



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi-Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de:Biologie Appliquée

Thèse

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat LMD
En : TOXICOLOGIE CELLULAIRE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Toxicologie Cellulaire

Par : **Lemita Loubna**

Intitulée :

Hépto-toxicité mixte par le spinosad et le plomb et effet protecteur des huiles essentielles du fenouil chez le rat wistar

Devant le jury :

Mr. ROUABHI Rachid	Prof.	Université Larbi Tébessi-Tébessa	Président
Mr. DJABRI Belgacem	Prof.	Université Larbi Tébessi-Tébessa	Rapporteur
Mr. MENACEUR Fouad	Prof.	Université Larbi Tébessi-Tébessa	Examineur
Mme KADI Kenza	Prof.	Université de Khenchela	Examinatrice
Mr. KHABTHANE Abdelhamid	MCA.	Université de Khenchela	Examineur
Mr. DEROUICHE Samir	MCA.	Université d'El-Oued	Examineur

Année universitaire: 2021/2022



Remerciements

*Je remercie Dieu tout puissant de m'avoir donné la force et la capacité
d'effectuer ce travail.*

*Je voudrais tout d'abord remercier mon encadreur, Monsieur **ABBOU**
Belgacem Professeur à l'université de Tébessa de m'avoir donné la possibilité de réaliser ce
travail, je vous remercie particulièrement de m'avoir procuré soutien et disponibilité permanente pour
les séances de travail tout le long de ces années de thèse.*

*Mes sincères remerciements vont à Monsieur **BOUABOUBA Rachid** Professeur à
l'université de Tébessa de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury.*

*Mes remerciements sincères et respectueux vont au
Monsieur **MEHARBEUR Fouad** Professeur à l'université de Tébessa pour
avoir accepté de consacrer du temps à examiner et juger ce travail comme Examinateur.*

*Mes remerciements s'adressent également à Me **KADJOU KENZA** Professeur à
l'université de Khenchela de m'avoir fait l'honneur de participer au jury.*

*Je tiens à remercier aussi Monsieur **KOUCHEM ABDELHAMID**, maître
de conférences à l'université de Khenchela, et Monsieur **DEBOUJOU**
Samir, maître de conférences à l'université d'El-Oued, pour avoir accepté de juger ce travail .*

*Je voudrais aussi remercier l'ensemble du personnel du laboratoire pour leur aide surtout pour tous
les bons moments passés en leur compagnie : **Karima et Soued***

*En fin, je ne peux terminer ces remerciements sans citer ma famille, à qui j' dois tant. Sans
son encouragement, son soutien et son affection, je n'aurais pu mener ce travail à bien.*

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes parents

A mon mari

A mes soeurs et mes frères

A tous les membres de ma famille

A tous mes amis

ملخص

يؤثر الرصاص وسينوزا على الاعضاء المستقبلة مما يؤدي إلى الإجهاد التأكسدي. تستعمل الزيوت المستخلصة من الشمر في مختلف المجالات العلاجية لما له من خصائص مضادة للأكسدة. يهدف هذا العمل تقييم دور الزيوت المستخلصة من بذور الشمر الواقية من التسمم الخلوي الناجم عن استعمال مبيد الحشرات سينوزا ومعدن الثقيل الرصاص. تم استخلاص الزيوت بواسطة التقطير المائي، ولتقييم الفاعلية المضادة للجذور الحرة استعملنا طريقة DPPH. أجريت الدراسة على 48 فأراً مقسمة إلى 8 أفواج يضم كل فوج 6 فئران حيث عولجت هذه الأفواج بسينوزا الرصاص والزيوت الأساسية المستخلصة من بذور الشمر بشكل فردي أو خليط عن طريق الفم لمدة 21 يوم. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد مستوى البروتينات، الدهون والسكريات ومعايير الإجهاد التأكسدي (مستوى MDA, GSH والنشاط الإنزيمي كل من GST, GPx, CAT) على مستوى الكبد (الخلايا والميتوكوندري) ودراسة استهلاك O₂ ونفاذية غشاء الميتوكوندري وانتفاخه. تقدر مردودية الاستخلاص بـ 1.26%، كما أظهرت طريقة تقليل DPPH أن الزيت المستخلص له نشاط مضاد للأكسدة. أثبتت الدراسة أن المعالجة بسينوزا والرصاص تؤدي إلى تسمم كبدي وتسمم على مستوى الميتوكوندري، حيث الاستعمال المتواصل له ما يؤدي إلى حالة الإجهاد التأكسدي المتمثلة في زيادة نسبة MDA وانخفاض في نسبة GSH و تثبيط عمل الإنزيمات (GST, CAT, GPx) على مستوى الخلية الكبدية و الميتوكوندري. كما سمح عزل الميتوكوندري بالكشف عن العديد من الاضطرابات الوظيفية اذ سجلنا نقص في استهلاك O₂ وزيادة في نفاذية الغشاء وانتفاخه. أظهرت نتائج الدراسة أن الزيوت الأساسية لنبات الشمر تعالج مختلف التأثيرات الضارة والسامة وتقضي على سمية سينوزا والرصاص. مما يبين ويبرز لنا الدور الوقائي للشمر..

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، الشمر، الإجهاد التأكسدي، الرصاص، سينوزا، الميتوكوندري، الكبد

ABSTRACT

Lead and spinosad (neuroleptic biopesticide) have known cytotoxic activity linked to the production of free radicals which generate oxidative stress for the organisms which receive them. Fennel essential oils (FEO) are used in many therapeutic areas and are known for their antioxidant properties.

The objective of this work is to assess the protective effects of FEO on the cytotoxicity induced by spinosad and lead in Wistar rats. The FEO was obtained by hydrodistillation and a study of its antioxidant activity by the DPPH test was carried out.

The *in vivo* study was carried out on 48 Wistar rats divided into 08 groups of 6 rats each. The batches were made up depending on whether the rats were treated or not with SPD, Pb and FEO alone or in combinations. The treatment of the rats was carried out by gavage over a period of 21 days. The levels of proteins, lipids and carbohydrates and the parameters of oxidative stress (MDA and GSH levels and activities of GST, GPx and CAT) were analyzed at the hepatic (tissue and mitochondrial) level. The mitochondria were isolated and a study of their O₂ consumption, swelling and membrane permeability was performed. Hepatic cytochrome-c activity assay was also performed. The FEO yield was 1.26%. The DPPH test has shown that FEO has very remarkable antioxidant activity. Our results showed that the administration of spinosad and Pb alone or as a mixture causes deleterious effects on the body, resulting in: a negative effect on body growth, a hepatotoxic effect and mitochondrial dysfunction. We noted that the continued use of spinosad and lead causes the onset of oxidative stress, demonstrated by increased MDA and decrease in cytosolic and mitochondrial GSH concentration. An inhibition of the enzymatic activities of GPx, GST and CAT was also recorded at the cytosolic and mitochondrial level. Isolation of the mitochondria allowed us to demonstrate a disruption in their structural and energy functions (O₂ consumption, membrane swelling and permeability). Finally, an increase in the level of cytochrome-c was noted in the treated rats. This increase is likely to cause a state of organized cell death in the liver. FEO supplementation in rats treated with spinosad and Pb attenuates some of their harmful and toxic effects.

Our results underline the protective effect of FEO against oxidative stress induced by spinosad and lead administered alone or as a mixture.

Keywords: Essential oils, Fennel, Stress oxidants, Lead, Spinosad, Liver, Mitochondria.

Résumé

Le plomb et le spinosad (biopesticide neuroleptique) possèdent une activité cytotoxique connue liée à la production des radicaux libres qui génèrent un stress oxydant pour les organismes qui les reçoit. Les huiles essentielles du fenouil (HEF) sont utilisées dans de nombreux domaines thérapeutiques et sont connues pour leurs propriétés antioxydantes. Le présent travail a pour objectif d'évaluer les effets protecteurs des HEF sur la cytotoxicité induite par le spinosad (SPD) et le plomb (Pb) chez le rat Wistar.

L'HEF a été obtenue par hydrodistillation et une étude de son activité antioxydante par le test DPPH a été réalisée. L'étude in vivo a été réalisée sur 48 rats Wistar répartis en 08 groupes de 6 rats chacun. Les lots ont été confectionnés selon que les rats soient traités ou non par le SPD, le Pb et les HEF seuls ou en combinaisons. Le traitement des rats a été effectué par gavage sur une durée de 21 jours. Les taux de protéines, lipides et glucides et les paramètres du stress oxydatif (Taux de MDA et GSH et activités de GST, GPx et CAT) ont été évalués au niveau hépatique (tissulaire et mitochondrial). Les mitochondries ont été isolées et une étude de leur consommation d'O₂, leur gonflement et leur perméabilité membranaire a été réalisée. Un dosage de l'activité du cytochrome-c au niveau hépatique a été également effectué.

Le rendement en HEF était de 1,26%. Le test DPPH a montré que l'HEF possède une activité antioxydante très remarquable. Nos résultats ont montré que l'administration du SPD et du Pb seuls ou en mixture provoque des effets délétères au niveau de l'organisme se traduisant par: un effet négatif sur la croissance corporelle, un effet hépatotoxique et un dysfonctionnement mitochondrial. Nous avons noté que l'utilisation continue du spinosad et du plomb est à l'origine de l'apparition d'un état de stress oxydant démontré par une augmentation du MDA et une diminution dans la concentration du GSH au niveau cytosolique et mitochondrial. Une inhibition des activités enzymatique de GPx, GST et CAT a été également enregistrée au niveau cytosolique et mitochondrial. L'isolement des mitochondries nous a permis de mettre en évidence une perturbation leurs fonctions structurales et énergétiques (consommation d'O₂, gonflement et perméabilité membranaire). Enfin, une augmentation du taux de cytochrome-c a été notée chez les rats traités. Cette augmentation est susceptible de provoquer un état de mort cellulaire organisé dans le foie.

La supplémentation en HEF aux rats traités par le SPD et Pb atténue certains de leurs effets nocifs et toxiques. Nos résultats soulignent l'effet protecteur des HEF contre le stress oxydatif induit par le spinosad et le plomb administrés seuls ou en mixture.

Mots clés : Huiles essentielles, Fenouil, Stress oxydants, Plomb, Spinosad, Foie, Mitochondrie.

Table des matières

<i>Remerciements</i>	
<i>Dédicaces</i>	
ملخص	
<i>Abstract</i>	
<i>Résumé</i>	
<i>Introduction</i>	
Partie bibliographique	
I. Les pesticides	04
I.1. Généralité	04
I.1.1. Définition	04
I.1.2. Classification des pesticides	04
I. 1.2. 1. Classification chimique	04
I.1.2. 1. 1. Les pesticides organiques	04
I.1.2. 1. 2. Les pesticides inorganiques	05
I.1.2. 1. 3. Les pesticides organo-métalliques	05
I.1.2.2. Classification selon les cibles visées	05
I.1.3. Voies d'exposition aux pesticides	06
I.1.3. 1. Voie oculaire	06
I.1.3. 2. Voie digestive	06
I.1.3. 3. Voie respiratoire	06
I.1.3. 4. Voie cutanée	06
I.1.4. Effets des pesticides sur la santé humaine	06
I.1.4. 1. Les effets à court terme	06
I.1.4. 2. Les effets à long terme	07
I.2. Spinosad	07
I.2.1. Définition	07
I.2.2. Structure de spinosad	07
I.2.3. Propriétés du Spinosad	08
I.2.4. Mode d'action de Spinosad	09
I.2.5. Toxicocinitique du spinosad	09
I.2.6. Toxicité du spinosad	10

Table des matières

I.2.6.1. Effets sur le système endocrinien et la reproduction	10
I.2.6.2. Effets cancérigènes	10
I.2.6.3. Effets neurologiques et comportementaux	11
II. Métaux lourds	12
II.1. Généralité	12
II.2. Classification des métaux lourds	12
II.2.1. Les éléments traces essentiels	12
II.2.1. Les éléments traces non essentiels	12
II.3. Plomb	13
II.3.1. Généralités	13
II.3.2. Sources du plomb dans l'environnement	14
II.3.2.1. Sources naturelles	14
II.3.2.2. Sources anthropiques	14
II.3.3. Toxicocinétique du plomb	14
II.3.4. Evaluation toxicologique	15
II.3.4.1. Toxicités aigue	15
II.3.4.2. Toxicité chronique	15
II.3.5. Mécanisme de toxicité du plomb	16
III : Stress oxydatif	19
III.1. Définition	19
III.2. Radicaux libres	19
III.2.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	19
III.2.2. Radicaux libres nitrogènes	20
III.2.3. Origine des radicaux libres	21
III.2.3.1. Origine endogène	21
III.2.3.2. Origine exogène	22
III.3. Conséquences du stress oxydant	23
III.3.1. Peroxydation lipidique	23
III.3.2. Oxydation des protéines	23
III.3.3. Dommages de l'ADN	23
III.4. Système de défense antioxydant	24
III.4.1. Mécanismes enzymatiques	25
III.4.2. Mécanismes non enzymatiques	25
III.4.2.1. Vitamine C	25
III.4.2.2. Vitamine E	26

III.4.2.3.Sélénium	26
III.4.2.4.Zinc	26
III.4.2.5.Thiol	26
IV.Les huiles essentielles	28
IV.1.Définition	28
IV.2.Composition des huiles essentielles	28
IV.2.1.Les terpénoïdes	28
IV.2.2.Les composés aromatiques	29
IV.2.3.Les composés d'origines diverses	29
IV.3.Méthodes d'obtention des huiles essentielles	29
IV.3.1. Extraction par hydrodistillation	29
IV.3.2. Extraction par plus entrainement à la vapeur d'eau	29
IV.3.3. Hydrodistillation sous pression	29
IV.3.4. Enfleurage	29
IV.3.5. Expression à froid	30
IV.4. Identification des huiles essentielles	30
IV.4.1. Chromatographie en Phase gazeuse	30
IV.4.2. Chromatographie liquide sur colonne	30
IV.5. Le fenouil et ses huiles essentielles	31
IV.5.1. Généralités et description du fenouil	31
IV.5.2. Classification botanique	31
IV.3. Répartition géographique et habitat	32
IV.4.Huiles essentielles du fenouil	32
IV.4.1.Extraction	33
IV.4.2. Composition chimique	33
IV.4.3.Utilisations	34
IV.4.4.Toxicité De l'huile essentielle de Fenouil	35
Partie expérimentale	
I.Matériels et méthodes	36
I.1.Matériels	36
I.1.1.Matériel végétal	36
I.1.2.Matériel animal	36
I.2.Méthodes	37
I.2.1.Extraction des huiles essentielles	37

Table des matières

I.2.1.1. Procédé d'extraction	37
I.2.1.2. Détermination du rendement	37
I.2.1.3. Evaluation de l'activité antioxydante (Test DPPH)	38
I.2.2. Traitement des rats	39
I.2.3. prélevements des échantillons	40
I.2.4. Techniques de dosage	41
I.2.4.1. Mesure de poids	42
I.2.4.2. Exploration de la fonction hépatique	42
I.2.4.2.1. Dosage des transaminases	42
I.2.4.2.2. Extraction et dosage des métabolites	43
I.2.4.2.3. Evaluation des paramètres de stress oxydatif	46
I.2.4.2.4. Évaluation du dysfonctionnement mitochondrial	52
I.2.4.3.1. Isolement des mitochondries du foie	52
I.2.4.3.2. Préparation de la matrice mitochondriale	53
I.2.4.3.3. Evaluation du gonflement, perméabilité et respiration mitochondriales	53
I.2.4.3.4. Evaluation de Cytochrome c	53
I.3. Analyse statistique des résultats	53
II. Résultats	55
II.1. Rendement du fenouil en huiles essentielles	55
II.2. Evaluation de l'activité antioxydante (Effet scavenger du radical DPPH)	55
II.3. Action sur la croissance corporelle	56
II.3.1. Variation du poids corporel chez les rats témoins et traités.	56
II.3.2. Action sur les poids des foies	57
II.4. Effets sur les paramètres biochimiques et le stress oxydatif dans le foie	58
II.4.1. Variation de l'activité enzymatique de TGP	58
II.4.2. Variation de l'activité enzymatique de TGO	59
II.4.3. Concentration des protéines totaux	60
II.4.4. Concentration des lipides totaux	61
II.4.5. Concentration des glucides totaux	62
II.4.6. Variation de la teneur en GSH hépatique	65
II.4.7. Variation de la teneur en MDA hépatique	65
II.4.8. Variation de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase GPx	66
II.4.9. Variation de l'activité enzymatique de l'acatalase	67
II.4.10. Variation de l'activité enzymatique de GST	68

Table des matières

II.5.Évaluation du dysfonctionnement mitochondrial	70
II.4.1. Effets sur le gonflement mitochondriale dans le foie	70
II.5.2.Perméabilité membranaire mitochondriale	71
II.5.3.Effet sur la respiration mitochondriale	71
II.5.4. Effet sur le cytochrome-c cytosolique dans le foie	73
II.5.4.Évaluation du statut oxydantmitochondriale	74
II.5.4.1.Variation de la teneur en MDA mitochondrial	74
II.5.4.2.Variation de la teneur en GSH mitochondrial	74
II.5.4.3. Variation de l'activité de GST mitochondrial	75
II.5.4.4.Variation de l'activité de CAT mitochondrial	76
II.5.4.5.Variation de l'activité de GPx mitochondrial	77
III. Discussion	80
III.1. Rendement du fenouil en huiles essentielles	80
III.2. Évaluation de l'activité antioxydante	80
III.3. Effets du spinosad, plomb et huile essentielle du fenouil sur les paramètres de la croissance globale	81
III.4. Effets spinosad, plomb et huile essentielle sur les paramètres biochimiques	81
III.5. Effets du spinosad, plomb et huile essentielle du fenouil sur le statut redox	83
III.6. Évaluation du dysfonctionnement mitochondriale	86
Conclusion	89
Références bibliographiques	91
Annexes	107

Liste des Tableaux

N^odu Tableau	Titre	Page
01	Principales propriétés du spinosad	09
02	Principales propriétés physico-chimiques du plomb	13
03	Principaux constituants de l'huile essentielle des fruits de <i>Foeniculum vulgare</i>	34
04	Variation des paramètres biochimiques au niveau tissulaire hépatique chez les rats témoins et traités.	64
05	Variation des paramètres du stress oxydatif au niveau cytosolique hépatique chez les rats témoins et traités.	70
06	Variation des paramètres du stress oxydatif au niveau mitochondrial hépatique chez les rats témoins et traités (3 semaines du traitement).	79
07	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines au niveau hépatique.	108
08	Dosage des protéines : résultats des densités optiques de la gamme d'étalonnage.	108
09	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour les lipides au niveau hépatique.	109
10	Dosage des lipides : résultats des densités optiques de la gamme d'étalonnage.	109
11	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour les glucides au niveau hépatique.	110
12	Dosage des glucides: résultats des densités optiques de la gamme d'étalonnage.	110

Liste des Figures

N°de la figure	Titre	Page
01	Structure du spinosad	03
02	Toxicocinétique du plomb chez l'être humain	15
03	Action du plomb sur la biosynthèse de l'hème	17
04	Intermédiaires réduits de l'oxygène (les quatre étapes de réduction monoélectronique de l'oxygène)	19
05	Sites de production intracellulaire des radicaux libres	21
06	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	25
07	fenouil (<i>Foeniculum vulgare</i>)	31
08	Graines sèches du fenouil	36
09	Rats males de la souche Wistar	37
10	Procédés d'hydrodistillation	38
11	Structure de DPPH et sa réduction par un antioxydant	39
12	Prélèvement des foies	42
13	Extraction des glucides, protéines et lipides totaux	46
14	Activité antioxydante de l'huile essentielle du fenouil vis-à-vis le radical DPPH.	55
15	Activité antioxydante de l'acide ascorbique vis-à-vis du radical DPPH.	56
16	Variation du poids corporel des rats témoins et traités après 3 semaines du traitement	57
17	Variation du poids relatif du foie chez les rats témoins et traités après 3 semaines du traitement	58
18	Variation de l'activité enzymatique de TGP dans les différents lots expérimentaux	59
19	Variation l'activité enzymatique de TGO dans les différents lots expérimentaux après 3 semaines du traitement	60
20	Variation de la concentration plasmatique en protéines totales chez les rats témoins et traités après 3 semaines du traitement	61

Liste des figures

21	Variation de la concentration plasmatique en lipides totales chez les rats témoins et traités après 3 semaines du traitement	62
22	Variation de la concentration plasmatique en glucose chez les rats témoins et traités après 3 semaines du traitement	63
23	Variation de la teneur enGSH hépatique dans les différents lots expérimentauxaprès 3 semaines du traitement	65
24	Variation de la teneur en MDA hépatique dans les différents lots expérimentauxaprès 3 semaines du traitement	66
25	Variation de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase GPX dans les différents lots expérimentauxaprès 3 semaines du traitement.	67
26	Variation l'activité enzymatique du catalase dans les différents lotsexpérimentauxaprès 3 semaines du traitement.	68
27	Variation de l'activité enzymatique de GST dans les différents lots expérimentaux après 3 semaines du traitement.	69
28	Variation du gonflement mitochondrial des cellules du foie chez les rats traités	71
29	Variation de la perméabilité membranaire mitochondriale dans le foie chez les rats traités après 3 semaines du traitement	72
30	Variation de la respiration mitochondriale dans le foie chez les rats traités	73
31	Variation de l'activité de cytochrome- c dans le foie chez les rats traités	73
32	Variation de la teneur en MDA mitochondrial dans les différents lots expérimentaux.	74
33	Variation de la teneur enGSH mitochondrial dans les différents lots expérimentaux	75
34	Variation de l'activité enzymatique de GST mitochondrial dans les différents lots expérimentaux.	76
35	Variation de l'activité enzymatique de CAT mitochondrial dans les différents lots expérimentaux.	77
36	Variation de l'activité enzymatique de GPx mitochondrial dans les différents lots expérimentaux .	78
37	Droite de régression experimant les absorbances à 595 nm en fonction de concentration BSA (R^2 : coefficient de détermination).	108
38	Droite de régression exprimant les absorbances à 530 nm en fonction de concentration de solution mère de lipides (R^2 : coefficient de détermination).	109
39	Droite de régression exprimant les absorbances à 620 nm en fonction de concentration de solution de glucose (R^2 : coefficient de détermination).	110

Liste des abréviations

AChR	Acétylcholinestérase
ADN	Acide désoxyribonucléique
AG	Acide gras
ATP	Adenosine triphosphate
ALAD	l'acide aminolévuliniquedéshydratase
ALT	Alanine aminotransférase
AST	L'aspartate aminotransférase
ASS	Acide sulfoosalicylique.
BBC	Bleu Brillant de Coomassie
BSA	Bovine Sérum Albumine
Ca⁺⁺	ion calcium
CDNB	chloro-2-4-dinitrobenzène
CAT	catalase
Cyt c	Cytochrome c
DPPH	2,2-diphenyl -1-picrylhydrazyl
DTNB	l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitriobenzoïque
EDTA	acide éthylène diamine tétra-acétique
HEs	Huile essentielles.
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
H₂O₂	peroxyde d'hydrogène
GABA	Acide gamma-aminobutyrique
GPx	Glutathion Peroxydase.
GSH	Glutathion réduit.
GSSG	Glutathion oxydée
GST	Glutathion-S-transférase.
MDA	Malondialdehyde
mg	Milligramme
mmol	Milimole
NADH	Nicotinamide-adéninedinucléotide-phosphate réduit

Liste des abréviations

•NO	monoxyde d'azote
NO₂·	Dioxyde d'azote
O₂·	super oxyde
OH·	radical hydroxyle
ONOO·	Peroxyde nitrite
Pb	plomb
PBS	(Phosphate Buffer Solution) Tampon phosphate
PC	poids corporel
PTPm	Pore de transition de perméabilité dépendant du calcium
-SH	Groupements Thiols
SOD	Superoxyde dismutase
SPD	spinosad
TBA	l'acide thiobarbiturique
TBS	Tris-buffered saline.
TCA	Trichloroacétique
TGO	Transaminaseglutamate oxaloacétate
TGP	Glutamate pyruvatetransaminases
TNB	Acide 5-thio-nitrobensoïque.
µl	Microlitre.
UV	Ultra violet.
Vt	Volume totale.
Vh	Volume du l'homogénat.

Introduction

Introduction

Le développement croissant des activités industrielles et domestiques à travers le monde fait un usage important des produits chimiques. Chaque année, un nombre croissant de nouveaux produits sont mis sur le marché international ce qui conduit à la contamination de l'air, de l'eau et du sol (Jing *et al.*, 2013). Les propriétés et les origines de ces contaminants environnementaux sont très différentes et leurs impacts potentiels sur les différents écosystèmes dépendent de leurs interactions avec le milieu environnant. Certains polluants comme les pesticides et les radioéléments artificiels sont apportés à l'environnement par les activités anthropiques ; alors que d'autres existent déjà naturellement, mais leurs concentrations sont altérées par l'intervention humaine. C'est le cas des métaux lourds comme le plomb (Pb) (Hemond et Fechner, 2015).

Un pesticide est un produit chimique organique ou minéral destiné à lutter contre les organismes indésirables, tels que bactéries, les mauvaises herbes, les champignons, les insectes ou les rongeurs. Plus de 350 composés actifs qui entrent dans la composition de 4000 produits environ sont recensés. Ces produits regroupent des composés organiques et inorganiques à action plus ou moins spécifiques, tels que les herbicides, les insecticides et les fongicides, qui sont les trois types de pesticides utilisés. Les préoccupations concernant les effets de pesticides ne sont apparues que récemment, avec l'augmentation du nombre de molécules synthétisées et l'extension de leur action à de nombreux organismes. (Marteil, 1974 ; Rostagno *et al.*, 1999). Les bioinsecticides peuvent se définir au sens large comme des pesticides d'origine biologique, c'est-à-dire, organismes vivants ou substances d'origine naturelle synthétisées par ces derniers, et plus généralement tout produit de protection des plantes qui n'est pas issu de la chimie (Thompson, *et al.* 2002).

Le spinosad, composé de deux spinosynes (A et D) est obtenu à partir de la fermentation d'une bactérie Actinomycète *Saccharopolyspora spinosa* (L'opez *et al.*, 2010). En effet, il montre une faible toxicité pour l'Homme, les mammifères, les invertébrés aquatiques et les organismes non visés (Wang *et al.*, 2014) par ailleurs, il préserve l'environnement du fait de sa rapide biodégradation et de sa forte sélectivité. Il agit par contact ou par ingestion, et est très efficace contre les Lépidoptères et les Diptères (Tamam *et al.*, 2014). Le spinosad présente un mode d'action de type neurotoxique nouveau et unique car il agit à la fois sur les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine et sur les récepteurs gamma aminobutyrique (GABA) ergiques (Sharififard *et al.*, 2011).

Le plomb (Pb) est un métal lourd présent dans la croûte terrestre et dans tous les compartiments de la biosphère (Elhamalawy, 2018). Le Pb pénètre dans l'organisme soit avec les aliments, soit avec les boissons notamment avec l'eau (Owoeye et Onwuka, 2016). Il est absorbé et conjugué dans le foie et partiellement excrété en urine, (Zaglool *et al.*, 2017) tandis que le Pb s'accumulait habituellement dans le cerveau, le foie, les reins et les poumons (Owolabi *et al.*, 2014). Le plomb induit habituellement des effets nuisibles sur le système nerveux central comme l'irritation, immunosuppresseurs, génotoxiques, tératogéniques, néphrotoxiques et autres toxiques d'effets sur le système hématopoïétique (Taha *et al.*, 2013). Il est connu pour ses dangers oxydants dans divers tissus en provoquant le déséquilibre dans la génération et le déplacement d'espèces réactives de l'oxygène (El-Masry *et al.*, 2016).

Le stress oxydant est classiquement défini comme un déséquilibre en faveur de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui conduit à une oxydation accrue des composants cellulaires essentiels. Ce déséquilibre pro-oxydant/antioxydant peut avoir une origine exogène : molécules oxydantes, toxines telles que les métaux lourds, pesticides...etc. ou une origine endogène : dysfonctionnements de certaines sources de production et systèmes d'élimination des ERO (MELILA *et al.*, 2012).

Les radicaux libres sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe, formés par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radicalaire. Quand la formation de ces ERO dépasse la capacité de balayage par les défenses antioxydantes, les radicaux libres nocifs s'accumulent et augmentent la probabilité de dommages oxydants aux biomolécules critiques tels que les enzymes, les protéines, les lipides membranaires et l'ADN (Belhaouchet *et al.*, 2012).

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell, 1990). Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Delattre *et al.*, 2005).

On distingue classiquement 2 catégories d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques et les antioxydants non enzymatiques pour lesquels nous différencierons ceux qui sont liposolubles et donc répartis dans les membranes biologiques de ceux qui sont hydrosolubles et donc plutôt répartis dans le cytosol, le milieu extracellulaire et le plasma. Les huiles végétales représentent aussi une source importante d'antioxydants naturels (Ramadan et Moersel, 2006).

Les huiles essentielles du fenouil (*Foeniculumvulgare*)(Apiaceae)en constituent un exemple. Les huiles essentielles, sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense. Il s'agit d'un mélange de composés lipophiles, volatiles, et souvent liquides synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. L'huile essentielle du fenouil est un extrait végétal odorant concentré dans les méricarpes des grains. Elles sont trèsutilisées par les industries pharmaceutiques et en phytothérapie et sont connues pour leurs propriétés antioxydantes (Chiasson et Beloin, 2007).

Ce travail de recherche a pour objectif d'étudier la toxicité induite par le plomb et spinosad au niveau hépatique et l'évaluation de l'effet protecteur des HE du fenouil chez les rats blanc de la souche Wistar. Pour atteindre cet objectif, ce travail est divisé en deux parties :

- Une partie bibliographique dans laquelle seront rapportées certaines informations de base nécessaires pour la compréhension du travail expérimental.
- Une partie expérimentale expliquant le matériel utilisé et la méthodologie adoptée ainsi que la présentation des résultats et leur discussion.

Partie

Bibliographique

I. Pesticides

I.1. Généralité sur les pesticides

I.1.1. Définition

Le terme "pesticides" est l'appellation générique couvrant toutes les substances (molécules) ou produits (formulation) qui éliminent les organismes nuisibles, qu'ils soient utilisés dans le secteur agricole ou dans d'autres applications. D'un point de vue réglementaire, on distingue :

- Les produits phytopharmaceutiques au sens de la directive (91/414/CE), plus communément désignés par le terme "produits phytosanitaires" : ils sont utilisés principalement pour la protection des végétaux en agriculture ou dans d'autres secteurs (sylviculture, aménagement des paysages et entretien des abords d'axes de transport, jardinage amateur).
- Les biocides (définis dans la directive dite "biocides" 98/8/CE) : ce sont des substances actives des préparations contenant une ou plusieurs substances actives utilisées, par exemple dans des applications comme la conservation du bois, la désinfection ou la lutte antiparasitaire, pour détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, en prévenir l'action ou les combattre de toute autre manière par une action chimique ou biologique (Calvet et al 2005).

I.1.2. Classification des pesticides

Il existe trois façons principales de classer les pesticides : par leurs cibles visées, par leurs caractéristiques chimiques, par leurs usages.

I.1.2. 1. Classification chimique

La classification se fait selon la nature chimique de la substance active du pesticide, on distingue trois catégories de pesticides : les pesticides inorganiques, les pesticides organométalliques, et les pesticides organiques (Calvet et al 2005).

I.1.2. 1. 1. Pesticides organiques

Ils sont nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques. Il existe actuellement plus de 80 familles ou classes chimiques dont les plus connues sont :

A/ Organochlorés

Ce sont des insecticides qui contiennent du carbone, du chlore, et de l'hydrogène. Ils sont également appelés des hydrocarbures chlorés, des insecticides chlorés, et des synthétiques chlorés.

Les insecticides organochlorés peuvent être divisés en quatre groupes distincts, y compris :

- DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane) et leurs analogues (méthoxychlore)
- cyclodiènes (aldrine, heptachlore, dieldrine, l'endosulfan)
- hexachlorohexane (lindane)

composés apparentés (Abdollahi et *al*, 2004).

B/ Organophosphorés

Les organophosphorés (OP) sont des produits chimiques inhibiteurs de la cholinestérase utilisés principalement en tant que pesticides. Ils sont également utilisés Comme agents de guerre chimique (agents nerveux) (Abdollahi et *al*, 2004). Les pesticides organophosphorés sont généralement des esters d'acides phosphoriques pentavalents.

C/ Carbamates

Parmi les pesticides les plus utilisés dans le monde entier, il y a les carbamates. Ces composés dérivés de l'acide carbamique sont probablement les insecticides ayant le plus large spectre d'activité biocide. Les carbamates sont des inhibiteurs de l'activité d'acétylcholinestérase (AChE) (Dhouib et *al*, 2015).

D/ Pyréthrinoides

Sont une classe d'insecticides synthétiques, leur structure chimique est basée sur les pyréthrines naturelles, qui sont trouvés dans les fleurs de *Chrysanthemum cineraraefolium*. La structure de base des pyréthrinoides est constituée d'un acide et d'un groupement alcool, avec une liaison ester (Saillenfait et *al*, 2015).

I.1. 2. 1. 2. Pesticides inorganiques

Ils sont peu nombreux mais certains sont utilisés en très grandes quantités comme le soufre et le cuivre. Ce sont des pesticides très anciens, leur emploi est actuellement limité. Aujourd'hui, aucun insecticide n'est mis en marché, un seul herbicide est employé. L'essentiel des pesticides inorganiques sont des fongicides à base de soufre ou de cuivre sous diverses formes dont une des plus utilisées est la bouillie bordelaise (Calvet et *al*, 2005).

I.1.2. 1. 3. Pesticides organo-métalliques

Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe d'un métal tel que le zinc et le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate. Des exemples de ces pesticides sont le mancozèbe (avec le zinc) et le manèbe (avec le manganèse) (Calvet et *al*, 2005).

I.1.2.2. Classification selon les cibles visées

Selon les organismes vivants visés, on distingue plusieurs catégories de pesticides, dont les grandes classes sont :

- Les insecticides : sont utilisés pour la protection des plantes contre les insectes.
- Les herbicides : ils sont destinés à éliminer les mauvaises herbes.
- Les fongicides : permettent à éliminer les champignons, et les moisissures.
- Les rodenticides : qui sont destinés à combattre les rongeurs.

Outre ces quatre grandes classes, différentes classes peuvent être citées comme par exemple : les acaricides (les acariens), les molluscides (escargots, d'autres mollusques). (Calvet et al, 2005)

Évaluation des risques des pesticides :

I.1.3. Voies d'exposition aux pesticides

Les voies de pénétration des pesticides chez les humains sont les quatre suivantes :

I.1.3. 1. Voie oculaire

Le risque des atteintes chimiques est élevé pour les tissus de l'oeil. Le respect des consignes de sécurité et l'utilisation des moyens de protections est nécessaire (Kim et al, 2017).

I.1.3. 2. Voie digestive (orale)

L'absorption de pesticides par la voie orale est plus rare chez les travailleurs. Ce type d'exposition est observé lors d'un contact de la bouche avec des mains contaminées par les produits, ou lors de manoeuvres nécessitant de souffler ou aspirer dans la tubulure de l'équipement d'application afin de déboucher les tuyaux et les buses ou de siphonner du produit (Cherin et al, 2012).

I.1.3. 3. Voie respiratoire

Les pesticides normalement utilisés sous forme d'aérosol, de brouillard ou de gaz peuvent ainsi être facilement inhalés. Les pesticides peuvent aussi adhérer à des particules de poussières en suspension et parfois même à la fumée de cigarette. Le risque d'exposition par les voies respiratoires est d'autant plus élevée que les travaux sont faits dans un lieu confiné et clos, comme une serre ou un tunnel de culture (Cherin et al, 2012).

I.1.3. 4. Voie cutanée

Où, les pesticides peuvent être absorbés via le revêtement cutané, à travers toute la surface corporelle. L'importance de la pénétration cutanée varie selon les propriétés physicochimiques des produits, et d'autres facteurs externes qui peuvent aussi modifier les degrés de l'intoxication par voie cutanée (l'absence de la protection lors de l'utilisation des pesticides, et aussi certaines conditions environnementales comme l'humidité, le vent ou la température, et le délai entre périodes d'exposition) (Cherin et al, 2012).

