



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Larbi Tébessi-Tebessa-

Faculté des Science Exactes et des Sciences de la Nature de la vie

Département : Sciences de la Nature de la vie

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature de la vie

Filière : Sciences biologique

Option : Toxicologie appliquée

Thème

Toxicité hépatique induite par l'exposition des lapins au phosalone et effet opposé d'un flavonoïde: quercétine

Présenté par :

- Mekerssi Imene

- Bouterfas Zina

Devant les jury :

BENAMMARA AMEL	M.A.A	Université de TEBESSA	Examineur
MENACEUR FOUAD	M.C.A	Université de TEBESSA	Rapporteur
BOUSSKINE SAMIRA	M.C.A	Université de TEBESSA	Président

Date de soutenance : 2018

Note :

Mentions :

Remerciement

Avant tout à « Dieu » le tout puissant de nous avoir guidé durant tout les années et permis de réaliser ce mémoire en donnant la force, le courage, la patience et la violence.

Nous tenons très sincèrement à remercier notre encadreur le Docteur Menaceur Fouad pour avoir accepté de diriger ce travail, et pour ces précieux conseils et sa patience durant toute la préparation de ce mémoire du Master

Nous tenons à remercier les membres du jury qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail de mémoire.

Nous remercions amicalement mes amis pour leurs soutien et encouragent

Enfin nous remercions les membres de mes familles pour leur soutien sans faille tout au long de ces enrichissantes années.

Dédicace

Je dédie ce travail a mes chers parent qui se dépensés avec affection et amour pour assurer mon avenir

A mon chère sœur NOUR

A ma cher frère IYAD

A ma grande famille

A tous mes amis

Ames collègues de promotion de la classe de 2^{ème} année Master toxicologie

Je souhaite pour vous la santé et le succès.

Par IMENE



Dédicace

Nous dédions ce modeste travail.

À mon père.

À sa présence indispensable.

À ma mère, ma plus grande supportrice.

À mes frères.

À mes sœurs.

Pour leurs présences, et leurs conseils, et leurs paroles rassurantes au quotidien.

À toute ma famille et mes amis.

ZINA



Résumé

Notre travail a porté sur l'étude de l'effet protecteur de la quercétine contre la toxicité hépatique induite par le phosalone chez les lapins, et ce avec une évaluation des paramètres de croissance (poids corporel, gain de poids, poids relatif), biochimiques (taux de protéines) ainsi que les paramètres enzymatiques (GPx) et non-enzymatiques (GSH et MDA) du stress oxydatif. L'étude a été menée sur 20 lapins mâles répartis sur quatre lots de cinq lapins chacun, le dont le premier lot sert de témoin (T), le second exposé aux phosalone par voie orale a dose de 2mg/kg/j, le 3ème exposé aux quercétine par voie orale a dose de 1 mg/kg/j, et le dernier lot exposé a une combinaison ; phosalone à la dose de 2 mg/kg/j et quercétine a dose de 1 mg/kg/j pendant 15 jours.

Le gavage au phosalone à provoqué une déplétion du GSH hépatique ainsi qu'une augmentation des taux des protéines et MDA et une accentuation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase. La quercétine a servi pratiquement d'antidote en normalisant les valeurs des paramètres étudiés, avec protection du tissu hépatique des attaques radicalaires provoquées par le phosalone.

Mots clés: Phosalone, Stress oxydant, Hépatotoxicité, Antioxydant, Quercétine, lapin *Oryctolagus cuniculus*.

summary

Our work focused on the study of the protective effect of quercetin against phosalone-induced hepatic toxicity in rabbits, with an evaluation of growth parameters (body weight, weight gain, relative weight), biochemical (protein levels) as well as enzymatic (GPx) and non-enzymatic (GSH and MDA) parameters of oxidative stress. The study was conducted on 20 male rabbits divided into four lots of five rabbits each, the first batch serving as a control (T), the second exposed to oral phosalone at a dose of 2mg / kg / d, the third exposed to oral quercetin at a dose of 1 mg / kg / day, and the last batch exposed to a combination; phosalone at a dose of 2 mg / kg / day and quercetin at a dose of 1 mg / kg / day for 15 days.

Phosalone gavage caused hepatic GSH depletion as well as increased levels of protein and MDA and increased enzymatic activity of glutathione peroxidase.

Quercetin was used as an antidote by normalizing the values of the studied parameters, with protection of the liver tissue from radical attacks caused by phosalone.

Key words: Phosalone, Oxidative stress, Hepatotoxicity, Antioxidant, Quercetin, rabbit *Oryctolagus cuniculus*.

قد ركز عملنا على دراسة التأثير الوقائي للكبير سيتين ضد الكبدى الناجم عن phosalone عند الارانب ، ومع تقييم مقاييس النمو (وزن الجسم، وزيادة الوزن، والوزن النسبي)، والكيمياء الحيوية (مستويات البروتين) وكذلك الأنزيمات (GPx) وغير الإنزيمية GSH و MDA المعلومات من الإجهاد التأكسدي. وقد أجريت الدراسة على 20 ذكور الأرانب على مدى أربع مجموعات من خمسة أرانب لكل منهما، المجموعة الأولى والتي هي بمثابة الشاهد (T) ، والثانية تعرضت ل phosalone عن طريق الفم جرعة من 2 مغ / كغ / يوم، والثالثة تعرضت للكيرسيتين عن طريق الفم بجرعة 1 مغ ، والمجموعة الأخيرة تتعرض لمزيج Phosalone . بجرعة 2 مغ /كغ / يوم و كيرسيتين بجرعة 1 مغ / كغ/ يوم لمدة 15 يوم.

بلغ ال phosalone تسبب في نقصان GSH في الكبد وكذلك زيادة مستويات البروتينات و MDA وزيادة النشاط الأنزيمي من GPx . تم استخدام كيرسيتين كترىاق عن طريق تعديل قيم المعلومات المدروسة ، مع حماية نسيج الكبد من الهجمات الجذرية الناجمة عن phosalone . الكلمات المفتاحية Phosalone :، الإجهاد التأكسدي ، تسمم كبدى ، مضادات الأكسدة ، Quercetin، أرنب oryctolagus cuniculus .

Liste des abréviations

- % : Pourcentage
- °C : Degré Celsius
- μ Pa : micro Pascal (unité de pression)
- •OH : radical hydroxyle
- $^1\text{O}_2$: L'oxygène singlet
- 8-OH2DG : 8-hydroxy-2'déoxyguanosine
- AChE : AcétylCholinEstérase
- ADN : Acide DésoxyriboNucléique
- AlAT : Alanine aminotransférase
- ASAT : Aspartate aminotransférase
- BHT : Butylhydroxytoluène
- BMP-7 : Bone morphogenic protein 7
- BOMS : Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé
- C : Carbone
- C : Concentration
- CAA : Centre Antipoison d'Alger
- CAT : Catalase
- CoA: Coenzyme A
- COX : Cyclo-oxygénase
- CPF : Chlorpyrifos
- CPO : CPF oxon
- CRP : protéine C-réactive
- CSFs : colony stimulating factors
- CTGF : connective tissue growth factor
- Cu : Cuivre
- CYPs : Cytochromes P450
- Cyt-c : cytochrome c
- Dob : Densité optique de blanc
- DTNB : Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman.
- EDTA : Acide Ethylène-Diamine-Tétraacétique
- ERN : Espèces Réactives de l'azote
- ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène
- Fe : Fer

- **Fe²⁺** : Fer ferreux
- **Fe³⁺** : Fer ferrique
- **G** : guanine
- **g**: gramme
- **GDH** : Glutamate déshydrogénase
- **GGT** : Gammaglutamyl transférase
- **GPx** : Glutathion peroxydase
- **GSH** : Glutathion réduit
- **GSSG** : Glutathion oxydée
- **GSTs** : glutathion-S-transférases
- **h** : heure
- **H** : hydrogène
- **H₂O** : Eau
- **H₂O₂** : Le peroxyde d'hydrogène
- **HCl** : Chlore d'hydrogène
- **HDL** : High Density Lipoproteins (lipoprotéines de haute densité)
- **HOCl** : L'acide hypochlorique
- **Ito** : cellules stellaires hépatiques (anciennement appelées cellules de Ito) ou cellules étoilées, sont des cellules présentes dans le parenchyme du foie
- **J** : Jour
- **Kg** : Kilogramme
- **LC₅₀** : concentration létale pour 50% des individus
- **LD₅₀** : dose létale pour 50% des individus
- **LDH** : Lactate déshydrogénase
- **LDL** : Lipoprotéine de Densité Légère
- **MDA** : Acide Malon-dialdéhyde
- **mg/kg** : milligramme par kilogramme
- **mg/l** : milligramme par litre
- **ml** : millilitre
- **Mn** : Manganèse
- **Mn-SOD** : SOD mitochondrial
- **MRP** : multi drug résistance related proteins
- **NADH** : Nicotinamide adénine dinucléotide réduit
- **NADPH** Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit

- **Nbre** : nombre
- **nm** : Nanomètre
- **NO** : Monoxyde d'azote
- **NO•** : L'oxyde nitrique
- **NO-2** : Nitrite
- **NO3-** : peroxy nitrite
- **NOS** : Nitric Oxyde Synthases
- **O** : oxygène
- **O°** : radical libre
- **O-2** : Oxyde
- **O2** : Dioxygène
- **O2•-** : Anion superoxyde
- **O2•-** : Radical superoxyde (anion superoxyde)
- **OH** : groupement hydroxyle
- **ONOO-** : Peroxynitrite
- **OP** : Organophosphoré
- **Pal** : Phosphatases alcalines
- **Pest** : pesticide
- **P-gp /ABCB1** : P-glycoprotéine
- **PHO** : phosalone
- **QR** : Quercétine
- **R** : Xénobiotiques
- **R'** : radical libre
- **RH** Radical libre oxygéné
- **RL** : radicaux libres
- **ROS** : Radicaux libres de l'oxygène
- **SDH** : Sorbitol déshydrogénase
- **Se** : Sélénium
- **SH** : groupement thiol
- **SNC** : système nerveux centrale
- **SOD** : Superoxyde dismutase
- **T** : Témoin
- **t/min** : Tour/minute
- **TBA** : L'acide thiobarbiturique

- **TCA** : Trichloroacétique
- **TGF β** : transforming growth factor beta
- **Ub** : Ubiquinone
- **UDP** : Uridine phosphrylase
- **UGTs** : UDP-glucuronyl-transférases
- **UV** : Ultra-violet
- **VLDL** : Very Low Density Lipoprotéin
- **YKL-40** : glycoprotéine
- **Zn** : Zinc
- **μ l** : Micro litre

Liste des tableaux

Tableau 01 : Modes d'action des insecticides

Tableau 02 : Intoxication par les pesticides en Algérie

Tableau 03: Structures des différentes classes de flavonoïdes et leurs sources alimentaires

Tableau 04 : Principales caractéristiques de la quercétine

Liste des figures

Figure 01 : schéma simplifié de dispersion des pesticides dans les milieux

Figure 02: Structure chimique du phosalone

Figure 03: Anatomie du foie

Figure 04 : Les fonctions hépatiques

Figure 05 : Schéma représentant la biotransformation des Xénobiotiques dans un hépatocyte. (R : Xénobiotiques, ERO : Espèce réactives de l'oxygène)

Figure 06 : Structure générale des flavonoïdes

Figure 07 : Le lapin de garenne *Oryctolagus cuniculus*.

Figure 08 : l'alimentation artificielle spécifique des lapins.

Figure 09 : Evaluation du poids corporel (PC) chez les différents groupes traité durant 15 jours par le PHO et la QR : changement cinétique du poids.

Figure 10 : Evaluation du poids corporel (PC) chez les différents groupes traité durant 15 jours par le PHO et la QR : différence entre poids initial et final.

Figure 11: Evaluation du gain de poids corporel (GP) chez les lapins témoins et traité après 15 jours de traitement par le PHO et la QR

Figure12 : Evaluation du poids relatif du foie (PR_F) chez les lapins traité durant 15 jours par le PHO et la QR.

Figure13 : variation de taux de protéine dans le foie chez les lapins témoins et traités durant 15 jours par le PHO et QR

Figure14 : variation de taux de MDA dans le foie chez les lapins témoins et traités durant 15 jours par le PHO et QR

Figure 15: variation de taux de GSH dans le foie chez les lapins témoins et traités durant 15 jours par le PHO et QR

Figure 16: variation de taux de GPX dans le foie chez les lapins témoins et traités durant 15 jours par le PHO et QR

Table des matières

Titre	Page
Remerciement	-
Dédicace	-
Abstract	-
Résumé	-
الملخص	-
Liste des figures	-
Liste des tableaux	-
Liste des abréviations	-
Introduction	01
Partie bibliographique	-
Chapitre I : pesticides	-
1. Généralité sur les pesticides	03
1.1. Définition	03
1.2. Classification des pesticides	03
1.2.1. premier système de classification (selon la nature d'espèce à combattre)	04
1.2.2. deuxième système de classification (selon la nature chimique de la principale substance active)	05
1.3. conception des pesticides	06
1.4. L'intérêt de l'utilisation des pesticides	06
1.5. Devenir des pesticides dans l'environnement	07
1.6. Toxicité des pesticides chez l'homme	08
2. Phosalone	09
2.1. Définition	09
2.2. Caractéristique de phosalone	10
2.3. Toxicité chez les mammifères	10
2.4. Mode d'action des organophosphorés	10
Chapitre II : Hépatotoxicité	-
1. Généralité	12
1.1. le foie	12
1.1.1. Anatomie du foie	12
1.1.2. Physiologie du foie	13
2. Les biomarqueurs de l'hépatotoxicité	15
2.1. Biomarqueurs de classe 1 (composants de la matrice extracellulaire Qui	15

Table des matières

reflètent l'activité fibrogénique et fibrolytique)	
2.2. Biomarqueurs de classe 2 (biomarqueurs indirects de la fibrose Hépatique reflétant l'activité fonctionnelle hépatique)	18
Chapitre III : Stress oxydant	-
1. Définition	19
2. Radical libre	19
3. Sources des radicaux libres	19
4. Principaux types des radicaux libres (ERO)	20
4.1. ERO radicalaires	20
4.1.1. L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$)	20
4.1.2. Le radical hydroxyle ($\bullet OH$)	20
4.1.3. L'oxyde nitrique ($NO\bullet$)	20
4.1.4. Les radicaux peroxydes ($ROO\bullet$)	21
4.2. ERO non radicalaires	21
4.2.1. L'oxygène singlet (1O_2)	21
	-
4.2.2. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)	21
4.2.3. Le peroxyde nitrite (NO_3^-)	22
4.2.4. L'acide hypochlorique ($HOCl$)	22
5. Effets des radicaux libres sur l'organisme	22
5.1. Peroxydation lipidique	22
5.2. Oxydation des protéines	22
5.3. Oxydation de l'ADN	22
6. Antioxydants	23
6.1. Système antioxydant enzymatique	23
6.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)	23
6.1.2. Catalase (CAT)	23
6.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)	23
6.2. Système antioxydant non enzymatique	23
6.2.1. Glutathion (GSH)	23
6.2.2. Oligoéléments	24
6.2.3. Ubiquinones et cytochrome c	24

Table des matières

6.2.4. Polyphénols	24
Chapitre III : quercétine	-
1. Généralité sur les flavonoïdes	26
2. Structure et classification des flavonoïdes	26
3. Définition de la quercétine	27
4. Propriétés de la quercétine	28
5. Mode d'action	29
6. Impact bénéfique de la quercétine sur l'organisme	29
Partie pratique	28
1. Matériel et méthode	-
1.1. Matériels	31
1.1.1. Matériel biologique	31
1.1.2. Produits chimiques	31
1.2. Méthodologie	32
1.2.1. Description et élevage	32
1.2.2. Choix des doses	31
1.2.3. Répartition et traitement des lapins	31
1.2.4. Evaluation de l'Hépatotoxicité de pesticide et l'effet préventif de la quercétine	31
1.2.4.1. Mesure de poids	31
1.2.5. Etude de l'Hépatotoxicité	31
2. Résultats et Discussion	-
2.1. Effets de pesticide et la quercétine sur les paramètres de la croissance globale	38
2.1.1. Poids corporel	38
2.1.2. Gain de poids (GP)	40
2.1.3. Poids relatif du foie (PR_F)	40
2.2. Effets de pesticide et la quercétine sur les paramètres biochimiques	41
2.3. Effets de pesticide et la quercétine sur les paramètres du stress oxydant	41
2.3.1. Les paramètres non enzymatiques	41
2.3.2. Les paramètres enzymatiques	43
3. Discussion	46
3.1. Effets de pesticide et la quercétine sur les paramètres de la croissance globale	47

Table des matières

3.2. Effets de pesticide et la quercétine sur les paramètres biochimiques	47
3.3. Effets de pesticide et la quercétine sur les paramètres du stress oxydant	47
3.3.1. Les paramètres non enzymatiques	47
3.3.2. Les paramètres enzymatiques	28
Conclusion	-
Références	-
Annexes	-

Introduction

Introduction

Introduction

L'utilisation des pesticides est un problème majeur de santé publique, tuant au moins 250-370,000 personnes chaque année. (**Behrend et al., 2003 ; Eframann, 2012**).

Les produits phytosanitaires ou pesticides sont utilisés contre différents types d'agresseurs qui peuvent être des virus, des bactéries, des champignons, des plantes (mauvaises herbes), des invertébrés (exemple : insectes, acariens, nématodes) et des vertébrés (exemple : rongeurs, oiseaux). Les pesticides sont regroupés en trois grandes familles, les herbicides, les insecticides et enfin les fongicides (**Ehrmann, 2012**).

Selon des travaux de recherche ultérieurs, la contamination par les pesticides, même à petites doses, induit notamment avec le temps, des effets néfastes sur la santé des populations, soit par une exposition directe à ces polluants, soit indirectement via les matrices alimentaires (**Mnif et al., 2011 ; Bonvallot, 2014**). Après les dégâts environnementaux de 1970 provoqués par quelques groupes de pesticides ; trois grandes familles d'insecticides ont dominé le marché : les organophosphorés, les organochlorés, les carbamates (**Meyer, 1999 ; Wauchope et al., 2002**).

Les organophosphorés (OP) sont des toxiques létaux, à action systémique prédominante, dont le mécanisme d'action principal est de bloquer la dégradation de l'acétylcholine au niveau des synapses cholinergiques par inhibition irréversible des cholinestérases (**Buffat et al., 1989 ; Seidel and Borak, 1992**), d'autres mécanismes encore mal connus aggravant cette toxicité (**Blanchet et al., 1991**).

Parmi les organophosphorés le phosalone qui stimule la production des radicaux libres ont génèrent un «stress oxydatif ».

L'utilisation des extraits végétaux dans la thérapeutique est préconisée car ces produits sont naturels, non-toxiques et très efficace. Les flavonoides sont des produits phénoliques à forte activité biologique et antioxydante.

Dans ce travail, nous avons évalué l'effet d'un flavonoïde: la quercétine sur le stress oxydatif hépatique induit par une intoxication au phosalone des lapins *Oryctolagus cuniculus*.

Nous avons pour cela mis au point le dosage de paramètre biochimique « protéine hépatique » ainsi que l'évaluation des paramètres du stress oxydant tissulaires « GSH, GPX, MDA ».

Introduction

La première partie de ce travail est une revue bibliographique portant sur les pesticides en tant que produits utiles mais toxiques, en mettant l'accent sur l'organophosphoré étudié, à savoir : le phosalone. Dans cette partie nous avons aussi des produits naturels et des flavonoïdes et leurs activités biologiques prononcées. Le stress oxydatif est le volet central de cette étude et a fait l'objet d'un chapitre de cette bibliographie.

