



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
Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Thèse

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat LMD

Filière : Sciences biologiques

Option : TOXICOLOGIE CELLULAIRE

Par : M^{elle} CHENIKHAR Hadjer

Intitulée :

Etude de la toxicité de deux pesticides et l'effet protecteur des huiles essentielles d'une plante médicinale

Devant le jury :

Me BOUSSEKINE Samira	MCA	Université Larbi Tébessi-Tébessa	Présidente
Mr. DJABRI Belgacem	Prof.	Université Larbi Tébessi-Tébessa	Rapporteur
Mr. ROUABHI Rachid	Prof.	Université Larbi Tébessi-Tébessa	Co-Encadreur
Mr. ARHAB Rabah	Prof.	Université d'Oum El-Bouaghi	Examineur
Mr. MENACEUR Fouad	MCA	Université Larbi Tébessi-Tébessa	Examineur
Mr. DEROUICHE Samir	MCA.	Université Echahid Hamma Lakhder-Eloued	Examineur

Année universitaire : 2018/2019

Remerciement

Avant tout, je remercie Allah le tout puissant qui m'a guidée tout au long de ma vie, qui m'a donnée force, courage et patience incroyables pour passer tous les moments difficiles et a permis à ce travail de voir le jour malgré tous les obstacles que j'ai cru un jour insurmontables... Alhamdulillah !

Je suis particulièrement reconnaissante à mon directeur de thèse Monsieur le Professeur DJABRI Belgacem de l'Université Chikh Larbi Tebessi, qui a codirigé et suivi ce travail dans tous ces détails avec une rigueur scientifique exceptionnelle, ce qui m'a donnée le courage pour poursuivre la réalisation de ce projet de recherche. Je le remercie exceptionnellement pour son appui, sa gentillesse, sa confiance illimitée en moi et son soutien incessant tout au long des années de cette étude.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon co-encadreur, le Professeur ROUABHI Rachid de l'Université Larbi Tebessi, qui est à l'origine de ce sujet de recherche et qui m'a encadrée et suivi mon travail avec sa bienveillance, ses conseils et sa gentillesse qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

Il m'est agréable d'adresser mes vifs remerciements à Madame BOUSSEKINE Samira, Docteur à l'Université Larbi Tebessi. Qu'elle soit assurée de l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de ma thèse.

Je remercie Monsieur ARHAB Rabah, Professeur à l'Université d'Oum El-Bouaghi et Monsieur DAROUICHE Samir, Docteur à l'Université d'Eloued, de m'avoir fait l'honneur d'être les rapporteurs de cette thèse. La pertinence de leur remarques et critiques m'a été d'un apport inestimable.

Je remercie par la même occasion Monsieur MENACEUR Fouad, Docteur à l'Université Larbi Tebessi, pour avoir accepté d'examiner mon travail et de faire partie de mon jury de thèse, et particulièrement pour son aide précieuse durant la préparation de ce travail.

Je remercie Monsieur ZOGHLAMI Tijani, Chef service de l'hopital BOUGUERRA BOULAAARAS à Bekkaria pour m'avoir accueillie dans leur laboratoire et mis à ma disposition les moyens nécessaires pour l'achèvement de ce travail.

Je remercie vivement Madame CH. Karima responsable de Laboratoire de Toxicologie, Asma et Souad pour leur aide précieuse et d'avoir mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour effectuer mon travail.

Je tiens à remercier également toute l'équipe de recherche (Gasmi S., Salmi A., Toualbia N., Taïb C.) pour leur aide et leur sympathie en gardant un excellent souvenir de notre séjour au laboratoire de toxicologie, exceptionnellement Djaffel A. pour son soutien moral. Je lui souhaite beaucoup de succès.

Je n'ai jamais les mots appropriés pour remercier de tout mon cœur chacun des membres de ma chère famille pour leur soutien permanent. Je remercie mes parents pour tout ce qu'ils ont fait pour moi, mon frère Walid et ma sœur Insaf, sans oublier mes tantes et mes merveilleuses cousines. Leur soutien a été toujours indispensable. Qu'Allah les récompense !

Un remerciement spécial va à mes sœurs Djabri Amina, Mebarkia Nadjoua pour leur aide exceptionnelle et leur présence bienveillante qui m'ont toujours été d'un support énorme et une source inépuisable d'énergie et de joie.

Mes chaleureux remerciements vont aussi à Madame Bougazoula F., pour son aide moral. Sa bonne humeur et son enthousiasme ont toujours animés nos discussions, sans oublier Madame djaleb et Madame Bougessa, pour leurs précieux conseils et leur aide moral. Qu'elles puissent trouver ici l'expression de mon respect le plus profond.

Mes sincères remerciements s'adressent mes collègues de travail. Je pense particulièrement à Houcin, Safa, Karima et Rahima, qui m'ont beaucoup aidée le long de ce parcours. Leur soutien moral m'a beaucoup apportée durant ces années de recherche. Je leur souhaite beaucoup de succès.

J'adresse mes remerciements à tous mes amis d'enfance Nour-Elyakine, Hafsa, Houlaïda et Takwa, ainsi que tous mes amis de la promotion santé et environnement Nadjoua, Rania, Samira, Olfa qui étaient toujours là à m'encourager, aider, supporter et surtout aimer. Je vous souhaite tout le bonheur du monde.

Enfin, une page de remerciements ne sera jamais suffisante pour exprimer ma profonde gratitude envers tous les gens qui ont contribué de près ou de loin à l'achèvement de ce modeste travail, je ne pourrai jamais les citer tous... Alors, qu'ils acceptent l'expression de mes remerciements les plus sincères !

Dédicace

Maman qui nous a donnés la vie

Je veux te dire merci

De là-haut malgré la route qui nous sépare

Ce travail est dédié à ma mère, décédé trop tôt, qui m'a toujours poussée et motivée dans mes études. J'espère qu'elle apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part de sa fille qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde !

Je t'aime Maman, repose en paix, en ma vie tu restes le plus beau thème.

Ce travail est dédié à toi, mon papa, qui je t'aime d'un amour unique. Pour toutes les peines et tous les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation, pour tout cet amour donné depuis ma naissance jusqu'à aujourd'hui. Durant toute mon enfance dorée, tu m'as apportée ta protection paternelle, ta tendresse et ta compréhension. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour garder ta fierté et ne jamais te décevoir. Que dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, et te protège de tout mal.

Je dédie ce travail à mon frère, qui est mon guide, mon protecteur depuis notre enfance, qui m'a accompagnée dans les bons et mauvais moments de la vie, tel un ami sincère, tel un frère aimant.

Que dieu te protège et te garde pour nous.

Je dédie aussi ce travail à celle qui m'a soutenue, la seule qui était là quand personne n'y était. À celle qui m'a beaucoup aidée, qui m'a supportée dans les moments les plus durs. Celle qui malgré nos moments difficiles n'a pas arrêté de me pousser en avant. À ma sœur "Insaf". Que dieu te protège et te garde pour nous.

Je dédie ce travail à mes élèves pour leur amour et leur prière afin que je puisse terminer ce travail.

ملخص

المبيدات الحشرية هي المركبات الكيميائية المعروفة بالسمية. الكلوربيريفوس هو واحد من أكثر مبيدات الحشرات الفسفورية العضوية المستخدمة على نطاق واسع لأغراض صناعية، زراعية وفي الصحة العامة. لوفينرون هو عضو جديد من فئة مثبطات الكيتين الأقل سمية بالنسبة للبيئة. تستخدم الزيوت الأساسية في العديد من المجالات العلاجية وهي معروفة بخواصها المضادة للأكسدة. والهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير الكلوربيريفوس، لوفينرون ومزيجهما على نشاط النظام المضاد للاكسدة على مستوى العصارى الخلوية والميتوكوندريا، والتأثير الوقائي للزيوت الاساسية للكمون ضد هذا الاضطراب.

أجريت التجارب على فئران ويستار الإناث التي عولجت يوميا عن طريق الفم لمدة 60 يوما. تم تقسيم الحيوانات إلى ثمان مجموعات في كل منهما (5 جردان): (1) مجموعة شاهدة سلبية عولجت زيت الذرة بينما المجموعة (2) تلقت زيوت أساسية (0.1 مل / كغ) من وزن الفار، تلقت المجموعة (3) لوفينرون (200 مجم / كجم) ، والمجموعة (4) تلقت لوفينرون + الزيوت الاساسية للكمون. المجموعة (5) عولجت بالكلوربيريفوس (5.4 مجم / كجم) نفس الجرعات ، تلقت المجموعة (6) الكلوربيريفوس + الزيوت الاساسية للكمون. الفئران في المجموعة (7) تعالج بمزيج من الكلوربيريفوس ولوفينرون ، وتلك التي في المجموعة (8) تعالج بمزيج مكون من المبيدات الحشرية و الزيوت الاساسية للكمون في نفس الجرعات، أجريت قياسات معاملات الإجهاد الفسيولوجية والبيوكيميائية والأكسدة على مستويات العصارى الخلوية والميتوكوندريا.

أظهرت نتائجنا أن التعرض للوفينرون و الكلوربيريفوس، و مزيجهما يسبب تأثيرات ضارة على العضوية يترجم ب ؛ تدهور الحالة الصحية العامة للفئران عن طريق نقص من وزن الجسم ، وزيادة الوزن النسبي لبعض الأعضاء (الكبد والكليتين) ، وتلف خلايا الكبد من خلال رفع نشاط الناقلات الامنية، والاختلال الوظيفي للكلى بزيادة معدل الكرياتينين واليورينا. بالإضافة إلى ذلك أظهر تحليل معاملات الكبد أن لوفينرون و الكلوربيريفوس ، ومزيجهما يؤثر بزيادة نشاط المؤشرات البيولوجية للأكسدة (MDA) و GPx وانخفاض إنزيمات مضادات الأكسدة (CAT، GST و GSH) في العصارى الخلوية وميتوكوندريا الكبد ، وكذلك لوحظ تأثير سلبي للدماغ (انخفاض نشاط أنزيم أسيتيل كولين استريز). أظهر تعرض الميتوكوندريا لهذه المبيدات انخفاضاً في التنفس الميتوكوندري (استهلاك O₂) ، زيادة في النفاذية مع انتفاخ الميتوكوندريا.

بينت نتائج دراستنا أن هذه المبيدات الحشرية تسبب الإجهاد التأكسدي الكبد ي على مستوى العصارى والعضيات الخلوية. تؤكد النتائج التي توصلنا إليها التأثير الوقائي للكبد ضد الإجهاد التأكسدي من خلال التحسن في كل المعاملات البيوكيميائية ومؤشرات الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: الكلوربيريفوس، لوفينرون، الزيوت الاساسية ، الإجهاد التأكسدي ، التأثير الوقائي، الفئران ويستار

Abstract

Pesticides are chemical compounds with toxicological properties. Chlorpyrifos (CPF) is one of the most widely used organophosphorus insecticides for industrial, agricultural and public health purposes. Lufenuron (LUF) is relatively a new member of the chitin-synthesis inhibitors class which are less toxic to the environment. The essential oils (OE) are used in many therapeutic areas and are known for their antioxidant properties. The present study aimed to evaluate the influence of CPF, LUF and their combination on the activity of the cytosolic and mitochondrial antioxidant system, and the protective effect of the essential oils of *cuminum cyminum* (HEc) against this perturbation. The experiments were conducted on female Wistar rats that were treated daily by oral gavage for 60 days. The animals were divided into eight groups: the negative control group (1) received corn oil, the positive control group (2) received HEc (0.1 mg / kg), the group (3) received the CPF (5.4 mg/kg), the group (4) received the CPF + HEc at the same doses, the group (5) received the LUF (200mg/kg) while the group (6) received LUF + HEc at the same doses. The rats of group (7) were treated with the mixture of CPF and LUF at the same doses, while those of group (8) were treated with the combination CPF + LUF + HEc at the same doses. Measurements of physiological, biochemical and oxidative stress parameters were performed at the cytosolic and mitochondrial levels.

Our results showed that the administration of CPF and LUF and their mixture caused deleterious effects on the body resulting in a deterioration of the general state of health of the rats (a reduction of body weight and an increase of the weights liver and kidney), altered hepatocytes by elevated ALAT and ASAT activity, and renal dysfunction by increased creatinine and urea levels. In addition, the assay of liver parameters showed that CPF and LUF and their mixture resulted in an increase in oxidative stress biomarker (MDA) and GPx activity and a decrease in antioxidant enzymes (CAT, GST and GSH) in the cytosol and mitochondria of the liver. A negative cerebral effect (decreased activity of the acetylcholinesterase enzyme) was also observed. The mitochondrial preparation with these pesticides demonstrated a decrease in mitochondrial respiration (O₂ consumption), an increase in permeability with mitochondrial swelling. The mitochondrial preparation with these pesticides demonstrated a decrease in mitochondrial respiration (O₂ consumption), an increase in permeability with mitochondrial swelling.

The results of this study show that these pesticides cause oxidative stress at the cytosolic and subcellular hepatic level. Our results confirm the protective effect of HEc against oxidative stress by an improvement in all biochemical and oxidative markers.

Key words : *chlorpyrifos, lufenuron, essentielle oil, oxidative stress, protective effect, Wistar rats.*

Résumé

Les pesticides sont des composés chimiques dotés de propriétés toxicologiques. Le chlorpyrifos (CPF) est l'un des insecticides organophosphorés les plus utilisés à des fins industrielles, agricoles et de santé publique. Lufenuron (LUF) est un nouveau membre de la classe des inhibiteurs de la synthèse de la chitine qui sont moins toxiques pour l'environnement. Les huiles essentielles (HE) sont utilisées dans de nombreux domaines thérapeutiques et sont connues pour leurs propriétés antioxydantes. La présente étude visait à évaluer l'influence du CPF, LUF et leur combinaison sur l'activité du système antioxydant cytosolique et mitochondrial, et l'effet protecteur de l'huile essentielle *Cuminum cyminum* (HEc) contre cette perturbation. Les expériences ont été menées sur des rats Wistar femelles qui ont été traitées quotidiennement par gavage oral pendant 60 jours. Les animaux ont été répartis en huit groupes : le groupe 1 témoin négatif a reçu de l'huile de maïs, le groupe 2 témoins positif a reçu l'HEc (0,1 mg / kg), le groupe 3 a reçu le CPF (5.4mg/kg), le groupe 4 a reçu le CPF + HEc aux mêmes doses, le groupe 5 a reçu le LUF (200 mg/kg) tandis que le groupe 6 a reçu du LUF + HEc aux mêmes doses. Les rats du groupe 7 ont été traités par la mixture du CPF et LUF aux mêmes doses, alors que ceux du groupe 8 ont été traités par la combinaison CPF + LUF + HEc aux mêmes doses. Des mesures des paramètres physiologiques, biochimiques et du stress oxydant ont été effectués au niveau cytosolique et mitochondrial.

Nos résultats ont montré que l'administration du CPF et LUF ainsi que leur mixture provoque des effets délétères au niveau de l'organisme traduits par une détérioration de l'état de santé général des rats (une réduction de poids corporel et une augmentation des poids relatifs des foies et reins), une altération des hépatocytes par élévation de l'activité ALAT et ASAT, et un dysfonctionnement rénal par l'augmentation du taux de la créatinine et l'urée. En outre, le dosage des paramètres hépatiques a montré que le CPF et le LUF ainsi que leur mixture entraînaient une augmentation du taux de biomarqueur du stress oxydatif (MDA) et du GPx et une diminution des enzymes antioxydantes (CAT, GST et GSH) dans le cytosol et les mitochondries du foie. Un effet négatif cérébral (diminution de l'activité de l'enzyme acétylcholinestérase) a été également observé. La préparation mitochondriale avec ces pesticides a démontré une diminution de la respiration mitochondriale (consommation d'O₂), une augmentation de la perméabilité avec un gonflement mitochondrial.

Les résultats de cette étude montrent que ces pesticides sont à l'origine d'un stress oxydatif au niveau hépatique cytosolique et subcellulaire. Nos résultats confirment l'effet protecteur de l'HEc contre le stress oxydatif par une amélioration dans tous les marqueurs biochimiques et oxydatifs.

Mots clés : *chlorpyrifos, lufenuron, huiles essentielles, stress oxydants, effet protecteur, rats Wistar.*

Table des matières

Remerciement

Dédicace

ملخص

Abstract

Résumé

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre I: Généralités sur les pesticides

I.1. Quelques définitions.....	3
I.2. Classification des pesticides.....	4
I.2.1. Classification chimique	4
I.2.2. Classification biologique	5
I.2.3. Classification selon l'usage	5
I.3. Devenir des produits phytosanitaires dans l'environnement.....	5
I.4. Modes d'exposition de l'homme aux pesticides	7
I.5. Effets toxiques des pesticides sur l'homme	9
I.5.1. Effets aigus	9
I.5.2. Effets chroniques	9
I.5.3. Effets cancérogènes.....	10
I.5.4. Effets sur le système endocrinien et la reproduction.....	10
I.5.5. Effets neurologiques et neurocomportementaux.....	10
I.5.6. Effets sur l'immunité.....	11
I.6. Le chlorpyrifos (CPF)	11
I.6.1. Limite de toxicité chez les animaux	13
I.6.2. Toxicocinétique du chlorpyrifos.....	13
I.6.3. Mécanisme d'action du chlorpyrifos	16
I.7.1. Limite de toxicité chez les animaux	18
I.7.2. Toxicocinétique du lufenuron.....	18
I.7.3. Mécanisme d'action du lufenuron	20

Chapitre II: Stress oxydatif

II.1. Définition	22
II.2. Radicaux libres.....	22
II.2.1. Type des radicaux libres	22
II.2.2. Origine des radicaux libres	25
II.2.2.1. Origine endogène	25
II.2.2.2. Origine exogène	26
II.3. Conséquences du stress oxydant.....	27
II.3.1. Peroxydation lipidique	27
II.3.2. Oxydation des protéines	27
II.3.3. Dommages de l'ADN	28
II.3.4. Oxydation des glucides	28
II.4. Système de défense antioxydants.....	28
II.4.1. Systèmes antioxydants enzymatiques	30
II.4.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques	31

Chapitre III: La plante médicinale et les huiles essentielles

III.1. La plante <i>Cuminum cyminum</i>	34
III.1.1. Caractéristiques botaniques.....	34
III.1.2. Utilisation du cumin.....	35
III.2. Composition et propriétés des huiles essentielles.....	36
III.2.1. Définition	36
III.2.2. Localisation de l'huile essentielle dans la plante	36
III.2.3. Composition chimique des huiles essentielles	36
III. 2.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	36
III.2.5. Activités biologiques des huiles essentielles	39
III.2.6. Toxicité des huiles essentielles	40

Partie pratique

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériel végétal.....	43
I.2. Animaux.....	43
I.3. Extraction et analyse de l'huile essentielle du cumin	44
I.4. Traitement des rats	46
I.5. Prélèvement des échantillons	47

Table des matières

I.6. Détermination des paramètres biochimiques	51
I.7. Exploration du stress oxydant	53
I.8. Evaluation du gonflement, perméabilité et respiration mitochondriales.....	58
I.9. Dosage de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE).....	58
I.10. Présentation des résultats et analyses statistiques	59
II. Résultats	
II.1. Rendement et composition chimique des huiles essentielles du <i>Cuminum cyminum</i> .	61
II.2. Impact du CPF et du LUF et leur mixture sur quelques paramètres physiologiques et effets protecteurs de la supplémentation en huile essentielle.....	62
II.3. Stress oxydant induit par LUF et CPF et leur mixture : Effets protecteurs de la supplémentation en huile essentielle	72
II.4. Impact du LUF, CPF et leur mixture sur l'activité de l'acétylcholinestérase : Effets protecteurs de la supplémentation en huile essentielle (HE)	80
II.5. Effet des pesticides et l'huile essentielle sur les paramètres de respiration, perméabilité membranaire et gonflement mitochondriale dans le foie chez les rats	82
III. Discussion	
III.1. Rendement et composition chimique des huiles essentielles du <i>Cuminum cyminum</i>	87
III.2. Effets des pesticides et l'huile essentielle sur les paramètres de la croissance globale	90
III.3. Effets des pesticides et l'huile essentielle sur les métabolites tissulaires.....	92
III.4. Effets des pesticides et l'huile essentielle sur les paramètres biochimiques sanguins	93
III.5. Effets des pesticides et l'huile essentielle sur le statut redox.....	97
III.6. Effets des pesticides et l'huile essentielle sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)	107
III.7. Effets des pesticides et l'huile essentielle sur la respiration, la perméabilité et le gonflement mitochondrial	109
Conclusion et perspectives	113
Références bibliographiques	116
Les Annexes	148

Liste des tableaux

Tableau 1 : Propriétés physico-chimiques du chlorpyrifos.....	12
Tableau 2 : Valeurs des DL ₅₀ du chlorpyrifos par voie orale chez différentes espèce.....	13
Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques du lufenuron.....	18
Tableau 4 : Composition chimique des huiles essentielles du <i>Cuminum cyminum</i>	62
Tableau 5 : Variation de poids corporel (PC) (g) chez les rats témoins et traités (HE, LUF, CPF, LUF+CPF, LUF+HE, CPF+HE, LUF+CPF+HE) après 60 jours du traitement.....	63
Tableau 6 : Variation des taux des métabolites (protéines, glucides, lipides) au niveau hépatique chez les rats témoins et traités (HE, LUF, CPF, LUF+CPF, LUF+HE, CPF+HE, LUF+CPF+HE) après 60 jours du traitement.....	67
Tableau 7 : Variation de l'activité de l'acétylcholinestérase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) au niveau cérébral chez les rats témoins et traités (HE, LUF, CPF, LUF+CPF, LUF+HE, CPF+HE, LUF+CPF+HE) après 60 jours du traitement.....	81
Tableau 8 : Diverses études effectuées sur la composition de l'huile essentielle de <i>Cuminum cyminum</i>	88

Liste des figures

Figure 1 : Devenir des pesticides dans l'environnement.....	7
Figure 2 : Mode d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides.....	8
Figure 3 : Schéma de la métabolisation du CPF.....	15
Figure 4 : Mécanisme d'inhibition de l'acétylcholinestérase par les organophosphorés.....	17
Figure 5 : Biotransformation du lufenuron.....	20
Figure 6 : Inhibition de la biosynthèse de la chitine par lufenuron.....	21
Figure 7 : Réaction de formation du NO à partir de l'arginine.....	24
Figure 8 : Mécanisme de production des EROs et ERNs.....	25
Figure 9 : Formation des ERO dans la chaîne respiratoire.....	26
Figure 10 : Stratégie de lutte des antioxydants contre le stress oxydant.....	29
Figure 11 : Principales enzymes antioxydantes.....	29
Figure 12 : Aspects morphologiques du <i>Cuminum cyminum</i>	35
Figure 13 : Structure de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles.....	38
Figure 14 : Graines du cumin (<i>Cuminum cyminum</i> L.).....	43
Figure 15 : Prise du poids des rats en utilisant la balance analytique.....	44
Figure 16 : Procédé d'extraction de l'huile essentielle du <i>Cuminum cyminum</i>	45
Figure 17 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	48
Figure 18 : Etapes d'isolement des mitochondries brutes à partir des foies des rats.....	50
Figure 19 : Principe du dosage du malondialdéhyde.....	54
Figure 20 : Principe de dosage du glutathion.....	55
Figure 21 : Chromatogramme CPG/SM de l'HE de <i>Cuminum cyminum</i>	61
Figure 22 : Etude de l'évolution du poids corporel chez le lot témoin et les lots traités après 60 jours de traitement.....	64
Figure 23 : Variation du poids relatif (g/100g) du foie chez les rats témoins et traités après 60 jours du traitement.....	66
Figure 24 : Variation du poids relatif (g/100g) des reins chez les rats témoins et traités après 60 jours du traitement.	66
Figure 25 : Variation de la concentration sérique du glucose chez le lot témoin et les lots traités après 60 jours du traitement.....	69
Figure 26 : Variation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT (UI/I) et l'ALAT (UI/I)) chez les rats témoins et traités après 60 jours du traitement.....	70
Figure 27 : Variation de la concentration plasmatique en urée(g/l) chez les rats témoins et traités après 60 jours du traitement.....	71

Liste des figures

Figure 28 : Variation de la concentration plasmatique en créatinine (mg/l) chez les rats témoins et traités après 60 jours du traitement.....	72
Figure 29 : Variation du taux en malondialdéhyde (nmol/mg protéine) hépatique chez les rats témoins et traités pendant 60 jours du traitement.....	73
Figure 30 : Variation de la teneur cellulaire en glutathion ($\mu\text{mol/mg}$ protéine) hépatique chez les rats témoins et traités pendant 60 jours du traitement.....	73
Figure 31 : Variation de l'activité enzymatique hépatique de la glutathion peroxydase ($\mu\text{mol/min/mg}$ protéine) chez les rats témoins et traités pendant 60 jours du traitement.....	74
Figure 32 : Variation de l'activité de la catalase hépatique (CAT) chez les témoins et les lots expérimentaux après 60 jours du traitement.....	75
Figure 33 : Variation de l'activité du glutathion-S-transférase (GST) au niveau hépatique en chez les lots témoins et expérimentaux après 60 jours du traitement.....	76
Figure 34 : Variation du taux en malondialdéhyde (nmol/mg protéine) au niveau mitochondrial chez les rats témoins et traités pendant 60 jours du traitement.....	77
Figure 35 : Variation de la teneur mitochondriale en glutathion ($\mu\text{mol/mg}$ protéine) chez les rats témoins et traités pendant 60 jours du traitement.....	77
Figure 36 : Variation de l'activité enzymatique mitochondrial de la glutathion peroxydase ($\mu\text{mol/min/mg}$ protéine) chez les rats témoins et traités pendant 60 jours du traitement.....	78
Figure 37 : Variation de l'activité de la catalase au niveau mitochondrial chez les témoins et les lots expérimentaux après 60 jours du traitement.....	79
Figure 38 : Variation de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST) au niveau mitochondrial en chez les lots témoins et expérimentaux après 60 jours du traitement.....	80
Figure 39 : Variation de la respiration mitochondriale dans le foie chez les rats traités par lufenuron et leur combinaison avec l'huile essentielle pendant 60 jours du traitement.....	82
Figure 40 : Variation de la respiration mitochondriale dans le foie chez les rats traités par chlorpyrifos et leur combinaison avec l'huile essentielle pendant 60 jours.....	83
Figure 41 : Variation de la respiration mitochondriale dans le foie chez les rats traités par la mixture des deux pesticides et leur combinaison avec l'huile essentielle pendant 60 jours.....	84
Figure 42 : Variation de la respiration mitochondriale dans le foie chez les rats traités avec l'huile essentielle et témoins pendant 60 jours.....	84
Figure 43 : Variation du gonflement mitochondrial des cellules hépatiques chez les rats traités et témoins pendant 60 jours du traitement.....	85
Figure 44 : Variation de la perméabilité mitochondriale dans le foie chez les rats traités par lufenuron, chlorpyrifos, lufenuron+chlorpyrifos et leur combinaison avec l'huile essentielle pendant 60 jours du traitement.....	86
Figure 45 : Variation de la perméabilité mitochondriale dans le foie chez les rats témoins et traités par l'huile essentielle pendant 60 jours.....	86

