**Soerjomataram I, Oomen D, et al 2010**).et d'autres maladies chroniques (**Harding AH, Wareham NJ, et al 2008**)La présence d'antioxydants dans les légumes et les fruits pourrait jouer un rôle dans cette protection.

4.4.1. Cancer

Plusieurs études ont démontré que la consommation régulière de légumes de la famille des crucifères (par exemple le radis, le navet, le chou-rave, le chou, le chou-fleur et le brocoli) pourrait prévenir certains cancers, tels que ceux du poumon, des ovaires et des reins (pour la femme).Des composés actifs contenus dans le radis blanc (les isothiocyanates) ont démontré *in vitro* des propriétés antimutagènes, qui auraient un rôle à jouer dans la prévention du cancer (**Nakamura Y, Iwahashi T, et al. 2001**)Plusieurs antioxydants contenus dans le radis, notamment les anthocyanines et le kaempferol, apporteraient une protection contre le cancer en diminuant la formation de tumeurs chez l'animal et la croissance des cellules cancéreuses *in vitro* .Des chercheurs ont également démontré que les antioxydants du radis noir avaient un effet sur les lipides des cellules intestinales et contribueraient à la prévention du cancer du côlon (**Sipos P, Hagymasi K, et al. 2002**).

4.4.2. Maladies cardiovasculaires

Une consommation quotidienne de légumes crucifères serait associée à une plus faible concentration sanguine d'homocystéine., ce qui diminuerait les risques de maladies cardiovasculaires Une étude chez l'animal a indiqué que des composés issus du radis blanc (les isothiocyanates) diminuaient la croissance de cellules vasculaires, dont le surdéveloppement est associé à certaines maladies cardiovasculaires Certains antioxydants du radis pourraient diminuer le cholestérol, les triglycérides ainsi que le glucose sanguins et protègeraient également contre l'oxydation des lipides sanguins chez l'animal (**Sipos P, Hagymasi K, et al. 2002**).

4.4.3. Système digestif

Plusieurs études chez l'animal ont démontré que la racine et les feuilles de radis contenaient des substances pouvant accentuer la motilité intestinale (**Soerjomataram I, Oomen D, et al 2010**).

4.4.4. Mémoire

Une étude menée chez des femmes âgées a conclut que la consommation de crucifères ralentirait le déclin cognitif(**Harding AH, Wareham NJ, et al 2008**).

Objectif

OBJECTIF

Cette présente étude tend à évaluer les effets préventif et curatif d'un jus constitué d'un mélange de légumes verts à savoir ; carotte, betterave rouge, céleri et radis contre les désordres hématologique et immunologique induits par le benzène (C_6H_6) chez le rat Wistar.

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

1.1. Provenance des légumes

Différents légumes, à savoir la carotte, la betterave rouge, le céleri et le radis ont été achetés au niveau du marché local de la commune de Saida .

1.2. Préparation du mélange de jus de légumes

Un cocktail de jus, sous forme de mélange, a été préparé à partir de légumes frais. Ce mélange de légumes (betterave, carottes, céleri et le radis) à été mieux pressé à l'aide d'un mixer (CLATRONC -STABMIXER). Des quantités différentes de légumes ont été pesées selon les proportions recommandées dans le protocole expérimental de Rudolf Breuss dont les ingrédients sont présentés comme suit, à savoir :

- ✓ 300 g de betterave rouge
- ✓ 100 g de carottes
- ✓ 100 g de céleri (racines)
- ✓ 30 g de radis

Le mélange de légumes a fait l'objet de plusieurs opérations ou étapes expérimentales avant l'obtention du jus concentré.

Les légumes ont subi successivement dans l'ordre suivant :

- ✓ Un rinçage avec de l'eau tiède,
- ✓ Un broyage après avoir été épluché,
- ✓ Une filtration du cocktail à l'aide du papier Wattman



Figure 7 : cocktail de jus concentré

La méthode de préparation de jus concentré est indiquée dans la figure 8 :

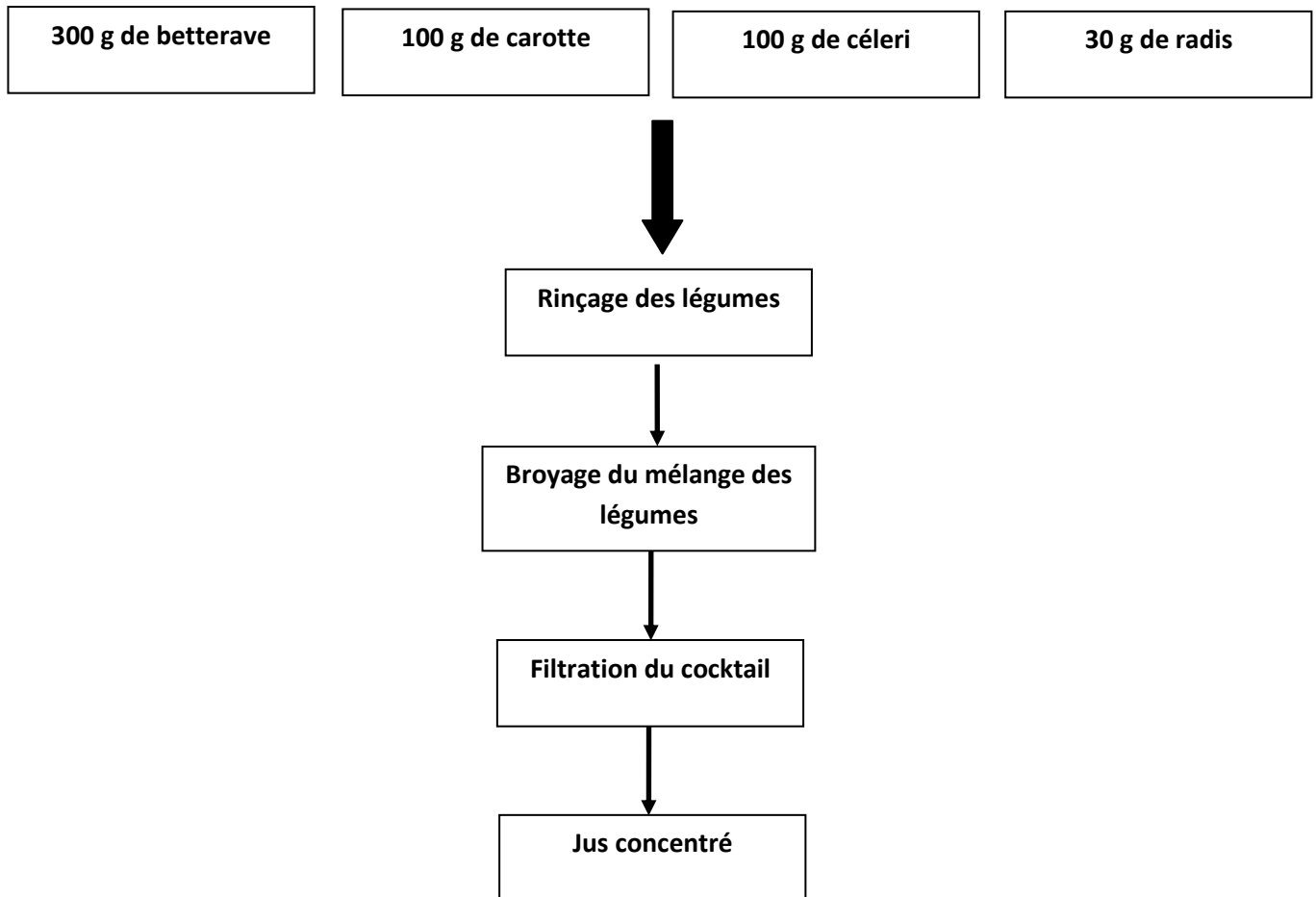


Figure 8 : Préparation du jus concentré de légumes

(<http://www.alternativesante.fr/cancer/la-cure-anti-cancer-rudolph-breuss>)

2. Matériel animal

2.1. Préparation des animaux

L'étude a été réalisée sur des rats adultes males, âgés de deux mois, de souche «Wistar» élevés à l'animalerie du Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Saida.

Leur poids corporel variait entre 90-110 g.

L'élevage était effectué dans une pièce éclairée 12 heures par jour, il s'agissait d'une photopériode de 12h / 24h, et dont la température était maintenue constante (22 à 25 °C). Les 16 rats, utilisés dans cette étude, étaient logés dans des cages plastiques où chaque cage regroupait quatre rats. Ils avaient libre accès à l'eau et à la nourriture. Les animaux ont été traités conformément au principe et directive énoncés dans le manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation (UPHS, 1985).

2.2. Groupes d'animaux

Les animaux ont été séparés en 4 groupes (Gr 1, Gr 2, Gr 3 et Gr 4) de 4 rats chacun :

- **Gr 1:** Les rats constituaient des témoins normaux qui recevaient quotidiennement de l'eau de robinet et une alimentation standard pendant 42 jours.

- **Gr 2:** Les rats constituaient des témoins expérimentaux qui recevaient quotidiennement par voie orale la dose de 0.025 mL de benzène (C₆H₆) véhiculé par 1 mL d'eau de robinet pendant la même période (42 jours).

- **Gr 3:** Les rats recevaient chaque jour par gavage gastrique, en premier lieu, un volume de 2 mL du jus cocktail de légumes (betterave, carottes, céleri et le radis) puis après une heure de digestion, ils recevaient 0.025 mL de benzène véhiculé dans 1 mL d'eau et cela pendant une période de 42 jours.

- **Gr 4:** Les rats recevaient chaque jour par gavage gastrique, en premier lieu, un volume de 0.025 mL de benzène véhiculé dans 1mL d'eau puis ils recevaient cocktail de légumes (betterave, carottes, céleri et le radis) et cela pendant une période de 42jours.

L'ensemble des rats a fait l'objet de pesées quotidiennes. Le gain ou la perte de poids des rats, soumis à l'étude, est la différence entre leur poids corporels final et initial.

2.3.Choix de la dose toxicologique

La dose de benzène, utilisée dans la présente étude, était de 200mg/kg de poids corporel. Cette concentration a été utilisée comme dose pathologique ou toxicologique, au cours de notre expérience sur les modifications morphologiques au niveau des différents tissus exposés à une dose toxique du benzène.

2.4.Administration par voie orale (ou par gavage)

A chaque rat a été administré, par voie orale, 0.025 ml de benzène pour 100 g de son poids corporel, c'est l'équivalent de 880 mg de C₆H₆ (densité = 0.88 kg/L). Cette dose a été véhiculée dans 40 ml d'eau de robinet afin d'éviter les irritations et brûlures au niveau des différentes parties du tube digestif de l'animal et également de détourner la volatilité du benzène car il s'agit d'un solvant organique dont la volatilité peut constituer un facteur de confusion pour cette présente étude et embrouiller nos résultats. Le gavage, réalisé par une sonde en acier inoxydable, était quotidien et avait lieu à la même heure pendant 42 jours. Ces animaux ont fait l'objet d'une surveillance pendant toute la période d'étude.

3.Détermination de la formule et numération sanguines (FNS)

Cette partie expérimentale de notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'analyses biologique et médicale du centre hospitalier Ahmed-Medeghri de la ville de Saida.

3.1.Prélèvement du sang

Le sang a été prélevé, chez les rats, par une ponction oculaire au niveau de sinus à l'aide d'un pipette de pasteur .

Le sang qui s'écoule est directement recueilli dans un tube collecteur. Environ un volume de 0,5 ml de sang a été obtenu en moins d'une minute et jusqu'à 3 ml de sang sur un adulte.

En cas de prélèvements répétés, il est préférable de respecter un intervalle minimum de deux à trois jours ou mieux d'une semaine .

3.2. Etude quantitative des hématies et des leucocytes

Hémogramme ou numération-formule sanguine (NFS) permet d'évaluer la quantité et la qualité des trois lignées sanguines : les hématies ou globules rouges ou encore érythrocytes, les leucocytes ou globules blancs, et les plaquettes. Il permet notamment de mettre en évidence un processus inflammatoire ou infectieux.

La numération de la lignée érythrocytaire fournit des informations sur la capacité de l'organisme à transmettre de l'oxygène aux cellules car, en effet, lors de cet examen, il est possible de calculer le taux d'hémoglobine contenu dans les hématies, cette protéine assurant le transport de l'oxygène dans le sang. Elle fournit également des données complémentaires :

- l'hématocrite, le volume occupé par les globules rouges par rapport au sang total ;
- le volume globulaire moyen (VGM) des hématies ;
- la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), c'est-à-dire la quantité moyenne d'hémoglobine contenue dans une hématie ;
- la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), c'est-à-dire la quantité moyenne d'hémoglobine contenue dans un litre d'hématies.