I.1.4. Effets des pesticides sur la santé humaine

Les pesticides de par leurs propriétés intrinsèques, représentent un danger potentiel pour l'homme en cas de contact inopiné. Leur utilisation, professionnelle ou domestique, suscite de nombreuses questions quant aux conséquences délétères qu'ils pourraient avoir sur la santé (Multigner, 2005).

I.1.4. 1. Effets à court terme (aigue)

Les principales connaissances sur les effets aigus des pesticides sur les hommes c'est 'à dire se manifestant rapidement après expositionsont issus d'observations rapportées en milieu professionnel et des cas d'intoxications documentées par les centres antipoison. Seul les effetsaigues des pesticides sont bien répertoriés.

Les manifestations peuvent se limiter à des signes locaux :irritation de la peau, des muqueuses, réactions allergiques cutanées ou oculaires, vomissement,toux, gêne respiratoire ou bien traduire l'atteinte d'un ou plusieurs organes ou systèmes : foie, rein,système nerveux centrale ... en cas d'effets systémiques. L'intoxication massive par un pesticidepeut avoir des complications graves parfois mortelles (Cherin et *al*, 2012).

I.1.4. 2. Effets à long terme (chroniques)

Si les effets aigus des pesticides sont assez bien connus, les effets retardés des pesticides(suite à des expositions chroniques), le sont beaucoup moins. Les effets retardés des pesticidespeuvent apparaitre soit à distance d'exposition unique, généralement intense, soit à la suited'expositions, généralement à de faibles doses, mais répétées dans le temps. Ces dernières, de loinles plus fréquentes, concernent potentiellement la population générale. Les effets observés pourraient résulter de l'accumulation de molécules qui s'éliminent lentement, atteignant un seuil deconcentration critique au bout d'un certain temps, ou bien, dans le cas de molécules rapidement éliminées, découler de l'addition d'effets sous-cliniques et irréversibles (Multigner, 2005).

I.2.SPINOSAD

I.2.1. Définition

Le Spinosad est un insecticide d'origine microbienne. Il est issu de la fermentation aérobie d'une bactérie Actinomycète *Saccharopolyspora spinosa* (Penagos *et al.*, 2005). Après la fermentation, le spinosad est extrait et formulé pour former une suspension aqueuse blanche cristalline concentrée (Thompson *et al.*, 2000).

I.2.2. Structure du spinosad

Le spinosad est un mélange de deux spinosynes, spinosyne A et spinosyne D, c'est le nomcommun de (EZ)-1-(6-chloro-3-pyridylméthyl)-Nnitroimidazolidinylidèneamine. Sa formule chimique est C₄₁H₆₅NO₁₀ pour le spinosyne A et C₄₂H₆₇NO₁₀ pour le spinosyne D dont le poids moléculaire est respectivement de 731,98 g/mol et 745,98 g/mol (Piri *et al.*,2014).

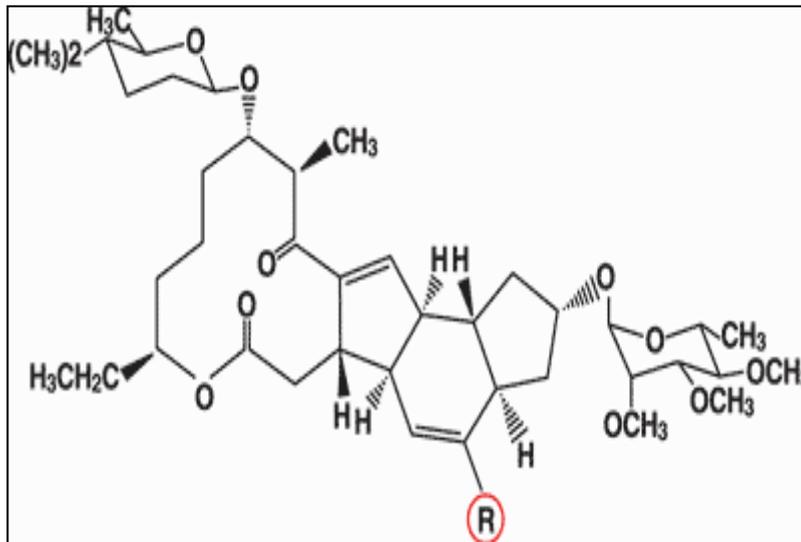


Figure 01 : Structure du spinosad (Franc et Bouhsira,2009)

I.2.3. Propriétés du Spinosad

La compagnie Dow Agro Sciences le commercialise sous l'appellation Success 480 SC Naturalyte et il est recommandé dans un programme de lutte intégrée. Le tableau 1 présente les propriétés de la préparation commerciale (Tableau 1).

Tableau 01: Principales propriétés du spinosad

Propriétés	Résultats
État	Solide cristalline
Couleur	Blanc à gris clair
Odeur	Terre mouillée
Masse moléculaire	Spinosante : 731 ,98 Spinosyne D : 746,00
Point de fusion	Spinosyne A : 84 à 99,5 °C Spinosyne D : 161 ,5 à 170°C
Solubilité dans l'eau	Spinosyne A : - pH 5 : 290 mg /l pH 7 : 235 mg /l pH 9 : 16 mg /l Spinosyne D : -pH 5: 28,7 mg /l pH 7: 0,332 mg /l pH 9 : 0,053 mg /l
DL50	3738mg/kg
La demi-vie	1 à 15 jours
CL50	> 5,0 mg/L

I.2.4. Mode d'action de Spinosad

Le Spinosad provient de la fermentation de l'actinomycète *Saccharopolyspora spinosa*. Il est efficace dans le contrôle des lépidoptères, diptères, thysanoptères et quelques espèces d'orthoptères et de coléoptères (Tamam *et al.*,2014).Le spinosad active les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) et inhibe les récepteurs de l'acide gamma-amino butyrique (GABA) dans le système nerveux central des insectes ce qui provoque l' excitation du système nerveux de l'insecte conduisant à des contractions musculaires involontaires, à la prostration avec des tremblements, et enfin la paralysie et la mort de l'insecte(Chaabane *et al.*,2012).

I.2.5. Toxicocinitique du spinosad

Le spinosad est un insecticide d'origine biologique (famille chimique des naturalites) composé d'un mélange de deux métabolites (spinosynes A et D) synthétisés par la bactérie *Saccharopolyspora spinosa*, du groupe des actinomycètes (Wang *et al.*, 2014). La dégradation du produit dans le sol se fait par les cycles naturels de dégradation par la lumière et la biomasse microbienne. La demi-vie du Spinosad sur les feuilles est de l'ordre de 1 à 15 jours, selon l'intensité lumineuse dans le sol, elle est l'ordre de quelques jours. Les métabolites du produit «spinosynes» pourraient par contre être plus persistants : leur accumulation dans le sol peut donc présenter un risque toxicologique à vérifier par un suivi précis (FLINN *et al.*, 2004).

Les voies d'expositions au spinosad sont trois, la voie orale est associée à la consommation de végétation traitée, de l'eau et de poissons contaminés, la voie cutané par contact avec les feuilles traitées ou au moment du traitement, la voie respiratoire par inhalation des aérosols lors de la pulvérisation chez les mammifères, après une administration orale de spinosad, 80% des spinosynes A et 66% des spinosynes D sont rapidement absorbés. Les résidus de spinosad sont largement distribués dans les graisses périrénales, le foie, les reins et les ganglions lymphatiques. Le spinosad est excrété principalement dans les fèces (Marrs, 2012).

I.2.6. Toxicité du spinosad

Il préserve l'environnement du fait de sa rapide dégradation et présente aussi une faible toxicité pour l'Homme et les mammifères (Chaabane *et al.*, 2012). Les effets indésirables connus sont, par fréquence décroissante, les vomissements, l'anorexie, la léthargie, la diarrhée, des tremblements musculaires, une ataxie, des convulsions et des troubles oculaires. Il est recommandé de l'utiliser avec prudence chez des animaux épileptiques. De plus, une interaction avec l'ivermectine est connue : la pharmacocinétique et le risque de neurotoxicité de l'ivermectine sont augmentés lors de co-administration de spinosad (Dunn *et al.*, 2011).

I.2.6.1. Effets sur le système endocrinien et la reproduction

Certains insecticides sont des perturbateurs endocriniens et peuvent être à l'origine d'effets délétères chez l'homme en particulier sur la reproduction. De nombreux perturbateurs endocriniens agissent via les récepteurs aux œstrogènes et les récepteurs aux androgènes provoquant une perturbation de l'homéostasie œstrogènes/androgènes importante pour le fonctionnement normal des processus impliqués dans la reproduction (Dunn *et al.*, 2011).

I.2.6.2. Effets cancérogènes

L'exposition aux pesticides peut jouer un rôle dans l'apparition des cancers chez l'homme en particulier chez des populations exposées de manière importante comme les agriculteurs. Plusieurs études épidémiologiques ont mis en évidence une association positive entre l'exposition aux pesticides et certains cancers comme les cancers du sein, de la prostate, des reins, des poumons, du cerveau mais également des leucémies, des myélomes et des lymphomes non hodgkiniens (Marrs, 2012).

I.2.6.3. Effets neurologiques et comportementaux

Actuellement, la majorité des insecticides présents sur le marché sont des neurotoxiques et une exposition chronique à certains de ces composés peut conduire à l'apparition de troubles neurologiques. Le développement du système nerveux est sensible aux toxines présentes dans l'environnement. L'exposition durant les stades précoces (in utero, chez le nourrisson et l'enfant) peut conduire à l'apparition de certaines pathologies comme l'autisme, la dyslexie, un retard mental, une perte de la concentration, une hyperactivité (Marrs, 2012).

II. Métaux lourds

II.1.Généralité

On appelle métaux lourds les éléments métalliques naturels dont la masse volumique est supérieure à 5 g/cm³. Leur réactivité et leur toxicité ne dépendent pas seulement de leur concentration. Leur capacité à s'accumuler ou à se transformer dans les organismes vivants et leurs propriétés éco-toxicologiques ou toxicologiques dépendent aussi de leur spéciation, c'est à dire la forme chimique sous laquelle ils sont présents dans notre environnement.

Présents naturellement dans notre environnement et utilisés industriellement, les métaux lourds sont émis dans l'air sous forme de très fines particules et finissent par retomber sur le sol contaminant ainsi les animaux et les végétaux. La plupart se retrouvent donc dans notre alimentation d'une façon spontanée ou industrielle. Certains sont essentiels au bon fonctionnement de notre organisme tandis que d'autres n'ont aucune fonction biologique, présentent des risques pour la santé.(Chappuis, 1991).

II.2.Classification des métaux lourds

La classification en métaux lourds est souvent discutée car certains métaux toxiques ne sont pas particulièrement "lourds" (exemple : le zinc) et certains éléments ne sont pas des métaux mais des métalloïdes (exemple : l'arsenic). Pour ces différentes raisons, la plupart des scientifiques préfère à l'appellation métaux lourds, celle de: "Eléments en Traces Métalliques" (ETM) ou par extension "élémentstraces" (Miquel, 2001) On distingue ainsi :

II.2.1.Les éléments traces essentiels

Ce sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil. C'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn), du fer (Fe), etc (Loué,1993).

II.2.1. Les éléments traces non essentiels

Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule, mais un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg), du cadmium (Cd). Ce sont des micropolluants de nature à entraîner des nuisances, même quand ils sont rejetés en quantités très faibles. Leur toxicité se développe par bioaccumulation le long de la chaîne alimentaire. Le plomb, le cadmium et le mercure sont des

métaux lourds très dangereux qui peuvent contaminer les milieux naturels et atteindre l'homme à travers la chaîne alimentaire (Miquel, 2001).

II.2. Plomb

Le plomb est un métal lourd d'origine naturelle qui ressemble de couleur gris bleuâtre. Il n'a pas vraiment une odeur ou un goût. Il est une substance hautement toxique, qui n'a pas de rôle physiologique dans l'organisme (Elhamalawy, 2018). Le plomb peut être combiné pour former des molécules inorganiques et organiques. Il est présent dans de nombreux minéraux et ne se rencontre que rarement à l'état natif. Les principaux minéraux porteurs de plomb, sont des sulfates, des carbonates, des oxydes, des hydroxydes, des sulfures ou encore des phosphates. Toutefois, le Plomb organique peut être plus toxique que le Plomb inorganique parce que le corps l'absorbe plus facilement (Simons, 1988).

Tableau 02 : Principales propriétés physico-chimiques du plomb

Symbole	Pb
Numéro Atomique	82
Masse atomique	207,2 g.mol ⁻¹
Point de fusion	327°C
Point d'ébullition	1740°C
Densité	11,35
Configuration électronique	[Xe] 0, +2, +4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ²
Valence	6p ²
Rayons ioniques	0, +2, +4
Pb₂₊	0,94 à 1,49 Å
Pb₄₊	+ 0,78 à 0,94 Å

II.2.2. Sources du plomb dans l'environnement

II.2.2.1. Sources naturelles

Le plomb est assez abondant dans la croûte terrestre où sa concentration moyenne est comprise entre 10 et 20 mg/kg. Les principaux minerais sont la galène (sulfure), la cérusite (carbonate) et l'anglésite (sulfate). Dans le minerai, le plomb est souvent associé à l'argent et au zinc. L'antimoine, l'arsenic, le bismuth et le cuivre sont d'autres éléments fréquemment présents dans les minerais de plomb. Les principales sources de ces minerais sont les émissions volcaniques. La production de plomb peut aussi résulter de la décomposition radioactive de l'uranium, du thorium et du radon, mais c'est une source naturelle mineure de cet élément (SHAH ,2016).

II.2.2.2. Sources anthropiques

Les rejets atmosphériques sont principalement anthropiques, ils proviennent d'abord des industries de fusion du plomb, et au niveau routier ou urbain, des rejets des véhicules à moteur (SHAH ,2016).

II.2.3. Toxicocinétique du plomb

L'absorption de plomb se fait par inhalation, ingestion ou par contact cutané. L'absorption des vapeurs de plomb est respiratoire. La rétention respiratoire des particules est comprise entre 30 et 50 %, selon leur granulométrie et la ventilation des personnes exposées. Pratiquement, la principale voie d'absorption du plomb est digestive (Owoeye et Onwuka, 2016).

La distribution du plomb dans l'organisme n'est pas homogène. Après son absorption, il passe dans la circulation sanguine et se fixe aux érythrocytes, au niveau de l'hémoglobine et la membrane et le reste se diffuse dans le sérum. Il est ensuite distribué à divers organes et tissus.

L'élimination du Plomb a fait l'objet de nombreuses modélisations; les plus généralement admises distinguent trois compartiments, en fonction de leurs cinétiques d'élimination: le sang, les tissus mous et l'os. Il y a plusieurs facteurs qui jouent sur la distribution du plomb et donc sur sa toxicité (SHAH ,2016). Chez l'homme, la voie d'excrétion principale est le rein. La concentration urinaire est proportionnelle au plomb plasmatique, de sorte que la quantité de plomb filtrée reste faible puisque l'énorme majorité du plomb sanguin est fixée aux hématies. La quantité de plomb contenue dans les fèces reflète plus le plomb non absorbé par l'intestin que le plomb excrété par voie biliaire (Saka et coll,2011).

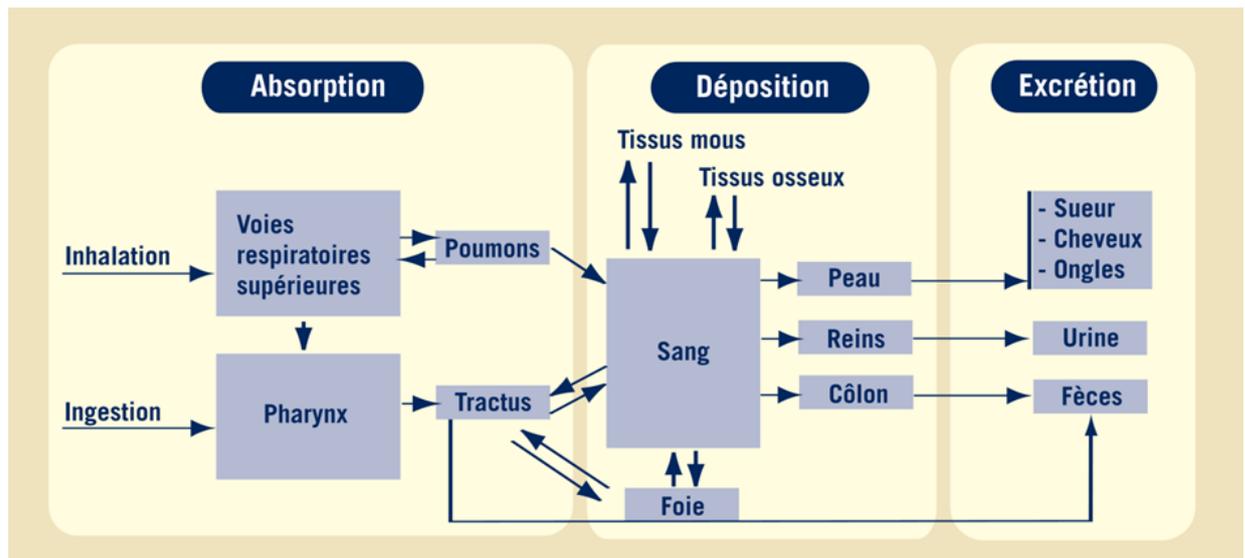


Figure 02: Toxicocinétique du plomb chez l'être humain (Turcot *et al.*, 2003).

II.2.4. Evaluation toxicologique

II.2.4.1. Toxicités aiguë

L'intoxication aiguë par le plomb inorganique est rare. Elle ne peut résulter que d'une ingestion massive ou d'une administration parentérale. L'intoxication aiguë évolue en deux phases. De 2 à 48 heures après la prise surviennent des douleurs abdominales, des vomissements et parfois une diarrhée. Ces troubles digestifs sont toujours d'intensité modérée et de brève durée. Ils s'accompagnent d'une hémolyse, d'une cytolyse hépatique et d'une atteinte tubulaire rénale dépendante de la dose caractérisée par une oligurie, une albuminurie, une glycosurie et une hyperphosphaturie. Elles sont généralement modérées après une ingestion ; elles peuvent être plus sévères après une administration parentérale. Plus rarement, des arthralgies et/ou des signes d'atteinte neurologique centrale (céphalées, agitation, délire, hallucinations) sont également observés. Des encéphalites aiguës ont également été observées sur des enfants d'environ 4 mois intoxiqués par voie médicamenteuse et présentant des plombémies comprises entre 490 et 3310 $\mu\text{g/L}$ (Hauber et Sibia, 1999).

II.2.5.2. Toxicité chronique

Plusieurs organes et systèmes sont susceptibles d'être affectés à la suite d'une exposition prolongée à des concentrations significatives de plomb. Parmi ceux-ci, on retrouve le système nerveux, les reins de même que les systèmes gastro-intestinal et reproducteur. Les effets du plomb sur la santé, qui ont été observés pour des cas de plombémie de niveaux les plus bas (environ 10 $\mu\text{g/dl}$

ou 0,48 $\mu\text{mol/l}$), sont de nature neurocomportementale chez l'enfant et cardiovasculaire chez l'adulte. Dans l'ensemble, les études prospectives ont observé une diminution du quotient intellectuel des enfants avec une fourchette de 2 à 4 points pour chaque augmentation de la plombémie de 10 $\mu\text{g/dl}$ (étendue des expositions principalement entre 5 et 35 $\mu\text{g/dl}$), sans effet de seuil évident. L'effet a été observé principalement chez les jeunes enfants mais pourrait persister à l'âge adulte, entraînant des troubles d'attention, des retards d'apprentissage et une augmentation des échecs scolaires (SHAH, 2016).

II.2.5.3.Mécanisme de toxicité du plomb

La toxicité du plomb a plusieurs points d'impact, mais surtout au niveau hématologique, neurologique, et rénal

- **Effets hématologiques :** le plomb modifie les propriétés de nombreuses protéines cytosoliques et membranaires en se liant de façon réversible avec les groupements thiols (-SH) ou par déplacement d'autres métaux, notamment au niveau de la biosynthèse de l'hème (Figure 02). Il inhibe ainsi des enzymes et particulièrement celles de la voie de biosynthèse de l'hème comme l'acide aminolévulinique déshydratase (ALAD) et la ferrochélatase. En conséquence, il diminue la durée de vie des hématies et modifie le métabolisme du fer par diminution de la capacité de fixation et provoque des troubles de maturation des réticulocytes responsables de la présence d'hématies à granulations basophiles (Saka et coll, 2011)

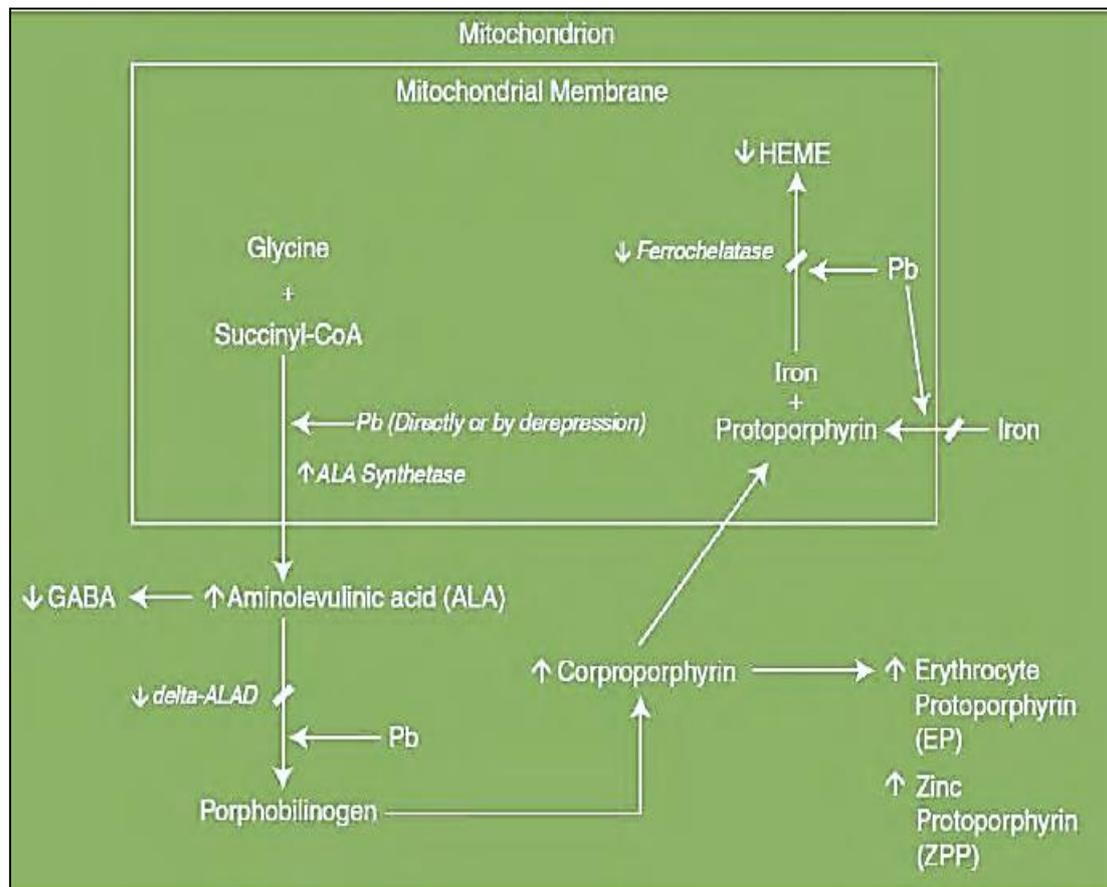


Figure 03 : Action du plomb sur la biosynthèse de l'hème (Duru et al.,2015)

- **Effets digestifs :** on observe la « Colique de plomb » ou « colique saturnine », c'est-à-dire des crises douloureuses abdominales paroxystiques (Niamane, 2002).
- **Effets hépatiques :** La cytolysé hépatique est un signe d'intoxication aigue par le plomb, elle est observée après contamination massive (plombémie supérieure à 1500 µg/l). Le plomb inhibe la synthèse des hémoprotéines, et en particulier celle du cytochrome P450, ce qui peut être à l'origine d'interactions médicamenteuses et d'effets toxiques d'autres substances (Niamane, 2002).
- **Effets cardiovasculaires :** Plusieurs études montrent qu'il existe une faible corrélation positive entre la plombémie et la pression artérielle, particulièrement après 40 ans. Cet effet pourrait être lié à une perturbation du métabolisme des catécholamines, à une anomalie de contraction des muscles lisses vasculaires ou à un effet rénal provoqué par le système rénine-angiotensine. D'autres études épidémiologiques ont montré une association entre les pressions artérielles diastolique et systolique d'une part, et la PbS d'autre part : la pression

diastolique a été augmentée respectivement de 0,6 mm Hg, et 1, 6 mm Hg de la pression systolique pour un doublement de la Pbs (INRS ,2006)

- **Effets rénaux :** Une exposition au plomb induit deux types de néphropathie :

- La néphropathie subaiguë : elle peut survenir précocement après le début d'exposition. Elle est histologiquement caractérisée par une atteinte des cellules tubulaires proximales (Ouali-Alami et al., 2013). Biologiquement, dans sa forme typique, elle réalise un syndrome de Toni Debré-Fanconi, avec une fuite urinaire de protéines de faible poids moléculaire (β_2 microglobuline, α -microglobuline, retinol-binding protein), une enzymurie, une glycosurie, une aminoacidurie, une hypercalciurie et une hyperphosphaturie. Elle nécessite une contamination massive, avec une plombémie supérieure à 1500 $\mu\text{g/l}$ (IARC, 1999). Des travaux récents ont montré d'autres signes discrets d'atteinte tubulaire (enzymurie, protéinurie de bas poids moléculaire) qui sont décelables dès une plombémie de 400 $\mu\text{g/l}$ (EL Abidi, 2015).
 - La néphropathie tardive : elle est interstitielle et glomérulaire. Elle est observée après 10 à 30 ans d'exposition au plomb, elle peut être améliorée transitoirement par l'arrêt et/ou un traitement chélateur (Garnier, 2000).
- **Effets sur le système nerveux :** le plomb est responsable d'atteintes neurologiques se traduisant par une encéphalopathie convulsivante pouvant aller jusqu'au décès (Duru et al., 2015).
 - **Cancer :** l'administration de fortes doses de plomb a provoqué des cancers du rein chez de petits rongeurs (Garnier, 2000).

III : Stress oxydatif

III.1. Définition

Il se définit comme une agression chimique oxydative de notre organisme. Il s'agit d'un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défense antioxydants et la production des espèces réactives à l'oxygène, en faveur de ces dernières (Favier, 2003).

III.2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) occupant un orbitale externe (Halliwell., 1989).

III.2.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les espèces réactives de l'oxygène sont des dérivés de l'oxygène dont certains électrons se trouvent dans un état énergétique excité, donc (très) réactionnel (Figure 03). Certains de ces dérivés portent un électron non apparié (= radical libre). Les radicaux libres de l'oxygène incluent les radicaux libres comme l'anion super oxyde ($O_2^{\bullet -}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) et des composés réactifs oxydants non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singlet (1O_2) (Cesar *et al.*, 2012).

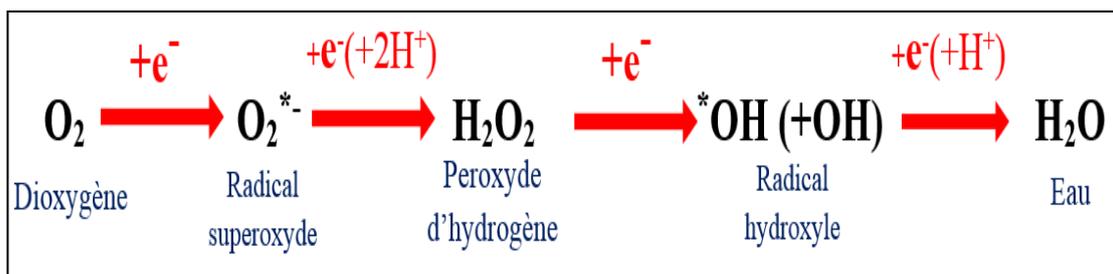


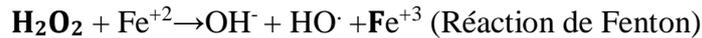
Figure 04: Intermédiaires réduits de l'oxygène (les quatre étapes de réduction monoélectronique de l'oxygène) (Gardès-albert *et al.*, 2003).

a. Anion super oxyde $O_2^{\bullet -}$

Les radicaux superoxydes sont des radicaux chargés négativement provenant de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire qui capte un électron. C'est le premier radical formé lors du transport des électrons au niveau de la chaîne respiratoire (Halliwell *et al.*, 1986).

b. Radical hydroxyle (OH)

Les radicaux hydroxyles sont les radicaux libres de l'oxygène les plus réactifs: l'ADN, les glucides, les nucléotides, les protéines sont des nombreuses molécules qui peuvent réagir avec le radical hydroxyle et sont à l'origine de lésions de nécrose (Gardès-albertet *al.*, 2003). C'est un dérivé de l'anion super oxyde. Il peut être produit à la suite de diverses réactions. Nous en citerons deux à titre d'exemple, comme :



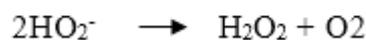
c. Oxygène singlet

L'oxygène singlet est très énergétique et de grande réactivité. Lorsqu'il passe à l'état singlet qui représente la forme active, il peut oxyder de nombreuses molécules qui. Il est formé à partir de l'ion super oxyde selon la réaction suivante (Cesar *et al.*, 2012) :



d. Radical peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Le radical H_2O_2 est très oxydant il est relativement stable. Il peut traverser les membranes lipidiques. Il est tout de même capable d'oxyder certaines macromolécules biologiques en interagissant avec des métaux de transition. Il peut être produit au cours des mécanismes illustrés par les réactions suivantes (Magali, 2010).



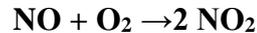
III.2.2. Radicaux libres nitrogènes

a. Oxyde nitrique ($\cdot\text{NO}$; monoxyde d'azote)

Le monoxyde d'azote est un radical libre ubiquitaire synthétisé à partir de l'arginine grâce à l'action d'enzymes appelées NO synthases. Il diffuse rapidement à partir de son site de production, traverse la membrane cellulaire et remplit un rôle vasodilatateur. Il est un second messager de courte vie. Il est susceptible de réagir avec d'autres radicaux libres pour former des espèces oxydantes (Arora, 2002).

b. Dioxyde d'azote (NO₂.)

C'est un polluant atmosphérique qui se forme à partir de la réaction du radical peroxyde avec le NO (Sisein, 2014).

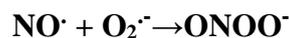


Le NO₂· attaque les doubles liaisons des acides gras non-saturés (acide arachidonique 20:4 ω 6...etc) et transforme ces acides soit de cis-en trans, soit par nitration. Des lipoxygénases transforment l'acide arachidonique en eicosanoïdes (prostaglandines, leucotriènes ...etc), qui sont des messagers intra et extracellulaires indispensables. Les dérivés nitrés de l'acide arachidonique seraient également des messagers bioactifs.

Le NO₂· s'additionnerait aux doubles liaisons d'autres molécules, arracherait soit un H soit un électron aux molécules voisines. Ces réactions créent des radicaux libres. Comme le O₂⁻, NO₂· peut exister assez longtemps dans les espaces intra membranaires aprotiques (Halliwell *et al.*, 2006).

c. Peroxyde nitrite (ONOO⁻)

Le Peroxynitrite est un dérivés d'oxygène très toxique provoque des lésions tissulaires très graves en plus de l'oxydation des LDL. Le ONOO⁻ non radicalaire est instable (durée de vie < une Seconde) Il est capable d'oxyder les protéines et les bases azotiques des brins d'ADN par une grande similarité de l'oxydation par le radical hydroxyle. La réaction du NO avec l'anion superoxyde donne naissance au peroxyde nitrite. (Ghafourifar *et al.*, 2005).



III.2.3. Origine des radicaux libres

Il existe deux origines possibles : endogène et exogène.

III.2.3.1. Origine endogène

La figure 04 illustre les principaux sites de production intracellulaire des radicaux libres. Plusieurs sources sont identifiées et parmi lesquelle sont considérées comme une source majeure des ERO est la chaîne respiratoire mitochondriale qui génère beaucoup plus l'O₂· (Favier, 2003). Il y a d'autres sources endogènes physiologiques sont :

Les NADP (H) oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent O_2 en utilisant NADH ou NADPH comme substrat. L'enzyme xanthine oxydase joue un rôle important dans la production des ERO (particulièrement $O_2^{\cdot-}$ et H_2O_2). Lors du métabolisme de l'acide arachidonique, ce dernier peut être oxydé soit par les cycles oxygénases (COX), soit par les oxygénases métallo-enzymes à fer pour former des hydro peroxydes (ROOH). La production d'oxydant par les neutrophiles et les macrophages au cours de l'inflammation) est également une source importante qui dépend de l'activité enzymatique de la NADPH-oxydase. Les ERO peuvent aussi être produits par la NO synthétase(Valko *et al.*, 2006).

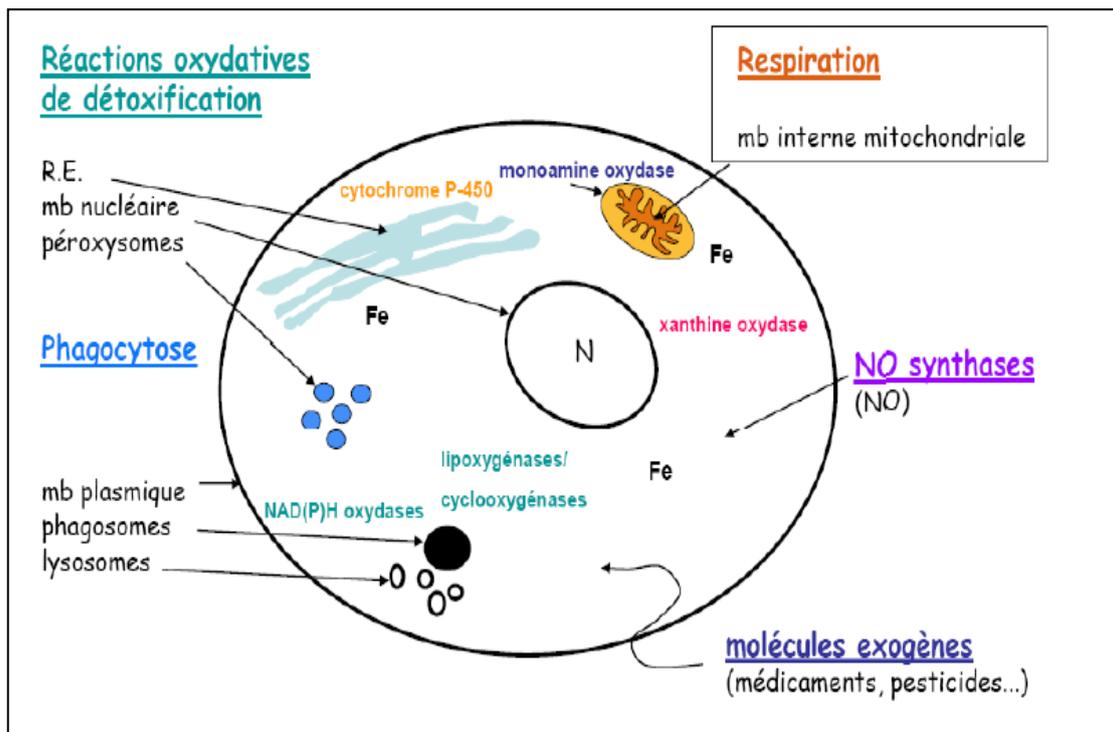


Figure 05: Sites de production intracellulaire des radicaux libres (Sisein, 2014).

III.2.3.2. Origine exogène

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents extérieurs capables de donner naissance à des ERO: les rayonnements UV, l'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO_2) présents dans notre environnement (goudron, tabac...etc.), l'ingestion d'alcool, certains médicaments anticancéreux et antibiotiques sont responsables de la synthèse de radicaux libres (Favier, 2003).

III.3. Conséquences du stress oxydant

L'évaluation d'un stress oxydant repose sur la présence ou l'augmentation de marqueurs oxydatifs (Garait, 2006).