Liste des abréviations

AChE :	Acétylthiocholine
AChE-Er :	Acétylcholinestérases érythrocytaires
ACTH :	Hormone adrénocorticotrope
ALAT :	Alanine aminotransférase
ASAT :	Aspartate aminotransférase
ATP :	Adenosine triphosphate
BBC :	Bleu brillant de coomassie
BHA :	Hydroxyanisol butylé
BHT :	Butylhydroxytoluène
BSA :	Albumine de sérum de bœuf
Ca²⁺ :	Ion calcium
CAT :	Catalase
C. <i>Cyminum</i> :	<i>Cuminum cyminum</i>
C-DNB :	Chlorodinitrobenzene
CL₅₀ :	Concentration létale pour 50 % des individus
CPF :	Chlorpyrifos
CPG/SM :	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
CPO :	Chlorpyrifos-oxon
CO₂ :	Dioxyde de carbone
COX :	Cyclo-oxygénase
CRH :	Corticotropine
Cu :	Cuivre
CYP :	Cytochrome
DL₅₀ :	Dose létale pour 50 % des individus
DTNB :	Acide 5,5' dithiodis-2-nitrobenzoïque
ERO ou ROS :	Espèces réactives de l'oxygène
ERN :	Espèces réactives à l'azote
Fe :	Fer
g :	Gramme
GOD :	La glucose oxydase
GOT :	Oxaloacétate de glutamate transaminase
GPx :	Glutathion peroxydase
GSH :	Glutathion réduit
GST :	Glutathion S-transférase
H :	Hydrogène
HE :	Huiles essentielles
HEc :	Huile essentielle <i>Cuminum cyminum</i>
H₂O₂ :	Peroxyde d'hydrogène
HPA :	Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien
IGR :	Régulateurs de croissance des insectes
IRC :	Insuffisance rénale chronique
Kg :	Kilogramme
LPO :	Peroxydation lipidique
LUF :	Lufenuron
Mn :	Manganèse
MDA :	Malondialdéhyde
MDH :	Malate déshydrogénase

Liste des abréviations

MPT :	Transition de perméabilité mitochondriale
mmol :	Milimole
NaClO :	Hypochlorite
NADPH :	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
Na₂SO₄ :	Sulfate de sodium anhydre
NH⁴⁺ :	Ions d'ammoniac
Ni :	Nickel
NO• :	Oxyde nitrique
NO :	Oxyde d'azote
NO₂ :	Dioxyde d'azote
NOEL :	Dose sans effet observable
NOS :	Oxyde nitrique synthase
O₂• :	Anion super oxyde
¹O₂ :	Oxygène singulet
OH• :	Radical hydroxyl
ONOO- :	Peroxyde nitrite
OPs :	Insecticides organophosphorés
PR :	Poids relatifs
PTPM :	Pores transitoires de perméabilité mitochondriale
SCCO₂ :	Extraction par fluide supercritique
SCh :	Thiocholine
SD :	Hysrodistillation
SO :	Stress oxydatif
SOD :	Superoxyde dismutase.
TBARS :	Thiobarbituric reactive species
TCA :	Acide tri chloro-acétique
TCP :	3, 5, 6-trichloro-2-pyridinal
TGP :	Pyruvate de glutamate transaminase
TNB :	Acide thionitrobenzoïque
UV :	Ultraviolet.
μmol :	Micromole
V :	Volume
Zn :	Zink
4-HNE :	4-hydroxynonéal

Introduction

Introduction

La pollution de l'environnement et les risques potentiels pour la santé, y compris les cas d'intoxication humaine aiguë et chronique, peuvent résulter entre autres à l'utilisation massive de pesticides dans les programmes agricoles et de santé publique (Kamath et Rajini, 2007). Des quantités résiduelles de pesticides ont été détectées dans de nombreux échantillons ménagers et environnementaux, notamment : le sol, la poussière domestique et les résidus de nourriture (Poet *et al.*, 2004). Ils sont capables de provoquer un stress oxydatif et des changements histopathologiques chez l'homme et l'animal, et peuvent entraîner une embryotoxicité, une tératogénicité, des anomalies immunologiques, des changements neurocomportementaux, une toxicité pour le développement et la reproduction, une neurotoxicité (Breslin *et al.*, 1996 ; Ki *et al.*, 2013), modifications hématologiques (Uzun et Kalender, 2013) et toxicité testiculaire (Joshi *et al.*, 2007).

Les insecticides organophosphorés (OPs) constituent l'une des classes de pesticides les plus utilisées dans l'agriculture (Kamath and Rajini, 2007 ; El-Bini Dhouib *et al.*, 2015). Le chlorpyrifos (CPF) est l'un des insecticides organophosphorés les plus utilisés dans les applications domestiques, agricoles, industrielles et de santé publique (Richardson et Chambers, 2005). Il produit des problèmes toxicologiques en raison de sa forte persistance dans l'environnement et de sa capacité à s'accumuler dans les tissus adipeux (Bagchi *et al.*, 1995). Ce dernier est responsable des effets cholinergiques aigus exercés par l'inhibition de l'acétylcholinestérase, empêchant ainsi l'hydrolyse de l'acétylcholine, ce qui mène à une stimulation massive des récepteurs cholinergiques (Abou-Donia *et al.*, 2006 ; Saulsbury, 2009 ; Stapleton et Chan, 2009).

L'industrie phytosanitaire a développé de nouvelles molécules insecticides sélectives à faibles risques écotoxicologiques (Régulateurs de croissance des insectes (IGR)), pour remplacer les insecticides conventionnels (Berghiche *et al.*, 2007). De nouvelles molécules non polluantes naturelles et synthétiques ont été développées. Elles sont plus sélectives, de grande stabilité métabolique et environnementale (Dhadialla *et al.*, 2005), et agissent sur des processus biochimiques spécifiques aux organismes visés (El-Sayed *et al.*, 1997).

Lufenuron (LUF) est un nouveau membre de la classe des benzoylphénylurées des inhibiteurs de la synthèse de chitine (Thomas *et al.*, 1997 ; Wilson et Cain, 1997 ; Beugnet, 2004 ; Butter *et al.*, 2003 ; Wang *et al.*, 2012 ; El-Sheikh, 2014) et sa production incorrecte ou insuffisante peut entraîner des malformations de l'exosquelette (Mayer *et al.*, 2013). Il est utilisé en médecine vétérinaire en tant que produit prophylactique contre les puces, en raison de son effet inhibiteur non spécifique sur la synthèse de la chitine, probablement lié à l'inhibition de la sérine protéase (Mancianti *et al.*, 2009), affectant ainsi l'élasticité et la fermeté de l'endocuticule. En conséquence,

la cuticule est incapable de supporter l'insecte et résiste aux rigueurs de la mue, conduisant à la mort de l'insecte (Simon, 2015). Lufenuron peut entraîner le développement d'une inflammation de la peau et de démangeaisons (Mayer *et al.*, 2013). Il est embryotoxique et tératogène pour les organismes non ciblés. Ainsi, l'exposition au lufenuron dans la chaîne alimentaire peut avoir des conséquences indésirables chez les vertébrés (Pinakin *et al.*, 2011).

Le foie est connu comme le site du métabolisme et de la détoxification des nombreux produits toxiques (Ozkan *et al.*, 2012), de sorte qu'il est exposé à une grande variété de produits endogènes et exogènes tels que les toxines environnementales (pesticides, métaux, etc....), et les produits chimiques présents dans les aliments ou les boissons (Wight, 1982 ; Raina *et al.*, 2015). En raison de la capacité métabolique élevée et de l'apport sanguin portal, les réponses toxiques sont relativement fréquentes dans le foie par rapport aux autres organes (Kumar *et al.*, 2011), il est le principal organe affecté par la pollution et le plus sensible aux facteurs de stress oxydatif (Amin et Hashem, 2012).

Le stress oxydatif causé par les espèces réactives à l'oxygène (ROS) a été rapportée dans la peroxydation lipidique membranaire, les dommages à l'ADN, la mutagenèse et a été associé aux différentes étapes du processus de formation de la tumeur (Sidhu *et al.*, 2014). Le stress oxydatif peut survenir lorsqu'il existe un déséquilibre entre la production de ROS et les défenses anti-oxydantes (Victor, 2013).

Le rôle des mitochondries dans la régulation de la mort cellulaire est maintenant bien établi la génération d'espèces réactives de l'oxygène et la libération de protéines de l'espace inter membranaire des mitochondries conduisent à l'activation de différents modes de mort cellulaire. Les ROS sont impliqués dans une grande variété de pathologies (Orrenius *et al.*, 2007).

Récemment, il y a un intérêt croissant pour les radicaux libres contenant de l'oxygène dans les systèmes biologiques. Plusieurs études ont examiné l'activité biologique de différents métabolites secondaires, y compris les polyphénols et les huiles essentielles (Bettaieb *et al.*, 2010). Les épices comme le cumin seraient les meilleures sources de production d'antioxydants naturels et de conservateurs alimentaires (Patil *et al.*, 2016), et les huiles essentielles sont les principaux constituants aromatisants d'une épice (Nadeem et Riaz, 2012). Les huiles essentielles de *Cuminum cyminum* (HEc) ont présenté une activité antioxydante modérée (Bettaib *et al.*, 2010), une activité antibactérienne (Iacobellis *et al.*, 2005 ; Derakhshan *et al.*, 2008) et des activités antifongiques (Fakoor, 2013). Ces huiles essentielles consommées par l'homme peuvent avoir un effet antagoniste sur l'effet de l'exposition aux composés xénobiotiques (Banerjee *et al.*, 1994).

Pour cette raison, nous nous sommes intéressés en premier lieu à étudier la toxicité de deux pesticides : le chlorpyrifos (CPF) et lufenuron (LUF), ainsi leur mixture sur un modèle biologique

les rats "Wistar" au niveau cytosolique et mitochondriale suite à une exposition orale répétée pendant 60 jours, et en deuxième lieu à évaluer l'effet protecteur d'huile essentielle du *Cuminum cyminum* contre la toxicité de ces deux xénobiotiques. Pour atteindre cet objectif, ce mémoire 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

Chapitre I

Généralités sur les pesticides



I. Généralités sur les pesticides

I.1. Quelques définitions

Le mot « pesticide » provient de l'association du mot anglais « pest », qui provient du latin « pestis » (fléau, calamité), signifie animal, insecte, plante ou nuisible (virus, bactérie, champignon, ver, mollusque, insecte, rongeur, oiseau et mammifère) susceptibles d'être nuisible à l'homme et à son environnement et du suffixe « -cide » ((latin -cida, du verbe latin caedo, caedere) qui signifie tuer (Cotonat, 1996 ; Couteux et Salaün, 2009).

Les pesticides sont des substances chimiques, minérales ou organiques de synthèse, également appelées « phytosanitaires », ou plus récemment « phytopharmaceutiques », par les fabricants et utilisateurs, (Levet *et al.*, 2008) destinés à assurer la destruction (ou prévenir l'action) des animaux, végétaux, microorganismes ou virus nuisibles. Ils sont largement utilisés sur les cultures agricoles (Bonvallot et Dor, 2004).

L'article 2 de la loi algérienne du journal officiel N° 87-17 du 1 Aout 1987 relative à la protection phytosanitaire désigne par pesticide : « Toute substance ou mélange de substance destinée à repousser, détruire ou combattre les organismes nuisibles, en vue de la protection ou l'amélioration de la production végétale ».

Dans les textes relatifs à la réglementation européenne, on distingue :

Les produits phytopharmaceutiques (au sens de la Directive 91/414/CE du 15 /8/ 1991) sont « les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentes sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur et destinées à :

- protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou prévenir leur action ;
- exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives (par exemple, les régulateurs de croissance) ;
- assurer la conservation des produits végétaux, pour autant que les substances ou produits ne fassent pas l'objet de dispositions particulières du Conseil ou de la Commission concernant les agents conservateurs ;
- détruire les végétaux indésirables, ou détruire des parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux.

Les biocides (au sens de la directive 98/8/CE) sont les produits dénommés anciennement « Pesticides à usage non agricole ». Ils concernent « les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives destinées à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou les combattre de toute autre manière par une action chimique ou biologique » (Calvet *et al.*, 2005).

I.2. Classification des pesticides

La classification de toutes des pesticides dépend de divers critères. L'hétérogénéité de ce vaste ensemble de produits rend difficile toute classification, certains auteurs séparent les pesticides minéraux de pesticides organiques (organochlorés et organophosphorés), d'autres préfèrent classer ces produits selon la cible visée (insecticides, herbicides, fongicides...etc.) ou selon leur domaine d'utilisation ou leur toxicité. Il existe alors plusieurs possibilités de classification, mais les deux systèmes de classification les plus utilisés sont le groupe chimique auquel le pesticide appartient ou l'organisme sur lequel il agit. A ces deux types de classification s'ajoute la classification en fonction de leur usage (Djeffal, 2014).

I.2.1. Classification chimique

En se basant sur le premier critère, on peut distinguer trois catégories de pesticides :

- A) Les pesticides inorganiques** : ils sont peu nombreux mais certains sont utilisés en très grande quantité comme le soufre ou le cuivre. Ce sont des pesticides très anciens dont l'emploi est apparu bien avant la chimie organique de synthèse. Aujourd'hui ne persistent de cette catégorie qu'un seul herbicide employé en tant que désherbant total (chlorate de sodium) et quelques fongicides à base de soufre et de cuivre comme la bouillie bordelaise (Fillatre, 2011).
- B) Les pesticides organo-métalliques** : ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe fait d'un métal comme le Zinc ou le Manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate (exemple : mancozèbe avec le Zinc, manèbe avec le Manganèse) (Fillatre, 2011).
- C) Les pesticides organiques** : ils sont très nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques (Tomlin, 2006). Il existe actuellement plus de 80 familles benzimidazoles et d'autres groupes (tels que le dérivé dipiridiniques, organe ou classes chimiques dont les plus connues sont : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthrinoïdes, les triazines, les

benzimidazoles et d'autres groupes (tels que le dérivé dipiridiniques, organe mercuriale, organocincades, fenoxiacétiques, pyréthrinés et les dérivés triaziniques) (Bazzi, 2010).

I.2.2. Classification biologique

Il existe principalement trois grandes familles de produits phytosanitaires selon la nature des cibles visées : les herbicides, les fongicides et les insecticides. A celles-ci s'ajoutent des produits divers tels que les acaricides (contre les acariens), les nématicides (contre les nématodes), les rodenticides (contre les rongeurs), les taupicides (contre les taupes), les molluscicides (contre les limaces et les escargots essentiellement), les corvicides et les corvifuges (contre les oiseaux ravageurs de culture et surtout les corbeaux) et enfin les répulsifs (Bonvallot et Dor, 2004 ; ACTA, 2005 ; EL Bakouri, 2006).

I.2.3. Classification selon l'usage

Les substances actives peuvent être aussi classées en fonction de leur usage : les pesticides sont utilisés dans plusieurs domaines d'activités pour lutter contre des organismes vivants nuisibles. Il existe six catégories de pesticides selon leur destination de traitement, à savoir : les cultures, les bâtiments d'élevage, les locaux de stockage des produits végétaux, les zones non agricoles, les bâtiments d'habitation, l'homme et les animaux. L'agriculture est de loin l'activité la plus consommatrice de pesticides. L'usage non agricole ne représente, en effet, que 12% du marché global (Fillatre, 2011).

I.3. Devenir des produits phytosanitaires dans l'environnement

L'utilisation importante des produits phytosanitaires en agriculture a engendré la contamination de l'environnement. A la suite de leur application, ces molécules sont susceptibles de quitter leur site d'application et sont alors considérées comme des micropolluants organiques à l'origine de la pollution de tous les compartiments environnementaux (Schrack *et al.*, 2009). Du fait de leur écotoxicité et de leur potentiel de bioaccumulation, ces molécules présentent un risque pour l'environnement en général (Wendt-Rasch *et al.*, 2004 ; Capkin *et al.*, 2006). Ils peuvent alors être soumis à différents processus (Figure 01) :

- La photo-dégradation (Marcheterre *et al.*, 1988) ; aussi bien dans l'air, à la surface du sol, dans l'eau ou sur la plante, les liaisons chimiques entre les atomes des pesticides peuvent être détruites par photodégradation par les rayons ultraviolets et les rayons X (Scheunert, 1992).

- La dégradation des pesticides par le phénomène d'hydrolyse aqueuse ; ces réactions se déroulent notamment dans la phase aqueuse du sol et peuvent être les processus de dégradation chimique les plus importants (Marlière, 2001).
- La biodégradation (biotique) grâce aux micro-organismes présents dans le sol ; les paramètres qui favorisent le développement bactérien accélèrent les processus de biodégradation : pH, température, aération et humidité. La présence de matières organiques, qui par ailleurs contribuent à la rétention des produits, en tant que substrat, joue un rôle moteur de la dégradation biotique (Colin, 2000)
- La rétention dans le sol jusqu'à la formation de résidus liés par adsorption (par exemple l'accumulation des fongicides à base de cuivre dans les sols) ; la rétention se réfère à la capacité du sol à retenir le pesticide et à limiter son déplacement à l'intérieur ou à l'extérieur de la matrice du sol. Les sols à forte teneur en matière organique adsorbent les produits phytosanitaires et limitent ainsi leur migration avec l'eau qui percole et circule en surface, d'où une protection des milieux aquatiques (Calvet *et al.*, 2005).
- Le transport vers d'autres compartiments environnementaux par :

Des processus physicochimiques (volatilisation) ; la volatilisation dépend essentiellement des propriétés physico-chimiques du composé mais elle peut être influencée par les conditions météorologiques (température, humidité et ensoleillement) et la nature de la surface d'adsorption des pesticides (Marinovich *et al.*, 1996). Le transfert vers l'atmosphère peut être suivi de retombées sur le sol ou vers les eaux de surface. Les molécules volatilisées peuvent être entraînées très loin et rester dans l'atmosphère pendant un certain temps (Levine et Oris, 1999). L'eau constitue un vecteur par lixiviation ou ruissellement (Van Der Werf, 1996). L'eau excédentaire est susceptible de mobiliser et de faire migrer les produits phytosanitaires vers les ressources en eau. C'est ainsi le caractère polluant d'un produit est, en pratique, associé à l'incapacité du sol à le retenir ou à le dégrader, avant qu'il ne soit, sous l'effet de l'eau, dispersé dans l'environnement (Meyer *et al.*, 2003). Ce transfert s'opère soit latéralement par ruissellement, soit verticalement par lixiviation (Marinovich *et al.*, 1996).

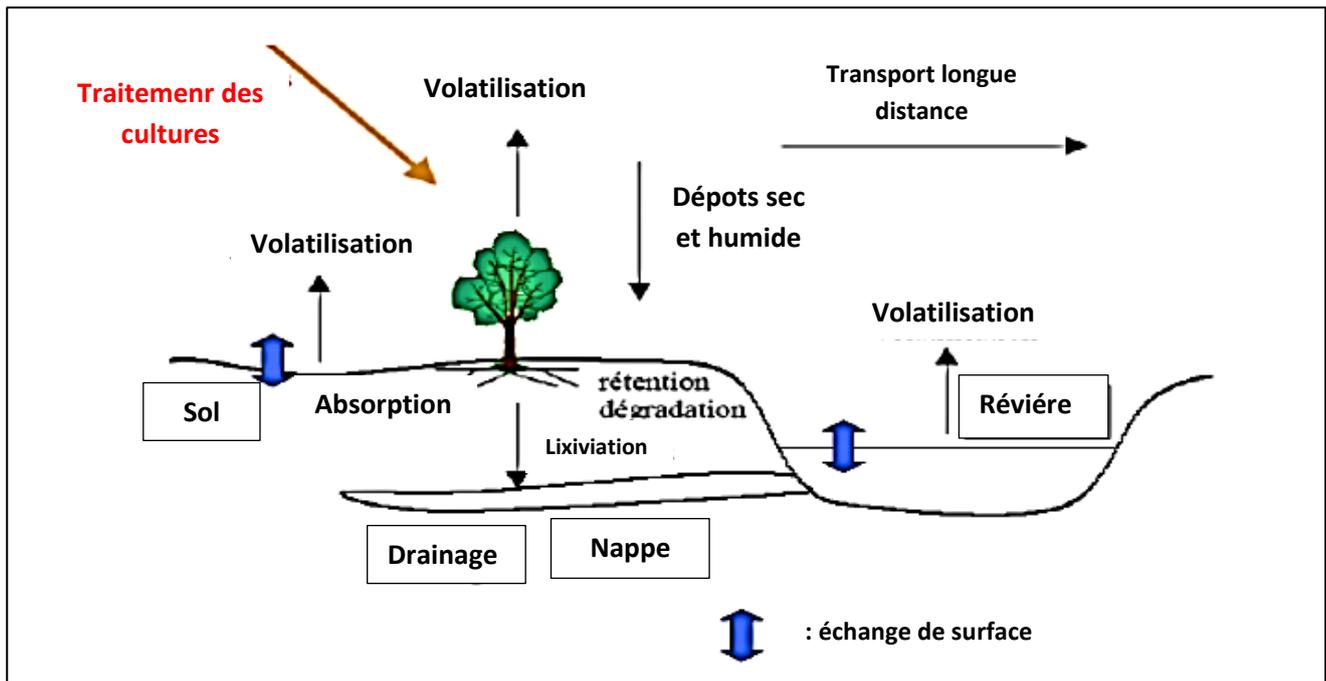


Figure 1 : Devenir des pesticides dans l'environnement (Boucher, 2003).

I.4. Modes d'exposition de l'homme aux pesticides

Les pesticides sont utilisés, non seulement dans l'agriculture, mais aussi par divers autres acteurs (industries, collectivités territoriales) ainsi qu'en usage domestique et vétérinaire. Des problèmes de résidus dans les légumes, les fruits...etc., sont aussi mis en évidence. L'exposition aux pesticides se caractérise donc par une multiplicité des voies d'exposition, ces substances pouvant pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion et par inhalation. La grande variété de produits rend difficile l'évaluation des expositions des populations, qu'il s'agisse de la population exposée professionnellement (agriculteurs ou manipulateurs), ou de la population générale (Merhi, 2008). L'exposition de l'homme aux pesticides s'effectue selon trois voies possibles : orale (alimentation), respiratoire (air) et cutanée (Figure 02).

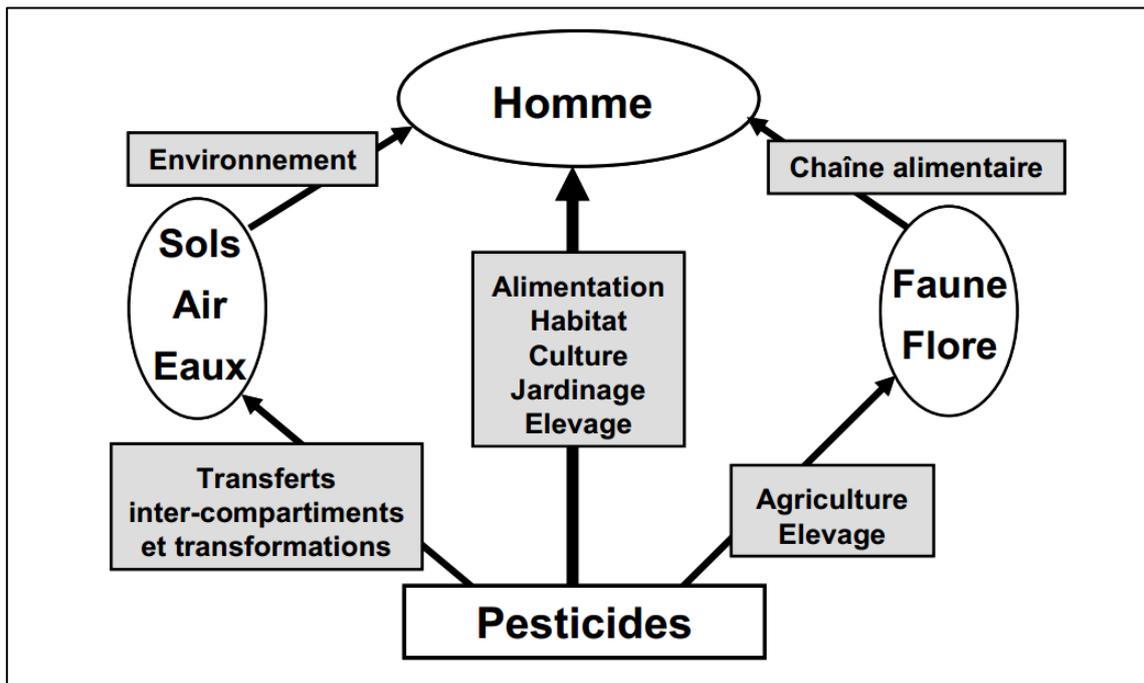


Figure 2 : Mode d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides (CCP, 2002).

Les agriculteurs et les éleveurs demeurent les personnes les plus fortement exposées aux divers produits phytosanitaires car ce sont eux qui appliquent ces substances sur les sols et les cultures et car il peut parfois se dégager des poussières lors de la récolte et de la manipulation de denrées stockées, ainsi qu'en préparant la ration destinée aux animaux de rente. D'ailleurs, les effets observés au sein de cette population sont aussi bien des conséquences à court terme qu'à long terme (Van Balen, 2006).