Enfin, en association à la numération érythrocytaire, il est possible d'évaluer les réticulocytes qui sont des hématies jeunes circulant dans le sang témoignant de la capacité de la moelle à produire des hématies.

Dans la lignée leucocytaire sont retrouvés :

- les polynucléaires ou granulocytes, parmi lesquels se distinguent les polynucléaires neutrophiles, qui jouent un rôle important dans l'immunité et la défense de l'organisme

contre des agents pathogènes, les polynucléaires éosinophiles, dont le nombre peut augmenter en réponse à certaines infections parasitaires ou en cas d'allergie, et les polynucléaires basophiles qui participent à certaines réactions allergiques ;

- les lymphocytes B qui sont responsables de la production d'anticorps et les lymphocytes T qui interviennent dans la sécrétion de cytokines (ils ne sont pas différenciés lors de la NFS) ;
- les monocytes qui permettent la présentation de l'antigène et interviennent dans la phagocytose.

La lignée plaquettaire intervient essentiellement dans la coagulation sanguine.

3.2.1.Principe de mesure

Coulter STKS ® est un automate d'hématologie réalisant la numération des éléments figurés du sang ainsi que la formule leucocytaire.

Le principe est de compter un nombre déterminé de cellules. Si à la fin de la période normale de mesure, le nombre d'impulsions enregistrées est insuffisant, des extensions de comptage sont effectuées.

L'analyse des différents paramètres est réalisée sur trois circuits indépendants (orifice, fluide, électronique) ; les résultats sont comparés en fonction d'une tolérance statistique.

3.2.2.Echantillons

Les échantillons ont été prélevés par système Vacutainer (Becton Dickinson) dans des tubes contenant de l'EDTA tripotassique, puis analysés dans les 4 heures suivantes.

3.2.3. Lignée érythrocytaire

La numération des hématies ainsi que les distributions volumétriques érythrocytaires sont mesurées par impédancemétrie. Le taux d'hémoglobine est obtenu après lyse des globules rouges & partir de la dilution des leucocytes, par spectrométrie d'absorption. Le VGM est mesure : il correspond & la moyenne des volumes érythrocytaires individuels.

3.2.4. Lignée plaquettaire

La numération des plaquettes ainsi que la distribution volumétrique sont obtenues selon le principe de variation d'impédance. La différenciation des populations érythrocytaire et plaquettaire se fait grâce à l'existence de seuils de volumes cellulaires préétablis et donc fixes.

3.2.5. Lignée leucocytaire

La numération des globules blancs est effectuée par impedancemetrie sur une dilution ou les hématies ont été lysées. La détermination des sous populations leucocytaires se fait grâce à une analyse multidimensionnelle des cellules à l'état natif au niveau d'un cymomètre en flux. L'identification des cellules est donnée par les mesures simultanées de trois paramètres :

- le volume cellulaire, par impedancemetrie ;
- la taille et la structure nucléaires, par enregistrement de la conductivité d'un courant électrique de haute fréquence ;
- la granularité cytoplasmique par mesure de la diffraction d'un faisceau laser.

4. Electrophorèse des protéines sériques (EPS)

4.1.Principe de mesure

L'électrophorèse capillaire est réalisée sur Capillarys® (Sebia) avec le kit Capillarys B1-B2+®. C'est une technique de migration en solution libre permettant la séparation de molécules chargées en fonction de leur mobilité électrophorétique propre dans un tampon de pH 9,9 constant et de flux électro-osmotique plus ou moins important.

La détection des protéines est directe sur le capillaire par mesure du spectre à une absorption de 200 nm.

Un appareil d'électrophorèse capillaire a remplacé dorénavant la méthode par électrophorèse sur gel d'agarose.

Cette méthode est considérée comme très performante (surtout sur le plan de la résolution), Rapide et reproductible, offrant en outre l'avantage d'une automatisation complète.

5. Technique d'examen histologique du tissu splénique (ou rate) prélevé

L'examen histologique du tissu splénique prélevé chez les rats ont été effectués au niveau du laboratoire de pathologie de la faculté de médecine vétérinaire de l'université de Tiaret.

5.1. Etude macroscopique

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude des échantillons prélevés. Les différents échantillons sont examinés, mesurés, pesés, palpés puis disséqués. Chaque lésion est repérée sur un schéma et éventuellement photographiée.

L'examen macroscopique des prélèvements donne des indications sur la lésion:

- La taille et la localisation de la partie lésée au niveau du tissu.
- Il permet de sélectionner les territoires à prélever pour l'étude microscopique (Zones lésées).
- Après le choix des prélèvements destinés à l'analyse microscopique, les restes de la pièce analysée sont conservés pendant quelques jours ou semaines afin de pouvoir en cas de nécessité effectuer des prélèvements complémentaires (*Berroukche, 2012*).

5.2. Etude microscopique

La technique de base comporte plusieurs étapes : Fixation, déshydratation, inclusion en paraffine, réalisation des coupes et colorations, observation au microscope optique (*Berroukche, 2012*).

5.2.1. Fixation

Elle est indispensable pour conserver la morphologie cellulaire, elle doit être immédiate après l'obtention de prélèvement. Toute fixation défectueuse rend l'étude histologique difficile voire impossible (désiccation ou autolyse du tissu).

La durée de la fixation dépend de la taille du prélèvement ; entre 2 à 5 heures et 48 heures.

Le fixateur le plus habituellement utilisé est l'alcool formol à 10 %. Des précautions doivent être prises au cours de cette étape de la fixation, comme par exemple ; le volume du fixateur (formol) doit représenter 10 fois le volume de la pièce.

5.2.2. Déshydratation

Elle a lieu dans une série de bains d'alcool éthylique C₂H₅OH à degrés différents (6 bains), puis les prélèvements tissulaires passeront dans des solvants organiques (acétone, xylène) afin d'éliminer l'alcool restant. La durée de la déshydratation est de 16 heures.

5.2.3. Imprégnation et inclusion à la paraffine

On utilise la paraffine comme milieu d'inclusion et d'enrobage. La paraffine, de point de vue chimique, est un mélange d'hydrocarbures saturés et d'un faible pourcentage de cires. L'inclusion est une véritable imprégnation du tissu prélevé à l'échelle cellulaire et non seulement un simple enrobage. Les prélèvements tissulaires, ayant achevé leur fixation dans

le formol et leur déshydratation dans une série de bains d'alcools, seront déposés directement dans des cassettes en plastiques. Puis la paraffine est coulée sur le prélèvement tissulaire en prenant soin d'orienter convenablement le prélèvement. La paraffine imprègne le tissu, et serait laissée refroidir. Une fois la paraffine refroidie, les cassettes marquées et les blocs sont prêts à la coupe.

5.2.4.Réalisation des coupes

L'appareil utilisé est le microtome à paraffine. Il comporte :

- Un support de rasoir.
- Un porte objet où sera inséré le bloc.
- Un système d'avance mécanique permettant le déplacement de l'objet en direction du rasoir.
- Un bouton gradué de 0 à 3 μ réglant l'épaisseur de la coupe.

Le bloc solide de paraffine contenant le tissu est coupé grâce au microtome (épaisseur de la coupe est réglée à 5 μ). Les coupes sont étalées sur des lames en utilisant de la chaleur qui permettra leurs dilutions, puis sont collées par une eau albumineuse chauffée sur les mêmes lames.

5.2.5.Coloration

Avant de procéder à la phase de coloration des coupes, on doit réaliser plusieurs étapes de déparaffinage.

- la 1ere étape consiste à un déparaffinage des lames ou des coupes sur une plaque chauffante.
- la 2eme étape de déparaffinage consiste à faire passer ces coupes dans une solution de xylène.
- la 3eme étape est la dissolution de la paraffine par hydratation qui consiste à éliminer le milieu d'inclusion et la réhydratation des tissus dans 03 bains d'alcools (absolu à 100°, 95°, 75°) de 5 min chacun.
- Rinçage à l'eau pour éliminer l'alcool.

La coloration usuelle associe :

- un colorant basique nucléaire (Hématoxyline).
- un colorant acide cytoplasmique (Eosine, érythrosine, ou phloxine).

La phase de coloration des coupes déparaffinées à l'hématoxyline éosine nécessite le passage de ces coupes dans plusieurs bains d'alcool et de solvants organiques.

5.2.6.Montage des coupes

- la coupe colorée est protégée par une lamelle de verre collée.
- il est nécessaire d'interposer entre la lame et la lamelle un milieu de montage.
- le milieu de montage utilisé est un liquide d'inclusion rapide (Eukite)

- une goutte de cette résine est déposée sur la lamelle puis appliquée.
- après montage des coupes, les lames seront déposées dans une étuve pour un séchage d'une heure.
- les lames seront enfin prêtes à l'observation microscopique et peuvent être conservées indéfiniment.
- Les coupes, colorées à l'hématoxyline éosine, sont examinées aux grossissements $\times 40$, $\times 100$ et $\times 400$.

6. Analyses statistiques

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide du logiciel SIGMAPLOT version 11. Les résultats ont été exprimés par leurs moyennes affectées de leur déviation standard de la moyenne (DS).

La comparaison des différentes variables a été effectuée par la méthode d'analyse des variances (ANOVA) suivie du test Tukey à une différence de significativité des résultats à $p < 0,05$.

Résultats

1. Etude de la variation du poids corporel des rats

La figure 9 montre l'évolution du poids corporel dans les quatre groupes de rats durant la période d'expérimentation (42 jours). Les résultats obtenus sont hautement statistiquement différents ($p < 0,001$).

Les animaux du groupe 2 (exposés au C_6H_6) et du groupe 4 (exposés initialement au C_6H_6 puis traités avec le jus de mélange de légumes verts) ont enregistré une nette augmentation du poids corporel respectivement à partir du 28^e et 11^e jours s'ils sont comparés aux rats témoins du groupe 1.

Par contre les animaux du groupe 3, traités préalablement avec le jus formé du mélange de quatre légumes verts puis exposés au benzène, ont affiché une faible augmentation de poids corporel comparativement aux autres groupes de rats. Les poids corporels moyens des animaux des groupes 1, 2, 3 et 4 étaient respectivement de $(144,79 \pm 13,39 \text{ g})$, $(141,69 \pm 20,82 \text{ g})$, $(129,53 \pm 23,62 \text{ g})$ et $(161,13 \pm 29,3 \text{ g})$.

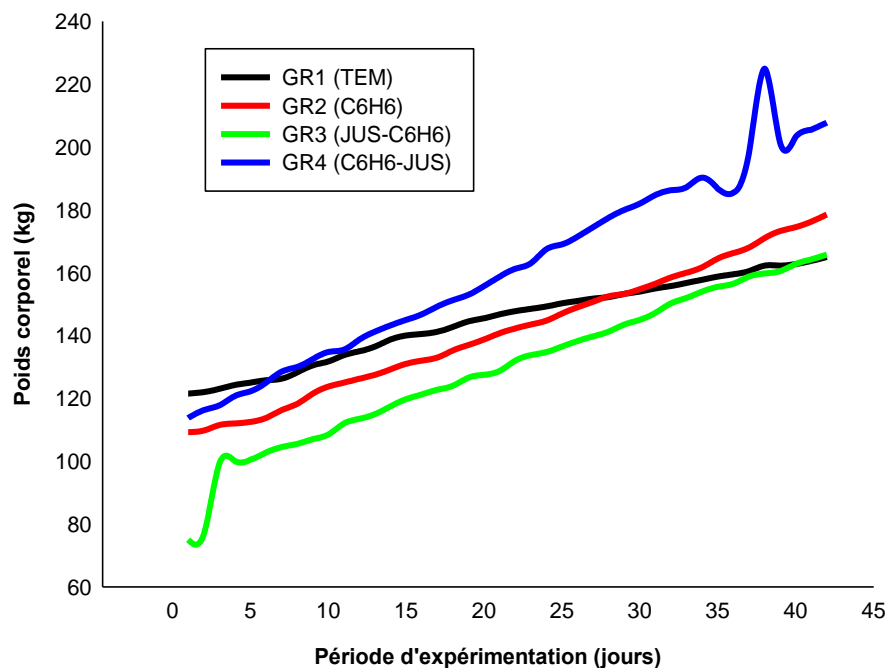


Figure 9: Variation du poids corporel chez les différents groupes de rats.

