EFFET PROTECTEUR DES GRAINS DE POLLEN DE PALMIER (*Phœnix dactylifera* L.) SUR LA FONCTION IMMUNITAIRE DES LAPINS MALES APRES L'EXPOSITION AU DIETHYLE PHTALATE

BENTAYEB Y[1]., MOUMEN Y[1]., CHENTOUH S[1]., BOULAHBEL S[1]. & HADJERES R[1].

[1]Laboratoire des Biomolécules Végétales et Amélioration des Plantes
[1]Université Larbi ben M'Hidi Oum el Bouaghi Algérie

Résumé : Le but de ce travail est d'évaluer l'effet protecteur des grains de pollen de palmier (*Phœnix dactylifera* (DPP)) contre la toxicité du Diethyl phthalate (DEP) qui est l'un des éléments ayant un effet toxique sur les organismes vivants. L'étude a été réalisée sur des lapins mâles adultes de race New Zélandaise, pendant 30 jours. Les animaux on été divisés en quatre groupes. Le groupe I a reçu de l'eau distillée et a été pris comme contrôle, tandis que les groupe II, III et IV ont reçu quotidiennement 240 mg/kg/j de(DPP), 330 ml/kg/j de(DEP) et une association de 330ml/kg/j de (DEP) avec 240 mg/kg/j de (DPP) respectivement. Après le traitement, les lapins ont été sacrifiés et les organes ont été prélevés, fixés dans le formalin 10% et colorés à l'hématoxyline et à l'éosine. Le sang a été recueilli dans des tubes pour évaluer les différents paramètres biochimiques et hématologiques. Les résultats obtenus indiquent que le traitement par le (DEP) provoqué une diminution du poids corporel et du poids de thymus, ainsi qu'une chute du taux des globules blancs et du pourcentage des granulocytes et une augmentation des lymphocytes par rapport au groupe témoin**.**
L'administration des graines de pollen de palmier(DPP) a montré une amélioration positive dans tous les paramètres étudiés. Nos résultats confirment que le DEP peut effectuer des changements dans la fonction immunitaire et, par conséquent, montrent que le traitement par le DPP peut atténuer les effets délétères du DEP.

Mots clés : Pollen**,** *Phœnix dactylifera*, Diethyl phthalate, lapin

PROTECTIVE EFFECT OF PALM POLLEN GRAINS (*Phœnix dactylifera* L.) ON THE IMMUNE FUNCTION OF MALE RABBITS AFTER EXPOSURE TO DIETHYL PHTHALATE

Abstract

The aim of this work is to evaluate the protective effect of palm pollen grains (phoenix dactylifera L (DPP)) against the toxicity of, (DEP) which is one of the elements having a toxic effect on organisms living.
The study was conducted on New Zealand adult male rabbits for 30 days. The animals were divided into four groups. Group I received distilled water and was taken as a control, while Groups II, III and IV received daily 240 mg / kg / day of (DPP), 330 ml / kg / day of (DEP) and an association of 330ml / kg / day of (DEP) with 240 mg / kg / day of (DPP), respectively. After treatment, the rabbits were sacrificed and the organs were removed, fixed in 10% formalin and stained with hematoxylin and eosin. The blood was collected in tubes to evaluate different biochemical and hematological parameters. The results indicate that treatment with (DEP) caused a decrease in body weight and thymus weight, as well as a drop in white blood cell count and percentage of granulocytes and an increase in lymphocytes compared to the control group.
The administration of palm pollen seeds (DPP) showed a positive improvement in all parameters studied. Our results confirm that DEP can effect changes in immune function and, therefore, show that DPP treatment can mitigate the deleterious effects of DEP.