La deuxième partie détaille le matériel biologique et chimique utilisé, ainsi que les protocoles expérimentaux adoptés.

Les résultats obtenus et leur discussion ont été abordés dans la troisième partie du manuscrit.

Nous finissons ce travail par une conclusion et des perspectives futures à explorer.

Chapitre I :

Pesticides

Partie bibliographique

Chapitre I : Pesticides

1. Généralité sur les pesticides:

Les pesticides ont été appliqués de manière préventive afin de repousser ou d'atténuer les effets des organismes nuisibles.

Bien que la plupart d'entre eux aient été interdits de nombreux pays en raison d'effets mutagènes et cancérigènes, les pesticides et leurs métabolites sont toujours présents dans l'environnement, en particulier dans les sols et les sédiments, en raison de leur persistance et leurs propriétés lipophiles **(Tor et al., 2006)**

La qualité de pesticides en contact direct avec les microorganismes ciblés est extrêmement faible par rapport à la quantité appliquée.

Des effets secondaires indésirables peuvent alors se produire sur certaines espèces, sur les communautés ou sur l'écosystème **(Hayo et Vanderwerf, 1996)**.

1.1. Définition des pesticides

Le terme de pesticide provient du mot anglais « Pest » qui désigne toute espèce végétale ou Animale nuisible aux activités humaines. Les pesticides regroupent un nombre important de Molécules **(Bonan & Prime, 2001)**. "Pesticides" est une appellation générique couvrant toutes les substances (molécules) ou produits (formulations) qui éliminent les organismes

Nuisibles, qu'ils soient utilisés dans le secteur agricole ou dans d'autres applications **(Ramade, 2002)**.

Les pesticides, appelés aussi produits phytosanitaires, produits agropharmaceutiques ou bien même produits antiparasitaires **(Periquet, 2004)**.

1.2. Classification des pesticides

En général les substances actives sont classées **(Calvet, 2005, Barriusso et al, 2005)** En fonction de :

-la nature de l'espèce à combattre (premier système de classification),

-la nature chimique de la principale substance active (deuxième système de classification).

1.2.1. Premier système de classification (selon la nature de l'espèce à combattre) :

Il repose sur le type de parasites à contrôler. Il existe principalement trois grandes familles d'activités **(El Mrabet, 2006)**.

1.2.1.1. Les herbicides :

Ce sont les plus utilisés dans le monde en tonnage et en surface ; ils permettent d'éliminer les mauvaises herbes des cultures.

1.2.1.2. Les insecticides :

Ce sont les premiers pesticides utilisés et les plus utilisés en Algérie. Ils sont destinés à détruire les insectes nuisibles.

1.2.1.2.1 Mode d'action des insecticides :

La plupart des insecticides sont des substances neurotoxiques (Scotti, 1978), elles provoquent une hyperactivité générale, perturbant les mouvements, l'alimentation et entraînent des tremblements et ou des convulsions, aboutissant à la paralysie et à la mort de la cible (Regnault & Roger, 2002). D'autres par contre agissent sur les mécanismes respiratoires (Park et al., 2002) et pénètrent dans la cible soit par contact, soit par ingestion ou encore par inhalation (Regnault & Roger, 2002).

Les insecticides tuent les insectes ou empêchent le déroulement normal d'une des fonctions essentielles de leur cycle de vie (éclosion des œufs par exemple) (tableau 01) (Periquet et al., 2004).

Tableau 01 : Modes d'action des insecticides (Periquet et al., 2004)

<p>Action sur le système nerveux</p> <ul style="list-style-type: none"> • Action sur les synapses et les neuromédiateurs • Action sur la transmission axonale 	<p>Action sur la cuticule</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inhibition de la chitine
<p>Action sur la respiration</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inhibition du transport des électrons dans les mitochondries • Inhibition de la phosphorylation oxydative 	<p>Perturbateurs de mue</p> <ul style="list-style-type: none"> • Action sur l'ecdysone • Action sur l'hormone juvénile

1.2.1.3. Les fongicides :

Ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent de graves dommages aux végétaux cultivés. Ils combattent la prolifération des champignons pathogènes (**Margoum, 2010**)

Outre, ces trois grandes familles ; d'autres être citées en exemple :

- Les taupicides contre les trapues
- Les acaricides contre les acariens
- Les rodenticides contre les rongeurs
- Les nématocides contre les nématodes et les vers
- Les molluscicides contre les mollusques, limaces et escargots
- Les corvicides contre les corbeaux et tous les oiseaux ravageurs de cultures.

1.2.2. Deuxième système de classification

Le classement se fait en fonction de la nature chimique de la substance active.

On distingue :

1.2.2.1. Les pesticides organiques

- Organochlorés
- Organophosphorés
- Carbamates
- Triazines
- Urées substituées
- Pyréthrénoïdes

1.2.2.2. Les pesticides inorganiques

En général ce sont des éléments chimiques qui ne se dégradent pas. Leur utilisation entraîne souvent de graves effets toxicologiques sur l'environnement par accumulation dans les sols, le plomb, l'arsenic et le mercure sont fort toxiques (**Boland et al . ,2004**)

1.2.2.3. Les biopesticides

Ce sont des substances dérivées de plantes ou d'animaux.

Elles peuvent être constituées d'organismes tels que les :

-moisissures

-bactéries

-virus

-nématodes

-composés chimiques dérivés de plantes

-phéromones d'insectes.

La présence de certains groupements et/ou atomes confère aux pesticides

Certaines propriétés physico-chimiques (ionisabilité, hydrophobie, solubilité, persistance).

1.3. Conception des pesticides

Un pesticide est composé d'un ensemble de molécules comprenant :

- **une ou plusieurs matières actives** à laquelle est du tout ou en partie l'effet toxique.
- **un diluant** qui est une matière solide ou liquide (solvant) incorporé à une préparation et destiné à en abaisser la concentration en matière active. Ce sont le plus souvent des huiles végétales dans le cas des liquides, de l'argile ou du talc dans le cas de solides.
- **Des adjuvants** qui sont des substances dépourvues d'activité biologique, mais susceptibles de modifier les qualités du pesticide et d'en faciliter l'utilisation. (Fournier et al, 2002)

I.4. L'intérêt d'utilisation des pesticides

Le monde agricole a connu une révolution qui l'a progressivement fait passer à une activité industrielle. L'augmentation des rendements s'est faite en parallèle à une utilisation intensive de produits phytosanitaires (Karami et al., 2011). Aujourd'hui, on assiste à une explosion de l'utilisation de ces produits souvent désignés avec une nuance péjorative par le public sous le terme de « pesticide » dans plusieurs domaines, agricole domestique, l'industrie et en médecine, comme indiquées en dessous (Rajapakse et al., 2012).

I.4.1. En agriculture

Les pesticides sont utilisés pour lutter contre les insectes, les champignons et les herbes estimés nuisibles à la production et à la conservation de culture et produit agricoles ainsi que pour le traitement des locaux, elle a fortement contribué à l'amélioration des rendement agricoles et permit un énorme progrès dans la maîtrise des ressources alimentaires (Buckley et al., 2011).

I.4.2. Domestiques

Souvent utilisée dans des applications comme la protection du bois contre les champignons ou les termites, les insecticides ménagers (les mouches, les moustiques) les produits antiparasitaires (anti-acariens, antipuces ...etc.) (Truchon et al., 2012).

I.4.3. Dans l'industrie

En vue de la conservation de produits en cours de fabrication (textiles, papiers) vis-à-vis des moisissures dans les circuits de refroidissement vis-à-vis des algues et pour la désinfection de locaux.

I.4.4. En médecine

Le but principal d'utilisation des pesticides dans le domaine de la médecine est l'amélioration de la santé publique, en particulier en luttant contre les insectes, vecteurs de pathologies contre certaines maladies comme paludisme, typhus et autres épidémies (Benziane, 2012).

I.5. Devenir des pesticides dans l'environnement

Les recherches consacrées à la dispersion des pesticides dans l'environnement ont prouvé la présence de ces produits dans plusieurs points de la biosphère qui n'ont subi aucun traitement (Hayo,A ; Vanderwerf, M.G., 1996)

Malgré un souci croissant de protection de l'environnement, lors de l'utilisation des Produits phytosanitaires, une certaine quantité de ces substances se retrouve dans L'environnement, principalement dans l'air par dérive sous forme de gouttelettes ou sur le sol (Pimentel, 1995).

Ils peuvent alors être soumis à différents processus :(Ineris, 2005)

- la photo-dégradation (Marcheterre et al., 1988).
- la dégradation par le phénomène d'hydrolyse aqueuse (Wolfe et al., 1990) ou de Biodégradation grâce aux micro-organismes présents dans le sol (Colin, 2000).
- La rétention dans le sol jusqu'à la formation de résidus liés (adsorption) (par exemple l'accumulation des fongicides à base de cuivre dans les sols).
- Le transport vers d'autres compartiments environnementaux par des processus physicochimiques (Van Der Werf, 1996).

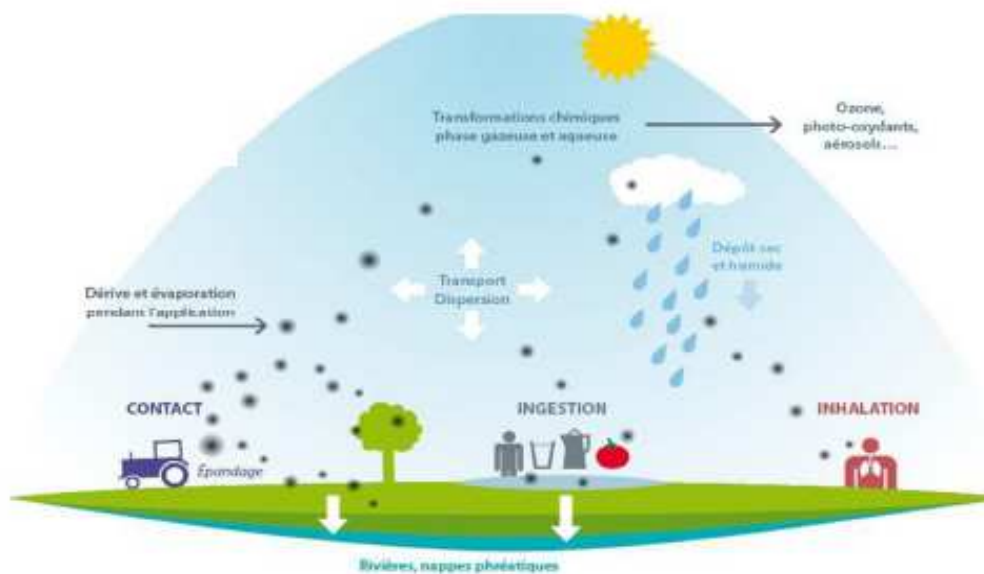


Figure 01 : schéma simplifié de dispersion des pesticides dans les milieux (Van Der Werf, 1996)

1.6.Toxicité des pesticides chez l'homme

- Toxicité aigüe (ou a court terme) :

Elle se manifeste généralement immédiatement ou peu de temps (quelques minutes, heures ou jours) après une exposition unique ou de courte durée a un pesticide .

Les cas d'intoxication aigue par les pesticides représentent une morbidité une mortalité conséquentes dans l'ensemble du monde . les pays en développement sont particulièrement vulnérables en raison d'un manque de réglementation , de systèmes de surveillance , d'application des règles et de formation et d'une insuffisance de l'accès aux systèmes d'information . des études antérieures ont mis en évidence une grande variabilité des taux d'incidence de ces intoxications aigues (BOMS, 2008).

- **La toxicité chronique** , survient normalement suite a l'absorption répétée de faibles doses de pesticides . le délai avant l'apparition de symptômes ou d'une maladie peut être très long . dans certains cas , il peut être de plusieurs années . les effets chroniques des pesticides sur la santé sont typiquement le cancer . d'autres effets ont été observés chez les mammifères tels que la perturbation du développement du fœtus et le dérèglement des systèmes reproducteurs , endocriniens , immunitaires et/ ou nerveux central.

Des études épidémiologiques ont aussi soulevé la possibilité de problèmes hépatiques , rénaux , immunologiques , cardio – vasculaires , endocriniens, respiratoires , hématologiques , oculaires , gastro – intestinaux ainsi que des modifications du comportement . ces effets sont normalement

observés après plusieurs mois ou plusieurs années d'exposition . certaines études ont associé l'apparition de certaines formes de cancers (leucémie , lymphomes non – hodgkiniens et cancer des poumons) a l'utilisation des organophosphorés (**Direction de la toxicologie Humaine Québec, 2007**)

Le nombre d'empoisonnements par les pesticides est estimé a trois millions de cas tous les ans avec environ 220000 décès . 95 % d'empoisonnements mortels par les pesticides se produisent dans les pays en voie de développement (**Dubus et al., 2001**)

En algérie , le profil des intoxications par les pesticidesn reste le meme depuis plus de dix ans (14%) (**CAA, 2011**)

Tableau 2. Intoxication par les pesticides en Algérie (Centre Antipoison Alger 2011)

Année	2005	2006	2007	2008
Nbre de cas	519	-	685	715

2. Le phosalone

2.1. Définition: le PHO est un insecticide et acaricide non systémique, à large spectre, utilisé Sur les arbres à fruits décidués, sur les légumes du jardin, sur le coton, les pommes de terre. Son activité insecticide peut durer 12 à 20 jours (**Grandjean, Landrigan., 2006**).

- **Nom pour utilisation professionnelle :** Azonfene, Benzofos, Rubitox, Zolone and RP 11974
- **Formule moléculaire brute :** C₁₂H₁₅ClNO₄PS₂
- **Structure chimique (fig2)**

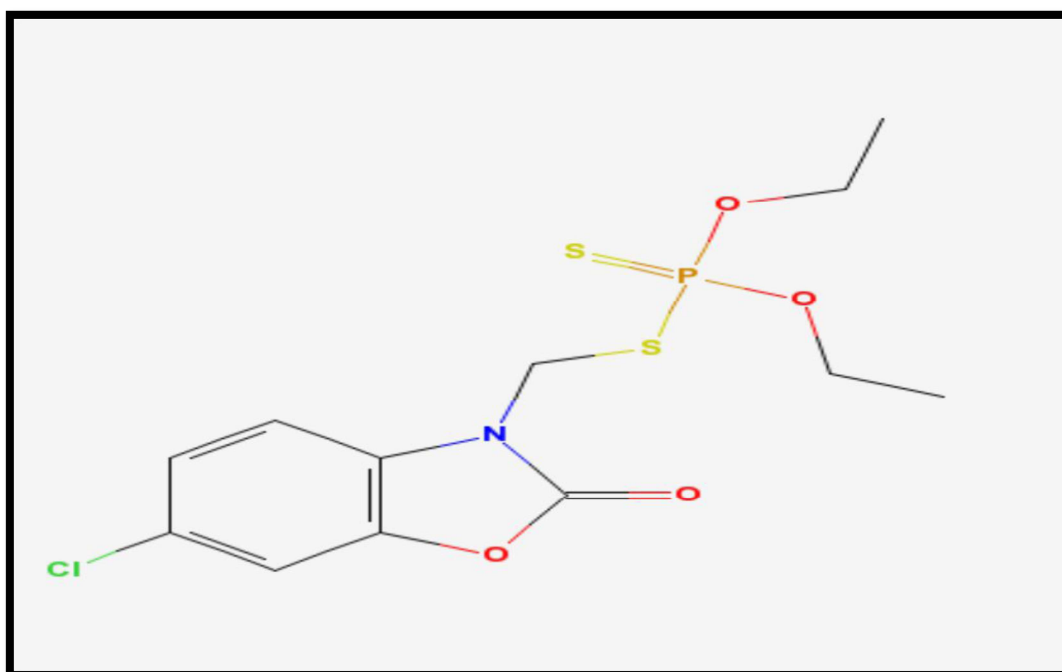


Figure 02: Structure chimique du phosalone

- **Noms chimiques:** S-6-chloro-2, 3-dihydro-2-oxobenzoxazol- 3-ylmethyl O

2.2. Caractéristiques de phosalone

- **Propriétés physiques:**

Masse moléculaire : 367,82

Solubilité dans l'eau : 10 mg/l à température ambiante

Point de fusion : 45-48°C

La pression de vapeur : négligeable à température ambiante

Logarithme de son coefficient de partage octanol-eau : 3,77 – 4,38 (élevé)

- **Persistence**

Dans l'eau, la PHO est stable à pH 7 et a une demi-vie de 9 jours à un pH de 9. La PHO se dégrade rapidement dans le sol (1-7 jours). La dissipation complète du produit des feuilles d'arbres fruitiers peut durer 1 à 9 semaines.

2.3. Toxicité de phosalone chez les mammifères:

Chez les mammifères, la toxicité aiguë est modérée.

La LD50 de la PHO par voie orale se trouve entre 82 et 205 mg/kg chez les rats mâles et entre 90 et 170 mg/kg pour les rats femelles. Elle est comprise entre 73 et 205 mg/kg chez la souris. Elle a été établie à 2000 mg/kg chez les lapins. Chez les rats, en exposition chronique par voie orale, 2,4 mg/kg/Jour est répertorié comme le niveau le plus bas sans effet sur l'activité de l'AChE plasmatique et 7,5 mg/kg/Jour durant 1 mois paraît ne pas donner d'effet systémique observable. La toxicité est très forte pour les organismes aquatiques. Par exemple, la LC50 pour la truite arc-en-ciel est de 0.3 à 0.63 mg/l (Grandjean, Landrigan., 2006).

2.4. Le mécanisme d'action des organophosphorés

Après absorption, de nombreux OP doivent être activés par des oxydases, des hydrolases

Et des transférases au niveau hépatique avant d'être toxiques pour l'homme, la connaissance de ces mécanismes permettant de déterminer le délai d'apparition des manifestations toxiques

(Hayes et al., 1989). Leur mécanisme d'action neurotoxique implique l'inhibition de l'AChE. Cette inhibition se réalise lorsque les organophosphorés vont se fixer sur le groupe hydroxyle de la serine du site actif de l'AChE, ce qui empêche la liaison de cette enzyme avec l'acétylcholine.

L'AChE est une enzyme estérase nécessaire au fonctionnement des synapses du système nerveux central et de la jonction neuromusculaire. En effet, cette enzyme extracellulaire hydrolyse en quelques

millisecondes l'acétylcholine libre dans la fente synaptique, en acétate et choline. Elle fournit un des moyens de mettre un terme à l'activation des récepteurs cholinergiques (**Milan et al., 2006**).

L'inhibition de l'AChE provoque une accumulation de l'acétylcholine libérée dans la fente synaptique lors d'une stimulation nerveuse, menant à une hyperstimulation des récepteurs cholinergiques. En conséquence, le passage de l'information nerveuse est perturbé jusqu'au non fonctionnement des synapses, ce qui peut mener à l'apparition de divers troubles nerveux pouvant aller jusqu'à la mort de l'individu (**Lotti, 1995**).

2.4.1. L'inhibition de l'acétylcholinestérase par les organophosphorés

La plupart des OP (dont le CPF et la PHO) sont synthétisés sous une forme assez peu toxique, dans laquelle le phosphore est lié à un soufre par une double liaison. La forme active des OP est leur métabolite dit « oxon », forme dans laquelle le double liaison $P=S$, est substitué par une liaison $P=O$. C'est donc cette forme qui est plus particulièrement capable d'inhiber fortement la famille des cholinestérases dont l'AChE. En ce qui concerne le CPF, il exerce cette action sur les cholinestérases, principalement via son métabolite actif, le CPF oxon (CPO). L'interaction entre les formes « oxon » et l'AChE se fait de manière covalente par phosphorylation de la sérine du centre catalytique. Cette liaison entre les OP et l'AChE est

Irréversible avec la plupart des OP à l'exception des OP diméthyles (**Lotti, 1995**).