III.3.1. Peroxydation lipidique

Les premières cibles des ERO sont les lipides, spécialement ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires. La peroxydation lipidique peut créer des altérations de la membrane telles que la modification de sa fluidité, mais aussi l'inactivation de récepteurs ou d'enzymes. Les produits de peroxydation lipidique, en particulier les produits terminaux stables, tels que des aldéhydes α , β -insaturés (malondialdéhyde ou MDA) (Garait, 2006).

III.3.2. Oxydation des protéines

A cause de leur abondance dans l'organisme, les protéines sont une cible importante d'oxydation des ERO. Cette oxydation provoque l'entrée d'un groupe carbonyle dans la protéine. Ces réactions d'oxydation, fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Cu^{2+} et le Fe^{2+} , peuvent être classées en deux catégories :

- 1) celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne protéique,
- 2) les modifications des peptides par l'addition de produits issus de la peroxydation lipidique.

Ces changements conduisent à une modification structurale des protéines dont les conséquences sont majeures : perte de fonction catalytique, augmentation de la sensibilité aux protéases (Favier, 2003).

III.3.3. Dommage de L'ADN

Le stress oxydant étant principalement d'origine mitochondriale. Ces organites sont les premières cibles des ERO. En effet, le génome mitochondrial présente une susceptibilité au stress oxydant en effet peroxyde d'hydrogène peut provoquer la dégradation de l'ARNr mitochondrial (Garait, 2006).

Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation. L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées. Cependant le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose. Le rôle des nombreux métaux fixés à l'ADN, qui est un poly anion (Fe, Mg, Cd...), est

crucial pour amplifier ou orienter le profil de ces lésions. Cette attaque de l'ADN est quotidienne. En conséquence, l'attaque radicalaire est en effet à l'origine de cassures ou d'anomalies chromosomiques, susceptibles de favoriser la cancérogenèse et le vieillissement tissulaire (Favier, 2003).

III.4. Systèmes de défense antioxydants

Toute substance capable à concentration relativement faible, de neutraliser ou retarder l'oxydation de substance, est un antioxydant. Le maintien d'une concentration normale en ERO est assuré par des systèmes antioxydants. Dans le cas d'une production physiologique de radicaux libres l'organisme dispose d'un système efficace de protection qui lui permette de lutter contre ces espèces radicalaires (Salvayre *et al.*, 2003).

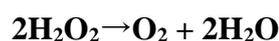
III.4.1. Mécanismes enzymatiques

Dans la Figure 06 sont résumés les principaux modes d'action du système enzymatique antioxydant et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

Les superoxydes dismutases (SOD), capables d'éliminer l'anion superoxyde. Ces enzymes catalysent l'élimination par dismutation des anions superoxydes en fixant apparaît de l'oxygène O₂ et du peroxyde d'hydrogène H₂O₂. Le rôle des SOD et des peroxydases est complémentaire car une bonne protection ne peut être obtenue par les superoxydes dismutases seules (Salvayre *et al.*, 2003).

Les principales enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases à cofacteur fer et les glutathion peroxydases à cofacteur sélénium (GPx). De nombreux autres systèmes enzymatiques existent comme les glutathion transférases ; les thioredoxine réductase ou la thyroïde peroxydase (Soulère, 2002).

La catalase est une enzyme intracellulaire, localisée principalement dans les peroxysomes. Elle catalyse la réaction de détoxification du H₂O₂ (généralement produit par la SOD). Elle est surtout présente au niveau des globules rouges et du foie. C'est une enzyme tétramérique et capable d'éliminer H₂O₂ selon la réaction suivante.



La catalase est présente dans la plupart des organismes eucaryotes ou procaryotes. De hauts niveaux de H₂O₂ intracellulaires entraînent une activation préférentielle de la catalase (Pamplona *et al.*, 2011).

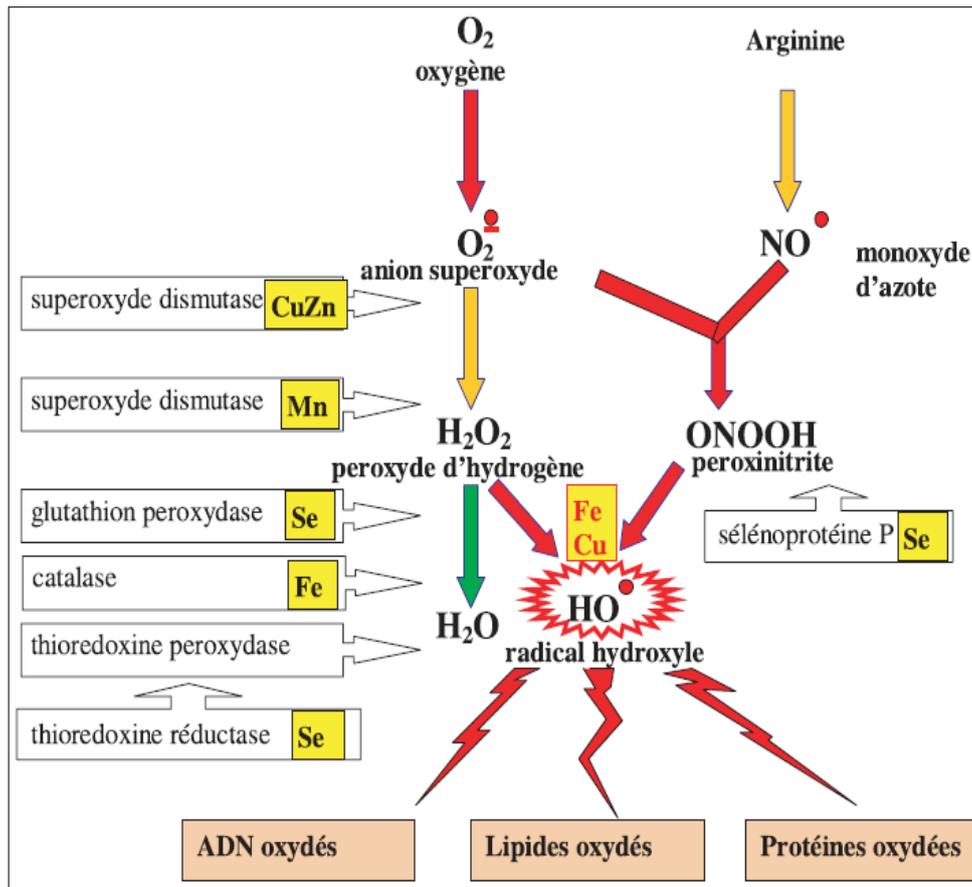


Figure 06: Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier. 2003).

III.4.2. Mécanismes non enzymatiques

Les systèmes non-enzymatiques sont représentés par une série de petites molécules (vitamine C, vitamine E...). Selon leur concentration, les piègeurs de radicaux libres ont des effets protecteurs ou pathologiques. Ces molécules doivent être capables de réaliser cette fonction à très faibles concentrations (Halliwell et Gutteridge, 1995).

III.4.2.1. Vitamine C

La vitamine C (ou acide ascorbique) n'est pas synthétisée par l'organisme et elle est située dans toutes les membranes cellulaires. Elle est hydrosoluble à la concentration physiologique. La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Chen *et al.*, 2000).

III.4.2.2. Vitamine E

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ et δ avec une activité antioxydante variable. L' α -tocophérol (α -TocH) est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophile et une extrémité hydrophobe. Il est admis que les radicaux tocophéryles sont régénérés par l'acide ascorbique et que, sans cette synergie, les tocophérols sont inactifs (Carr et al., 2000). Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l' α -TocH, connu comme inhibiteur de la propagation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO₂, et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection (Khalil, 2002).

III.4.2.3. Sélénium

Le sélénium est un constituant de la glutathion peroxydase, enzyme qui joue un rôle intracellulaire antioxydant, voisin de celui de la vitamine E. Cet effet antioxydant est capital dans la détoxification des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire. Cet effet de détoxification serait responsable des effets anticancéreux et anti-vieillesse attribués au sélénium (Wolters *et al.*, 2006).

III.4.2.4. Zinc

Cet oligo-élément est un des cofacteurs essentiels de la SOD. La prise de zinc conduit à long terme à l'induction de protéines antioxydantes comme les métallothionéines. Le zinc protège également les groupements thiols des protéines. Le zinc peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre (Mezzetti et al., 1998).

III.4.2.5. Thiol

Le thiol présente le majeur antioxydant. Son taux bas est considéré comme un marqueur de l'oxydation des protéines. Celui-ci a été noté dans divers troubles médicaux, y compris l'insuffisance rénale chronique et d'autres troubles liés aux reins, troubles cardio-vasculaires, accidents vasculaires cérébraux et d'autres troubles neurologiques, le diabète sucré, la cirrhose alcoolique et divers autres troubles. La cible préférée des agents oxydants est le groupement thiol (-CH₂-SH). L'oxydation du thiol provoque la désactivation immédiate de la protéine concernée. Le thiol joue un rôle important dans la défense contre les ERO. Les thiols sont composés de deux catégories intracellulaires et extracellulaires, soit sous la forme libre comme la glutathione oxydée ou réduite, ou thiols liés aux protéines. Une partie de leur rôle

se concentre dans la défense contre les radicaux libres: la détoxification, la transduction du signal, l'apoptose et diverses autres fonctions au niveau moléculaire (Mungli *et al.*, 2009).

IV. Les huiles essentielles

IV.1. Définition

L'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épiderme frais de certains agrumes, soit par distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (Afnor, 2000). Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Parmi les 1 500 000 espèces végétales, 10% seulement sont dites « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essence aromatique (Bruneton, 1999; Degryse *et al.*, 2008). Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles regroupent, en particulier les Labiées, les Ombellifères, les Myrtacées et les Lauracées ; racines ou rhizomes (vétiver, gingembre), dans les écorces (cannelles), le bois (camphrier), les fruits (poivres), les graines (Muscade). (Benayad, 2008).

IV.2. Composition des huiles essentielles

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles montre qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants est due exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques sont : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Amarti, 2011).

IV.2.1. Les terpénoïdes

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Les terpénoïdes Dans les huiles essentielles, sont celles qui ont une masse moléculaire n'est pas élevée c'est à dire, ceux dont les molécules les plus volatils. Ils portent dans la plupart des cas la formule générale $(C_5H_8)_n$. Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n =1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes (n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes. Les constituants des huiles essentielles sont très variés. On y trouve en plus de terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres (Neffati, 2010).

IV.2.2. Les composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins présents dans les huiles essentielles. Mais il est considéré comme un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Nous pouvons citer comme exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle (Koul, 2008).

IV.2.3. Les composés d'origines diverses

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation. Ces produits peuvent être azotés, soufrés, des carotènes ou des acides gras (Ozcan, 2006).

IV.3. Méthodes d'obtention des huiles essentielles

IV.3.1. Extraction par hydrodistillation

La matière végétale est plongée dans l'eau, on porte l'ensemble à ébullition à pression atmosphérique le souvent (Lee et Lee, 2003).

IV.3.2. Extraction par plus entraînement à la vapeur d'eau

La masse végétale est soumise à un courant de vapeur (sans macération préalable), la vapeur saturée en composants volatils est condensée puis décantée (Lucchesi, 2005).

IV.3.3. Hydrodistillation sous pression

Elle est fortement préconisée pour les huiles essentielles difficilement distillables et/ou à composés thermolabiles. En effet les composés volatils de masse moléculaire assez élevée comme ceux du bois de santal, du gingembre et du vétivier, ne peuvent être distillés à pression atmosphérique à température acceptable évitant leur dégradation (Lee et Lee, 2003).

IV.3.4. Enfleurage

L'enfleurage est une technique qui consiste à déposer des plantes en particulier les organes fragiles (fleurs d'oranger, pétales de rose) sur une couche de graisse animale qui se sature en essence. On épuise ensuite le corps gras par l'alcool qui récupère les senteurs et qui sera ensuite évaporé sous vide (Lucchesi, 2005).

IV.3.5. Expression à froid

L'expression à froid est réservée à l'extraction des composés volatils dans les

péricarpes des hespéridés. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau et reçoit tout le produit habituel de l'entraînement à la vapeur d'eau, d'où la dénomination d'huile essentielle (AFNOR, 2000).

IV.4. Identification des huiles essentielles :

Une parfaite connaissance de la composition chimique des huiles essentielles est nécessaire aux industriels et pour les chercheurs pour en contrôler la qualité et la régularité en vue d'une bonne commercialisation et pour y déceler une éventuelle spécificité en vue de sa valorisation. En effet, ces huiles essentielles constituent souvent une matière première destinée à des secteurs d'activités aussi divers que ceux de la parfumerie, des cosmétiques, des industries pharmaceutiques et de l'agroalimentaire. Quel que soit le secteur concerné, l'analyse des huiles essentielles reste une étape importante qui, malgré les développements constants des méthodes de séparations et d'identifications, demeure une opération délicate nécessitant la mise en oeuvre de diverses techniques.

IV.4.1. Chromatographie en Phase gazeuse:

Cette technique consiste à analyser les huiles essentielles, tout d'abord, par Chromatographie en Phase gazeuse (CPG) ; cette technique chromatographique permet l'individualisation des constituants, leur quantification et le calcul de leurs indices de rétention (I_r), puis à les analyser par le couplage « en ligne » avec la spectrométrie de masse (SM). L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention I_r et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres. Cette étape est habituellement suffisante dans les cas d'analyse de routine d'huiles essentielles. Cette technique est utilisée par plusieurs chercheurs (Cassiano B., 2007).

IV.4.2. Chromatographie liquide sur colonne:

Cette séquence est mise en oeuvre lorsque l'huile essentielle est complexe lorsque l'analyse est réalisée dans une optique de recherche. Un fractionnement de l'huile essentielle est alors effectué, le plus souvent par chromatographie liquide sur colonne ouverte de silice ou d'alumine. Les fractions obtenues sont ensuite analysées de la façon décrite dans la première partie (CPG-SM). Cette étape est à privilégier lorsque l'on veut étudier les différentes familles de composés (esters, alcools, cétone...). (Okoh O. O., 2009).

IV.5. Le fenouil et ses huiles essentielles

IV.5.1. Généralités et description du fenouil

Le fenouil est une plante annuelle ou pluriannuelle atteinte. C'est une plante aromatique vivace de la famille des ombellifères qui possède une racine ligneuse et une tige buissonnante mesurant jusqu'à 1,50 m de haut. Les branches, finement ramifiées, sont cylindriques, striées, luisantes et vert brillant. Les feuilles sont minces et très découpées; les fleurs sont d'un jaune intense. Les fruits sont des akènes ovoïdes de 1cm de long attachés deux par deux. La plante a une odeur et une saveur anisées (Yasmine *et al.*,2014).

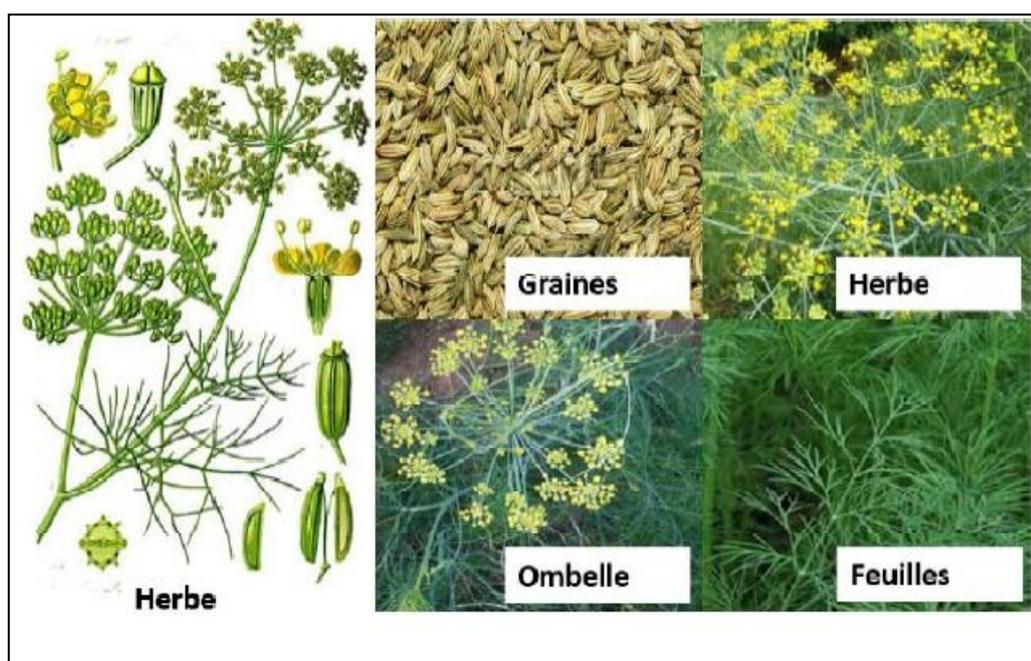


Figure 07 : fenouil (*Foeniculum vulgare*) (Gulfraz *et al.* ,2008)

IV.5.1.1. Classification botanique

Le fenouil appartient à la famille *Apiaceae* (ou *Ombellifères*). Cette dernière est considérée comme l'une des familles les plus riches en huiles essentielles. Son nom scientifique est *Foeniculum vulgare* (Rani *et Das*,2016).

- ✓ **Règne** Plantae
- ✓ **Division** Magnoliophyta
- ✓ **Classe** Magnoliopsida
- ✓ **Sous-classe** Rosidae

- ✓ **Ordre** Apiales
- ✓ **Famille** Apiaceae
- ✓ **Genre** Foeniculum

IV.5.1.2. Répartition géographique et habitat

Foeniculum vulgare est une plante originaire de l'est du bassin méditerranéen. Il est distribué en Europe centrale et la région méditerranéenne. Il est largement cultivé dans toutes les régions tempérées et tropicales du monde et est employé comme épice culinaire. Le fenouil est également trouvé aujourd'hui en Iran, Inde, Indonésie, Pakistan, Japon et en Chine. Il est cultivé à large échelle en Egypte, Inde, Chine, Australie et en Europe en France, l'Allemagne, la Hongrie et la Pologne (Sefidan *et al.*,2014).

IV.5.2. Huiles essentielles de fenouil

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques .Ces huiles sont Produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peaudes fruits, la résine, les branches, les bois.(Upadhyay,2010).

Les huiles essentielles du fenouil sont principalement concentrées dans les méricarpes des graines.Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule.Ensuite, elles sont stockées dans des canaux sécréteurs, et sont présentes sous forme de vésicules minuscules localisées entre les cellules, où elles agissent en tant qu'hormones, régulateurs et catalyseurs dans le métabolisme végétal(Stefanini *et al.*, 2006).

IV.5.2.1.Extraction des huiles essentielles

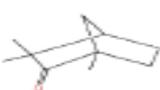
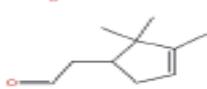
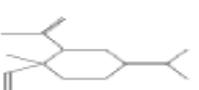
Les huiles essentielles de graines sèches et mûres de fenouil sont obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur. Une grande variabilité dans le rendement et dans la composition chimique de l'huile essentielle a été observée. Ils dépendent considérablement de l'origine géographique et du stade de maturation. Le rendement en huile essentielle des graines de fenouil varie de 2,5 à 6% avec une moyenne de 3,5 %(Stefanini *et al.*, 2006).

IV.5.2.2. Composition chimique

Les proportions des composants de l'huile essentielle des graines du fenouil dépendent des facteurs extrinsèque et intrinsèque comme:l'étape de la maturation des fruits, les conditions climatiques et environnementales, la saison de collection, les données génétiques... etc.Quelque soit la variété de fenouil, les principaux constituants de l'huile essentielle des gaines du fenouil sont L'estragole qui fournit la douceur, le trans-anéthol compte pour le goût d'anis, alors que le fenchone donne le goût amer.Le fenchone est un liquide sans couleur possédant un goût piquants et camphrées et une odeur(Thakur *et al.*,2011).

D'autres hydrocarbures monoterpéniques sont également présents en proportions mineurs :l' α et le β fenchène, l' α -pinène, le camphène, le sabinène, le terpinolène, le δ -3-carène, les α et β phellandrène, le *cis* et le *trans* ocimène, le limonène ; le linalol ; le camphre ; le terpin-1-én-4-ol; le foeniculine ; l' α -terpinéol, l'aldéhyde anisique, etc.(Ebeed *et al.*, 2010).

Tableau 03 : Principaux constituants de l'huile essentielle des fruits de *Foeniculum vulgare*(Yasmin *et al.*,2014)

Constituants	Formule chimique	Structure	Pourcentage
α -pinène	C ₁₀ H ₁₆		0,96
Camphène	C ₁₀ H ₁₆		0,13
Cis-beta-Ocimène	C ₁₀ H ₁₆		0,14
α -Phellandrène	C ₁₀ H ₁₆		0,13
Limonène	C ₁₀ H ₁₆		8,14
3-Carène	C ₁₀ H ₁₆		0,26
Fenchone	C ₁₀ H ₁₆ O		9,55
α -Campholène aldéhyde	C ₁₀ H ₁₆ O		0,34
γ -Elémène	C ₁₅ H ₂₄		0,17

IV.5.2.4.Utilisations

L'huile essentielle des fruits est utilisée pour aromatiser certains produits alimentaires. Elle est aussi utilisée dans la fabrication des produits cosmétiques et pharmaceutiques. L'huile essentielle du fenouil possède des propriétés :

-Activité Hépatoprotective:L'huile essentielle du fenouil possède une activité hépatoprotective, prouvée dans une étude de l'hépatotoxicité empêchée par l'huile essentielle de fenouil avec preuves des niveaux diminués d'aspartate aminotransférase, alanine aminotransférase phosphatase alcaline et bilirubine (Ozbek *et al.*, 2003•Rather *et al.*, 2012).L'étude histopathologique a également suggéré que l'huile essentielle de fenouil a empêché le développement des lésions hépatiques chroniques (Ozbek *et al.*, 2003).

- **Activité anti-inflammatoire:**Le fenouil a été utilisé en médecine traditionnelle iranienne pour traiter des maladies inflammatoires et a été démontré qu'il possède des effets anti-inflammatoires (Rather *et al.*, 2012).
- **Activité antibactérienne :**L'huile essentielle du fenouil a montré des propriétés antibactérienne et antivirale. L'huile extraite à partir des fruits du *Foeniculum vulgare* a montré un effet antibactérien contre les agents pathogènes portés par les aliments comme *Escherichiacoli*, *Bacilles megaterium* et *Staphylococcus aureus* (Mohsenzadeh, 2007, Rather *et al.*, 2012).
- **Activité antifongique:**L'huile essentielle du fenouil a montré un effet antifongique. Les divers extraits de l'écorce ont également rapporté pour posséder l'activité antifongique contre des *candidaalbicans*. également cet l'huile réduit la croissance et la germination mycélienne de *clerotium de sclérotinie* (Rather *et al.*, 2012).

IV.5.2.5. Toxicité de l'huile essentielle du fenouil

Les huiles essentielles du fenouil peuvent se révéler dangereuses pour la santé. Il est ainsi important de connaître le produit de respecter scrupuleusement les doses et de choisir le mode d'administration adéquat et ce afin d'éviter la survenue d'effets indésirables, voire même des interactions avec d'autres médicaments. Ainsi, les huiles essentielles peuvent s'avérer allergisants, photosensibilisants, cytotoxiques, irritants, néphrotoxiques, hépatotoxiques, une excitation psychique et des lésions hépatiques neurotoxique (Rahami et Ardekani, 2013)

Partie

Pratique

I. Matériels et méthode

I. 1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué par les graines du fenouil (*Foeniculum vulgare*). Les graines de fenouil (Apiaceae) ont été achetées, sous forme séchée, chez un arboriste. Elles sont originaires wilaya de Tébessa (figure 08). Les graines ont été choisies parce qu'elles contiennent la quantité la plus importante d'huiles essentielles.

L'identification des graines et son appartenance à une espèce végétale a été réalisée par Dr. Hioun Soraya, enseignant-chercheur à l'Université Larbi Tébessi de Tébessa.



Figure 08 : Graines sèches du fenouil (*Foeniculum vulgare*) (Photos personnelle).

I.1.2. Matériel animal

Dans notre étude, nous avons utilisé 48 rats male de la souche Wistar, provenant de l'institut Pasteur ayant un poids corporel entre 150 et 190 g. Ce sont des mammifères appartenant à l'ordre des rongeurs, Famille des Muridés, et sont largement utilisés dans divers domaines de recherche (Figure 09).

Les rats ont été élevés dans des cages en polyéthylène munies d'un biberon d'eau et tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages sont nettoyées et la litière est renouvelée.

trois fois par semaine jusqu'à la fin de l'expérimentation. Avant les traitements expérimentaux, les rats ont été soumis à une période d'adaptation de 03 semaines.



Figure 09 : Rats males de la souche Wistar (Photo personnelle).

I.2. Méthodes

I.2.1. Extraction des huiles essentielles du Fenouil

L'extraction de l'huile essentielle à partir des graines du fenouil a été faite par un hydrodistillateur de type Clevenger. Il est constitué d'un chauffe-ballon permettant la distribution homogène de la chaleur dans le ballon, d'un ballon en verre pyrex où l'on place le matériel végétal et de l'eau distillée, d'une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement du ballon et un collecteur qui reçoit les extraits de la distillation.

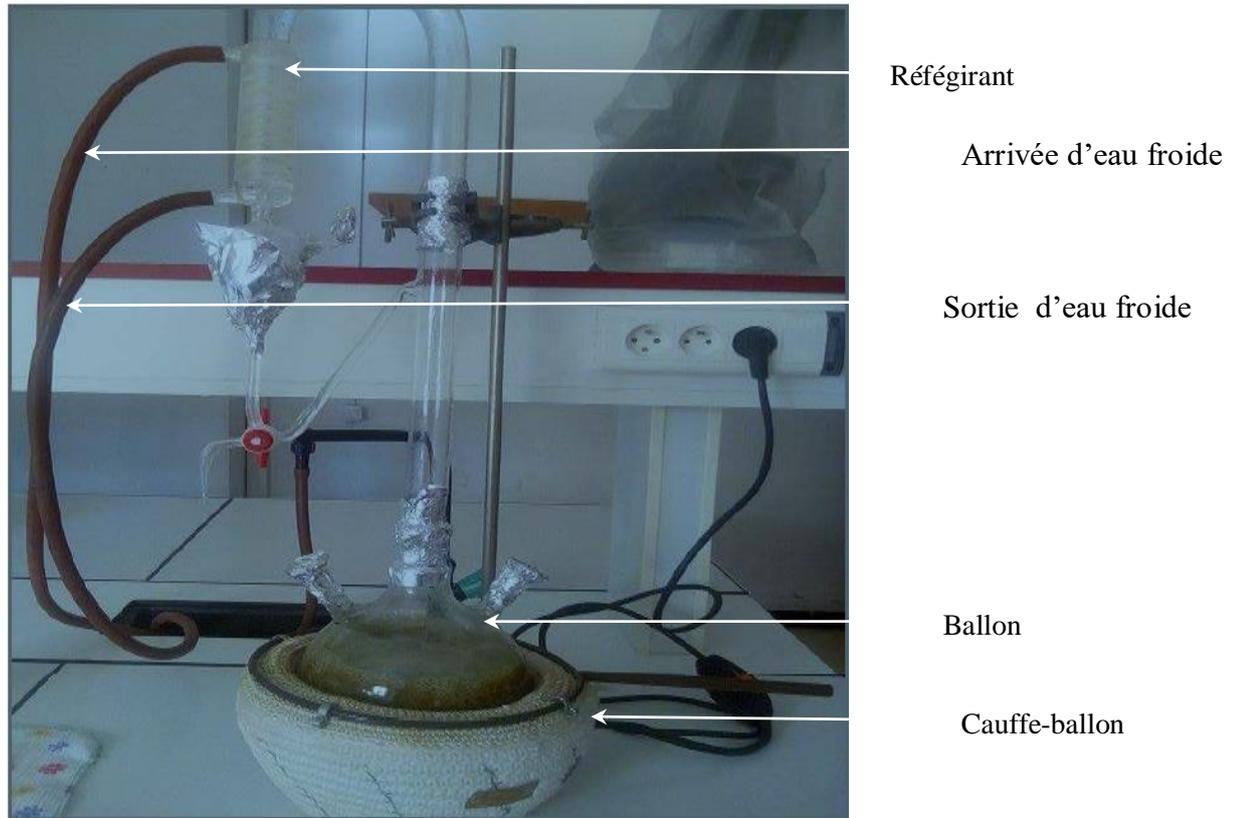


Figure10 : Procédés d'hydrodistillation (Photo personnelle).

I.2.1.1. Procédé d'extraction

Cent grammes (100g) des graines du fenouil sont mises dans un erlenmeyer à vide de 2000ml, additionnées de 600ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition, après l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur ; l'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le condenseur, qui est fixé par un support approprié en position inclinée pour faciliter l'écoulement du distillat. Le temps de cette extraction est d'environ trois heures. Le distillat obtenu est récupéré dans une ampoule à décanter. Le mélange est laissé au repos quelques minutes, ce qui résulte de l'apparition de deux phases, l'une est organique (huile essentielle) et l'autre est aqueuse. En fin, le distillat est recueilli dans le collecteur (erlen en verre pyrex) et l'huile essentielle des graines du fenouil sera par la suite récupérée dans un flacon approprié. Les huiles essentielles sont conservées au réfrigérateur à l'abri de la lumière et à une température de 4°C en vue de leur analyse et leur utilisation.

I.2.1.2. Détermination du rendement

Le rendement de l'huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante.

$$R = P_{HE} \times 100 / P_{MS}$$

R: Rendement en HE (en %).

P_{HE}: Poids d'HE en g.

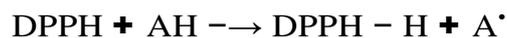
P_{MS} : Poids de matière sèche de la plante en g.

I.2.1.3. Evaluation de l'activité antioxydante (Test DPPH)

L'effet anti-radicalaire des huiles essentielles du fenouil a été évalué *in vitro* par la méthode de DPPH (2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle).

Principe :

Le DPPH (diphényle picryl-hydrazyle) est un radical libre (Figure 07) de couleur violette qui devient jaune (diphényle picryl-hydrazine) quand il est réduit par un donneur de proton H⁺ selon la formule suivante (Maataouiet *al.*, 2006) :



L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Markowicz et *al.*, 2007).

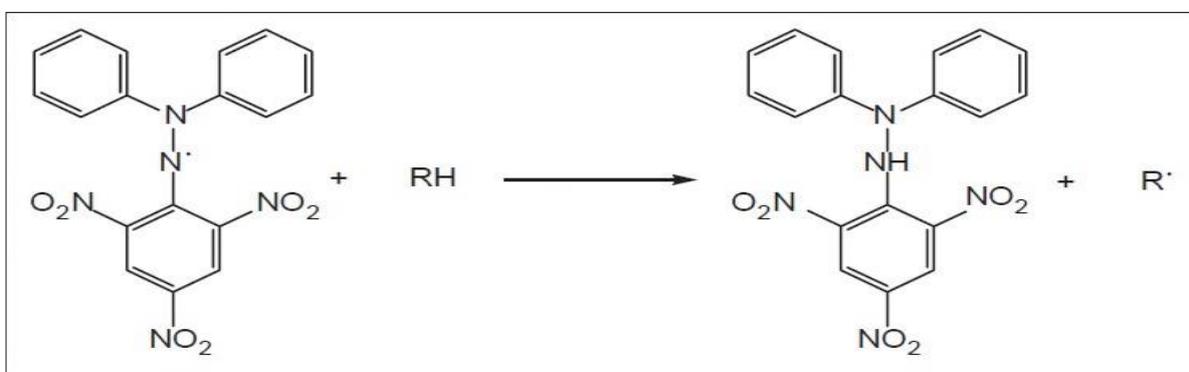


Figure 11 : Structure de DPPH et sa réduction par un antioxydant (Molyneux, 2004)

- **Mode opératoire :**

Brièvement, 1ml de différentes concentrations (25, 50, 100,200, 300 et 400 μ g/ml de méthanol)del'HE du fenouila été ajouté à 1 ml de solution méthanol de DPPH(0,2 mM). Après 30 min d'incubation dans l'obscurité et à la température ambiante, l'absorbance a été lue à $\lambda=517$ nm. La vitamine C aété également utilisée comme référence aux mêmes concentrations.

L'effet antioxydant des extraits est exprimé en pourcentage de réduction de DPPH selon la formule suivante:

$$\% \text{ de réduction} = \frac{\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}}}{\text{Abs}_{\text{contrôle}}} \times 100\%$$

Abs_{contrôle}: Absorbance du contrôle (Solution DPPH/méthanol).

Abs_{échantillon}: Absorbance de la solution HE du fenouil/méthanol.

- **Détermination de la concentration inhibitrice IC50% :**

La concentration inhibitrice à 50% (IC50), est la concentration de l'échantillon testée nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. L'IC50 est calculéepar la régression linéaire à partir de la courbe des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées

I.2.2.Traitement des rats

Les rats ont été traité pendant une durée de 21 jours ce qui correspond à une exposition subchroniques aux différentes substances. Les rats ont été repartis en 8 groupes de 6 rats chacun, il s'agit de :

- **Groupe 1 (T):** rats témoins qui ont reçu une eau physiologique par voie oral pendant 3 semaines.
- **Groupe 2 (HEF):** rats traités par les huiles essentielles du fenouil par voie orale chaque jour pendant 3 semainesavec une dose de 0,5 ml/kg de poids corporel/jour.Cette dose a été utilisée par Al-Seikh *et al.*(2015)
- **Groupe 3(SPD) :** rats traités par le spinosad dissout dans l'eau physiologique. Le spinosad est administré aux rats par voie orale à raison de 37,38 mg/kg de poids corporelchaque jour pendant 3 semaines de traitement. Cette dose a été utilisée par Mansouret *al.* (2007)

- **Groupe 4 (SPD/HEF)**: rat ayant reçu quotidiennement 37,38 mg/kg de Spinosad et 0,5 ml d'HE de fenouil / kg de poids vif, par voie orale.
- **Groupe 5 (Pb)** : rats traités par une solution d'acétate de Plomb administrée par voie orale (gavage) chaque jour pendant 3 semaines avec une dose de 25 mg/kg de poids corporel. Cette dose a été utilisée par Saka *et al.* (2011).
- **Groupe 6 (Pb/HEF)** : rats traités d'une part par les huiles essentielles du fenouil avec une dose de 0,5 ml/kg de poids corporel et de l'autre part par le Plomb à la dose 25 mg/kg de poids corporel.
- **Groupe 7 (SPD/Pb)** : rats traités par le spinosad à la dose 37,38 mg/kg de poids corporel et d'acétate de plomb à la dose 25 mg/kg de poids corporel. administré par voie orale (gavage) chaque jour pendant 3 semaines
- **Groupe 8 (SPD/Pb/HEF)** : rats traités par le spinosad à la dose 37,38 mg/kg, d'acétate de Plomb à la dose 25 mg/kg de poids corporel et les huiles essentielles du fenouil à la dose administré par voie orale 0,5 ml d'HE de fenouil / kg de poids vif, par voie orale chaque jour pendant 3 semaines.

I.2.3. Prélèvements des échantillons

Après 3 semaines de traitement les 8 groupes de rats sont sacrifiés (par décapitation).

1.2.3.1. Prélèvement sanguin

Le sang a été immédiatement recueilli dans des tubes polyéthylène étiquetés contenant l'anticoagulant EDTA. Ces tubes vont subir une centrifugation 3000 tours/min pendant 15 min, puis le plasma résultant est récupéré. Les plasmas obtenus ont été stockés au congélateur, à -20°C pour le dosage ultérieur des paramètres biochimiques hépatiques.

1.2.3.2. Prélèvement des organes

Après décapitation des rats, les foies ont été récupérés, pesés puis stockés dans un congélateur (-20°C) pour le dosage ultérieurs des paramètres du stress oxydant (Photos 05).