Key words: palm pollen grains, diethyl phtalate, rabbit, thymus, granulocytes lymphocytes

Auteur correspondant : BENTAYEB Y. : *bentayebyasmina@gmail.com*

Introduction

Les phtalates sont un groupe de produit chimique fabriqué par l'homme, ce sont des polluants environnementaux qui présentent des risques pour la santé [1] ,ils peuvent effectuer des changements dans la fonction immunitaire [2] le diéthyle phtalate est l'un des phtalates les plus fréquemment utilisé dans de nombreux produits industriels [3] ,le DEP est parmi les phtalates de faible poids moléculaire [4] il a été trouvé dans 71% des produits de soins personnels [5] ,et aussi dans les différents dispositifs médicaux [6], il a été rapporté que le DEP est relié a des divers problèmes tel que l'asthme et les symptômes allergiques [7] ,ce pendant ,il est concevable que les agents antioxydants des plantes médicinales et leurs bienfaits pour la santé peuvent empêcher ou au moins réduire la toxicité du DEP , par des médicaments a base de plante , parmi ces médicaments les grains de pollen de palmier qui sont un mélange a base de plantes qui est largement utilisé comme remède populaire en médecine traditionnelle, les grains de pollen palmier dattier (DPP) sont des cellules reproductrices males de palmier dattier (phœnix dactylifera L)dont le fruit possède des propriétés anti oxydantes et des effets thérapeutiques contre les maladies inflammatoires [8-9],des études phytochimiques de(DPP) ont révélé la présence des acides aminés, la vitamine A ,E,C , des minéraux tel que le zinc , sélénium et le fer [10],riche en flavonoïde et quercétine [11],la présence des glycosides, l'amidon ,les tanines et les saponines [12] .

Plusieurs données suggèrent les changements des poids corporels et des fonctions immunitaires induits par le DEP chez les animaux de laboratoire.

L'objectif de notre travaille est dévaluer le pois corporel et quelques paramètres immunologiques âpres l'exposition des lapins mâles au (DEP), par conséquence démontrer le rôle thérapeutique du DPP sur ces paramètres.

2. Matériel et méthodes

2.1. - Produits chimiques et réactifs

- Le diéthyle phtalate C12 H14 O4.
- Les grains de pollen dattier.

2.2. - Animaux

Pour cette étude nous avons utilisé 16 lapins mâles de la race new zélandaise pubères

2.3. - Protocole expérimental

Les lapins ont été réparti au hasard en quatre groupes expérimentaux de 4 individus chacun.

L'expérimentation consiste à administrer aux lapins par voie orale des doses de diéthyle phtalates et des grains de pollen de palmier

Groupe 1: témoin

Groupe2 : traité par 240 mg/kg/j de DPP

Groupe3: traité par 330 ml/kg/j de Diethyle phtalate

Groupe 4: traité par une association de330 ml/kg/j de DEP avec 330 ml/kg/j de DPP .respectivement.

2.4. - Etude statistiques

Les données ont été analysé en utilisant le logiciel (minitab 16] l'analyse statistique a été réalisé par le Test student pour déterminer la signification entre deux moyennes, la comparaison multiples des moyennes a été calculer en utilisant une analyse de la variance a un critère de classification (ANOVA) , $p < 0,05$ était considéré comme statistiquement significatif

Les animaux ont été sacrifiés et disséqués, le thymus a été retiré et pesé pour estimer le poids relatif, des échantillons de sang on été immédiatement recueillies dans des tubes

3. - Résultats

Les expériences effectuées ont permis d'accumuler les résultats suivants :

Paramètres de croissance

3.1. - Poids corporel

Les résultats obtenus après 30 jours de traitement par DEP et DPP et l'association des deux produits sur le poids corporel sont indiqués dans le tableau 1.

Tableau 1 - Variation du poids corporel chez le lot témoin (T) et les lots traités

Groupes / Paramètres	G1	G2	G3	G4
Poids initial (g)	2778,5	2554,25	3056	2741,5
Poids final (g)	2936,25	2888,25	3153,5	2919,5
Taux d'augmentation	5,68 %	13,17 %	3,17 %	6,49 %

Nous avons enregistrés une augmentation de13, 17 % chez le groupe traité par 240 /kg/J et une réduction de 3,17 chez le groupe traité par DEP par rapport au groupe témoin qui a connu une élévation de l'ordre de 5,68 %. Il est à noter que le traitement par l'association de DPP et DEP a provoqué une augmentation dans le poids corporel par rapport au groupe traité par LE DEP et groupe témoin avec un pourcentage de l'ordre de 6,49 %.