Il ne faut cependant pas oublier les enfants, qui sont plus fortement exposés à ces xénobiotiques. Les enfants boivent et mangent proportionnellement plus que les adultes en raison des besoins liés à la croissance (Landrigan et Kimmel, 2004). L'exposition de l'enfant aux pesticides peut avoir lieu très tôt, *in-utero* via le placenta suite à l'exposition de la mère (Saunders *et al.*, 2004), mais également après la naissance, soit directement par exposition aux contaminations domestiques (pesticides utilisés dans la maison ou le jardin ou habiter dans une zone agricole) (EEA et WHO, 2002) ou via le lait maternel et l'alimentation (Jurewicz *et al.*, 2006), soit indirectement pour les enfants de parents professionnellement exposés (Ex, agriculteurs). Il est à noter que l'alimentation a été montrée comme une source d'exposition majeure des enfants aux pesticides organophosphorés (Lu *et al.*, 2006 ; 2008).

I.5. Effets toxiques des pesticides sur l'homme

L'intoxication aux pesticides est une cause importante de morbidité et de mortalité à travers le monde (Achour *et al.*, 2011).

Selon Multigner, (2005) l'exposition aux produits phytosanitaire peut se présenter sous trois formes

- Une exposition unique, intense et de courte durée à laquelle sont soumises les personnes chargées de la préparation ou de l'épandage de pesticides lors d'accident.
- Une exposition intense et prolongée auxquels sont soumis les personnes chargées de la préparation, de l'épandage ou de la récolte.
- Une exposition faible et prolongée.

I.5.1. Effets aigus

L'intoxication aiguë se manifeste en général immédiatement ou peu de temps après une exposition à un pesticide. Les signes d'intoxication observés sont très divers et parfois difficiles à reconnaître. On a souvent tendance à attribuer les malaises ressentis à d'autres causes qu'une intoxication par des pesticides, car ils ne sont pas toujours spécifiques. Les risques d'intoxications les plus élevées apparaissent essentiellement lors de la manipulation du produit. Les voies de contamination suspectées sont la peau, les systèmes respiratoire et digestif. Les signes symptomatiques les plus souvent rencontrés lors d'une intoxication aiguë sont les céphalées, les nausées, les vomissements, les étourdissements, la fatigue, la perte d'appétit et les irritations cutanée ou oculaire, difficultés respiratoires, convulsions et même coma (Samuel et Michaud, 2000). Ces effets nocifs peuvent être réversibles ou irréversibles (Bliefert et Perraud, 2001).

I.5.2. Effets chroniques

La toxicité chronique est, quant à elle, nettement moins bien connue et beaucoup plus difficile à mettre en évidence. Elle peut être associée à une absorption de faibles quantités de pesticides présents dans différents milieux sur une longue période de temps. Elle peut provoquer différents problèmes de santé : cancers, problèmes de reproduction et de développement, affaiblissement du système immunitaire, troubles hormonaux et neurologiques (Stéphanie, 2006). L'évaluation des effets toxiques à long terme est complexe car de nombreux paramètres entrent en jeu comme la nature des composés et leurs propriétés toxicodynamiques, leur synergie, les différents types d'exposition etc.. (Samuel, 2001).

I.5.3. Effets cancérigènes

Dans plusieurs études épidémiologiques, une association significative avec l'utilisation des pesticides a été retrouvée pour certaines localisations tumorales telles que les cancers des lèvres, de la prostate, de l'estomac, des reins, du cerveau, mais également la plupart des cancers du système hématopoïétique (leucémies, myélomes multiples et surtout les lymphomes non hodgkiniens), le mélanome cutané et les sarcomes des tissus mous (Van Leeuwen *et al.*, 1999 ; Buzio *et al.*, 2002 ; Hardell *et al.*, 2002 ; Mills et Yang, 2003 ; Alavanja *et al.*, 2004 ; Baris *et al.*, 2004). D'autre part, des études de corrélations géographiques (ou écologiques) ont suggéré des associations entre l'exposition environnementale (habitations dans des zones polluées ou agricoles) et l'augmentation du risque de mortalité par cancer (Viel et Richardson, 1993 ; Viel et Challier, 1995 ; Lee *et al.*, 2008).

I.5.4. Effets sur le système endocrinien et la reproduction

Les mécanismes d'action varient selon les pesticides et se révèlent complexes et non totalement explorés. Les pesticides agiraient comme des perturbateurs endocriniens et interféreraient avec les hormones, les facteurs de croissance ou les neurotransmetteurs (Vos, 2000 ; Hotchkiss *et al.*, 2008). Ils entraîneraient de nombreuses pathologies comme l'infertilité masculine, la mort fœtale, l'avortement spontané et la mortinatalité, ainsi que des malformations congénitales (Engel, 2000 ; Weselak *et al.*, 2007 ; Wigle *et al.*, 2008).

I.5.5. Effets neurologiques et neurocomportementaux

Pour certains pesticides, principalement les organophosphorés qui inhibent l'activité de l'acétylcholinestérase et les carbamates, la neurotoxicité est le mécanisme même de leur mode d'action (Kamel et Hoppin, 2004) tel que les pyréthriinoïdes qui sont capables d'induire des paresthésies et des convulsions à des doses massives. Les dérivés de l'urée qui sont associés à différentes altérations tels que des troubles neurologiques centraux, une polyneuropathie, ainsi que les anciens organochlorés qui peuvent entraîner des convulsions épileptiformes en particulier le DDT. Plusieurs études écologiques et épidémiologiques ont montré une relation entre le risque de développer la maladie de Parkinson et l'utilisation professionnelle des pesticides en particulier les organochlorés, organophosphorés et carbamates (Baldi *et al.*, 2003 ; Brown *et al.*, 2006 ; Hancock *et al.*, 2008).

I.5.6. Effets sur l'immunité

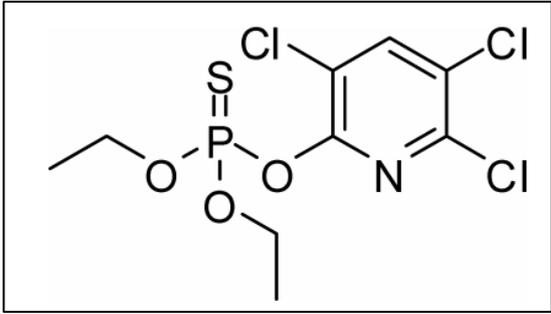
Les pesticides sont capables d'agir sur le système immunitaire selon différents mécanismes. Ils entraînent des pathologies immunitaires plus fréquentes chez l'enfant que chez l'adulte (Duramad *et al.*, 2007). Les résultats des études épidémiologiques ont montré que l'exposition chronique aux pesticides peut jouer un rôle dans le développement de certaines pathologies respiratoires comme l'asthme et la bronchite chronique (Whalen *et al.*, 2003 ; Rowe *et al.*, 2007). D'après les études menées par Fournier *et al.*, 1992, Theus *et al.*, 1992 et Filipov *et al.*, 2005, certains pesticides agissent essentiellement *in-utero* en altérant l'activité des macrophages et en diminuant la quantité des lymphocytes au niveau de la rate et du thymus fœtal. Ces produits phytosanitaires entraînent également, sur des animaux adultes, une diminution de la production d'immunoglobulines et de la prolifération des lymphocytes T (Fournier *et al.*, 1992).

I.6. Le chlorpyrifos (CPF)

Parmi les pesticides, les composés organophosphorés (OPs) sont les plus utilisés et les plus variés sur le marché actuellement. Ils représentent plus de 40 % des insecticides employés aujourd'hui dans le monde (Andreescu *et al.*, 2002).

Le CPF est un insecticide organophosphoré à large spectre. Il est utilisé aussi bien pour tuer des moustiques que des cancrelats, des larves de scarabées, des puces, des mouches, des termites, des fourmis et des poux. Il est utilisé comme insecticide sur les graines, le coton, les fruits, les noix dans les champs et vergers, mais aussi sur des pelouses et plantes ornementales. Il est aussi répertorié comme antiparasitaire en utilisation directe sur le mouton et des dindes, mais aussi en utilisation indirecte, pour le traitement de site de cheval, des niches de chien, des poubelles de stockage et des établissements commerciaux. Le chlorpyrifos a été utilisé de manière extensive dans les quartiers urbains et les fermes artificielles pour les applications sur gazon (Whyatt *et al.*, 2007 ; Braquenier, 2009).

Tableau 1: Propriétés physico-chimiques du chlorpyrifos (Suntio *et al.*, 1988 ; Braquenier, 2009 ; Eaton *et al.*, 2008 ; Saulsbury, 2009).

Propriétés physico-chimiques	Caractéristiques
Nom pour l'utilisation professionnelle	Dursban (mais aussi Empire, Eradex, Lorsban, Paequant, Piridane, Scout, et Stipend).
Structure chimique	C ₉ H ₁₁ C ₁₃ NO ₃ PS 
Nom chimique	(IUPAC) O,O-diéthyl O-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate
Forme commerciale	Poudre, granulés, suspension micro-encapsulées et gel
La pression de vapeur du CPF à 25° C	2,49 x 10 ⁻³ Pa
Solubilité dans l'eau	2 mg/L à 25°C.

Le CPF est fortement absorbé par le sol. Il persiste dans le sol pendant des périodes allant de 60 à 120 jours. Sa dégradation est principalement attribuable à l'action microbienne. Ses produits de dégradation comprennent le trichloro-3,5,6 pyridinol-2, qui est ensuite scindé en composés organochlorés et en dioxyde de carbone. La vitesse d'hydrolyse du CPF dans l'eau augmente en fonction du pH et de la température ainsi qu'en présence de cuivre. De 30 à 60% du CPF présent en phase aqueuse peut disparaître en moins de 24 heures par adsorption, dégradation et vaporisation (Hughes *et al.*, 1980).

Cet insecticide est responsable des effets cholinergiques aigus exercés par son métabolite actif : le CPF-oxon qui inhibe l'AChE, empêchant ainsi l'hydrolyse de l'acétylcholine, ce qui mène à une stimulation massive des récepteurs cholinergiques. Les signes de toxicité incluent un dysfonctionnement autonome, des fasciculations, des saisies et des convulsions, et une détresse respiratoire (Abou-Donia *et al.*, 2006 ; Saulsbury, 2009 ; Stapleton et Chan, 2009). Toutefois, seuls les effets des molécules séparées ont été

étudiés, mais les risques associés aux mélanges des pesticides sont loin d'être estimés (Ross *et al.*, 2006).

I.6.1. Limite de toxicité chez les animaux

Chez les mammifères, la toxicité aigüe du CPF est considérée comme modérée. Les différentes DL₅₀ (dose létale tuant 50 % des individus) par voie orale chez différentes espèces, sont présentées dans le tableau 02.

Tableau 2 : Valeurs des DL₅₀ du chlorpyrifos par voie orale chez différentes espèces (Braquenier, 2008 ; Eaton *et al.*, 2008).

Espèces	DL ₅₀ (mg/kg)
Dow-Wistar rats	
Mâle	163
Femelle	135
Sherman rats	
Male	118
Femelle	155
Souris	60
Poulet	32
Lapin	1000
Mouton	800
Canard	76
Pigeon	10

Chez les mammifères plus grands, la toxicité est plus modérée encore : chez le lapin, DL₅₀= 1000 mg/kg et chez le mouton 800 mg/kg. Le CPF paraît aussi toxique chez les oiseaux de grande taille que chez les petits mammifères : DL₅₀ orale chez le canard 76 mg/kg, mais très toxique chez les oiseaux de petite taille : DL₅₀ oral chez le pigeon : 10 mg/kg (Braquenier, 2008).

I.6.2. Toxicocinétique du chlorpyrifos

I.6.2.2.1. Absorption du chlorpyrifos

La voie principale d'exposition au chlorpyrifos dans la population générale est la voie orale par ingestion d'aliments (principalement des fruits et des légumes) ou de boissons (Saunders, 2012). Il existe une autre voie par ingestion non alimentaire, à cause du comportement exploratoire et d'oralité, « main-bouche », principalement chez les enfants (sol, poussière, objets...) (INSERM, 2013).

Chez les humains, le CPF est relativement bien absorbé par l'intestin et le transfert aux nourrissons par l'allaitement n'a pas encore été suffisamment pris en compte. Nolan en 1984, a estimé la biodisponibilité du CPF chez des humains volontaires administré par

voir orale, à au moins 70%. En effet, cette quantité a été retrouvée dans les urines après une seule administration. La biodisponibilité réelle pourrait être bien supérieure car une partie de la dose pourrait être éliminée par d'autres voies (la bile, les fèces...) ou retenue dans le corps dans les lipides ou liés à des protéines. Suite à une exposition accidentelle à dose massive, les symptômes (confusion, migraine, nausée, vomissements...) apparaissent en moins d'une heure suggérant que l'absorption et la distribution au cerveau sont rapides après une exposition à forte dose (Cochran, 2002). Concernant la présence de CPF dans le lait maternel, l'équipe de Sanghi, en 2013, a trouvé des quantités de pesticides dépassant les doses journalières autorisées par l'Organisation Mondiale de la Santé dans le lait maternel humain. Ce domaine d'étude requiert un approfondissement et pourrait être une voie d'exposition supplémentaire pour le nouveau-né (Rauh *et al.*, 2015). Surtout lorsque l'on sait que le fœtus est très vulnérable au transfert placentaire de chlorpyrifos, car le placenta échoue dans son rôle de barrière aux OPs qui sont lipophiles. Par exemple, en prénatal, les OPs ont été détectés dans l'amnios (Loyant, 2017).

I.6.2.2.2. Distribution du chlorpyrifos

La concentration la plus élevée de CPF est retrouvée majoritairement dans les tissus adipeux et également dans le cerveau. Le CPF se lie à de nombreuses protéines comme l'albumine du plasma. En conséquent la fraction libre de CPF retrouvée dans le sang et qui est disponible pour la distribution dans d'autres compartiments corporels est faible. Il s'accumule plus dans les tissus adipeux que dans les autres tissus à cause de sa forte lipophilie (Bakke, 1976 ; Timchalk, 2002). La concentration de chlorpyrifos dans les tissus riches en lipides, dont le cerveau, a été rapportée plus élevée et plus stable que la concentration dans le sang (Barr, 2006).

Il y a eu peu d'études consacrées à la distribution du CPF et de ses métabolites dans les tissus humains, cependant le CPF peut se concentrer dans le lait maternel. Toutefois, dans une étude épidémiologique effectuée chez des femmes enceintes et chez leurs nouveau-nés, exposés au CPF, par utilisation résidentielle, les chercheurs ont trouvé des concentrations de CPF dans le sang de la mère et dans le cordon ombilical, comparables et très corrélés, indiquant que le CPF passe au travers du placenta (Whyatt, 2005). Une étude réalisée en Inde, a trouvé un taux relativement élevé de chlorpyrifos dans le lait de mères pendant l'allaitement (Sanghi, 2003).

I.6.2.2.3. Biotransformation du chlorpyrifos

Chez les mammifères, les insecticides organophosphorés sont rapidement métabolisés, principalement par le foie, même si une petite fraction reste stockée dans les tissus adipeux (Bakke et Price, 1976). Ce métabolisme se fait par différentes voies. L'une d'entre elles est la désulfuration oxydative de la double liaison avec le phosphore, par un cytochrome P450 du foie (qui est spécifique à l'OP) qui donne lieu au métabolite oxon. De cette manière (Figure 03), le chlorpyrifos est métabolisé par un Cytochrome P450 en Chlorpyrifos-Oxon (CPO), le métabolite actif. C'est la bioactivation du CPF. Il peut ensuite être hydrolysé par une A-estérase (la PON-1) ou une B-estérase en diéthylphosphate (DEP) et 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinal (TCP), ce dernier étant le métabolite inactif. C'est une des voies de détoxification du CPF. Il en existe une autre dans laquelle le CPF peut être directement hydrolysé en diéthylthiophosphate et TCP. Ce dernier métabolite est éliminé dans les urines sous forme de sulfates ou glucuronides de TCP (Barr et Angerer, 2006 ; Timchalk *et al.*, 2006 ; Khokhar et Tyndale, 2012).

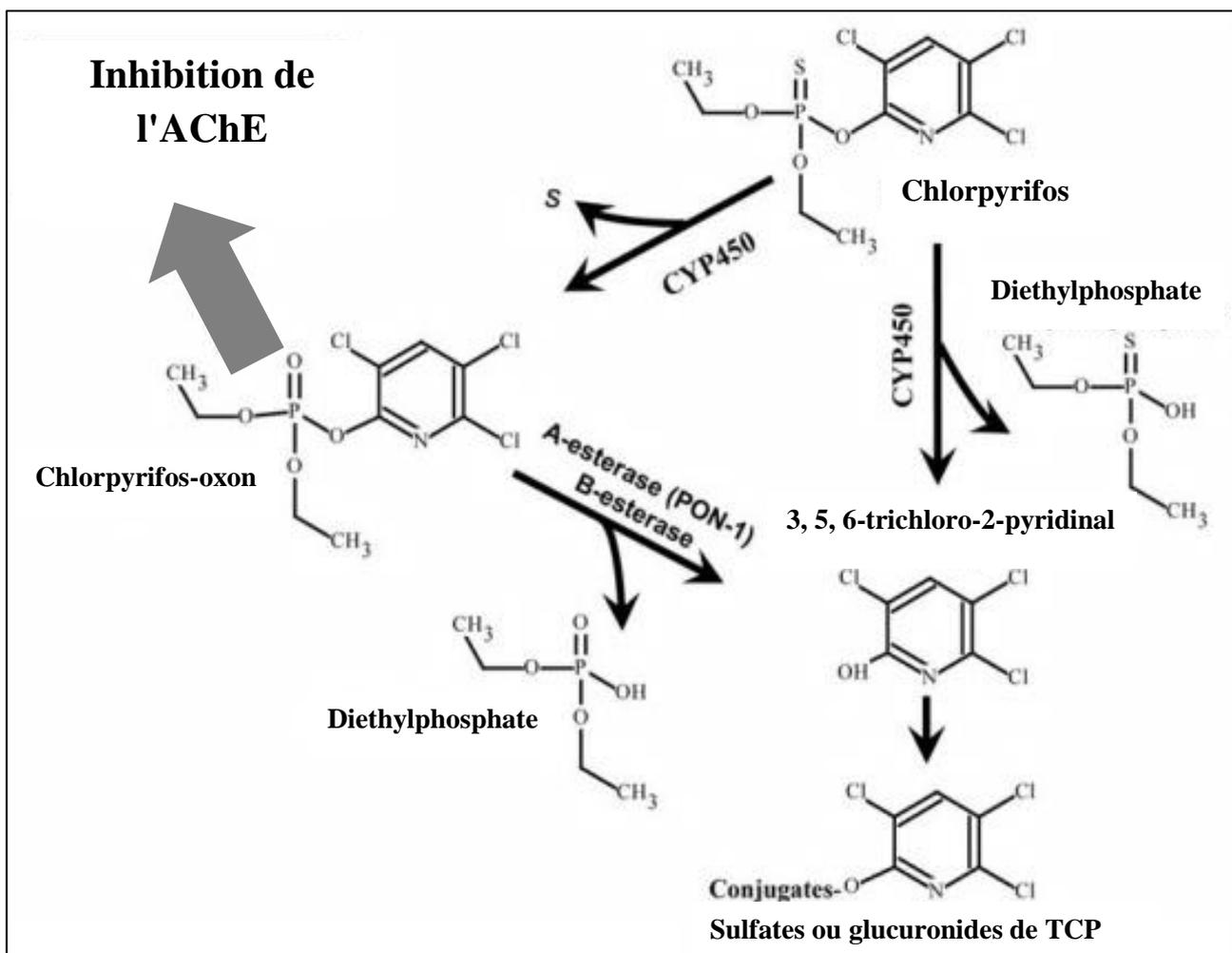


Figure 3 : Schéma de la métabolisation du CPF (Timchalk *et al.*, 2006).

Le métabolisme du CPF se réalise principalement dans le foie et dans une moindre mesure dans les entérocytes du petit intestin (Poet, 2003). Cette différence de métabolisme trouverait son origine dans la répartition des activités entre les enzymes de bioactivation et de détoxification. En particulier, l'enzyme PON1 qui désactive le CPO aurait une activité 100X plus basse dans les entérocytes que dans le foie (Braquenier, 2009).

L'activité des enzymes de métabolisation des OPs dans le foie (Cytochrome P450, PON-1, B-Estérases) des nouveau-nés et des jeunes individus est plus faible que chez l'adulte, ceci tant chez l'homme que les rongeurs (Mueller *et al.*, 1983 ; Johnson, 2003 ; Eaton *et al.*, 2008). L'équilibre entre la bioactivation métabolique du CPF et la désactivation ou détoxification, qui est responsable de la susceptibilité à la toxicité des OP, dépend donc de l'âge. Il y a plus de bioactivation, donc plus de production de CPO chez les jeunes que chez les adolescents et adultes (Ma et Chambers, 1994).

I.6.2.2.4. Elimination du chlorpyrifos

Les organophosphorés sont rapidement métabolisés et presque entièrement excrétés dans les urines (Aprea, 2000). L'élimination du CPF du sang, sa clairance, est très rapide. Il existerait une élimination plus lente à partir d'un compartiment secondaire, qui est due à une liaison à des protéines du plasma et la distribution de CPF dans les tissus adipeux peu perfusés. Ces métabolites sont excrétés dans les urines en 48h ou forment des glycurono- et sulfoconjugués qui sont aussi excrétés dans les urines (Eaton *et al.*, 2008).

I.6.3. Mécanisme d'action du chlorpyrifos

Les OP, très lipophiles, franchissent aisément toutes les barrières biologiques et se fixent de façon covalente aux cholinestérases de la jonction synaptique des fibres du système nerveux central, non dosables en pratique courante. Ils se fixent également aux acétylcholinestérases érythrocytaires (AChE-Er) et aux pseudocholinestérases ou « butyrylcholinestérases » du foie et du plasma. Ces dernières sont très sensibles mais peu spécifiques, renseignant généralement sur une exposition à un inhibiteur des cholinestérases. Même si une faible quantité franchit la barrière hématoencéphalique, elle suffit pour inhiber en quelques secondes pratiquement toute l'activité acétylcholinestérasique (AChE) (Bismuth, 1993 ; Worek *et al.*, 2005). En ce qui concerne le CPF, il exerce cette action sur les cholinestérases, principalement via son métabolite actif, le CPF oxon (CPO). L'interaction entre les formes « oxon » et l'AChE se fait de manière covalente par phosphorylation de la sérine du centre catalytique (Lotti, 1995).

L'inhibition de l'enzyme AChE provoque une accumulation d'acétylcholine dans les synapses et une surstimulation des récepteurs muscariniques et nicotiniques (Costa, 2006), causant de nombreuses anomalies telles que la paralysie et même la mort (Matozzo *et al.*, 2005).

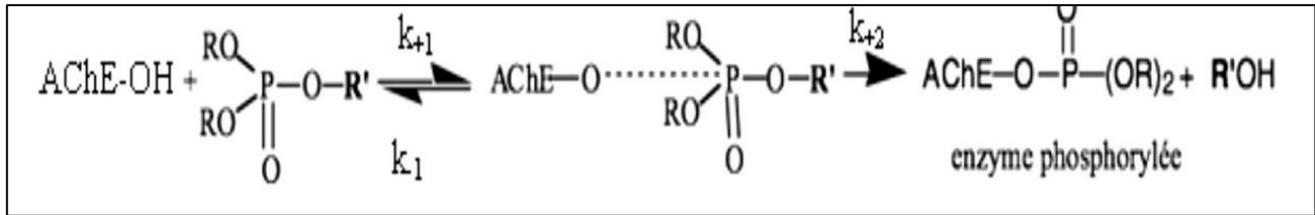


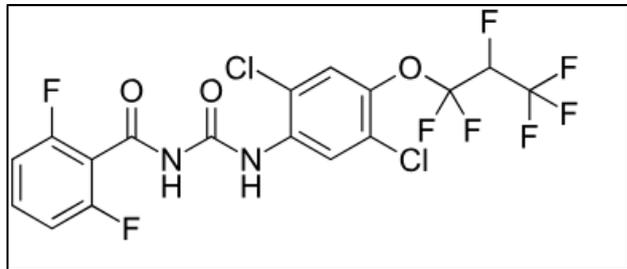
Figure 4 : Mécanisme d'inhibition de l'acétylcholinestérase par les organophosphorés.

I.7. Lufenuron

Les régulateurs de croissance des insectes (IGR) sont des insecticides de la troisième génération moins toxiques et compatibles avec la lutte contre les insectes nuisibles qui ont été développés pour réduire la pollution des aliments et de l'environnement. Ces composés ont un mode d'action spécifique sur les insectes et une toxicité plus faible à l'égard des vertébrés que les insecticides classiques (Grenier et Grenier, 1993), et ils sont souvent utilisés après l'apparition de résistance aux pyréthrinoides et aux organophosphates (Belinato *et al.*, 2013). Les IGRs ont été classés en 2 groupes, le premier correspond aux inhibiteurs de la synthèse de la chitine qui intervient dans la formation de la cuticule et le deuxième correspond à des substances qui perturbent l'action des hormones spécifiques des insectes (hormones juvéniles et ecdysone) (Tunaz et Uygun, 2004).

Lufenuron est un membre relativement nouveau de la classe des inhibiteurs de la synthèse de la chitine appartenant à la benzoylphénylurée (Wilson et Cain, 1997 ; Butter *et al.*, 2003 ; Deivanayagam *et al.*, 2010 ; El-Sheikh, 2014). Il est un ingrédient actif des médicaments vétérinaires contre les puces, de la prévention du ver du cœur et de la médecine anthelminthique (Deivanayagam *et al.*, 2010). Il est utilisé pour lutter contre les larves de Lépidoptères et de Coléoptères sur le coton, le maïs et les légumes, ainsi que sur les agrumes (Farrag et Shalby, 2007). Ces insecticides restent utilisés dans le domaine de l'arboriculture, la sylviculture et la santé publique pour l'élimination des moustiques vecteurs de maladies humaines (Sparks, 2013).

Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques du lufenuron (Beugnet, 2004 ; FAO, 2007 ; EFSA, 2008 ; EFSA, 2017).