L'inhibition de l'enzyme AChE provoque une accumulation d'acétylcholine dans les synapses et une sur stimulation des récepteurs muscariniques et nicotiniques provoquant un certain nombre de troubles et symptômes décrits plus bas dans les effets toxiques des OP (**Costa, 2006**).

Chapitre II :

Hépatotoxicité

Chapitre II : Hépatotoxicité

1. Généralité :

L'Hépatotoxicité est définie comme le pouvoir d'une substance (comme les médicaments les métaux lourds et les produits industriels et les pesticides) à provoquer des dommages au foie.

La toxicité du foie se manifeste sous forme d'inflammation (on parlera d'hépatite) ou encore de Nécrose (mort des cellules du foie), dans les cas plus sévères. La stéatose hépatique survient lorsqu'il y a accumulation des acides gras dans le foie.

Le foie est un organe important car il permet à notre organisme d'éliminer les substances nuisibles aux quelles nous sommes quotidiennement exposés (**Dana, Benichou ., 1993**)

1.1. Le foie

1.1.1. Anatomie du foie :

Le foie est un organe thoraco-abdominal, la majeure partie de cette glande est logée sous la très profonde coupole diaphragmatique droite qui le sépare du poumon droit et d'une partie du cœur. C'est un organe rougeâtre, riche en sang et très malléable, qui s'adapte, se moule sur les parois de l'abdomen et les viscères voisins (**Paraf, Rautureau ., 1973**)

Il est enveloppé par une capsule conjonctive, ou capsule de Glisson, qui s'invagine profondément en formant plusieurs sillons permettant de définir les quatre lobes (**Lullmann, Rauch ., 2008**) (**Dadoue et al ., 2000**)

Parmi ces derniers, le lobe droit, le plus grand, est visible sur toutes les faces du foie, il est séparé du lobe gauche, plus petit, par une profonde fissure, le lobe caudé, le plus postérieur, et le lobe carré, situé sous le lobe gauche, sont visibles lorsqu'on examine le foie de dessous .. Etant un organe essentiel à la vie, le foie possède toutes les caractéristiques d'une glande exocrine d'une part, en étant responsable de la sécrétion de la bile, et d'une glande endocrine d'autre grâce à sa situation sur le courant sanguin et à la disposition particulière de sa vascularisation. Il se singularise par rapport à la plupart des autres organes par son double apport sanguin : l'artère hépatique lui apporte le sang de la circulation générale, tandis que la veine porte lui apporte le sang de la rate, de l'estomac, du pancréas et surtout de l'intestin, ce qui lui permet de recevoir les nutriments absorbés par l'intestin avant leur passage dans la circulation générale (**Myer ,1982**)

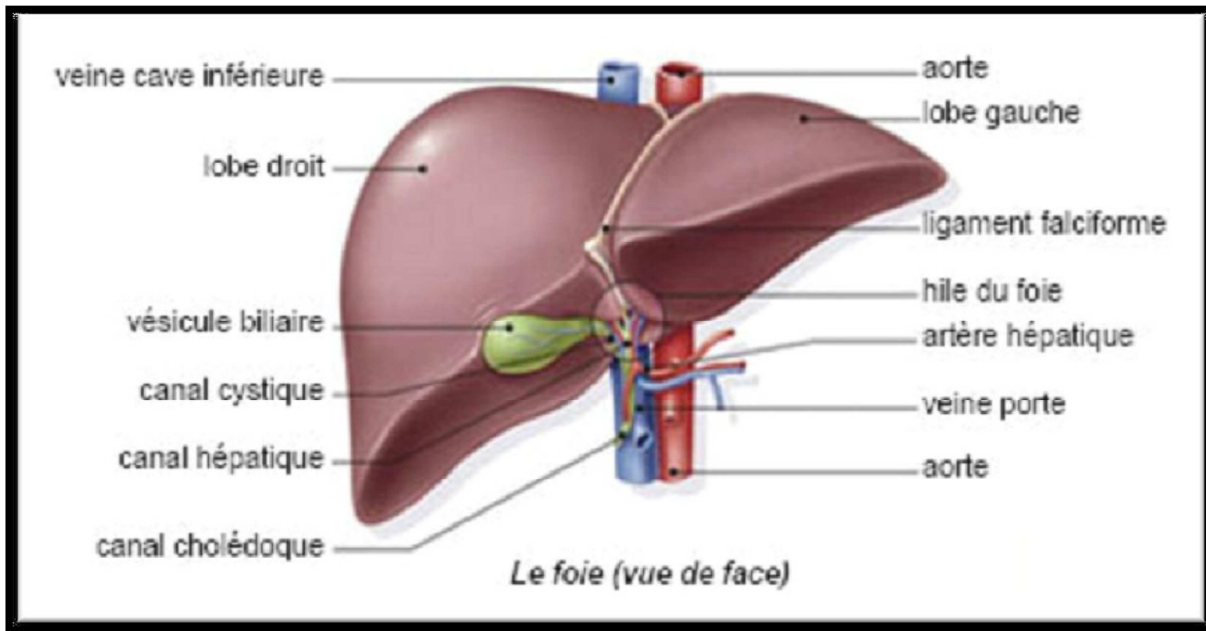


Figure 03: Anatomie du foie (Fortin, 2002).

1.1.2. Physiologie

Le foie est le siège de nombreuses fonctions métaboliques, immunologiques et endocrines. Il reçoit le sang oxygéné du cœur via la veine porte et du sang désoxygéné de l'intestin via l'artère hépatique. Le sang circule à-travers un réseau de capillaires discontinus perméables appelés les sinusoides pour atteindre les veines Centro-lobulaires.

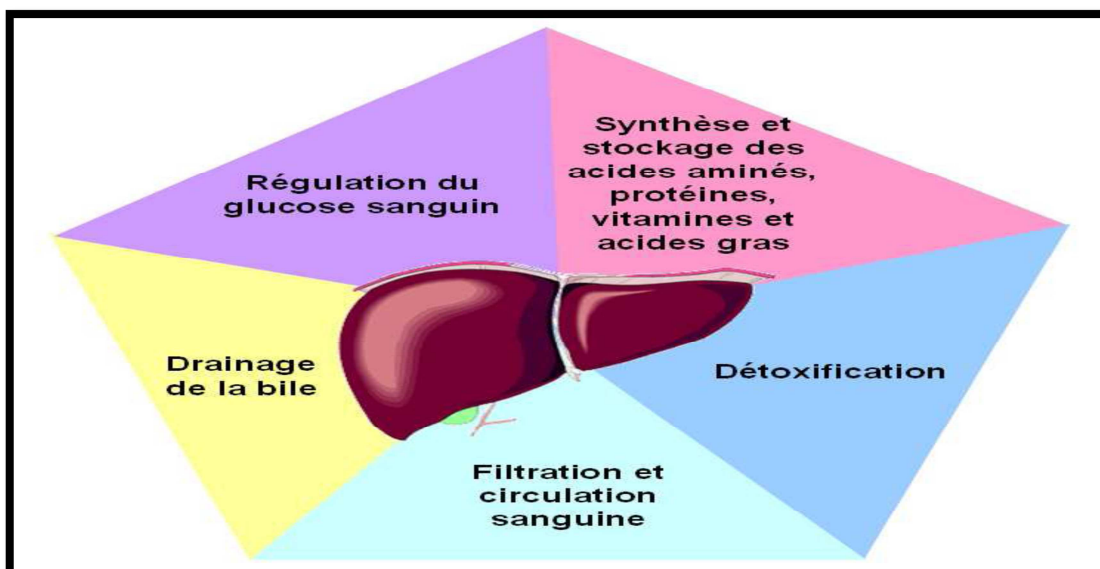


Figure 04 : Les fonctions hépatiques (Camille, 2014)

Il joue un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions vitales (**Figure 04**) :

- Une fonction glycogénique régulant le taux de glucose sanguin, en stockant le glucose sous forme de glycogène.
- La synthèse de la majorité des protéines plasmatiques (sérum-albumine, fibrogène, Complexe prothrombinique), à l'exception des immunoglobulines.
- La synthèse et la dégradation des lipides et des lipoprotéines (LDL, VLDL, HDL, Cholestérol).
- Une fonction d'uréogénèse (élimination, sous forme d'urée, de substances produites par la dégradation des acides aminés).
- Une fonction de détoxification de composés exogènes (xénobiotiques) et endogènes.

Il a également une fonction exocrine avec la sécrétion biliaire ; il produit un litre de bile par jour et la sécrète, *via* les canalicules biliaires, dans les canaux biliaires vers le duodénum.

1.1.2.1. La fonction de détoxification du foie

L'organisme est sans cesse exposé à des composés exogènes indésirables qu'il doit éliminer.

Ceux-ci incluent des polluants, des toxines naturelles et des médicaments. Un xénobiotique hydrophile peut être rapidement éliminé par des mécanismes de transport membranaire. En revanche, s'il est hydrophobe, il doit être métabolisé et rendu hydrophile pour être éliminé. Chez les mammifères, le siège majeur de la biotransformation des xénobiotiques est le foie, et celle-ci s'opère essentiellement au niveau des hépatocytes. Les processus de biotransformation incluent habituellement plusieurs phases (**Figure 05**):

- **La phase I** (ou phase de fonctionnalisation) correspond principalement à des réactions d'oxydation mais aussi à des réactions de réduction et d'hydrolyse, catalysés par les cytochromes P450 (CYPs).
- **La phase II** (ou phase de conjugaison) est assurée par les enzymes dites de phase II qui catalysent le transfert d'un ligand endogène sur le métabolite de phase I. Ces enzymes comprennent les glutathion-S-transférases (GSTs), les UDP-glucuronyl-transférases (UGTs), les sulfotransférases, les N-acétyl transférases, les époxydes hydrolases, les méthyl transférases et les acyl-CoA transférases (conjugaison à des acides aminés).
- **La phase III** correspond à l'excrétion des conjugués hors de la cellule. Ce processus est assuré par des transporteurs membranaires actifs tels que la P-glycoprotéine (P-gp / ABCB1) et les multi drug resistance related proteins (MRP) (**Omura & Sato, 1964**).

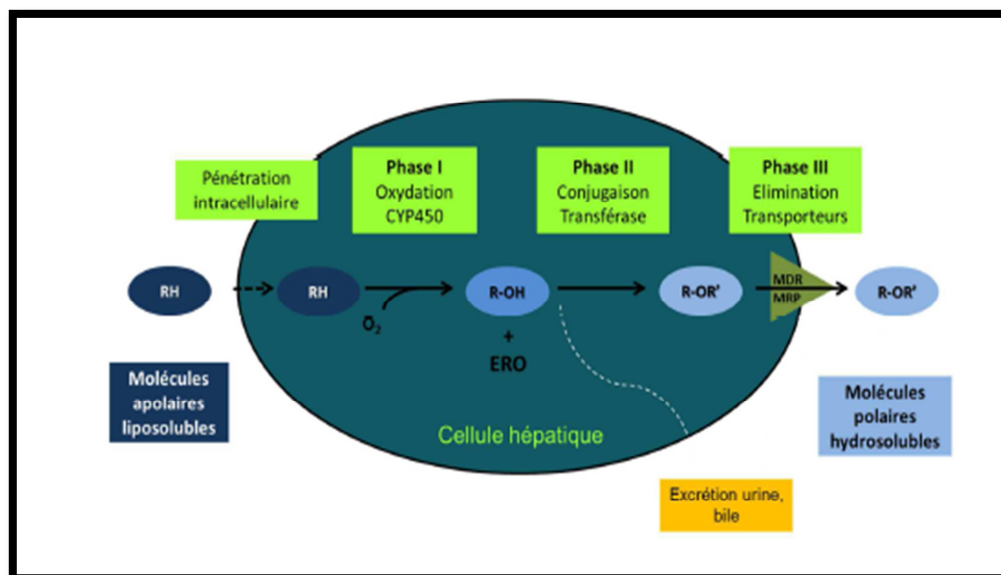


Figure 05 : Schéma représentant la biotransformation des Xénobiotiques dans un hépatocyte. (R : Xénobiotiques, ERO : Espèce réactives de l'oxygène (Camille, 2014) .

2. Biomarqueurs de la toxicité hépatique

2.1. Biomarqueurs de classe 1 : composants de la matrice extracellulaire

Qui reflètent l'activité fibrogénique et fibrolytique

La présence de constituants de la matrice extracellulaire ou de médiateurs

Intervenant dans sa formation reflète l'activité fibrogénique et fibrolytique : ce sont des biomarqueurs de classe 1.

- **Acide hyaluronique**

L'acide hyaluronique est synthétisé par les cellules de Ito activées et secrété dans le torrent circulatoire. Sa demi-vie sérique est de 6 à 9 minutes.

En 1985, une étude a montré que les taux d'acide hyaluronique mesuré chez 119 patients humains atteints d'hépatite chronique étaient augmentés de façon significative chez les patients atteints de cirrhose. (Engstrom et Laurent .,1985).

- **Laminine**

Les taux de laminine sont significativement augmentés lors d'hypertension portale. En revanche, ce marqueur n'est pas spécifique de la présence de fibrose, bien que ses valeurs soient augmentées en cas d'hépatite chronique, ce qui explique sa précision diagnostique médiocre (46%) (Cai, 2004).

- **Glycoprotéine YKL-40**

La glycoprotéine YKL-40 constitue un facteur de croissance pour les fibroblastes et

Est exprimée par les cellules de Ito. Ses taux plasmatiques sont augmentés chez les patients humains atteints d'hépatite C, comparativement à des individus sains. (Gressner, 2014)

CRP

La protéine C-réactive (CRP) est une protéine spécifique de l'inflammation synthétisée par le foie. L'intérêt de son dosage réside dans sa cinétique : ce marqueur est à la fois précoce et précis car son délai de synthèse est de 6h et le retour aux valeurs usuelles a lieu en quelques heures. Par ailleurs, son taux sanguin - dont les valeurs usuelles sont inférieures à 5 mg/L - augmente rapidement d'un facteur 100 à 1000 lors d'inflammation. L'installation des hépatites chroniques étant associée à des processus inflammatoires,

Le taux de CRP significativement élevés chez les individus atteints d'hépatite chronique B et C. (Ma, 2015 ; Sjowall, 2012).

2.2. Biomarqueurs de classe 2 : biomarqueurs indirects de la fibrose Hépatique reflétant l'activité fonctionnelle hépatique

Les biomarqueurs de classe 2 sont des marqueurs de l'intégrité et de la fonctionnalité hépatocytaire. Le foie ayant des rôles divers dans l'organisme, ces paramètres sont variés.

2.2.1. Marqueurs de cytolyse :

Alanine aminotransférase (AlAT)

Chez le chien l'activité hépatique de L'AlAT est 10 000 fois supérieure aux autres, expliquant sa spécificité dans l'évaluation des dommages hépatocellulaires. L'AlAT est un marqueur précoce et spécifique de lésions hépatocellulaires ou de modification -réversible ou non- de la perméabilité membranaire des hépatocytes chez le chien : en cas de nécrose ou d'inflammation, sa concentration est multipliée par cent en 24 à 48 heures,

Bien que ce marqueur soit précoce, sa clairance est lente (temps de demi-vie Plasmatique de 50h), ce qui implique que la restauration de l'intégrité hépatocellulaire ne peut pas être évaluée avant deux à trois semaines. (Tennant, 2008)

Aspartate aminotransférase (ASAT)

L'aspartate aminotransférase est une enzyme cytosolique (20%) et mitochondriale (80%). Elle n'est pas spécifique du foie car elle est aussi produite dans le cœur, les Hématies, les muscles, les reins, et le pancréas.

Son intérêt réside dans sa sensibilité élevée et dans sa demi-vie bien plus courte que Celle de l'AlAT : la demi-vie de l'AsAT cytosolique est de 14h et celle de l'AsAT Mitochondriale de 6h. Par ailleurs, en cas de nécrose ou d'inflammation hépatique, les taux plasmatiques sont multipliés par 100 en 24-48h.

Sorbitol déshydrogénase (SDH)

Cette enzyme, qui catalyse la réaction de réduction du sorbitol (issu du glucose) en Fructose, est très spécifique de l'activité des hépatocytes. En revanche, elle n'est pas Spécifique d'une pathologie, et son dosage ne semble pas présenter d'avantage Diagnostique comparativement au dosage de l'AlAT. (Tennant, 2008)

Lactate déshydrogénase (LDH)

Le lactate déshydrogénase catalyse la réaction de conversion de l'acide pyruvique en L-lactate ainsi que l'oxydation du 2-hydroxybutyrate. Une augmentation importante du taux de LDH est un signe précoce de souffrance cellulaire. Cette enzyme, présente dans de nombreux tissus et organes (rein, cœur, muscles, pancréas, rate, foie, cerveau, poumons, peau, globules rouges), prend la forme de 5 isotypes. Lors de fibrose hépatique, on rencontre une élévation de l'activité de LDH totale, de l'isoenzyme 4 et de l'isoenzyme 5, cette dernière étant spécifique du foie et des muscles squelettiques. (Ahmad, 2012)

Glutamate déshydrogénase (GDH)

Le glutamate déshydrogénase est une enzyme mitochondriale hépatique et rénale, Qui intervient dans la synthèse de l'urée. Ce marqueur est spécifique de lésions hépatocellulaires, toutefois son activité hépatique limitée chez le chien est à l'origine de sa faible sensibilité et en fait un marqueur peu intéressant. (Tennant, 2008).

2.2.2 Marqueurs d'affections hépatobiliaires**Phosphatases alcalines (PAI)**

Les phosphatases alcalines sont des métalloprotéines dont la concentration Plasmatique est augmentée lors d'hépatite chronique. Par ailleurs, l'augmentation des valeurs des Pal indique aussi bien la présence d'une choléstase que d'un processus de fibrose avancé associé à un dysfonctionnement hépatique majeur (Tennant, 2008)

Gammaglutamyl transférase (GGT)

La gammaglutamyl transférase est une enzyme membranaire hépatique (hépatocytes de la zone périportale), biliaire, rénale, pancréatique et intestinale. Son activité est augmentée lors de stress oxydatif ou de destruction cellulaire car elle est alors dissoute dans le plasma. Son dosage est plus spécifique de lésions hépatobiliaires,

Ce marqueur est toutefois peu sensible, son activité n'étant que modérément augmentée, et de façon ponctuelle, en cas de lésions hépatocytaires (**Tennant, 2008**)

Chapitre III:

Stress oxydant

Chapitre III: Stress oxydant**1. Définition**

Le stress oxydant se définit classiquement comme un déséquilibre de la balance entre Les systèmes de défenses antioxydants et la production des ROS (espèce réactif de l'oxygène), en faveur de ces dernières (**Favier, 2003**).

2. Radicaux libres :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) possédant un électron non apparié à son orbite extérieur ce qu'il rend instable, et se stabiliser en se fixant sur des molécules biologiques, il existe 2 grands familles d'espèces réactives (**Sies, 1991**):

□ **ERO:** sont produits au début à la réduction ou l'oxydation de l'oxygène singlet $1O_2$ en anion superoxyde $O_2^{\circ-}$ - celle-ci va déclencher une cascade de réactions qui donne naissances aux multiples dérivés de l'oxygène actif.

□ **ERN:** issu de l'activité d'enzyme NO synthase qui libère le mono-oxyde d'azote NO. Et ce dernier va donner plusieurs dérivés d'ERN.