3.2. - Poids des organes (thymus)

Nous avons mesuré le poids relatif du thymus, selon la formule :

Poids relatif (organe) = [poids de l'organe (g) / poids du corps (g)] x 100

Les résultats sont représentés dans l'histogramme suivant :

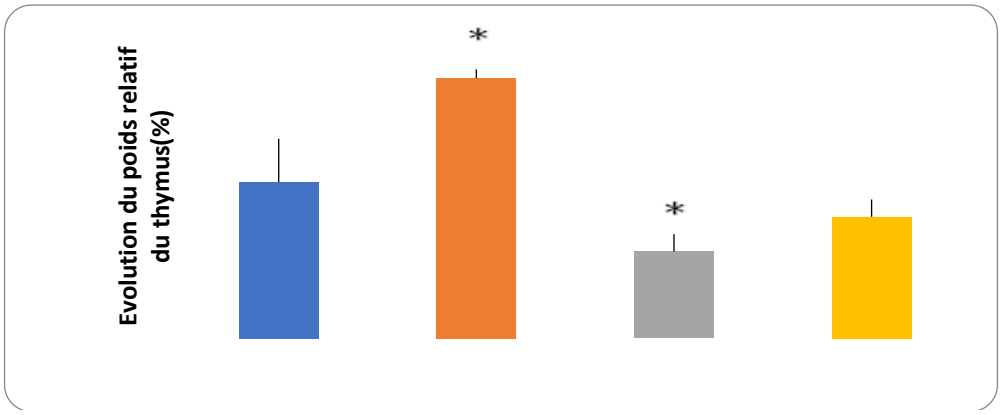

Figure 1 - Evolution du poids relatif du thymus des lapins traité avec DPP et DEP et des témoins après 30 j de traitement

NS (P > 0.05) : non significatif.
* (p < 0.05) : différance significatif.
** (p<0.01) : hautement significatif.

L'analyse des résultats présentés dans l'histogramme montent que le traitement par le DEP dans le groupe (G3) a révélé une diminution significatif (p < 0,05) du poids relatif du thymus par rapport au témoin, par contre nous avons remarqué une augmentation significatif (p < 0?05) du poids relatif du thymus dans le groupe(G2) traité par le DPP par rapport au témoin, le groupe(G4) n'a pas montré une signification statistique par rapport au témoin.

3.3. - Effet sur les paramètres hématologique

Les variations des paramètres hématologiques sont présentées dans le tableau 2

Tableau 2 - Variations des paramètres hématologiques chez les lapins témoin et traités par le (DEP) et(DPP) et l'association des deux traitements (DEP et DPP) pendant 30j de traitement

Groupes	*G1 Témoin*	*G2*	*G3*	*G4*
GB X 10^9/L	*8,08 ± 0,71*	*12,66±0.29**	*5,26±0,50**	*9,32±0,44^{NS}*
Lymphocytes %	*25,49±1,30*	*49,33±2.03***		*40,33±1,70**
		*44,05±2,04***		
Les données sont exprimées par moyenne Ecat ± type				

Les paramètres hématologiques, consignes dans le tableau montre qu'il y a une diminution significatif des globules blancs (p < 0.05) et une diminution significative de nombre des granulocytes (p < 0.05) et une augmentation hautement significatif (p < 0.01) de nombre de lymphocytes dans le groupe traité par le DEP (G3) par rapport au témoin, par contre une augmentation significatif (p < 0.05) des globules blancs et

une augmentation non significative (p >0.05) des granulocytes et une augmentation hautement significative (p < 0.01)des lymphocytes dans le groupe traité par le DPP (G2) par rapport au témoin , les résultats n'on montré aucune signification des paramètres précédents dans le groupe (G4) par rapport au témoin des globules blancs et des granulocytes par contre une signification statistique des lymphocytes .