Propriétés physico-chimiques	Caractéristiques
Nom pour l'utilisation professionnelle	" Program®, Match 050 EC", un concentré émulsifiable.
Nom chimique	1- [2,5-dichloro-4- (1,1,2,3,3,3-hexafluoropropoxy) phényl] - 3- (2,6-difluorobenzoyl) - urée.
Structure chimique	<p style="text-align: center;">$C_{17}H_8Cl_2F_8N_2O_3$</p> 
Solubilité dans l'eau à 25°C°	48 µg/l at 25°C
La pression de vapeur à 25 C°	$< 4 \times 10^{-6}$ Pa

I.7.1. Limite de toxicité chez les animaux

Lufenuron s'est révélé faiblement toxique chez le rat lorsqu'il était administré par voie orale, cutanée ou par inhalation (DL_{50} orale et cutanée > 2000 mg / kg, CL_{50} par inhalation $> 2,3$ mg/L/4h, concentration maximale possible de l'aérosol). Légèrement irritant pour les yeux (mais ne déclenchant pas la classification), le composé n'était pas irritant pour la peau mais présentait des propriétés de sensibilisation cutanée. Par conséquent, la classification proposée était R43 « Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau » (EFSA, 2008 ; FAO et WHO, 2015). Le lufenuron est un composé stable et persistant et c'est le seul résidu significatif observé dans les études de métabolisme (EFSA, 2017).

I.7.2. Toxicocinétique du lufenuron

I.7.2.1. Absorption, distribution et excrétion

Lufenuron n'est que partiellement absorbé par le tractus gastro-intestinal (concentration sanguine maximale après 8h) après administration orale. Le niveau de résidus le plus élevé a été trouvé dans les graisses où une accumulation marquée a été observée après administration répétée. Des quantités significativement inférieures ont été

mesurées dans d'autres tissus, y compris le cerveau. Il est très lentement excrété principalement dans les fèces par un processus non biliaire avec une demi-vie terminale dans le gras de 5 à 13 jours, et l'excrétion urinaire ne représentait qu'environ 1% de la dose cumulée (EFSA, 2008 ; Busschers et Dourson, 2015). Il possède une action systémique. En effet, ses caractéristiques lipophiles permettent au lufenuron de se fixer dans les tissus graisseux et aux protéines plasmatiques (Beugnet, 2004 ; Oudin, 2017). La demi-vie terminale moyenne de l'excrétion fécale après administration orale était de 256 heures et après administration intraveineuse, de 232 heures (Busschers et Dourson, 2015).

I.7.2.2. Biotransformation du lufenuron

Lufenuron (CGA 184699) essentiellement inchangé était excrété chez les rats dans les fèces et était également retenu dans les tissus principalement dans les graisses, démontrant que le lufenuron était faiblement métabolisé. On suppose qu'une voie de dégradation mineure est le clivage du fragment benzamide, donnant l'urée CGA 238277 (1-[2,5-Dichloro-4-(1,1,2,3,3,3-hexafluoropropoxy) phenyl]-urea et l'acide 2,6-difluorobenzoïque. Un clivage supplémentaire du fragment uréido du CGA 238277 conduit à l'aniline CGA 224443 (2,5-dichloro-4-(1,1,2,3,3,3-hexafluoro-propoxy) phenyl amine). Il est établi que les rats excrètent l'acide 2,6-difluorobenzoïque pratiquement inchangé. D'après les métabolites fécaux et lipidiques identifiés ou caractérisés, qui représentent environ 85% de la dose, la voie métabolique est résumée à la figure 07 (Busschers et Dourson, 2015).

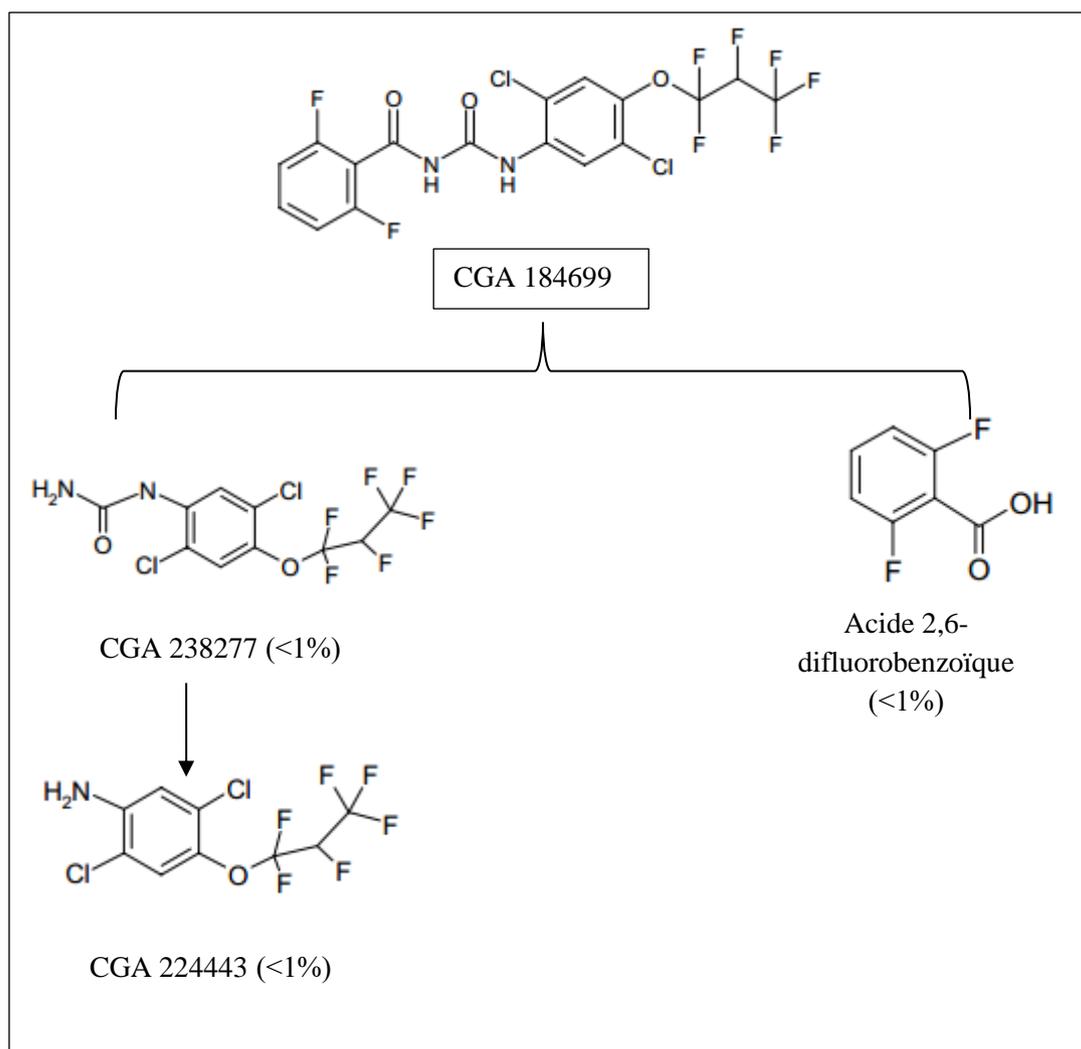


Figure 5 : Biotransformation du lufenuron.

I.7.3. Mécanisme d'action du lufenuron

Les benzoylphénylurées sont des inhibiteurs de la biosynthèse de la chitine qui constitue l'exosquelette et intervient dans les différentes mues des insectes. Ces insecticides constituent l'étape finale de la synthèse de la chitine, c'est-à-dire la polymérisation de la N-acétylglucosamine (Figure 06), affectant ainsi l'élasticité et la fermeté de l'endocuticule. Par conséquent, la cuticule est incapable de supporter l'insecte et résiste aux rigueurs de la mue, menant à la mort de l'insecte (Simon, 2015 ; Yu, 2015). Ainsi les benzoyl-phényl-urées inhibent l'éclosion des œufs ainsi que les mues des larves, ils ont de plus un effet sur la fécondité et la prolificité des adultes femelles (Blagburn *et al.*, 1995 ; Beugnet, 2004). Cependant, le mécanisme d'action de ces insecticides reste inconnu. Ils n'agiraient pas sur la chitine synthase directement mais plutôt sur le transport de la chitine via les vésicules endoplasmiques ou le transport à travers la membrane plasmique (Merzendorfer, 2006).

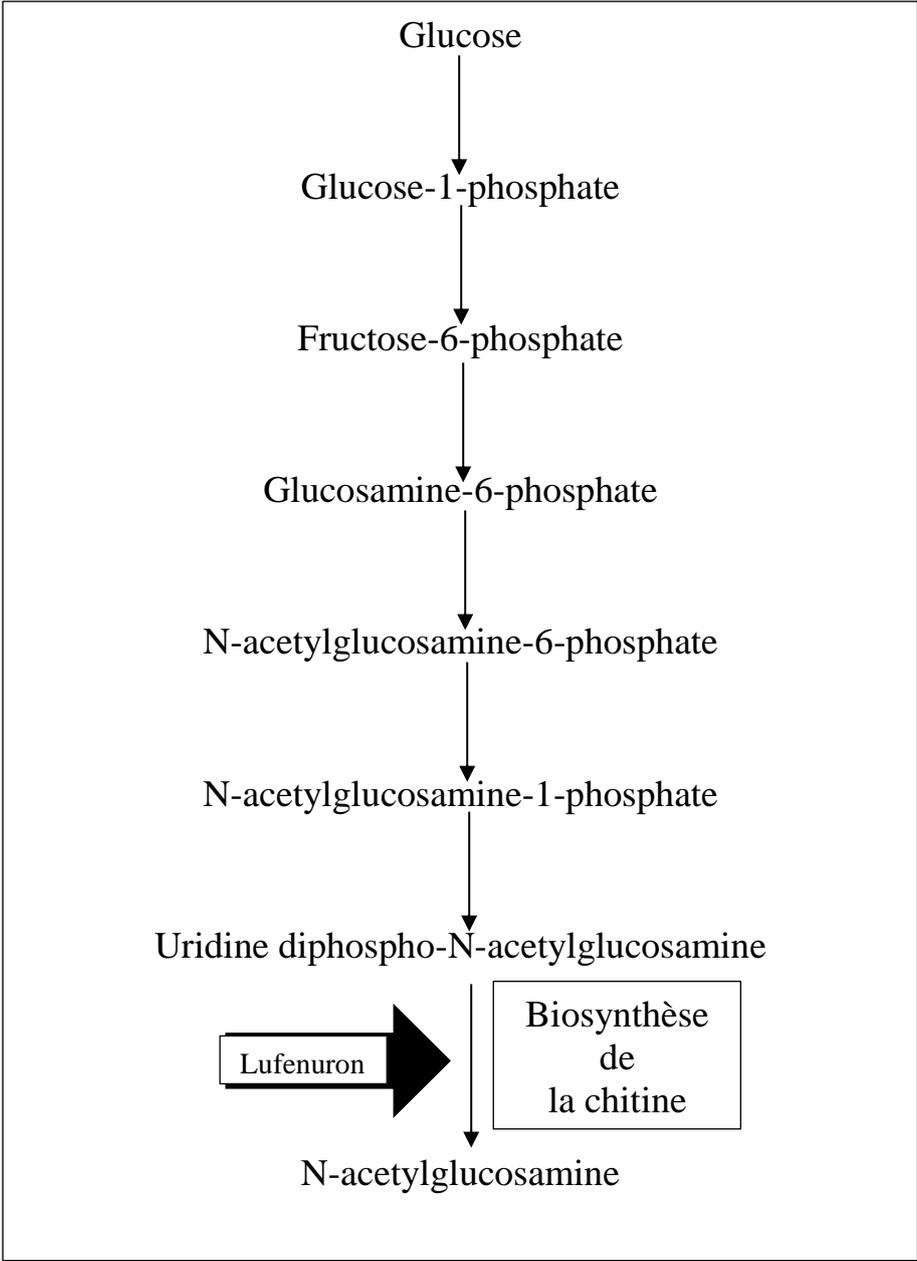


Figure 6 : Inhibition de la biosynthèse de la chitine par lufenuron.

Chapitre II

Stress oxydatif



II. Stress oxydatif

II.1. Définition

Le stress oxydatif, dénommé également stress oxydant, résulte d'un déséquilibre de la balance « pro-oxydants/antioxydants » en faveur des oxydants, ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides avec perturbations des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation. Un stress oxydatif peut donc se développer suite à une surproduction des oxydants comme les espèces activées de l'oxygène et/ou à une diminution des systèmes de défense antioxydants (Sergent *et al.*, 2000 ; Almasiova *et al.*, 2012).

II.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), ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003 ; Finaud *et al.*, 2006). Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voire quelque nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (Goto *et al.*, 2008).

II.2.1. Type des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés (Evans *et al.*, 2002 ; Chavan et Melinkeri, 2013) :

- Addition d'un électron libre à un non radical : $NR + e^- \rightarrow R^\cdot$
- Perte d'un électron par un non radical : $NR - e^- \rightarrow R^\cdot$
- Scission homolytique d'une liaison covalente : $A-B \rightarrow A^\cdot + B^\cdot$.

Il existe majoritairement deux grandes familles d'espèces réactives : les espèces réactives à l'oxygène (ERO) et les espèces réactives à l'azote (ERN).

II.2.1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS Reactive Oxygen Species)

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. Certains de ces dérivés portent un électron non apparié (= radical libre) (Tsumbu *et al.*, 2012). Les radicaux libres de l'oxygène incluent les radicaux libres comme l'anion super oxyde

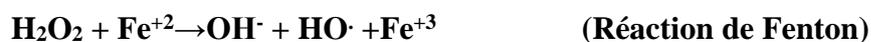
(O₂^{•-}), le radical hydroxyle (OH[•]) et des composés réactifs oxydants non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), l'oxygène singlet (¹O₂).

A- Anion super oxyde (O₂^{•-})

L'anion superoxyde est formé par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire (Birben *et al.*, 2012). C'est le premier radical formé lors du transport des électrons au niveau de la chaîne respiratoire (Harman, 2000 ; Sisein, 2014). Les différentes enzymes permettant cette réaction sont : la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, les cyclo-oxygénases (COX), les lipo-oxygénases, les oxyde nitrique synthases NOS (Nitric Oxyde Synthases), les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450) et celles de la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie (Cai et Harrison, 2000 ; (Birben *et al.*, 2012).

B- Radical hydroxyle (OH[•])

Les radicaux hydroxyles sont les radicaux libres de l'oxygène les plus réactifs qui peuvent réagir avec l'ADN, les glucides, les nucléotides, les protéines et sont à l'origine de lésions de nécrose (Favier, 2003). Le radical hydroxyle (OH[•]) peut être induit par la réduction de l'H₂O₂ selon les réactions suivantes :



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

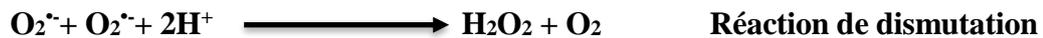
C- Oxygène singulet (¹O₂)

Il correspond à une forme excitée de l'oxygène O₂, il possède la même structure électronique que l'oxygène mais 'agencée' différemment, à savoir que les électrons de la couche externe initialement non appariés se sont appariés. Il n'est donc pas radicalaire. Son état 'excité' lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l'oxygène (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003).

D- Radical peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Le radical H₂O₂ 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 (fer et cuivre). L'H₂O₂ n'est pas un radical libre mais a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs (Saoudi *et al.*, 2011). Il est généré dans le

peroxysome, les microsomes et les mitochondries par une réaction de dismutation (Ramirez *et al.*, 2008).



E- Les radicaux peroxy ROO^{\cdot}

Ils font plutôt partie de la « deuxième vague » d'ERO, dans la mesure où leur formation fait suite à une réaction d'oxydation d'acides gras polyinsaturés par d'autres ERO formées préalablement. La partie « R » correspond à un acide gras polyinsaturé. Leur formation comprend 2 étapes principales : la première (réaction 1) correspond à la perte d'un atome d'hydrogène causée notamment par un radical hydroxyl, et la seconde (réaction 2) à la liaison avec une molécule d'oxygène (Mc Michael.2007 ; Powers et Jackson. 2008).



II.2.1.2. Radicaux libres nitrogènes

A- Oxyde nitrique (NO^{\cdot} ; monoxyde d'azote)

Le monoxyde d'azote est un radical libre ubiquitaire synthétisé à partir de l'arginine grâce à l'action d'enzymes oxyde nitrique synthase (NOS) (Arora, 2002). L'oxyde nitrique est un gaz qui ainsi diffuse bien à travers les membranes. Il est susceptible de réagir avec d'autres radicaux libres pour former des espèces oxydantes : le peroxydinitrite NO_3^- (Ross *et al.*, 2006 ; Kalender *et al.*, 2010).

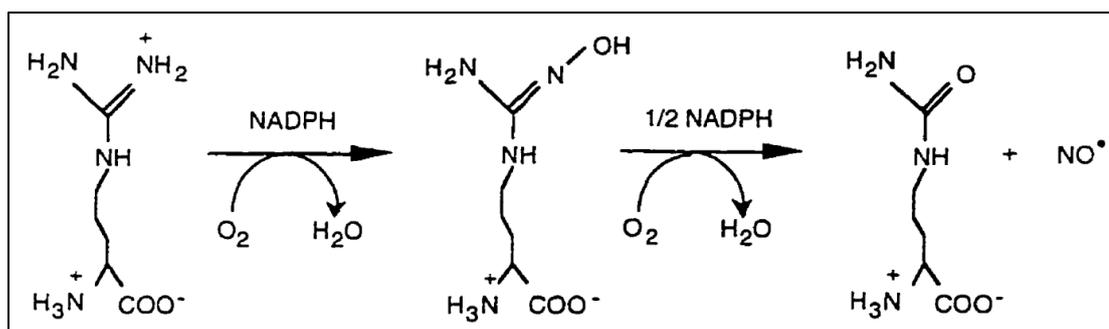
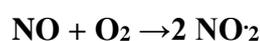


Figure 7 : Réaction de formation du NO à partir de l'arginine (Bédard, 1998).

B- Dioxyde d'azote (NO_2^{\cdot})

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



Le NO_2^\bullet attaque les doubles liaisons des acides gras non-saturés et transforme ces acides soit de cis-en trans, soit par nitration. Des lipoxgénases transforment l'acide arachidonique en eicosanoïdes (prostaglandines, leucotriènes ...etc), qui sont des messagers intra et extracellulaires indispensables. Ces réactions créent des radicaux libres. Comme le $\text{O}_2^{\bullet-}$, NO_2^\bullet peut exister assez longtemps dans les espaces intra membranaires aprotiques (Sisein, 2014).

C- Peroxyde nitrite (ONOO^-)

Le Peroxynitrite est un dérivé d'oxygène très toxique qui provoque des lésions tissulaires très graves en plus de l'oxydation des LDL. Le ONOO^- non radicalaire est instable (durée de vie < une seconde) (Ghafourifar et Cadenas, 2005). 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 (Monocada, 1993). La réaction du NO avec l'anion superoxyde donne naissance au peroxynitrite.

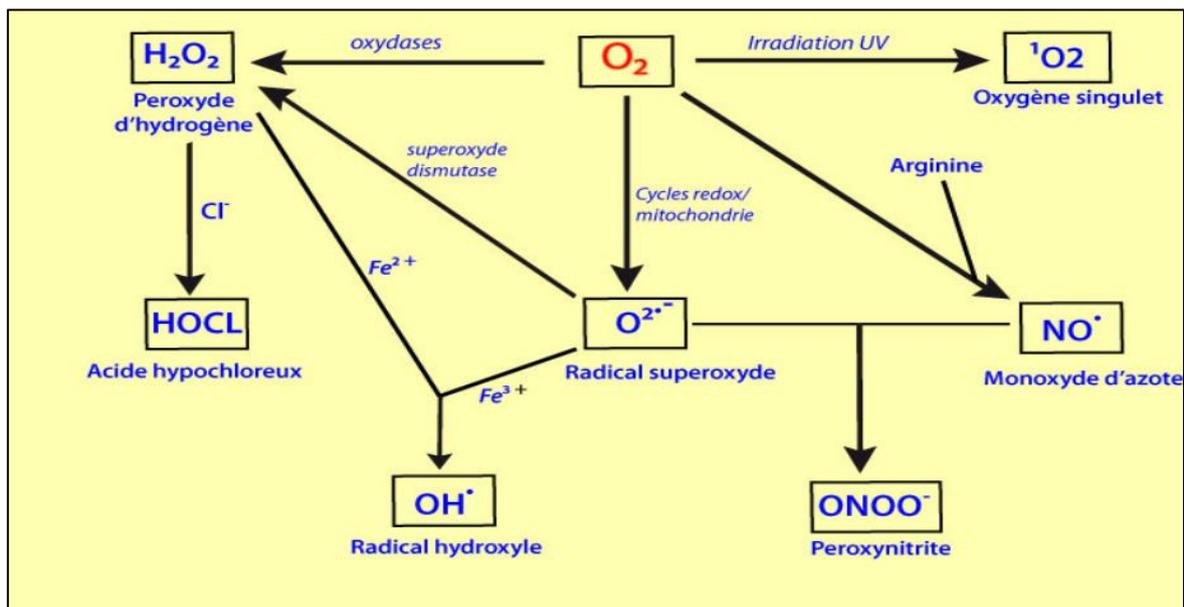
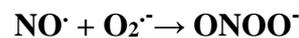


Figure 8 : Mécanisme de production des EROs et ERNs (Boubali, 2017).

II.2.2. Origine des radicaux libres

Il existe deux origines possibles : endogène et exogène.

II.2.2.1. Origine endogène

Plusieurs sources sont identifiées et parmi lesquelles la chaîne respiratoire mitochondriale est considérée comme la source majeure des ERO. Au niveau de la membrane des mitochondries, les composés réduits issus du cycle de Krebs (NADH et FADH_2) sont oxydés, libérant ainsi de l'hydrogène (H^+) et des électrons. Les électrons sont transférés le long de la chaîne respiratoire au

cours des réactions d'oxydoréduction jusqu'à l'accepteur final, l'oxygène, qui est réduit complètement en H_2O (Carrière *et al.*, 2006). Les complexes I et III de la chaîne mitochondriale semblent être à l'origine de la fuite des électrons. Ainsi, compte tenu de l'intense activité de la chaîne respiratoire dans les organismes aérobies, la fuite des électrons d'origine mitochondriale semble être la source majoritaire d'EROs dans la cellule, devant les activités de la NADPH oxydase membranaire (Moller *et al.*, 1996 ; Tessier et Marconnet, 2015).

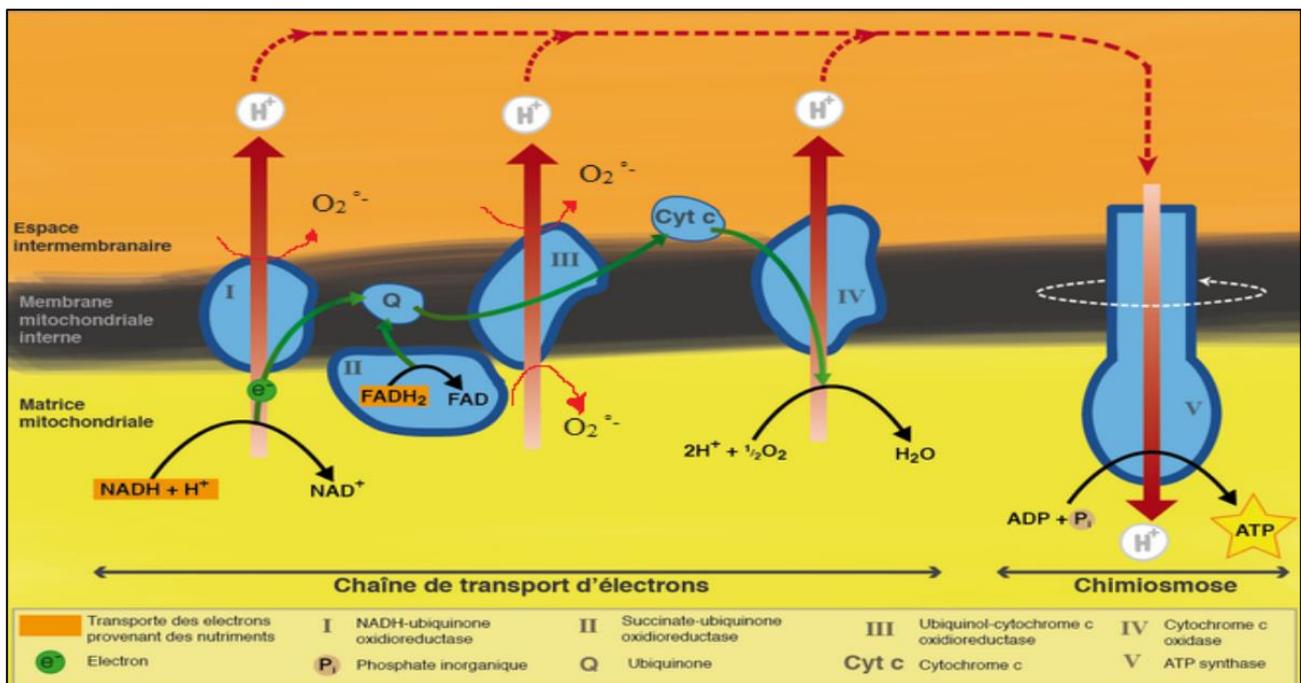


Figure 9 : Formation des ERO dans la chaîne respiratoire (Deaton et Marlin, 2011).

Il y a d'autres sources endogènes physiologiques : Les NADP (H) oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent l' O_2 en utilisant NADH ou NADPH comme substrat. L'enzyme xanthine oxydase joue un rôle important dans la production des ERO (particulièrement l' $O_2^{\bullet-}$ 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'oxydants 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 (Pincemail, 2002 ; Valko *et al.*, 2006).

II.2.2.2. Origine exogène

Les radicaux libres exogènes proviennent d'un apport extérieur, c'est-à-dire lors d'une exposition à un environnement toxique. Les rayonnements UV, l'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO_2) présents dans notre environnement (goudron, tabac...ect), l'ingestion d'alcool, La

xanthine oxydase et l'aldéhyde oxydase peuvent oxyder le principal métabolite de l'éthanol, l'acétaldéhyde, avec production d' O_2^- . D'autre part, l'éthanol stimule également la production d'anion superoxyde par induction de la synthèse des NADPH oxydase, NADPH cytochrome réductase et du cytochrome P450 (Robineau et Mercier, 2012) certains médicaments anticancéreux et antibiotiques sont responsables de la synthèse de radicaux libres (Basdevant *et al.*, 2006).

II.3. Conséquences du stress oxydant

Les ERO réagissent avec les premières molécules qu'elles rencontrent. Elles ont comme cible les lipides, les protéines, les glucides et les acides nucléiques (Gamet-Payraastre, 2011).