3. Sources des radicaux libres :

Les ERO et ERN peuvent être, soit de source exogène, soit de source endogène. Les sources exogènes sont surtout d'origines physique et chimique (par exemple les radiations X ou gamma, les UV [315-400 nm], la radiolyse de l'eau, les réactions photochimiques ...).

Concernant les origines endogènes, le principal précurseur des ERO et ERN est l'anion Superoxyde ($O_2^{\circ-}$), provient de différentes sources cellulaires (**Devasagayam et al., 2004**).

L'anion superoxyde peut être formé à partir des enzymes qui se retrouvent dans la paroi vasculaire telle que les NADPH oxydases qui font intervenir la NADH ou la NADPH.

L'oxydation de l'acide arachidonique lors de son métabolisme par les lipo-oxygénases ou Les cyclo-oxygénases permis la formation deshydro-peroxydases indispensables pour les Leucotriennes.

La xanthine oxydase qui joue un rôle très important dans la production des RL tel que l'anion superoxyde et le Peroxyde d'hydrogène lors de la perfusion ou de l'ischémie (**Devasagayam et al., 2004**).

Au niveau de la mitochondrie la réduction de l'oxygène par les voies enzymatiques permet la formation de l' H_2O qui subit une réduction mono-électronique qui conduit à la production de l'anion superoxyde, Ce dernier intervient dans d'autres réactions en produisant le radical hydroxyle (**Michelson, 1982**).

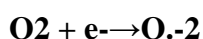
4 .Principaux types des radicaux libres (ERO)

4.1. ERO radicalaires

4.1.1. L'anion superoxyde (O₂^{•-})

C'est l'une des premières ERO à être formées, l'espèce la plus couramment générée par la cellule ; relativement stable, elle n'est pas très toxique pour l'organisme. Mais elle est à l'origine de cascades de réactions conduisant à la production de molécules très nocives. ; L'anion superoxyde (O₂^{•-}) peut provenir de plusieurs sources cellulaires. Il est formé après

Réduction d'une molécule d'O₂ par un électron et en présence d'un cofacteur NADPH.



Les différentes enzymes permettant cette réaction sont : la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, les cyclo-oxygénases ou COX, les lipo-oxygénases, les oxyde nitrique synthases

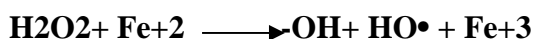
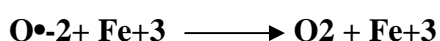
NOS (Nitric Oxyde Synthases), les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450) et celles de la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie (**Gbadegesin et al, 2013**)

4.1.2. Le radical hydroxyle (•OH)

Le radical hydroxyle (•OH) peut être induit par la réduction de l'H₂O₂ selon la réaction d'Haber-Weiss engendrant alors un ion •OH inoffensif et un radical hydroxyle •OH.



Cette réaction est lente et probablement inopérante dans les tissus vivants. Mais en revanche, en présence de métaux de transition (fer, cuivre), l'H₂O₂ donne naissance in vivo via la Réaction de Fenton a un radical hydroxyle HO• hautement réactif.

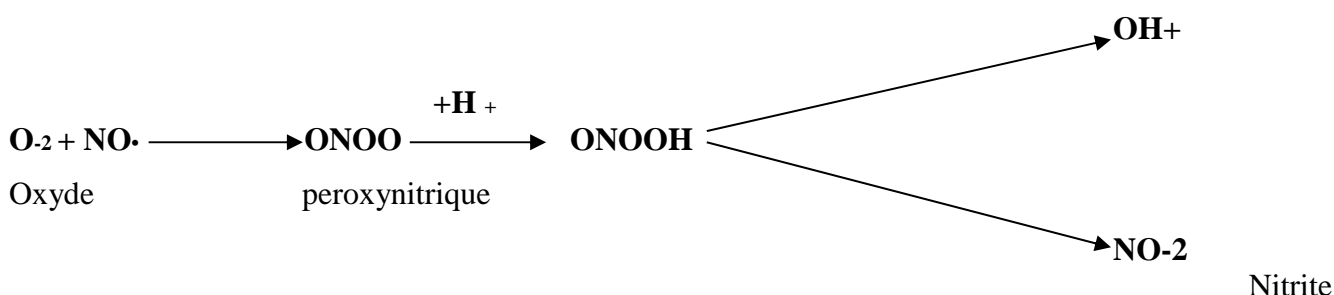


Il est certainement l'ERO la plus destructrice pour la cellule et ses composants. Malgré une durée de vie très brève et l'impossibilité pour lui de franchir les membranes, il possède une Très grande réactivité liée à un potentiel oxydant très élevé (**Robineau et al, 2012**)

4.1.3. L'oxyde nitrique (NO•)

L'oxyde nitrique est un gaz qui ainsi diffuse bien a travers les membranes. Il est synthétise par l'enzyme oxyde nitrique synthase (NOS) a partir de l'O₂ et l'acide amine L'arginine. Il n'est vraiment délétère pour la cellule que lorsqu'il est présent en quantité importante et qu'il génère ainsi une autre ERO : le peroxyde nitrique NO₂• (**Kalender et al., 2010; Ross et al., 2006**)

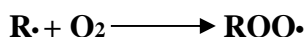
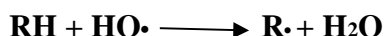
La production du peroxy-nitrite



4.1.4. Les radicaux peroxy (ROO•)

Ils font plutôt partie de la « deuxième vague » d'ERO, dans la mesure où leur formation fait suite à une réaction d'oxydation d'acides gras polyinsaturés par d'autres ERO formées préalablement. La partie « R » correspond à un acide gras polyinsaturé. Leur formation comprend 2 étapes principales : la première (réaction 1) correspond à la perte d'un atome d'hydrogène causée notamment par un radical hydroxyle, et la seconde (réaction 2) à la

Liaison avec une molécule d'oxygène (Michael, 2007 ; Powers et Jackson., 2008)



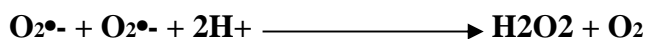
4.2. ERO non radicalaires

4.2.1. L'oxygène singlet ($^1\text{O}_2$)

L'oxygène singlet ($^1\text{O}_2$) correspond à une forme excitée de l'oxygène O_2 , il possède la même structure électronique que l'oxygène mais « agencée » différemment, à savoir que les électrons de la couche externe initialement non appariés se sont appariés. Il n'est donc pas radicalaire. Son état « excité » lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l'oxygène (Bonfont et al., 2003).

4.2.2. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est une molécule stable, mais diffusible et avec une durée de vie compatible avec une action à distance de son lieu de production. Il est généré dans le peroxysome, les microsomes et les mitochondries par une réaction de dismutation (Ramirez et al., 2008).

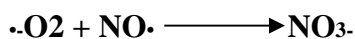


La dismutation de $\cdot\text{O}_2$ spontanée ou catalysée par les superoxydes dismutases est la source majeure de l' H_2O_2 . L' H_2O_2 n'est pas un radical libre mais a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs.

En présence de métaux de transition (fer et cuivre), l' H_2O_2 donne naissance via la réaction de Fenton a un radical hydroxyle $\text{HO}\cdot$ hautement réactif (**Saoudi et Al., 2011**)

4.2.3. Le peroxydinitrite ($\text{NO}_3\cdot$)

Son apparition est extrêmement rapide, et se produit par une réaction entre deux ERO:



A l'instar du radical hydroxyle, $\text{NO}_3\cdot$ est une ERO qui cause beaucoup de dommages aux composants cellulaires (**Margaret et al., 2012**).

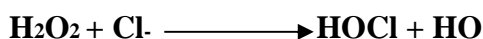
4.2.4. L'acide hypochlorique (HOCl)

Il est formé à partir du peroxyde d'hydrogène. Il passe facilement à travers les membranes biologiques, et peut altérer les constituants protéiques de la cellule à cause de son fort pouvoir oxydant (**Ognjanovic et al., 2008**)

5. Effets des radicaux libres sur l'organisme

5.1. Peroxydation lipidique

Les acides gras polyinsaturés comme les acides linoléiques ou arachidoniques sont les cibles privilégiées des radicaux libres oxygénés, Ceci conduit à une réaction en chaîne de peroxydation lipidique, qui modifie la fluidité et la perméabilité de la membrane (**Martinez, 1995**)



5.2. Oxydation des protéines

Les radicaux libres oxygénés induisent des modifications dans les structures primaires, secondaires et tertiaires des protéines par la formation des dérivés protéiques carbonyles via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés (**Aurousseau, 2004 ; Baudin, 2006**).

5.3. Oxydation de l'ADN

Les ROS peuvent réagir avec la base de guanine (G) de l'ADN, pour la transformer en 8-hydroxy-2-déoxyguanosine (8-OH2DG) qui est capable d'induire des mutations spécifiques dans l'ADN pouvant conduire au développement du cancer (**Collins et al., 1997**).

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium.

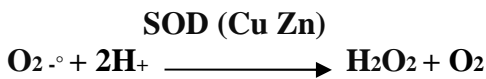
6. Antioxydants

6.1. Système antioxydant enzymatique

6.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Est la première ligne de défense enzymatique, catalyse la conversion de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) produit par la chaîne respiratoire mitochondriale en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), Chez les mammifères on trouve la *SOD* cytoplasmique (*Cu-Zn-SOD*), la *SOD* mitochondriale (*Mn-SOD*) (**Badary et al., 2003**). La *SOD* est retrouvée dans toutes les régions du cerveau.

L'augmentation intense de son activité a été associée à des événements maniaques et dépressifs (**Andreazza et al., 2007**).

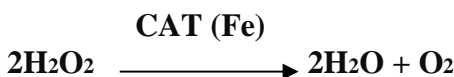


6.1.2. Catalase (CAT)

La CAT est présente principalement dans les peroxysomes, lysosomes et les mitochondries.

Neutralise le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et oxygène moléculaire. La CAT et la GPx

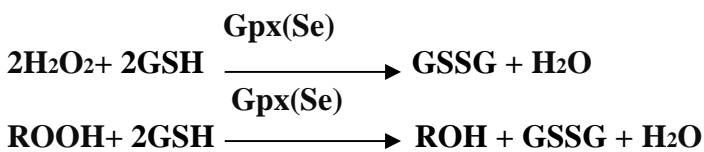
ayant des niveaux faibles dans le cerveau par rapport au niveau de *SOD*, c'est pourquoi un effort oxydant créé par un taux élevé de métabolisme peut favoriser les maladies neurodégénératives (**Casetta et al., 2005**).



6.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

C'est la deuxième ligne de défense enzymatique, empêche la formation des radicaux libres,

Chez les mammifères. C'est une enzyme à sélénium présente dans le cytosol et la mitochondrie. Elle peut réduire d'une part l' H_2O_2 en H_2O et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcool (ROH) (**Favier, 2003 ; Fontaine, 2007**).



6.2. Système antioxydant non enzymatique

6.2.1. Glutathion (GSH)

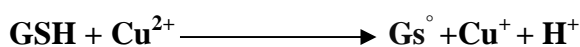
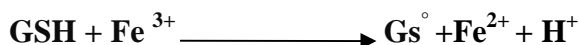
Le glutathion réduit est un tripeptide caractérisé par la présence d'un groupement sulfidryle,

Ce dernier est responsable de la réduction des radicaux libres (**Gardès et al., 2003**),

Selon la réaction :



Le glutathion peut également réagir avec les ions Fe^{3+} et Cu^{2+} et ainsi limiter leur participation à la génération des radicaux libres par la réaction de Fenton :



6.2.2. Oligoéléments

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la Défense contre le stress oxydant (**Zahran et al., 2017**). Toutes les enzymes antioxydantes Requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la *SOD* mitochondriale a besoin de manganèse, la *SOD* cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la *GPx* de sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action pro-oxydante (réaction de *Fenton*, d'*Haber-Weiss*) (**Garait, 2006**).

6.2.3. Ubiquinones et cytochrome c:

Il a été décrit précédemment que les ubiquinones, sous leur forme semi-radicalaire, jouaient Un rôle fondamental dans la production de *ROS*. Inversement, il a pu être défini que la forme "*Ubiquinol*" agissait comme antioxydant. L'ubiquinol protège les membranes de la peroxydation lipidique par une diminution de la formation et de la propagation de radicaux peroxy. L'ubiquinone est également impliquée dans la régénération de la vitamine E ce qui amplifie son rôle protecteur contre les *ROS* (**Packer et al., 1997**). Le cytochrome c présent dans l'espace intermembranaire a un rôle de détoxification en captant l'électron libre d' $O_2^{\bullet-}$ produit au niveau de la chaîne respiratoire. Ainsi réduit, il cède cet électron au complexe IV formant du *Cyt-c* oxydé et de l' H_2O (**Garait, 2006**).

6.2.4. Polyphénols

Les polyphénols sont des composés issus de végétaux, dont la principale caractéristique Structurale commune est la présence d'une ou de plusieurs fonctions hydroxyles (OH) liées à Un noyau aromatique, formant ainsi des groupes benzéniques (**Bors et al., 2001 ; Turner et al., 2016**). Ils sont produits par les plantes où ils jouent un rôle dans les mécanismes de défense contre les pathogènes ou les radiations. Ces molécules sont également des pigments qui donnent leurs couleurs aux plantes. Dans notre alimentation, les polyphénols sont présents dans les fruits et les légumes, mais aussi dans le vin, le thé ou le café (**Toumi, 2016**).

L'apport alimentaire de ces composés aurait des effets bénéfiques dans la prévention de pathologies diverses, telles que les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, l'ostéoporose ou le cancer.

L'activité biologique des polyphénols est principalement attribuée à leurs propriétés antioxydantes par leurs structures chimiques et la présence de groupements hydroxyles réactifs (**Godoy et al., 2016**).

En plus de leurs actions préventives, les polyphénols ont également un potentiel thérapeutique intéressant. A des fortes concentrations, ils sont capables d'induire l'apoptose de cellules cancéreuses, mais de telles concentrations sont peu compatibles avec une application clinique (**Liu et al., 2006 ; Dong et al., 2014 ; Bouhaddouda, 2016**).

Chapitre IV :

Quercétine

Chapitre IV : Quercétine

1. généralité sur les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes qui appartiennent à la Famille des polyphénols qui compte presque 8000 composés polyphénoliques naturels (Stalikas, 2007).

2. Structure chimique et classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des phénylbenzo-pyrones (phénylchromones). Leur structure Moléculaire, C₆-C₃-C₆, comprend deux noyaux aromatiques, A et B, liés par un hétérocycle Oxygéné C (Figure 06).

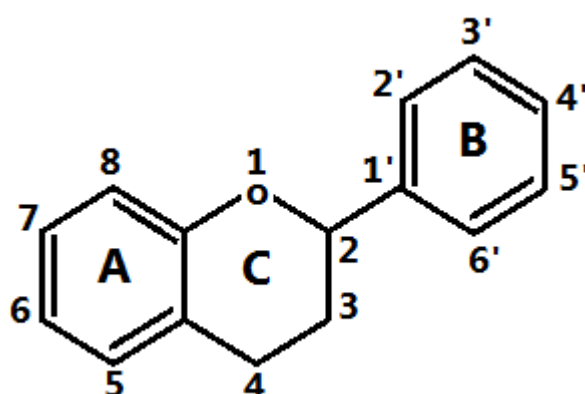
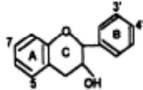
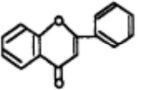
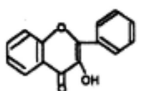
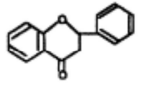
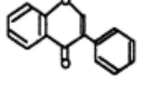
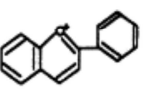


Figure 06 : Structure générale des flavonoïdes (Heim et al., 2002).

Leur cycle A est synthétisé par la condensation de 3 molécules du malonyl-coenzyme A, issue du métabolisme du glucose. Les cycles B et C ont comme précurseur immédiat L'acide cinnamique qui est formé par la voie de l'acide shikimique. Ce dernier, lui-même, Dérivé du métabolisme du glucose (Markham, 1982; Formica et Regelson, 1995).

Plus de 6500 flavonoïdes ont été identifiés à partir de sources végétales (Harborne et Williams, 2000; Boumendjel et al., 2002). Structurellement, ils se répartissent en quinze Familles, dont les plus importants sont (Tableau 3): les flavonols, les flavones, les Flavanones, les flavannonols, les isoflavones, les isoflavannones, les chalcones et les Anthocyanes (Formica et Regelson, 1995; Bruneton, 2009).

Tableau 3: Structures des différentes classes de flavonoïdes et leurs sources alimentaires (Heim et al., 2002).

Classe	Structure générale	Flavonoïde	Substitution	Sources alimentaires
Flavanol		(+)-catechin (-)-epicatechin Epigallocatechin gallate	3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4',5'-OH,3-gallate	Thé (camellia sinensis) Thé Thé
Flavone		chrysin apigenin rutin luteolin luteolin glucosides	5,7-OH 5,7,4'-OH 5,7,3',4'-OH, 3-rutinoses 5,7,3',4'-OH 5,7,3'-OH, 4'-glucose 5,4'-OH, 4',7-glucose	Peau de fruit Persil, céleri Vin rouge, sarrasin Agrumes, peau de tomate Poivron rouge
Flavonol		kaempferol quercetin	3,5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH	Poireau, brocoli, endives pamplemousse, thé noir Oignon, laitue, brocoli Tomate, thé, vin rouge Baies, huile d'olive, peau de pomme
		myricetin tamarixetin	3,5,7,3',4',5'-OH 3,5,7,3'-OH,4'-OMe	Raisins de canneberge, vin rouge
Flavanone (dihydroflavon)		naringin naringenin taxifolin eriodictyol hesperidin	5,4'-OH,7-rhamnoglucose 5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 5,7,3',4'-OH 3,5,3'-OH,4'-OMe, 7-rutinoses	Agrumes, pamplemousse Pamplemousse Pamplemousse Citron Orange
Isoflavone		genistin genistein daidzin daidzein	5,4'-OH, 7-glucose 5,7,4'-OH 4'-OH, 7-glucose 7,4'-OH	Soja Soja Soja Soja
Anthocyanidin		apigenidin cyanidin	5,7,4'-OH 3,5,7,4'-OH,3,5-OMe	Fruit coloré Cerise, framboise, fraise

Les flavonoïdes se rencontrent dans la nature, soit sous forme libre aglycone (génine) ou de glycoside. Ils peuvent se lier à un sucre au niveau du carbone C₃ ou C₇ pour former des dérivés hétérosides (**Groot et Rauen, 1998**). Le sucre peut être un glucose, un Rhamnose, un glucorhamnose, un galactose ou même, un arabinose (**Spanos et Wrolstad, 1992**).

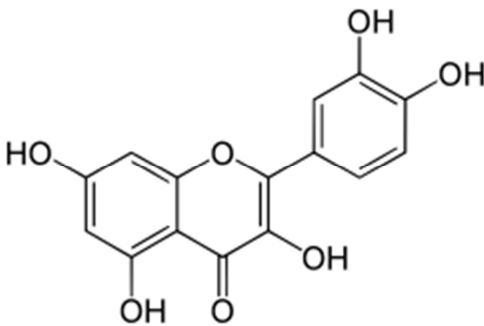
3. Définition de la quercétine

La quercétine est un flavonoïde alimentaire important présent dans plusieurs fruits et légumes (**Sashindran, 2015**). Elle est connue pour être une molécule anti inflammatoire, anticancéreuse, antioxydante et neuroprotecteur contre les dommages de stress oxydatif par l'élimination des actions délétères des radicaux libres auprès de structure cellulaires dont l'ADN et les membranes phospholipidique et par leur capacité à moduler intracellulaire des signaux favorisant la survie cellulaire (**Leclere, 2012 ; Godoy et al., 2016 ; Turner et al., 2016**).