4.- Discussion

La plupart des produits chimiques destinés dans le domaine industriels comme les phtalates ont des effets toxiques sur plusieurs paramètres y compris les paramètres hématologiques. Les effets de ces produits sont hautement spécifiques sur la structure et le fonctionnement de nombreux organes. Nos résultats montrent que le traitement par le DEP a induit une réduction du poids corporel, cette diminution est due au manque d'appétit causé par l'effet toxique du DEP qui a altéré le métabolisme des animaux [13], un résultat similaire a été trouvé par [14] qui ont signalés une diminution du poids corporel chez des animaux traités a court terme par le (DEP). Le traitement par le(DPP) a provoqué une, augmentation du poids, celle ci peut être due à la présence des tanins, glucosides et de l'amidon dans les grains du (DPP) [15]. Nos résultats sont en accord rapportés par plusieurs chercheurs [12] qui confirment l'augmentation du poids corporel des rats traité par le (DPP) après 30 j de traitement, ce qui confirme que cette période est suffisante pour améliorer le poids corporel des lapins traités par le(DPP). Les résultats de la présente étude ont également montré une augmentation légère du poids corporel dans le G4. Cette amélioration du poids est certainement due à l'effet protecteur du (DPP) contre la toxicité du (DEP). Il faut noter que le thymus est une cible de la toxicité du DEP Cet organe est le site d'une différenciation et maturation cellules souches qui dérivent de la moelle osseuse [16]. Dans notre étude on a remarqué une réduction significative (p<0,05) du poids relatif du thymus chez le groupe traité par DEP (G3) par rapport au témoin. Ces résultats sont similaires avec [17] cette diminution est due à l'effet direct du (DEP) sur masse osseuse et indirectement sur le système hématopoïétique qui conduit réduction du nombre de certain cellules sanguine [18] ce qui peut réduire le nombre des thymocytes dans le thymus. L'augmentation du poids relatif du thymus dans le groupe traité par le (DPP) est peut être due à la présence des flavonoïdes et la vitamine C dans les grains de pollen (DPP) qui semble accéléré la maturation des thymocytes [19] et normalise les taux plasmiques des facteurs qui favorisent la maturation et l'augmentation de la composition cellulaire du thymus. Nos données sont en accord avec celle de [20]. Le traitement par l'association du DEP et DPP chez le (G4) ne montre aucun changement par rapport au groupe témoin, cela peut être expliqué par l'action immunostimulante et antioxydante du (DPP) qui a neutralisé l'effet toxique du DEP. La diminution des taux de leucocytes dans le groupe traité par le(DEP) est du à la réduction du pourcentage des granulocytes qui font partie des leucocytes, ces résultats sont similaires avec les résultats obtenus par [21, 22 et 23] qui ont rapporté que l'exposition au perturbateurs endocriniens y compris le (DEP) peuvent diminuer les granulocytes et inhibent l'activité phagocytaire des macrophages, ce qui

suggère que le (DEP) réduise la fonction immunitaire innée qui provoque la diminution des leucocytes. En outre,

Les réponses (TH1) et (TH2) inhibent respectivement le développement de l'autre [25], les (TH1) sécrètes (TNFY). Des données ont suggéré que le (DEP) peut provoquer la suppression du TNFY [26], ce qui est liée à une déviation vers une réponse immunitaire (TH2) qui stimule la différenciations des cellules B (plasmocytes) c'est ce qui explique l'augmentation des lymphocytes dans le groupe traités par le (DEP) [27 et 28].

L'augmentation des taux de leucocytes (lymphocytes) dans le groupe traité par le l'élévation du pourcentage des lymphocytes dans le même groupe indique un renforcement du système immunitaire [24]. (DPP) est peut être due à l'augmentation de la densité de la moelle osseuse ce qui provoque la régulation hématopoïétique [29]. Ces résultats sont similaire avec [30] les effets immunostimulants des flavonoïdes et les tanins contenus dans le DPP peuvent améliorer l'activité phagocytaire et l'augmentation de la production des anticorps [31 et 32], ce qui peut expliquer l'augmentation significatif des lymphocytes.

Conclusion

En conclusion, nos résultats montrent que le traitement par voie orale durant un mois par une dose de (330 ml/kg/ de diéthyle phtalate (DEP) peut conduire à des toxiques notamment dans la fonction immunitaire, et que l'ajout de (DPP) (240 mg/kg/j pour une même période peut réduit efficacement les effets délétères de (DEP). Cela confirme l'action thérapeutique du DPP.