2. Etude de la formule de numération sanguine (FNS)

2.1. Détermination du nombre de globules rouges (/ volume)

La figure 10 montre la variation du taux de globules rouges durant la période d'expérimentation (42 jours). Les résultats sont statistiquement différents ($p = 0,017$) entre les quatre groupes de rats. Les rats du groupe 2, exposés au benzène (C_6H_6) à la dose de 200mg/kg de poids corporel, ont présenté une diminution significative du taux de globules rouges dont le taux moyen des GR par volume sanguin (mm^3) était relativement faible et il était d'une valeur de $37,77 \pm 11 \cdot 10^5$. Alors que le traitement des rats du groupe 3 avec le jus de mélange de légumes verts (carottes, betterave rouge, céleri et radis), puis exposés au benzène, a permis d'empêcher la diminution du taux des GR et présentant un taux moyen de GR plus ou moins élevé ($50,85 \pm 8 \cdot 10^5 / \text{mm}^3$). Les animaux du groupe 4, exposés initialement à la même dose de benzène puis traités avec le jus de légumes verts, ont enregistré une réduction plus ou moins intéressante du taux des GR s'ils sont comparés aux autres groupes 1 et 3.

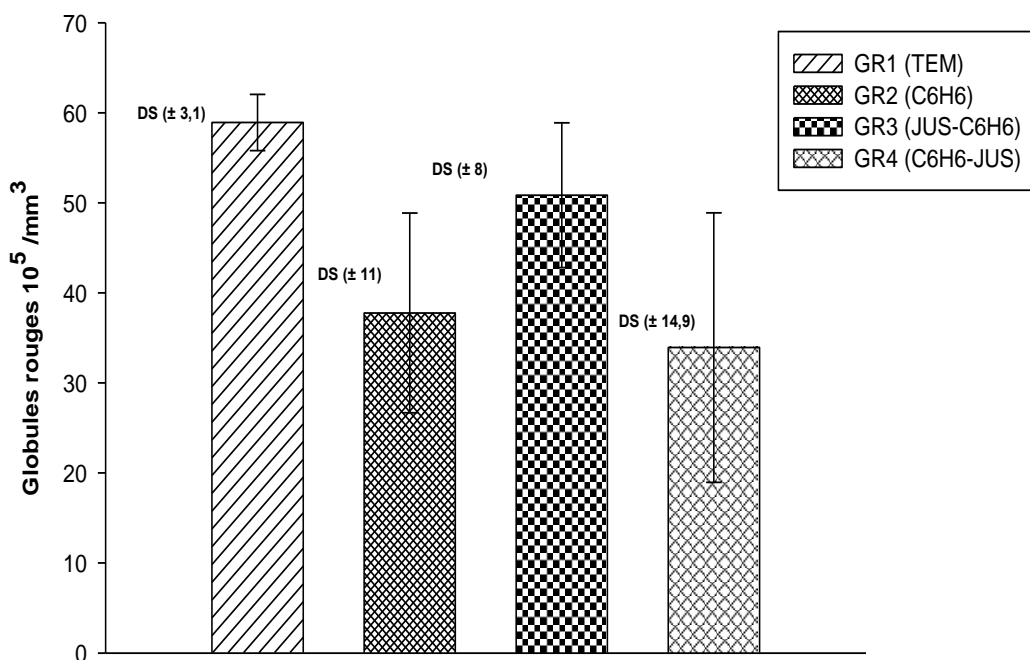


Figure 10: Variation du taux de globules rouges, selon la méthode de FNS, chez les différents groupes de rats.

2.2.Détermination du nombre de globules blancs (/ volume)

La figure 11 montre la variation du taux de globules blancs durant la période d'expérimentation (42 jours). Les résultats sont hautement statistiquement différents ($p = 0,003$) entre les quatre groupes de rats. Les rats du groupe 2, exposés au benzène (C_6H_6) à la dose de 200mg/kg, ont présenté une diminution significative du taux de globules blancs dont le taux moyen des GB par volume sanguin (mm^3) était relativement faible et il était d'une valeur de $33,25 \pm 15,7 \cdot 10^2$. Alors que le traitement des rats du groupe 3 avec le jus de mélange de légumes verts (carottes, betterave rouge, céleri et radis), puis exposés au benzène, a permis de ralentir la diminution du taux des GB et présentant un taux moyen de GB plus ou moins élevé ($36,5 \pm 9,9 \cdot 10^2 / mm^3$). Les animaux du groupe 4, exposés initialement à la même dose de benzène puis traités avec le jus de légumes verts, ont enregistré une réduction plus ou moins importante du GB s'ils sont comparés aux autres groupes 1 et 3.

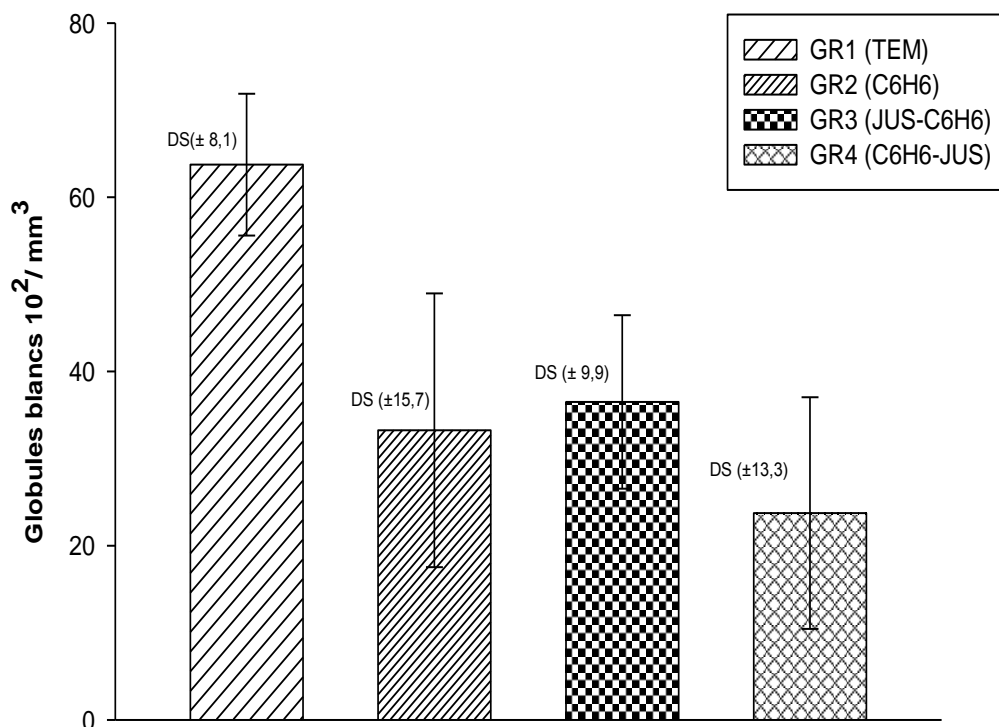


Figure 11 : Variation du taux de globules blancs, selon la méthode de FNS, chez les différents groupes de rats.

2.3.Détermination de l'hématocrite (en %)

La figure 12 montre la variation de l'hématocrite durant la période d'expérimentation (42 jours). Les résultats sont hautement statistiquement différents ($p = 0,005$) entre les quatre groupes de rats. Les rats du groupe 2, exposés au benzène (C_6H_6) à la dose de 200mg/kg, ont présenté une diminution significative du taux de l'hématocrite dont la valeur moyenne était relativement faible et elle était d'une valeur de $22,92 \pm 3,55$ %. Alors que le traitement des rats du groupe 3 avec le jus de mélange de légumes verts (carottes, betterave rouge, céleri et radis), puis exposés au benzène, a permis la restauration d'une hématocrite se rapprochant de la normale présentant une proportion moyenne plus ou moins élevée ($30,52 \pm 4,4$ %). Les animaux du groupe 4, exposés initialement à la même dose de benzène puis traités avec le jus de légumes verts, ont enregistré une réduction de l'hématocrite identique à celle des rats du groupe 2 s'ils sont comparés aux autres groupes 1 et 3.

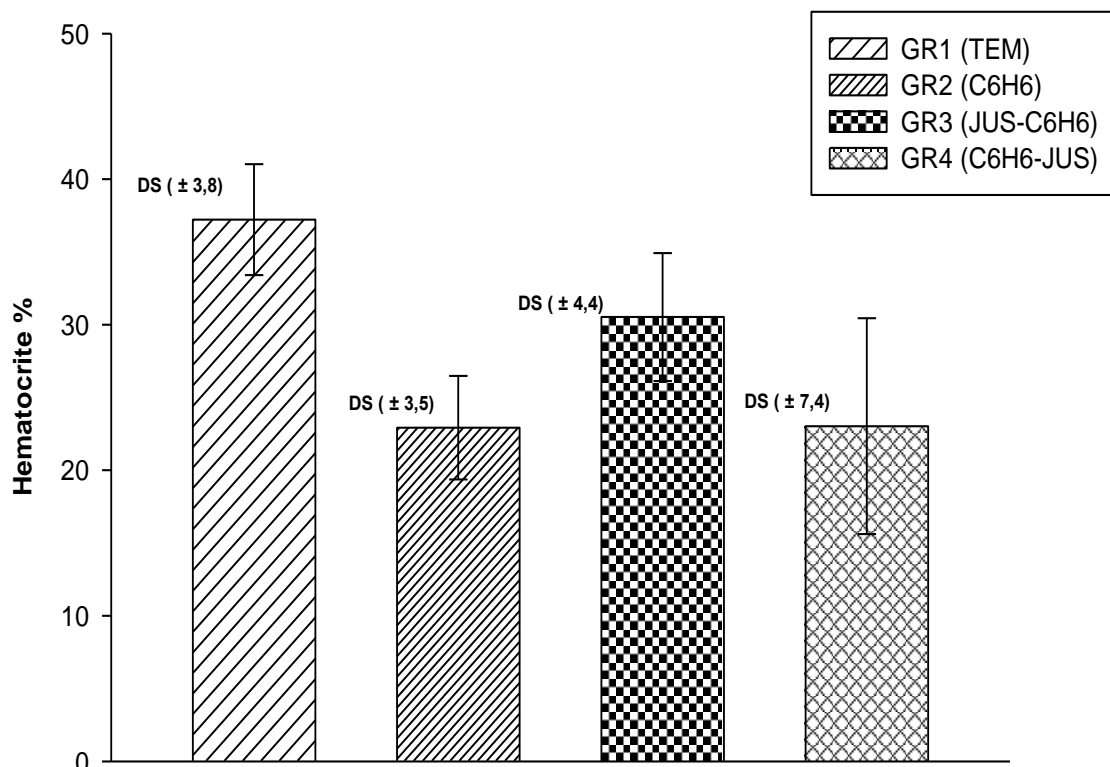


Figure12 : Variation de l'hématocrite, selon la méthode de FNS, chez les différents groupes de rats.

2.4. Détermination de la concentration d'hémoglobine (g / dL)

La figure13 montre la variation du taux de l'hémoglobine durant la période d'expérimentation (42 jours). La différence statistique des résultats était extrêmement hautement significative ($p = 0,005$) entre les quatre groupes de rats. Les rats du groupe 2, exposés au benzène (C_6H_6) à la dose de 200mg/kg, ont présenté une diminution significative de la concentration d'hémoglobine dont la valeur moyenne était relativement faible et elle était d'une valeur de $7,95 \pm 1,1$ g/dL. Alors que le traitement des rats du groupe 3 avec le jus de mélange de légumes verts (carottes, betterave rouge, céleri et radis), puis exposés au benzène, a permis la préservation du taux de l'hémoglobine avoisinant la valeur seuil normale et présentant une proportion moyenne plus ou moins élevée ($11,37 \pm 1,16$ g/dL). Les animaux du groupe 4, exposés initialement à la même dose de benzène puis traités avec le jus de légumes verts, ont enregistré une réduction du taux d'hémoglobine ($9,32 \pm 1,52$ g/dL) s'ils sont comparés aux autres groupes 1 et 3.