4. Propriétés de la quercétine

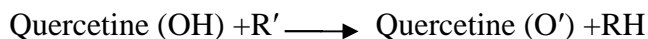
Le **tableau 04** présente les principales caractéristiques physico – chimiques et biologiques de la quercétine.

Tableau 04 : principales caractéristiques de la quercétine (leclerc, 2012 ; Godoy et al . , 2016)

Nom et Formule chimique	3, 3', 4', 5, 7 – pentahydroxy – 2- phénylchromén-4 one (C ₁₅ H ₁₀ O ₇)
Structure	
Propriété physicochimiques	Poudre blanche peu hydrosoluble (3 a 4 g/l selon PH) et non volatile (tension de vapeur <1 μ pa a 25° C)
Classement réglementaire	T : Directive 67/548/ EEC
Persistance d'action	Demi – vie sur le sol comprise entre 4 a 6 jours. Détail démoli avant récolte selon le type de culture.
Teneurs max en résidus dans et sur les denrées	0.030(Thé noir) a 1800 (Capre) mg/ kg selon le type de culture
DL₅₀	161 mg/kg/ j (orale chez les rats)
Organes cibles	SNC : ataxie et trémulation. Foie : hypertrophie lobulaire.
Génotoxicité	Résultats équivoques sur tests in vitro, négatifs sur tests in vivo
Reprotoxicité	Pas d'effet tératogène ni foetotoxique (rat, lapin)

5. Mode d'action de la quercétine :

La quercétine peut d'abord piéger directement un radical libre et réagir avec lui pour le stabiliser, selon l'équation suivante :



Où le R' est le radical libre et le RH est le radical libre oxygéné. Ici, c'est le groupement hydroxyle (OH) de la quercétine qui réagit avec le radical libre (O°). Il en résulte une oxydation de la quercétine par le radical libre qui lui devient inactif (**Nijveldt et al ., 2001**).

Ce sont les deux hydroxyles du groupement catéchol ainsi que accéder au paramètre de l'insaturation en 2, 3, conjugué à la fonction 4-oxo, de noyaux C qui sont responsables de la capacité antioxydant de ce flavonoïde (**Bors et al., 2001**). Une manière de palier à ce manque de solubilité consiste à conjuguer la quercétine pour former un complexe capable de rester en suspension dans le milieu aqueux. Elle est aussi capable d'associer avec certaines molécules solubles comme la cyclodextrine (**Ficarra et al ., 2002 ; Calabro et al ., 2004**).

6. Impact bénéfique de la quercétine sur l'organisme

La quercétine est très reconnue comme produisant des effets physiologiques précis. On parle alors de la phase pharmacodynamique, ou de l'étude des effets biochimiques et physiologiques des principes actifs et de leurs mécanismes d'action. Sa capacité antioxydant est souvent considérée comme la principale manière dont la quercétine agit sur l'organisme (**Nijveldt, 2001 ; Leclerc, 2012**).

Cependant, (**Williams et al , 2004**) ont aussi suggéré que les effets de quercétine n'est pas seulement liés à sa capacité de piéger des radicaux libres dans son environnement, mais aussi à sa présence à certains sites dans l'organisme ou elle peut interagir avec des molécules tels des récepteurs, des enzymes ou des facteurs de transcription. Cette conclusion met en lumière la nécessité, pour la quercétine, administrées par voie orale, de parvenir à son site d'action (**Turner et al ., 2016**).

La quercétine provenant des aliments serait associée à la modulation de nombreuses fonctions biologiques et physiologiques, dont les principaux bénéfiques seraient un effet protecteur contre le cancer ou certaines maladies neurodégénératives (**Maalik et al ., 2014**), ainsi qu'un effet anti inflammatoire (inhibition de deux enzymes jouant un rôle de médiateurs de l'inflammation ; la cyclooxygénase et de la lipooxygénase) et la prévention de maladies cardio- vasculaires aussi de diabète (**Leclerc , 2012 ; Liu et al ., 2016**). La quercétine aurait présenté un effet préventif contre certains cancers. En effet , des études tant in vitro que in vivo ont démontré que la quercétine avait la

capacité de ralentir la croissance de cellules tumorales humaines (**Kuo et al ., 2004**) d'une part , mais aussi en fort dose capable d'induire l'apoptose , ou mort programmée de celles – ci (**Kuo et al ., 2004 ; Guillaume , 2010 ;Lucio et al ., 2016**) .

Matériel
et
Méthode

1. Matériels et Méthodes

1.1. Matériels

1.1.1. Matériel biologique

Dans notre expérimentation, nous avons utilisé le lapin européen *Oryctolagus cuniculus* L. provenant de l'Institut Pasteur d'Alger.

Le premier but de la est cuniculture est la production de viande, mais elle permet également la production de poils et de fourrures (**Quinton, 2009**).

Par ailleurs, les lapins sont aujourd'hui employés comme modèles dans les laboratoires, et peuvent également devenir des animaux de compagnie, du fait de leur caractère affectueux (**fig.07**) (**Aoun et Marghadi., 2013**).



Figure 07 : Le lapin de garenne *Oryctolagus cuniculus* L.

1.1.2. Produits chimiques :

Dans ce travail, nous avons utilisé un pesticide et un flavonoïde:

- Le phosalone : un pesticide organophosphoré fourni sous sa forme commerciale **Zolone Flo**. C'est un liquide de couleur jaune avec une concentration de 500 g de phoslaone /l

- La quercétine: un flavonoïde fourni sous sa forme commerciale « **Solaray** », un supplément alimentaire à base de quercétine. Ce sont des comprimés de couleur verte et d'une dose de 500 g de quercétine/comprimé.
- Tous les réactifs utilisés dans les différents protocoles expérimentaux sont de degré analytique provenant de Sigma Aldrich, Germany, et Biochem, France.

1.2. Méthodologie

1.2.1. Description et élevage

Pour la réalisation de notre expérimentation, nous avons pris comme un modèle biologique 20 lapin (*Oryctolagus cuniculus*) mâles. Tous les lapins ont pesés entre 1.7 et 2.7 Kg.

Ils ont logés individuellement dans des cages métalliques pendant une période d'adaptation de 25 jours dans la serre de département de biologie appliquée, Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Tébéssa.

Les lapins étaient divisés en 4 lots de 5 lapins chacun. La température ambiante était de $22\pm 3^{\circ}\text{C}$. Ils avaient un accès libre à l'eau et à la nourriture.

L'alimentation des lapins a été effectuée en utilisant des bouchons fabriqués par l'Office National d'Aliment de Bétail de Tébéssa.

Ces bouchons étaient à base d'alimentation artificielle spécifique composée de granulés composés de maïs, tourtereaux de soja, calcium, phosphates, oligo-éléments, Polyvitamines, qui permettent d'avoir une très bonne croissance et de contrôler au mieux la qualité sanitaire des produits ingérés par les animaux (**fig. 09**).



Figure 08 : l'alimentation artificielle spécifique des lapins.

1.2.2. Choix des doses

Dans cette étude, nous avons utilisé un pesticide (le phosalone) à dose de 2 mg/kg/j et la quercétine à dose de 1 mg/kg/j administrées par voie orale pendant 15 jours.

1.2.3. Répartition et traitement des lapins

La répartition et le traitement des animaux ont été comme suit :

Lots T : lot témoin (T) composée de cinq lapins

Lots QR : lot composée de cinq lapins traité par la QR recevant 1 ml / kg / jour pendant 15 jours.

Lots PHO : lot composée de cinq lapins traité par le PHO recevant 2 ml / kg / jour pendant 15 jours.

Lot QR/PHO : lot composée de cinq lapins traité par la QR (1 ml/kg/j) et le PHO (2 ml/kg/jour) pendant 15 jours.

1.2.4.1. Mesure de poids

La mesure de poids est effectuée chaque 24 H pendant la durée d'élevage, à l'aide d'une balance.

1.2.5. Étude de l'Hépatotoxicité

A. Sacrifice et extraction du foie

A la fin de période de traitement par le phosalone et la quercétine de 15 jours, les lapins sont sacrifiés par décapitation, les foies ont été prélevés et rincés par le tampon de lavage à froid, puis séchés par un papier semi absorbant. Les foies de chaque lot sont pesés et chaque foie conservé dans un papier aluminium étiqueté, puis les échantillons ont été conservés à -80°C pour le dosage des paramètres métabolique (protéine), enzymatique (GPX) et non-enzymatiques (GSH, MDA).

B. Poids relatif du foie

Le poids relatif des foies extraits des lapins (PRF de poids corporel) est calculé par rapport au poids total du lapin selon la formule suivant :

$$\text{PRF (\%)} = \text{PF/PT} \times 100$$

PF: poids du foie (kg)

PT : poids total de lapin (kg)

PRF : poids relatif des foies (kg)

C. Préparation des échantillons :

4 grammes de foie a été homogénéisés dans 8 ml de solution de tampon (TBS ; pH7, 4). Ensuite, les homogénats ont été centrifugés à 3000 t/min pendant 15 min à 4°C et le surnageant résultant a été utilisé pour la détermination de taux de protéine, MDA, GSH et l'activité enzymatique de GPX.

D. évaluation des paramètres biochimiques

- **Dosage des protéines**

Principe:

Les protéines tissulaires ont été déterminés suivant une méthode colorimétrique par un spectrophotomètre en utilisant le bleu de Comassie qui est réagi avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

L'absorption est mesurée à 595 nm (**Bradford, 1976**).

E. Evaluation des paramètres du stress oxydant

- **Dosage du malondialdéhyde MDA**

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode (**Esterbauer et al, 1992**). Peut être détecté par une réaction colorimétrique à l'acide thiobarbiturique (TBA). La détection du MDA issue de la dégradation des acides gras polyinsaturés à 3ou 4 double liaisons peroxydées, constitue une méthode très sensible pour déterminer une lipoperoxydation *in vitro*.

➤ Principe

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment (rose).Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à530 nm.

➤ Protocole

- ✓ Prélever 375µl de l'homogénat (surnageant).
- ✓ Ajouter 150 µl de la solution TBS (tris 50mM, NaCl150mM pH7).
- ✓ Ajouter 375 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%)
- ✓ Vortexer et centrifuger à 1000 tour/min pendant 10min.
- ✓ Prélever 400 µl du surnageant.

- ✓ Ajouter 80 µl du HCL 0.6 M.
- ✓ Ajouter 320 µl de la solution tris-TBA (tris 26mM, TBA120mM).
- ✓ Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes

La concentration de MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert ($DO = E.C.L$) :

$$[C](\text{nmol/mg protéine}) = \frac{DO.10^6}{\epsilon.L.X.Fd}$$

C : Concentration en nmol/mg de protéines ; **DO** : Densité optique lue à 530nm.

E : Coefficient d'extinction molaire du MDA $= 1.5610^5 M^{-1} cm^{-1}$.

L : Longueur du trajet optique = 0.779 cm.

X : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml).

Fd : Facteur de dilution : $Fd = 0.2083$

- **Dosage du glutathion (GSH)**

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de (**Weckbeker et Cory., 1988**). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5, 5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Elleman) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois l'homogénat doit subir une déprotéinisation (par l'acide sulfosalicylique 0.25%) afin de protéger les groupements-SH du glutathion.

La procédure expérimentale du dosage du glutathion est la suivante :

- Ont posé 400 mg de tissu sont mis individuellement en présence de 8 ml de solution d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 0.2M.
- Le mélange mis dans des glaçons est broyé à l'aide d'un pilon en porcelaine.
Une fois préparé, l'homogénat est déprotéinisé, Prélever 0.8 ml de ce dernier auquel on ajoute 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%.
- Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- Prélever 0.5 ml du surnageant.
- Ajouter 1 ml de tampon tris-HCL+EDTA (0.02M), PH=9.6.

- Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M dissous dans le méthanol absolu.
- Laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire les densités optiques à 412 nm.

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH (mmol GSH/ mg protéine)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg}}$$

DO: Densité optique

1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8ml homogénat +0.2 ml de l'acide salicylique).

1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant+1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).

13100 : Coefficient d'absorbance du groupement -SH à 412 nm.

0.8: Volume de l'homogénat après déprotéinisation trouvé dans 1 ml.

0.5 : Volume du surnageant trouvé dans un 1.525 ml.

- **Dosage de glutathion peroxydase (GPx)**

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de **(Flohe et Gunzler., 1984)**.

Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en(GSSG) sous l'influence de la GSH-Px.

- ✓ **Préparation des solutions**

- Solution du GSH (0.1mM) : Dissoudre 3.073 mg GSH dans 100 ml d'eau distillée.
- Solution TCA (1%) : Dissoudre 1g TCA dans 100 ml d'eau distillée.
- Solution DTNB (1.0mM) : Dissoudre 100 mg DTNB dans 250 ml de méthanol absolu.
- Homogénéisation par le tampon phosphate pH 7.8 (Pour L'extraction de l'enzyme).
- Centrifugation 10 min à 3000t/min.
- Récupération de surnageant (extrait enzymatique).

- 0.2 ml de surnageant +0.4 ml de GSH (glutathion forme réduite) à 0.1 mM (réaction enzymatique) + 0.2 ml TBS a 0.067M (tampon d'extraction pH7.8).
- Préparer un blanc avec 0.4 ml de GSH +0.2 de TBS (réaction non enzymatique).
- Laisser 10min à température ambiante.
- Ajouter 1ml TCA
- Laisser agir 10 min.
- Arrêter la réaction par addition de 1 ml de TCA 1%(acide tri chloro-acétique).
- Mettre le mélange dans la glace pendant 30 min.
- Centrifuger durant 10 min a 3000t/min.

Prélever 0.48 ml de surnageant et place dans une cuve + 2.2 ml de TBS (0.32M) +0.32 ml de DNTB (1mM).

- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

La détermination (calcule) de l'activité de la GPx se fait de la façon suivant :

- Activité de GSH consommée/min/gr de protéine.
- Blanc=0.04 micro mole de GSH réduit →DOb
- Extrait=0.04 micro mole de GSH réduit → DOe

Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue)= DOe - DOb

$X = (DOe - DOb) \times 0.04 / DO b$ = quantité de GSH réduit disparue (oxydée) dans 0.2 extrait dans 1ml.

L'activité de la GPx = la quantité de GSH réduit oxydée disparue $X \frac{5}{[Protéine]}$

Résultats

2. Résultats

2.1. Effets de pesticide et la quercétine sur les paramètres de la croissance globale des lapins :

Les résultats de l'évaluation des paramètres de croissance en terme de poids corporel, le gain de poids et le poids relatif durant les 15 jours de traitement des animaux (lapins *Oryctolagus cuniculus*) par le pesticide (phosalone), et le composé phénolique (quercétine) sont illustrés par les **figures (09 ,10,11,12)**.

2.1.1. Poids corporel

Evolution du poids corporel chez les lapins témoins et traités au phosalone, à la quercétine et leur mélange sont présentés dans la (**fig.09**)

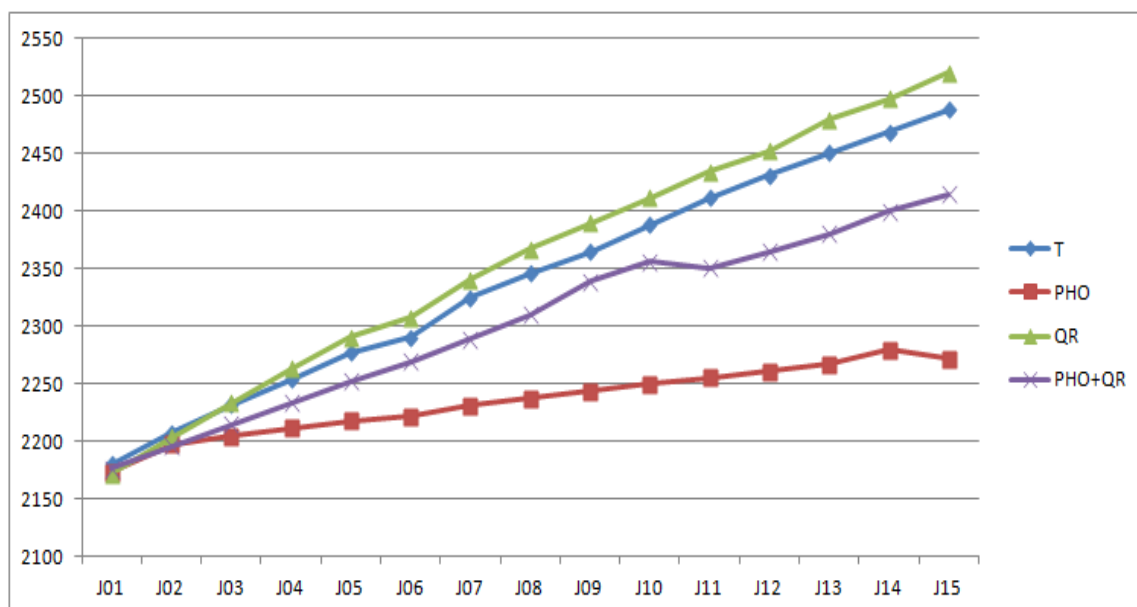


Figure .09. Evolution du poids corporel (PC) chez les différents groupes traité durant 15 jours par le PHO et la QR : changement cinétique du poids
T : témoin - PHO : phosalone - QR : quercitine

Le poids corporel chez les lapins témoins et traités au phosalone, à la quercétine et leur mélange sont présentés dans la (fig.10)

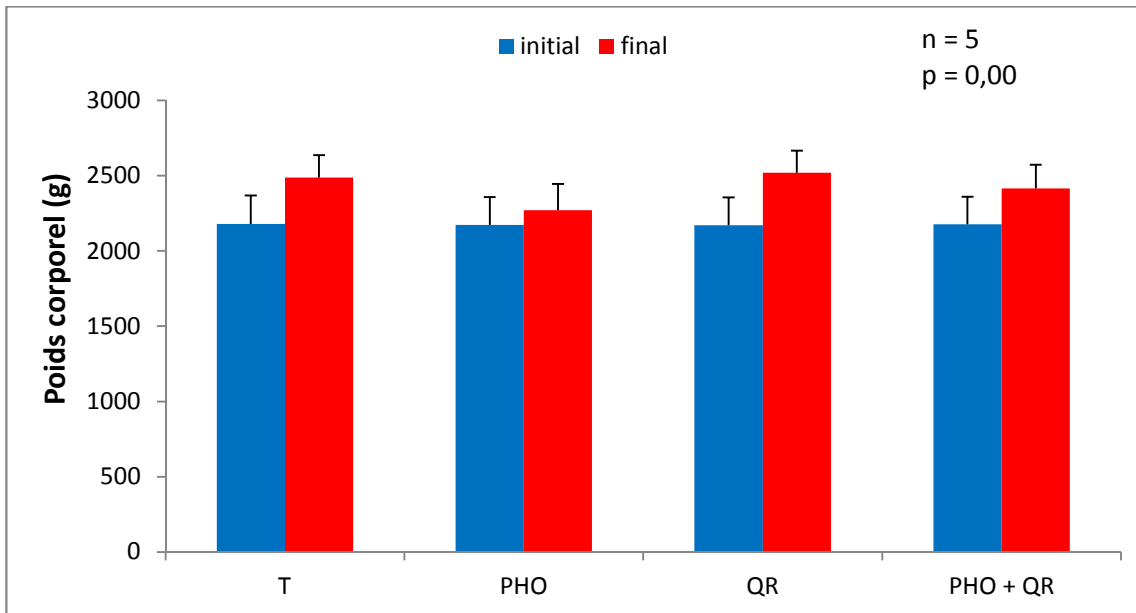


Figure.10. Evaluation du poids corporel (PC) chez les différents groupes traité durant 15 jours par le PHO et la QR : différence entre poids initial et final.