II.3.1. Peroxydation lipidique

L'attaque des lipides concerne les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides Membranaires. Dans le premier cas, l'oxydation des lipides ou des lipoprotéines circulants aboutit à la formation des LDL oxydés qui peuvent être captés par les macrophages et former des dépôts lipidiques de la plaque d'athérome. Dans le second cas, l'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité de la membrane et perturbe le fonctionnement des récepteurs et des transporteurs se trouvant à leur surface (Favier, 2003). La peroxydation lipidique fournit ainsi une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malonyldialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE) ont été étudiés comme marqueur de la peroxydation lipidique (Uzunhisarcikli et Kalender 2011 ; Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003 ; Garait, 2006).

II.3.2. Oxydation des protéines

A cause de leur abondance dans l'organisme, les protéines sont une cible importante des ERO. Les modifications oxydatives des protéines provoquent l'introduction d'un groupement carbonyle dans la protéine (formation de protéines carbonylées « PC ») (Fetoui *et al.*, 2010). Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les métaux de transition. Elles peuvent être classées en deux catégories : d'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE. Il s'ensuit plusieurs types de modifications : fragmentation de la protéine, oxydation des chaînes latérales des acides aminés et formation de liaisons croisées entre deux protéines (El-Khawaga *et al.*, 2012). Ces modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées (Fetoui *et al.*, 2010) et deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées.

II.3.3. Dommages de l'ADN

Les ADN nucléaires et mitochondriaux constituent une cible cellulaire importante. Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation (Grandjean, 2005). 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 (Favier, 2003). 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, 2011).

II.3.4. Oxydation des glucides

Le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes, H_2O_2 et OH^\bullet , qui entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde (Barnoud *et al.*, 2007).

II.4. Système de défense antioxydants

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). Les stratégies de défense vis-à-vis du stress oxydant sont variées (Figure 10).

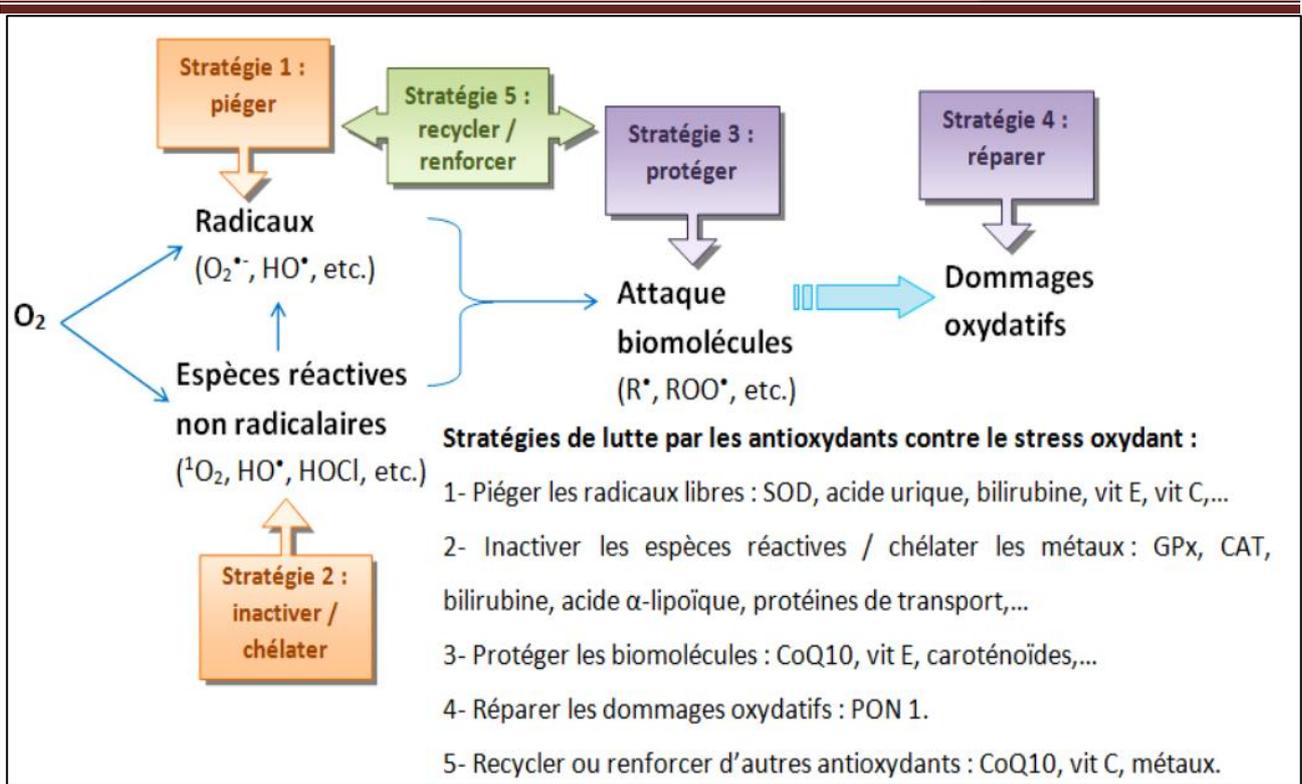


Figure 10 : Stratégie du lutte des antioxydants contre le stress oxydant (Grandjean, 2005).

Deux catégories peuvent être distinguées : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques (Figure 11) (Cadenas, 1989 ; Goudable et Favier, 1997).

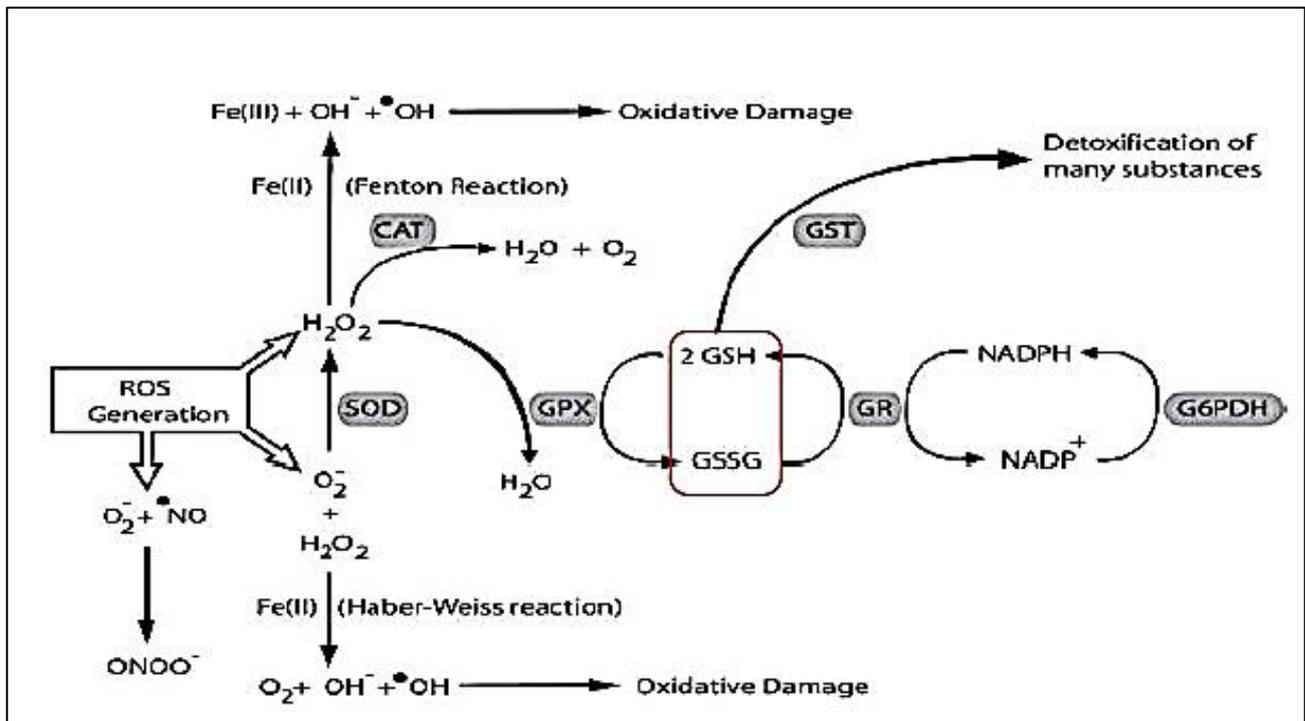


Figure 11 : Principales enzymes antioxydantes (McCord *et al.*, 1969).

II.4.1. Systèmes antioxydants enzymatiques

II.4.1.1. Superoxydes dismutases

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes ; la Cu/Zn-SOD cytosolique ; la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (Crapo, 1997 ; Pincemail *et al.*, 2007 ; Zelko *et al.*, 2002).



II.4.1.2. Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme tétramérique permettant également la décomposition du H_2O_2 . Elles sont présentes dans le cytosol et la matrice mitochondriale (GPx-1), ou uniquement dans le cytosol (GPx-2), avec toutefois moins d'affinité pour l' H_2O_2 chez cette dernière, la seule dépourvue de sélénium (Mullenbach *et al.*, 1988). D'autres isoformes peuvent être extracellulaires (GPx-3), ou spécifiques de la membrane cellulaire (GPx-4) (Takahashi *et al.*, 1987 ; Comhair et Erzurum, 2002). La GPx-4 est impliquée spécifiquement dans la réduction des peroxydes lipidiques. Les GPx permettent la décomposition de H_2O_2 par l'oxydation de son Co-substrat le GSH en GSSG qui sera réduit ensuite par l'action de la glutathion réductase (Pincemail *et al.*, 2007 ; Reichel, 2010).



II.4.1.3. Catalase

La catalase (CAT) est une protéine ubiquitaire mais fortement concentrée dans le foie et les érythrocytes. Dans toutes les cellules des mammifères, à l'exception des érythrocytes, elle est localisée presque exclusivement dans les peroxysomes (riches en oxydases) ce qui limite son action par rapport à des peroxydases cytoplasmiques. La CAT est très efficace en présence d'un stress oxydant élevé et protège les cellules contre la production de l' H_2O_2 (White *et al.*, 1989 ; Tsan *et al.*, 1990) par le métabolisme de ce dernier résultant de l'action des SOD ou celui généré par l'action des oxydases pour donner de l'eau (Reichel, 2010 ; Wassmann, 2004).



II.4.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques

II.4.2.1. Antioxydants non enzymatiques liposolubles

Etant liposolubles, ils se répartissent au sein des membranes cellulaires et des lipoprotéines plasmatiques circulantes. On trouve dans cette catégorie : la vitamine E, les caroténoïdes et l'ubiquinol.

II.4.2.1.1. Vitamine E (α - tocophérol)

La vitamine E est une vitamine liposoluble qui existe sous huit dérivatifs et dont l'alpha-tocopherols est la forme la plus active chez l'être humain. Dû à son activité antioxydante puissante, elle a été considérée comme l'antioxydant membranaire majeur employé par les cellules. Son rôle antioxydant général est la protection contre la peroxydation lipidique (Belyagoubi, 2011). La vitamine E oxydée pourra être reconvertie principalement par la vitamine C, mais également par d'autres composés comme le GSH, la vitamine A et l'ubiquinol (Delattre *et al.*, 2005).

II.4.2.1.2. Caroténoïdes (Vitamine A)

La vitamine A est un nom générique pour les rétinoïdes (rétinol, rétinol et acide rétinoïque) et les provitamines A ou les caroténoïdes (béta-carotène, lutéines, lycopènes,...). Le β -carotène est le principal précurseur de la vitamine A. Il désactive l'oxygène singlet 1O_2 , et piège les radicaux peroxydes ROO \cdot (Goudable et Favier, 1997 ; Krinsky, 2014). En excès, elle pourrait agir comme pro-oxydants, et favoriser l'oxydation de l'ADN (Van Helden *et al.*, 2009).

II.4.2.1.3. Ubiquinol (Coenzyme Q10)

Le coenzyme Q10 est un transporteur d'électrons présent dans la chaîne oxydative mitochondriale, dans les membranes cellulaires, dans le plasma et dans les lipoprotéines. Il est capable de donner des électrons et permet à ce titre une protection des membranes contre la lipoperoxydation (Powers et Jackson, 2008). Il assure également un recyclage de la vitamine E, par réduction de la forme oxydée (Ernster et Forsmark-Andree, 1993).

II.4.2.2. Antioxydants non enzymatiques hydrosolubles

Ces antioxydants sont répartis dans le cytosol, le plasma et le milieu extracellulaire. On retrouve : la vitamine C, le glutathion, l'acide urique, la bilirubine et l'acide alpha-lipoïque.

II.4.2.2.1. Acide ascorbique (vitamine C)

La vitamine C ou acide L-ascorbique est hydrosoluble. Elle joue un rôle de prévention de l'oxydation dans le plasma et les fluides extracellulaires, dont elle est considérée comme le plus important antioxydant (Koolman et Röhm, 2004). Elle permet de piéger différentes ERO, et aussi de régénérer la vitamine E (Duarte *et al.*, 2007 ; Powers et Jackson, 2008).

II.4.2.2.2. Glutathion

Le glutathion est un tripeptide, il joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant il résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GP_x. Le GSH intervient également dans le cycle de régénération de 2 vitamines antioxydantes : la vitamine E et la vitamine C (Powers et Jackson, 2008 ; Douris *et al.*, 2009 ; Jones, 2002).

II.4.2.2.3. Acide urique

L'acide urique comme produit final du métabolisme des purines (Baillie *et al.*, 2007). L'acide urique est considéré comme un antioxydant car il piège l'oxygène singlet, les radicaux peroxy et hydroxyle (Esterbauer *et al.*, 1992 ; Staels *et al.*, 1998). La réaction de l'acide urique avec les oxydants entraîne la formation du radical urate, qui peut être alors réduit par l'ascorbate (Stocker et Keaney, 2004).

II.4.2.2.4. Oligoéléments

Les oligoéléments servent de cofacteurs aux enzymes antioxydants, ont aussi des propriétés antioxydantes. Des métaux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn) et dans certains micro-organismes le nickel (Ni) et le fer (Fe), jouent un rôle important en tant que catalyseur de la SOD. De la même façon le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont les éléments catalyseurs de la GP_x et la catalase, respectivement (De moffarts *et al.*, 2005).

II.4.2.2.5. Bilirubine

La bilirubine est le produit de dégradation des hèmes (ex : hémoglobine). Ses propriétés antioxydantes sont liées à sa capacité à lutter contre les radicaux peroxy ROO[•] et contre le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (Powers et Jackson, 2008). Elle est alors transformée en biliverdine oxydée, qui sera recyclée grâce à la biliverdine réductase aux dépens d'une molécule de NADPH (Neuzil et Stocker, 1993 ; Liu *et al.*, 2006).

II.4.2.2.6. Polyphénols

Les polyphénols végétaux regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins (Delattre *et al.*, 2005). Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes. Les actions biologiques des polyphénols ont été attribuées à leurs propriétés antioxydantes, que ce soit par leur capacité réductrice intrinsèque ou par leur influence sur le statut redox intracellulaire (Vauzour, 2014). En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (Delattre *et al.*, 2005).

Chapitre III

La plante medicinale et les huiles essentielles



III. La plante médicinale et les huiles essentielles

III.1. La plante *Cuminum cyminum*

Le cumin est une petite plante annuelle, originaire du Turkestan, d'où elle fut rapidement propagée dans l'ensemble des pays méditerranéens puis jusqu'en Amérique latine (Boullard, 2001). Epice et plante médicinale très populaire dans l'Égypte ancienne, le cumin était prescrit contre les affections digestives et respiratoires, ainsi que pour soigner les caries dentaires. Le cumin est largement employé au moyen Âge (Vican, 2001). Le fruit du cumin est un ingrédient essentiel dans de nombreux mélanges d'épices : baharat arabe, poudre de curry Indienne, pâte de curry Thaïlandaise et condiment cajun (Bremness, 2002).

III.1.1. Caractéristiques botaniques

Le cumin est une petite plante herbacée de la famille Ombellifères, d'une hauteur de 30 cm à feuilles parfumées, finement divisées, ombelles de petites fleurs blanches ou roses (Bremness, 2002 ; Vican, 2001). Le fruit du cumin séché (appelé aussi graine) à une couleur vert pâle qui tend vers le brun doré, possédant une forme elliptique (Verghese, 1991) d'une odeur aromatique et un goût épicé et amer (Behera *et al.*, 2004).

Règne : Plantes

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotyledones

Ordre : Apiales

Famille : Apiaceae

Genre : *Cuminum*

Espèce : *Cuminum cyminum* L. (Quezel et Santa, 1963).

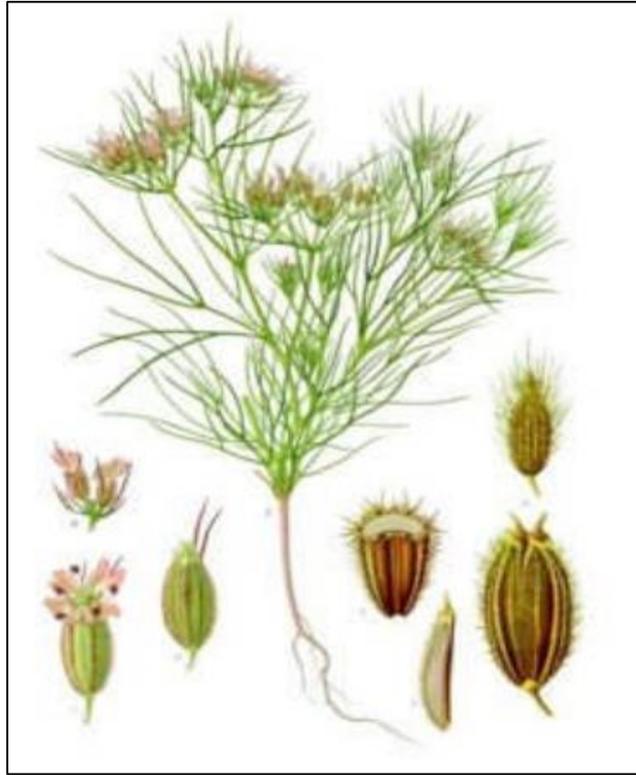


Figure 12 : Aspects morphologiques du *Cuminum cyminum*.

III.1.2. Utilisation du cumin

Les graines de cumin en poudre ou en décoction, sont très utilisées dans le traitement des troubles gastro-intestinaux. Il est en effet recommandé comme stomachique, carminatif, antispasmodique et vermifuge. On emploie aussi sa décoction comme emménagogue. En usage externe, le cumin est utilisé en cataplasmes sur la nuque contre les oreillons (Bellakhdar, 1997).

Les phytothérapeutes indiens prescrivent le cumin contre les insomnies, les coups de froid et pour abaisser la fièvre. Mélangé au jus d'oignon, il forme une pâte que l'on applique sur les piqûres de scorpion (Vican, 2001). Dans la médecine iranienne ancienne, les fruits de la plante ont été utilisés pour le traitement du mal de dents et l'épilepsie (Janahmadi *et al.*, 2006). Le cumin est utilisé largement dans la médecine Ayurvédique (l'ancienne médecine Indienne), pour le traitement de la dyspepsie, la diarrhée et de l'ictère. En outre, il est connu pour avoir des propriétés antioxydantes, diurétiques, astringentes et hypoglycémiantes (Dhandapani *et al.*, 2002). Les fruits toniques et stimulants, facilitent la digestion et soulagent la flatulence colique ou diarrhées (Bremness, 2002). Il est supposé augmenter la lactation et réduire les nausées pendant la grossesse. Utilisé dans une compresse pour soulager le gonflement du sein et des testicules (Jalali-Heravi *et al.*, 2007). L'huile essentielle du cumin est meilleure que les antioxydants synthétiques conventionnels, montre une activité fongitoxique, ovicide (Behera *et al.*, 2004) et antimicrobienne (El-Sawi et Mohamed, 2002). De plus elle est utilisée dans la préparation des parfums et les compositions vétérinaires (Bremness, 2002).

III.2. Composition et propriétés des huiles essentielles

II.2.1. Définition

Il s'agit d'un mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, incolores ou jaunâtres, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés, appelée également essence ou huile volatile. Extraites de la plante grâce à des procédés physiques tels l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur ou par expression à froid (Bruneton, 1993 ; Bakkali *et al.*, 2008).

Elles représentent une petite fraction dans la composition chimique de la plante et sont responsables de l'odeur distinctive de la plante, et c'est pour cette raison que les plantes qui synthétisent les huiles essentielles sont connus sous le nom de « plantes aromatiques » (Pourmortazavi et Hajimirsadeghi, 2007).

III.2.2. Localisation de l'huile essentielle dans la plante

Dans certaines plantes, l'essence est produite par des tissus sécréteurs et dans d'autres, elle se trouve en liaison glucosidique à l'intérieur des tissus et ne se manifeste que lorsqu'on froisse, écrase, sèche ou distille la plante (Schauemberg et Paris, 2010). Les essences sont sécrétées dans différentes parties variant selon la plante aromatique. Celles-ci peuvent être de minuscules cellules épidermiques dans les pétales de la rose ou des poils sécréteurs disposés à la périphérie des calices floraux, des feuilles et des tiges chez les labiées (thyme, sauge) ou de grosses cellules disposées au sein des tissus végétaux : tiges, écorces, racines, feuilles, semences (Scimeca et Tétou, 2005).

III.2.3 Composition chimique des huiles essentielles

Plus de 300 composés différents peuvent être identifiés dans les huiles essentielles. Trois groupes de composés ont été décrits (Pichersky *et al.*, 2006). Le principal groupe est composé de terpènes et les terpénoïdes, majoritairement des monoterpènes et des sesquiterpènes (Ruberto et Baratta, 2000), les autres groupes comprennent les composés aromatiques (phénoliques) et dans une moindre mesure des composés aliphatiques (alcane et alcène) qui sont généralement en trace. Tous les composés sont caractérisés par un faible poids moléculaire (Bakkali *et al.*, 2008).

III.2.3.1 Terpènes et les terpénoïdes

Il s'agit d'une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) (Bayala, 2014). Les terpénoïdes sont les terpènes de faible masse moléculaire (mono – et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles leur conférant un caractère volatil et des propriétés olfactives (Pibiri, 2006).

III.2.3.2 Les composés aromatiques

Les composés aromatiques (Figure 13) dérivés du phényle propane sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et les terpénoïdes. Ce sont très souvent des allyles et propényl phénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles telles que l'anéthol, l'anis aldéhydes, mais aussi de celles de la girofle, de la muscade, de l'estragon, des cannelles (Eugénol, myristicine, asarones, cinnamaldéhyde..). Des composés en phényl méthane comme la vanilline ou l'anthranilate de méthyle, peuvent être également rencontrés dans les huiles essentielles (Christopher, 1991 ; Bruneton, 1993).

D'une manière générale, les études menées sur la composition chimique de l'huile de cumin de différents pays ont montré la présence des composants suivants: α -pinène (0,5%), myrcène (0,3%), limonène (0,5%), 1-8-cinéole (0,2%), p -menth-3-ène-7-ol (0,7%), p-mentha-1, 3-diène-7-ol (5,6%), caryophyllène (0,8%), β -bisabolène (0,9%), β -pinène (13,0%), P-cymène (8,5%), β -phellandrène (0,3%), D-terpinène (29,5%), aldéhyde cuminique (32,4%), alcool cuminylique (2,8%), β -farnésène (1,1%) ainsi que de plus petites quantités d' α -phellandrène, α -terpinène, cis et trans sabinène, Myrtenol, α -terpinéol et phellandral (Nadeem et Riaz, 2012).

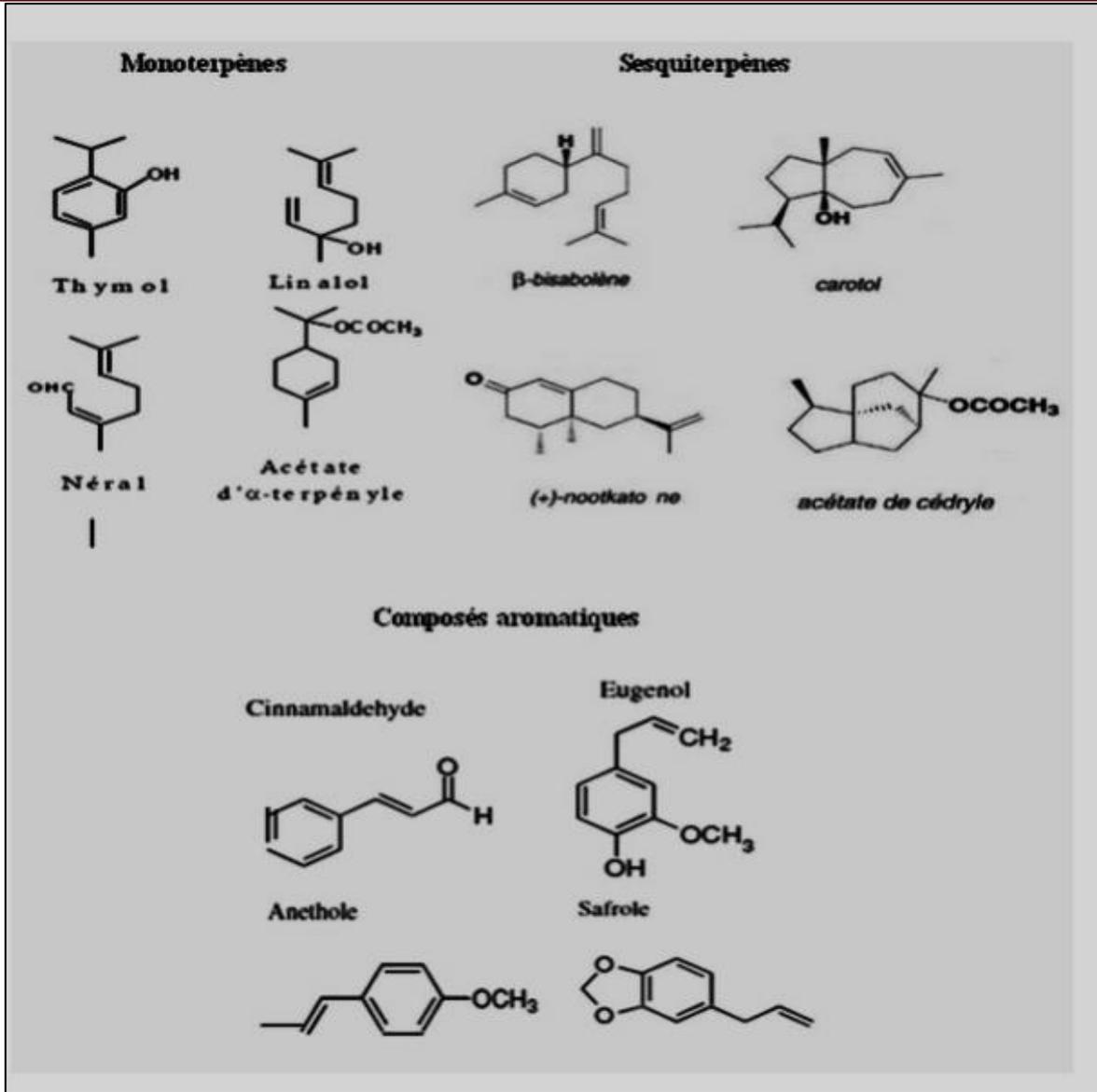


Figure 13 : Structure de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1991).