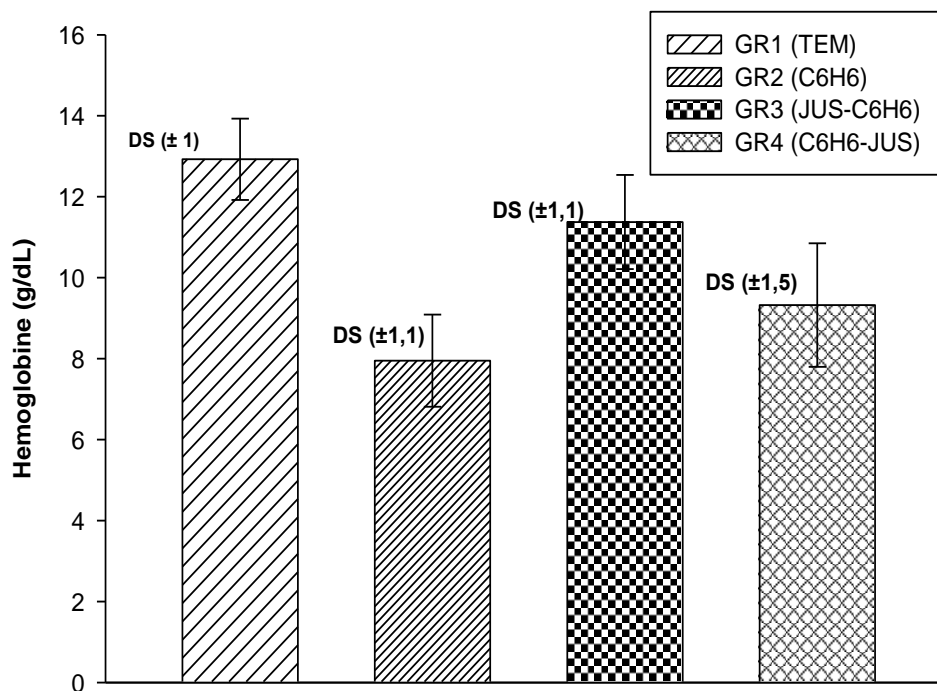


Figure13: Variation du taux d'hémoglobine, selon la méthode de FNS, chez les différents groupes de rats.

2.5. Détermination du taux des granulocytes (en %)

La figure14 .montre l'évolution du taux de granulocytes durant la période d'expérimentation (42 jours). Aucune différence significative n'a été observée ($p = 0,99$) entre les quatre groupes de rats. Le taux de granulocytes était pratiquement similaire chez tous les animaux. L'exposition au benzène, à la dose se 200mg/kg , n'a pas eu un effet toxique réel sur le taux des granulocytes même s'il a été observé une légère élévation de l'ordre $14,95 \pm 16,54$ %. Le traitement des rats du groupe 3 avec le jus du mélange de légumes verts a eu un effet protecteur modéré mais non significatif, le taux de granulocytes a chuté à peine et atteignant la valeur de $12,95 \pm 4,64$ %.

Les animaux du groupe 4, exposés initialement à la même dose de benzène puis traités avec le jus de légumes verts, ont présenté une légère augmentation du taux de granulocytes ($14,82 \pm 8,8$ %) s'ils sont comparés aux autres groupes de rats.

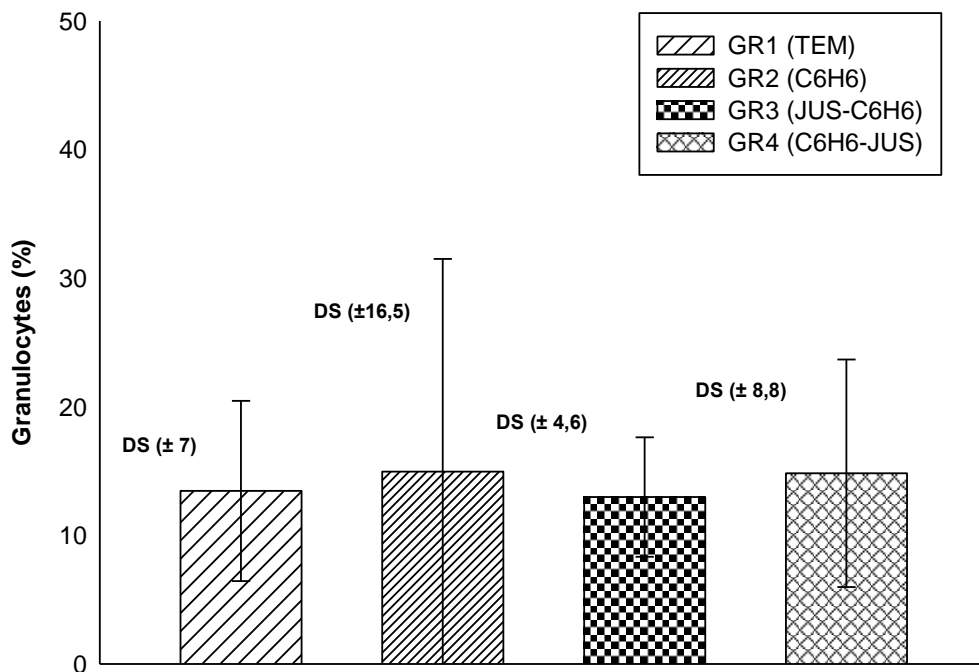


Figure14 : Variation du taux de granulocytes, selon la méthode de FNS, chez les différents groupes de rats.

2.6.Détermination du nombre de plaquettes (/ volume)

La figure15 montre l'évolution du nombre de plaquettes durant la période d'expérimentation (42 jours). Aucune différence significative n'a été observée ($p = 0,34$) entre les quatre groupes de rats. Le taux de plaquettes était moins élevé chez les rats du groupe 2, exposés au benzène, s'ils sont comparés aux rats témoins. Le taux moyen de plaquettes enregistré était d'une valeur de $33,5 \pm 7,2 / \text{mm}^3$. L'effet toxique du benzène sur le nombre de plaquettes n'était pas important. Alors que le traitement des rats du groupe 3 avec le jus du mélange de légumes verts, avant d'être exposés au benzène, a induit une nette augmentation du taux de plaquettes présentant ainsi une valeur moyenne de $47,7 \pm 24,9 / \text{mm}^3$.

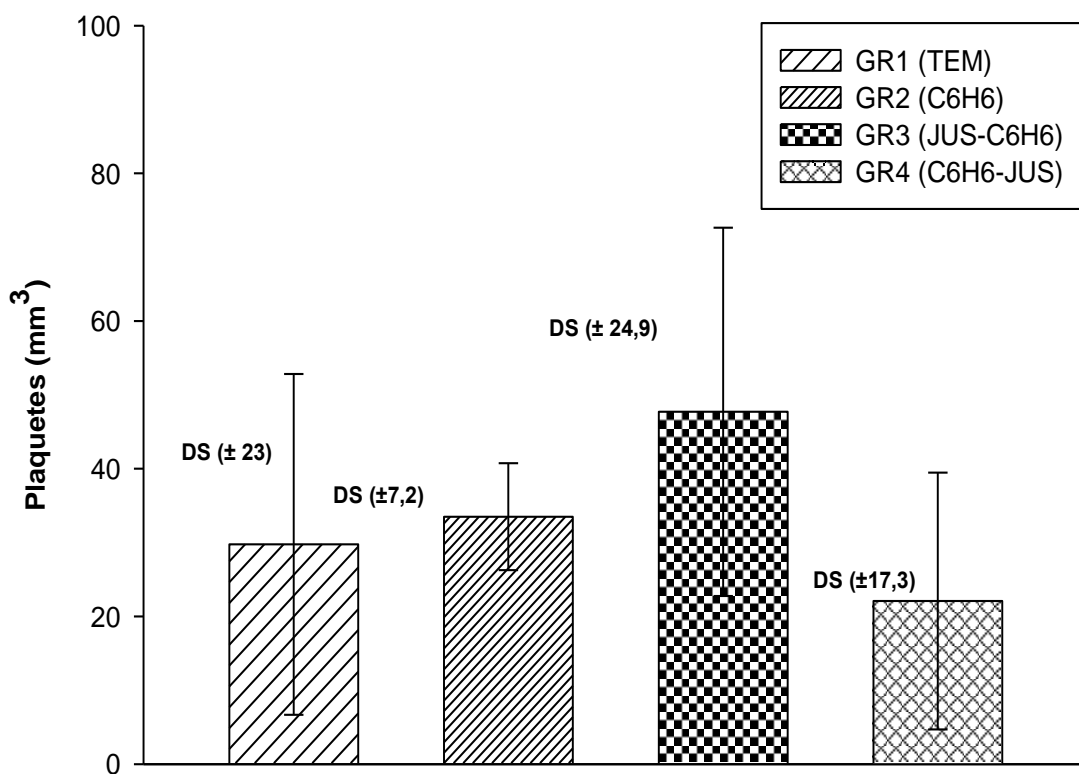


Figure15 : Variation du nombre de plaquette selon la méthode de FNS, chez les différents groupes de rats.

2.7.Détermination du taux de lymphocytes (en %)

La figure16 .montre l'évolution du taux de lymphocytes durant la période d'expérimentation (42 jours). Aucune différence significative n'a été observée ($p = 0,82$) entre les quatre groupes de rats. Les taux de lymphocytes étaient pratiquement identiques chez l'ensemble des animaux. Le benzène n'a pas eu un grand impact négatif sur le nombre des cellules immunitaires comparativement avec les rats témoins.

Le nombre moyen des lymphocytes enregistré était de l'ordre de $81 \pm 9,6$ %.

Le traitement des rats du groupe 3 avec le jus du mélange de légumes verts, avant d'être exposés au benzène, n'a pas exercé une grande influence sur le nombre de lymphocytes. Le nombre moyen des lymphocytes chez ces animaux était presque similaire à ceux des autres groupes ainsi il a été noté une valeur moyenne de $81,62 \pm 6,12$ %.

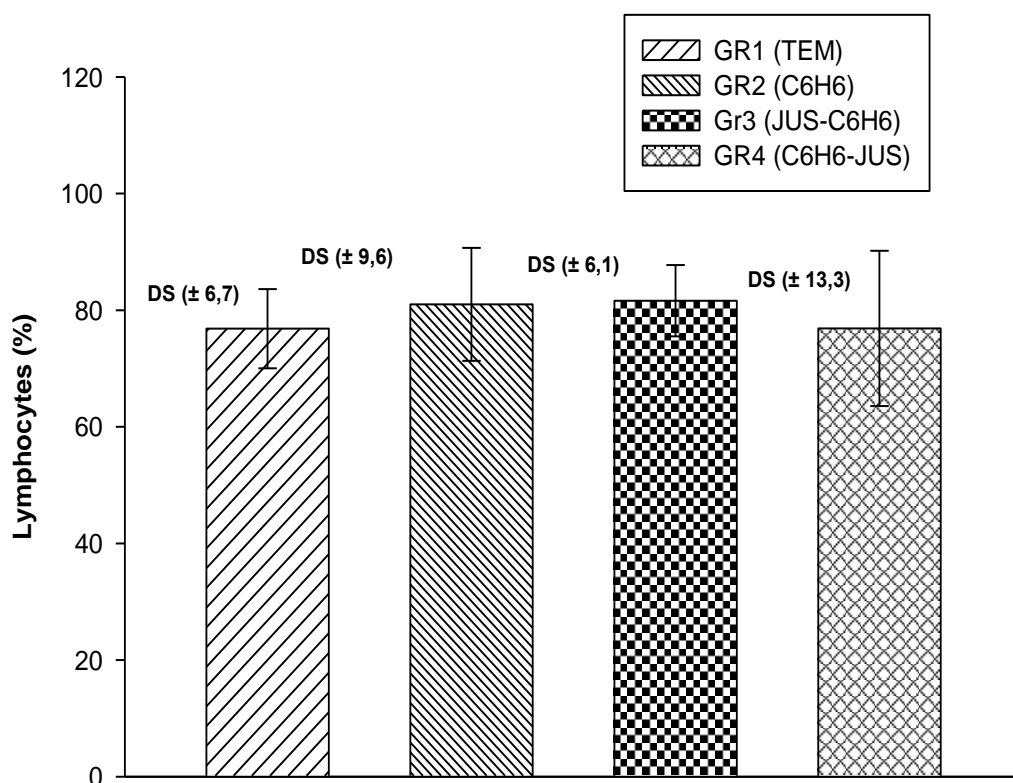


Figure16 : Variation du nombre de lymphocytes, selon la méthode de FNS, chez les différents groupes de rats.

3. Etude de l'électrophorèse des protéines sériques (EPS)

Selon les figures 17 les différents profils électrophorétiques des protéines sériques (ou EPS) ont révélé une variation des concentrations sériques des immunoglobulines IgA et IgG représentés généralement, sur l'EPS, par les aires α_2 , β_1 , β_2 et δ .

Le profil électrophorétique des protéines sériques, réalisé chez les rats du groupe 2 exposés au benzène, a permis de constater l'augmentation de la zone graphique représentée par les aires α_2 , β_1 , β_2 et δ correspondant aux différents anticorps IgG et IgA responsable de l'immunité humorale.

Le benzène, solvant organique toxique, a entraîné une élévation des concentrations sériques des immunoglobulines, notamment les Ig G avec une concentration sanguine de 19,8 g/L ou une fraction de 28,2 % de l'ensemble des protides totaux (68 g/L) qui eux même ont chuté par rapport aux protides totaux des rats témoins (75 g/L) à cause des effets toxicologiques du benzène.

Par contre le profil électrophorétique des protéines sériques, réalisé chez les rats du groupe 3 traités avec le jus du mélange de légumes verts avant d'être exposés au benzène, a affiché une nette réduction de la zone graphique représentée par représentée par les aires α_2 , β_1 , β_2 et δ .