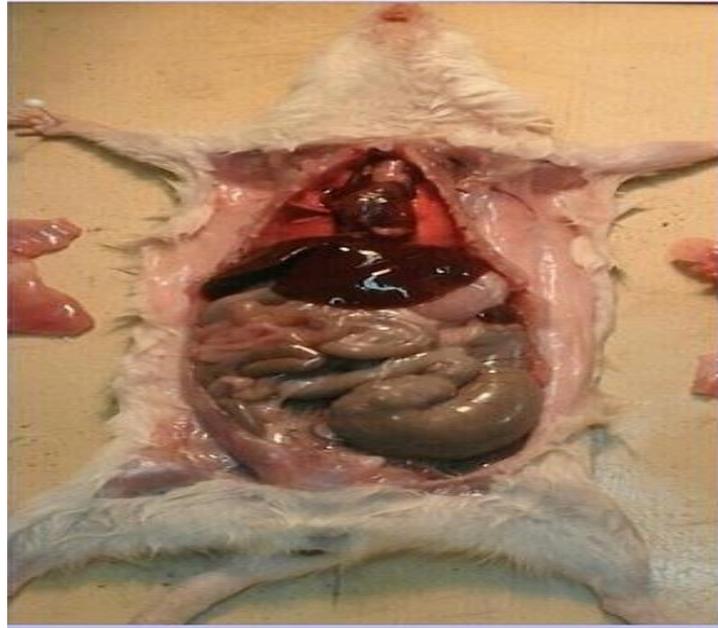


Figure 12 : Prélèvement des foies (Photo personnelle).

I.2.4. Techniques de dosage

I.2.4.1. Mesure de poids

La mesure du poids a été effectuée à l'aide d'une balance de précision sur les rats tous les jours pendant la durée de l'expérimentation : soit au cours de l'adaptation (pour l'évaluation des changements possibles par la nourriture ou le lieu (facteurs externes) ou au cours de traitement (pour évaluer les effets des xénobiotiques).

Le poids relatif des foies extraits des rats (PRC [g/100g de poids corporel]) est calculé par rapport au poids total du rat selon la formule suivante :

$$\text{PRC (g/100g de PT)} = \text{PC/PT} \times 100$$

PC : poids du foie (g). PT : poids total de rat (g). PRC : poids relatif des foies (g)

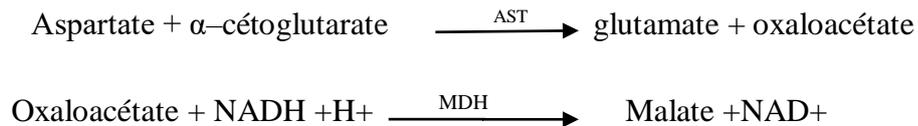
I.2.4.2. Exploration de la fonction hépatique

I.2.4.2.1. Dosage des transaminases

Les transaminases (ou amino transférases) sont des enzymes hépatocytaires dont la fonction est de catalyser des réactions de transfert d'un groupe aminé d'un acide α -aminé à un acide α -cétonique. Il existe deux transaminases dont le coenzyme est la vitamine B6 (phosphate de pyridoxal) ALT et AST.

- **Aspartate aminotransférase (AST)**

Méthode cinétique de dosage des transaminases sériques selon la fiche technique Spinreact. L'aspartate aminotransférase (AST) appelée aussi Transaminase glutamate oxaloacétate (TGO) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α -céto glutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (Murray, 1984):

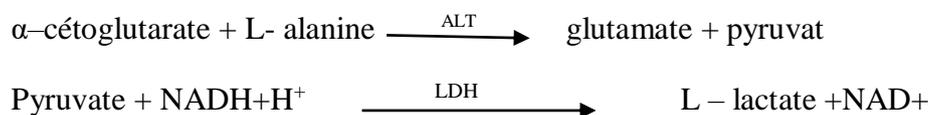


Dans un tube sec 100 μ l d'échantillon (sérum) sont additionnés à 1ml de réactif de travail [R2 (NADH : 0.18mmol/l, lactate déshydrogénase : 800 U/L, Malate déshydrogénase (MDH) : 600 U/L, α céto glutarate : 12mmol/l) dissout dans le tampon; R1 (TRIS pH7.8 : 80 mmol/l, L- Aspartate : 200 mmol/l)], agitation, incubation pendant 01 minutes. Lecture de l'absorbance (A) à $\lambda=340$ nm chaque minute pendant 03 minutes

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de TGO}$$

- **Alanine aminotransférase (ALT)**

Méthode cinétique de dosage des transaminases sériques selon la fiche technique Spinreact. Alanine aminotransférase (ALT) ou Glutamate pyruvate transaminase (TGP) catalyse le transfert réversible de groupement aminé de l'alanine à l' α - céto glutarate formant le glutamate et pyruvate. Ce dernier est réduit en lactate par l'enzyme lactate déshydrogénase. (LDH) et le NADH selon les réactions (Murray, 1984) :



Dans un tube sec 100 μ l d'échantillon (sérum) sont additionnés à 1ml de réactif de travail [R2 (NADH : 0.18mmol/l, Lactate déshydrogénase : 1200 U/L, α céto glutarate : 15 mmol/l) dissout dans le tampon ; R1 (TRIS pH7.8 : 80 mmol/l, L Alanine : 500 mmol/l)], agitation, incubation pendant 01 minutes. La lecture de l'absorbance (A) a été faite à $\lambda=340$ nm chaque minute pendant 03 minutes $\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de TGP}$.

I.2.4.2.2. Extraction et dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon la Figure 03. Les échantillons

sont placés dans des tubes contenant 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés. Après une première centrifugation (5000 trs / min à 4°C, 10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de Duchateau & Florin (1959). Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (Goldworthy *et al.*, 1972) et le culot II, dissout dans la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon Bradford (1976).

- **Dosage des protéines totales**

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) dans une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de comassie (BBC) G 250 (Merck). Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorant en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) titrant 1 mg/ml (Annexe 01).

- **Dosage des glucides totaux**

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon Duchateau & Florin (1959). Cette méthode consiste à additionner 100 µl du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 ml du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 min, une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucide présente dans l'échantillon, la lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1 mg/ml) (Annexe 03)

- **Dosage des lipides totaux**

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldworthy *et al.* (1972) utilisant le réactif sulfophosphanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100 µl des extraits lipidiques ou de gamme étalon aux quelles on évapore totalement le solvant puis on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré, les tubes sont agités, et mis pendant 10 mn dans un bain de sable à 100 °C. Après refroidissement, on prend 200 µl de ce mélange au quel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphanillinique. Après 30 mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses.

La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère (Annexe 02). La solution

mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et on ajoute 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V).

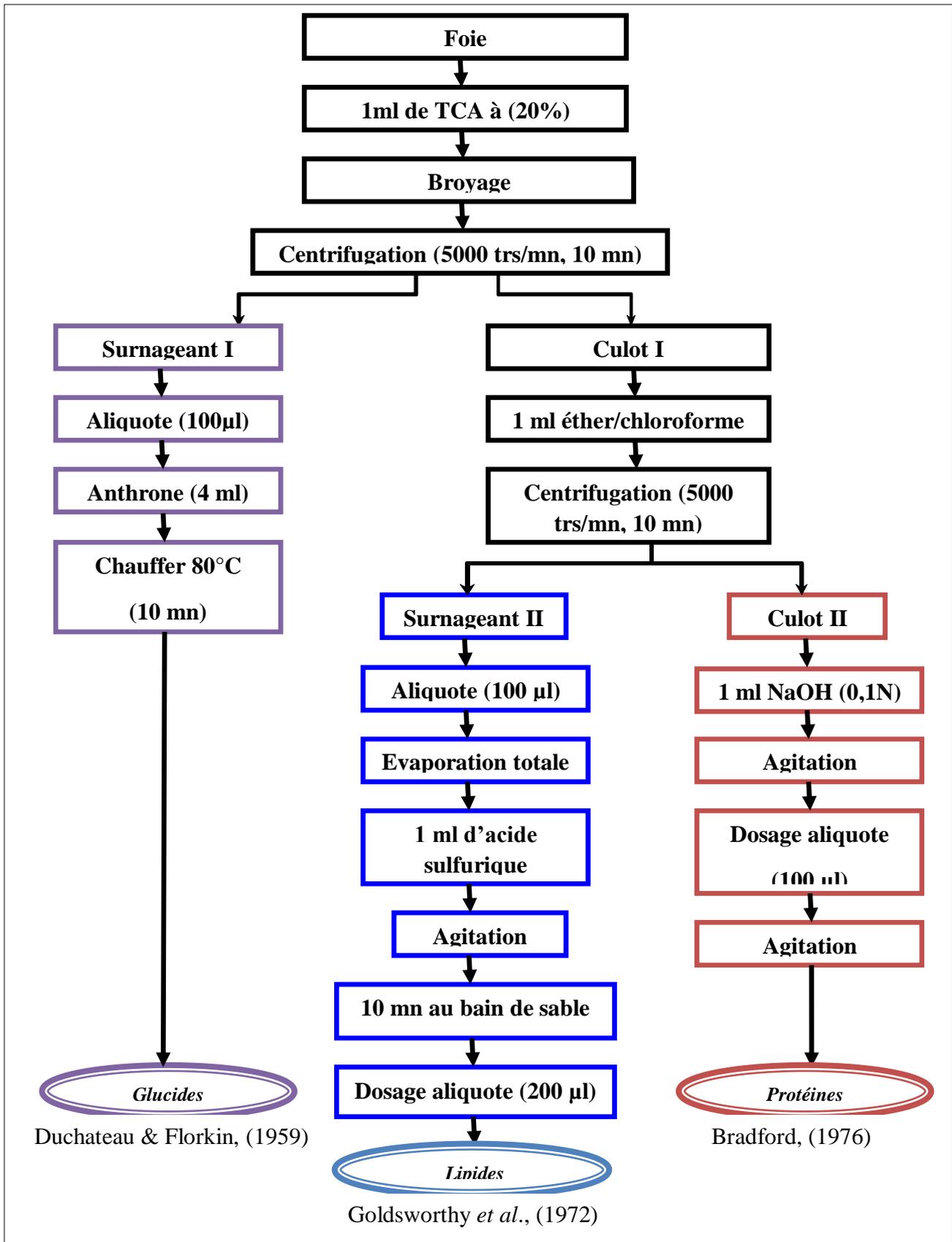


Figure13 : Extraction des glucides, protéines et lipides totaux

I.2.4.2.3. Evaluation des paramètres de stress oxydatif

A) Dosage du glutathion réduit (GSH)

Le dosage du glutathion hépatique (GSH) est fait selon la technique de Weckbeker et Cory (1988).

- **Principe**

La mesure de la concentration du GSH intracellulaire repose sur l'absorbance optique de l'acide 2-nitro 5-mercaptopurique, ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion.

- **Mode opératoire**

- On obtient un homogénat par broyage de 200 mg de tissu hépatique congelé avec 0,8ml de solution EDTA (0,02M)
- On procède à la déprotéinisation de l'homogénat pour le glutathion avec 0,2 ml de l'acide sulfosalicylique (0,25%)
- L'homogénate obtenue laisse reposer 15 min au bain marin, puis on centrifuge 5 min à 1000 tours/min
- A 0,5 ml de surnageant, on ajoute 1 ml de tampon tris/EDTA d'un pH 6,9 (contenant 0,02 M d'EDTA) et 0,025 ml d'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0,01M
- -Laisser 5 min pour l'incubation.

- **Lecture**

La lecture se fait à la spectrophotométrie à longueur d'onde 412 nm, contre un blanc préparé comme suite : 0,5 ml de tampon tris/EDTA et 0,025 ml de DTNB. La concentration en glutathion réduit est obtenue par la formule suivante :

$$GSH(\mu M/mg \text{ protéine}) = \frac{DO \times 1 \times 1.525}{13.1 \times 0,8 \times 0,5. mg \text{ déprotéine}}$$

DO : Densité optique

1 : Volume totale de solution utilisées dans la déprotéinisation (0,8 ml de solution EDTA + 0,2 ml d'acide sulfosalicylique)

1,525 : Volume totale des utilisées dans le dosage de GSH (1ml de tris/EDTA+0,025 ml DTNB+ 0,5 ml de surnageant)

13,1 : coefficient d'absorbance de groupement thiol (-SH) à 412 nm

0,8 : Volume de l'homogénat trouvé dans 1 ml

0,5 : Volume de surnageant.

B) Dosage du glutathion S-Transférase (GST)

Le dosage de glutathion S-Transférase est réalisé selon la méthode de **Habig *et al.* (1974)**.

- **Principe**

Le dosage de GST est basé sur la mesure spectrophotométrique de la cinétique de la conjugaison du produit formé avec des substrats tels que le glutathion réduit et le 1-chloro-2-4-dinitrobenzène (CDNB).

- **Mode opératoire**

- Pour faire l'extraction, le tissu hépatique est homogénéisé dans 1ml de tampon phosphate sodique (0,1 M, pH 6)

- Puis l'homogénat est centrifugé pendant 30 min à 14000 tours/ min

- Le surnageant récupéré sert comme source d'enzymes (glutathion S-Transférase et glutathion peroxydase) et il est conservé au congélateur à -80°C jusqu'au moment de dosage.

- Pour le dosage : A 200 µl de surnageant, on ajoute 1,2 ml du mélange [CDNB (1mM), GSH (5mM) dans tampon phosphate sodique (0,1 M, pH 6)].

- **Lecture**

La lecture des absorbances est effectuée toutes les 1 mn pendant 5 mn à une longueur d'onde de 340 nm. Déterminer la moyenne des absorbances (A) pour l'utiliser dans les calculs.

- **Calcul de la concentration**

L'activité enzymatique de la GST est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Activité spécifique de GST } (\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg de protéine}) = \frac{A \times v}{e \times d \times v} / \text{mg de protéine}$$

A : Absorbance

v : Volume totale de la cuve = 1400 μl [200 μl de surnageant + 1200 μl du mélange CDNB (1mM)/GSH (5mM)/tampon phosphate sodique (0,1 M, pH 6)]

e : Coefficient d'extinction = 9,6 $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$

d : Épaisseur de la cuve = 1 cm

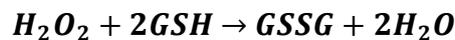
v : Volume du surnageant = 200 μl .

C) Dosage du glutathion peroxydase (GPx)

- **Principe**

L'activité enzymatique de la GPx a été mesurée par la méthode de **Flohe et Gunzle (1984)**.

Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène en présence de GSH. Ce dernier est transformé en GSSG sous l'influence de la GPx :



- **Mode opératoire**

- Prélever 200 μl de l' homogénat.
- Ajouter 400 μl de GSH (0,1mM)
- Ajouter 200 μl de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4)
- Préparer le blanc : 200 μl d'eau distillée avec 400 μl de GSH et 200 μl de la solution tampon TBS
- Incuber au bain marie (25°C/5min)
- -Ajouter 200 μl de H₂O₂ (1,3 mM) pour initier la réaction et laisser agir pendant 10 minutes .
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction
- Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours/min

- Prélever 480 µl de surnageant et mélanger avec 2,2 ml de TBS et 320 µl de DTNB (1,0 mM)

- **Lecture**

La lecture de la densité optique est faite après 5 minutes à 412 nm.

- **Calcul de la concentration**

* **Quantité de GSH consommée/µM/mg de protéine** : $x = \frac{(DOe - DOb) \times 0,04}{DOb}$

x : la quantité de glutathion réduit disparus (oxydée) dans 0,2 ml de l'échantillon

DOe : densité optique de l'extrait (0,04 µmol de GSH réduit)

DOb : densité optique du blanc (0,04 µmol de GSH réduit).

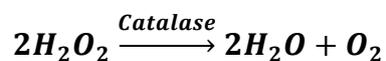
* **Activité de GPx : GPx (nmol/mg de protéine)** = $\frac{x \times 5}{[protéine]}$

D) Dosage de la catalase (CAT)

- **Principe**

L'activité enzymatique de CAT est déterminée par la méthode de Cakmak et Horst (1991).

Le principe est basé sur la disparition de l'H₂O₂ en présence de la source enzymatique à 25°C selon la réaction suivante :



- **Mode opératoire**

Préparation d'une fraction enzymatique comme suit :

- Un volume de tissu hépatique est homogénéisé dans 3 volumes de tampon phosphate de (0,1M, pH 7,4)
- L'homogénat est centrifugé durant 15 min à 2000 tours/ min à 4°C
- Le surnageant obtenu est centrifugé 30 min à 9600 tours/ min à 4°C

- Le surnageant final est la source utilisée pour l'évaluation de l'activité enzymatique du CAT
- L'évaluation de l'activité enzymatique du CAT :
- A 0,025 ml de surnageant, on ajoute 1 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,2) et 0,975 ml de H₂O₂ fraîchement préparé (0,091M).

- **Lecture**

L'absorbance est lue à 560nm chaque minute pendant 2 minutes.

- **Calcul de la concentration**

L'activité enzymatique de CAT est calculée en terme d'unité internationale par minute et par gramme de protéine (UI/min/g de protéine, selon la formule :

$$\text{Activité du CAT (nmol/min/g de protéine)} = (2,3033/T) \times (\log A_1/A_2) / \text{g de protéine}$$

A1 : Absorbance de la première minute

A2 : Absorbance de la deuxième minute

T : Intervalle de temps en minute

g de protéine : Concentration des protéines dans la solution.

E) Dosage du malondialdéhyde

- **Principe**

Le malondialdéhyde (MDA) est dose selon la méthode de **Draper & Hadley (1990)** basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre l'acide thiobarbiturique (TBA) et le malondialdéhyde (MDA) donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée a une longueur d'onde de 532 nm.

- **Mode opératoire**

Les fragments de foie sont broyés aux ultrasons dans 1 ml de tampon tris-HCl (50 mM, pH

7,5) [1,5137 g tris, 0,0730 g EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique), 42,78 g sucrose, 250 ml d'eau distillée]. Une fois l'homogénéisation réalisée, une centrifugation est effectuée pendant 10 mn à 10000 tours/mn et le surnageant récupéré servira au dosage du MDA.

Le dosage est réalisé avec 500µl du surnageant additionné de 2,5 ml de TCA [100 g TCA, 1000ml d'eau distillée]. Après chauffage au bain marie à 100°C pendant 15mn et refroidissement dans de la glace, une centrifugation est effectuée à 10000 tours/mn pendant 10 mn. Une fraction aliquotée de 2ml du surnageant est alors prélevée à laquelle on ajoute 1ml de TBA [6,7 g TBA, 1000 ml d'eau distillée]. Après un second chauffage (100°C, 15mn) et refroidissement, 1,5ml de butanol sont rajoutés. Après agitation, une dernière centrifugation (10000 tours/mn, 10 mn) est réalisée et le surnageant constitué de 1ml de butanol renfermant les complexes TBA/MDA est récupéré et une lecture des absorbances est effectuée à 532 nm contre un blanc ou du tampon tris-HCl remplace le surnageant.

- **Lecture**

Le taux du MDA est déterminé selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do/mn}{156} \times \frac{Vt}{Vs} \text{ mg de protéines}$$

X : (Taux du MDA): micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (µM/mg de protéines).

Δ Do : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

156 : coefficient d'extinction molaire du TBA.

Vt : volume total dans la cuve : 1 ml [volume total du butanol récupéré renfermant les Complexes TBA/MDA].

Vs : volume du surnageant utilisé dans le dosage : 0,5 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

I.2.4.3.Évaluation du dysfonctionnement mitochondrial

I.2.4.3.1. Isolement des mitochondries du foie

L'extraction des mitochondries se fait selon la méthode décrite par Rustin *et al* (1994), ils'agit d'une purification par centrifugation différentielle. Brièvement, après décapitation des rats, les foies sont rapidement prélevés et immerger dans du tampon TSE (10mM tris, 250mM sucrose, 0,1mM EDTA, pH 7,2 à 4C°). Les foies sont coupés finement et potérisés dans 3,5ml de TSE, ce qui permet la destruction des cellules et la libération des mitochondries. L'homogénat récupéré est centrifugé à 10000t/min pendant 10min permettant ainsi l'élimination des gros débris cellulaires. Le culot récupéré est centrifugé une deuxième fois à 10000t/min pendant 10min. Les surnageant issus des deux centrifugations sont récupérés et centrifugés à 14000t/min à 4C° pendant 10min. Le culot obtenu est resuspendu dans 1ml du TSE et centrifugé à 14000t/mn pendant 10min. Le culot issu de cette dernière centrifugation est resuspendu dans 1ml du tampon TS (250mM sucrose, 50mM tris, pH 7,2 à 20 C°) et centrifugé pendant 10min à 14000t/mn. Le culot final constitué des mitochondries, et est récupéré dans 500µl de tampon TS pour obtenir la suspension mitochondriale fraîche dont une fraction servira directement dans l'évaluation de l'intégrité structurale et fonctionnelle des mitochondries, le reste est conservé à -80° C pour la suite des dosages.

I.2.4.3.2. Préparation de la matrice mitochondriale

La suspension mitochondriale est congelé-décongelé de 6 à 8 fois avec potérisation accrue et répétée, afin d'éclater les mitochondries. Après centrifugation de 10min à 9600t/min, le surnageant est utilisé comme source des paramètres de stress (Lahouel *et al.*, 2015).

I.2.4.3.3. Evaluation du gonflement, perméabilité et respiration mitochondriales

Selon la méthode de Crystal *et al.* (1996), nous avons réalisé l'estimation de la perméabilité mitochondriale basée sur le taux des ions de Ca⁺⁺ qui traversée leur membranes. Cette perméabilité suivie par une augmentation de la taille de la mitochondrie détectée à une longueur d'onde de 540 nm pendant 3 minutes et chaque 30sec. La respiration a été estimée en utilisant un Oxygraph (*Hansatech*®) selon la méthode décrite par Rouabhi *et al.* (2006) et Rouabhi *et al.* (2009).

I.2.4.3.4. Evaluation de Cytochrome c

L'activité du cytochrome c oxydase est mesurée selon la méthode de (Wharton et Tzagoloff, 1967). Le cytochrome c oxydase, enzyme de la membrane internemitochondriale assure le transfert d'électrons du ferrocyclochrome c aux molécules d'O₂. On peut suivre l'activité enzymatique peut être suivie par la mesure de l'oxydation du cytochrome C réduit à une longueur d'onde $\lambda = 550$ nm car seule la forme réduite absorbe à cette longueur d'onde.

- Le cytochrome c réduit est préparé dans du tampon phosphate (K₂HPO₄ 7,5mM/KH₂PO₄ 7,5 mM pH 7,4) à une concentration finale de 3 mM ;
- Une pointe de spatule de sodium dithionite est ajoutée de manière à réduire le cytochrome C.
- Pour chaque échantillon on ajoute, 950 μ l de tampon phosphate et 20 μ l de la fraction à doser sont bien agités et pré-incubés 2 min à 25°C (les mitochondries éclatent ainsi dans ce milieu très hypotonique).
- L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 550$ nm.

1.3. Analyse statistique des résultats

Les quantités des métabolites (protéines, glucides et lipides) sont déterminées à partir des courbes d'étalonnage en utilisant Excel.

L'analyse statistique des données a été effectuée par le test ANOVA à un seul facteur suivi par :

- Un test de Dunnett pour comparer les différents groupes avec le témoin. Les différences ont été considérées comme significative lorsque
 - $p < 0.05$: la différence est significative (*)
 - $p < 0.01$: la différence est hautement significative (**)
 - $p < 0.001$: la différence est très hautement significative (***)
- Un test de Tukey pour comparer les différents groupes un par un. Les différences ont été considérées comme significative lorsque $p < 0,05$. Les résultats de cette analyse ont été présentés sous forme de lettres différentes (a, b, c). Les moyennes affectées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Cette analyse a été faite grâce au logiciel Minitab (Version 16).

II. Résultats

II.1. Rendement du fenouil en huiles essentielles

Nous rappelons que l'huile essentielle a été extraite des graines sèches du fenouil par unhydrodistillateur de type Clevenger (1928). Nous avons obtenu une huile de couleur jaune pâle avec une odeur aromatique. Nous n'avons pas pu récupérer une quantité huileuse importante, le rendement obtenu est voisin de $1,26\% \pm 0,1$. Il est très faible par rapport aux rendements cités dans la littérature. En générale, le rendement en huile essentielle des graines du fenouil varie de 2,5 à 6 % avec une moyenne de 3,5 % (Garnéro, 1996).

II.2. Evaluation de l'activité antioxydante (Effet scavenger du radical DPPH)

L'activité anti-oxydante des huiles essentielles des graines du fenouil est évaluée par la méthode de réduction de radicaux DPPH (figure 13). Dans la présente étude, l'huile essentielle du fenouil a montré une activité antiradicalaire inférieure à celle de l'acide ascorbique. En effet, l'huile essentielle du fenouil a presque atteint son maximum avec un pourcentage d'inhibition (PI) de $84,49 \pm 0,59\%$, avec une CI50 égale à $110,2 \pm 2,03 \mu\text{g/ml}$. L'acide ascorbique utilisé comme référence a inhibé de $94,71 \pm 0,32\%$ le radical DPPH avec une CI50 égale à $24,82 \pm 0,25 \mu\text{g/ml}$. Ces résultats indiquent une activité antioxydante très puissante de l'acide ascorbique. Cependant, l'huile essentielle de *F. Vulgare* montre également une activité antioxydante très remarquable.

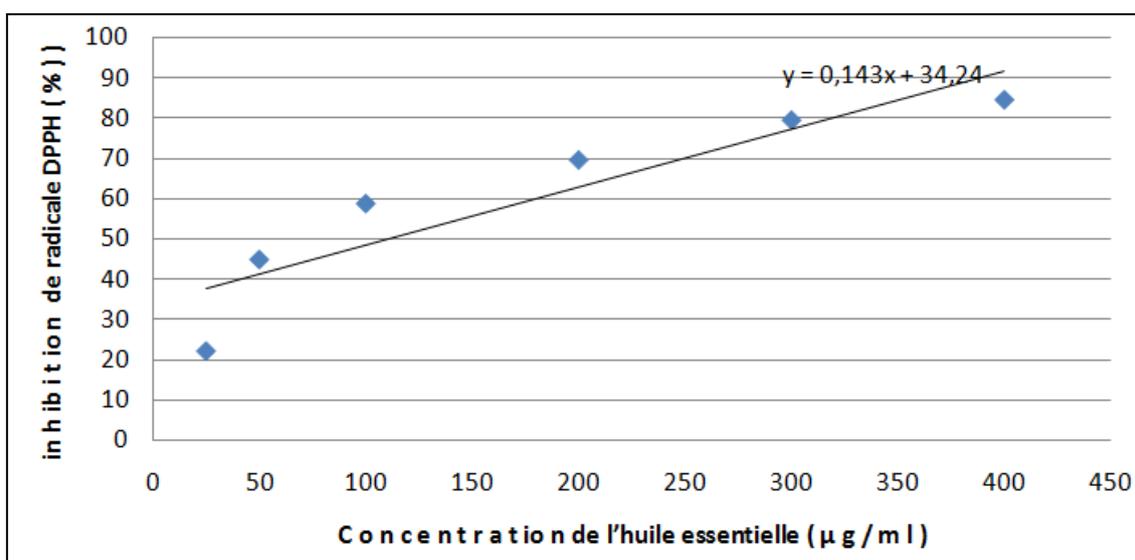


Figure 14 : Activité antioxydante de l'huile essentielle du fenouil vis-à-vis le radical DPPH.

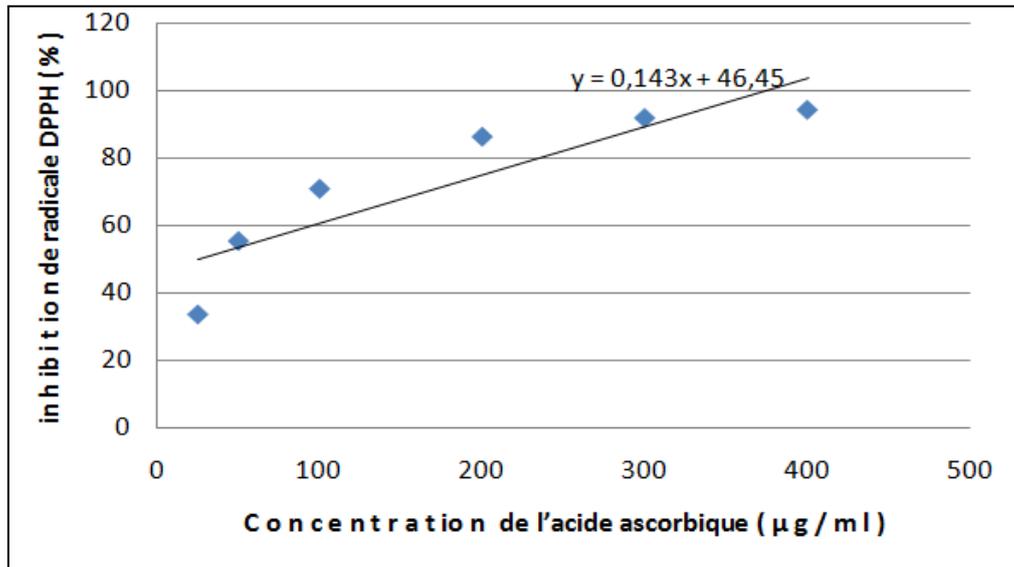


Figure 15 : activitéantioxydantedel'acide ascorbiquevis-à-vis du radicalDPPH.

II.3. Action sur la croissance corporelle

II.3.1. Variation du poids corporel entre les rats témoins et traités

La figure 15 illustre l'évolution du poids corporel (PC) chez les rats témoins et traités. Nos résultats montrent une diminution très hautement significative du poids corporel chez le lot traité par le spinosad seul ($155,5g \pm 8,78$) et mixture plomb /spinosad (SPD/Pb) ($154g \pm 10$) comparativement avec lot témoin ($178,33g \pm 5,77$). Tandis qu'on enregistre une nette amélioration du poids corporel chez le lot traité par l'Huile essentielle et spinosad et au groupe traité par le plomb seul et mixture spinosad / plomb ,

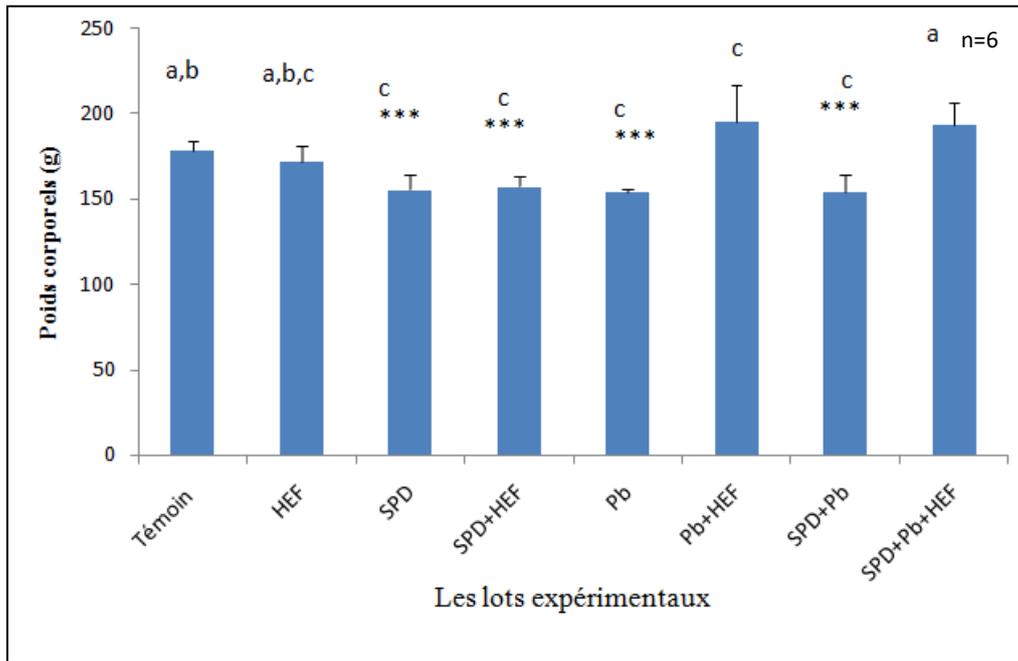


Figure16: Variation du poids corporel des rats témoins et traités après 3 semaines du traitement

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin.

a, b, c :Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes($p \leq 0,001$).

II.3.2. Action sur les poids relatif des foies

L'effet de l'addition d'HE du fenouil, le spinosad, le plomb et leur combinaison sur le poids relatif de foie est présenté dans la figure17. Les résultats de l'évaluation du poids relatif du foie montrent une augmentation hautement significative chez les rats traités par Pb. En revanche, nous avons enregistré un rétablissement par une diminution des poids relatif des foies chez les rats traités par les combinaisons le spinosad, plomb et huile essentielle, l'Huile essentielle et plomb.

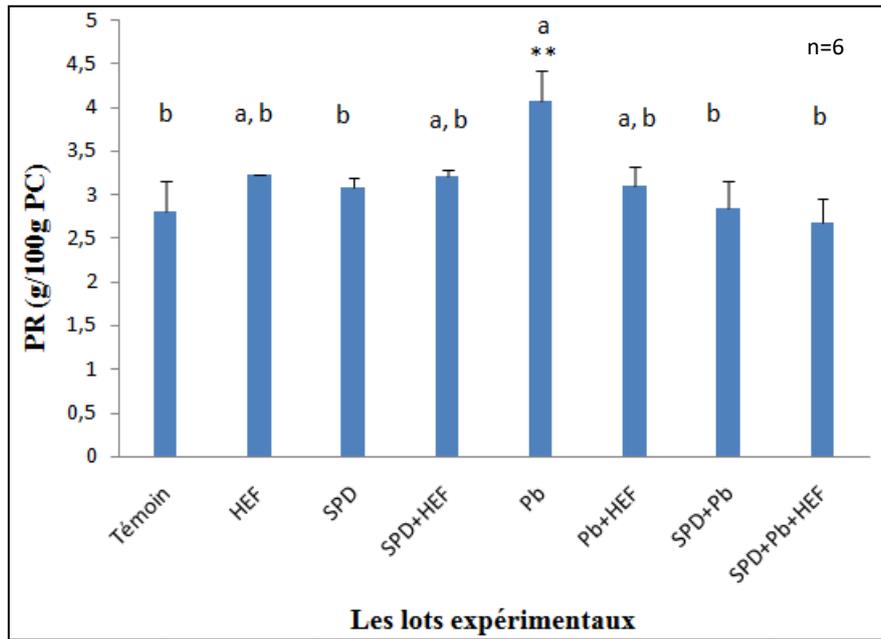


Figure 17 : Variation du poids relatif (g/100g) du foie chez les rats témoins et traités après 3 semaines du traitement

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin.

a, b, c :Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes ($p \leq 0,001$).

II.4. Effets sur les paramètres biochimiques et le stress oxydatif dans le foie

II.4.1. Variation de l'activité enzymatique de TGP

D'après nos résultats, l'activité enzymatique du TGP montre une augmentation très hautement significative chez le lot traité par le spinosad ($75,5 \text{ UI/L} \pm 0,70$), le plomb ($104 \text{ UI/L} \pm 6,08$), mixture spinosad / plomb ($56,08 \text{ UI/L} \pm 11,65$) et plomb/huile essentielle du fenouil ($67,33 \text{ UI/L} \pm 10,01$) par rapport au témoin ($28 \pm 2,64$); Or, aucune différence significative n'est observée chez les autres lots par rapport au lot témoin. (figure.18)

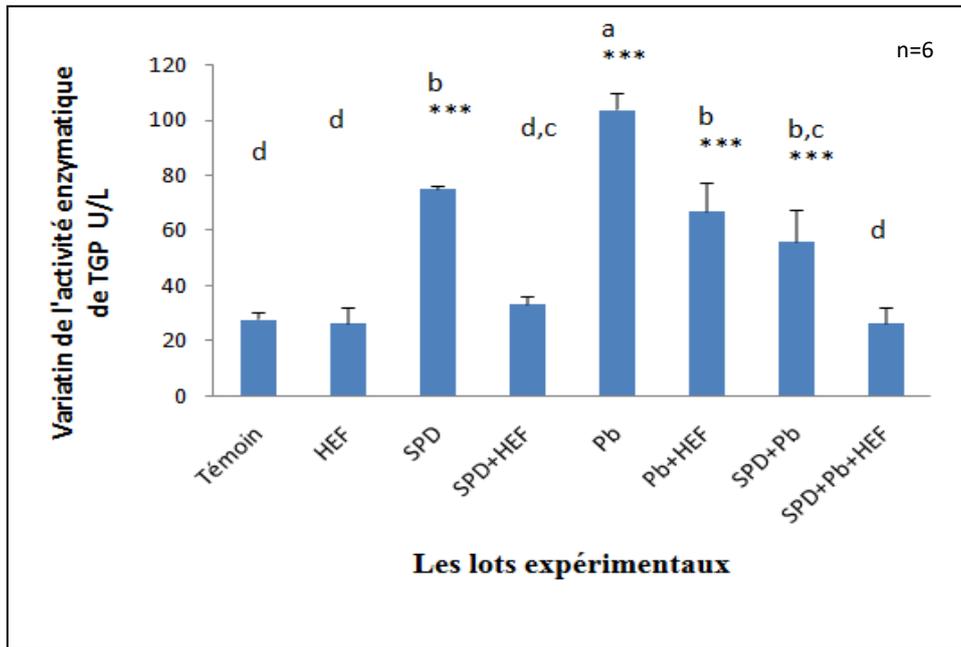


Figure 18 : Variation de l'activité enzymatique de TGP dans les différents lots expérimentaux.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin.

a,b,c :Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes ($p \leq 0,001$).