III.2.3.3 Notion de chémotype

Selon les conditions environnementales et de vie, les mêmes espèces peuvent présenter des différences chimiques intraspécifiques dans leurs compositions d'huiles essentielles (Lahlou et Berrada, 2003 ; Lahlou, 2004). Ces différences intraspécifiques sont définies comme chémotypes. Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Pibiri, 2005).

III. 2.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, entraîna- bles à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau (Charpentier, 2008). Il faut donc impérativement un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice

de réfraction élevé. Elles sont pour la plupart colorées : ex : rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym, jaune pâle pour les huiles de sauge sclarée et de romarin officinal. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation. Par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité. De ce fait, l'utilisation de flacons en verre opaque est conseillée (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

III.2.5. Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (Goudjil, 2016). L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son « totum » c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (Lahlou, 2004).

III.2.5.1. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (Richard, 1992). Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne autocatalytique de l'oxydation (Kohen et Nyska, 2002). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que le complexe formé par des ions métalliques ou la réduction d'oxygène (Madhavi *et al.*, 1996).

III.2.5.2. Activité antibactérienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Carson *et al.*, 2002). De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997)

III.2.5.3. Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (Lis-Balchin, 2002).

III.2.5.4. Activité anti-inflammatoire

En effet les huiles essentielles de *Carlina acanthifolia*, *Citrus aurantium*, *Cyperus esculentus* et *Hedychium coronarium* ont exprimé un effet anti-oedème des pattes chez les rats traités par la carageenan (Dordevic *et al.*, 2007 ; Karaca *et al.*, 2007), et d'autre part les huiles essentielles de *Salvia albicaulis*, et *Salvia dolomitica* ont montré un grand pouvoir inhibiteur, *in vitro*, à 5-lipo-oxygénase, enzyme clé dans l'activation et l'amplification de la réaction inflammatoire (Kamatou *et al.*, 2007).

III.2.5.5. Activité anticancéreuse

Des activités anticancéreuses des huiles essentielles ont été établies sur différentes cellules tumorales. Ainsi, il a été démontré que l'huile essentielle de *Myrica gale* exerce un effet inhibiteur sur la croissance des cellules cancéreuses des poumons, et du colon (Sylvestre *et al.*, 2005). Dans la même optique l'huile essentielle de *Cymbopogon flexuosus* et son composé majeur « isointermedeol » induisent l'apoptose des cellules cancéreuses du sang (Kumar *et al.*, 2008).

III.2.6. Toxicité des huiles essentielles

Bien que d'origine naturelle, les huiles essentielles peuvent se révéler dangereuses pour la santé. Il est ainsi important de connaître le produit, le choisir selon des critères qualitatifs rigoureux (produit de qualité non falsifié, non contaminé par des pesticides), 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 (Bruneton, 1999 ; Lakhdar, 2015).

La majorité des huiles essentielles couramment utilisées présentent une toxicité par voie orale faible avec des doses létales à 50% (DL₅₀) supérieures à 5 g/kg. Cependant, la DL₅₀ du cumin par voie orale est 2,5 ml/kg chez les rats, et de 3,56 ml/kg par voie dermique chez les lapins (Tisserand et Young, 1995), tandis que les plus toxiques sont les huiles essentielles de Boldo (0,13 g/kg) (Bruneton, 1993).

L'usage des huiles essentielles en application locale, en parfumerie ou en cosmétique, peut générer des irritations, allergies voire photosensibilisation. (Naganuma *et al.*, 1985 ; Smith *et al.*, 2000). C'est le cas de l'huile essentielle de Thym, d'Origan, de la Sarriette qui sont connues pour leur pouvoir irritant et agressif. L'huile essentielle de Cannelle est dermocaustique et allergisante pour les terrains sensibles, et les essences d'agrumes (pamplemousse, citron...) qui sont photosensibilisantes par des réactions épidermiques après exposition au soleil (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

Certaines huiles essentielles peuvent s'avérer cytotoxiques sur les cellules animales et humaines. En effet, il a été démontré que les huiles essentielles d'Origan, de différentes variétés,

présentent une forte cytotoxicité sur des cellules humaines cancéreuses (Sivropoulou *et al.*, 1996 ; Chaouki *et al.*, 2010). Certaines huiles essentielles se révèlent cytotoxique selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact. En effet, la toxicité du thym est augmentée par contact en phase liquide et réduite en phase gazeuse, alors que c'est l'inverse pour la lavande (Inouye, 2003).

Certaines huiles essentielles peuvent être convulsivantes et abortives suite à une utilisation prolongée. C'est le cas des huiles essentielles à thuyones (Thuya, Absinthe, Sauge officinale) qui sont neurotoxiques (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

Partie pratique

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériel végétal

Les graines de cumin représentent le matériel végétal utilisé dans cette étude. Il s'agit de graines obtenues chez un arbriste de la ville de Tébessa. L'origine de ces graines est l'extrême orient.



Figure 14 : Graines du cumin (*Cuminum cyminum* L.).

I.2. Animaux

Dans notre étude, nous avons utilisé 40 rats blancs femelles *Rattus rattus* de la souche Wistar, provenant de l'institut Pasteur (Centre d'élevages El-Kouba, Alger), âgés de 06 à 08 semaines et ayant un poids corporel entre 190 et 220 g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche. Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 21 jours, aux conditions de l'animalerie, à une température voisine de 25°C et une photopériode naturelle. Les rats ont été élevés dans des cages en polyéthylène tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les 2 jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Le poids des rats a été pris quotidiennement à l'aide d'une balance analytique (Figure 15).



Figure 15 : Prise du poids des rats en utilisant la balance analytique (photo personnelle).

I.3. Extraction et analyse de l'huile essentielle du cumin

I.3.1. Extraction

Extraction par hydrodistillation (Figure 16) est assurée grâce à un appareil de type Clevenger, où 100 g de matière végétale sont introduits avec 2 L d'eau. Après installation et fermeture du montage, la mise en marche du chauffe-ballon est effectuée avec un réglage optimum du chauffage pour permettre une stabilité de l'extraction.

La vapeur chargée d'huile essentielle arrive dans le condenseur. La durée totale de l'extraction est estimée à 3 h (jusqu'à ce qu'on obtienne plus d'HE). L'huile essentielle se distingue de l'hydrolat (eau aromatique) par sa différence de densité et de couleur. On la sépare de celui-ci par décantation. Elle est ensuite séchée par du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) puis récupérée et conservée dans des vials de couleur brune, hermétiquement fermés et stockés dans un endroit frais (4°C) à l'abri de la lumière.

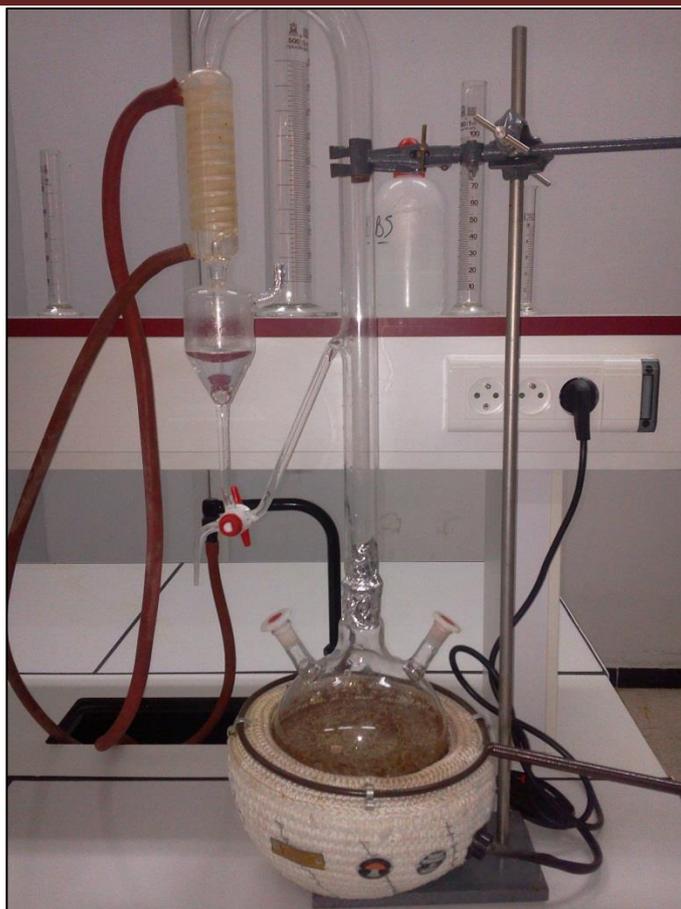


Figure 16 : Procédé d'extraction de l'huile essentielle du *Cuminum cyminum* (photo personnelle).

I.3.2. Détermination des rendements des huiles essentielles

Le rendement de l'huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétale utilisé. Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R^{dt} \% = M/M_0 * 100$$

$R^{dt} \%$: Le rendement des huiles essentielles.

M : la masse d'huile essentielle récupéré (g).

M_0 : la masse de matière végétale (g)

I.3.3. Analyses de la composition des huiles essentielles du Cumin

Les échantillons d'huiles essentielles ont été analysés au niveau du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-Chimique à Tipaza, par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). Un chromatographe en phase gazeuse (MASTER GC DANI) a été utilisé avec un détecteur à ionisation de flamme (FID), couplé à un spectromètre de masse (TOFMS DANI) avec un détecteur Scan TIC (de 35 à 450) à impact électronique. Les conditions analytiques sont les suivantes : la phase stationnaire est de 5% phenyl, 95%

dimethylpolysiloxane, et le gaz vecteur qui constitue la phase mobile est l'Hélium réglé avec un débit de 0,5 ml/min. La colonne utilisée est de type HP-5MS en silice capillaire fondue (Long 30 m; D int 0.25 mm; épaisseur film 0.25 μ m), la température de l'injecteur a été de 250 °C et l'injection se fait en mode « Splitless ». Initialement la température du four est maintenue à 60°C en isotherme pendant 8mn, puis augmentation de la température se fait graduellement à raison de 10°C/mn jusqu'à 240°C. Pour le spectromètre de masse, la température de la source est de 230°C et celle de l'interface est de 200°C. Le volume injecté est de : 0,2 μ l et la fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de 70 ev. L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectres de masse.

I.4. Traitement des rats

Les rats femelles ont été répartis en 8 groupes de 5 rats chacun. Les pesticides ainsi que les huiles essentielles ont été administrés par gavage chaque jour pendant 2 mois de traitement, il s'agit de (Figure 17) :

- **Groupe 1** : des rats témoins négatifs ayant reçu l'huile de maïs.
- **Groupe 2** : des rats témoins positifs ayant reçu quotidiennement 0,1ml/Kg d'huile essentielle du cumin (Sheweita *et al.*, 2016).
- **Groupe 3** : des rats traités par lufenuron dissout dans l'huile de maïs à raison de 200mg/kg de poids vif ce qui représente le 1/10^{ème} de la DL₅₀ (Shalby, 2006 ; Farrag et Shalby, 2007).
- **Groupe 4** : des rats traités par lufenuron avec la même dose que celle du groupe 3 avec supplémentation quotidienne de 0,1ml/Kg d'huile essentielle de cumin.
- **Groupe 5** : des rats traités par le chlorpyrifos dissout dans l'huile de maïs à raison de 5.4mg/kg de poids vif ce qui représente le 1/25^{ème} de la DL₅₀ (Tanvir *et al.*, 2015)
- **Groupe 6** : des rats traités par le chlorpyrifos avec la même dose que celle du groupe 5 avec une supplémentation quotidienne de l'huile essentielle de cumin à raison de 0,1ml/Kg
- **Groupe 7** : des rats traités par lufenuron + chlorpyrifos avec les mêmes doses que celles des groupes 3 et 5
- **Groupe 8** : des rats traités par lufenuron + chlorpyrifos + la supplémentation quotidienne d'huile essentielle du cumin avec les mêmes doses.

Remarque : l'huile essentielle du cumin a été administrée 30 minutes avant les pesticides.

I.5. Prélèvement des échantillons

Après 2 mois de traitement les 8 groupes de rats ont été sacrifiés (par décapitation).

I.5.1. Prélèvement sanguin

Le sang a été immédiatement recueilli dans des tubes héparinés. Ensuite, ces tubes ont subi une centrifugation de 3000 tours/min pendant 15 min afin de récupérer le plasma qui va servir pour le dosage des paramètres biochimiques (glucose, urée, créatinine et les transaminases).

I.5.2. Prélèvement des organes

Les animaux sacrifiés ont été pesés puis ouverts centralement pour le prélèvement de certains organes. Le foie, les reins et le cerveau débarrassés de son tissu adipeux ont été pesés puis stockés au congélateur pour le dosage des paramètres du stress oxydant.

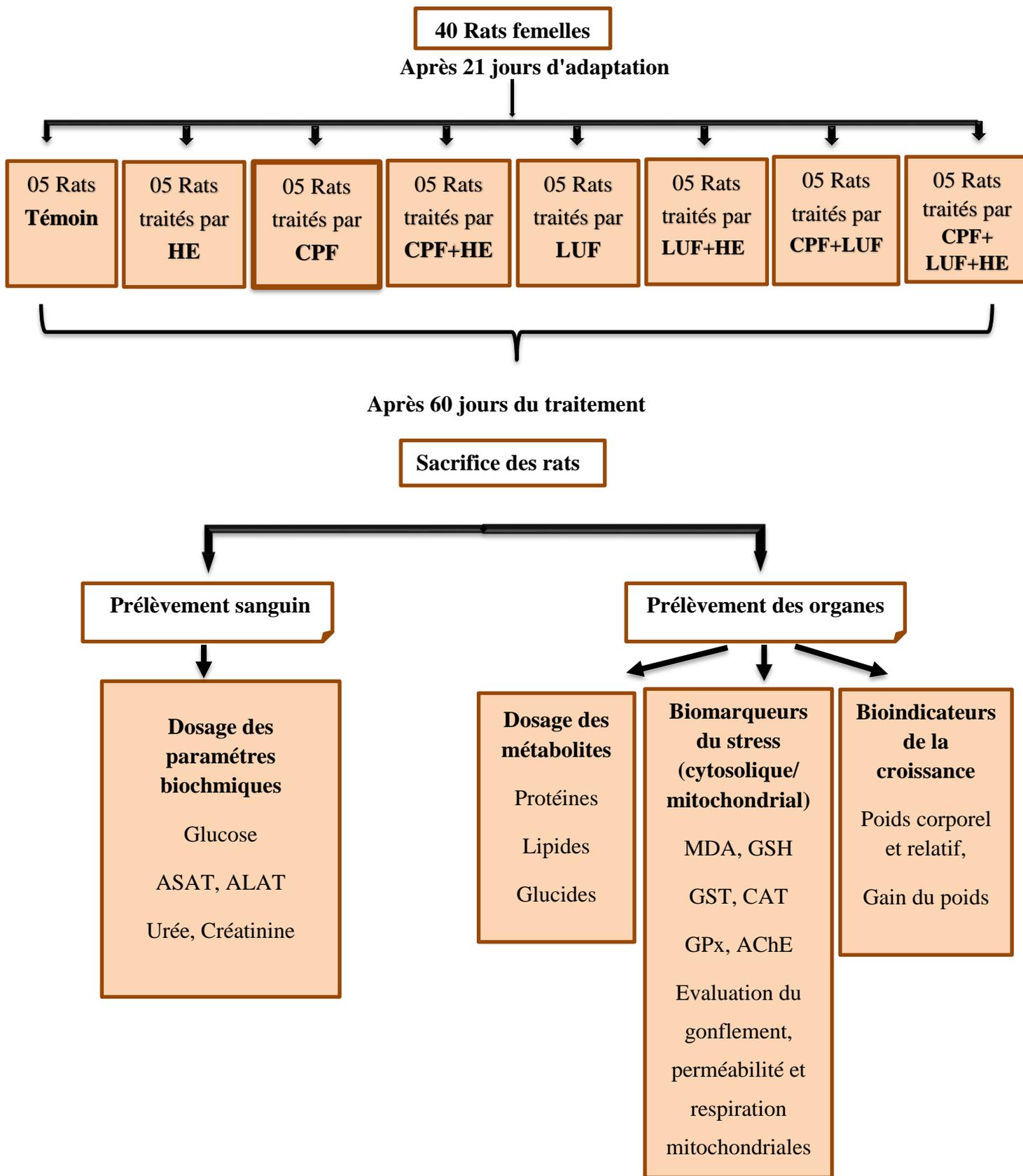


Figure 17 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

I.5.3. Extraction mitochondriale

La fraction mitochondriale brute a été extraite des foies (Figure 18), selon les étapes suivantes durant 1h30min (toutes ces étapes doivent être effectuées à température de réfrigération pour minimiser l'activation des protéases et des phospholipases) :

- Les foies prélevés ont été lavés et fragmenté en utilisant le tampon-1 puis le tampon-3 pour éliminer complètement le sang.
- Une homogénéisation des foies a été réalisée en ajoutant le tampon-1 selon un rapport dans 4 ml du tampon par gramme de foie.
- L'homogénat a été centrifugé à 740 g pendant 5 minutes à 4 ° C, puis le surnageant a été recueilli et centrifugé à nouveau à 740 g pendant 5 minutes à 4 ° C, puis à 9 000 g pendant 10 minutes à 4 ° C.
- Le culot contenant les mitochondries a été remis en suspension dans le tampon-2 glacé, et la suspension mitochondriale a été centrifugée à 10 000 g pendant 10 minutes à 4 ° C.
- Ensuite, le culot mitochondrial brut dans le tampon-3 a été remis en suspension et centrifugé de nouveau à 10 000 g pendant 10 minutes à 4 ° C.
- Finalement, le culot mitochondrial brut a été remis en suspension dans 2 ml de MRB glacé. La teneur en protéines a été analysée en routine avec un test de bradford utilisant de la sérumalbumine bovine comme standard (Bradford, 1976)

- **Préparation des tampons**

Tampon 3 (SB) : 225-mM mannitol, 75-mM sucrose et 30-mM Tris-HCl pH 7.4.

Tampon 1 : Dissolvez 0,75 g d'albumine dans 150 ml de SB, ajoutez 750 µl d'EGTA 100 mM 0.5 mM (pH 7,4) et stockez le mélange à 4 ° C.

Tampon 2 : Dissolvez 0,25 g d'albumine dans 150 ml de SB et conservez le mélange à 4 ° C. (ce tampon doit être préparé frais la veille ou le jour de l'expérience).

MRB (tampon de remise en suspension des mitochondries) : mannitol 250 mM, HEPES 5 mM (pH 7,4) et EGTA 0,5 mM. Pour préparer 100 ml de solution de MRB, dissolvez 4,56 g de mannitol dans 80 ml d'eau bidistillée, ajoutez 1 ml de HEPES 0,5 M (pH 7,4). Laisser le tampon environ 30 min à 4 ° C pour qu'il refroidisse (Wieckowski *et al.*, 2009).

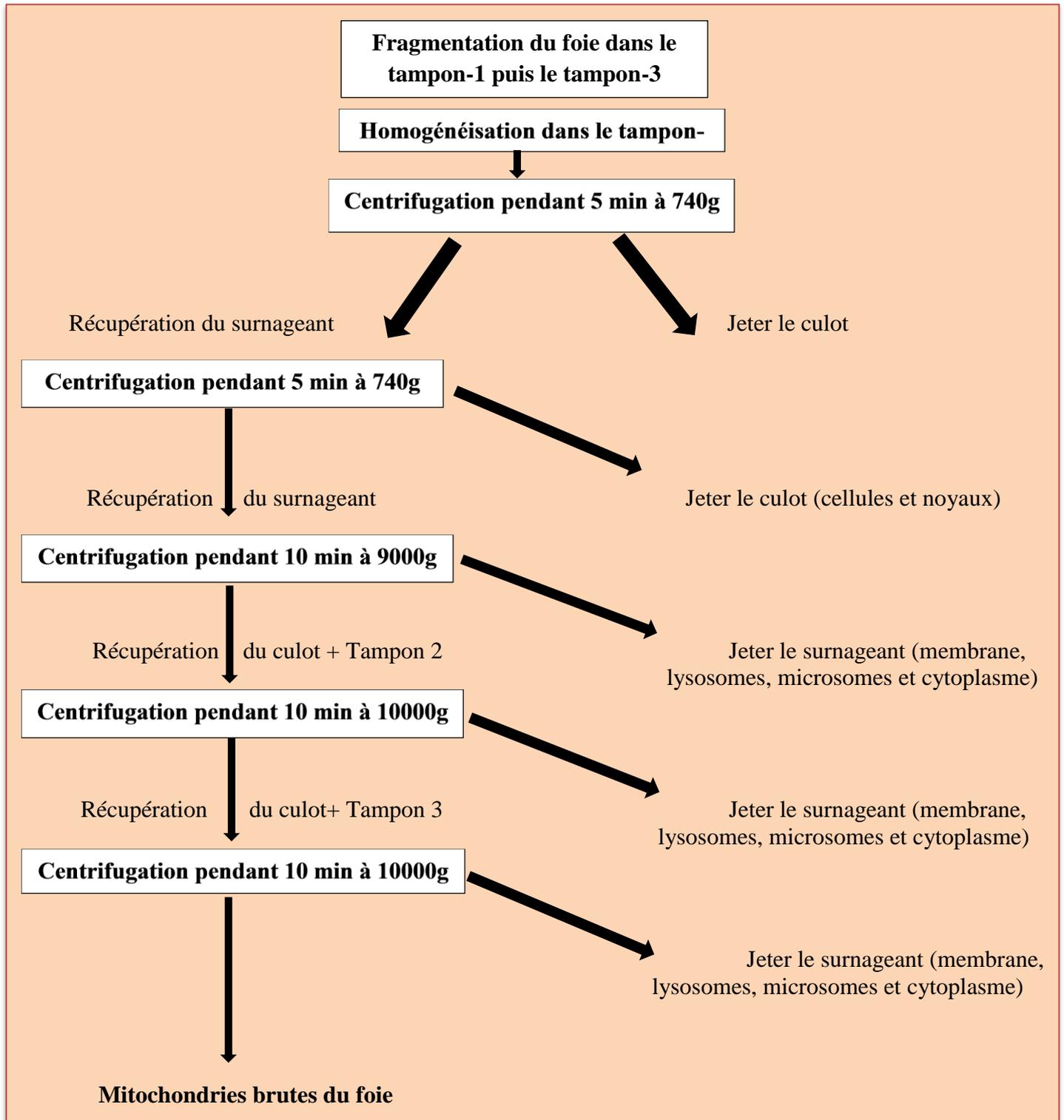


Figure 18 : Etapes d'isolement des mitochondries brutes à partir des foies des rats.

I.6. Détermination des paramètres biochimiques

Concernant le dosage du glucose plasmatique, les transaminases, l'urée et la créatinine est déterminé par l'utilisation d'un automate (Maindray BS200) au niveau de laboratoire de l'hôpital BOUGUERRA BOULARAS de Bakaria.

I.6.1. Dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites (protéines, glucides et lipides) hépatique a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al.* (1966). Les échantillons sont broyés dans un 1 ml d'acide trichloracétique (TCA à 20 %) aux ultrasons (Sonifier B-30), puis centrifugés à 5000 tours/ min pendant 10 min. Le surnageant I servira au dosage des glucides et le culot I est additionné de 1 ml d'un mélange éther/ chloroforme (1/1, v/v). Une deuxième centrifugation (5000 tours/ min, pendant 10 min) permet de récupérer le surnageant II qui servira au dosage des lipides. Le culot II, est ensuite repris dans 1ml de NaOH (0,1N).

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) sur une fraction aliquote de 0,1 ml de l'homogénat avec 4 ml de bleu brillant de coomassie (BBC), la solution de BBC se prépare comme suit : 50 mg de bleu brillant de coomassie (G250), 25 ml d'éthanol (95 %), après une agitation de 2 heures on ajoute, 50 ml d'acide orthophosphorique (85 %) et on complète à 500 ml d'eau distillée. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 595 nm et la gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution Albumine de sérum de bœuf (BSA) comme standard (Courbe d'étalonnage : voir annexe).

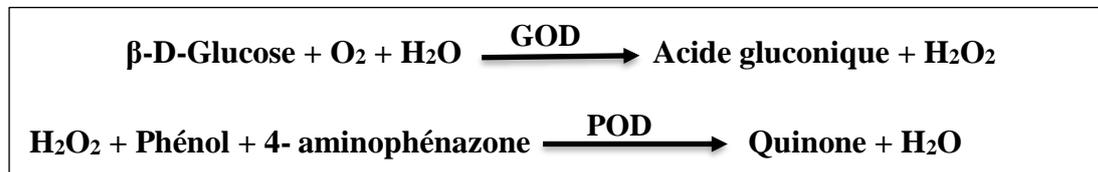
Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de Duchateau et Florin (1959). Elle consiste à ajouter 4ml du réactif d'anthrone à 100µl du surnageant I, et chauffer le mélange à 80°C pendant 10 min ; une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des glucides présente dans l'échantillon la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 620nm contre un blanc de gamme. La préparation du réactif d'anthrone se fait comme suit : peser 150 mg d'anthrone, ajouter 75 ml d'acide sulfurique concentré et 25 ml d'eau distillée. On obtient une solution limpide de couleur verte qui est stockée à l'obscurité. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (0,1 mg/ ml) (Courbe d'étalonnage : voir annexe).