Le jus préparé à partir d'un mélange de légumes verts à savoir ; la carotte, la betterave rouge, le céleri et le radis a entraîné une faible réponse du système immunitaire d'où les faibles taux sériques des immunoglobulines IgG et IgA secrétés.

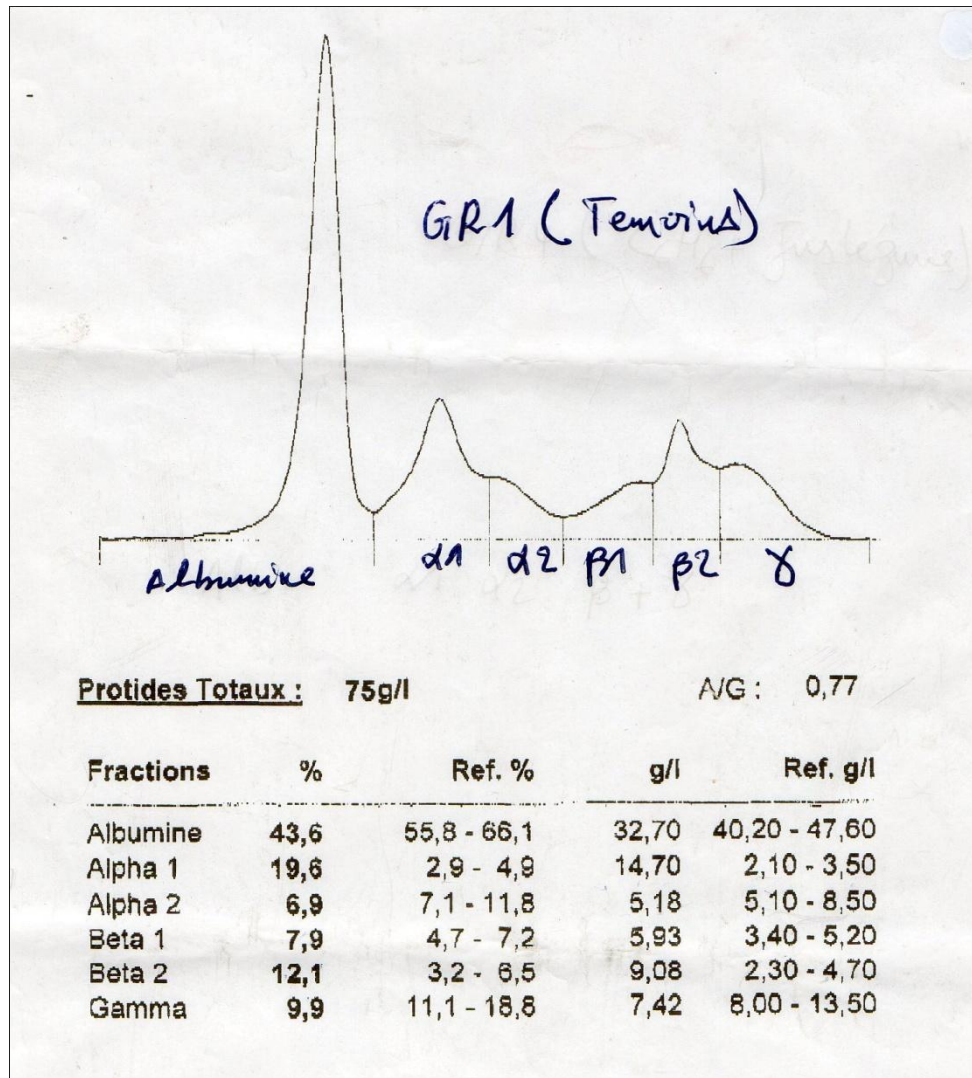


Figure17 : Profile électrophorétique des protéines sériques (EPS) du groupe des rats témoins.

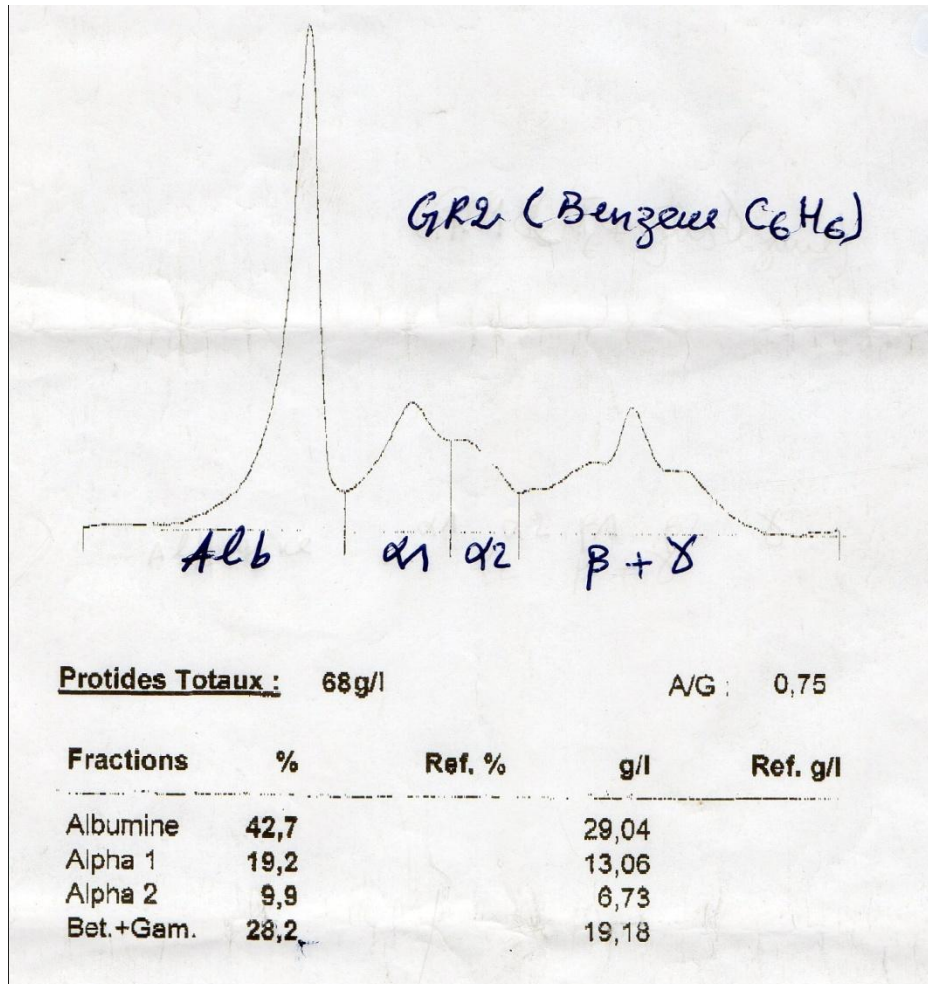


Figure 18 : Profile électrophorétique des protéines sériques (EPS) du groupe des rats exposés au benzène.

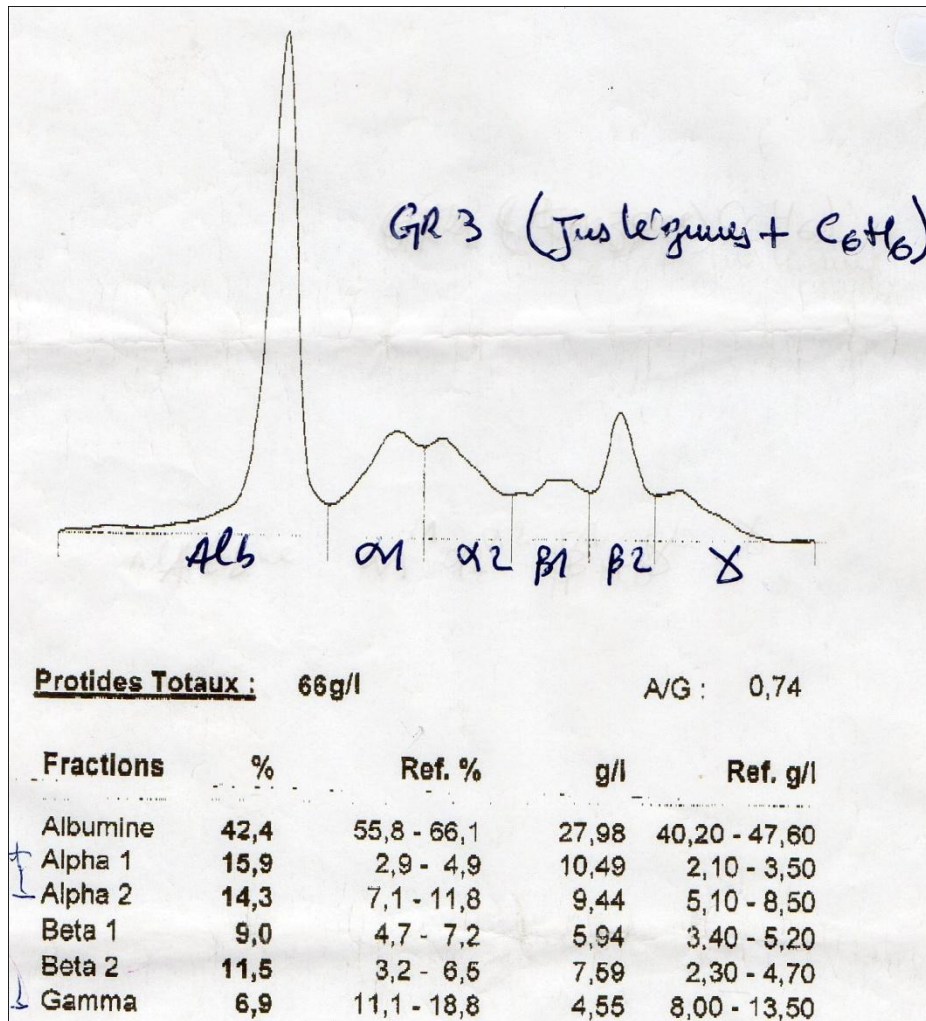


Figure 19: Profile électrophorétique des protéines sériques (EPS) du groupe des rats traités avec le cocktail de jus de légumes (carotte, betterave rouge, céleri et radis) puis exposés au benzène.

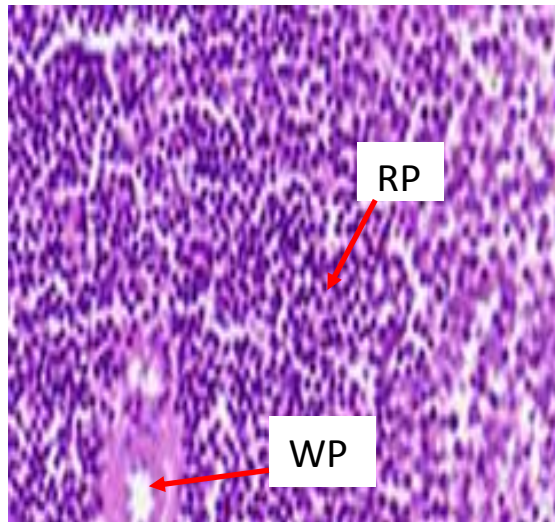
4-Résultats des examens histologiques du tissu splénique (ou la rate)

Les examens histologiques du tissu splénique ou la rate ont révélé d'importantes altérations tissulaires et cellulaires chez les rats auxquels a été administré le benzène à la dose toxicologique de 200mg/kg de poids corporel.

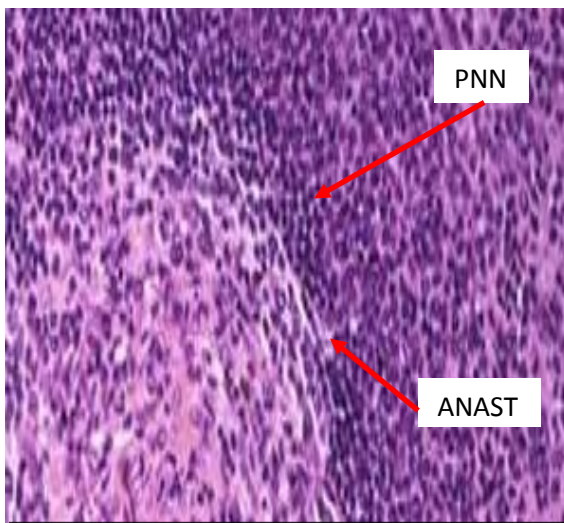
Des expansions cellulaires des pulpes rouge et blanche ont été observées chez les rats du groupe 2 (exposés au C₆H₆) (**figure B**).