Références bibliographiques

[1]- LiangpoLiu a1, HuaqiongBao b1 ,FengLiua JieZhanga and HeqingShen a Phthalates exposure of Chines reproductive age couples and its effect on male semequality, a primary study international environment 42 (2012) 73

[2]-Ian Kimber ∗, Rebecca J. Dearman An assessment of the ability of phthalates to influence immune and allergic responses *journal : Toxicology* 271 (2010) 73–82

[3]Mingcui Zhang * , Ying Cong, Yali Sheng, Bolin Liu A direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay by antibody coated for diethyl phthalate analysis *journal : ELSEVIER Analytical Biochemistry* 406 (2010) 24–28

[4]- M. saillen fait, Laudet-Hesbert phtalates BP27, 54501 vandoeuvre, France , 75680 paris cedex 14, France

[5]- Contzen Pereira, Kranti Mapuskar, C. Vaman Rao * Effect of diethyl phthalate on rat testicular antioxidant system :A dose-dependent toxicity study *journal : Pesticide Biochemistry and Physiology* 90 (2008) 52–57

[6]- Contzen Pereira, Kranti Mapuskar, C. Vaman Rao A two-generation chronic mixture toxicity study of Clophen A60 and diethyl phthalate on histology of adrenal cortex and thyroid of rats journal : *Acta histochemica* 109 (2007) 29—36

[7]- Kelly K. Ferguson, Rita Loch-Caruso, and John D. Meeker* Exploration of oxidative stress and inflammatory markers in relation to urinary phthalate metabolites: NHANES 1999–2006 *journal : NIH Public Access*

[8]- Tuğba Tatar et Yasemin Akdevelioğlu, Effet de pollen, Pit en poudre, et gemmule Extrait de palmier dattier sur l'infertilité masculine: Un examen systématique, *Journal de l'American College of Nutrition*

[9]- Hazem MM Hassan , Chemical composition and nutritional value of Palm pollen grains , Global *Journal of Biotechnology and Biochemistry* 6 (1): 01-07, 2011 ISSN 2078-466X

[10]- MS El-Neweshy 1, ZK El-Maddawy 2& YSM Sayed 3, Therap eutic effects of date palm (Phoenix dactylifera L.) pollen extract on cadmium-induced testicular toxicity. First International *Journal of andrology*

11- Mohammad Tahvilzadeh, Mannan Hajimahmoodi, The Role of Date Palm (Phoenix dactylifera L)Pollen in Fertility : A Comprehensive Review of Current Evidence, *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*2016, Vol. 21(4) 320-324

12]- Cherifa Selmani, Djamila Chabane, Nadia Bouguedoura Ethnobotanical Survey Of Phoenix Dactylifera L. Pollen Used For The Treatment Of Infertility Problems In Algerian Oases. *Journal : Afr J Tradit Complement Altern Med*., (2017) 14 (3): 175-186

[13]- Mukinda JT, Syce JA. Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of Artemisia afra in rodents *Journal of Ethnopharmacology*. 2007; 112: 138–144.

[14]- D.Brown,K.R.ButterworthI.F.GauntP.Grasso ,S.D.Gangolli , Short-term oral toxicity study of diethyl phthalate in the rat, Food and Cosmetics Toxicology
Volume 16, Issue 5, October 1978, Pages 415-422

[15]- Goldberg, G.R. (2003). Plants: Diet and Health. The Report of a British Nutrition Foundation Task Force. Blackwell Publishing, Oxford, UK

[16]- Astrazeneca , Alderley Park, Maccles fi eld, Cheshire,SK 10 4TG ,Royaume-Uni normal structure, function and histology of the thymus *journal : toxicologic pathologie*,34 :504-514,2006 Copyright c

[17]- A.M Api* toxicological profile of diethyl phthalate : a vehicle for fragrance and cosmetic ingresients *jounral : Food and chemical Toxicology* 39 (2001) 97-108

[18]- D.K. AGARWAL, R.R. MARONPOT, J.C. LAMB, IV and W.M. KLUWE ADVERSE EFFECTS OF BUTYL BENZYL PHTHALATE ON THE REPRODUCTIVE AND HEMATOPOIETIC SYSTEMS OF MALE RATS *journal: Toxicology*, 35 (1985) 189--206- Elsevier Scientific Publishers Ireland Ltd

[19]- Elias Adikwu1, Oputiri Deo2, Hepatoprotective Effect of Vitamin C (Ascorbic Acid), *Pharmacology & Pharmacy,* 2013, 4, 84-92