T : témoin - PHO : phosalone - QR : quercétine

Les résultats de l'évaluation du poids corporel montrent une diminution significative de poids corporel des lapins traités par PHO, **fig (10)** par rapport aux lapins témoins. En revanche, on observe une augmentation de poids corporel chez les lapins traités par PHO/QR par rapport aux lapins traités par PHO, et aussi on observe une augmentation significative de poids corporel chez les lapins traités par QR en comparaison avec le lot témoin.

2.1.2. Gain de poids (GP)

Le gain des poids chez les lapins témoins et traités au phosalone, à la quercétine et leur mélange sont présentés dans la (fig.11)

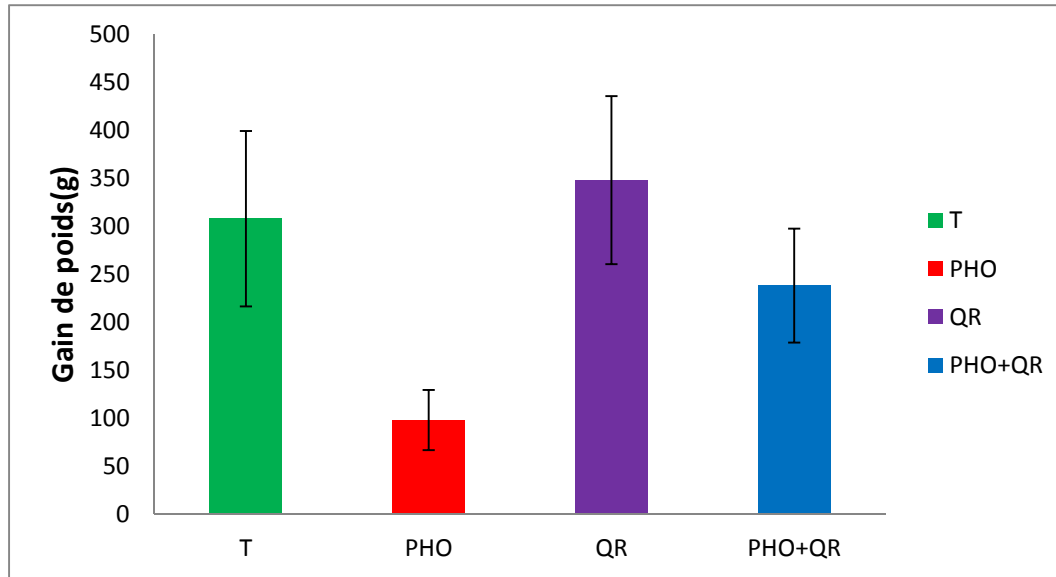


Figure. 11. Evaluation du gain de poids (GP) chez les lapins témoins et traité après 15 jours de traitement par le PHO et la QR

T : témoin - PHO : phosalone - QR : quercétine

Les résultats de l'évaluation du gain de poids (fig.11) montrent une diminution significative du gain de poids chez les lots traités par PHO en comparaison avec le lot témoin. En revanche, on observe une augmentation significative de GP chez les lapins traités par PHO/QR par rapport au groupe traité par le PHO. Une amélioration de gain de poids chez les lapins traité par QR en comparaison avec le lot témoin a été également observée.

2.1.3. Poids relatif du foie (PR_F)

Les Poids relatif chez les lapins témoins et traités au phosalone, à la quercétine et leur mélange sont présentés dans la (fig.11)

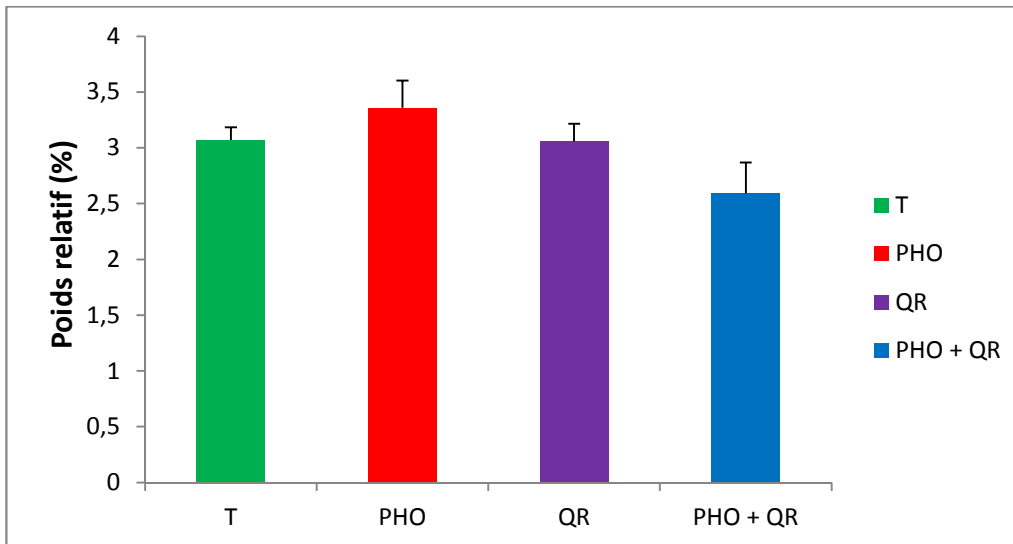


Figure. 12. Evaluation du poids relatif des foies (PR_F) chez les lapins traité après 15 jours par le PHO et la QR.

T : témoin - PHO : phosalone - QR : quercétine

Les résultats obtenus suite à l'évaluation du PR (fig.12) montrent une augmentation non significative du poids relatif chez les lots traités par PHO en comparaison avec le lot témoin. En revanche, on observe une diminution significative de PR chez les lapins traités par PHO/QR par rapport au groupe traité par le PHO. Une amélioration de gain de poids chez les lapins traité par QR en comparaison avec le lot témoin a été également observée.

2.2. Effets de pesticide et la quercétine sur les paramètres biochimiques :

A. les protéines

Le taux de protéines hépatiques chez les lapins témoins et traités au phosalone, à la quercétine et leur mélange sont présentés dans la (fig.13)

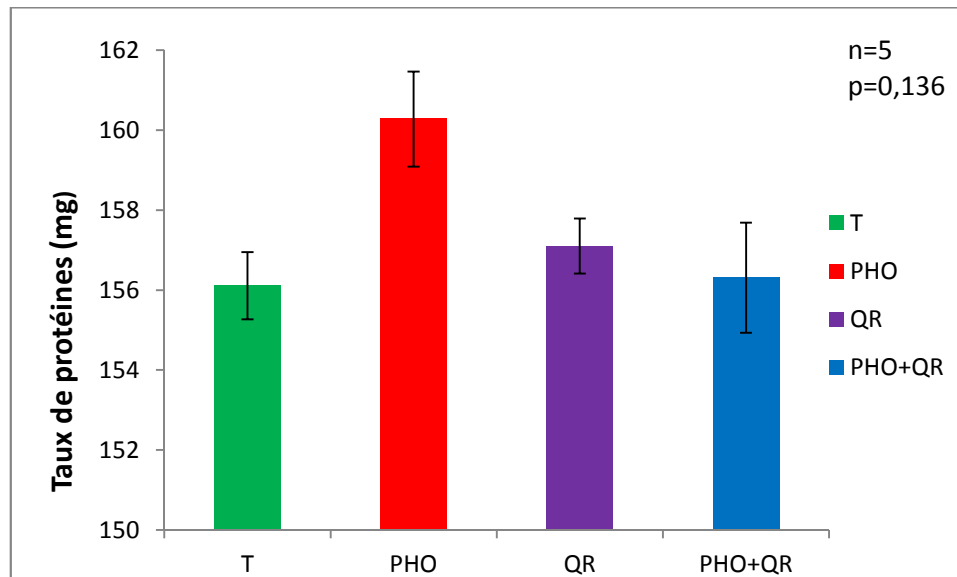


Figure 13. Variation de taux de protéine dans le foie chez les lapins témoins et traités durant 15 jours par le PHO et QR

T : témoin - PHO : phosalone - QR : quercétine

D'après les résultats obtenus, on observe une augmentation du taux de protéine dans le foie, chez les lapins traités par le phosalone par rapport aux lapins témoins.

L'utilisation de quercétine en tant qu'agent protecteur chez le groupe exposé au phosalone a induit un rétablissement du taux de protéines aux concentrations similaires à celles du groupe témoin.

2.3. Effets de pesticide et la quercétine sur les paramètres du stress oxydatif

2.3.1. Les paramètres non enzymatiques

A. MDA

Le taux de MDA chez les lapins témoins et traités au phosalone, à la quercétine et leur mélange sont présentés dans la (fig.14)

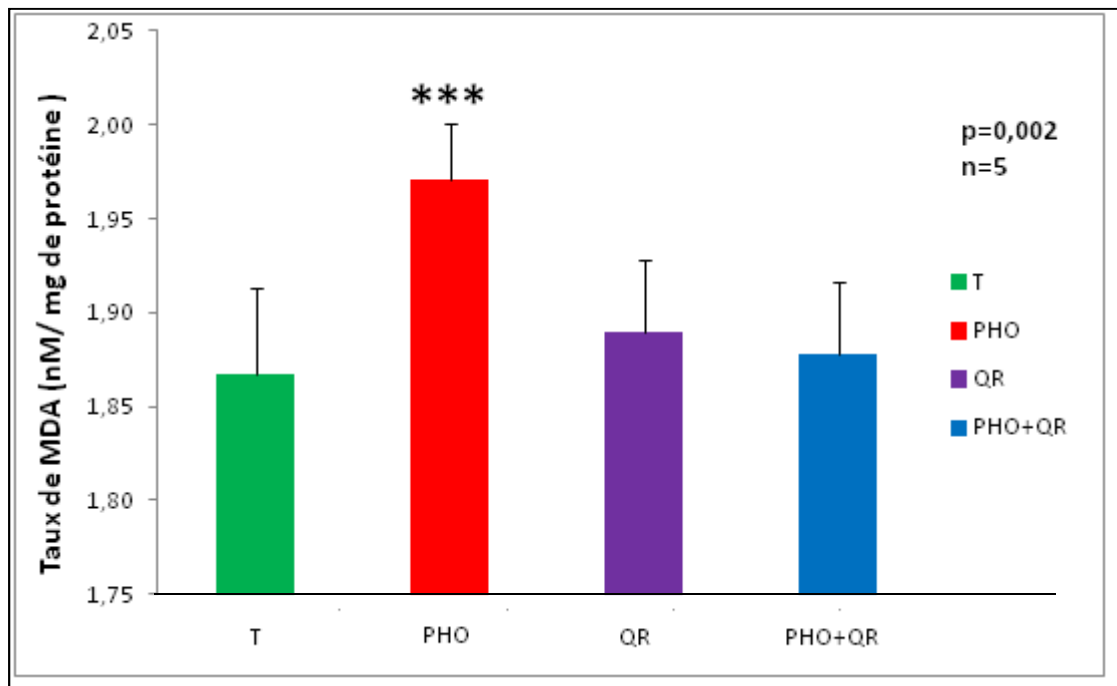


Fig14. Variation de taux de MDA dans le foie chez les lapins témoins et traités durant 15 jours par le PHO et QR

T : témoin - PHO : phosalone - QR : quercétine

D'après les résultats obtenus (fig.14) on observe une augmentation du taux de MDA dans le foie chez les lapins traités par le phosalone par rapport aux lapins témoins. Tandis que les lapins traités par la quercétine uniquement et par la combinaison le phosalone/quercétine ne montrent pas de variations du taux de MDA dans le foie, en comparaison avec le groupe témoin.

B. GSH :

Le taux de **GSH** chez les lapins témoins et traités au phosalone, à la quercétine et leur mélange sont présentés dans la (fig.15)

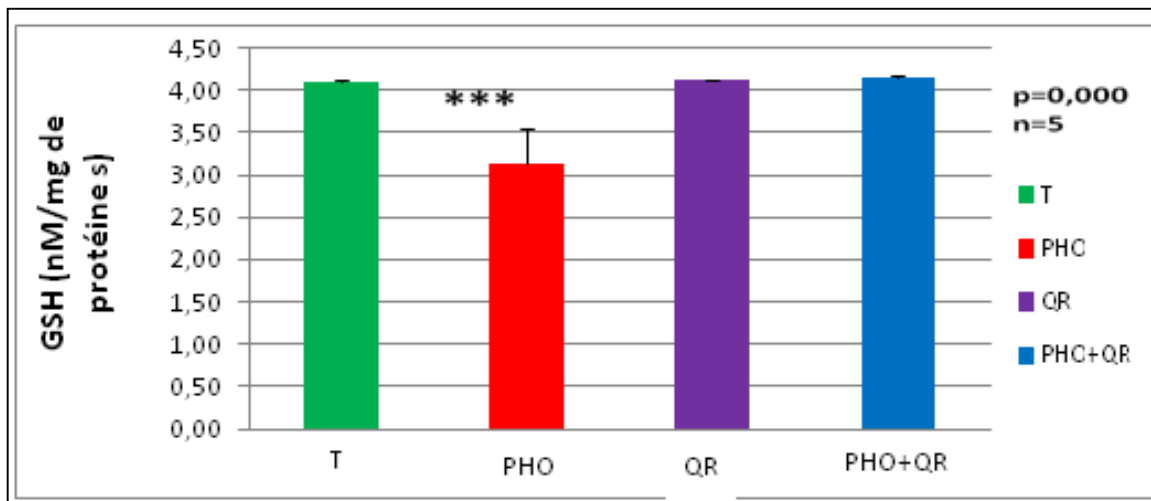


Figure. 15 : Variation de taux de GSH dans le foie chez les lapins témoins et traités durant 15 jours par le PHO et QR

T : témoin - PHO : phosalone - QR : quercétine

Le traitement des lapins par le phosalone, à une dose de 2 ml/kg et par la quercétine, à une dose de 1ml/kg de poids corporel pendant 15 jours, entraîne une diminution du taux de GSH dans le foie chez le lot traité par le phosalone en comparaison avec le groupe témoin.

L'utilisation de quercétine en tant qu'agent protecteur chez le groupe exposé au phosalone a induit un rétablissement du taux de protéines aux concentrations similaires à celles du groupe témoin.

2.3.2. Les paramètres enzymatiques

• A. Activité du Glutathion Peroxydase (GPx)

Le taux de GPx chez les lapins témoins et traités au phosalone, à la quercétine et leur mélange sont présentés dans la (fig.16)

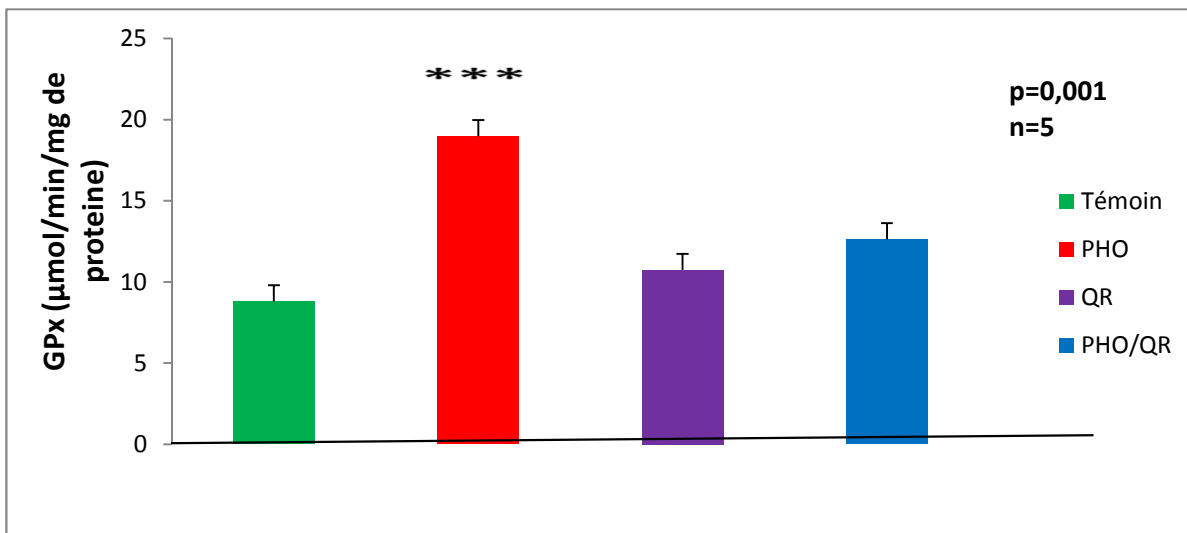


Figure. 16. Variation de taux de GPX dans le foie chez les lapins témoins et traités durant 15 jours par le PHO et QR

T : témoin - PHO : phosalone - QR : quercitine

D'après la (fig.16) on constate que le traitement des lapins par le phosalone provoque une augmentation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) dans le foie comparant au groupe témoin. Et on enregistre une diminution de la glutathion peroxydase (GPx) chez les lapins traités par la combinaison le phosalone/quercétine par rapport aux lapins traités par le phosalone.

Discussion

3. Discussion

Le stress oxydant qui résulte d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur élimination par les défenses anti oxydantes, contribue à l'initiation et à la progression de plusieurs maladies. Les RL sont très réactifs et peuvent attaquer, s'ils ne sont pas détruits, différentes cibles telles que les protéines, l'ADN et surtout les acides gras poly insaturés (peroxydation lipidique) **(Boussekine, 2014)**.

Le stress oxydatif est l'un des principaux mécanismes de toxicité associés à une panoplie de xénobiotiques dans l'environnement, parmi lesquels, on retrouve les pesticides et les produits phytosanitaires **(Lauvverys et al., 2007 ; Lukaszewicz, 2008 ; Michael et al., 2016)**.

La quercétine est un flavonoïde connu pour être une molécule antiinflammatoire, anticancéreuse, antioxydante et neuroprotecteur contre les dommages de stress oxydatif par l'élimination des actions délétères des radicaux libres auprès de structures cellulaires dont l'ADN et les membranes phospholipidiques et par leur capacité à moduler intracellulaire des signaux favorisant la survie cellulaire **(Leclerc, 2012 ; Godoy et al., 2016 ; Turner et al., 2016)**.

Dans ce travail nous avons fixé comme objectif en premier lieu la mise en évidence d'une éventuelle hépatotoxicité de phosalone et l'effet opposé du la quercétine sur les lapins *Oryctolagus cuniculus*.

Les résultats de notre étude ont montré que le traitement orale, des lapins par le phosalone Le traitement orale des lapins par le pesticide (phosalone) pendant 15 jours a entraîné une hépatotoxicité et a engendré une perturbation des paramètres biochimiques et du stress oxydant.

3.1. Effets de pesticide et la quercétine sur les paramètres de la croissance globale

Les résultats de l'évaluation des paramètres pondéraux suggèrent que l'administration de phosalone provoque un ralentissement de la croissance corporelle des lapins traités.

Cet effet peut être traduit par la perturbation du métabolisme cellulaire sous l'effet du stress oxydatif engendré par les ROS constaté dans cette étude, ainsi que par d'autres médiateurs chimiques tels que certains cytokines pro inflammatoires que l'organisme puisse libérer après expositions aux toxiques tels que les pesticides **(Carole et Harve, 2011 ; Viviana, 2015)**.