Il a été également observé des congestions vasculaires proéminentes d'où l'apparition des anastomoses au niveau des marges séparant les pulpes rouges des pulpes blanches et des accumulations de nombreuses cellules immunitaires (ou des polynucléaires neutrophiles) au niveau des pulpes rouges (**figure....B**) comparativement au tissu splénique des rats témoins dont l'histologie de leur rate n'a montré aucun signe de nécrose ou de lésion cellulaire (**figureA**).

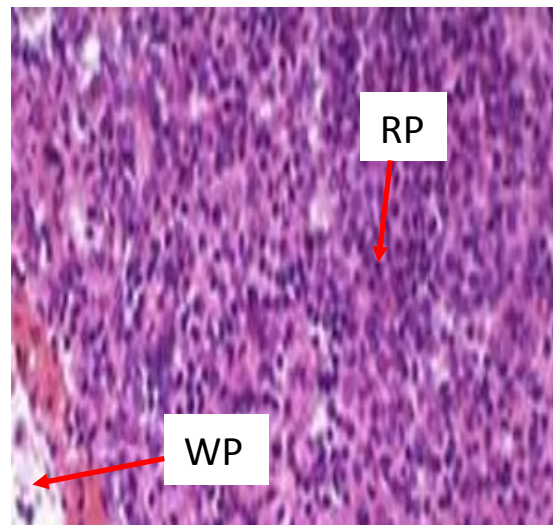
Chez les animaux, traités préalablement avec le jus de légumes verts (carottes, betterave rouge, céleri et radis) puis exposés au C₆H₆, le tissu splénique paraissait d'une architecture tissulaire normale avec des pulpes rouge et blanche bien limitées. Aucune congestion vasculaire ni accumulation des PNN n'ont été observées (**figure....C**).



(A)-Coupe histologique de la rate normale. Pulpes rouges (RP) occupant une grande zone et les pulpes blanches (WP) localisés dans de petites zones. (HE × 40).



(B)-Coupe histologique de la rate des animaux exposés au benzène (C6H6) à la dose 200mg/kg. Expansion des zones de pulpes blanches associées à des anastomoses (ANAST) au niveau des marges de la zone de pulpe blanche. Forte présence de polynucléaires neutrophiles (PNN) au niveau de la pulpe rouge (HE × 40).



(C)-Coupe histologique de la rate des animaux traités avec 2 ml de jus de mélange de légumes / jour et exposés C6H6 à la dose 200mg/kg. Faible présence des polynucléaires neutrophiles au niveau du pulpe rouge et absence d'expansion de la zone de la pulpe blanche (HE × 40).

Figure 21: Histologie du tissu splénique (ou la rate) du rat Wistar exposé au C6H6 et traités avec le jus d'un mélange de légumes verts (carottes, betterave rouge, céleri et radis).

Discussion

La vie humaine est exposée à un large éventail de produits chimiques organiques volatiles parmi lesquels le benzène connu pour ses effets néfastes sur la santé (**Karakitsios et al., 2007**). Le benzène peut être libéré dans notre environnement par les effluents industriels, la combustion des carburants (Diesel et essences), l'usage de produits pétrochimiques et même la fumée de la cigarette qui constitue la principale source interne d'exposition au benzène (**Bahadar et al., 2014**). L'exposition de l'homme au benzène est inévitable et les effets néfastes associés aux expositions chronique et aigue restent un sujet de préoccupation majeure pour la santé publique (**Snyder, 2012**).

L'homme est souvent exposé aux vapeurs de benzène par voie d'inhalation au sein de son lieu de travail et aussi par voie orale en consommant des aliments transformés comme le poisson fumé ou en conserve (**Medeiros Vinci et al., 2012**). Approximativement, une quantité de 10 kg / tonne de benzène sont libérées dans l'environnement au cours des opérations de production, de transport et de stockage de cette substance chimique (**Bahadar et al., 2014**).

Le benzène est longtemps considéré comme un agent cancérigène pour les cellules sanguines. Le premier cas « benzène associé au lymphome » a été révélé par une étude française en 1947 (**Bahadar et al., 2014**). Selon certaines études récentes, une exposition par inhalation à des vapeurs de benzène à la dose de 3.19 mg/m^3 a induit des effets hématologiques chez l'homme (**Lan et al., 2004**).

Dans des études chinoise, italienne et turque, il a été rapporté que des expositions à des doses de benzène allant de 638,8 à $5110,8 \text{ mg/m}^3$ en milieu professionnel ont causé des leucémies myéloïdes aiguës tant chez l'adulte que l'enfant (**McHale et al., 2012**).

Des études expérimentales chez la souris ont montré que le système hématopoïétique est l'organe cible des effets du benzène. Les expositions répétées induisent des altérations dès les concentrations de 10 ppm (32 mg/m^3) par inhalation (**Baarson et al., 1984**) ou de 25 mg/kg de poids corporel /j par voie orale (**Cronkite et al., 1985**).

Dans des études par expositions réitérées chez le rat, le benzène induit des lymphocytopenies (**Baarson et al., 1984**), des leucopénies (**Aoyama, 1986**) pour une exposition de 14 jours à 50 ppm, des anémies de type macrocytaire et hypochrome (**Hsieh et al., 1988**), une diminution des cellules souches de la moelle (**Farris et al., 1997**). Le benzène est un déprimeur de l'immunité cellulaire et humorale chez la souris dès l'exposition à 10 ppm (32 mg/m^3) 6 heures par jour, pendant 6 jours. Les mêmes constatations sont faites pour des administrations de 40 mg/kg de poids corporel/jour pendant 4 semaines (**Hsieh et al., 1988**).

Dans certains cas, des stimulations de la réponse immunitaire sont rapportées pour des expositions par voie orale à une dose de benzène de 8 mg /kg de poids corporel pendant 4 semaines chez la souris (**Hsieh et al., 1988**). Une exposition courte à de fortes doses de benzène par voie orale (800 mg/kg de poids corporel pendant 3 jours) induit une activation non spécifique de la réponse immunitaire de la moelle osseuse (**Laskin et Snyder, 1989**).

Dans cette présente étude, la lecture et l'analyse de la formule et numération sanguines (FNS) chez les différents groupes de rats a permis de constater que le benzène, substance chimique toxique, a induit une diminution du nombre de globules rouges, de polynucléaires et du taux d'hémoglobine alors qu'une augmentation sérique des plaquettes et des lymphocytes a été observée chez ces mêmes rongeurs qui étaient exposés pendant plus de 40 jours au benzène.

Les réductions du nombre de globules rouges et du taux d'hémoglobine, chez les rats exposés au benzène, peuvent avancer l'hypothèse de l'installation d'une anémie, voire une attaque de la moelle osseuse due à une forte dose du benzène (5,86 g / kg de poids corporel).

Dans cette étude, les profils électrophorétiques des protéines sériques (ou EPS ; électrophorèse des protéines sériques) réalisés chez l'ensemble des rats a permis aussi de suggérer que le benzène, solvant organique toxique, a entraîné une élévation des concentrations sériques des immunoglobulines, notamment les Ig G avec une concentration sanguine de 19,8 g /L ou une fraction de 28,2 % de l'ensemble des protéides totaux (68 g/L) qui eux même ont chuté par rapport aux protéides totaux des rats témoins (75 g/L) à cause des effets toxicologiques du benzène.

L'élévation des taux sériques des immunoglobulines (Ig A et Ig G), en cas de toxicité par le benzène, peut trouver son explication dans la réponse du système immunitaire de l'animal contre les cellules nécrosées et lésées de différents tissus cibles tels que la rate, le foie et l'estomac.

Les résultats de cette présente étude suggèrent l'effet protecteur du jus préparé à partir d'un mélange de légumes à savoir, les carottes, la betterave rouge, le céleri et le radis contre la toxicité induite par le benzène chez le rat Wistar.

L'analyse de la formule de numération sanguine (FNS), chez les rats traités par le jus formé du mélange de légumes, indique la restauration des valeurs normales du nombre de globules rouges et blancs ainsi que le taux d'hémoglobine. Les pourcentages de ces paramètres ont augmenté pour atteindre les proportions normales. Concernant les proportions des lymphocytes et des plaquettes, il a été noté une stabilité des pourcentages de ces variables.

Ces résultats montrent bel et bien l'effet préventif de jus formé du mélange de différents légumes verts envers la toxicité chronique du benzène induite chez le rat Wistar.

Le profil électrophorétique des protéines sériques, chez les rats intoxiqués par le benzène et traités par le jus de légume (groupe 3), montre une diminution des taux sériques des immunoglobulines, notamment les Ig G dont la concentration est de 4,55 g / L, soit une fraction de 6,9 % des protides totaux (66 g / L).

L'un des principales fonctions du tissu splénique (ou la rate) est d'éliminer les érythrocytes ou globules rouges endommagés (ou morts). L'entassement des érythrocytes endommagés dans la rate y permettra la formation de dépôts de protéines contenant du fer, tels que hémossidérine et de la ferritine

La présence de ces metallo-protéines est un signe de toxicité du benzène qui est responsable de l'apparition des lésions et des dégénérescence au niveau du tissu splénique (**Khan et al., 1995**).

Cette présente étude suggère d'importantes altérations histologiques dans la rate, à savoir l'expansion de la pulpe blanche, la congestion vasculaire au niveau des marges séparant les pulpes rouge et blanche et la prédominance des polynucléaires neutrophiles au sein de la pulpe rouge.

Ces résultats histologiques semblent être similaires à ceux obtenus par l'effet du benzène sur le tissu splénique dans d'autres études menées par Khan et al., en 1995.

Les plantes médicinales ont été utilisées pendant des siècles comme remèdes contre les maladies humaines car elles renferment des composants de valeur thérapeutique (**Premkumar et al., 2011 ; Jeeva et al., 2007 ; Kingstone et al., 2009 ; Anpin et al., 2010**).

Le jus de ces légumes est très riche en composants ayant des activités biologiques cruciales telles que les activités antibactérienne, anti inflammatoire, hypolipidemiante, anti oxydante, antitumorale et immuno modulatrice de la cytotoxicité (**Hossain et al., 2012**).

Dans la littérature, plusieurs travaux de recherche indiquaient une grande variété d'activités pharmacologiques dues essentiellement aux molécules bioactives extraites des huiles essentielles de ces plantes. Parmi ces composants, on peut citer les sesqui terpenoïdes comme le xanthorrhizol qui a montré un effet potentiel antibactérien (**Rukayadi et al., 2006**).

Conclusion

Conclusion

En se basant sur le mécanisme de la toxicité du benzène, il est raisonnable de dire que cette substance chimique peut être l'un des principaux facteurs de risque responsable de l'incidence des maladies chroniques telles que le diabète, les cancers de poumons, du sein et la leucémie dans les pays développés.

L'exposition chronique au benzène constitue, à nos jours, un sujet de réflexion et de préoccupation tant pour les populations que pour la communauté scientifique.

Cette présente étude, rejoignant les précédents travaux, montre que les divers composés phytochimiques présents dans les différentes espèces de légumes verts, incluant le curcuma, ont une potentielle activité anti oxydante ou un effet protecteur contre la toxicité du benzène.

En outre d'autres activités intéressantes, le jus formé à partir d'un mélange de différents légumes verts a montré un effet préventif envers la toxicité du benzène dans cette étude.

Dans le même sillage, cette étude pourrait révéler l'existence d'autres molécules bioactives à intérêt pharmacologique.

Leur identification et isolement nécessitent des méthodes et des techniques d'analyse ultramodernes telles que la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

Les résultats de cette étude sont préliminaires et encourageant qui méritent une confirmation et une continuation afin d'élucider tous les agents anti oxydants, antimicrobiens et anti tumoraux.

Référence Bibliographique

A

ACGIH. (2001): American Conference of Governmental Industrial Hygienists, *Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices / Documentation of TLV's and BEI's*. 7th ed. Cincinnati, Ohio

ATSDR. (2007) : Agency for Toxic Substances and Disease Registry, *Toxicological profile for benzene*. Atlanta.

Abbey M, Noakes M, Nestel PJ 1995 : Dietary supplementation with orange and carrot juice in cigarette smokers lowers oxidation products in copper-oxidized low-density lipoproteins. *J Am Diet Assoc.*;95:671-675.

Aoyama K. Effects of benzene inhalation on lymphocyte subpopulations and immune response in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986; 85 (1) 92-101.

-Anpin Raja RD, Prakash JW, Jeeva S. Antibacterial activity of some medicinal plants used by Kani tribe, southern Western Ghats, Tamilnadu, India. In: Trivedi PC, Editor. *Ethnic Tribes and Medicinal Plants*, Pointer Publishers, Jaipur; 2010: 28-45.

Anand P, Thomas SG, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Sung B et al. Biological activities of curcumin and its analogues (congeners) made by man and mother nature. *Biochemical Pharmacology* 2008; 76(11): 1590-1611.