II.4.2.Variation de l'activité enzymatique de TGO

L'analyse statistique révèle une augmentation très hautement significative de l'activité enzymatique du TGO chez les rats traitées par le spinosad (250,5 UI/L \pm 0,70)le plomb(345,4UI/L \pm 8,08) et combinaison (SPD/Pb) (241,6 UI/L \pm 3,014) comparé aux témoins(133UI/L \pm 1,41).L'administrationdes rats par une dose de (0,5ml/kg) d'huile essentielle du fenouil temporise l'effet de SPD et Pb et normalise les valeurs des TGO et réduit l'augmentation respectivement (figure19).

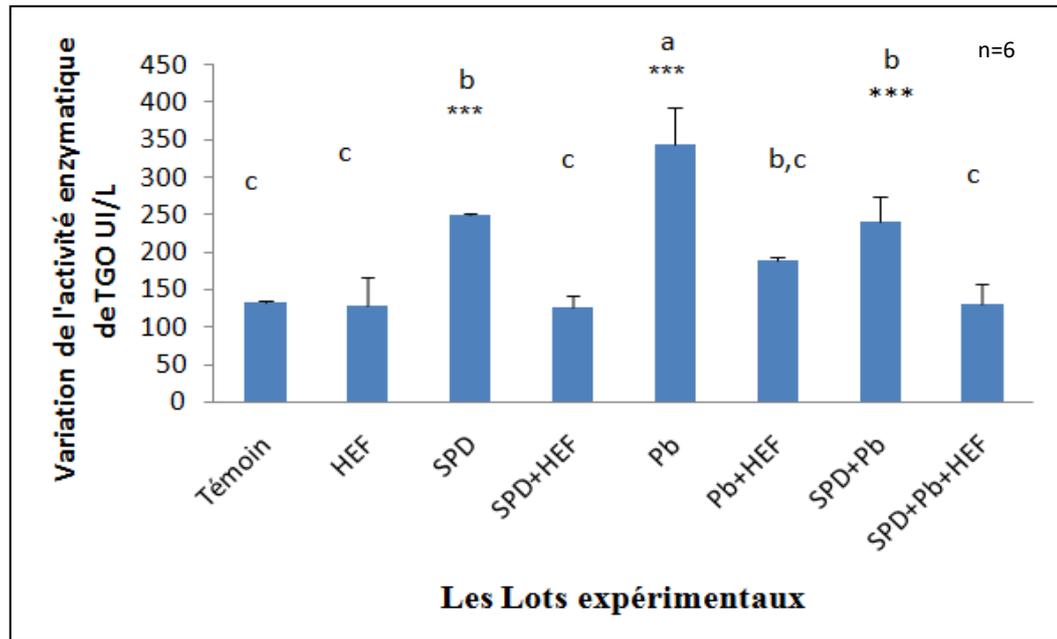


Figure 19: Variation l'activité enzymatique de TGO dans les différents lots expérimentaux.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin.

a,b,c :Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes ($p \leq 0,001$).

II.4.3. Concentration des protéines totales

La figure 20 illustre l'effet de l'addition des HE du fenouil, de spinosad, plomb et leur mixture sur le taux moyen des protéines hépatique. Les résultats obtenus montrent une augmentation très hautement significative du taux des protéines chez les rats traités par Pb/HEF ($73,73 \text{ mg} \pm 5,77$), SPD/Pb ($83,77 \text{ mg} \pm 3,575$) et SPD/Pb/HEF ($85,84 \text{ mg} \pm 1,53$) comparé au témoin ($57,57 \text{ mg} \pm 4,25$) et aucune différence significative n'est observée chez les autres lots par rapport au lot témoin (Tableau 04).

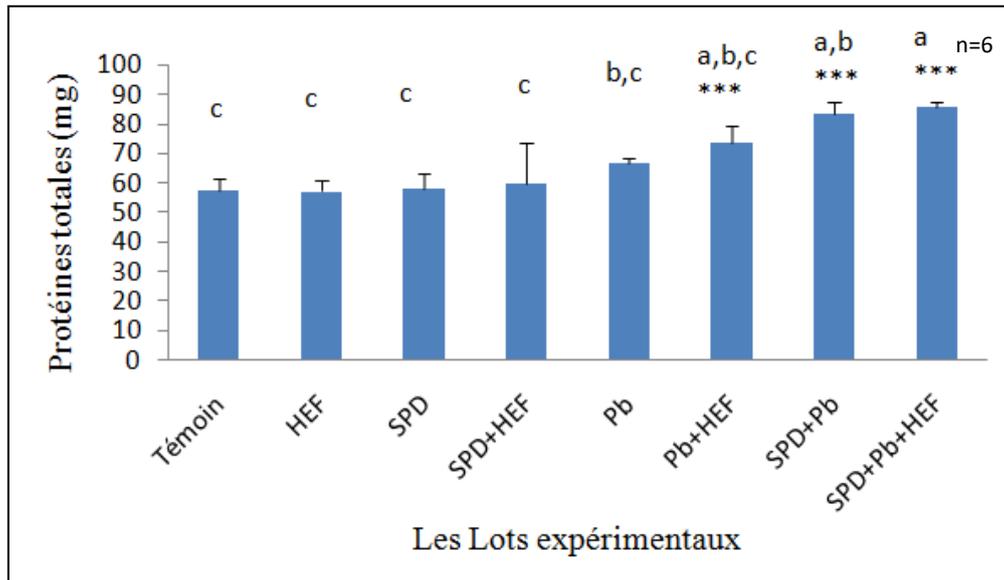


Figure 20 : Variation de taux des protéines totales chez les rats témoins et traités après 3 semaines du traitement.

*p < 0.05 ; **p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.

a,b ,c :Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes (p<0,001).

II.4.4 Concentration des lipides totaux

La figure 21 expose l'évolution du taux des lipides, les résultats obtenus montrent une diminution non significative chez les groupes des rats traités par SPD, Pb, seuls ou en mixture par rapport aux témoins. En revanche, nous enregistrons un rétablissement par une augmentation non significative des taux du lipide chez les rats traités par les combinaisons du plomb et huiles essentielles et SPD/HEF en comparaison aux groupes témoin (Tableau 04).

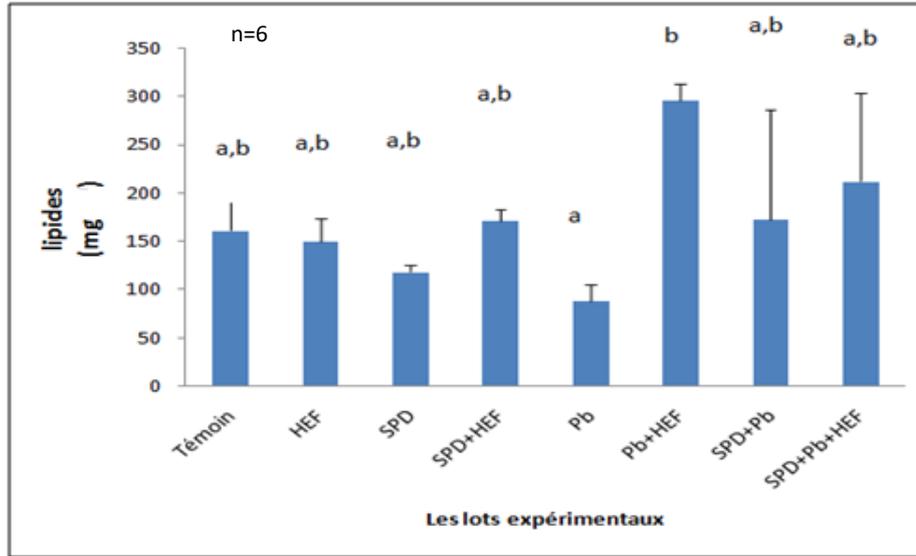


Figure 21 : Variation de taux des lipides totaux chez les rats témoins et traités après 3 semaines du traitement.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin.

a,b,c :Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes ($p \leq 0,001$).

II.4.5. Concentration des glucides totaux

Les variations du taux des glucides au niveau du foie chez les rats témoins et traités aux concentrations de spinosad, plomb et fenouil sont présentés dans la figure 22. L'analyse statistique de ces résultats montre que le traitement des rats par SPD (102,16 mg \pm 37,0) en comparaison avec le groupe témoin (165,59 mg \pm 10,7) alors que aucune différence significative n'a été observée pour les autres lots (Tableau 04).

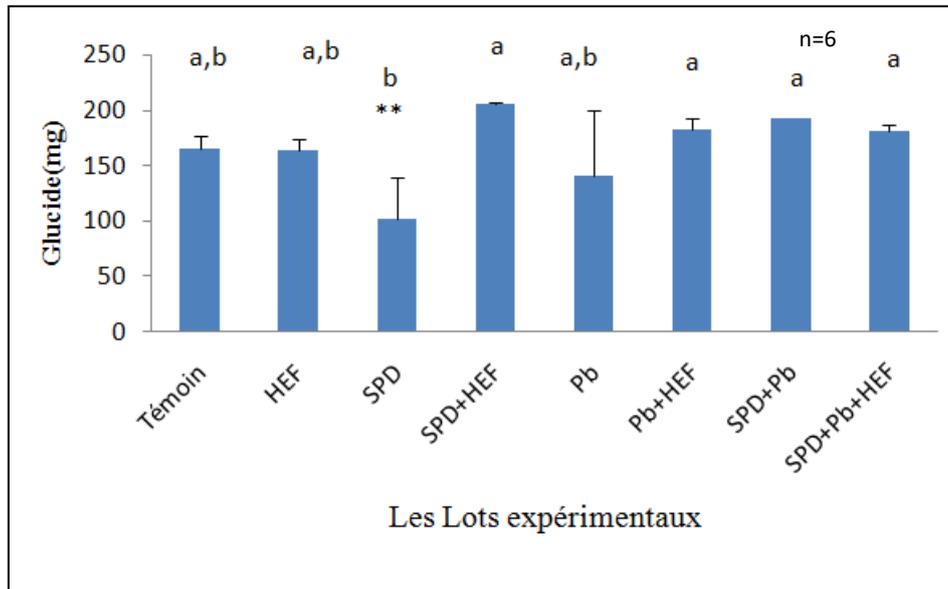


Figure 22 : Variation de taux des glucides chez les rats témoins et traités après 3 semaines du traitement ($p \leq 0,01$)

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin.

a,b,c :Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes ($p \leq 0,001$).

Tableau4 : Variation des protéines, des lipides et des glucides dans le foie chez les rats témoins et traités

Paramètres	Lots							
	témoin	HEF	SPD	SPD+HEF	Pb	Pb+HEF	SPD+Pb	SPD+Pb+HEF
Protéine (mg)	57,57±4,20 a	57,37±3,41 a	58,20±5,38 a	59,95±13,96 a	67,09±1,42 a b	73,73±5,77*** a b c	83,77±3,57*** a b	85,84±1,5*** a
Glucide (mg)	165,59±10,7 a b	164,41±9,36 ab	102,16±37,0 ** b	205,31±2,12 a	141,0±59,25 a b	183,08±9,83 a	200,11±5,50 a	180,72±5,68 a
Lipide (mg)	161,33±46,75 a b	149,56±24,1 a b	118,56±7,31 a b	172±11,53 a b	88,3±16,89 a	296,13±16,89 b	172,76±113,65 a b	212,4±91,8 a b

huile essentielle du fenouil (HEF), spinosad (SPD), , spinosad / huile essentielle du fenouil (SPD/HEF), plomb (Pb) , huile essentielle du fenouil/ plomb(Pb/HEF) spinosad / plomb (SPD/Pb), spinosad/ huile essentielle du fenouil / plomb(SPD/Pb/HEF)

($P < 0.05 = *$, $P < 0.01 = **$, $P < 0.001 = ***$)

a, b,c qui ne montrent pas une lettre commune dans la même colonne sont sensiblement différent les uns des autres.

II.4.6. Variation de la teneur en GSH hépatique

La figure 23 illustre l'évolution du taux de GSH. Le traitement statistique des données obtenues signale qu'il y'a une réduction très hautement significative de la teneur hépatique en glutathion réductible chez les rats traités par le plomb et le lot traité par Pb/HEF ($0,001\mu\text{M} / \text{mg} \pm 0,0002$) et SPD/Pb/HEF ($0,002\mu\text{M} / \text{mg} \pm 0,0001$) quand ils sont tous comparés au groupe témoin ($0,003\mu\text{M} / \text{mg} \pm 0,0003$) et aucune différence significative n'est observée chez les autres lots par rapport au lot témoin (Tableau 05).

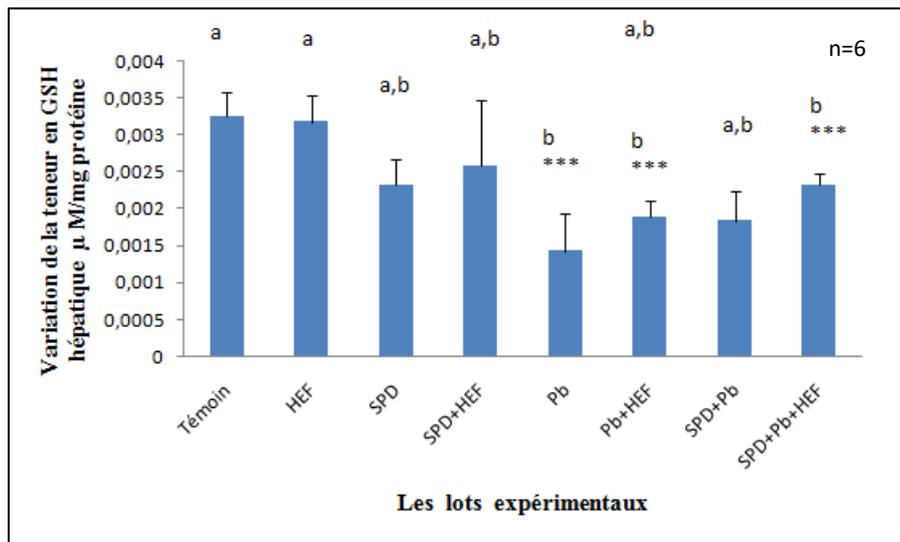


Figure 23 : Variation de la teneur en GSH hépatique dans les différents lots expérimentaux

*p < 0.05 ; **p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.

a,b,c : Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes ($p \leq 0,001$).

II.4.7. Variation de la teneur en MDA hépatique

L'effet de l'addition d'HE du fenouil, le spinosad, le plomb et leur combinaison sur le taux moyen de MDA hépatique est présenté dans la figure 24. Nous constatons que le plomb n'a pas d'effet sur le taux moyen de MDA hépatique comparé aux témoins, par contre, une augmentation de manière hautement significative a été observée chez le groupe traité par le spinosad ($0,0001 \mu\text{M} / \text{mg} \pm 1,9 \times 10^{-5}$) par rapport aux témoins ($7,1 \times 10^{-5} \mu\text{M} / \text{mg} \pm 9,3 \times 10^{-6}$).

La combinaison spinosad + fenouil, plomb +fenouil corrige le taux moyen du MDA hépatique (différence non significative) (Tableau 05)

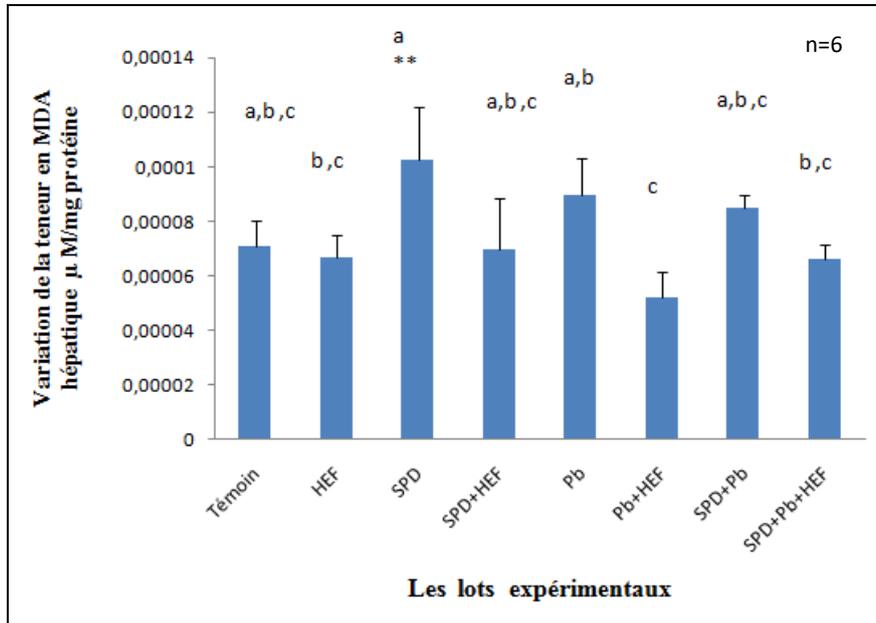


Figure24: Variation de la teneur en MDA hépatique dans les différents lots expérimentaux.

*p < 0.05 ; **p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.

a,b,c :Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes (p≤0,001).

II.4.8. Variation de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase GPx

La figure 25 représente la variation de l'activité moyenne de GPx hépatique en présence d'HE du fenouil, le spinosad, le plomb et leur mixture. Nous observons, que l'activité moyenne de GPx hépatique est significativement diminuée chez les traités par le plomb ($4,9 \times 10^{-05} \eta\text{mol/mg} \pm 3,3 \times 10^{-06}$) par rapport à celle des témoins ($5,3 \times 10^{-05} \eta\text{mol/mg} \pm 1,5 \times 10^{-07}$). L'activité moyenne de GPx hépatique est augmentée à une valeur proche des témoins d'une manière non significative chez les groupes traités par la combinaison HEF + SPD, HEF+Pb et SPD + HEF+Pb (Tableau 05).

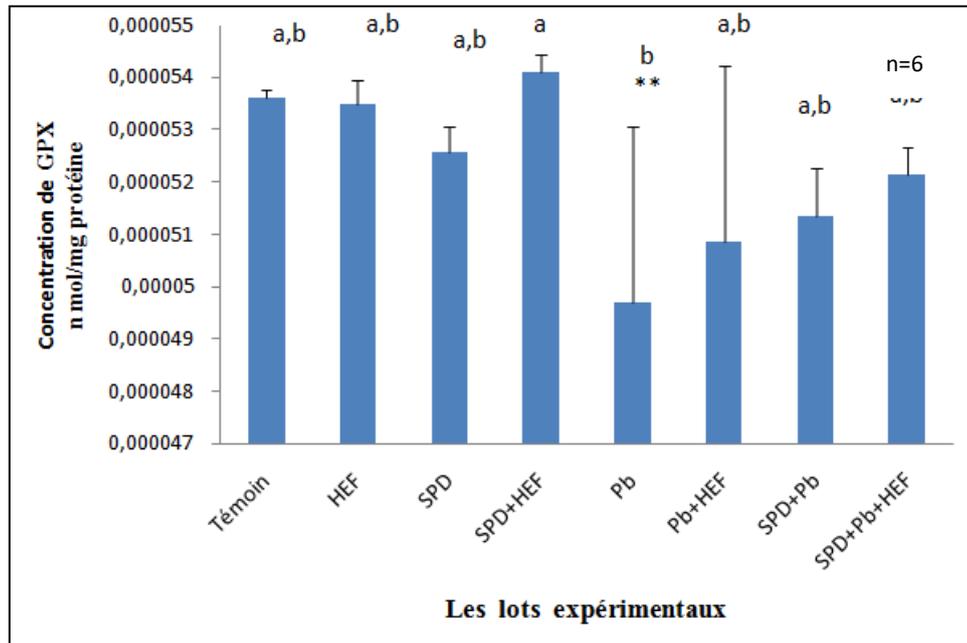


Figure 25 : Variation de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase GPx dans les différents lots expérimentaux.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin.

A,b,c : Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes ($p \leq 0,001$).

II.4.9.Variation de l'activité enzymatique du catalase

L'évolution des taux moyen de la CAT hépatique chez les rats traités et ceux témoins sont exposés dans le Figure26. Concernant l'activité enzymatique de la catalase (CAT), nos résultats signalent qu'il y'a une diminution très hautement significative chez les lots traité par SPD, Pb(9,06nmol/ mn /mg \pm 4,27) et la mixture SPD/Pb (13,78nmol/ mn /mg \pm 4,18) et le lot traité par mixture SPD/Pb/HEF (10,42 nmol/ mn /mg \pm 5,42) par rapport au lot témoin(4,51nmol/ mn /mg \pm 0,15). La combinaison des HE du fenouil et du Plomb et SPD augmente également de façon non significative le taux du CAT et le mène à une valeur prés de celle des témoins (Tableau 05).

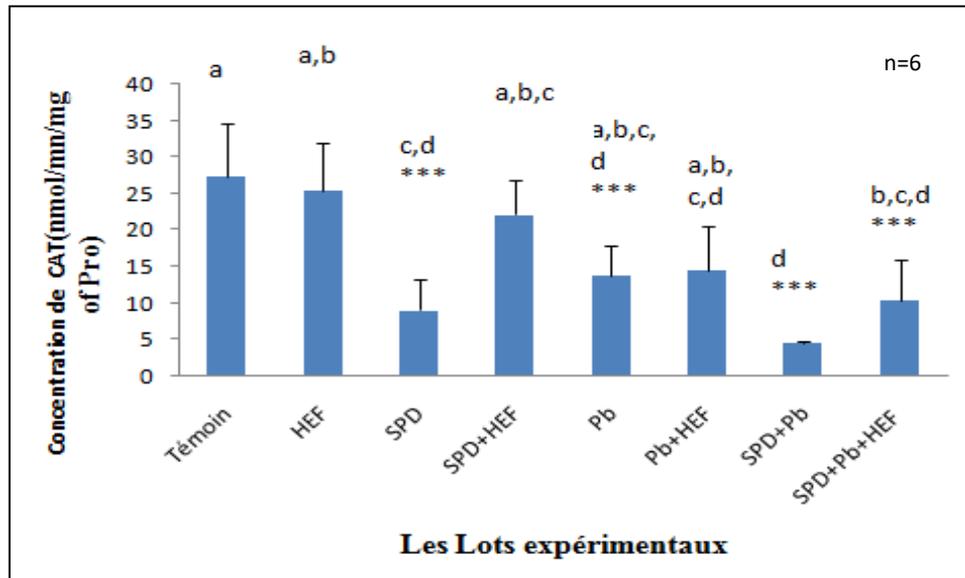


Figure 26 : Variation l'activité enzymatique du catalase dans les différents lots expérimentaux.

*p < 0.05 ; **p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.

a,b,c :Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes (p≤0,001).

II.4.10.Variation de l'activité enzymatique de GST

La figure 27 représente la variation de l'activité moyenne de GST hépatique en présence d'HE du fenouil, le spinosad, le plomb et leur mixture. Nous observons, que l'activité moyenne de GST hépatique est significativement diminuée chez les traités par la mixture le spinosad et plomb ($4,4 \times 10^{-05} \text{ nM/ mn /mg} \pm 4,04 \times 10^{-05}$) par rapport à celle de témoins ($0,2 \times 10^{-05} \text{ nM/ mn /mg} \pm 6,69 \times 10^{-05}$). L'activité moyenne de GST hépatique est augmentée d'une manière non significative chez le groupe traité par la combinaison HEF+SPD, HEF+Pb (Tableau 05).

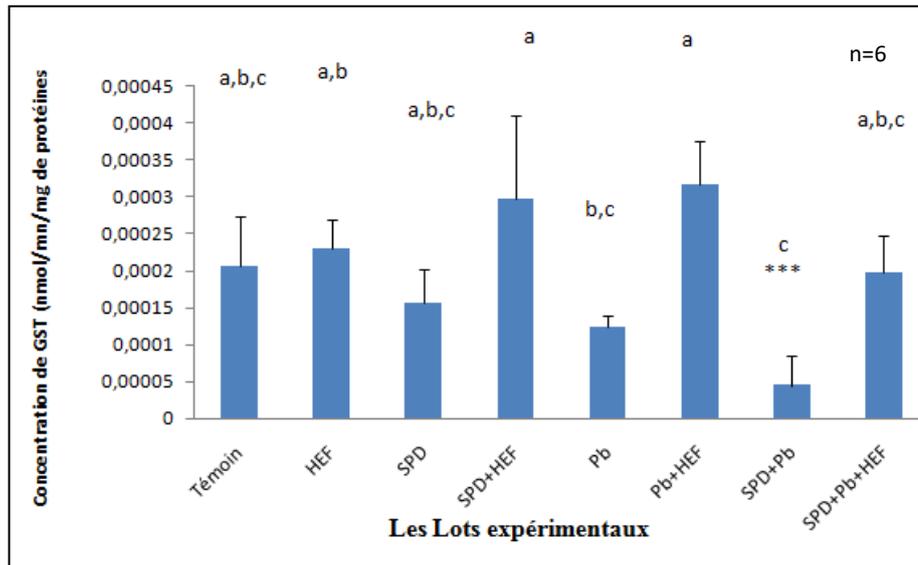


Figure 27 : Variation de l'activité enzymatique de GST dans les différents lots expérimentaux.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin.

a,b,c :Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes ($p \leq 0,001$)

Tableau05 : Variation des paramètres du stress oxydatif au niveau cytosolique hépatique chez les rats témoins et traités

Paramètres	Lots									
	témoin	HEF	SPD	SPD+HEF	Pb	Pb+HEF	SPD+Pb	SPD+Pb+HEF		
GSH µM / mg	3.2*10 ⁻³ ± 0,0003 a	0,0031± 0,0003 a	0,002± 0,0003 ab	0,002± 0,0008 ab	0,001± 0,0005*** b	0,001± 0,0002*** b	0,001± 0,0004 ab	0,002± 0,0001*** b		
MDA (µM /mg)	7,124x10 ⁻⁰⁵ ± 9,37 abc	6,6 x10 ⁻⁰⁵ ± 8,33 x10 ⁻⁰⁶ bc	0,0001± 1,9 x10 ⁻⁰⁵ ** a	6,9 x10 ⁻⁰⁵ ± 1,8 x10 ⁻⁰⁵ abc	8,9E-05± 1,3 x10 ⁻⁰⁵ ab	5,2 x10 ⁻⁰⁵ ± 9,4 x10 ⁻⁰⁶ c	8,5 x10 ⁻⁰⁵ ± 4,6 x10 ⁻⁰⁶ *** abc	6,6 x10 ⁻⁰⁵ ± 4,9 x10 ⁻⁰⁵ bc		
GST nmol/ mn /mg	2 x10 ⁻⁴ ± 6,69 x10 ⁻⁰⁵ abc	0,0002± 3,9 x10 ⁻⁰⁵ ab	0,0001± 4,5 x10 ⁻⁰⁵ abc	0,0002± 0,0001a	0,0001± 1,6 x10 ⁻⁰⁵ bc	0,0003± 5,9 x10 ⁻⁰⁵ a	4,4 x10 ⁻⁰⁵ ± 4,04 x10 ⁻⁰⁵ *** c	0,0001± 4,9 x10 ⁻⁰⁶ abc		
CAT nmol/ mn /mg	27,29±7,34 a	25,36±6,50 ab	9,06±4,27*** cd	22,17±4,75 abc	13,78±4,18*** abcd	14,53±6,07 abcd	4,51±0,15*** d	10,42±5,42 bcd		
GPx nmol/mg	5,36 x10 ⁻⁰⁵ ±1,59 ab	5,34 x10 ⁻⁰⁵ ±4,63 ab	5,25 x10 ⁻⁰⁵ ±5,01 ab	5,41x10 ⁰⁵ ±3,4a	4,97 x10 ⁻⁵ ±3,35** b	5,09 x10 ⁻⁰⁵ ±3,35 ab	5,13 x10 ⁻⁰⁵ ±9,37 ab	5,21 x10 ⁻⁰⁵ ± 5,24 ab		

glutathion (GSH), de malondialdéhyde (MDA), glutathion S transférase (GST), Catalase(CAT), glutathion peroxydase(GPx) huile essentielle du fenouil (HEF), spinosad (SPD), spinosad / huile essentielle du fenouil (SPD/HEF), plomb (Pb), huile essentielle du fenouil/plomb(Pb/HEF) spinosad / plomb (SPD/Pb), spinosad/ huile essentielle du fenouil / plomb(SPD/Pb/HEF) .

($P < 0.05 = *$, $P < 0.01 = **$, $P < 0.001 = ***$) a, b, c qui ne montrent pas une lettre commune dans la même colonne sont statistiquement différent les uns des autres.

II.5.Évaluation du dysfonctionnement mitochondrial

II.5.1. Effets sur le gonflement mitochondrial dans le foie

D'après les résultats obtenus à la suite de l'évaluation du gonflement mitochondrial, nous avons constaté une augmentation très hautement significative chez les lots traitée par SPD($0,11\pm 0,004$),Pb($0,16\pm 0,002$), SPD/Pb($0,57\pm 0,057$),HEF/Pb ($0,07\pm 0,009$)et SPD/Pb/HEF ($0,22\pm 0,005$) par rapport au lot témoin($0,03\pm 0,003$)

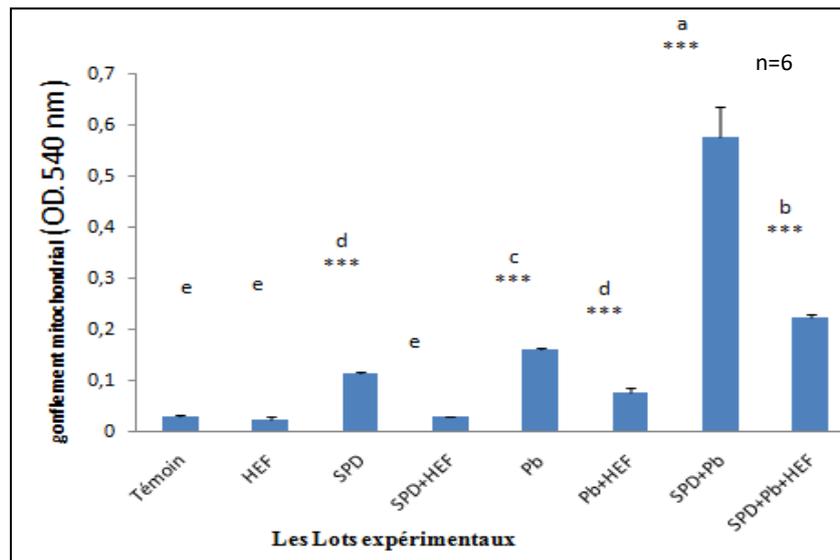


Figure 28 : Variation du gonflement mitochondrial des cellules du foie chez les rat traités

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin.

a, b, c : Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes ($p \leq 0,001$)

II.5.2.Perméabilité membranaire mitochondriale

La figure 29 montre une augmentation de la perméabilité mitochondriale chez les lots traités par SPD,Pb et SPD/Pb Tandis qu'on enregistre une nette amélioration de la perméabilité membranaire mitochondriale par l'administration de l'huile essentielle au groupe traité par le HEF+SPD, HEF/Pb et SPD /Pb/HEF comparés au groupe témoin.

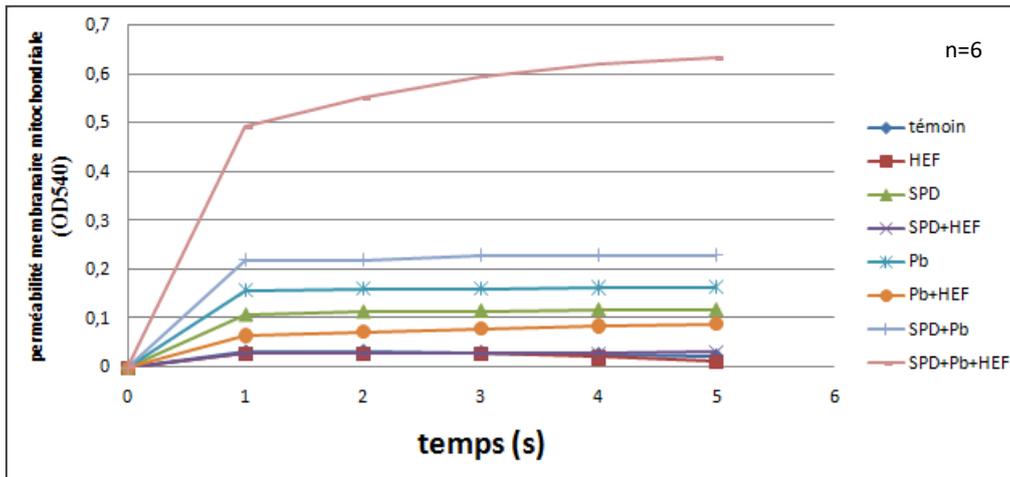


Figure 29 : Variation de la perméabilité membranaire mitochondriale dans le foie chez les rats traités

*p < 0.05 ; **p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.

a, b, c : Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes (p ≤ 0,001)

II.5.3 Effet sur la respiration mitochondriale

La figure 30 montre une diminution de la concentration d'oxygène consommé dans le foie chez les lots traités par SPD, Pb et SPD/Pb comparés aux témoins. L'administration des rats par une dose de 0,5ml/kg de l'huile essentielle du fenouil temporelise l'effet de plomb et spinosad et normalise la concentration d'oxygène consommé dans le foie.

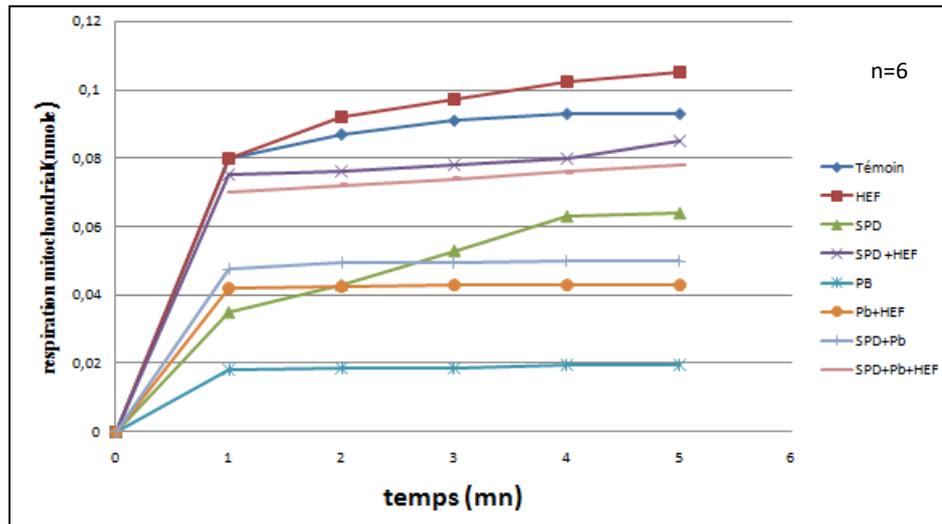


Figure 30 : Variation de la respiration mitochondriale dans le foie chez les rats traités
 *p < 0.05 ; **p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.

a, b, c : Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes (p≤0,001)

II.5.4. Effet sur le cytochrome-c cytosolique dans le foie

Comme le montre la figure 31, l'analyse des résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité de cytochrome-c dans le foie a montré une augmentation hautement significative chez les rats traités par Pb(0,08mg/ml±0,03) comparés aux rats témoins (0,01 mg/ml ±0,004). Tandis qu'on n'observe aucun changement significatif chez le reste des groupes traités.