3.2. Effets de pesticide et la quercétine sur les paramètres biochimiques

A. Protéines

L'augmentation du taux des protéines après l'exposition des lapins aux pesticides traduit la synthèse des enzymes et peptides de défense contre le déséquilibre homéostatique du stress oxydatif (**Anadn et al., 1991 ; Benbouzib, 2012 ; Rouabhi et al., 2015**). En revanche, selon les résultats obtenus lors de l'utilisation de la quercétine comme étant molécule cytoprotectrice il s'avère que ce composé phénolique a bien amélioré L'homéostasie des paramètres biochimiques étudiés dans ce présent travail.

Ce pouvoir préventif pourrait être attribué aux caractères moléculaires antioxydant de ce polyphénol à travers le groupement catéchol, les liens insaturés du noyau C, la fonction 4-oxo et les groupes à affinité chélatrice des métaux qui caractérisent ce composé (**Leclerc, 2012**). Ces résultats sont en accord avec de nombreuses études sur ce polyphénol (**Williams et al., 2004 ; Lahouel et al., 2016 ; Lee et al., 2016**).

3.3. Effets de pesticide et la quercétine sur les paramètres du stress oxydant

3.3.1. Les paramètres non enzymatiques

Le malondialdéhyde est un composé chimique de formule $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$, il est présent naturellement dans les tissus, où il est une manifestation du stress oxydant. Il est issu notamment de l'action des dérivés réactifs de l'oxygène sur les acides gras polyinsaturés.

C'est un marqueur généré secondairement par la peroxydation lipidique provoquée par une altération de la membrane plasmique à travers l'attaque des acides gras polyinsaturés.

Les taux élevés de MDA signent donc un stress oxydatif, portant notamment sur l'oxydation des lipides.

Nos résultat ont révélé que une augmentation du taux de MDA chez les lapins traités par le phosalone rejoignent ceux de (**Chebab et al., 2009**) ayant suggéré que l'exposition au pesticide (CPF) a entraîné l'augmentation du contenu de MDA, ainsi la survenue des dommages au niveau des membranes cellulaires. Ce résultat est en accord avec les résultats d'autres études qui ont mis en évidence une augmentation de la peroxydation lipidique après traitement par les pesticides. (**Kehrer, 1993 ; Ahmed et al., 2000**)

Les résultats de l'étude *in vivo* montrent que le traitement des rats par 4 mg/kg du chlorpyrifos pendant un mois engendre une augmentation de MDA. Le chlorpyrifos, comme tous les autres organophosphorés, exerce son action notamment par une inhibition de l'activité des acétylcholinestérases (**Richardson et al ., 1993 ; Amitai et al ., 1998**). En dépit de ce mode d'action spécifique, les effets toxiques de chlorpyrifos se manifestent également par des dysfonctionnements hépatiques sévères.

Le GSH est un tripeptide bien connu pour être un élément de la première ligne de défense contre le stress et considéré dès lors un composé essentiel qui maintient l'intégrité cellulaire grâce à sa propriété réductrice et sa participation active dans le métabolisme cellulaire (**Sauer, 2014 ; Aoun et Tiranti, 2016**). Certains des rôles importants de glutathion sont la réduction ou l'inactivation des ROS par la formation de glutathion disulfure (GSSG) et la conjugaison du glutathion réduit (GSH) pour l'élimination des Xénobiotiques (**Di-Monte et Lavasani, 2002 ; Arora et al., 2016 ; Rjeibi, 2016**).

On peut constater à partir de notre étude que la toxicité du système induit par des pesticides de phosalone chez les lapins. Le pesticide de phosalone a diminué les taux du GSH. Nos résultats sont en accord avec l'étude de (**Chebab et al ., 2009**) qui a montré une diminution par rapport aux témoins. Grâce à la fonction thiol de la cystéine, le glutathion est un composé important pour le maintien de l'état réduit de la cellule. Selon plusieurs auteurs, la conjugaison du GSH à des pesticides ou aux métabolites *in vivo* pourrait être la voie majeure de leur détoxification (**Agrawal et al ., 1991 ; Almeida et al.,1997 ; El-Sharkawy et al .,1994**).

On suppose donc que le glutathion a été utilisé pour la détoxification des pesticides administrés, ce qui a engendré une baisse des taux de ce dernier.

3.3.2. Les paramètres enzymatiques

La GPx est une enzyme antioxydant clé qui règle le niveau des ROS dans les cellules (**Datta et Kaviraj, 2003 ; Henine et al., 2016**).

Une séléno-enzyme unique dans les cellules de mammifères, qui catalyse les réactions de Réduction des peroxydes organiques et inorganiques, en utilisant le glutathion réduit comme Donneur de protons, ce qui provoque l'oxydation de glutathion réduit (GSH) en glutathion Oxydé (GSSG) et la production d'alcool primaire non toxique (**Cory et al., 2005 ; Kebieche Et al., 2009**). Généralement, la GPx favorise et accélère grandement le transfert de H₂O₂ en H₂O par des mécanismes différents. La stimulation de GPx, expliquent les quantités élevées des ROS produites après l'intoxication par le pesticide PHO. Les cellules hépatique et particulièrement

Généralement, les résultats de ce travail montrent une augmentation hautement significative des activités enzymatiques de GPx chez les lapins exposés aux PHO, ce qui confirme l'état de stress oxydant induit par ce pesticide dans le tissu hépatique. Par contre le travail de (**Gasmi , 2018**) montre une diminution significative de l'activité enzymatique de GPx chez les rats exposé chroniquement aux Deltamethrine, Acetamipride.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

L'objectif de la présente étude était l'évaluation de l'hépatotoxicité d'un pesticide organophosphoré: la phosalone sur les lapins *Oryctolagus cuniculus* et l'effet opposé de la quercétine sur cette toxicité.

A la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que :

L'exposition des lapins au PHO à une dose (2 ml/ kg/ j) du poids corporel pendant 15 jours induit une altération du métabolisme protéique, procès accompagné par déficit pondéral remarquable (le poids, le poids relatif et le gain de poids).

Le pesticide PHO provoque aussi des altérations dans le bilan de stress oxydatif qui se traduit par une perturbation de taux de GSH et MDA, et l'activité de GPX.

L'exposition des lapins traités par le PHO au QR à dose de (1 ml/kg/j) du poids corporel pendant 15 jours a rétabli toutes les valeurs des paramètres étudiés à la normale, ce qui traduit l'effet antioxydant de la QR contre la toxicité et leur effet protecteur sur la fonction hépatique.

La quercétine a protégé le tissu hépatique contre l'hépatotoxicité de pesticide (PHO). Ces résultats confirment que le traitement par la quercétine à dose de 1ml/kg/j protège l'organisme contre l'effet toxique de pesticide (PHO) sur le foie.

En perspectives, il serait intéressant de développer cette recherche par :

- Étude de la génotoxicité de phosalone.
- Étude histopathologique du foie.
- Doser d'autres paramètres de la défense antioxydant : SOD, le rapport GSH/GSSG
- L'étude des paramètres enzymatiques des mitochondries tels que le GST_m, GPX_m...etc.
- Quantification des cytochromes.

Références

bibliographiques

- **Aérien** : approche par hiérarchisation. Institut national de l'environnement Agriculture, Ecosystems and Environment. 60: 81-96.
- **Agrawa D., Sultana P., Gupta G.S.D.,1991.** Oxidative damage and changes in the glutathione redox system in erythrocytes from rats treated with hexachlorocyclohexane. Food Chem Toxicol ; 29 : 459-62.
- **Ahmad A.,Ahmad R., (2012).** Understanding the mechanism of hepatic fibrosis and potentialtherapeutic approaches. The Saudi Journal of Gastroenterology, 18 (3), pp. 155-167.
- **Ahmed R.S., Seth V., Pasha S.T., Banerjee B.D .,2000.** Influence of dietary (Zingiber officinales Rosc) on oxidative stress induced by malathion in rats. Food Chem Toxicol ; 38 : 443-50.
- **Almeida M.G., Fanini F., Davino S.C.,Aznar A.E.,Koch O.R ., Barros S.B.M.,1997.** Pro and antioxidant parameters in rat liver after short term exposure to hexachlorobenzene. Hum Exp Toxicol ; 16 : 257-61.
- **Amitai G., Moorad D., Adani A., Doctor B.P.** Inhibition of acetylcholinestera And butyrylcholinesterase by chlorpyrifos-oxon. Biochem Pharmacol 1998 ; 56 : 293 .
- **Anadn A., Martinez L., Diaz M., Bringas P., Fernandez M., (1991).** Effect of deltamethrin on antipyrine pharmaeokineties and metabolism in rat. Arch Toxicol 65: 156-159
- **And a β – Aggregates in Hippocampal Neurons: the Role of Mitochondria.** Mol Neurobiol. Doi : 10.1007/ s12035-016-0203-x
- **Aoun H., Marghadi A., 2013.** Effets des vitamines E et D sur l'hématotoxicité par le cadmium chez les lapins. Mémoire de master, spécialité toxicologie fondamentale, université Larbi Tébessi, Tébessa. Page 28-29.
- **Aoun M .,Tiranti V., (2016).** Mitochondria: A crossroads for lipid metabolism defect in neurodegeneration with brain iron accumulation diseases. Inter Journal Bioch & Cell Bio 01-018
- **Application of pyridinium Hayo; M. G. Vanderwerf, J. Ecosystems and Environment 60 (1996) 81-96** Baltimore: Williams & Wilkins; p. 284-435.
- **Arora D., Haris S., Kumar S., Pratap S., Tripathi A., Mandal A., Shankar S., Kumar S.H., Shukla H., (2016).** Evaluation and physiological correlation of

plasma proteomic fingerprints for Deltamethrin induced hepatotoxicity in Wistar rats. LFS 14866: 04-025

- **Badary O.A., AbdEI-Gawad H.M., Taha R.A., (2003).** Behavioral and neurochemical effects induced by subchronic exposure to 40 ppm toluene in rats. Pharmacol Biochem Behavior 74: 997-1003
- **BarriussoE; Bedos C., Benoit P., Charnayety M.P. Coquet. 2005**
- **Baudin, B (2006)** .Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. Mitoch Cardio 2(1): 43-52
- **Behrend, L; Henderson, G; Zwacka, R.M., (2003).** Reactive oxygen species in
- **Benbouzib H., (2012).** Evaluation et étude de la toxicité d'une famille d'acaricide sur des protistes ciliés. Thèse de doctorat. Annaba University. 87pp
- **Benziane C., (2012).** Effet toxique des résidus des pesticides utilisés Sur la flore de la région de Sétif. Thèse présenté pour l'obtenir diplôme de doctorat. Biochimique chez le diabète expérimental. Université Badji Mokhtar Annaba.
- **Bolan J .,Koomen I., Vanlidith J., Jeude D.E., 2004 ;** Oudejans. J. La pesticide composition, utilisation et risques .Editions Agrodok
- **Bonan H .,Prime J.L., (2001).** Rapport sur la présence de pesticide dans les eaux de consommation humaine en Guadeloupe. Ministère de l'aménagement et du territoire et de l'environnement, 138 pp.
- **Bonnefont R. D ., Théron P ., Delattre J., (2003).** Radicaux libres et antioxydants. Biochimie pathologique. Flammarion, Paris. 317.
- **Bors W., Michel C and Stettmaier K., (2001).** Structure-activity relationship governing antioxydant capacities of plant polyphenols. Methods in Enzymology 335: 166-180
- **Bors W.,Michel C ., Stettmaier K., (2001).** Structure-activity relationship governing antioxydant capacities of plant polyphenols. Methods in Enzymology 335 : 166-180.
- **Bouhaddouda N., (2016).** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : Origanum vulgare et Mentha pulegium. These Doctorat. Univ Annaba. 205pp
- **Boumendjel A.,Pietro A.D., Dumontet C.,Barron D., 2002.** Recent Advances in the Discovery of Flavonoïds and Analogs with High-Affinity Binding to P-

Glycoprotein Responsible for Cancer Cell Multidrug Resistance. *Medicinal Research Reviews* 22, 512-529.

- **Boussekine S., 2014.** Contribution a l'étude de l'effet du sélénium sur le mécanisme
 - **Bradford M., (1976).** A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochemistry* 72: 248-254
 - **Bradford M.,1976.**A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding, *Anal. Biochem.* 72: 248–254.
 - **Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Edition Tec & Doc (Paris), , 1268p
 - **Buckley N.A.E.,ddleston M ., Li Y Bevan M.,Robertson J., Oximes (2011)** for acute organophosphate pesticide poisoning. *Cochrane SystRev* ; 16 :85-50.
 - Bulletin de oximes as cholinesterase reactivators in the treatment of organophosphate poisoning. *Eur J Pharmacol* 2006; 553:10—7.
 - **Cai W.M., et al. (2004).** [The diagnostic value of eight serum indices for liver fibrosis]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi = Zhonghua Ganzangbing Zazhi = Chinese Journal of Hepatology*, 12 (4), pp. 219-222.
 - **Calabro M .L., Tommasini S., Donato ., Raneri D., Stancanelli R., Ficarra R., Costa C., Catania S., Rustichelli C., Gamberini M.C., (2004)** .Effects of α - and β -cyclodextrins complexation on the physico- chemical properties and antioxidant activity of some 3-hydroxyflavones . *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 35 : 365-377
 - **Calver R.,2005** .Les pesticides dans le sol .édition France Agricole .
 - **Carole I and Harvé Q., (2011).** Désordres métaboliques et réanimation : de la physiopathologie au traitement. Berlin Heidelberg. New York. ISBN: 978-2-287-99026-7. 522pp
 - **Casetta I., Govoni V., Granieri E., (2005).** Oxidative stress, antioxidants and neurodegenerative diseases. *Curr Pharm*, 11(52): 20-33
 - CENTRE ANTIPOISON ALGER 2011 *Clin Chem* 41
- Chronic Disease and Medical Approaches: Recognition, Avoidance, Supportive
- **Colin F., 2000.** Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de

- **Collins A., (1997)** .Comet assay in human biomonitoring studies: reliability, validation and applications. *Environ Mol Mutagen* 30: 139-46
- **Cory-Slechta D., Thiruchelvam M., Richfield E.k., Barlow B.k., Brooks A., (2005)**. Developmental pesticide exposures and the Parkinson's disease phenotype. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 73: 136-139
- **Costa, L.G., (2006)**. Current issues in organophosphate toxicology. *Clin Chim Acta* 366, 1-13.
- **Dadoune J., siffroi J., hadjik P., (2000)** .Histologie 2^{ème} édition. Flammarion(Ed).Paris, 330
- **Dana G., Benichou C.,(1993)** Causality assessment of adverse reactions to drugs_I.A
- **Datta M and Kaviraj A., (2003)**. Acute Toxicity of the Synthetic Pyrethroid Deltamethrin to Freshwater Catfish *Clarias gariepinus* 296-299
- **De Groot H., Rauen U., 1998**. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of Flavonoids. *Fundamental Clinical Pharmacology* 12, 249-255. *Des systèmes spatiaux*. 233 p
- **Devasagayam T. P.,Tilak J. C., Bolor K. ,Sane K. S., Ghaskadbi S.S. and Lele R. D (2004)**. Free radicals and antioxidants in human health:current status and future prospects. *J Assoc Physicians India*. 52: 794-804.
- **Di Monte,D and Lavasani M., (2002)**. Manning-Bog Ab. Environmental factors in Parkinson's disease. *Neurotoxicology* 23: 487-502
- Document d'appui a la définition nosologique direction de la toxicologie humaine québec mars 2007)
- **Dong Y.,Wang J., Feng, D et al (2014)**. Protective Effect of QR against Oxidative Stress and Brain Edema in an Experimental Rat Model of Subarachnoid Hemorrhage. *Inter Journal Med Sci* 11(3): 282-290.
- **Dubus I., Barriusso E., Calvet R. J., 2001** *Chemosphere* , 45 767-774 .
- **Ehrmann D.A., (2012)**. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 352: 1223-
- **El Mrabet K., 2006** Thèse de doctoirat. Paris
- **El-Sharkawy A.M., Abdel Rahman S .Z., Hassan A.A., Gabr M.H., El-Zoghby S .M., El-Sewedy S .M.,1994**. Biochemical effects of some insecticides on the metabolic enzymes regulating glutathione metabolism. *Bull Environ Contam Toxicol* 1994 ; 52 : 505-10.

- **Engstrom-Lauren ,A et al. (1985).** Increased Serum Levels of Hyaluronate in liver diseases. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 5 (4), pp. 638-642.
- **Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jungens G., (1992).** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 13: 341
- **Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jungens G., 1992.**The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic. Biol. Med.* pp: 13, 341.
- **Favier A., 2003.** Le stress oxydant. *L'actualité Chimique. P.*108-115
- **Ficarra R ., Tommasini S ., Raneri D ., Calabro M.L ., Di-Bella M.R ., Rustichelli C ., Gamberini M.C ., Ficarra P., (2002).** Study of flavonoides / p cyclodextrins inclusion complexes by NMR , FT-IR ,DSC,X-ray investigation . *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 29 :1005-1014
- **Flohe et Gunzler., (1984)** .Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol* 105: 114-121
- **FloheL., Gunzler W.A.,1984.** Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol.* 105: 114–121.
- **Fontaine E. (2007)** .Radicaux libres et vieillissement. *Cah Nutr Diét* 42(2): 110-115
- **Formica J.V. Regelson W., 1995.** Review of the biology of quercetin and related bioflavonoïds. *Food & Chemical Toxicology* 33, 1061-1080.
- **Fortin J., (2002).** Les Guides de la connaissance – Le Corp Humain – Comprendre notre organisme et son fonctionnement ; Québec Amérique. P : 111.
- **Fournier J., Vedove A.D.et Morin C., (2002).** Formulation des produits phytosanitaires In pesticides et protection phytosanitaires dans une agriculture en mouvement. Edition ACTA, Paris, 473-495 pp.
- **Garait B (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®. These Doctorat. University of Joseph Fourier - Grenoble 1. 198pp
- **Gardès-Albert, M; Bonnefont-Rousselot, D; Abedinzadeh, Z; Jore, D., (2003).** Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique?. *L'actualité chimique* 91-95.