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.* (1972) utilisant le réactif sulfo-phospho-vanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100µl des extraits lipidiques ou de la gamme étalons. 1ml d'acide sulfurique concentré a été ajouté après l'évaporation totalement du solvant. Les tubes sont agités et placés pendant 10minutes dans un bain à sec à 100°C. Après refroidissement, 200µl de ce mélange auquel a été ajouté à 2,5ml de réactif sulfo-phospho-vanillinique. Après 30 minutes à l'obscurité, la densité optique est lue dans un

spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique, en présence de vanilline et l'acide orthophosphorique, des complexes roses. Le réactif est préparé comme suit : dissoudre 0,38g de vanilline dans 55ml d'eau distillée et ajoute 195ml d'acide orthophosphorique à 85%. Ce réactif se conserve pendant 3 semaines à 4°C et à l'obscurité. La solution mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et on ajoute 1ml d'éther/chloroforme (v/v) (Courbe d'étalonnage : voir annexe).

I.6.2. Dosage des teneurs en glucose

Le glucose est transformé par la glucose oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier, en présence de peroxydase (POD), oxyde le chromogène incolore (4-aminophénazone) en un composé coloré en rouge (Kaplan, 1984), selon les réactions suivantes :

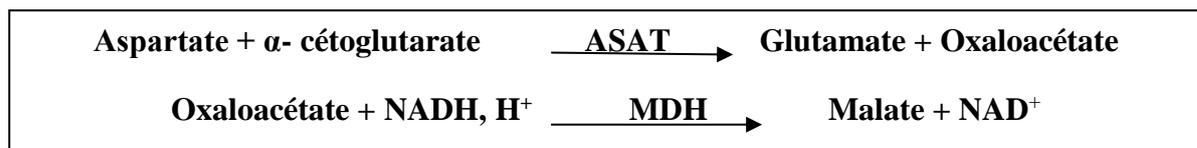


I.6.3. Dosage des transaminases plasmatiques

I.6.2.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

- **Principe**

L'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi l'oxaloacétate de glutamate transaminase (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (Murray, 1984) selon la réaction ci-dessous :



La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique d'aspartate aminotransférase dans l'échantillon (Murray, 1984).

I.6.2.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)

- **Principe**

L'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi le pyruvate de glutamate transaminase (TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au α -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (Murray, 1984). Ce principe est présenté selon la réaction suivante :



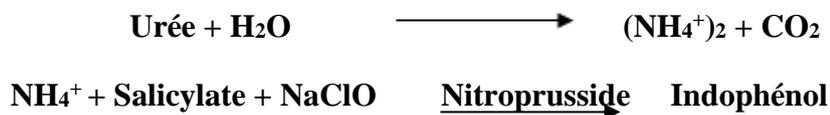
La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique d'alanine aminotransférase dans l'échantillon (Murray, 1984).

I.6.3. Exploration de la fonction rénale

I.6.3.1. Dosage de l'urée plasmatique

- **Principe**

L'urée est hydrolysée enzymatiquement en ions d'ammoniac (NH₄⁺) et dioxyde de carbone (CO₂). Les ions d'ammoniac formés réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite (NaClO) en présence du catalyseur nitroprusside pour former l'indophénol vert (Kaplan, 1984), selon les réactions suivantes :



L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon.

1.6.3.2. Dosage de la créatinine plasmatique

- **Principe**

L'essai est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate sodium : c'est la réaction de JAFFE. La créatinine réagit avec le picrate alcalin pour donner un complexe coloré, mesuré dans un intervalle de temps défini et proportionnel à la concentration en créatinine de l'échantillon (Murray, 1984).



I.7. Exploration du stress oxydant

I.7.1. Préparation de l'homogénat

Un gramme de foie de chaque rat des différents groupes étudiés, a été utilisé. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le tampon phosphate (pH 7.5), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (9000 tours/min, 4°C, 15 min), puis le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorfs puis conservés à -80°C en attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydant.

I.7.2. Détermination du taux de malondialdéhyde (MDA)

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) méditées par les radicaux libres. Le niveau de peroxydation lipidique a été évalué

en mesurant le malondialdéhyde avec le test TBARS (Thiobarbituric reactive species) selon la méthode de d'Esterbauer *et al.* (1992). Le test TBARS est le test le plus couramment utilisé pour déterminer indirectement la peroxydation des lipides, en mesurant le MDA.

- **Principe**

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation du MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique qui peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm (Figure 19).

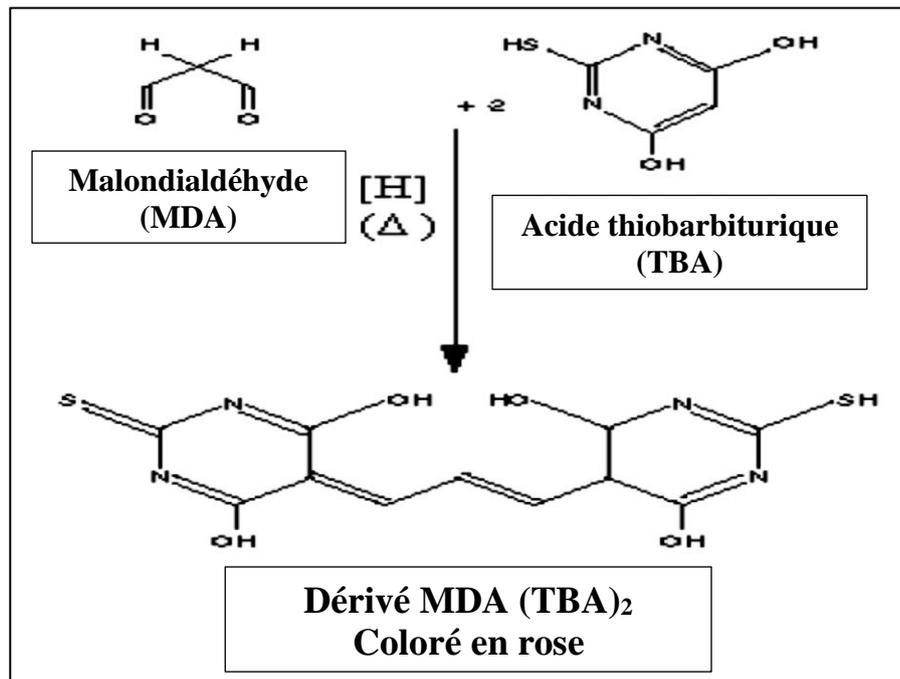


Figure 19 : Principe du dosage du malondialdéhyde.

- **Mode opératoire**

Le dosage est réalisé avec 375µl du surnageant additionné de 375µl de TCA-BHT (TCA 20%, BHT1%) et 150 µl de la solution TBS (tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4). Après agitation du mélange dans un Vortex, une centrifugation est effectuée à 10000 tours/mn pendant 10 mn. Une fraction aliquote de 400 µl du surnageant est alors prélevée à laquelle on ajoute 80 µl du HCL 0,6 M et 320 µl de la solution tris-TBS (tris 26 mM, TBA 120 mM). Après agitation, une incubation au bain marie à une température de 80°C pendant 10 min est effectuée.

- **Calcul de la concentration**

On calcule la concentration de MDA exprimé en nanomoles par milligramme de protéines (nmol/mg prot) selon la formule suivante :

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

- C : Concentration de MDA en nmoles/mg de prot ;
- DO : Densité optique lue à 530 nm ;
- ϵ : Coefficient d'extinction molaire du MDA, $\epsilon_{MDA} = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;
- L : Longueur du trajet optique = 0.779 cm ;
- χ : Concentration du surnagent en protéines (mg/ml) ;
- Fd : Facteur de dilution, Fd = 0.2083.

1.7.3. Détermination du taux de glutathion réduit (GSH)

Le glutathion est un thiol intracellulaire le plus abondant présent dans toutes les cellules animales.

- **Principe**

Pour doser le glutathion, la méthode colorimétrique par le réactif d'Ellman (DTNB) est la méthode la plus employée (Weckberker et Cory, 1988). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5' dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) (Figure 20) lequel présente une absorbance à 412nm.

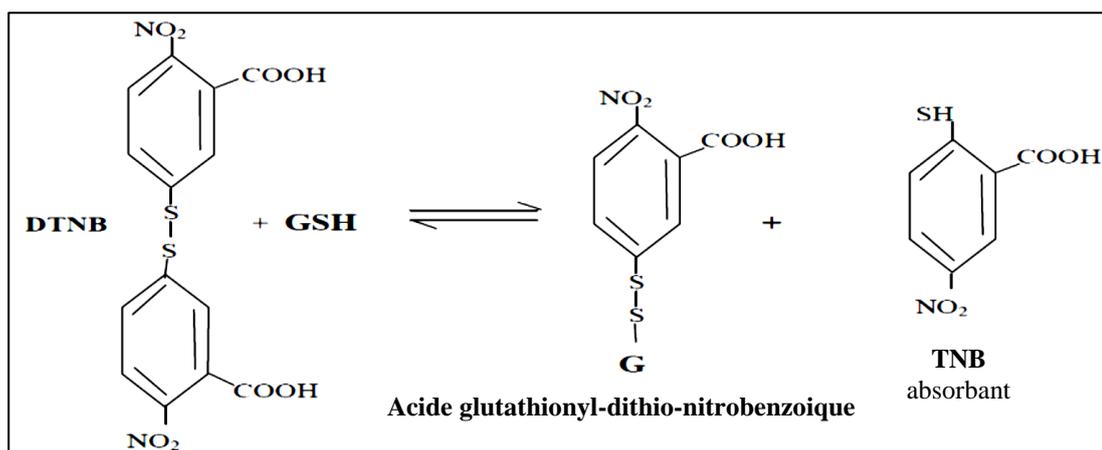


Figure 20 : Principe de dosage du glutathion.

- **Mode opératoire**

Le dosage consiste à faire réagir 0,8 ml de l'homogénat avec 0,2 ml de solution d'acide sulfosalicylique (0,25%) et laisser pendant 15 min dans un bain de glace. Les tubes sont centrifugés 15 mn à 1000 tours/mn. Entre temps d'autres tubes sont préparés pour le mélange réactionnel, dans lesquels sont ajoutés 1ml du tampon Tris-EDTA (concentration 0.02 M d'EDTA, pH 9,6) et 0,025 ml de L'acide 5.5 dithio-bis -2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0,01 M, aux quels 0,5 ml de surnageant sont additionnés et la lecture se fait après 5minutes d'incubation à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

- **Calcul de la concentration**

On calcule la concentration du GSH exprimée en nanomoles par milligramme de protéines (nmol/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{GSH (nmol/mg protéine)} = \frac{\text{DO} \times \text{L} \times 1.525}{131000 \times 0.8 \times 0.5 \text{ mg de protéine}}$$

- DO : Densité optique ;
- L : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation ;
- 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant ;
- 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement -SH à 412 nm ;
- 0.8 : Volume de l'homogénat ;
- 0.5 : Volume du surnageant.

1.7.4. Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)

• Principe

L'activité de la glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée selon la méthode de Flohe et Gunzler (1984). Cette activité a été calculée par la diminution du taux de GSH réduit par rapport à la réaction non enzymatique « blanc ».

• Mode opératoire

Un volume de 0,2 ml de surnageant est récupéré dans un tube contenant 0,4 ml de GSH (0,1 mM) et 0,2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4). Le mélange a été incubé dans un bain marie à 25°C pendant 05 min. 0,2 ml d'H₂O₂ (1,3 mM) est ajouté pour initier la réaction. Après 10 min, 1ml de TCA1% (acide tri chloro-acétique) est rajoute dans le but d'arrêter la réaction et le mélange est mis dans la glace pendant 30 mn et centrifuge durant 10 mn à 3000 t/mn. Un volume de 0,48 ml de surnageant est placé dans une cuve auquel on ajoute 2,2 ml de solution tampon TBS avec 0,32 ml de DNTB (1,0 mM). Ce mélange forme un composé colore et sa densite optidue est mesurée à 412nm après 05 min chaque 15 secondes pendant 01min.

• Calcul de l'activité de la GPx

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

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

$$X = \frac{(DOe - DOb) \times 0.04}{DOb} = \text{quantité de GSH réduit disparue (oxydée) dans 0.2 extrait dans 1ml}$$

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

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

1.7.5. Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST)

Les glutathion S-transférases appartiennent à une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliqués dans le transport et la biosynthèse intracellulaire. Elles catalysent des réactions de conjugaison entre un peptide endogène, en présence d'un cofacteur le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles. La conjugaison entraîne la

formation d'une molécule nouvelle ; 1- S- Glutathionyle 2- 4 Dinitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST.

- **Principe**

La technique que nous avons utilisée pour doser l'activité de GST est celle de Habig *et al.* (1974). Elle mesure la cinétique de formation entre un substrat modèle, le chlorodinitrobenzene (C-DNB) et le glutathion, qui absorbe la lumière à 340 nm.

- **Mode opératoire**

Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0.1M, pH6). L'homogénat est centrifugé à 1400 t /min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes. Le dosage consiste à faire réagir 200 µl du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB. La lecture des absorbances est effectuée toutes les minutes pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340nm dans un spectrophotomètre UV/visible contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant.

- **Calcul de l'activité de la GST**

L'activité de la GST exprimée en nanomoles de C-DNB par minute par milligramme de protéines (nmol C-DNB/min/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{GST (nmol C-DNB/min/mg prot)} = \frac{\Delta \text{ DO échantillon} - \Delta \text{ DO Blanc}}{\epsilon \times L \times \text{mg prot}}$$

- Δ DO échantillon – Δ DO blanc : moyenne des DO des échantillons par minute – moyenne des DO des Blancs par minute ;
- ε : Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB, εC-DNB = 9.6 mM⁻¹.cm⁻¹ ;
- L : Trajet optique de la cuve = 1cm.

I.7.6. Dosage de l'activité de la catalase (CAT)

- **Principe**

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces réactives et en accélérant la réaction spontanée de l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) toxique pour la cellule en eau et en oxygène (Aebi, 1984).

La réaction se fait en deux étapes. La réaction bilan est :



L'activité de la CAT est mesurée à 240nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

- **Mode opératoire**

En faisant réagir 200 μl d' H_2O_2 (500mM) sur 20 μl de l'homogenat dans un volume de 780 μl (100 mM) de tampon phosphate pH 7.4. Les résultats ont été exprimés en μmoles d' H_2O_2 par minute et par mg de protéines. La lecture de l'absorbance se fait à 240 nm après 15 s de délai et durent 60 s de mesure.

- **Calcul de l'activité de la CAT**

L'activité de la CAT exprimée en micromoles de H_2O_2 par minute par milligramme de protéines (μmol de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ prot) selon la formule suivante :

$$\text{CAT } (\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg prot}) = \frac{\Delta \text{DO} \times d}{\varepsilon \times X \times L \times 0.02}$$

- ΔDO : variation de la densité optique par minutes, c'est-à-dire pour :
 - * AI (Absorbance initiale) : 15 s ;
 - * AF (Absorbance finale) : 1min ;
 - On fait : $(\text{AI} - \text{AF}) \times 4/3$ par min ;
- d : dilution de l'échantillon au début ;
- ε : Coefficient d'extinction moléculaire de l'eau oxygénée, $\varepsilon \text{H}_2\text{O}_2 = 0.043 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1} = 0,043 \mu\text{mol cm}^{-1}\text{ml}^{-1}$
- L : Trajet optique de la cuve = 1 cm ;
- X : Concentration de protéines en mg/ml.

I.8. Evaluation du gonflement, perméabilité et respiration mitochondriales

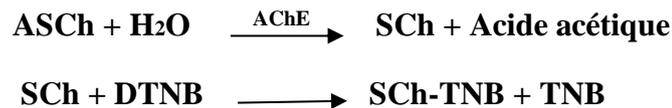
Selon la méthode de Crystal *et al.* (1996), nous avons réalisé l'estimation de la perméabilité mitochondriale basé sur le taux des ions de Ca^{++} qui traverse leur membrane, cette perméabilité suivie par une augmentation de la taille de la mitochondrie détectée à une longueur d'onde de 540nm pendant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

I.9. Dosage de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)

- **Principe**

La méthode utilisée est celle décrite par Ellman *et al.*, (1961). C'est une méthode colorimétrique. L'acétylcholinestérase contenue dans la fraction des tissus va réagir avec l'acétylthiocholine (ASCh) en libérant l'acétate et la thiocholine (SCh). Cette dernière réagit à son tour avec le 5-5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoate) (DTNB) en donnant du TNB produit de couleur jaune qui absorbe à 412 nm et dont la concentration est proportionnelle à la quantité d'enzymes présente dans le milieu.

La réaction peut se schématiser ainsi :



- **Mode opératoire**

Les cerveaux des rats témoins et traités sont homogénéisés dans 1ml de solution détergente à l'aide d'un broyeur ultra-turrax à 12 000 tours/ min pendant une à deux minutes et cinq répétitions sont réalisées. L'homogénat obtenu est centrifugé à une vitesse de 5000 g pendant 5mn, et le surnageant est récupéré pour servir comme source d'enzyme. Le dosage de l'activité AChE est réalisé sur une fraction aliquote de 100 µl auquel on ajoute 100 µl de DTNB et 1 ml de tampon Tris (0.1 M, pH 7). Après 3 à 5 minutes, et afin d'épuiser la réaction spontanée, 100 µl de substrat acétylthiocholine sont ajoutés. La lecture des absorbances a lieu toutes les 4 mn pendant 20 mn à une longueur d'onde de 412 nm contre le blanc.

- **Calcul de l'activité de l'AChE**

L'activité de l'AChE exprimée en nanomoles par minute par milligramme de protéines (nmol/min/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{AChE (nmol/min/mg prot)} = \frac{\Delta \text{DO} / \Delta t \times 1691.18}{p}$$

- $\Delta \text{DO} / \Delta t$: variation de la densité optique par minute ;
- P : Concentration de protéines en mg/ml.

I.10. Présentation des résultats et analyses statistiques

Les résultats ont été représentés sous forme de moyennes avec leur écart-type (Moy \pm écart-type). Le traitement statistique des résultats est exploité en réalisant une analyse de variance à un facteur (ANOVA), le test de Tukey a été utilisé pour comparer les groupes. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel statistique Minitab 17.1 et Excel 16.0 (Microsoft, Inc.). Le niveau de signification statistique était fixé à $p < 0,05$

Nous avons effectué deux comparaisons :

- Les groupes traités (CPF, CPF+HEc, LUF, LUF+HEc, CPF+LUF et CPF+LUF+HEc) par rapport au groupe témoin :
 - ✓ * : Différence significative ($p \leq 0.05$) ;
 - ✓ ** : Différence hautement significative ($p \leq 0.01$) ;
 - ✓ *** : Différence très hautement significative ($p \leq 0.001$).

- Les groupes traités (CPF+HEc, LUF+HEc, CPF+LUF+HEc) par rapport au groupe traité (CPF, LUF, CPF+LUF) :
 - ✓ # : Différence significative ($p \leq 0.05$) ;
 - ✓ ## : Différence hautement significative ($p \leq 0.01$) ;
 - ✓ ### : Différence très hautement significative ($p \leq 0.001$).
- Avec p : Seuil de signification

II. Résultats

II.1. Rendement et composition chimique des huiles essentielles du *Cuminum cyminum*

L'huile essentielle des graines de *Cuminum cyminum* était un liquide jaune clair avec un rendement de 1,98% (m/m) par rapport à la matière sèche. Leurs indices de rétention et les concentrations relatives sont présentés dans le Tableau 04.

Au total, 15 composés ont été caractérisés représentant 99,98 % de l'huile. Les principaux composants étant : le carvacrol (36,81%), para-cymene (16,08%), α -terpinene-7-al (16%), β -terpinène (13,18%) et à moindre pourcentage, le tricyclene et linalool acetate à 0,05% et eucalyptol 0,02%.

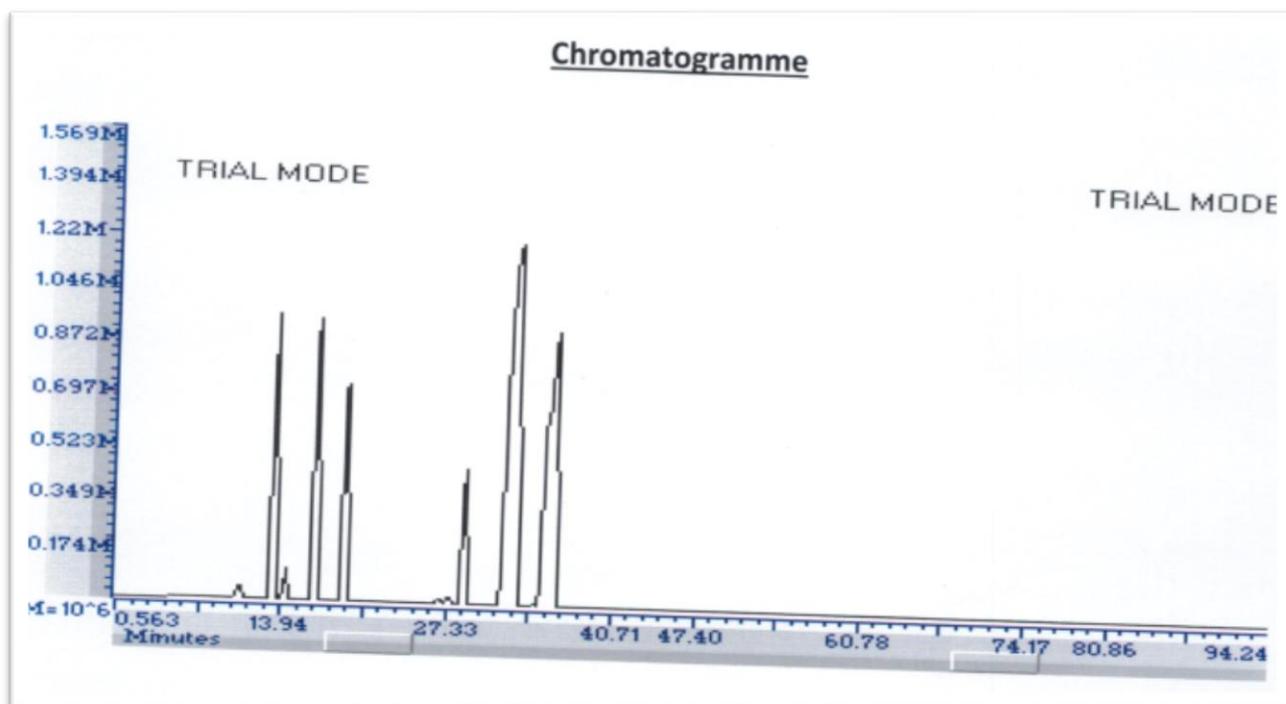


Figure 21 : Chromatogramme CPG/SM de l'HE de *Cuminum cyminum*.

Tableau 4 : Composition chimique des huiles essentielles du *Cuminum cyminum*.

Catégorie des composants	TR	KI	Area %	Nom de composé
Hydrocarbures monoterpéniques	10,30	924	00,05	Tricylene
	10,70	930	00,26	α -thujene
	13,20	971	00,28	Sabinene
	13,44	975	13,18	β -Pinene
	14,37	990	00,69	β -Myrcene
	16,78	1025	16,08	Para-Cimene
	16,94	1027	00,17	Sylvestrene
	19,17	1059	10,57	γ -Terpinene
35,40	1289	16,00	α -Terpinen-7-al	
Monoterpènes oxygénés	17,08	1029	00,02	Eucalyptol
	26,88	1166	00,13	Neo-menthol
	27,60	1177	00,17	Terpinene-4-ol
	28,86	1194	05,52	Caranone<trans-4->
	34,53	1276	00,05	Linalool acetate<dihydro->
Phénol monoterpénoïde	36,10	1299	36,81	Carvacrol
			99,98 %	Total

II.2. Impact du CPF et du LUF et leur mixture sur quelques paramètres physiologiques et effets protecteurs de la supplémentation en huile essentielle

II.2.1. Action sur la croissance corporelle

Nos résultats montrent une diminution du poids corporel et une baisse du gain de poids corporel chez les lots traités par le chlorpyrifos et lufenuron et leur mixture comparativement au lot témoin. On note une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$) après l'exposition à LUF, CPF et LUF+CPF par rapport au témoin et au lots pesticides + HE. Par ailleurs, une différence significative ($p \leq 0,05$) a été observée chez les lots traités par LUF+HE et CPF+HE par rapport au témoin. Aucun changement significatif n'a été constaté chez les lots traités par HE et LUF+CFP+HE par rapport au témoin. Tandis qu'on enregistre une nette amélioration du poids corporel par l'administration de l'huile essentielle aux groupes traités par les deux pesticides et la mixture comparant au groupe traité uniquement par l'un des deux pesticides (Tableau 05 ; Figure 22).

Tableau 5 : Variation de poids corporel (PC) (g) chez les rats témoins et traités (HE, LUF, CPF, LUF+CPF, LUF+HE, CPF+HE, LUF+CPF+HE) après 60 jours du traitement.

<i>Paramètres</i>	<i>Lots expérimentaux</i>							
	Témoin	HE	LUF	LUF+HE	CPF	CPF+ HE	LUF+CPF	LUF+CPF+HE
<i>Poids initial</i> (g)	190,80±8,27	193,60±8,64	193,40±9,33	195,80±8,67	218,20±6,90	191,00±6,08	210,20±9,14	206,60±9,93
<i>Poids final</i> (g)	216,95±5,72	216,00±6,86	200,45±6,34	212,55±5,10	210,96±5,19	210,02±9,81	215,02±5,12	230,65±6,51
<i>Gain de poids</i> (g)	26,15	22,40	7,05 ^{***,###}	16,75 [*]	-07,23 ^{***,###}	19,03 [*]	4,82 ^{***,###}	24,05

* $p \leq 0.05$ comparant aux témoins ;

* : Différence significative ($p \leq 0.05$) ;

** : Différence hautement significative ($p \leq 0.01$) ;

*** : Différence très hautement significative ($p \leq 0.001$).

$p \leq 0.05$ comparant aux traités ;

: Différence significative ($p \leq 0.05$) ;

: Différence hautement significative ($p \leq 0.01$) ;

: Différence très hautement significative ($p \leq 0.001$).