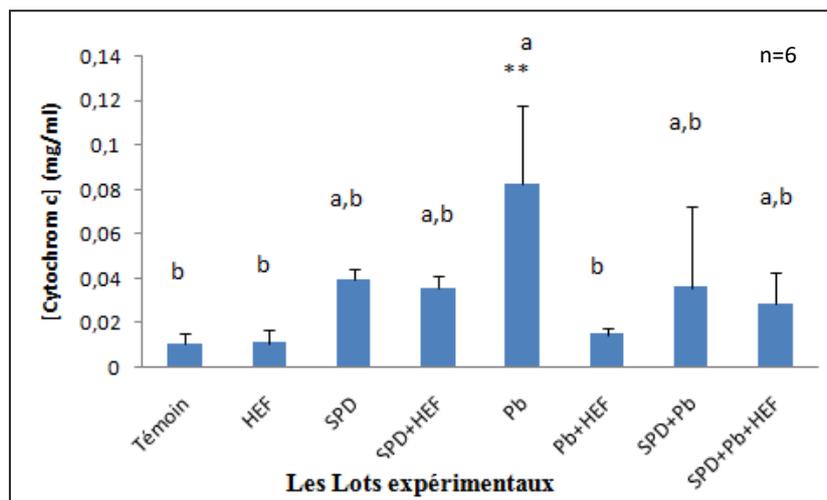


Figure 31: Variation de l'activité de cytochrome- c dans le foie chez les rats traités
 *p < 0.05 ; **p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.

a, b, c : Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes (p≤0,001)

II.5.4.Évaluation du statut oxydant mitochondrial

II.5.4.1.Variation de la teneur en MDA mitochondrial.

L'effet de l'addition d'HE du fenouil, le spinosad, le plomb et leur combinaisons sur le taux moyen de MDA mitochondrial est présentée dans la figure 32. Une augmentation hautement significative du taux de MDA mitochondrial est enregistrée chez les groupes traités par le spinosad ($4,1 \times 10^{-5} \mu\text{M} / \text{mg} \pm 3,6 \times 10^{-6}$) par rapport au groupe témoin ($1,04 \times 10^{-5} \mu\text{M} / \text{mg} \pm 1,81 \times 10^{-6}$). Tandis qu'on n'observe aucun changement significatif chez le reste des groupes traités par les SPD et Pb associés à l'huile essentielle du fenouil (Tableau 06).

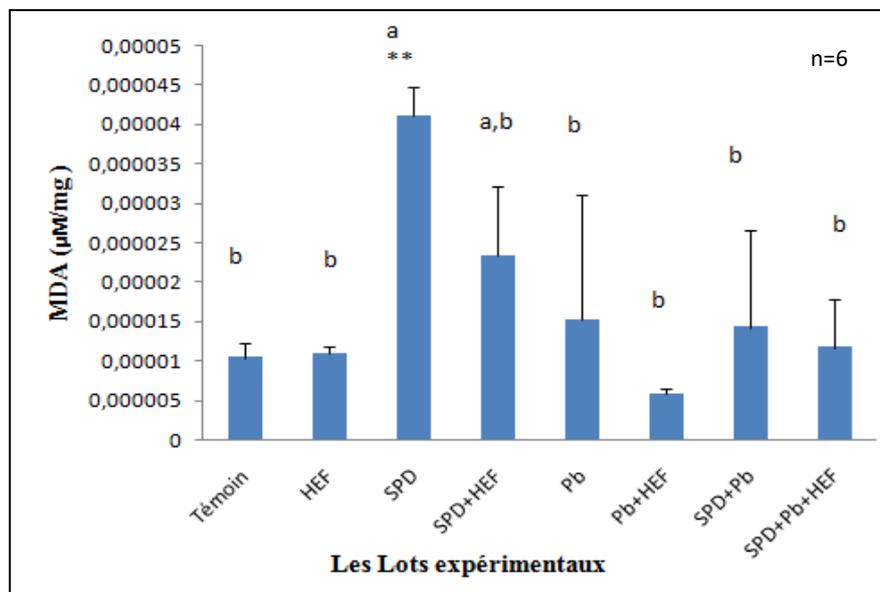


Figure 32 : Variation de la teneur en MDA mitochondrial dans les différents lots expérimentaux.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin.

a, b, c : Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes ($p \leq 0,001$)

II.5.4.2. Variation de la teneur en GSH mitochondrial

La figure 33 représente la variation de l'activité moyenne de GSH mitochondriale en présence d'HE du fenouil, le spinosad, le plomb et leurs mixtures. D'après nos résultats nous remarquons une diminution non significative de taux de GSH mitochondriale chez les lots traités par le SPD, Pb et mixture SPD/Pb, l'addition huile essentielle du fenouil corrige cette diminution et augmentation hautement significative

chez le lot traité par mixture SPD/Pb/HEF(0,004 μM /mg \pm 0,7 $\times 10^{-5}$) par rapport aux témoins (0,002 μM /mg \pm 0, 3 $\times 10^{-5}$) (Tableau 06).

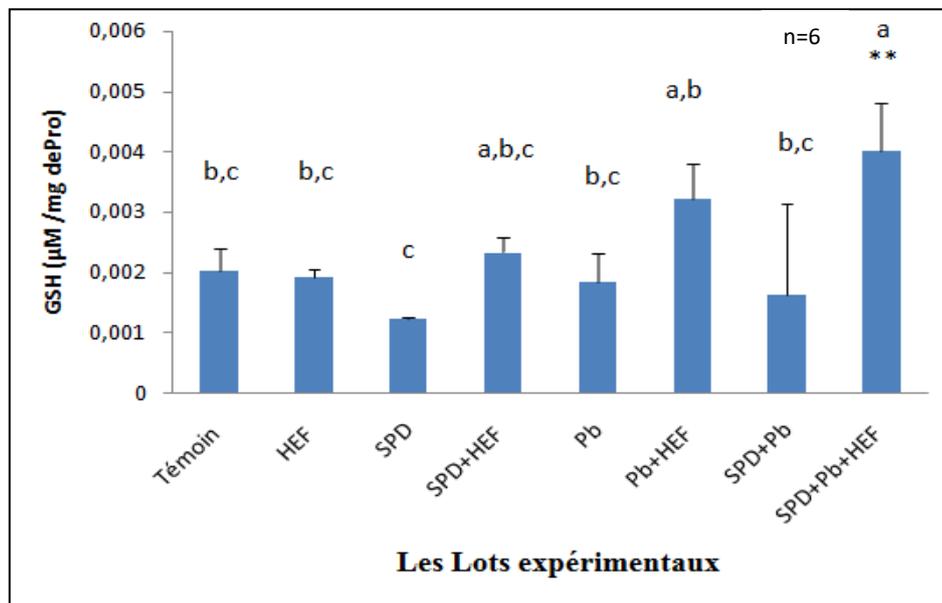


Figure 33 : Variation de la teneur enGSH mitochondrial dans les différents lots expérimentaux

*p < 0.05 ; **p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.

a, b, c : Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes ($p \leq 0,001$)

II.5.4.3. Variation de la teneur en GST mitochondrial

La figure 34représente la variation de l'activité moyenne de GST mitochondrial en présence d'HE du fenouil, le spinosad,le plomb et leurs mixtures. Nous observons, que l'activité moyenne de GST mitochondrialest diminuée chez les traités par le plomb,spinosad, par rapport à celle de témoins. L'activité moyenne de GST mitochondrialest augmentée d'une manière non significative chez le groupe traité par le la combinaison fenouil +spinosad , fenouil+plomb et fenouil +spinosad +plomb (Tableau 06)

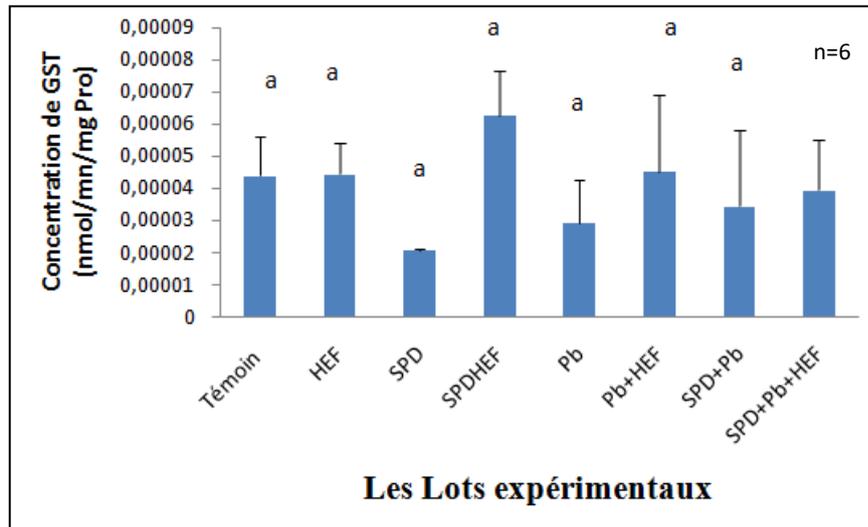


Figure 34 : Variation de l'activité enzymatique de GST mitochondrial dans les différents lots expérimentaux.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin.

a, b, c : Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes ($p \leq 0,001$)

II.5.4.4. Variation de la teneur en CAT mitochondrial

La figure 35 représente la variation de l'activité moyenne de CAT mitochondriale en présence d'HE du fenouil, le spinosad, le plomb et leurs mixtures. Les résultats de l'évaluation de l'activité de CAT mitochondriale sont constatés qu'il existe une diminution hautement significative de cette activité chez les lots traités par SPD seul ($14,78 \text{ nmol/nm/mg} \pm 6,54$) et mixture SPD /Pb ($10,7 \text{ nmol/nm/mg} \pm 0,91$) quand ils sont comparés au groupe témoin ($40,06 \text{ nmol/nm/mg} \pm 7,34$). En revanche, ces résultats ne montrent aucune variation significative de l'activité de CAT chez tous les groupes traités par les SPD, Pb associés à la HEF (Tableau 06)

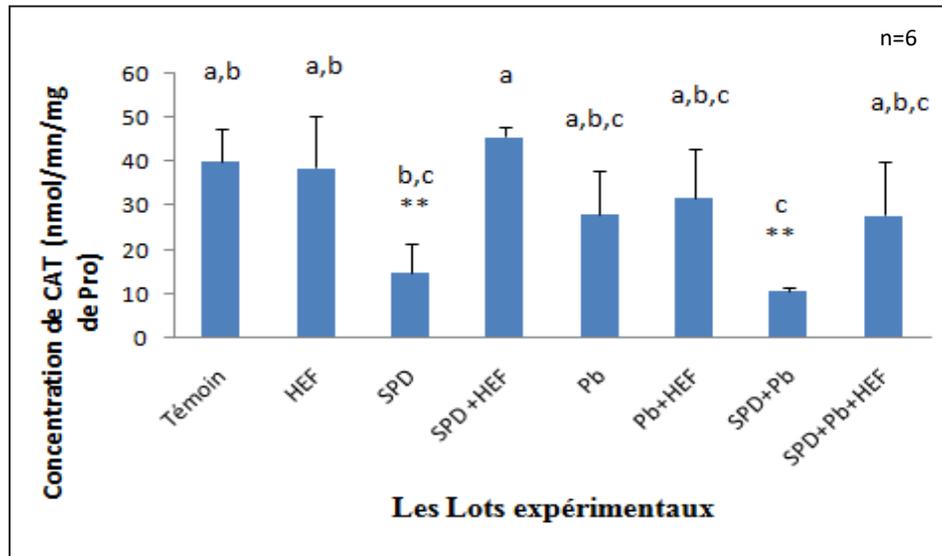


Figure 35: Variation de l'activité enzymatique de CAT mitochondrial dans les différents lots expérimentaux.

*p < 0.05 ; **p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.

a, b, c : Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes (p≤0,001)

II.5.1.5. Variation de la teneur en GPx mitochondrial

La figure 36 représente la variation de l'activité moyenne de GPx mitochondriale en présence d'HE du fenouil, le spinosad, le plomb et leurs mélanges. Nous observons, que l'activité moyenne de GPx mitochondriale est diminuée chez les traités par le plomb, spinosad, par rapport à celle de témoins. L'activité moyenne de GPx mitochondriale est augmentée d'une manière hautement significative chez le groupe traité par la combinaison fenouil + spinosad ($2,8 \times 10^{-06} \text{ nmol/nm/mg} \pm 7,81 \times 10^{-06}$) par rapport au groupe témoin ($1,41 \times 10^{-06} \text{ nmol/nm/mg} \pm 1,6 \times 10^{-07}$) et aucun changement significatif n'est observé chez les rats traités par le plomb et huile essentielle du fenouil (Tableau 06).

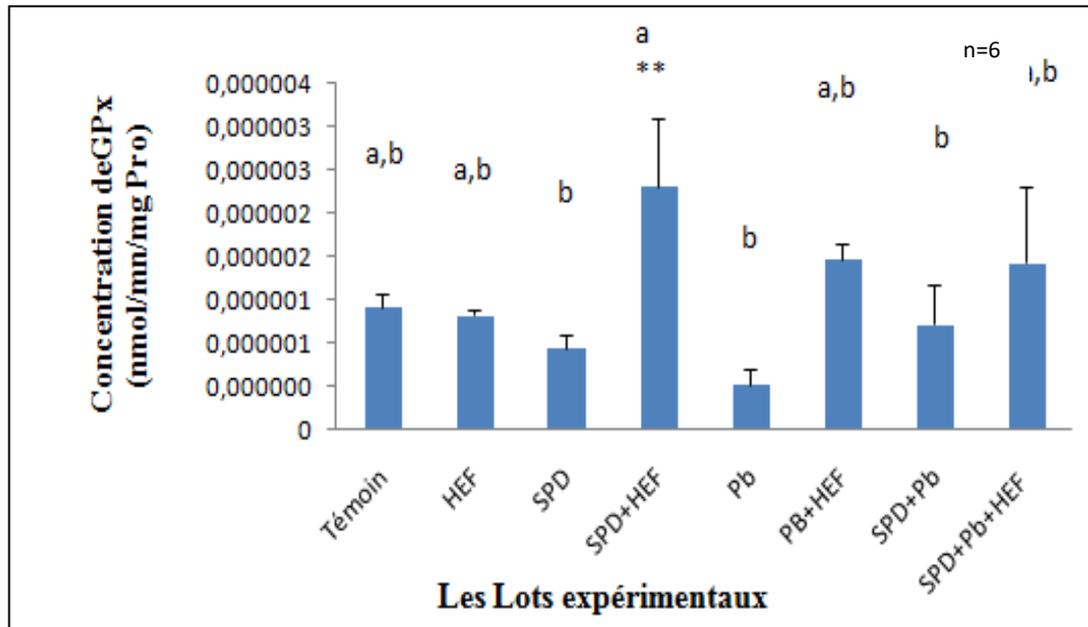


Figure 36 : Variation de l'activité enzymatique de GPx mitochondrial dans les différents lots expérimentaux

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin.

a, b, c : Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différentes ($p \leq 0,001$)

Tableau 06: Variation des paramètres du stress oxydatif au niveau mitochondrial hépatique chez les rats témoins et traités .

Paramètres	Lots									
	témoin	HEF	SPD	SPD+HEF	Pb	Pb+HEF	SPD+Pb	SPD+Pb+HEF		
GSH μM / mg	1,04 x10 ⁻⁰⁵ ± 1,8 x10 ⁻⁰⁶ bc	1,09 x10 ⁻⁰⁵ ± 9,45 x10 ⁻⁰⁷ bc	4,1 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁶ c	2,3 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁶ abc	1,53 x10 ⁻⁰⁵ ± 1,56 x10 ⁻⁰⁵ bc	5,8 x10 ⁻⁰⁶ ± x10 ⁻⁰⁷ ab	1,4 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁶ bc	1,1 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁶ a		
MDA (μM / mg)	4,3 x10 ⁻⁰⁵ ± 1,2 x10 ⁻⁰⁵ b	4,4 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁶ b	2,0 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁷ a	6,2 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ ab	2,9 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ b	4,5 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ b	3,4 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ b	3,9 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ b		
GST nmol/ mn /mg	4,3 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ a	4,4 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ a	2,08 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁷ a	6,2 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ a	2,9 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ a	4,5 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ a	3,4 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ a	3,9 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ a		
CAT nmol/n m/mg	4,06 x10 ⁻⁰⁶ ± 7,34 ab	3,65 x10 ⁻⁰⁵ ± 11,63 ab	1,7 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ bc	4,64 x10 ⁻⁰⁶ ± x10 ⁻⁰⁶ a	2,11 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ abc	3,87 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ abc	1,71 x10 ⁻⁰⁵ ± x10 ⁻⁰⁵ c	2,84 x10 ⁻⁰⁶ ± x10 ⁻⁰⁶ abc		
GPx nmol/n m/mg	1,4 x10 ⁻⁰⁶ ± x10 ⁻⁰⁷ ab	1,3 x10 ⁻⁰⁶ ± x10 ⁻⁰⁵ ab	9,4 x10 ⁻⁰⁷ ± x10 ⁻⁰⁷ b	2,8 x10 ⁻⁰⁶ ± x10 ⁻⁰⁷ a	5,2 x10 ⁻⁰⁷ ± x10 ⁻⁰⁷ b	1,97 x10 ⁻⁰⁷ ± x10 ⁻⁰⁷ ab	1,2 x10 ⁻⁰⁷ ± x10 ⁻⁰⁷ b	1,9 x10 ⁻⁰⁶ ± x10 ⁻⁰⁶ ab		

Glutathion (GSH), de malondialdéhyde (MDA), glutathion S transférase (GST), Catalase(CAT), glutathion peroxydase(GPx) huile essentielle du fenouil (HEF), spinosad (SPD), , spinosad / huile essentielle du fenouil (SPD/HEF), plomb (Pb) , huile essentielle du fenouil/ plomb(Pb/HEF) spinosad / plomb (SPD/Pb), spinosad/ huile essentielle du fenouil / plomb(SPD/Pb/HEF) ($P < 0.05 = *$, $P < 0.01 = **$, $P < 0.001 = ***$ *)

a, b,c qui ne montrent pas une lettre commune dans la même colonne sont sensiblement différent les uns des autres.

III. Discussion

Notre travail a compris l'étude des effets modulateurs d'huile essentielle du fenouil vis-à-vis le dysfonctionnement mitochondrial hépatocytaire induit par le spinosad et le plomb en utilisant le rat *Albino wistar* comme modèle biologique.

III.1. Rendement du fenouil en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle du fenouil mesuré dans le fenouil utilisé dans cette étude était de 1,26%. Ce rendement paraît moins important que celui rapporté dans la littérature. En effet, il est difficile de comparer les valeurs de nos rendements avec d'autres études, car le rendement n'est que relatif et semble être lié aux propriétés génétiques des plants ainsi qu'à leur origine géographique, aux conditions à la durée de stockage de récolte et aux conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (Stefanini *et al.*, 2006).

En effet, (Negahban *et al.*, 2015) rapportent un rendement de 1.1 % , (Lazouni *et al.* , 2007) montre un rendement de 2,7 % ,(Yasmin *et al.*, 2014) montre un rendement de 3,11%. pour la même espèce mais d'origine différente.

III.2. Évaluation de l'activité antioxydante

L'étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles du fenouil est basée sur sa capacité à éliminer les ERO en servant de tests *in vitro*. En présence d'un agent antioxydant, le DPPH forme un radical libre de couleur violette stable en obtenant un autre atome d'électron ou d'hydrogène de l'antioxydant et le transforme en α - α -diphényl- β -picrylhydrazine incolore. L'activité anti-radicalaire a été évaluée par la diminution du taux de DPPH en présence des huiles à différentes concentrations. L'Acide ascorbique a prouvé l'effet scavenger le plus remarquable vis-à-vis le DPPH, en comparaison avec les huiles essentielles du fenouil. La capacité à éliminer les radicaux DPPH formés suggère que ces extraits pourraient être des donneurs d'électrons et réagir avec les ERO en les convertissant en produits plus stables mettant un terme à la chaîne des réactions radicalaires. Ceci révèle la diversité qualitative et quantitative des composés antioxydants contenus dans cette plante (Singh *et al.*, 2006).

III.3. Effets du spinosad, plomb et les huile essentielle du fenouil sur les paramètres de la croissance globale

L'administration du spinosad et plomb seul ou mixture chez les rats a provoqué une diminution du poids corporel. Ceci pourrait être expliqué par la diminution des prises quotidiennes en aliment. Ces résultats permet de suggéré que ces toxiques présente des effets néfastes sur la croissance corporelle des rats. Nos résultats confirment d'autres travaux (Mansouret *al.* ,2007).Le SPD cause une hépato et néphro-toxicité chez les rats males albinos après une exposition par voie orale pendant 90 jours une diminution du poids corporel et de la consommation alimentaire Selon Zidan (2015).

Dans nos conditions expérimentales, l'addition d'huile essentielle du fenouil aux rats traités par le spinosad et plomb seul ou mixture a engendré une élévation de poids corporel. Ceci pourrait être du à la réduction de l'accumulation des radicaux libres induite par les antioxydants et confirmer par l'augmentation de la consommation quotidienne de nourriture. Ces résultats sont en accor d'El-Sheikh et Galal (2015).

Concernant le poids relatif de foie, nous remarquons une augmentation de poids relatif du foie chez les rats traités par le spinosad et plomb seul ou mixture. Ceci est explicable par l'hypertrophie tissulaire de ces organes causée par ces toxique d'une part, et par l'accumulation de spinosad et plomb dans ces organes cibles de détoxification d'autre part. (Saka *et al.* ,2011) ont signalé que l'augmentation des poids du foie des animaux représente un indicateur de la cytotoxicité par le plomb. Dans une étude récente d'El-Naggaret *al.* (2017) signalent une diminution du poids corporel, une augmentation de poids des reins et de la rate et une toxicité des reins, du foie et du cervelet chez des souris males albinos recevant 350 mg/kg de spinosad.

En revanche, l'administration d'huile essentielle du fenouil de au groupe traité par le spinosad et plomb seul ou mixture a entrainé une amélioration des poids des organes (foie) Cette amélioration est due à l'effet protecteur du d'huile essentielle du fenouil contre la toxicité de spinosad et plomb.

III.4. Effets spinosad, plomb et les huile essentielle sur les paramètres biochimiques

Dans notre étude expérimentale, l'administration de spinosad et plomb seul ou mixture pendant 3 semaines chez les rats, a entraîné des perturbations au niveau des paramètres biochimiques.

L'allure générale des résultats obtenus dans cette étude montrent une diminution du taux des glucides dans les foies des rats traité par le Pb et SPD. Cet effet, serait dû à l'utilisation directe du glycogène pour la régénération d'énergie. Les glucides sont les sources d'énergie primaires et immédiates, en état d'effort des réserves glucidiques sont épuisées pour satisfaire des demandes énergétiques accrues. Le plomb et spinosad affecte donc directement la synthèse, le stockage et la décomposition du glycogène dans le foie (Massin et Erginay, 2010). Les résultats de cette étude sont concordants avec ceux rapportés par (Sadi *et al.*, 2015).

Dans notre étude, nous avons constaté une augmentation du taux moyen des protéines hépatiques chez le groupe traité par le spinosad et plomb seul ou mixture. L'augmentation également du taux des protéines après l'exposition des rats aux spinosad et plomb seul ou mixture traduit la synthèse des enzymes et peptides de défense contre le déséquilibre homéostatique du stress oxydatif. En revanche, (Patil *et al.* 2003) et (Abbassy *et al.* 2014) ont démontré que le taux de protéine est manifestement diminué après exposition aux différents pesticides.

Les résultats relatifs à l'évolution du taux des lipides hépatiques mettent en évidence une diminution de leur taux chez les rats traités par le Pb et spinosad seul ou mixture comparativement aux témoins. La diminution de taux des lipides chez les rats traités par spinosad et plomb est expliquée par la dégradation des lipides hépatiques par l'activation de la peroxydation lipidique. Des études réalisées confirment que l'exposition des toxiques augmente significativement la production des radicaux libres. Les radicaux libres interagissent avec les lipides et les protéines, abondamment présents dans les biomembranes, résultant la peroxydation des produits lipidiques associés. Ces ROS sont à l'origine de la peroxydation des lipides entraînant la diminution de leurs taux dans le tissu hépatique (El-Masry *et al.*, 2016). Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par (Sadi *et al.*, 2015) qui est rapporté que le Pb exerce son effet toxique en augmentant la peroxydation lipidique ce qui entraîne des dommages au niveau des membranes cellulaires compromettant ainsi les fonctions cellulaires. Par contre (Yano *et al.*, 2002) montrent une augmentation du taux des lipides hépatiques après un traitement subchronique des rats par le Spinosad. Ce résultat peut être lié à la longue durée de traitement (13 semaines).

Le traitement des rats par le spinosad et plomb seul ou mixture pendant 3 semaines provoque l'augmentation de l'activité des transaminases sériques. L'augmentation significative de l'activité des transaminases sériques explique une atteinte hépatocytaire

provoquant la libération de ces enzymes dans le compartiment extracellulaire. Les ERO sont capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. Ainsi, s'attaquent aux protéines des tissus de soutien, tels les collagènes du tissu conjonctif. L'oxydation des acides aminés conduit à une modification de la conformation spatiale et à une altération de la fonction protéique. Les protéines oxydées perdent leur capacité à se fixer correctement sur un récepteur ou à fixer spécifiquement un ligand, et altèrent la signalisation cellulaire. Cette atteinte aboutit à une destruction de la membrane qui conduit à une augmentation de la perméabilité membranaire. Par conséquent, les substances normalement contenues dans l'hépatocyte vont être larguées dans les sinusoides et leur concentration dans le sang périphérique va augmenter. Les activités des ALT et AST, augmentées chez les rats traités par spinosad et plomb permettent d'apprécier l'existence et l'intensité de la cytolyse. Ces résultats similaires sont rapportés par Saka *et al.* (2011), Gargouriet *al.* (2015), Zagloul *etal.* (2017), Elhamalawy (2018), Sadi *et al.* (2017) et Yano *et al.* (2002). Selon Andjelkovic (2019), la Coexposition du Pb et Cd a permis d'observer une diminution dans l'activité des transaminases sériques.

Le traitement par la HE du fenouil a amélioré l'activité des enzymes transaminases (TGO, TGP) chez les rats contaminés au spinosad et plomb seul ou en mixture. Cet antioxydant peut stabiliser la membrane cellulaire hépatique et protéger les hépatocytes contre les effets toxiques (Kooti *et al.* 2015).

III.5. Effets du spinosad, plomb et huile essentielle du fenouil sur le statut redox

Plusieurs études ont mis en évidence un stress oxydant induit par le spinosad et le plomb notamment une élévation de la peroxydation lipidique et un déséquilibre dans le système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique (Aboul-Enein *et al.* 2012 ; El-Masry *et al.* 2016).

Dans notre étude, nous avons constaté que le taux de MDA tend à augmenter chez les rats traités par le spinosad et Pb seul ou mixture par rapport aux témoins. Le taux élevé de MDA, signe d'une peroxydation lipidique sévère due aux ROS générés lors de l'intoxication. Le MDA est un produit de dégradation des réactions de peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés par des espèces réactives de l'oxygène générés par des contaminants. Nos résultats sont en accord avec les résultats de (Malini *et al.* 1985, Berredjem. 2016, El-Masry *et al.* 2016) qui tous ont mis en évidence une augmentation

significative du taux de MDA chez les rats lors d'une intoxication par le Pb. Des résultats similaires ont été observés par (Aboul-Enein *et al.*, 2012) après un traitement subchronique des rats par le Spinosad.

Le glutathion réduit (GSH), tri-peptide composé d'acide glutamique, de cystéine et de glycine, constitue un pilier de la défense anti-oxydante de la cellule (Théron *et al.*, 2005). Le GSH joue son rôle d'antioxydant en tant que un facteur limitant pour les GPx la CAT car il est utilisé comme un substrat (Morin *et al.* 2001). En plus de ces rôles physiologiques existants, le GSH est aussi considéré comme un puissant antioxydant suite à son habilité à donner l'hydrogène ce qui lui permet de réduire les radicaux libres, et certaines espèces réactives telles que (HOCl) et (ONOO⁻) (Kruidenier, 2002).

Nos résultats mettent en évidence une diminution du taux des GSH hépatique après une exposition au plomb et spinosad. Les taux de GSH sont nettement diminués suite à leur action de neutralisation des radicaux libres générés par le spinosad. Ce phénomène provoque également sa déplétion et facilite la peroxydation des lipides et l'oxydation des groupements thiols des protéines ces résultats sont en accord (Saka *etal.* 2011, Aboul-Enein *et al.* 2012). Les antioxydants au sens large sont toutes substances susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les ERO. Parmi les systèmes antioxydants enzymatiques cellulaires figurent GPx, GST et la CAT. Les résultats obtenus montrent un déséquilibre dans le statut redox cytosolique hépatocytaire chez les rats recevant SPD et Pb uniquement ou mixture en faveur des prooxydants mettant les cellules hépatique dans un état de stress oxydant. L'évaluation biochimique de l'activité des systèmes enzymatiques antioxydants (la CAT, GST et la GPx) a mis en évidence une réduction de l'activité cytosolique de ces enzymes dans le foie chez les rats recevant SPD et Pb seul ou mixture.

La glutathion S-transférase est un principal acteur du métabolisme des composées électrophiles. Elles catalysent souvent la conjugaison des molécules électrophiles avec le glutathion réduit (GSH). Al-Masry *et al.*, 2016 ont rapporté en revanche une diminution du taux de GST dans les reins des rats intoxiqués par le Pb. En présence des poussières métalliques cette diminution s'explique par une inhibition de la capacité de détoxification du foie en réponse à l'élévation des concentrations des radicaux libres due à l'exposition au Pb (Saka *et al.*, 2011). L'étude de Aboul-Enein *et al.* (2012) montre une inhibition de l'activité de GST chez les rats traités par le Spinosad.

Nous avons constaté dans la présente étude que le taux de la catalase a significativement diminué chez les rats traités par le Pb et SPD seul ou mixture. La catalase est une enzyme antioxydante tétramérique, localisée aux niveaux de cytoplasme et les peroxysomes dont le rôle est de catalyser la décomposition du peroxyde d'hydrogène.

L'activité de la catalase a diminué donc après un stress oxydatif pour protéger les cellules vivantes. Une diminution de l'activité de la catalase dans les foies des rats intoxiqués par le Pb a été rapportée par (Sandhil et Gill 1995). De même, (Chaurasia et Kar 1997) et (Al-Masry *et al.*, 2016) ont rapporté une diminution du taux de la catalase au niveau thyroïdal et rénal chez des rats intoxiqués par le Pb. Selon Adli, 2017 coexposés au Pb et au Mn a permis d'observer des perturbations considérables, avec une diminution significative dans l'activité des différentes enzymes (CAT, GPx) au niveau cérébral.

En ce qui concerne le taux de GPx au niveau hépatique, les résultats de la présente étude montrent qu'il tend à diminuer chez les rats exposés au Pb et SDP par rapport aux témoins. Il semble important de rappeler que la GPx est considérée comme une enzyme jouant un rôle important dans la prévention des dommages oxydatifs occasionnés par les ERO, et que l'activité de cette enzyme est étroitement liée à la biodisponibilité de son substrat, le GSH. De nombreuses études ayant évalué le taux des GPx lors d'une intoxication par le Pb ont rapporté des résultats similaires. En effet, (Sandhir et Gill 1995) ont rapporté que le taux de la GPx a significativement diminué suite à une intoxication par le Pb.

La réduction d'activité des enzymes est le résultat d'une production excessive ou incontrôlée des ERO qui sont potentiellement cytolytiques (Matés *et al.* 1999). Le co-traitement des animaux par les huiles essentielles du fenouil a empêché la diminution du GSH et permis de corriger la réduction d'activité du système enzymatique dépendant de glutathion observées chez les rats recevant le spinosad et plomb en maintenant leur niveau cellulaire normal.

Les mécanismes antioxydants possibles des huiles essentielles du fenouil comprennent sa capacité à éliminer les ERO ou à améliorer les niveaux des enzymes antioxydantes endogènes. Ces propriétés permettent à cet extrait d'agir en tant qu'agent réducteur, donneur d'hydrogène, éliminant ainsi les radicaux alcoxylés et peroxylys lipidiques en augmentant l'activité d'une cascade d'enzymes antioxydantes modulant les enzymes clés associées à la maintenance du GSH.

L'HE du fenouil renferme des composés qui ont exercé un effet hépatoprotecteur

antiperoxydant contre l'effet délétère des radicaux libres; ceci pourrait être expliqué par les propriétés antioxydants de ces composés qui ont assuré le maintien des taux de MDA à son niveau cytosolique normal et la préservation des cellules hépatique chez les rats traités par SPD et Pb uniquement ou mixture.

Selon les résultats de (O'zbek *et al.*, 2003), l'HE de fenouil a un effet protecteur hépatique contre les dommages induits par CCl₄ administré aux rats. El-Sheikh et Galal (2015) ont rapporté également qu'un prétraitement par les HE du fenouil protège l'organisme des rats contre l'hématotoxicité, l'immunotoxicité et l'hépatotoxicité induite par EB. Des conclusions similaires ont été rapportées également par Al-Amoudi (2016) contre une intoxication par le Sodium-valporate au niveau hépatique et rénal chez les rats albinos. Tous ces auteurs expliquent cet effet protecteur par le pouvoir antioxydant et anti-inflammatoires des HE du fenouil.

III.6. Évaluation du dysfonctionnement mitochondrial

Les mitochondries sont des organelles intracellulaires qui ont été considérées comme une véritable centrale d'énergie produite sous forme d'ATP indispensable pour la cellule, elles jouent un rôle capital dans l'homéostasie cellulaire. La mitochondrie est considérée comme une principale source de production des ERO et la chaîne respiratoire mitochondriale génère 90% des ERO cellulaires (Fromenty, 2010). Les ERO peuvent entraîner l'oxydation du glutathion, la peroxydation des AG de la membrane interne de la mitochondrie mais également avoir des effets délétères sur les pompes ioniques, aggravant ainsi l'inhibition de la chaîne respiratoire. De même le stress oxydant se traduit aussi par des mutations de l'ADN, notamment de l'ADNmt qui est à l'origine de situations pathologiques (Caroline *et al.*, 2000).

Les résultats obtenus, montrent que les mitochondries isolés des rats traités par le spinosad et plomb seul ou mixture souffrent d'un stress oxydant. L'importance d'huile essentielle du fenouil énormément dans sa capacité à réduire le stress oxydant mitochondrial induit par ces toxiques. Les résultats obtenus montrent également que le spinosad et le plomb donnés seul ou en mixture entraînent une diminution des taux de consommation d'oxygène (respiration mitochondriale) et augmentation le taux du Cyt.c et un fort gonflement et perméabilité membranaires.

Plusieurs études ont rapporté que la toxicité du spinosad et du plomb est associée à une génération accrue des ERO qui amplifient les lésions cellulaires via l'oxydation et

l'altération des protéine simpliquées dans l'ouverture des PTPm en provoquant le gonflement massif des mitochondries et l'effondrement du potentiel de membrane et de la synthèse d'ATP permettant la libération d'agents apoptotiques (le Cyt *c*) (Fromenty, 2010 ; Kansal *et al.*, 2012 ; Adli *et al.*, 2017 ; Yang *et al.*, 2017).

Des études antérieures ont également rapporté que la surcharge des hépatocytes de rat avec de spinosad et plomb pouvait augmenter l'inhibition de la respiration mitochondriale en raison de la formation d'ERO générés par la β -oxydation, ce qui contribue directement à l'inhibition de la phosphorylation oxydative. spinosad et plomb peut également induire une ouverture des PTPm qui entraîne à la réduction de la production d'énergie et à la mort cellulaire (Labbe *et al.*, 2008). Les mécanismes précis par lesquels il induit l'ouverture des PTPm ne sont pas encore connus, mais il est possible que deux types d'évènements puissent jouer un rôle important:

- La production par la chaîne respiratoire, ou d'autres sources subcellulaires, d'ERO qui vont oxyder et altérer des protéines impliquées dans les PTPm;

- La production par l'intermédiaire de CYP450 d'un (ou de plusieurs) métabolite(s) réactif(s), capable(s) également d'altérer de façon irréversible les protéines du PTPm. Ces réactions sont associées à la génération des radicaux libres qui peuvent causer la peroxydation lipidique et des dommages hépatiques, et en particulier mitochondriaux.

la génération du stress oxydatif, ce qui conduit à l'induction d'un processus nommé transition de perméabilité mitochondriale. L'ouverture d'un port de transition de perméabilité conduit la solubilité de la membrane mitochondriale pour des ions et des protons qui causent le gonflement rapide et le changement d'ultrastructure associés à la perte du potentiel mitochondrial de la membrane interne, à la phosphorylation oxydative altérée, à la synthèse d'ATP, à l'apoptose (Adli *et al.*, 2017).