Anpin Raja RD, Prakash JW, Jeeva S. Antibacterial activity of some medicinal plants used by Kani tribe, southern Western Ghats, Tamilnadu, India. In: Trivedi PC, Editor. *Ethnic Tribes and Medicinal Plants*, Pointer Publishers, Jaipur; 2010: 28-45.

Anand P, Thomas SG, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Sung B et al. Biological activities of curcumin and its analogues (congeners) made by man and mother nature. *Biochemical Pharmacology* 2008; 76(11): 1590-1611.

B

BERROUKCHE, Abdelkrim. Facteurs de risque de développement des tumeurs prostatiques : Etude épidémiologique et pronostic par suivi biologique du marqueur PSA (Prostate Specific Antigen). 2012. 272 p. Thèse pour obtenir le grade de docteur, Biologie, Université Moulay Tahar-Saida, Algérie, 2012.

-Bub A, Watzl B : Abrahamse L *et al.* 2000 Moderate intervention with carotenoid-rich vegetable products reduces lipid peroxidation in men. *J Nutr.*;130:2200-2206.

Brown L, Rimm EB, Seddon JM et al. 1999 : A prospective study of carotenoid intake and risk of cataract extraction in US men. *Am J Clin Nutr.*;70:517-524.

Bone RA, Landrum JT, et al. 1988 : June Analysis of the macular pigment by HPLC: retinal distribution and age study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*;29(6):843-9.

Boorsma RK1, Whitfield J, Spriet LL 2014. Beetroot Juice Supplementation Does Not Improve Performance in Elite 1500-m Runners. *Med Sci Sports Exerc.*

Bahadar H, Mostafalou S, Abdollahi M. Current understandings and perspectives on non-cancer health effects of benzene: A global concern. *Toxicology and Applied Pharmacology* 201 ; 276 : 83–94 □

Baerson KA, Snyder CA and Albert RE. Repeated exposure of C57B1 mice to inhaled benzene at 10 ppm markedly depressed erythropoietic colony formation. *Toxicol Lett.* 1984; (20) 3: 337-342.

Boswell Victor R 2011. Asians Eat Giant Radishes. In: *National Geographic Magazine*, 1949. Plant Answers, Aggie-Horticulture, Texas A&M University, États-Unis

Bonnard.N ,Mfalcy djarot,epasique 2011.Fich établie par les services techniques et médicaux.

C

Cincinnati, OH , ACGIH 2000. Publication 0100 American Conference of Governmental Industrial Hygienists, *2000 TLVs® and BEIs® : threshold limit values for chemical substances and physical agents biological exposure indices*

Christensen LP, Brandt K 2006 : Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: Occurrence, bioactivity and analysis. *J Pharm Biomed Anal.*

Cronkite EP, Drew RT, Inoue T and Bullis JE. Benzene hematotoxicity and leukemogenesis. *Am J Ind Med* 1985; (7): 447-456.

Chehregani A, Azimishad F, Alizade HH 2007. Study on antibacterial effect of some Allium species from Hamedan-Iran. *Int J Agric Biol*; 9(6): 873-876.

D

Dupuis G 2013. Lycée Faidherbe de Lille

Draft 2003. benzène european union risk assessment report .european chemicals bureau

Grant M 1986

F

Fichier canadien sur les éléments nutritifs, 2010

Farris GM, Robinson SN, Gaido KW, Wong BA, Wong VA, Hahn WP et al. 1997. Benzene-induced hematotoxicity and bone marrow compensation in B6C3F1 mice. *FundamApplToxicol* 36 (2) : 119-129.

G

Grant M 1996. toxicology of the eye ;3thedspringfield :Charles C Tomas ;140-141

Gamier R2000.Hydrocarbures aromatiques in Bismuth C et al –toxicologie clinique paris flammariion médecine-sciences760-764.

Gerarde H.W. (1960) Toxicology and biochemistry of aromatic hydrocarbons. Amsterdam, Oxford, New York, Elsevier Science Publishers

Guide Clause1990. traité des travaux du jardinage,.

Grubben, G.J.H. & Denton, O.A. (2004) Plant Resources of Tropical Africa 2. Vegetables. PROTA Foundation, Wageningen; Backhuys, Leiden; CTA, Wageningen.

Gale CR, Hall NF, Phillips DI et al 2001. Bioactive polyacetylenes plants of the Apiaceae family.

H

Hender son RF 2001.Aromatic hydrocarbons –benzène and other alkylbenzène.patty's toxicology 5th ed Vol4 .Eula bingham ,barbaracoherssen ;charles H .powelle.New york : john wiley and sons.231-260

Harding AH, Wareham NJ, et al.2008 .Plasma vitamin C level, fruit and vegetable consumption, and the risk of new-onset type 2 diabetes mellitus: the European prospective investigation of cancer--Norfolk prospective study. *ArchIntern Med*;168:1493-9.

Hsieh GC1988.Sharma RP and Parker RD. Subclinical effects of groundwater contaminants. I: Alteration of humoral and cellular immunity by benzene in CD-1 mice. *ArchEnviron ContamToxicol* ; 17(2) : 151-158.

Hossain S, Kader G 2012.Nikkon F, Yeasmin T. Cytotoxicity of the rhizome of medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*; 2: 125-127.

He FJ, Nowson CA, et al 2007. Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: meta-analysis of cohort studies. *J Hum Hypertens* 21:717-28.

J

INRS 2011.France. Institut national de recherche et de sécurité, *Fiche toxicologique no 49 : Benzène*. Cahiers de notes documentaires. Paris : INRS

Inoue, Osamu et al 1988. «Mutual metabolic suppression between benzene and toluene in
Itokawa H, Shi Q, Akiyama T 2008. Morris-Natschke SL, Lee K. Recent advances in the investigation of curcuminoids. *Chinese Medicine* 3: 11. man.» *International Archives of Occupational and Environmental Health*. Vol. 60, p. 15-20.

Itokawa H, Shi Q 2008. Akiyama T, Morris-Natschke SL, Lee K. Recent advances in the investigation of curcuminoids. *Chinese Medicine* 3: 11.

IARC : Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, *A Review of Human Carcinogens: Chemical Agents and Related Occupations*. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 100F. Lyon : International Agency for Research on Cancer.

J

Jeong SI, Lee S, et al 2005.

Methylisogermin isolated from radish roots stimulates small bowel motility via activation of acetylcholinergic receptors. *J Pharm Pharmacol*;57(12):1653-

Jeeva S, Jasmine T Sawian, Febreena G Lyndem 2007. Laloo RC, Venugopal N. Medicinal plants in Northeast India: past, present and future scenario. In: National Seminar on Past, Present and Future Scenario in Medicinal Plants and Phytochemistry, organized by Department of Plant Science, Bharathidasan University, Thiruchirappalli, Tamil Nadu.

K

Kujala TS, Lojonen JM, et al. 2000. Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. *J Agric Food Chem* November;48(11):5338-42.

Krick Othmen 1992. encyclopedia of chemical technology 4th ed ;vol 4. New York : John Wiley and sons ;73-99.

Kapadia GJ, Azuine MA, et al. Chemoprevention of DMBA-induced UV-B promoted, NOR-1-induced TPA promoted skin carcinogenesis, and DEN-induced phenobarbital promoted liver tumors in mice by extract of beetroot

Karakitsios SP, Delis VK, Kassomenos PA, Pilidis GA 2007. Contribution to ambient benzene concentrations in the vicinity of petrol stations: estimation of the associated health risk. *Atmos. Environ.* 41: 1889–1902.

Kaur S, Modi NH, Panda D, Roy N2010. Probing the binding site of curcumin in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*FtsZ – a structural insight to unveil antibacterial activity of curcumin. *European Journal of Medicinal Chemistry* 45(9): 4209-4214.

Kingston C, Jeeva S, Jeeva GM, Kiruba S, Mishra BP, Kannan D2009. Indigenous knowledge of using medicinal plants in treating skin diseases in Kanyakumari District, Southern India. *Indian Journal of Traditional Knowledge* 8(2): 196-200.

Kaur S, Modi NH, Panda D, Roy N2010. Probing the binding site of curcumin in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*FtsZ – a structural insight to unveil antibacterial activity of curcumin. *European Journal of Medicinal Chemistry* 45(9): 4209-4214.

Kala S, Johnson M, Raj I, Bosco D, Jeeva S, Janakiraman2011 N. Preliminary phytochemical analysis of some selected medicinal plants of south India. *Journal of NaturaConscientia* 2(5): 478-481.

Kingston C, Jeeva S, Jeeva GM, Kiruba S, Mishra BP, Kannan D2009. Indigenous knowledge of using medicinal plants in treating skin diseases in Kanyakumari District, Southern India. *Indian Journal of Traditional Knowledge* 8(2): 196-200.

L

Löf, A. et Johanson, G1998. «Toxicokinetics of organicsolvents : A review of modifyingfactors.» *CriticalReviews in Toxicology.* Vol. 28, no. 6, p. 571-650.

Lauwerys, R.R. (1999) Masson :*Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles.*

Lauwerys, R. et al. :2007.*Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles.* 5ème éd. Issy-les-Moulineaux Cedex : Elsevier Masson SAS.

Longnecker MP, Newcomb PA, Mittendorf R et al. 1997 .Intake of carrots, spinach, and supplementscontainingvitamin A in relation to risk of breast cancer. *Cancer EpidemiolBiomarkers Prev.*;6:887-892.

Lan Q, Zhang L, Li G, VermeulenR,Weinberg RS, Dosemeci M.2004.Rappaport SM.Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene. *Science* 2004; 306: 1774–1776.

Laskin DL, L M and Snyder 1989 R . Activation of bone marrow phagocytes following benzene treatment of mice. *Environ Health Perspect*82: 75-79.

M

- Muggeridge DJ1, Howe CC, Spendiff O, Pedlar C, James PE, Easton C2014.** A single dose of beetroot juice enhances cycling performance in simulated altitude. **Med Sci Sports Exerc.** Jan;46(1):143-50.
- Medeiros Vinci R, Jacxsens L, Van Loco J, Matsiko E, Lachat C2012.** De Schaezen T, Canfyn, M, Van Overmeire I, Kolsteren P, De Meulenaer B, 2012. Assessment of human exposure to benzene through foods from the Belgian market. *Chemosphere* 88: 1001–1007.
- Ma L., Lin X.-M.2010 .**Effects of lutein and zeaxanthin on aspects of eyehealth. *J Sci Food Agric*;90:2-12.
- Miean KH, Mohamed S2001.**Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *J Agric Food Chem* 49(6):3106-12.
- Mchale CM, Zhang L, Smith MT2012.** Current understanding of the mechanism of benzene-induced leukemia in humans: implications for risk assessment. *Carcinogenesis* 33 : 240–252.
- Mary Helen PA, SusheelaGomathy K, Jayasree S, Nizzy AM, Rajagopal B, Jeeva S2012.** Phytochemical characterization and antimicrobial activity of *Curcuma xanthorrhiza*Roxb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2012; S637-S640

N

- Nicolle C, Cardinault N, Aprikian O et al. 2003.**Effect of carrot intake on cholesterol metabolism and on antioxidant status in cholesterol-fed rat. *Eur J Nutr.*;42:254-261.
- Nyberg F, Agrenius V, Svartengren K et al1998 .**Dietary factors and risk of lung cancer in never-smokers. *Int J Cancer.*;78:430-436
- Ninfali P, Bacchiocca M. 2003** Polyphenols and antioxidant capacity of vegetables under fresh and frozen conditions. *J Agric Food Chem* 9;51(8):2222-6.
- Nakamura Y, Iwahashi T, et al 2001 .**Le radis blanc bienfait

O

- **Otsuki T, Matsufuji H, et al2002 .**Acylated anthocyanins from red radish (*Raphanus sativus* L.). *Phytochemistry* 60(1):79-87.

P

Pool-Zobel BL, Bub A, Muller H et al1997 .Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. *Carcinogenesis*;18:1847-.

Peeling P1, Cox GR, Bullock N, Burke LM.2014. Beetroot Juice Improves on-Water 500 m Time-Trial Performance, and Laboratory-Based Paddling Economy in National and International-Level Kayak Athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.*

Premkumar G, Sankaranarayanan R, Jeeva S, Rajarathinam K2011. Cytokinin induced shoot regeneration and flowering of *Scoparia dulcis* L. (Scrophulariaceae) – an ethnomedicinal herb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 1(3): 169-172.

Ph. Fr. Na. Fabre d'Églantine1952, *Rapport fait à la Convention nationale dans la séance du 3 du second mois de la seconde année de la République Française* [archive], p. 19.