- **Godoy J.A., Lindsay C., Quintanilla R.A., Carvajal F.J., Cerpa W., Inestrosa W.C., (2016).** Quercetin Exerts Differential Neuroprotective Effects Against H₂O₂
- **Godoy J.A., Lindsay C., Quintanilla R.A., Carvajal F.J., Cerpa W., Inestrosa W.C., (2016).** Quercetin Exerts Differential Neuroprotective Effects Against H₂O₂ and a β -Aggregates in Hippocampal Neurons: the Role of Mitochondria. *Mol Neurobiol.* Doi : 10.1007/s12035-016-0203-x.
- **Godoy J.A., Lindsay C., Quintanilla R.A., Carvajal, F.J., Cerpa W., Inestrosa W.C., (2016).** Quercetin Exerts Differential Neuroprotective Effects Against H₂O₂ and a β -Aggregates in Hippocampal Neurons: the Role of Mitochondria. *Mol Neurobiol.* Doi : 10.1007/s12035-016-0203-x
- **Grandjean P., and Landrigan P. J., (2006).** Developmental neurotoxicity of industrial
- **Gressner A.M., et al., (2006).** Connective Tissue Growth Factor in Serum as a New Candidate Test for Assessment of Hepatic Fibrosis. *Clinical Chemistry*, 52 (9), pp. 1815-1817...
- **Gressner O.A., Gao C., (2014).** Monitoring Fibrogenic Progression in the Liver. *Clinica Chimica Acta ; International Journal of Clinical Chemistry*, 433, pp. 111–122.
- **Guillaume J., Sarah S., Olivier M., (2010).** Combining naturally occurring polyphenols with TNF-related apoptosis-inducing ligand: a promising approach to kill resistant cancer cells. *Cellular and Molecular Life Sciences* Doi : 10.1007/s00018-010-0407-6
- **Harborne J. B., Williams C.A., 2000.** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55, 481-504.
- **Hayes W 1989.** Organic phosphorus pesticides. In: Pesticides studied in man.
- **Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J., 2002.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13, 572-584.
- **Hénin S., Rouabhi R., Gasmi S., Amrouche A., Abide A., Salmi A., Toualbia N., Taib C., Bouteraa Z., Chenikher H., Boussekine S., Kebieche M., Aouimeur M., (2016).** Oxidative stress status, caspase-3, stromal enzymes and mitochondrial respiration and swelling of *Paramecium caudatum* in responding to the toxicity of Fe₃O₄ nanoparticles. *Environ Health Sci* 8(2): 161-167

- Impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*. 8: 17-
industriel et des risques. [consulté le, 04/05/2011].
- **Ineris., 2005.** Détermination des pesticides à surveiller dans le compartiment
- Jean-Michel. Carole Leguille. (2004). Pesticides risques et sécurité alimentaire.
Paris.
- **Kalender, S; Uzun, F.G; Durak, D; Demirn, F; Kalender ,Y., (2010).**
Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. *Food
and Chemical Toxicology*. 48: 633-638.
- **Karami-Mohajeri S., Abdollahi. M., (2011).** Toxic influence of
organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism
of lipids, proteins, and carbohydrates: a systematic review. *Hum. Exp. Toxicol.* 30
:1119-1140
- **Kebieche M., Lakroun Z., Lahouel M., Bouayed J., Meraihi Z., Souliman R.,
(2009).** Evaluation of epirubicin-induced acute oxidative stress toxicity in rat liver
cells and mitochondria, and the prevention of toxicity through quercetin
administration. *Experimental and Toxicologic Pathology* 61: 161-167
- **Kehrer J.P .,1993.** Free radical as mediator of tissue injury and disease. *Crit Rev
Toxicol* ; 23 : 21-48.
- **Koukoulis g.K et al., (2001).** Vitronectin in the cirrhotic liver: an immunomarker
of mature fibrosis. *Human Pathology*, 32 (12), pp. 1356-1362.
- **Kuo P.C., Liu H.F., Chao J.I., (2004)** .Survivin and p 53 modulate quercetin-
induced cell growth inhibition and apoptosis in human lung carcinoma cells. *The
Journal of Biological Chemistry* 279 : 55875-55885
- L'Organisation mondiale de la santé volume 86 mars 2008 , 161-240)
- **Lahouel A., Kebieche M., Lakroun Z., Rouabhi R., Fetoui H., Chtourou Y.,
Zama D., Soulimani R., (2016).** Neurobehavioral deficits and brain oxidative stress
induced by chronic low dose exposure of persistent organic pollutants mixture in
adult female rat. *Environmental Science and Pollution Research*.
Doi:10.1007/s11356-016-6913-9
- **Lauvverys R., Vincent H., Dominique L., (2007).** Toxicologie industrielle et
intoxication professionnelles Ed Masson 31–288
- **Leclerc P.L., (2012).** Elaboration de nanoparticules de protéines de lactosérom
comme système d'admonstration de Quercétine en système gastro- intestinal.

Thèse doctorat en Sciences et technologie des aliments (ph. D.) Université Laval Québec. 12-44, 57-110.

- **Leclerc P.L., (2012).** Elaboration de nanoparticules de protéines de lactosérum comme système d'administration de quercétine en système gastro-intestinal. Thèse doctorat en Sciences et technologie des aliments (Ph.D.) Université Laval Québec. 12-44, 57-110
- **Lee Y., Bemstock J.D., Nagaraja N. Ko., Hallenbeck, J.M., (2016)** Neuroprotection afforded by quercetin against the deleterious effects of oxygen/glucose deprivation and the restoration of oxygen/glucose. *Journal of Neurochemistry* 38: 101-116
- **Liu G.P and Shi N., (2006).** The inhibitory effects of Deltamethrin on dopamine biosynthesis in rat PC12 cells. *Toxicology Letter* 161: 195-199
- **Liu T., Yin L., Liang J., Zhu W., Xu J., Su R., Yuan L., Sun, C., (2016).** Aptamer contained triple-helix molecular switch for rapid fluorescent sensing of acetaminophen. *Circ Res* 103 : 279-288
- **LIU X.Y. et al., (2016).** Fibronectin expression is critical for liver fibrogenesis in vivo and in vitro. *Molecular Medicine Reports* [en ligne], early view before inclusion in an issue, pp. 1-7.
- **Lotti M., (1995).** Cholinesterase inhibition: complexities in interpretation.
- **Lucio G.C., Jacqueline M.G., Pamela J,R and Pellacani C.L., (2016).** Mechanisms of Neuroprotection by Quercetin: Counteracting Oxidative Stress and More. Hindawi Publishing Corporation. Doi: 10. 1155/2016/2986796
- **Lukaszewicz-Hussain A., (2008),** Subchronic intoxication with chlorfenvinphos, an organophosphate insecticide, affects rat brain antioxidative enzymes and glutathione level. *Food Chem Toxicol* 46(1): 82- 96
- **Lullmann – Rauch R., (2008).** Histologie De boeck supérieur. P : 404.
- **MA J.C. et al. (2016).** Tenascin-C promotes Migration of hepatic stellate cells and production of type I collagen. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 8 (8), pp. 1-8.
- **MA L.N. et al., (2015).** Serum high-sensitivity C-reactive protein are associated with HBV replication, liver damage and fibrosis in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology*, 62 (138), pp.368–372.

- **Maalik A., Khan F., Mumtaz A et al., (2014).** pharmacological Applications of Quercetin and its Derivatives: A Short Review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research September 13 (9) : 1561-1566

Maladies Professionnelles et de l'Environnement 6 : 927–933.
- **Marcheterre L., Choudhry G., Webster G., 1988.** Environmental
- **Margaret E and Stephen J. Genuis(2012).** Environmental Determinants of
- **Margoum C .G., 2001.** Thèse de doctorat Reims Champagne- Ardenne
- **Markham K.R. 1982.** Technics of Flavonoids identification. Edition Academic press (London), , 113p.
- **Martfnez-Cayuela M., (1995).** Oxygen free radicals and human disease. Biochimie 77: 147-161
- **McMichael M. ,(2007).** Oxidative stress, antioxidants, and assessment of oxidative
- **Michael F and Hughes E.A., (2016).** Environmentally relevant pyrethroid mixtures: A study on the correlation of blood and brain concentrations of a mixture of pyrethroid insecticides to motor activity in the rat. Toxicology 359-360(10): 19-29
- **Michelson A.M., (1982).** Oxygen radicals. *Agents Actions* (suppl.); 11:179 201. Microextraction and gaz chromatography with electron capture detection. Analytica chimica
- **Milan Jokanovi´ C., Miloˇ, S .P; Stojiljkovi´ ..** Current understanding of the
- **Myer P., (1982)** .Physiologie humaine .Masson. Paris.p :113-118.
- **Nijveldt R.J., Nood V.E., Van Hoom D.E., Boelens P.G., Van Norren K., Van Leeuwen P.A., (2001).** Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential applications. American Journal of Clinical Nutrition 74 : 418-425
- Novel method based on the conclusions of international consensus meetings: application to drug_induced liver injuries.j clin Epidemiol. P:46 :13-23-30
- Novel method based on the conclusions of international consensus meetings: application to drug_induced liver injuries.j clin Epidemiol. P:46 :13-23-30
- **Ognjanovic B.I.,Markovic S.D., Pavlovic S.Z., ZikicR.V., Stajn A.S., Saicic Z.S., (2008).** Effect of chronic cadmium exposure on antioxidant defense system in som Tissues of rats: protective effect of selenium. Physiol. Res. 57: 403-411

oncogenic transformation. Biochemical Society transactions. 31: 1441-1444

- **Oumirat and Sato R., (1964)** the carbon monoxide-Binding pigment of livermicrosomes. I. evidence for its Hemoprotein nature. *J Biol Chem* 239:2370-2378.
- **Packer L., Tritschler H.J and Wessel K., (1997).** Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med* 22: 359-378
- **Paraf A., Rautureau J., (1973).** Foie, voies biliaires pancréas JB. baillière. Paris. p :19-3
- **Park I.K., Lee, S.G., Choi D.H. & Ahn Y.J. (2002).** Insecticidal properties of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Stored Products Research*, 39 (4) : 375-384.
- **Peng Z., et al. (2008).** Ecto-5'-nucleotidase (CD73) -mediated extracellular adenosine production plays a critical role in hepatic fibrosis. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 22 (7), pp. 2263-2272.
- **Periquet A., Boisset M., Francine C., Catteau M., Lecerf** Photochemistry of Herbicides. *Reviews of Environmental Contaminations and Phytopharmaceutiques Which assessment for plant protection products Archives des*
- Pimentel D., 1995. Amounts of pesticides reaching target pest: environmental
- **Powers S., Jackson M., (2008).** Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol. Rev.* 88: 1243-1276
- Quinton J.F. 2009. *À la recherche des nouveaux animaux de Compagnies*. Ed. Masson. pp : 43-44.
- **Rajapakse B.N., Thiermann H., Eyer P., (2012).** Evaluation of the Test-mate CHE (cholinesterase) field kit in acute organophosphorus poisoning. *Ann Emerg Med*; 58:559-64.
- **Ramade F., 2002.** Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement, 2ème édition. Edition Dunod.
- **Regnault-Roger C., (2002).** De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire. In Regnault-Roger C., Philogène B. J. R., Vincent C. *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier, Tec & Doc, Paris, pp. 19-39.

- **Richardson R.J., Moore T.B., Kayyali U.S., Fowke J.H., Randall J.C.**
Inhibition of hen brain acetylcholinesterase and neurotoxic esterase by chlorpyrifos in vivo and kinetics of inhibition by chlorpyrifos oxon in vitro: application to assessment of neuropathic risk. *Fundam Appl Toxicol* 1993 ; 20 : 273-9.
- **Rjeibi I., (2016).** Oxidative damage and hepatotoxicity associated with deltamethrin in rats: The protective effects of *Amaranthus spinosus* seed extract. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 84(8): 853-860
- **Robineau, P; Mercier, T., (2012).** Quelle évaluation pour les produits
Ross J.H., Driver J.H., Lunchick C., Wible C., Selman F., (2006). Pesticide exposure monitoring databases in applied risk analysis. *Rev Environ Contam Toxicol.* 186 :107-32.
- **Rouabhi R., Gasmi S., Boussekine S., Kebieche M., (2015).** Hepatic oxidative stress induced by zinc and opposite effect of selenium in *oryctolagus cuniculus*. *Journal Environ Anal Toxicol* 5: 289-298
- **Saoudi, M., Messarah M., Boumendjel A., Jamoussi K., El Feki A., (2011).** Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltamethrin in male Wistar rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 74: 1765-
- **Sashindran R., Balasundaram M., Jegathambigai Rand Kumar P., (2015)** .Evaluation of Neuroprotective effect of Quercetin and coenzyme q 10 in ethanol induced neurotoxicity in mice. *IJABPT* 67-71 pp
- **Sauer E., (2014).** Liver delta aminolevulinate deshydratase activity is inhibited by neonicotinoids and restored by antioxidants agents *Int J Environ Res Public Health* 11(11): 11676-11690
- **Scotti G., (1978).** Les insectes et les acariens des céréales stockées. ITCF/AFNOR. Paris. 238p.
- **Sies H., 1991.** Role of reactive oxygen species in biological processes. *Klin Wochenschr* 69 : 8-10.
- **Sjowall C., (2012).** High prevalence of autoantibodies to C-reactive protein in patients with chronic hepatitis C infection: association with liver fibrosis and portal inflammation. *Human Immunology,* 73 (4), pp. 382-388

- **Spanos G.A., Wrolstad R.E., 1992.** Phenolics of apple, pear and white grape juices and their changes
- **Stalikas C.D., 2007.** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and Flavonoids. *Journal of Séparation Science* 30, 3268-3295. Surface par les produits phytosanitaires. Cas de l'Atrazine dans le bassin
Stress in dogs and cats. *JAVMA*. 231: 714-720.
- **Tennant B.C., Centr S.A.,(2008)..** Hepatic function. In: Kaneko J.J., Harvey J.W., BRUSS M.L. (dir.) *Clinical Biochemistry of Domestic Animals, sixth Edition*. San Diego: Academic Press, Elsevier, pp. 379-412.
Therapy, and Detoxification. *J Environ Public Health*. 35 :67-98.
- **Tor A., Emin Aydin M., Ozcan S., (2006) .** *Analytica Chimica Acta* 559 173-180
Toxicology. 103: 61-126.
- **Truchon G.,Tardif R. J., Drolet D., Levesque M., Boucher J., (2012).** Guide technique T-03. Guide de surveillance biologique de l'exposition. Stratégie de prélèvement et interprétation des résultats, 7 édition, Que bec : L'institut de recherche Robert- Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) ,57 :12-36
- **Turne K., Lindner D and Kalafatis M., (2016) .**Sensitization of malignant melanomas to TRAIL-induced apoptosis by quercetin. Doi: 10.1158/1538-7445
- **Turner K., Lindner D and Kalafatis M., (2016).** Sensitization of malignant melanomas to TRAIL – induced apoptosis by quercetin. Doi: 10. 1158 / 1538-7445
- **Turner K., Lindner D and Kalafatis M., (2016).** Sensitization of malignant melanomas to TRAIL-induced apoptosis by quercetin. Doi: 10.1158/1538-7445
- **Van Der Werf H., 1996.** Assessing the impact on the environment. Versant de Sousson (Gers, France). *Unité mixte Cemagref-ENGREF. Structure*
- **Viviana V.L., Angélica T.B., Lina G.M., Alejandro M., Marisol R.L., (2015).** Acute restraint stress and corticosterone transiently disrupts novelty preference in an object recognition task. *Behav Brain Res* 291: 60-66
- **Weckbeker G., Cory J.G., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters*. 40, 257-264.
- **Weckbercker, G and Cory, J.G., (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathionedepended mouse Leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letter* 40: 257-264

- **Williams R.J., Spencer J.P.E., Rice-Evans C., (2004).** Serial review: Flavonoids and isoflavones: Absorption, metabolism and bioactivity. *Free Radical Biology and Medicine* 36: 838-849 Wisconsin, USA. 433 p.
- **Williams R.J., Spencer J.P.E., Rice-Evans C., (2004).** Serial review: Flavonoids and isoflavones: Absorption, metabolism and bioactivity. *Free Radical Biology and Medicine* 36: 838-849
- With processing and storage. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 40, 1478-1487.
- **Wolfe N., Mingelgrin U., Miller G., 1990.** Abiotic transformations in: Water, sediments and soils. *Soil Science Society of America*. Madison,
- **Zahran W.E., Elsonbaty S.M., Moawed F.S.M .**Selenium nanoparticles with low-level ionizing radiation exposure ameliorate nicotine-induced inflammatory impairment in rat kidney. *Environ Sci Pollut Res*.Doi : 10.1007/s11356-017-9558-

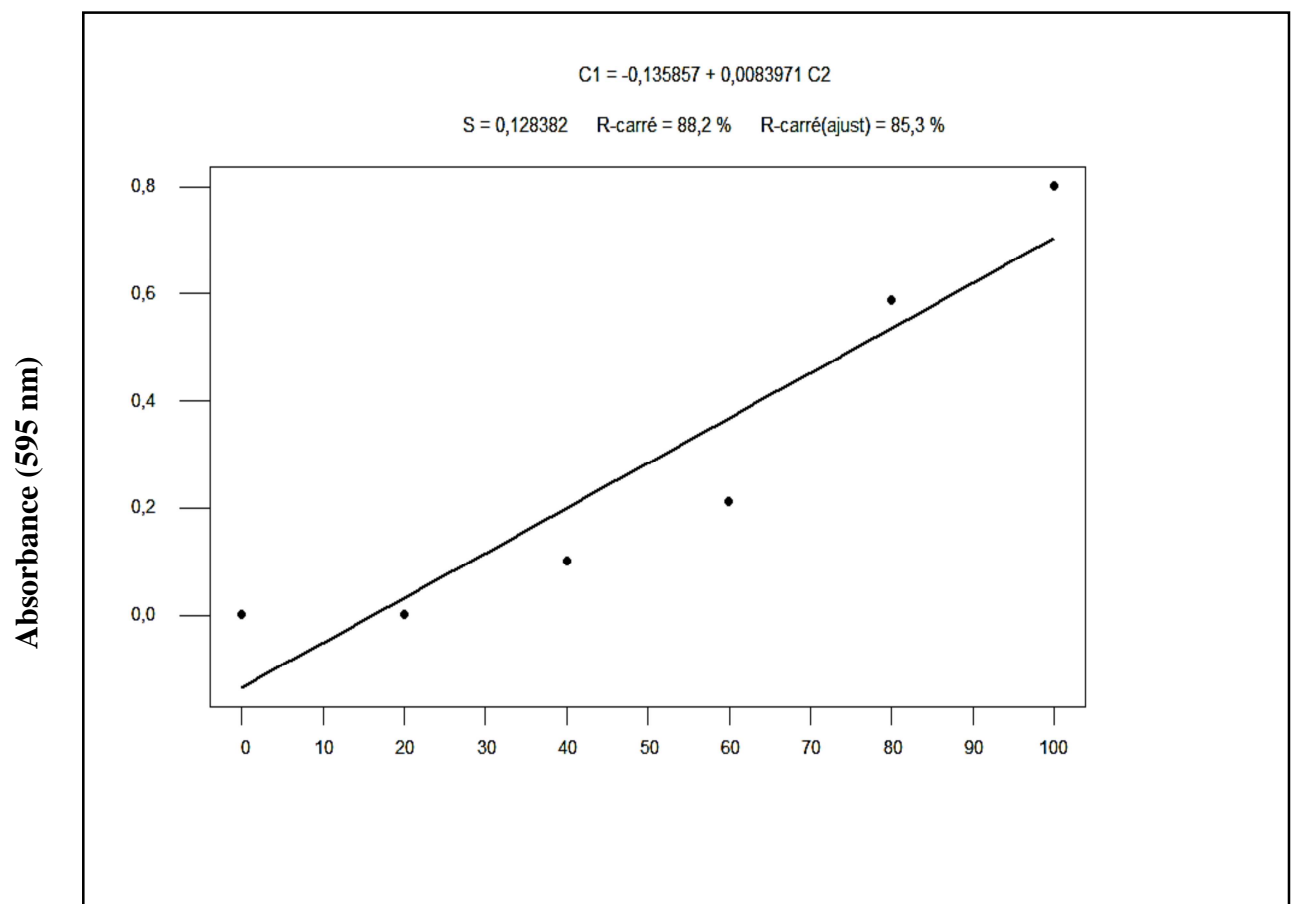
Annexes

Annexes

1. Courbe d'étalonnage pour dosage des protéines hépatiques

Tableau 01 : Réalisation de la courbe d'étalonnage pour dosage des protéines hépatiques

Solutions	Tubes					
	1	2	3	4	5	6
Solution mère de l'albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillé (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4



Quantité des protéines (µg/ml)

Figure 01 : La courbe d'étalonnage pour dosage des protéines hépatiques.

2. Classification du lapin

Tableau 02. Classification du lapin domestique (Aoun et Merghadi, 2013).

Règne	Animal
Embranchement	Chordé vertébré
Classe	<i>Mammifère placentaire</i>
Ordre	<i>Lagomorphe</i>
Famille	<i>Léporidé</i>
Genre	<i>Oryctolagus</i>
Espèce	<i>Cuniculus</i>
Nom commune	Lapin domestique