Lors de l'évaluation du stress oxydant mitochondrial qui effectuée au niveau des mitochondries du foie des rats traités par spinosad, plomb seul et mixture, un taux élevée de MDA a été enregistré qui reflète l'altération mitochondriale. Une telle hyperperoxydation pourrait être le résultat d'une modification importante du statut redox mitochondrial (Aboul-Enein *et al.*, 2012, MAIZA *et al.* 2011, Belhaouchet *et al.*, 2012). la membrane mitochondriale principale source intracellulaire d'ERO, est-elle même sensible à l'action de ces radicaux et la fonction mitochondriale peut être altérée par la

peroxydation lipidique.

Les taux de GSH sont nettement diminués suite à leur action de neutralisation des radicaux libres générés par spinosad et plomb, ce phénomène provoque également sa déplétion et facilite la peroxydation des lipides et l'oxydation des groupements thiols des protéines.

Les résultats obtenus, montrent que les mitochondries isolés des rats traités par spinosad ,plomb seul et mixturesouffrent d'un stress oxydant se manifestant également par une altération de taux des GST,CAT, GSH et GPx mitochondriales

Le co-traitement par les huiles essentielles du fenouil a préservé le taux de GSH et les autres enzymes du système glutathion, ceci reflète la capacité de notre huile à éliminer les ERO produits par le spinosad et plomb dans le foie. Les résultats peuvent s'expliquer par la présence des composés bioactifs responsables du piégeage des ERO. (Durgo *et al.*, 2007 ; Myhrstad *et al.*, 2002).

En outre, les activités des enzymes du système de défense antioxydant (GPx,GST, CAT) sont conservées sous l'effet protecteur de les huile essentielle du fenouil

Conclusion

Conclusion et perspectives

L'objectif de ce travail de recherche est d'explorer le statut du stress oxydant induit par le spinosad et le plomb chez le rat et de tester les effets protecteurs de l'huile essentielle du fenouil.

Les résultats obtenus nous ont permis de constater que l'administration du spinosad et du plomb chez les rats est à l'origine de :

- Des perturbations au niveau de la croissance générale des rats :
- Une Augmentation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT et ALAT)
- L'exposition au Pb et au SPD pendant 3 semaines a altéré le métabolisme glucidique, lipidique et protéique.
- Les toxiques (Pb et SPD) ont provoqué également des altérations dans le bilan du stress oxydatif et d'apoptose cellulaire (cytochrome-c) qui traduit par une perturbation du taux de GSH et MDA, l'activité de CAT, GPx, GST, mitochondrial et cytosolique, la respiration, le gonflement et la perméabilité mitochondrial
- Le gavage de la huile essentielles du fenouil à dose de 0,5 ml/kg/j aux rats traités par la Pb et SPD a rétabli certain les valeurs a la normal, ce qui traduit l'effet protecteur de la huile essentielle du fenouil sur la fonction du foie par une limitation des phénomènes radicalaires et une réparation des dommages oxydantes, ceci est expliqué par leur pouvoir antioxydant qui conduit donc à contracter l'état du stress oxydant.

Les résultats de la présente étude soulignent l'effet protecteur des huiles essentielles des fenouils contre l'intoxication par le Pb et le SPD en raison de leurs propriétés antioxydants prouvée dans la littérature. Nous pouvons conclure que les huiles essentielles du fenouil pourraient s'avérer très bénéfique lors d'une intoxication par le Pb et le SPD.

Afin d'approfondir les résultats obtenus dans la présente étude, il semble approprié de conduire des recherches future axées notamment sur :

- L'évaluation de la toxicité des huiles essentielles du fenouil sur une période plus longue afin de mettre en évidence leurs effets nocifs sur les rats.
- Déterminer la concentration en SPD et Pb au niveau des organes cibles notamment dans les organes de détoxification.

- L'optimisant les doses inoffensives des huiles essentielles du fenouil pour les organismes vivants.
- L'évaluation des risques potentiels pour la santé à d'autres espèces de mammifères.
- L'approfondissement de l'étude par des techniques plus complètes au niveau moléculaire.

Références

Bibliographiques

- Abbassy, M.A., Marei, A.M., Al-Ashkar, M.A.M., Mossa, A.-T.H.(2014)Adverse biochemical effects of various pesticides on sprayers of cotton fields in El-Behira Governorate. *Biomed. Aging Pathol.*, 4 , 251–256 .
- Abdollahi, M., Donyavi, M., Pournourmohammadi, S. and Saadat, M.(2004)Hyperglycemiaassociated with increased hepatic glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvatecarboxykinase in rats following subchronic exposure to malathion. *ComparativeBiochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 137,343-347.
- Aboul-Enein A. M., Aboul-Soud M. A. , Said H. K., Ali H. F. M., Ali Z. Y., Mahdi A. M. , Giesy J. P.(2012) Hepatoprotective effects of antioxidants against non-target toxicity of the bio-insecticide spinosad in rats, *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 6, 550-559.
- Adli D.E.H., Kahloula K., Slimani · M. ·, Brahmi M., Benreguieg M. (2017)Prophylactic Effects of Syzygium aromaticum Essential Oil on Developing Wistar Rats Co-exposed to Lead and Manganese.*Phytothérapie* 3,10298-1130
- AFNOR., (2000). Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris, pp 23- 26.
- Amarti F., El Ajjouri M., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Farah A., Khia A., GuediraA., Rahouti M., and Chaouch A. (2011). Composition chimique, activité antimicrobiennneet antioxydante de l’huile essentielle de Thymus zygis du Maroc, pp 44-48.
- Al-Amoudi, M. (2016) Protecteve effects of fennel oil extrect against sodium valproate- induced hepatorenal damage in albino rats.*J Biol Sci.*, 24,915- 924.
- Andjelkovic M., Djordjevic A. B., Antonijevic E., Antonijevic B., Stanic M.*et al.* (2019) Toxic Effect of Acute Cadmium and Lead Exposure in Rat Blood, Liver, and Kidney, *Int. J. Environ.*, 16, 274.
- Al-Sheikh El-Sayed, A.,GalalAzza A. A.(2015) Toxic effects of sub-chronic exposureof male albino rats to emamectin benzoate and possible ameliorative role ofFoeniculum vulgare essential oil , *Environmental Toxicology and Pharmacology* .39,1177-1188
- Arora, A., Sairam ,R ., Srivastava G. (2002) Oxidative stress and anioxidative system in plantes –*Cur. Sci.* ,82, 122-144.

B

- Benayad N., (2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines :moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées, 63.
- Belhaouchet N., Djebar M. R., Meksem L., Grara N., Zeriri I., Berrebbah H. (2012)Evaluation of the biomarkers of the oxidative stress induced by a biopesticide: The Spinosad on an alternate model: *Helix aspersa*. *J. Appl. Sci.*,8,199-4206
- Berredjem, R. (2016)Impact de la phytothérapie sur le rats wistar exposé au plomb : Etude de la fonction rénale, hépatique et reproductive.*JPhysiolPharmacol.*, 13,22-6
- 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
- Bruneton J., (1999). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales Paris, 30

C

- Calvet, R.(2005) *Les pesticides dans le sol: Conséquences agronomiques et environnementales*. France Agricole Editions
- Caroline S, Jean G. (2000)La chaine respiratoire et sa génétique. Maladies mitochondriales, 2,227-234.
- Cakmak I and Horst WJ. (1991) Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*) *Physiol. Plantarum.*, 83, 463-468.
- Carr, A.C., Zhu, B.Z., Frei, B.(2000) Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate(vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). *Circ. Res.* 87, 349–354.
- Cassiano Busatta; Altemir José Mossi; Maria Regina Alves Rodrigues; Rogério Luis Cansian; José Vladimir de Oliveira(2007)evaluation of origanum vulgare essential oil as antimicrobial agent in sausage.
- Cesar ,N.,Tsumbu.,Ginette, Deby-Dupont., Monique ,Tits., Luc, Angenot., Michel, Frederich., Stephane, Kohnen., Ange ,Mouithys-Mickalad., Didier, Serteyn., Thierry, Franck. (2012) Polyphenol content and modulatory activities of some tropical dietary plant extract on the oxidant activities of neutrophils and myeloperoxidase,*Int.J.Mol*13, 628-650.

- Chaabane M., Benchaabane S., Kilani-morakchi S. et Aribi N. (2012) physiotoxicité du spinosad, évaluée sur deux générations, chez une espèce invasive, *tuta absoluta* (Lepidoptera), et chez un modèle de référence, *Drosophila melanogaster* (Diptera) *Bull. Soc. zool. Fr.*, 137, 57-68.
- Chappuis, P. (1991): Les oligoéléments en médecine et en biologie. Ed. Tec. Et Doc. Lavoisier, EMinter et Sferete : 1-45.
- Chaurasia, S., Kar, A. (1997) Protective effects of vitamin E against lead-induced deterioration of membrane associated type-1 iodothyronine 5' -monodeiodinase (5' D-1) activity in male mice. 3, 203-209.
- Chemat F., LUCCHESI M. E. (2005) extractions assistées par micro-ondes des huiles essentielles et des extraits aromatiques, *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*, 020 ; 77-99
- Chen, K., Suh, J., Carr, A.C., Morrow, J.D., Zeind, J., Frei, B. (2000) Vitamin C supprime l'oxydation lipidique in vivo, même en présence de surcharge en fer. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 279, 1406–1412.
- Cherin, P., Voronska, E., Fraucene, N. and De Jaeger, C. (2012) Toxicité aiguë des pesticides chez l'homme. *Médecine & Longévité*, 4, 68-74.
- Chiasson H. et Beloin N. (2007) Les huiles essentielles, des biopesticides « Nouveau genre » *Antennae*, 1, 14.
- Crystal R, Saunders L, Salil K et al. (2006) Benzo(a)pyrene-induced acute neurotoxicity in the F-344 rat: rôle de stress oxydatif. *Journal of Applied Toxicology*, 26, 427.

D

- Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales, Paris, 405.
- Degryse A.C., Delpla I. and Voinier M.A., (2008) Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles, 87.
- Draper H H, Hadle M. (1990) Malondialdéhyde détermination as index of lipid peroxidation, *Methods in Enzymology*, 186, 421-43.
- Duchateau G., Florkin. (1959) Rôle de la trehalose chez les insectes et sa signification, *Arch. Insect. Physiol. Biochem.* 67, 306-314.

- Dhoub, I.B., Annabi, A., Jallouli, M., Marzouki, S., Gharbi, N., Elfazaa, S. and Lasram, M.M. (2016) Carbamates pesticides induced immunotoxicity and carcinogenicity in human: A review. *Journal of Applied Biomedicine*, 14, 85-90.
- Dunn S. T., Hedges L., Sampson K. E., Lai Y., Mahabir S., Balogh L., and Locuson C. W. (2012) Pharmacokinetic Interaction of the Antiparasitic Agents Ivermectin and Spinosad in Dogs, *The American Society for Pharmacology and Experimental*. 39, 5
- Durgo K, Vukovic L, Rusak G. (2007) Effect of flavonoids on glutathione level, lipid peroxidation and cytochrome P450 CYP1A1 expression in human laryngeal carcinoma cells, *Food Technol Biotechnol.*, 45, 69-79.
- Duru F.I., Osinubi A.A., Alebiosu C.O. and Falana B.A. (2015) Anatomy of lead poisoning. *J. of Health Sci.* 3.

E

- Ebeed N.M., Abdou H.S., Booles H.F., Salah S.H., Ahmed E.S. and Fahmy K., (2010) Antimutagenic and chemoprevention potentialities of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) hot water crude extract, *Journal of American Science*, 6, 831-822.
- EL Abidi, A., Barcha, S.E., Fekhaoui, M., EL Alaoui-Faris, F.Z., Yahyaoui, A., Ayrault, S. (2015) Biomonitoring of atmospheric lead, cadmium and zinc using Eucalyptus leaves in Rabat Salé City, Morocco. *Arabian Journal of Chemical and Environmental Research*, 2, 72-83.
- Elhamalawy O.H. (2018) protective effect of pumpkin seed oil against lead acetate toxicity in male mice, *J. Pharm Sci.* 58, 115.
- El-Masry S., Ali H. A.S., El-Sheikh N. M., Awad M. S. (2016) Dose-Dependent Effect of Coriander (*Coriandrum Sativum* L.) and Fennel (*Foeniculum Vulgare* M.) on Lead Nephrotoxicity in Rats, *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 4, 36-45.
- El-Naggar S.A. Eltantawi H. Ibrahim M.A. Alm-Eldeen A. (2017) Assessment of the Toxicity of Sub-chronic Low and High Doses of the Bio-insecticide Spinosad on the Liver, Kidney and the Cerebellum in Male Albino Mice. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60.

- El-Sheikh E. A. , Galal A. A.A. (2015) Toxic effects of sub-chronic exposure of male albino rats to emamectin benzoate and possible ameliorative role of *Foeniculum vulgare* essential oil, *Environmental toxicology and pharmacology* , 3, 1177–1188.

F

- Favier, A. (2003) Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimiques. *L'actualité Chimique*. 108-115.
- Flinn P. W., Subramanyam BH., AND Arthur F. H. (2004) Comparison of Aeration and Spinosad for Suppressing Insects in Stored Wheat *J. Econ. Entomol.*, 97.
- Flohe & Gunzler (1984) Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol*, 105, 114-121
- Franc M. et Bouhsira E. (2009) evaluation of speed and duration of efficacy of spinosad tablets for treatment and control of ctenocephalides canis (siphonaptera: pulicidae) infestations in dogs; *Parasite*. 16, 125-128.
- Fromenty B. (2010) Toxicité mitochondriale et métabolique des médicaments : mécanismes et conséquences au niveau du foie, *Réanimation* , 19, 552-567.

G

- Garait, B. (2006) Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la Gli SOD in. Thèse du doctorat. Université Joseph Fourier. Grenoble France ., 46, 74-99.
- Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh, Z., Jore D. (2003) Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *L'actualité chimique*, 91-96.
- Garnier, R. (2000) Plomb, in Toxicologie clinique, *Flammarion*, 2, 35.
- Gargouri M., ben amara I., Ksouri R., Zeghal K. M., Feki A., Magne C. et Hakim A. (2015) impact de deux plantes halophytes sur l'hépatotoxicité induite par le plomb chez le rat mâle adulte *J.I. M.* , 72 – 80.
- Goldsworthy G.J., Mordue W., Guthkelch J. (1972) Studies on insect adipokinetic hormones. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 18, 545.

- Ghafourifar P., Cadenas E. (2005) Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol Sci.* 26, 190.

H

- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB.(1974)Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation, *Journal of Biology and Chemistry*, 249, 7130-7139.
- HalengJ., Pincemail J., Defraigne, JO., Charlier C, Chapelle JP.(2007) Le stress oxydant. *Rev Med Liege.* 62,628-638.
- Hauber M., Sibia J. 1999. Les complications ostéoarticulaires liées au plomb : un problème méconnu. *HU Hautepierre, Strasbourg.*27.
- Halliwell B (2006) Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. *Journal ofNeurochemistry*,97, 1634–1658.
- Halliwell B. (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic. Res. Commun.*13: 1-32.
- HalliwellB. (1989) Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol.*, 70, 737 – 757.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.,(1995)The definition and measurement of antioxidants inbiological systems. *Biol. Med.* 18, 125–126.
- Hemond, H.F., Fechner, E.J.(2015)Chemical fate and transport in the environment. *Elsevier Publ.*,3rd Ed.1-66.

I

- IARC(1999)International Agency for Recherche onCancer,W.H.O, Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry. Vol. 58..

j

- Jing, Z., Liu, GD., Hang, G., Lian, L., Shi-hua, D.,2013. A theoretical basis for the relationshipbetween the industrial pollutant generation, abatement, emission and economy. *Clean. Technol. Envir.*15, 707-711.
- Jones ,D., Mody ,V., Carlson , J. (2002) Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant events of aging from decline in antioxidant defenses. *Free Rad Biol Med.*, 3,1290-1300.

K

- Kansal L., Sharma A., Lodi S. (2012) remedial effect of coriandrum sativum (coriander) extracts on lead induced oxidative damage in soft tissues of swiss albino mice, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*,4,0975-1491 .
- Khalil, A.(2002) [Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin e against atherosclerosis]. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 80, 662–669
- Kim, K.H., Kabir, E. and Jahan, S.A.(2017) Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of The Total Environment*, 575, pp.525-535.
- Kooti W., Moradi M., Ali-Akbari S., Sharafi-Ahvazi N., Asadi-Samani M., Ashtary-Larky D. (2015) Therapeutic and pharmacological potential of Foeniculum vulgare Mill: a review ,*J HerbMed Pharmacol.*, 4, 1-9.
- Koul O., Walia S., and Dhaliwal G.(2008). Essential oils as green pesticides: *potential and constraints. Biopestic*, pp 63–84.
- Kruidenier L, Verspaget HW. (2002) Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease-radicals or ridiculous? *Aliment Pharmacol Ther.*,16,1997-2015.

L

- Labbe G, Pessayre D, Fromenty B. (2008) Drug-induced liver injury through mitochondrial dysfunction: mechanisms and detection during preclinical safety studies. *Fundam Clin Pharmacol.*,22,335-353.
- lazouni h.a., benmansour a., taleb-bendiab s.a., chabane sari d. (2007) composition des constituants des huiles essentielles et valeurs nutritives du *foeniculum vulgare* mill. *sciences & technologie*.25,7-12.
- Lopez, J. D., Jr., M. A. Latheef, and B. F. Fritz(2012) Effect of spinosad mixed with sucrose on gustatory response and mortality of adult Boll Weevils(Coleoptera: Curculionidae) by feeding and field assessment, *J. Cotton Sci.*,16, 152–159.
- 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*,016,6913.

- Lee Y. W., Lee Y. Y.(2003)Extraction optimization in food engineering, Flavor and AromaSubstances. Korea *Institute of Science and Technology* Seoul, Korea. 923p.
- Loué A(1993) Oligo-éléments en agriculture. 2. Paris Nathan.

M

- Maataoui BS, Hmyene A, Hilali S. (2006)Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (opuntia ficus indica). *Lebanese Sci J.*,7,3-8.
- Maiza A., Kilani-Morakchi S., Rehamnia F., Bensbaa F., Aribi N. (2011) activité d'un biopesticide, le spinosad,chez*blattellagermanica*: effets sur divers biomarqueurs (ldh, gsh, mda) *bull. soc. zool. Fr.*, 136, 189-204.
- Magali H. (2010) Etude des systèmes antioxydants dans le métabolisme et la virulence de *Salmonella typhimurium*.Thèse de doctorat de l'université de la Méditerranée. Aix-Marseille II .30.
- Malini G., Vanithakumari N., Megala S., Anusya K., Devi V.,Elango (1985)Effect of *Foeniculum vulgare*. Mill seed extract on the genital organs of male and female rats." *Indian Journal of physiology and pharmacology*, 29,21-26 .
- Mann J., (1987) Secondary metabolism, pp 78
- Markowicz Bastos DH, Saldanha LA, Catharino RR, et al. (2007)Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS. from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules*,12,423-432.
- Mansour S. Tarek H. Abdel-Tawab M. (2008) Biochemical and histopathological effects of formulations containing Malathion and Spinosad in rats.*Toxicology International*,15, 71.
- Mansour S.A., Mossa A.H. and Heikal T.M.(2007)haematotoxicity of a new natural insecticide on male albino rats ,*int. j. agri. biol.* 9, 2.
- Masoud S., Home N.K.and Poorneydanei A. (2007) Cytogenetic study of some populations of *Foeniculum vulgare*(Umbelliferae) in Iran.*Caryologia*, 60, 257-261
- Massin,P., Erginay ,A.(2010) Rétinopathie diabétique.Ed : 2SAS.Italie.111.
- Marrs T.C. (2012) Mammalian toxicology of insecticides. *Ed., Royal Society of Chemistry*,490.
- Marteil, L.(1974)La conchyliculture française. Première partie : Le milieu naturel et ses variations. *Revue de Travail de l'Institut des Pêches Maritimes* 38, 217-337.
- MatésJM,Pérez-GómezC,NúñezdeCastroI(1999) Antioxidant enzymes and human diseases.*Clin Biochem.*, 32,595-603.

- Melila M., Poutouli W., Amouzou K., Tchangbedji G., Tchaou M., Doh A. et Goto C. (2012) Induction du stress oxydatif chez l'homme suite à la bioconcentration des éléments traces métalliques (cadmium et plomb) par voie trophique à Kpémé (Sud du Togo). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6, 1263-1270.
- Mezzetti, A., Pierdomenico, S.D., Costantini, F., Romano, F., De Cesare, D., Cuccurullo, F., Imbastaro, T., Riario-Sforza, G., Di Giacomo, F., Zuliani, G., Fellin, R., (1998) Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radic. Biol. Med.* 25, 676–681.
- Miquel M. (2001) Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé, Rapport Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. Rapport Sénat , 261, 360.
- Mohsenzadeh, M. (2007) Evaluation of antibacterial activity of selected Iranian essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in nutrient broth medium. *Pak. J. Biol. Sci.*, 10, 3693–3697.
- Molyneux P. (2004) The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26, 211 - 219.
- Morin D., Thiery H., Spedding M., Tillement J.P. (2001) Mitochondria as a target for anti-cancer drugs. *J. Physiol. Pharmacol.*, 13, 22-67.
- Multigner, L. (2005) Effets retardés des pesticides sur la santé humaine, Environnement, *Risques & Santé*, 4, 187-194.
- Mungli, P., Shetty, M.S., Tilak, P., Anwar, N. (2009) Total Thiols: Biomedical Importance And Their Alteration In Various Disorders [WWW Document]. Online J. Health Allied Sci. URL <http://cogprints.org/6664/> (accessed 10.10.15).
- Murray, R. 1984. Alanine aminotransferase. *Clin chem.* The C.V. Mosby Co. St. Louis. Tronto. Princeton, 1088-1090.
- Murray R. (1984) Aspartate aminotransferase. *Clin chem.*, 1, 112-116.
- Myhrstad M.C., Carlsen H., Nordström O. (2002) Flavonoid increases the intracellular glutathione level by transactivation of the gamma glutamyl cysteine synthetase catalytic subunit promoter. *Free Radical Biol Med.*, 32, 386-393.

N

- Neffati A., (2010). Etude de la composition chimique et évaluation d'activités biologiques de l'huile essentielle d'une Apiaceae de Tunisie, pp 215

- Negahban M., Saeedfar S., Rowshan V., Najafian S.(2015) Essential Oil Content and Composition of Fennel Fruits (*Foeniculum vulgare*Mill.) *Russian Journal of Biological Research*, 4,2.
- Niamane R., El Hassani, S., Bezza, A. (2002)La goutte saturnine. À propos d'une observation. *Revue du Rhumatisme*. 69,751-754 pp

O

- Okoh O.O., Sadimenko A., Afolayan A.J. (2009)Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods.
- Ouali-Alami FZ., El Abidi, A., Fekhaoui, M., Serghini, A., (2013)Évaluation de la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaër (Maroc). *ScienceLib Editions Mersenne*,. 5 , 2111-4706.
- Ozbek, S.,Ugras, H.(2003) Hepatoprotective effect of *foeniculum vulgare* essential oil .74, 317-319.
- Ozcan M., Chalchat J., Arslan D., Ates A, and Unver A. (2006). Comparative essential oilcomposition and antifungal effect of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* ssp. *piperitum*) fruitoils obtained during different vegetation, 552–561.
- Owoeye O.and Onwuka S. K. (2016)Lead Toxicity: Effect of *Launaea taraxacifolia* on the Histological and Oxidative alterations in Rat Regio III Cornu ammonis and Cerebellum.*Anatomy Journal of Africa*, 5, 783-794
- OWOLABI J., WILLIAMS F., FABIYI O. (2014)Evaluation of Moringa's Effects Against Lead-Induced Disruption of the Hippocampus in Animal Models, *World J Life Sci. and Medical Research*.,3,39.

P

- PamplonaR.,CostantiniD.(2011)Molecularandstructuralantioxidantdefensesagainst oxidative stress in animals. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. ,301, 843-863.
- Patil, J.A., Patil, A.J., Govindwar, S.P. (2003)Biochemical effects of various pesticides on sprayers of grape gardens. *Indian J. Clin.Biochem*. 18, 16–22pp.
- PenagosDI., CISNEROS J., NDEZ O. H.´, & WILLIAMS T.(2005)Lethal and sublethal effects of the naturally derived insecticide spinosad on parasitoids of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) *Biocontrol Science and Technology*, 15, 81_ 95.

- Piri F., Sahragard A. and Yari M. G.(2014) Sublethal Effects of Spinosad on Some Biochemical and Biological Parameters of *Glyphodes pyralis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae), *Plant Protect. Sci.*, 50, 135–144.
- Porter N., (2001). Essential oils and their production, pp 39.

R

- Rahami R. & Ardekani M.R.S.(2013) Medicinal properties of *Foeniculum vulgare* Mill. In traditional Iranian medicine and modern phytotherapy. *Chin J integr Med.*, 19, 73-79.
- Rani S. and Das S. (2016) *Foeniculum vulgare*: phytochemical and pharmacological review. *International Journal of Advanced Research.*, 4, 477-486
- Rather M.A., Dar B.A., Sofi S.N., Bhat B.A. Qurishi M.A. (2012). *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arabian Journal of Chemistry*, 9, 1574-1583.
- Ramadan, M.F., Moersel, J.T.(2006) Screening of the antiradical action of vegetable oils. *J. Food Compost. Anal.* 19, 838–842.
- Rostagno, B., Violleau, A., Brun, C., Dietrich, P., Fillon, A., Gouletquer, P., Guichet, R., Kantin, R., Legay, D., Loubersac, L., Masson, D., Rocher, G., Ryckaert, M., Thomas, G., Fichet, D., Guyot, D., Miramand, P., Pigeot, J., Seguignes, M. & Taillade, S(1999) Qualité des eaux littorales des Pertuis Charentais - Bilan et diagnostic, 130.
- Rouabhi R, Djebbar H, Djebbar MR .(2006) Toxicity evaluation of flucycloxuron and diflubenzuron on the cellular model, *Paramecium* sp, *African Journal of Biotechnology* 045-048.
- Rouabhi R, Djebbar H, Djebbar MR. (2009) Toxic Effects of Combined Molecule from Novaluron and Diflubenzuron on *Paramecium*, *Am-Euras. Journal of Toxicol Sci.*, 74-80.
- Rustin P, Chrétien D, Bourgeron T, Gérard B, Rotig A, Munnich A (1994) Biochemical & mol investigation in respiratory chain deficiencies, *Clin Chem Acta.* 35-51.

S

- Sadi E .,N , Hamadouche(2015) Evaluation de l'effet des pectines extraites de datte (*Phoenix dactylifera*) sur les paramètres lipidiques et le statut redox chez le rat male de souche Wistar, 95-96 .

- Saillenfait, A.M., Ndiaye, D. and Sabaté, J.P.(2015) Pyrethroids: exposure and health effects—an update. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 218, 281-292.
- Saka S., Bahi A., Aouacheri W. (2011) L'effet du stress oxydant induit par l'acétate de plomb sur le système enzymatique du glutathion chez les rats.*Ann Toxicol Anal.*, 23, 139-145.
- Salvayre R., Auge N., Nègre-Salvayre, A.J.-F. Toussaint, M.-P. Jacob, L. Lagrost and J. Chapman (2003) Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. In *L'athérosclérose : Physiopathologie, Diagnostics, Thérapeutiques*. Eds. Masson: Paris., 14, 269-290.
- Sandhir R. Gill (1995) Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats.*Biol Trace Elem Res.*, 48, 91.
- Sefidan A.Y., Valizadeh M., Aharizad S., Sabzi M.(2014) Path analysis of grain yield, some morphological traits and essential oil content in different fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) populations,*Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 4, 10-15.
- SHAH F. C. , Jain N. (2016) ameliorative action of synthetic and herbal antioxidants on lead induced hepatotoxicity: an in vitro study, *J Pharm Clin Res.* 9, 364-370.
- Sharififard M., Mossadegh M.S., Vazirianzadeh B.-Mahmoudabadi A. Z.(2011) Interactions between Entomopathogenic Fungus, *Metarhiziumanisopliae* and Sublethal Doses of Spinosad for Control of House Fly, *Musca domestica*, *Iran J Arthropod-Borne Dis.* 5, 28–36.
- SIMONS T. J. B. (1993) Lead-calcium interactions in cellular lead toxicity. *Neurotoxicology* .14, 77-85.
- Singh G, Maurya S, Lampasona MN. (2006) Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract, *Food Control.*, 745–752.
- Sisein ,Eboh, Abraham(2014) Biochemistry of Free Radicals and Antioxidants, *Acad. J. Biosci.*, 2, 110-118 .
- Soulère L., Viodé C., Périé J., Hoffmann P (2002) Selective Inhibition of Fe- versus Cu/Zn- Superoxide Dismutases by 2,3-Dihydroxybenzoic Acid Derivatives. *Toxicol.*, 40, 165-169 .

T

- Taha N., Korshom M., Mandour A.W., LebDAH M., Aladham E. (2013) Effect of lead toxicity on mineral metabolism and immunological factors in Rats, *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 39, 64-73.
- Tamam b. M. Z., Ghadamyari M., Sahragard A., Malati a. K.(2014) Sublethal Effects of Spinosad on Some Biochemical Parameters of *Xanthogalerucaluteola* (Muller)(Coleoptera: Chrysomelidae), *Plant Protect. Sci.* , 50, 199–206.
- Thakur N., Sareen N., Shama B.& Jagota K.(2013) studies on in vitro antifungal activity of foeniculum vulgare mill. against spoilage fungi g.*J.B.B.2*, 427-430
- Thérond P., Bonnefont-Rousselot D. (2005) "Systèmes antioxydants endogènes. Radicaux libres et stress oxydant." *Lavoisier*, 87-111.
- Thompson GD., Dutton R., Sparks TC. (2000) Spinosad a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Management Science*, 56, 696_ 702.
- Turcot, J., Deshaies, P., Letourneau, G., Ostiguy, C. et Pham, Q-B. (2003). L'exposition au plomb (2e édition). Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec. (Ed.), 2.

U

- UPADHYAY R.K.(2010) essential oils: anti-microbial, antihelminthic, antiviral, anticancer and anti-insect properties, *J. Appl. Biosci.*, 36, 1-22.

V

- Valko M., Rhodes C., Moncol J., Izakovic M., Mazur M.(2006) Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.
- Vienna C.F., Bauer R., Carle R., Tedesco D., Tubaro A., Zitterl-Eglseer K.(2005) Assessment of plants/herbs, plant/herb extracts and their naturally or synthetically produced components as "additives" for use in animal production. *FEED*. 297.

W

- Wang X., Zhang C., Wang M., Lu W. (2014) Genome-scale metabolic network reconstruction of *Saccharopolysporaspinososa* for Spinosad Production improvement. *Microbial Cell Factories*, 13,41.
- Wharton, D.C., Tzagoloff, A.(1967). Cytochrome oxidase from beef heart mitochondria. *Methods Enzymol.*10:245–250
- Weckbercker G. and Cory JG.(1988)Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathionedepended mouse Leukemia L1210 cells in vitro, *Cancer Letter* ,40, 257-264.
- Wolters, M., Hermann, S., Golf, S., Katz, N., Hahn, A.(2006)Selenium and antioxidantvitamin status of elderly German women. *Eur. J. Clin. Nutr.* 60, 85–91.

Y

- Yang M.WangB. , GaoJ., ZhangY. , XuW. , TaoL.(2017)Spinosad induces programmed cell death involves mitochondrial dysfunction and cytochrome C release in *Spodopterafrugiperda* Sf9 cells,*Chemosphere*, 169, 155-161.
- Yano B. L., Bond D. M., Novilla, M. N., FaddenL. G. Mc, and Reasor M. J.(2002)Spinosad Insecticide: Subchronic and Chronic Toxicity and Lack of Carcinogenicity in Fischer 344 Rats, *toxicological sciences.*65, 288–298 .
- Yasmine Ghouati Belaiche T., Ouhssine M.,A.Amechrouq, Tahiri A., Chakir S. (2014)antimicrobial property of the essential oil from the moroccan fennel fruits nglobal.*Journal of Pure and Applied Chemistry Research*,1.25-33

Z

- Zagloul N. F, Hassan S. M.H. and El-shamy S. A .(2017) Effect of Aqueous Extract of *Punica granatum* Peel on the Oxidative Damage Induced byLead Intoxication in Rats.*Zagazig Veterinary Journal* . 45, 112-124.

- Zidan N.E.H.A. (2015) Hepato-and nephrotoxicity in male albino rats exposed to malathion and spinosad in stored wheat grains. *Acta Biologica Hungarica.*,66, 133-148.

LES ANNEXES

Annexe 01 : Dosage des protéines.

Tableau07. La réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines au niveau de foie.

Tubes	1	2	3	4	5	6
BSA(μl)	00	20	40	60	80	100
Eau distillée (μl)	100	80	60	40	20	00
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

Tableau 08. Dosage des protéines : résultats des densités optiques de la gamme d'étalonnage.

Concentration de BSA	20	40	60	80	100
Absorbance(DO)	0,868	1,243	1,553	1,871	1,954

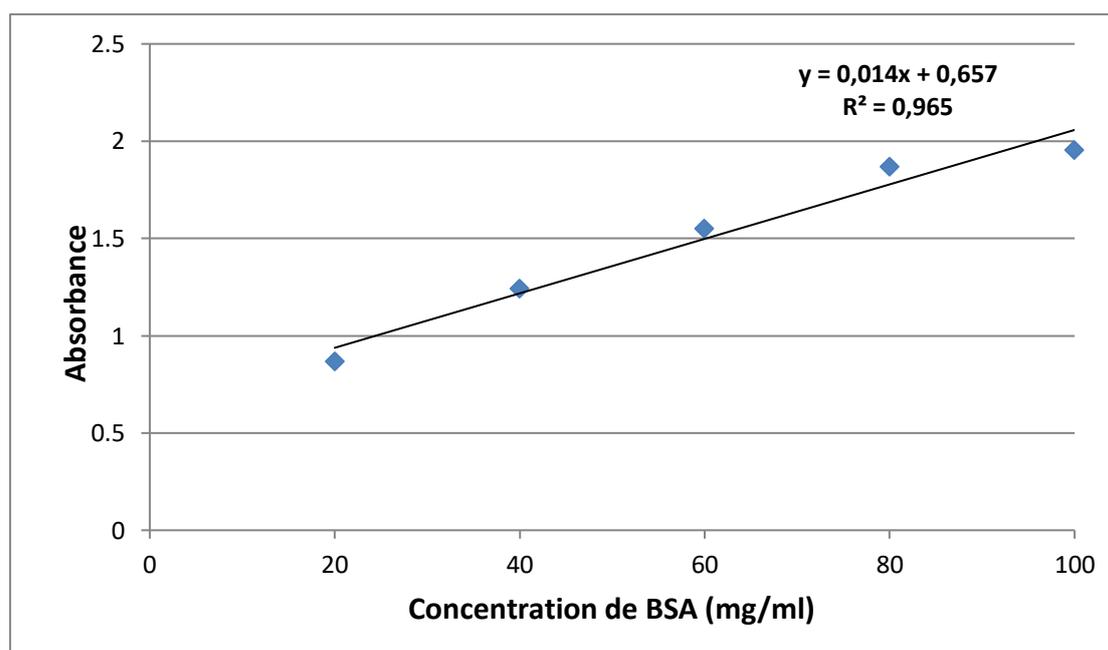


Figure37 : Droite de régression exprimant les absorbances à 595 nm en fonction de concentration BSA (mg/l) (R^2 : coefficient de détermination).

Annexe 02: Dosage des lipides.

Tableau 09:La réalisation de la gamme d'étalonnage pour les lipides aux niveaux de foie.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipide (µl)	00	20	40	60	80	100
Solvant (éther /chloroforme) (1V/1V) ml	100	80	60	40	20	00
Vanilline (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

Tableau 10 :Dosage des lipides : résultats des densités optiques de la gamme d'étalonnage.