R

Rangan, U. et Snyder, R. «Scientific update on benzene.» *Annals of the New York Academy*

Ribaya-Mercado JD, Blumberg JB 2004. Lutein and zeaxanthin and their potential roles in disease prevention. *J Am Coll Nutr* December;23(6 Suppl):567S-87S.

Roberts RL, Green J, Lewis B2009 :Lutein and zeaxanthin in eye and skin health. *Clin Dermatol*;27:195-201.

Rukayadi Y, Yong D, Hwang J2006. In vitro anticandidal activity of xanthorrhizol isolated from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 57: 1231-1234.

Rukayadi Y, Yong D, Hwang J2006. In vitro anticandidal activity of xanthorrhizol isolated from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 57: 1231-1234.

Roberts RL, Green J, Lewis B2009. Lutein and zeaxanthin in eye and skin health. *Clin Dermatol* 27:195-201

S

Schupp C, Olano-Martin E, Gerth C et al2004. Lutein, zeaxanthin, macular pigment, and visual function in adult cystic fibrosis patients. *Am J Clin Nutr.* 79:1045-1052.

Speizer FE, Colditz GA, Hunter DJ et al. 1999. Prospective study of smoking, antioxidant intake, and lung cancer in middle-aged women (USA). *Cancer Causes Control*.;10:475-482.

Soerjomataram I, Oomen D, et al.2010 .Increased consumption of fruit and vegetables and future cancer incidence in selected European countries. *Eur J Cancer*;46:2563-80.

30- Stintzing FC.2004 .Functional properties on anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. Trends in Food Science & Technology;15:19-38.

Somerset SM, Johannot L.2008.Dietary flavonoid sources in Australian adults. *Nutr Cancer*.;60(4):442-9.

Sultana S, Ahmed S, Jahangir T, Sharma S.2005 Inhibitory effect of celery seed extract on chemically induced hepatocarcinogenesis: modulation of cell proliferation, metabolism and altered hepatic foci development. *Cancer Lett* 18;221(1):11-20.

Slattery ML, Benson J, et al.2000 .:Carotenoids and colon cancer. *Am J Clin Nutr* 2000 February;71(2):575-82.

Snyder R. Leukemia and benzene 2012.Int. J. Environ. Res. Public Health 2012; 9: 2875–2893.

Santé Canada. Fichier canadien sur les éléments nutritifs 2010. [Consulté le 18 octobre 2010]. www.hc-sc.gc.ca.

Sipos P, Hagymasi K, et al. 2002.

T

Truhant R- 1977:comptere ndu et resolutions finales du(workshop) international sur la toxicology du benzéne Arch mal prof 38-967-968.

W

Wright A-P et al (juin 1987):une revue de letterature récentes sur la toxicology du benzéne bruxelles

Willcox JK, Ash SL, Catignani GL.2004 :Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*;44(4):275-95.

Wojcik M, Burzynska-Pedziwiatr I, Wozniak LA.2010 .A Review of Natural and Synthetic Antioxidants Important for Health and Longevity. *Curr Med Chem*.;17(28):3262-88.

Willcox JK, Ash SL, Catignani GL.2004 .Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2004;44(4):275-95.

Wang L, Wei L, et al.2002 .Effects of peroxidase on hyperlipidemia in mice. *J Agric Food Chem* 13;50(4):868-70.

Winklhofer-Roob BM, Puhl H, Khoschror G et al.1995. Enhanced resistance to oxidation of low density lipoproteins and decreased lipid peroxide formation during beta-carotene supplementation in cystic fibrosis. *Free Radic Biol Med*. 18:849-859.

World Carrot Museum 2015. Carrots in World War Two sur www.carrotmuseum.co.uk (consulté le 15 mai 2015)



Zidorn C, Johrer K, et al2005.Polyacetylenesfrom the Apiaceaervegetables carrot, celery, fennel, parsley, and parsnip and theircytotoxicactivities. *J Agric Food Chem* 6;53(7):2518-

Web bibliographie

WWW. Clémentine Desfemmes

WWW.graines-schletzer1870

WWW.wékipidia

WWW.le radis-durcette

<http://www.alternativesante.fr/cancer/la-cure-anti-cancer-rudolph-breuss>)

WWW.World Carrot Museum

Annexes

Administration par voie orale (ou par gavage)



.Groupes d'animaux



Couleur pour la determination FNS



Appareil electrophoritique

Laboratoire d'Analyse médicales

Dr Ismat BENZEGUIR

Adresse: 18 rue Jean Jacques Rousseau SIDI BEL ABBES Tel: 048 54 97 08

Nom: SOURI 1

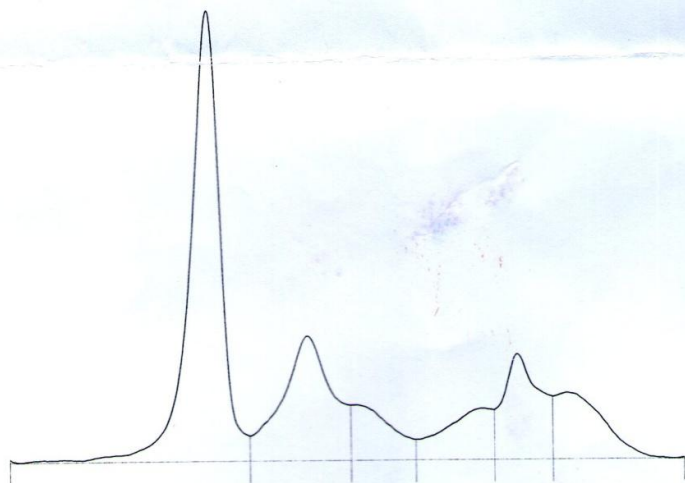
Date : 29/04/2015

Age: 2 mois

ID :

Electrophorèse des protéines sériques

Sur technique capillaire -SEBIA-



Protides Totaux : 75g/l

A/G : 0,77

Fractions	%	Ref. %	g/l	Ref. g/l
Albumine	43,6	55,8 - 66,1	32,70	40,20 - 47,60
Alpha 1	19,6	2,9 - 4,9	14,70	2,10 - 3,50
Alpha 2	6,9	7,1 - 11,8	5,18	5,10 - 8,50
Beta 1	7,9	4,7 - 7,2	5,93	3,40 - 5,20
Beta 2	12,1	3,2 - 6,5	9,08	2,30 - 4,70
Gamma	9,9	11,1 - 18,8	7,42	8,00 - 13,50

Commentaire :

LABORATOIRE D'ANALYSES
MÉDICALES
Dr. Ismat Benzeguir
18, Rue Jean Jacques Rousseau
Sidi Bel Abbes
Tél: 048-54-97-08

Signature

Laboratoire d'Analyse médicales

Dr Ismat BENZEGUIR

Adresse: 18 rue Jean Jacques Rousseau SIDI BEL ABBES Tel: 048 54 97 08

Nom: SOURI 2

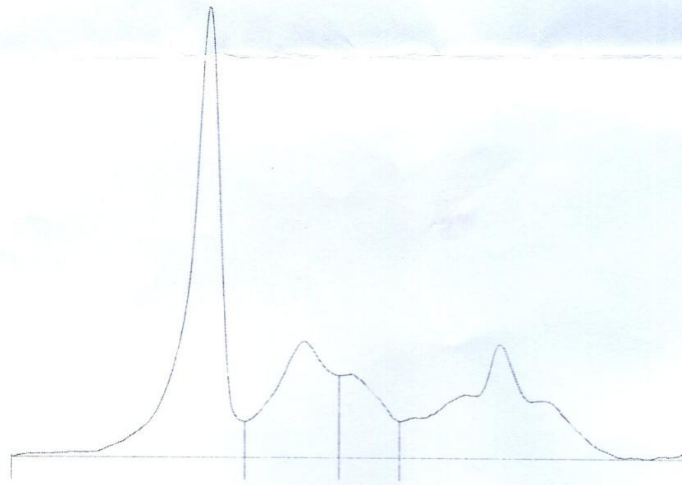
Date : 29/04/2015

Age: 2 mois

ID :

Electrophorèse des protéines sériques

Sur technique capillaire -SEBIA-



Protides Totaux : 68g/l

A/G : 0,75

Fractions	%	Ref. %	g/l	Ref. g/l
Albumine	42,7		29,04	
Alpha 1	19,2		13,06	
Alpha 2	9,9		6,73	
Bet.+Gam.	28,2		19,18	

Commentaire :

LABORATOIRE D'ANALYSES
MEDICALES
Dr. Ismat BENZEGUIR
18, rue Jean Jacques Rousseau
Sidi Bel Abbes
Signature
Tél: 048-54-97-08

Laboratoire d'Analyse médicales

Dr Ismat BENZEGUIR

Adresse: 18 rue Jean Jacques Rousseau SIDI BEL ABBES Tel: 048 54 97 08

Nom: SOUR13

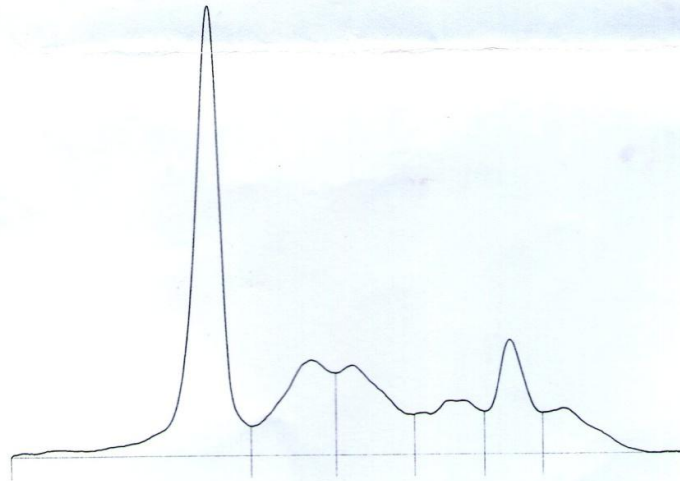
Date : 29/04/2015

Age: 2 mois

ID :

Electrophorèse des protéines sériques

Sur technique capillaire -SEBIA-



Protides Totaux : 66g/l

A/G : 0,74

Fractions	%	Ref. %	g/l	Ref. g/l
Albumine	42,4	55,8 - 66,1	27,98	40,20 - 47,60
Alpha 1	15,9	2,9 - 4,9	10,49	2,10 - 3,50
Alpha 2	14,3	7,1 - 11,8	9,44	5,10 - 8,50
Beta 1	9,0	4,7 - 7,2	5,94	3,40 - 5,20
Beta 2	11,5	3,2 - 6,5	7,59	2,30 - 4,70
Gamma	6,9	11,1 - 18,8	4,55	8,00 - 13,50

Commentaire :

Laboratoire d'Analyse Médicales
Dr Ismat BENZEGUIR
Rue Jean Jacques Rousseau
Sidi Bel Abbes
Tel: 048 54 97 08

Signature

Laboratoire d'Analyse médicales

Dr Ismat BENZEGUIR

Adresse: 18 rue Jean Jacques Rousseau SIDI BEL ABBES Tel: 048 54 97 08

Nom: SOURJ 4

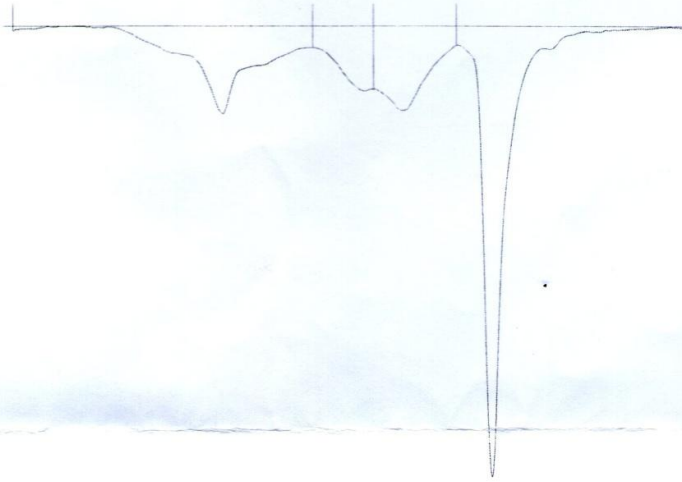
Age: 2 mois

ID :

Date : 29/04/2015

Electrophorèse des protéines sériques

Sur technique capillaire -SEBIA-



Protides Totaux : 61 g/l

A/G : 0,83

Fractions	%	Ref. %	g/l	Ref. g/l
Albumine	45,5	27,76	27,76	27,76
Alpha 1	18,5	11,29	11,29	11,29
Alpha 2	10,3	6,28	6,28	6,28
Bet.+Gam.	25,7	15,68	15,68	15,68

Commentaire :

Signature

Dr Ismat BENZEGUIR
SIDI BEL ABBES
048 54 97 08