[20]- Emma Ramiro-Puig,† Mireia Urp´-Sı Ardaå ,‡ Francisco J. Peä Rez-Cano,† Aå Ngels Franch,† Cristina Castellote,† Cristina Andreä S-Lacueva,‡ Maria Izquierdo-Pulido,‡ And Margarida Castell*,† Cocoa-Enriched Diet Enhances Antioxidant Enzyme Activity and Modulates Lymphocyte Composition in Thymus from Young Rats *journal : J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 6431 −6438 6431

[21]- Wen-Liang Chen, Hung-Hung Sung * The toxic effect of phthalate esters on immune responses of giant freshwater prawn (Macrobrachium rosenbergii) via oral treatment *journal : Aquatic Toxicology* 74 (2005) 160–171

[22]- Takahiro Ohnishi, Tomohisa Yoshida, Arisa Igarashi, Masashi Muroi & Ken-Ichi Tanamoto E¡ectsof perturbateurs endocriniens possibles TLR4 signaling on My D88 indépendant

[23]- Guisheng Zhang and Yilei Wang Genotoxic effects of diethyl phthalate on the non-specific immune function of carp *journal : Toxin Rev*, 2014; 33(4): 139–145

[24]- Hariri AT, Moallem SA, Mahmoudi M et Hosseinzadeh H., (2011).- The effect of crocin and safranal, constituents of saffron, against subacute effect of diazinon on hematological and genotoxicity indices in rats. *Phytomedicine*, 18: 499-504.

[25]- Søren Thor Larsen Søren un B,*, Jitka Stilund Hansen une, Peter Thygesen b, Mikael Begtrup c, Otto Poulsen Melchior une, Gunnar Nielsen Damgard une Adjuvant and immuno-suppressive effect of six monophthalates in a subcutaneous injection model with BALB /c mice *journal: Toxicologie* 169 (2001) 37-51

[26]- Walter J.Crinnion,ND Do Environmental Toxicants Contribute to Allergy and Asthma? *Journal : Environmental Medicine*

[27]- Sotaro Ochiai,*,† Ben Roediger,‡ Arby Abtin,‡ Elena Shklovskaya,‡ Barbara Fazekas de St. Groth,‡ Hidehiro Yamane, x Wolfgang Weninger,‡, { Graham Le Gros,* and Franca Ronchese* CD326loCD103loCD11blo Dermal Dendritic Cells Are Activated by Thymic Stromal Lymphopoietin during Contact Sensitization in Mice The *Journal of Immunology*

[28]- Michelle L. North, Phd *, Y, Jj; Tim K. Takaro, MD, MPH, Msc, Facoem Z; Miriam L. Diamond, Msc, Msceng, Phd X; And Anne K. Ellis, MD, Msc, FRCPC, Faaaai *, Y, Jj Effects of phthalates on the development and expression of allergic disease and asthma *journal : Ann Allergy Asthma Immunol xxx* (2014) 1e7

[29]- SON Chang-Gue [1] , Seung-Hyun HAN[2] , CHO jung-Hyo, SHIN jang-Woo[3], CHO chin-Ho, Lee Yeon-Weol, CHO-chong Kwan Induction of hemopoiesis by Saenghyuldan, a mixture of Ginseng Radix, Paeoniae Radix Alba, and Hominis Placenta extracts journal:Son CG et al / *Acta Pharmacol Sin* fév 2003;24 (2): 120-126

[30]- Obel H Jorum1,*, Ngugi M Piero1 and Alex K Machocho2, Haematological Effects of Dichloromethane-Methanolic Leaf Extracts of Carissa edulis (Forssk.) Vahl in Normal Rat Models, *Journal of Hematology & Thromboembolic Diseases*

[31]- NL Dashputre [*], NS Naikwade Immunomodulatory Activity of Abutilon Indicum linn on Albino Mice journal international des sciences pharmaceutiques et de la recherché *(IJPSR)* vol:1(3),2010,178-184

[32]- V. Lakshmi a,∗, K. Pandey a, Anju Puri b, R.P. Saxena b, K.C. Saxena b Immunostimulant principles from Curculigo orchioides *Journal of Ethnopharmacology* 89 (2003) 181–184