Concentration de solution de lipides (mg/ml)	20	40	60	80	100
Absorbance (DO)	0,016	0,026	0,08	0,098	0,12

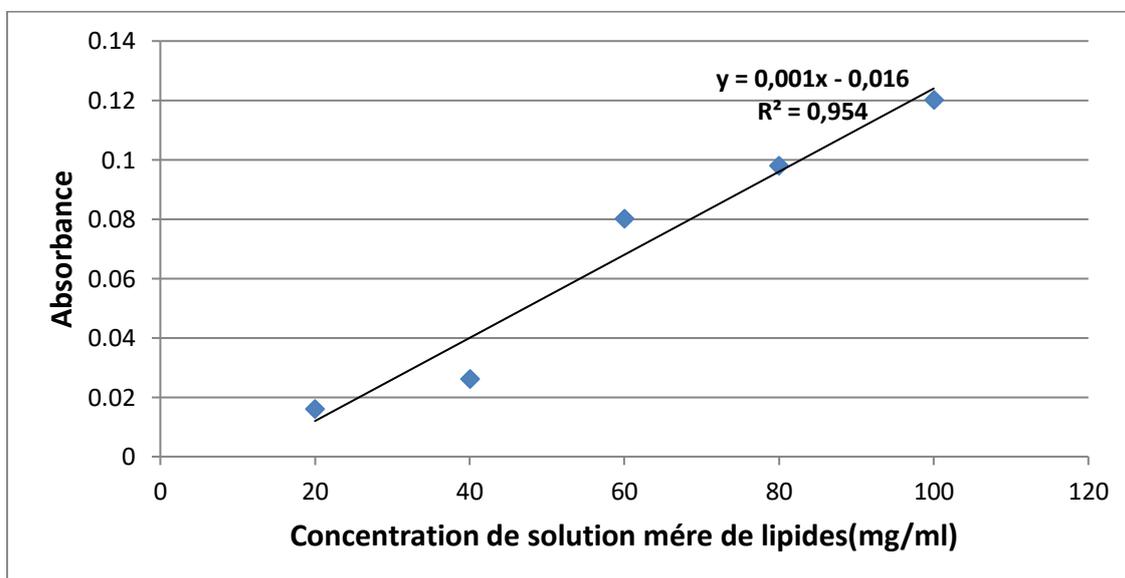


Figure38 : Droite de régression exprimant les absorbances à 530 nm en fonction de concentration de solution mère de lipides (mg/ml) (R^2 : coefficient de détermination).

Annexe 03: Dosage des glucides.

Tableau 11 : La réalisation de la gamme d'étalonnage pour les glucides aux niveaux de foie

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de glucose (µl)	00	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	00
Réactif d'Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

Tableau 12: Dosage des glucides: résultats des densités optiques de la gamme d'étalonnage.

Concentration de solution glucose (mg/ml)		20	40	60	80	100
Absorbance (DO)		0,344	0,505	0,873	1,136	1,434

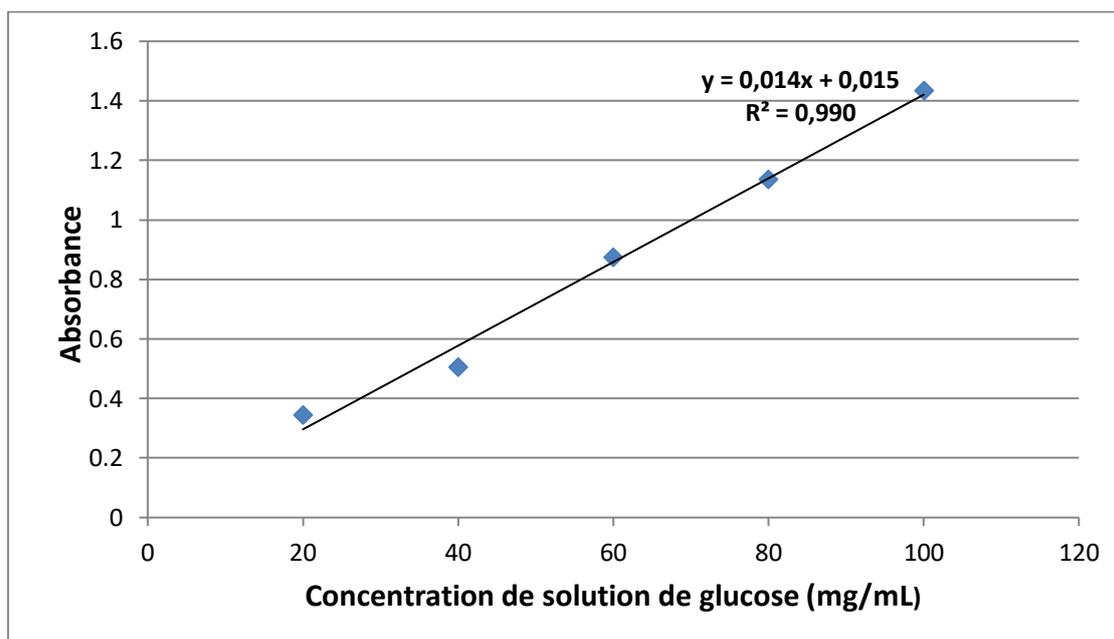


Figure39 : Droite de régression exprimant les absorbances à 620 nm en fonction de concentration de solution de glucose (mg/ml) (R^2 : coefficient de détermination)

Acta Scientifica Naturalis

Former Annual of Konstantin Preslavsky University of Shumen: Chemistry, Physics, Biology,
 Geography Journal homepage: asn.shu.bg

**Hepatotoxicity and mitochondrial dysfunction after lead (Pb) exposure and the protective effect of
 fennel essential oil of this toxicity in Wistar rats**

Loubna Lemita^{1,2}, Belgacem Djabri^{1,2}, Salim Gasmi², Yousfi Amani^{1,2}, Rachid Rouabhi², Brahim BenAicha²

¹ *Laboratory of bioactive molecules and applications, University of Larbi Tebessi-Tebessa, 12000 Tebessa, Algeria*

² *Applied Biology Department, University of Larbi Tebessi-Tebessa, 12000 Tebessa, Algeria*

Abstract: *The present work focuses on evaluation of the toxic effects of an exposure to lead (Pb) on the liver mitochondria function in Wistar rats and the protective role of the fennel essential oils (FEO).*

The experiments were conducted on Wistar rats, which were treated daily through orally gavages during 21 days. 24 animals were divided into four groups of 6 rats each one: the control group received water, while group II received FEO (0.5 mg/kg); group III received Pb (25 mg/kg), and group IV received Pb + FEO in the doses of (0,5 + 25 mg/kg). The mitochondrial dysfunction induced by lead is expressed by reducing mitochondrial respiration (O₂ consumption) associated with an increase in mitochondrial swelling and permeability compared to the control group. A disturbance in the rates of oxidative stress biomarkers was also observed. This disturbance was expressed by an increase of the MDA rate and the Cytochromes C activity associated with depletion in the GSH rate and GPx activity compared to the control group. The rat's co-treatment with FEO restored all these parameters to values similar to the Control.

The whole of these results shows well that the exposure to the lead causes disturbances on the level mitochondrion, which are attenuated by fennel essential oils.

Keywords: Fennel essential oils, Lead, Toxicity, Mitochondria, Cytochrome

Résumé: *Cette étude visait à évaluer les effets toxiques d'une exposition au plomb (Pb) sur l'activité du système antioxydant mitochondrial chez le rat Wistar et le rôle protecteur des huiles essentielles de fenouil (FEO).*

Les expériences ont été menées sur des rats Wistar, qui ont été traités quotidiennement par gavage oral pendant 21 jours. 24 animales ont été divisés en quatre groupes de 6 rats: le groupe témoin a reçu de l'eau, tandis que le groupe II a reçu FEO (0,5 mg/kg); le groupe III a reçu du Pb (25 mg/kg) et le groupe IV a reçu du Pb + FEO aux doses de (0,5 + 25 mg/kg). Le dysfonctionnement mitochondrial induit par le plomb s'exprime par la réduction de la respiration mitochondriale (consommation d'O₂) associée à une augmentation du gonflement et de la perméabilité mitochondriale par rapport au groupe témoin. Une perturbation des taux de biomarqueurs du stress oxydatif a également été observée. Cette perturbation a été exprimée par une augmentation du taux de MDA et de l'activité des cytochromes C associée à la déplétion du taux de GSH et de l'activité GPx par rapport au groupe témoin. Le co-traitement des rats avec FEO a restauré tous ces paramètres à des valeurs similaires à celles du témoin.

L'ensemble de ces résultats montre bien que l'exposition au plomb provoque des perturbations au niveau mitochondrial, qui sont atténuées par les huiles essentielles de fenouil.

Mots clés: Huiles essentielles de fenouil, Plomb, Toxicité, Mitochondries, Cytochrome

Introduction

The Mitochondria are dynamic organelles that change their morphology in response to physiological signals and metabolic stresses]1[. It is play a significant role in the hepatocyte, as in other cellular types. Indeed, many ways and cellular processes are governed by mitochondria, like cellular death, the proliferation of the cells, and metabolism]2[.

Lead is a naturally occurring bluish-gray metal found in small amounts in the Earth's crust and can be found in all parts of our environment. It is located in our food, water, air, and soil]3[. Humans can be exposed by the ingestion of lead-contaminated food or drinking water containing lead leaching from old corroded pipes, and dermal contact]4[. It is absorbed and conjugated in the liver then partially excreted in urine]5[, while the rest usually accumulated in the brain, liver, spleen, kidneys, and lungs]6[. Lead usually induce adverse effects on the central nervous system as irritating, immunosuppressive, genotoxic, teratogenic, nephrotoxic, and other toxic effects on the hematopoietic system]7[. Lead is known to cause oxidative damage in various tissues by bringing about an imbalance in the generation and removing reactive oxygen species]8[.

17

Fennel (*Foeniculum vulgare*) is an annual, biennial or perennial aromatic herb]9[flavouring and medicinal properties. Fennel has a variety of secondary metabolites which is used in the treatment of cancer, digestive irregularities, respiratory, and skin ulcers]10[. Besides, *Foeniculum vulgare* seeds have diuretic, antifungal, antioxidant, hepatoprotective, anti-inflammatory effects]11[, Antidiabetic]12[and anti- cholinesterase activity]13[.

This study aimed to evaluate the toxic effects of exposure to the lead on the activity of the mitochondrial antioxidative system in Wistar rats and the protective role of the fennel essential oils (FEO).

Material and methods

1. Chemicals

Lead acetate ($\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$) dissolved in water was distilled to make a solution of treatment at dose 25 mg/kg body weight/.

2. Plant material and extraction

The vegetable material used in this study consists of seeds of the fennel (*Foeniculum vulgare*). The fennel seeds were bought, in dried form, at an arborist. They are originating from the Wilaya of Tebessa (Algeria).

The essential oil was obtained by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus from crushed mature fruits. The content of essential oil in fruits of *Foeniculum vulgare* was 0.26%.

3. Experimental design

The selected animal model is the albino rat Wistar, coming from the Pasteur Institute of Algiers (Algeria), weighing approximately 150 to 190 g at the beginning of treatment. The animals are divided into four groups of 6 rats each one.

- Group I (C): Control group received physiological water (1 ml).
- Group II (FEO): Received fennel essential oil (0.5 ml/kg).
- Group III (Pb): Received lead (25 mg/kg).
- Group IV (Pb+FEO): Received lead and fennel essential oil in the dose of (0,5 + 25 mg/kg).

4. Isolation of the liver mitochondrion

After the sacrifice, the liver mitochondrion was isolated, respecting the protocol described in Rustin et al. [14]. The livers were immediately taken and plunged in a plug of insulation TSE (250 mm sucrose, 50 mm sorting, 5 mm EGTA (Ethylene Glycol bis (-aminoethylether)-N, N, - Tetraacetic Acid), pH 7,2 to 4°C). The homogenates were centrifuged to 1300 rpm for 3 minutes at

4°C. The supernatants were centrifuged with 10,000 rpm at 4°C for 10 minutes. The final base made up of mitochondria [14].

5. Determination of swelling, permeability, and mitochondrial respiration

According to the method described by Rouabhi et al. [15], respiration was estimated using an Oxygraph (HANSATECH). We carried out estimating the mitochondrial permeability based on the rate of Ca^{++} traversing followed by an increase in mitochondrial size detected at 540 nm wavelengths for 3 min each 30s. According to the method of Kristal et al. [16].

6. Evaluation of Cytochrome C activity

Determination of cytochrome c level in liver tissue was performed using a commercial kit the cytochrome c assay kit (CYTOCOXI) uses an optimized colorimetric assay based on observation of the the decrease in absorbance of ferrocytochrome c measured at 550 nm.

7. Evaluation of the statute oxidative mitochondrial

The procedure of Flohe (1984) measured the GPx activity [17]; the activity of GPX was measured at an absorbance of 420 nm.

Glutathione (GSH) concentration was measured according to Franco and Cidlowski [18]; 0.2 ml of a sulfosalicylic acid, centrifuged for 5 min at 1000 t/min, add 1 ml of Tris-HCl buffer + EDTA, pH 9.6, mix and add 0.025 ml DTNB dissolved in absolute methanol, and then measure the absorbance at 412.

The malondialdehyde (MDA) level was measured according to Warso and Lands [19]. The MDA was isa product of lipid peroxidation and reacted with the acid's thiobarbituric reactive substance to produce a red- colored the complex with a maximum absorbance with 530 nm. Thus, 125 μl of supernatant were homogenized by sonication with 50 μl of PBS, 125 μl of TCA–BHT (trichloroacetic acid-butylhydro- xytoluene) to precipitate proteins, and then centrifuged (1000 \times g, 10 min, and 4°C). Afterward, 200 μl of supernatant was mixed with 40 μl of HCl (0.6 M) and 160 ml of TBA dissolved in Tris, and then the mixture was heated at 80°C for 10 min. The absorbance of the resultant supernatant was obtained at 530 nm.

8. Statistical analysis

The experiment data were analyzed using statistical software, MINITAB 17.1. Statistical analysis consists of a comparison of different treatments by ANOVA test.

Results

1. Study of mitochondrial apoptosis parameters

The results of Fig. 1 show a reduction in consumed oxygen concentration in the groups treated by Pb compared to control. Contrary, groups treated by the FEO alone or in association with the Pb show stability in the consumed oxygen concentration compared to control.

On another and, an increase in the mitochondrial permeability is recorded in the group treated with Pb, while these results do not show any significant variation in rats treated with FEO alone or in combination with Pb (Fig. 2).

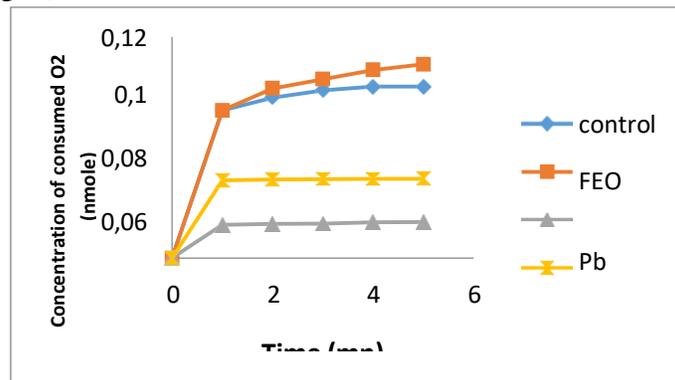


Figure 1. Change in the lever mitochondria respiration (nmole) in treated groups and the Control

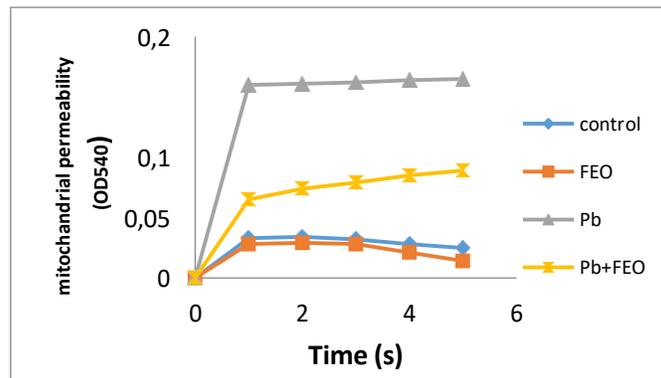


Figure 2. Change in mitochondria permeability after treatment

The results presented in Fig. 3, show a very highly significant increase in mitochondrial swelling after treatment with Pb [0.16±0.002] compared to the Control [0.03±0.037]. However, there were very highly significant changes in mitochondrial swelling in the group treated with combination 20

of FEO and Pb [0.07 ± 0.009].

The effects of Pb on the activity of cytochrome-c are shown in Fig. 4. Cyt-c markedly increases in the group treated with Pb [0.08 ± 0.03] compared with the control group [0.01 ± 0.004]. There were no significant changes in Cyt-c in the groups treated with FEO alone or in combination with Pb [0.014 ± 0.002].

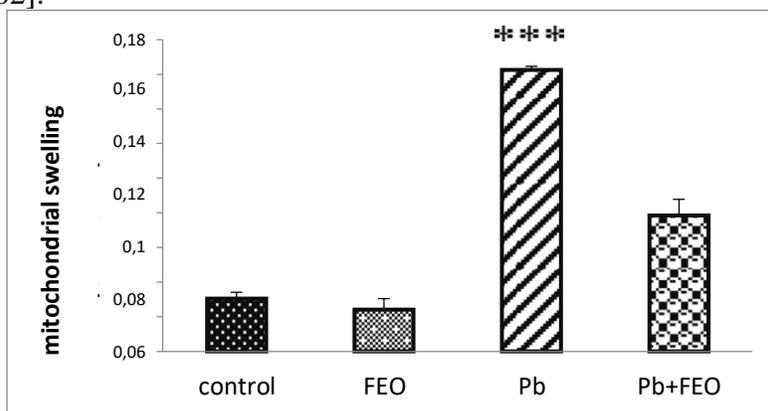


Figure 3. Changes in mitochondrial swelling of control and treated rats, $p \leq 0.000$

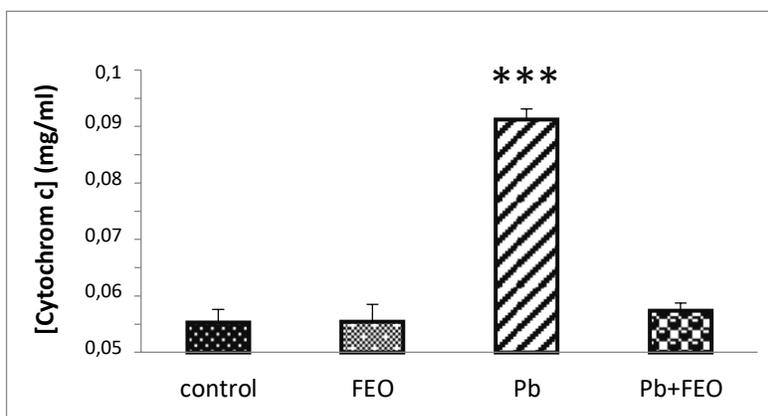


Figure 4. Effect of oral treatment of Pb and co-treatment of FEO for 21 days on Cyt-C

1. Effect on oxidative stress/antioxidant status of mitochondria

The statute oxidative mitochondrial was evaluated on the mitochondria level isolated from the liver from rats treated by Pb (25 mg/kg) and other by combination lead and fennel essential oils (0.5 ml/kg).

The rats treated by the Pb have presented a different significant reduction in the rate of mitochondrial GSH (1.85 ± 0.48 compared to the control (2.02 ± 0.36 pmol/mg)). There were no significant changes between Control and FEO + Pb groups (3.22 ± 0.57 pmol/mg) (Fig. 5).

The rats treated by the Pb presented a very highly significant reduction in the mitochondrial

GPx activity (0.02 ± 0.039 pmol/mg) compared to the control (0.04 ± 0.01 pmol/mg). However, there were very highly significant changes in GPx in the group treated with a combination of FEO and Pb ($6.25 \times 10^{-05} \pm 0.014$ pmol/mg) (Fig. 6).

Treatment with Pb shows a no significant increase in mitochondria MDA [5.22 ± 1.76] activity compared to control (0.014 ± 0.01 pmol/mg). There were no significant changes between Control and groups treated by the FEO alone or in association with the Pb [1.97 ± 1.76] (Fig. 7).

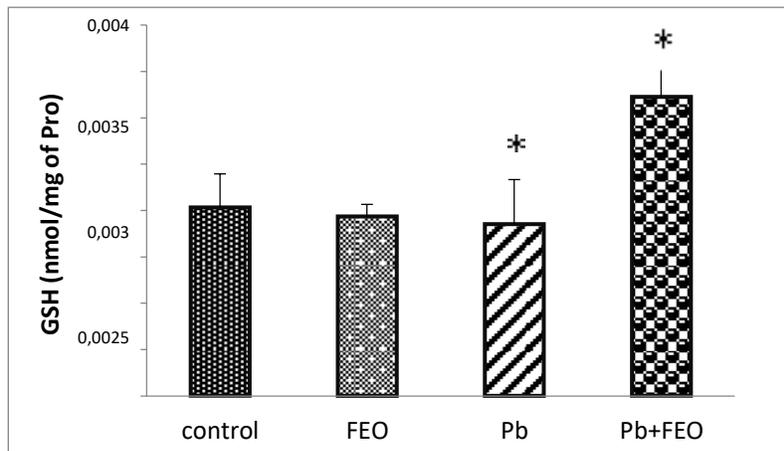


Figure 5. Effect of oral treatment of Pb and co-treatment FEO for 21 days on GSH (nmol/mg) ($p \leq 0.05$) co-treatment FEO for 21

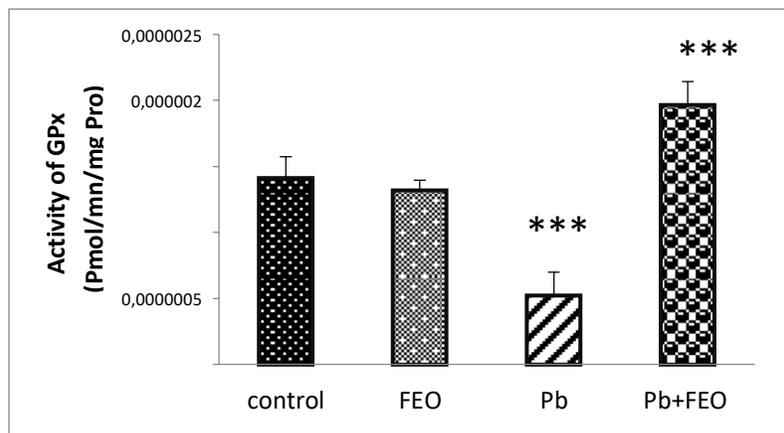


Figure 6. Effect of oral treatment of Pb and with days on GPx (Pmol/mg) ($p \leq 0.000$)

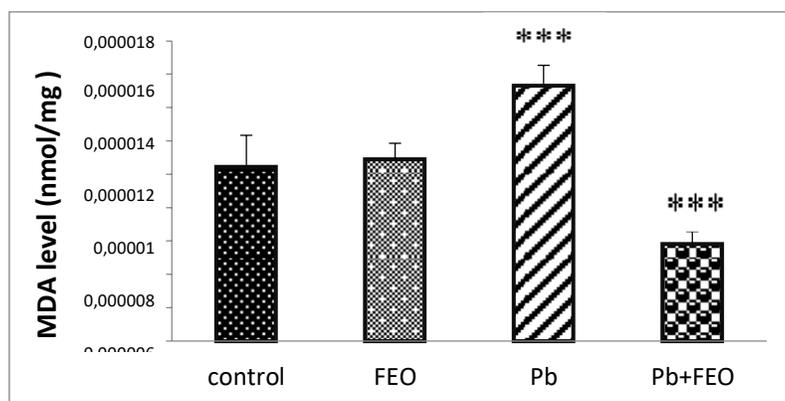


Figure 7. Effect of oral treatment of Pb and co-treatment with FEO for 21 days on MDA (nmol/mg)

Discussion

Lead is one of the most poisonous chemicals in the environment that can induce acute or chronic diseases[20]. It is known to cause oxidative damage in various tissues by bringing about an imbalance in the generation and removing reactive oxygen species[21].

In the present study, the lead's treatment caused increased mitochondrial swelling and permeability and decreased mitochondrial respiration. Indeed the leader shows an increase in Cyt. C. mitochondrial enzyme activities and tissue respiration may be altered due to the accumulation of lead in mitochondria [22]. The Pb toxicity is associated with an increased generation of the, which amplifies the cellular lesions via the oxidation and the deterioration of proteins. This study implied in the opening of PTPm, causing the massive swelling of the mitochondria and the collapse of the potential of the membrane and the synthesis of ATP, allowing the release of agents apoptotic (Cytc) [23]. These transitions from mitochondrial permeability also represent a brutal increase in the mitochondrial permeability [21].

Co-exposed FEO with Pb ameliorated these changes in mitochondrial swelling, respiration, and permeability. FEO's hepatoprotective effect might be due to the inhibition of oxidative stress-induced by Pb treatment [24].

According to the controls, the rats exposed to a subchronic dose of Pb decreased significantly the amount of GSH and increased the MDA level. These results are in concord with many results [25]. These two parameters are considered as the primary biomarkers of oxidative stress. Lead exposure can generate free radicals, resulting in the elevation of lipid peroxidation (MDA concentration) and reduced GSH level of hepatic, kidney, brain tissue [21, 26-28].

On the other hand, decreased activity of glutathione peroxidase (GPx) an in lead-treated rat.

Lead is reported to cause oxidative stress by generating the release of reactive oxygen species (ROS) such as superoxide radicals, hydrogen peroxide and hydroxyl radicals, and lipid peroxides [21].

GPx is necessary antioxidant enzymes; it is a selenoenzyme that plays a significant role in reducing H₂O₂ and hydroperoxide to produce non-toxic products [27].

Our results reveal that FEO managed orally with the rats Co-treaty with the Pb protects the mitochondria by preserving the rate from GPx, GSH, and mitochondrial MDA. Antioxidants generally decrease the level of oxidation by transferring the hydrogen atom to the free radical structure [21].

The fennel HE can be associated with the effect antioxidant [9, 29, 30] of made up the bioactive contained in our extract, which is characterized by their capacities to restore the dysfunction mitochondrial by ensuring protection of the statute redox [31, 32] intra-mitochondrial. They can reduce the stress oxidative mitochondrial via the ERO's direct or indirect detoxification [32, 33].

FOE has a kidney protective effect against the damage induced by lead manager with the rats according to the results of El-Masry et al. [8]. El-Sheikh and Galal [30] also reported that pretreatment by the HE of fennel protects the organization from the rats against the hematotoxicity, the immunotoxicity, and the hepatotoxicity.

Conclusion

Through the previous results, we conclude that lead had a very bad effect on liver function in rats exposed to it at a dose of (25 mg/kg), and on the contrary. In addition, this study proved the fennel essential oils is very important in getting rid of the unwanted symptoms resulting from oxidative stress by the lead at a dose of (25 mg/kg).

Acknowledgement

This study was supported by the Ministry of Higher Education and Scientific Research of Algeria.

Compliances with ethical standards

Conflict of interest

Loubna Lemita, Belgacem Djabri, Salim Gasmi, Yousfi Amani, Rachid Rouabhi and Brahim Ben Aicha declare that they have no conflict of interest.

Ethical approval

The study was conducted following guidelines approved by the Animal Care and Use

Research Ethics Committee (ISESNV) of the University of Larbi Tebessi (Approval number: ULT-ISESNV/2010/33). The conduct of the experiments, humane animal handling and welfare was guided by protocols contained in the publication of the National Institute of Health, “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.

References

- [1]. Janer A., Prudent J., Paupe V., Fahiminiya S., Majewski J., Garioto N., Rosiers C. D., Forest A., Lin Z.Y., Gingras A.C. Mitchell G., McBride H. M, & Shoubridge E. A., SLC25A46 is required for mitochondrial lipid homeostasis and cristae maintenance and is responsible for Leigh syndrome, *EMBO Molecular Medicine*, **2016**, 8(9), 1019-1038.
- [2]. Fromenty, B. Toxicité mitochondriale et métabolique des médicaments: mécanismes et conséquences au niveau du foie, *Réanimation*, **2010**, 19, 552-567.
- [3]. Elhamalawy O.H. Protective effect of pumpkin seed oil against lead acetate toxicity in male mice, *Az. J. Pharm Sci.*, **2018**. 58, 115.
- [4]. Owoeye O., Onwuka S.K. Lead Toxicity: Effect of *Launaea taraxacifolia* on the Histological and Oxidative alterations in Rat Regio III Cornu ammonis and Cerebellum. *Anatomy Journal of Africa*, **2016**, 5(1), 783-794.
- [5]. Zagloul N.F., Hassan S.M.H., El-shamy S.A. Effect of Aqueous Extract of *Punica granatum* Peel on the Oxidative Damage Induced by Lead Intoxication in Rats, *Zagazig Veterinary Journal*, **2017**, 45(2), 112-124.
- [6]. Owolabi J., Williams F., Fabiyi O. Evaluation of Moringa's Effects Against Lead-Induced Disruption of the Hippocampus in Animal Models, *World J Life Sci. and Medical Research*, **2014**, 3(2), 39.
- [7]. Taha N., Korshom M., Mandour A.W., LebDAH M., Aladham E. Effect of lead toxicity on mineral metabolism and immunological factors in Rats, *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, **2013**, 39, 64-73.
- [8]. El-Masry S., Ali H. A.S., El-Sheikh N.M., Awad M.S. Dose-Dependent Effect of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) and Fennel (*Foeniculum vulgare* M.) on Lead Nephrotoxicity in Rats, *International Journal of Research Studies in Biosciences*, **2016**, 4(6), 36-45.
- [9]. Ozbek, H., Ugras, S., Dulger, H., Bayram, I., Tuncer, I., Ozturk, G., Ozturk, A.

- Hepatoprotective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil. *Fitoterapia*, **2003**, 74, 317-319.
- [10]. Sefidan A.Y., Valizadeh M., Aharizad S., Sabzi M. Path analysis of grain yield, some morphological traits and essential oil content in different fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) populations, *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, **2014**, 4(5), 10-15.
- [11]. Him A., Ozbek H., Turel I., Oner A.C. Antinociceptive activity of alpha-pinene and fenchone, *Pharmacology online*, **2008**, 3, 363-369.
- [12]. Rani S., Das S. *Foeniculum vulgare*: phytochemical and pharmacological review. *International Journal of Advanced Research*, **2016**, 4(7), 477-486.
- [13]. Agarwal R., Gupta S., Agrawal S.S., Srivastava S., Saxena R. Oculohypotensive effects of *Foeniculum vulgare* in experimental models of glaucoma, *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, **2008**, 52(1), 77-83.
- [14]. Rustin P., Chreti T., Bourgeron B., Gerard A.G., Rotig G.M., Saudubray A., Munnich. Biochemical and molecular investigation in respiratory chain deficiencies. *Clin. Chim. Acta*, **1994**, 228, 35-51.
- [15]. Rouabhi R, Gasmi S, Boussekine S, Kebieche M. Hepatic oxidative stress induced by Zn and opposite effect of Se in *Oryctolagus cuniculus*. *J Environ Anal Toxicol*, **2015**, 5, 289.
- [16]. Kristal BS, Park BK, Yu B.P. 4-Hydroxynonanal est un puissant inducteur de la transition de perméabilité mitochondriale. *Biol Chem*, **1996**, 6033-6038.
- [17]. Flohe G. Analysis of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*, **1984**, 105, 114-121.
- [18]. Franco R., Cidlowski J. Apoptosis and glutathione: beyond an Antioxidant, *Cell Death Differ*, **2009**, 16, 1303-1314.
- [19]. Warso M.A., Lands W.E. Lipid peroxidation in relation to prostacyclin and thromboxane physiology and pathophysiology. *British Medical Bulletin*, **1983**, 39(3), 277-280.
- [20]. Ghoniem M.H., El-Sharkawy N.I., Hussein M.M.A., Moustafa G.G. Efficacy of Curcumin on Lead Induced Nephrotoxicity in Female Albino Rats. *Journal of American Science*, **2012**, 8(6), 502.
- [21]. Kansal L., Sharma A., Lodi S. Remedial effect of *Coriandrum sativum* (coriander) extracts on lead induced oxidative damage in soft tissues of swiss albino mice, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **2012**, 4(3), 975-1491.
- [22]. SHAH F.C., Jain N. Ameliorative action of synthetic and herbal antioxidants on lead induced hepatotoxicity: an *in vitro* study, *J Pharm Clin Res*, **2016**, 9(2), 364-370.

- [23]. Adli D.E.H., Kahloula K., Slimani M., Brahmi M., Benreguieg M. Prophylactic Effects of *Syzygium aromaticum* Essential Oil on Developing Wistar Rats Co-exposed to Lead and Manganese. *Phytothérapie*, **2017**, 1-7.
- [24]. Koppula S., Kumar H. *Foeniculum vulgare* Mill. (Umbelliferae) Attenuates Stress and Improves Memory in Wister Rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **2013**, 12(4), 553-558.
- [25]. Mesbah L., Belli N., Chebab S., Tekou M.K., Leghou Chi E. Stress oxydant induit par la coexposition au plomb et au cadmium: deux contaminants des eaux souterraines de oued nil (JIJEL - Algérie), *Revue des Sciences de l'Eau*, **2010**, 23(3), 289-301.
- [26]. Zhang Y., Liu X. Z., L.U. H., Li Mei, And Liu P. Z., Lipid Peroxidation and Ultrastructural Modifications in Brain after Perinatal Exposure to Lead and/or Cadmium in Rat Pups1, *Biomedical Anenvironmental Sciences*, **2009**, 22, 423-429.
- [27]. Attia A.M.M., Ibrahim F.A.A., Nabil G.M., Aziz S.W. Antioxidant effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) against lead acetate-induced hepatotoxicity in rats, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **2013**, 7(20), 1213-1219.
- [28]. Andjelkovic M., Djordjevic A.B., Antonijevic E., Antonijevic B., Stanic M., Stevuljevic J.K., Kalimanovska V.S., Jovanovic M., Boricic N., Wallace D., Bulat Z. Toxic Effect of Acute Cadmium and Lead Exposure in Rat Blood, Liver, and Kidney, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **2019**, 16(2), 274.
- [29]. Koppula S., Kumar H. *Foeniculum vulgare* Mill (Umbelliferae) Attenuates Stress and Improves Memory in Wister Rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **2013**, 12 (4), 553-558.
- [30]. El-Sheikh E.A., Galal A.A.A. Toxic effects of sub-chronic exposure of malealbino rats to emamectin benzoate and possibleameliorative role of *Foeniculum vulgare* essential oil, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **2015**, 39(3), 1177-1188.
- [31]. Choi E.M., Hwang J.K. Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*, *Fitoterapia*, **2004**, 75, 557-565.
- [32]. El-Garawani I., El Nabi S. H., El-Ghandour E. The protective effect of (*Foeniculum vulgare*) oil on etoposide-induced genotoxicity on male albino rats, *Ejpmr*, **2017**, 4(7), 180-194.
- [33]. Bhavan P.S., Anisha T.C., Srinivasan V., Muralisankar T., Manickam N. Effects of spices, *Papaver somniferum*, *Elettaria cardamomum*, *Foeniculum vulgare* and *Syzygium aromaticum* on growth

promotion in *Macrobrachium malcolmsonii* early juveniles, *Int. J. Pure App. Biosci.*, **2014**, 2(6), 120-131.

7^{èmes} Journées Internationales Scientifiques de l'ATT «Exposition aux faibles doses et
mélanges. Interaction et modulation des effets » Monastir, 28-29 Avril 2018

Attestation de Participation

Le comité d'organisation des 7^{èmes} Journées Internationales Scientifiques
de l'ATT, tenues à Monastir du 28 au 29 Avril 2018, atteste que

LEMITA Loubna..... a participé aux journées et a présenté une
communication par affiche n° P69.....

Le Secrétaire Général de l'ATT
Dr. Chayma BOUAZIZ



Association Tunisienne de Toxicologie (ATT), Faculté de Médecine Dentaire, Rue Avicenne, 5019 Monastir.

Site web: www.atttox.org Tél: + 21673425550, Fax: + 216 73461150

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ LARBI TEBESSI - TEBESSA -
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES ET SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE



Attestation de Participation

Le comité d'organisation de la première journée scientifique sur la biologie des plantes médicinales, tenue à Tébessa le 22 janvier 2020, atteste par la présente que : *LEMITA Loubna* a participé à cette manifestation par une communication Affichée intitulée :

« Hépatotoxicité Du *Spinosad* Et Effet Protecteur Des Huiles Essentielles Du Fenouil Chez Le Rat *Wistar* »

Co-auteurs: *DJABRI Belgacem*, *BOUTERAA Zina*, *HENINE Sarra*.

Président de la journée

Dr. Samira BOUSSEKINE