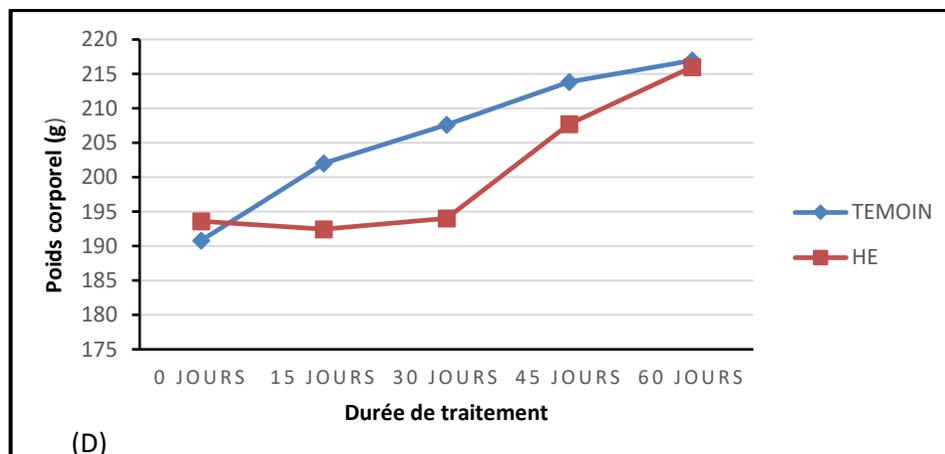
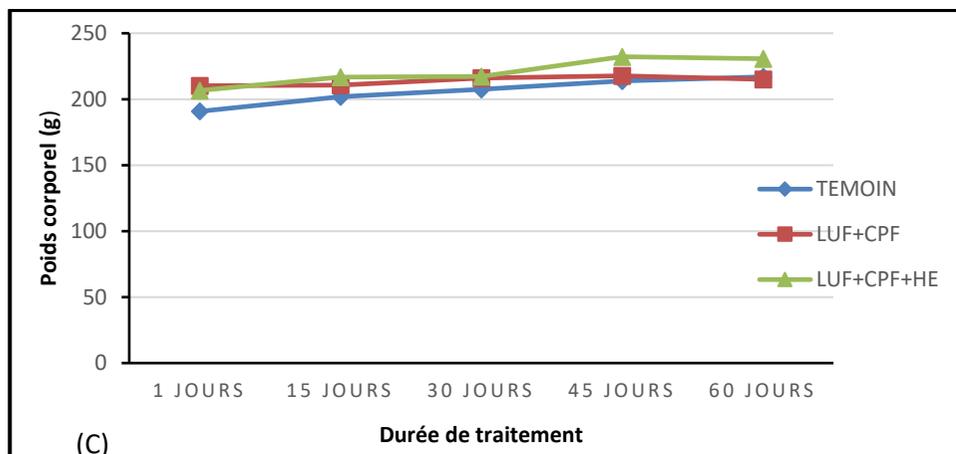
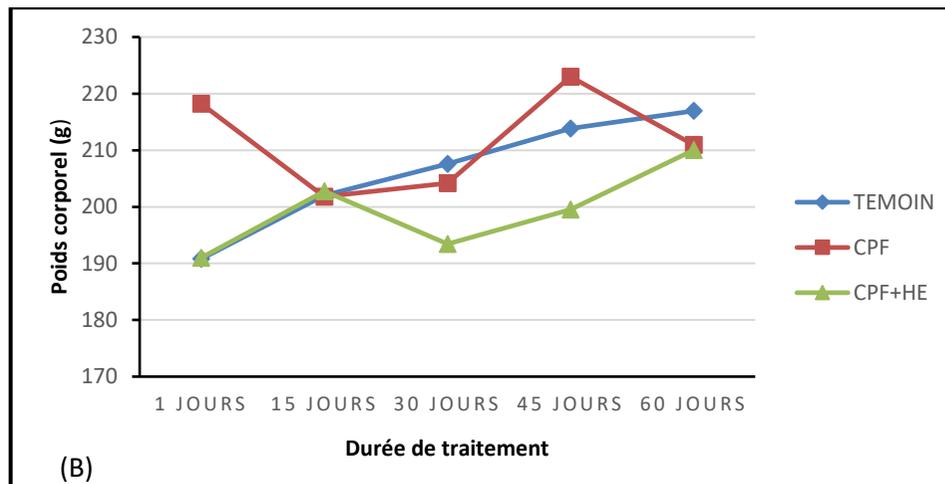
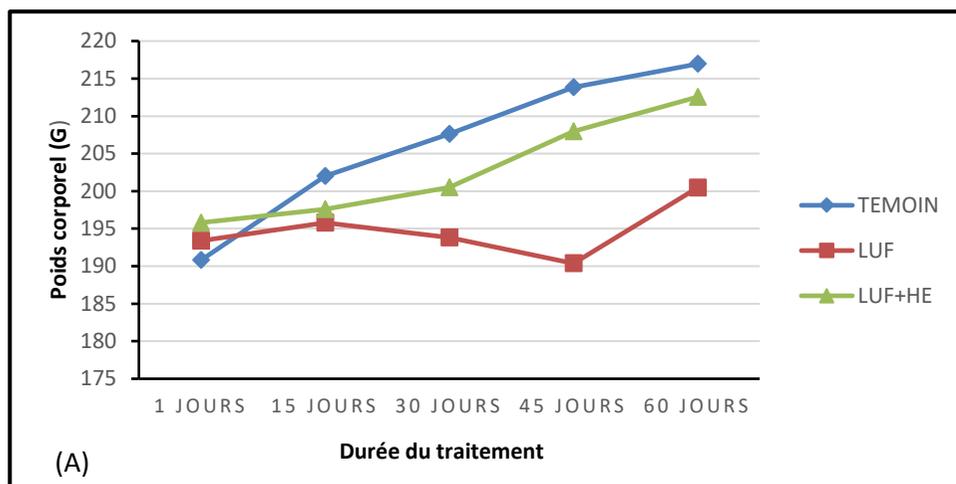


Figure 22 : Etude de l'évolution du poids corporel chez le lot témoin et les lots traités après 60 jours de traitement.

II.2.2. Action sur les poids relatif de certains organes

Les figures (23; 24) mettent en évidence l'évolution des poids relatif (PR) du foie et des reins chez les rats témoins et les rats traités par les pesticides ou la combinaison pesticide plus HE.

Les résultats obtenus montrent qu'il y a eu une augmentation du poids relatif du foie et des reins chez les groupes traités par les pesticides comparant au groupe témoin. On note une variation statistiquement significative ($p \leq 0,05$) du poids relatif du foie et des reins chez le groupe exposé au CPF par rapport au témoin, et au lot traité par CPF+HE.

Concernant les lots traités par LUF, LUF+CPF, on constate une différence hautement significative ($p \leq 0,01$) du poids relatif du foie, très hautement significative ($p \leq 0,001$) du poids relatif des reins chez les deux lots, comparant au témoin. Aussi bien, on trouve une différence significative chez les rats traités par LUF ($p \leq 0,05$), LUF+CPF ($p \leq 0,01$) du poids relatif du foie, et hautement significative ($p \leq 0,01$) du poids relatif des reins comparant par les lots recevant pesticides plus HE.

Par contre, les résultats ont montré que l'addition de l'HE à des rats exposés aux pesticides a un effet correcteur, qui a été exprimé par une diminution des poids relatif de foie et des reins chez les rats traités par rapport aux rats non traités. Aucune différence significative n'est mise en évidence quand les compare avec témoin.

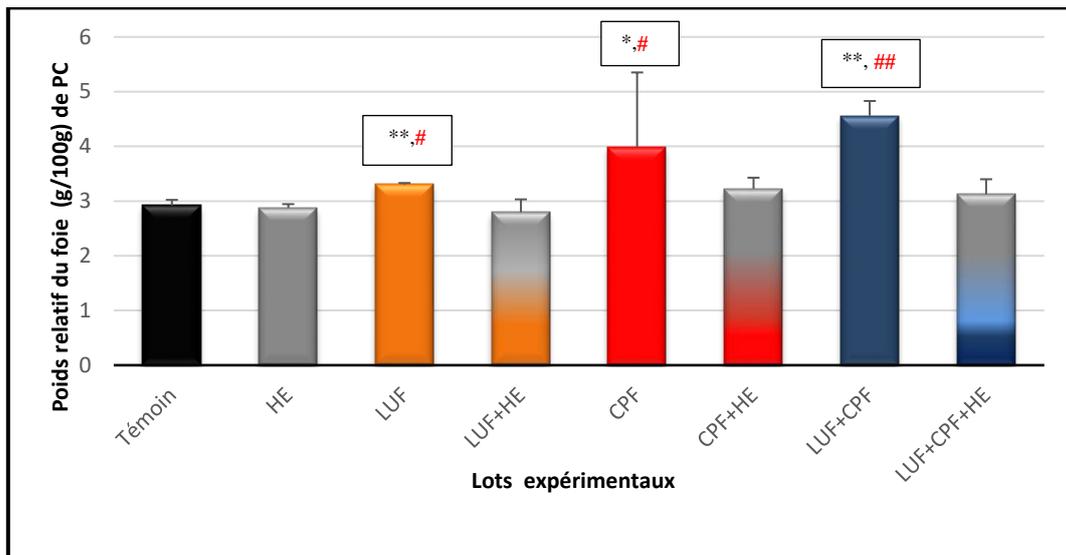


Figure 23 : Variation du poids relatif (g/100g) du foie chez les rats témoins et traités après 60 jours de traitement.

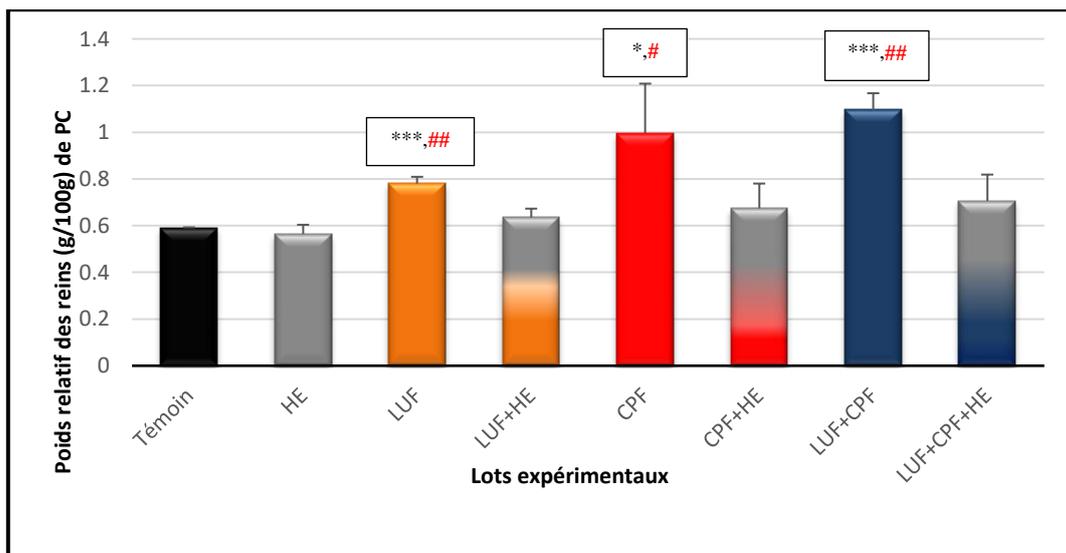


Figure 24 : Variation du poids relatif (g/100g) des reins chez les rats témoins et traités après 60 jours du traitement.

II.2.3. Etude des paramètres biochimiques

II.2.3.1. Action sur les métabolites

Le tableau 06 représente la variation des taux des métabolites (protéines, glucides, lipides) au niveau hépatique des rats témoins et exposés à LUF, CPF, LUF+CPF et leur combinaison avec l'HE après 60 jours du traitement.

Tableau 6 : Variation des taux des métabolites (protéines, glucides, lipides) au niveau hépatique chez les rats témoins et traités (HE, LUF, CPF, LUF+CPF, LUF+HE, CPF+HE, LUF+CPF+HE) après 60 jours du traitement.

<i>Paramètres</i>	<i>Lots expérimentaux</i>							
	Témoin	HE	LUF	LUF+HE	CPF	CPF+HE	LUF+CPF	LUF +CPF +HE
Protéines ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	0,813 \pm 0,027	0,756 \pm 0,132	1,032 \pm 0,027 ^{***}	0,953 \pm 0,325	0,987 \pm 0,0496 ^{**}	0,808 \pm 0,035	1,333 \pm 0,052 ^{***,###}	0,896 \pm 0,042
Lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	83,692 \pm 1,828	79,079 \pm 2,547	101,849 \pm 0,53 ^{***,###}	86,239 \pm 1,269	110,182 \pm 0,704 ^{***,###}	88,351 \pm 0,704 [*]	113,469 \pm 0,537 ^{***,###}	90,347 \pm 2,642
Glucides ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	82,233 \pm 1,397	80,732 \pm 0,646	138,380 \pm 0,203 ^{***,###}	83,905 \pm 1,196	141,770 \pm 0,766 ^{***,###}	85,184 \pm 0,410 [*]	149,686 \pm 0,700 ^{***,###}	80,525 \pm 1,729

* $p \leq 0.05$ comparant aux témoins ;
 * : Différence significative ($p \leq 0.05$) ;
 ** : Différence hautement significative ($p \leq 0.01$) ;
 *** : Différence très hautement significative ($p \leq 0.001$).
 # $p \leq 0.05$ comparant aux traités ;
 # : Différence significative ($p \leq 0.05$) ;
 ## : Différence hautement significative ($p \leq 0.01$) ;
 ### : Différence très hautement significative ($p \leq 0.001$).

II.2.3.1.1. Protéines tissulaires

Les rats exposés aux pesticides (LUF, CPF, LUF+CPF) présentent une augmentation du taux protéique que ceux non exposés à ces pesticides. L'étude statistique concernant cette mesure détermine une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$) chez les rats exposés au LUF, LUF+CPF, et hautement significative ($p \leq 0,01$) chez les rats traités par CPF par rapport au témoin.

On constate que la co-exposition des pesticides et l'HE diminue le taux de protéine d'une façon non significative chez les groupes LUF, CPF, et très hautement significative ($p \leq 0,001$) chez le groupe LUF+CPF comparant aux lots traités uniquement par le pesticide. Alors qu'aucune différence n'a été observée quand les compare avec le groupe témoin (Tableau 07).

II.2.3.1.2. Lipides tissulaires

En premier point, nous constatons que le taux du lipide dans le foie chez les rats traités par les pesticides est plus élevé à celui des rats témoins. Dans ce cas, on observe une variation très hautement significative ($p \leq 0,001$) après l'exposition à LUF, CPF, LUF+CPF par rapport au témoin et au lots pesticides + HE. Concernant l'addition du l'HE, on note une diminution du taux du lipide par une variation significative ($p \leq 0,05$) chez les lots traités par CPF par rapport au témoin. Les autres groupes n'ont présenté aucune différence significative du taux des lipides, comparés au témoin (Tableau 07).

II.2.3.1.3. Les glucides tissulaires

L'exposition des rats par les deux pesticides seuls ou bien en mixture durant 60 jours montre une augmentation du taux des glucides par rapport aux rats non exposés. On note une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$) après l'exposition à LUF, CPF, LUF+CPF par rapport au témoin et au lots pesticides + HE. Par ailleurs, une réduction du taux de glucide est néanmoins observée en cas de co-exposition au pesticide et l'HE, significativement ($p \leq 0,05$) chez le lot traité par CPF par rapport au groupe témoin. Aucun changement significatif sur le taux de glucide n'a été constaté chez les autres groupes (Tableau 07).

II.2.4. Action sur certains biomarqueurs plasmatiques de la fonction hépatique

Les figures (26, 27) résument certains biomarqueurs plasmatiques de la fonction hépatique des rats témoins et des rats traités par CPF, LUF et par LUF+CPF, et leur combinaison avec l'huile essentielle après 60 jours du traitement.

II.2.4.1. Concentration plasmatique en glucose

D'après les résultats obtenus (Figure 26), on observe une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) de la concentration plasmatique en glucose chez tous les groupes traités par

les pesticides comparant au groupe témoin, et au groupe traité uniquement par le pesticide+HE, par contre on enregistre une diminution significative ($p \leq 0,05$) de la concentration plasmatique en glucose chez le lot CPF+HE comparant au témoin, alors qu'aucune différence significative n'est observée chez le reste des groupes.

II.2.4.2. Activités des transaminases

Le traitement des rats par lufenuron induit une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) de l'activité de l'ALAT et très hautement significative ($p \leq 0,001$) de l'activité de l'ASAT par rapport au témoin. On note une différence hautement significative ($p \leq 0,01$) de l'activité des transaminases en comparant avec le groupe traité par lufenuron+HE. Chez les rats traités par chlorpyrifos, on observe une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) de l'activité des transaminases comparant au témoin, hautement significative ($p \leq 0,01$) pour l'ASAT et très hautement significative ($p \leq 0,001$) pour l'ALAT comparant aux rats traités par Chlorpyrifos+HE. Concernant les rats traités par la combinaison du chlorpyrifos et lufenuron, on note une différence très hautement significative ($p \leq 0,01$) de l'activité des transaminases comparant au témoin, et aux rats traités par la combinaison LUF, CPF, HE (Figures 27). Par contre, on enregistre un rétablissement par une diminution de l'activité de l'ASAT et l'ALAT chez les lots traités par la combinaison des pesticides et HE avec une variation significative ($p \leq 0,05$) par rapport au témoin.

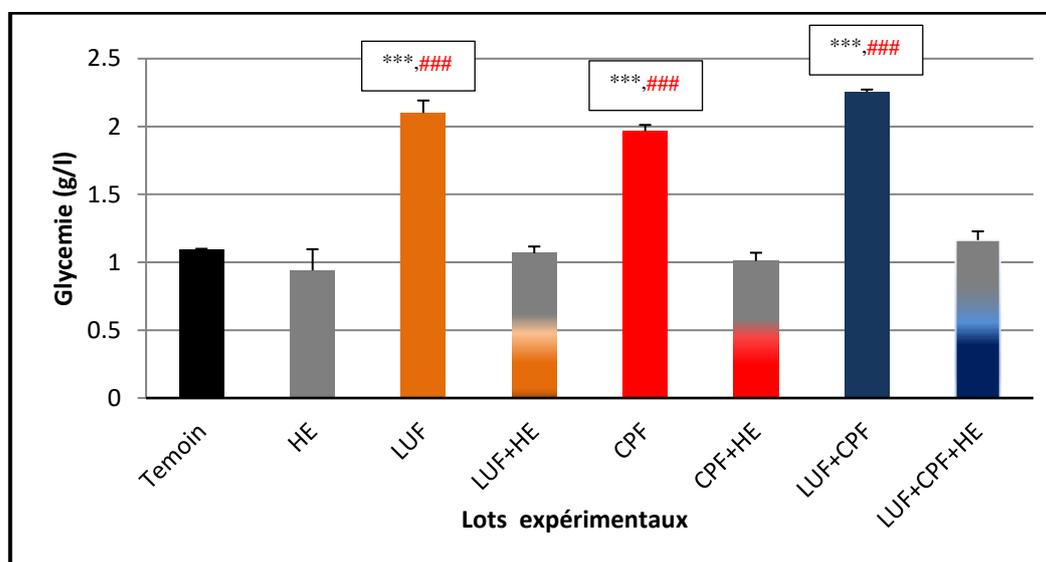


Figure 25 : Variation de la concentration sérique du glucose chez le lot témoin et les lots traités après 60 jours du traitement.

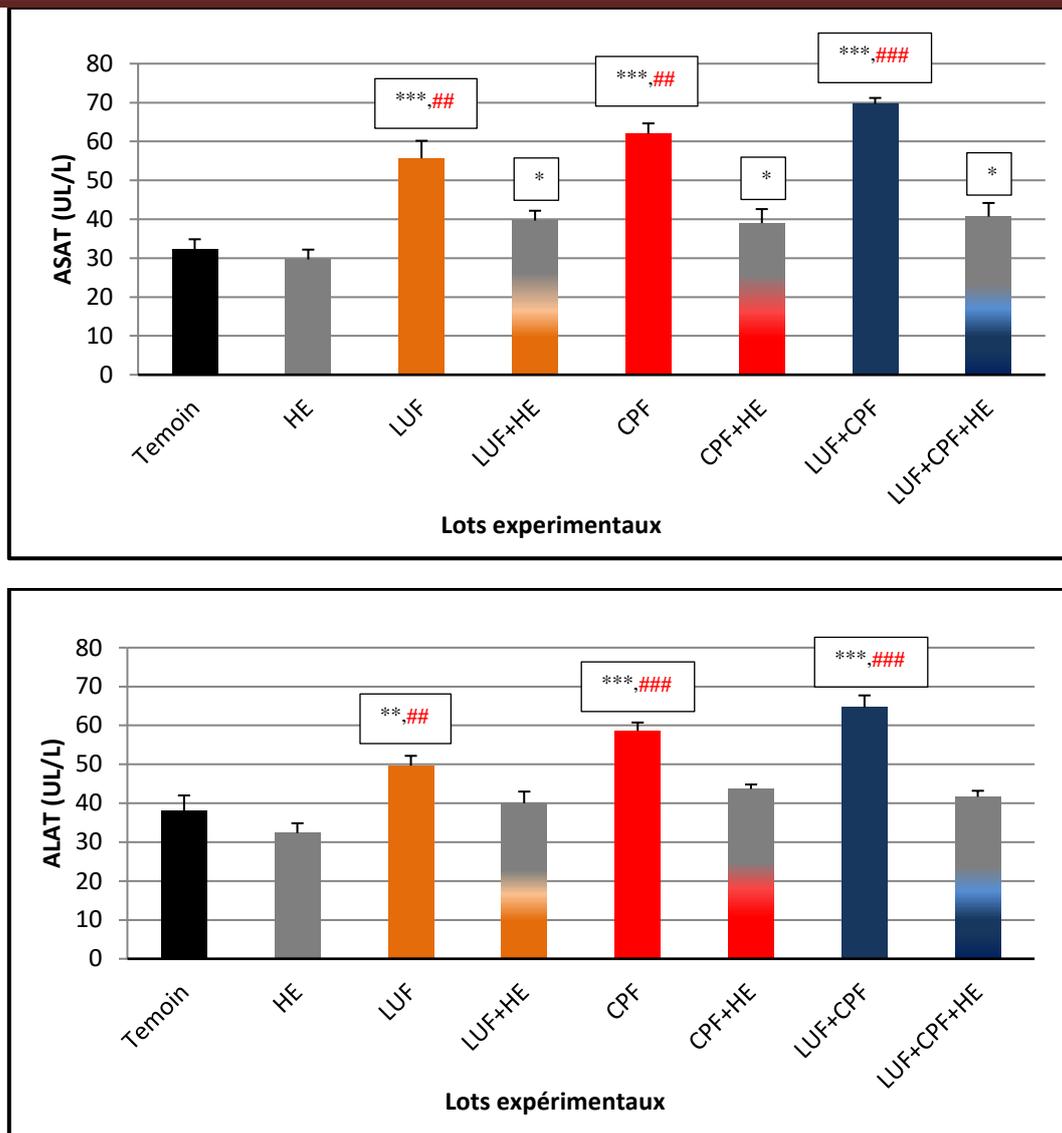


Figure 26 : Variation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT (UI/I) et l'ALAT (UI/I)) chez les rats témoins et traités après 60 jours du traitement.

II.2.5. Action sur certains biomarqueurs plasmatiques de la fonction rénale

Les figures (27, 28) résument certains biomarqueurs plasmatiques de la fonction rénale des rats témoins et traités par les deux pesticides et leurs combinaisons avec l'huile essentielle après 2 mois du traitement.

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) du taux en urée et significative ($p \leq 0,05$) du taux en créatinine chez le groupe traité par lufenuron par rapport au groupe témoin et au groupe traité par LUF+HE.

Chez les lots recevant le chlorpyrifos une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du taux plasmatique en urée et en créatinine a été observée comparant au lot témoin et au lot traité par CPF+HE.

Concernant les rats traités par la combinaison des deux pesticides, on a constaté une différence hautement significative ($p \leq 0,01$) au niveau du taux d'urée et très hautement significative ($p \leq 0,001$) du taux en créatinine par rapport aux rats non traités et aux rats traités par la combinaison des deux pesticides et HE.

Par contre, on note un rétablissement par une diminution significative de l'urée et de créatinine chez les lots associés à l'huile essentielle, et on enregistre aucune variation significative par rapport au témoin.

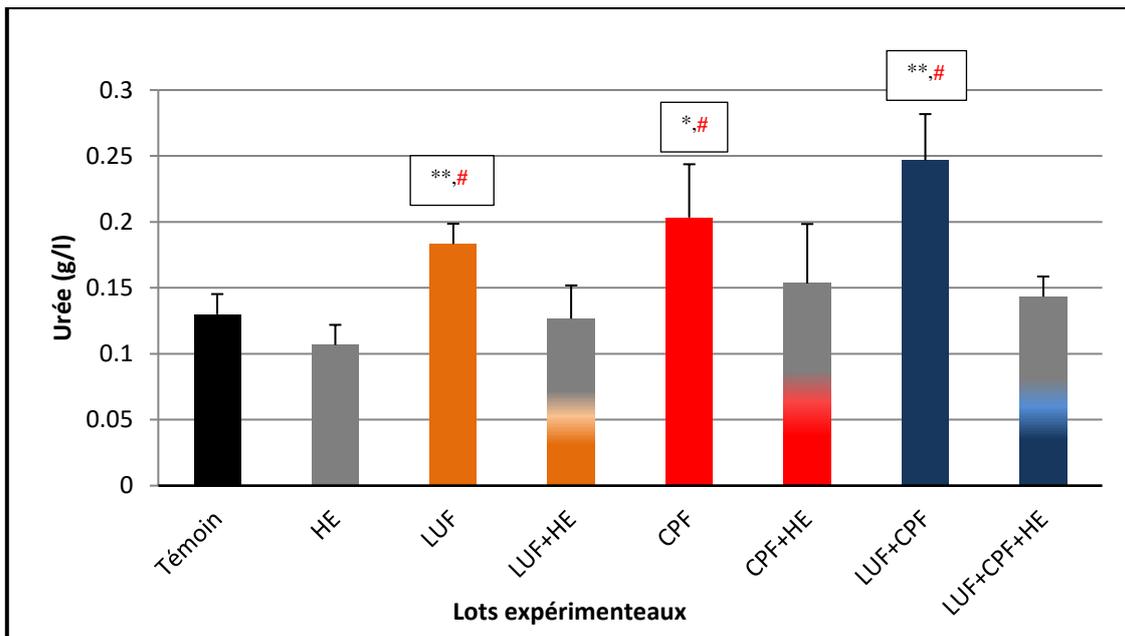


Figure 27 : Variation de la concentration plasmatique en urée(g/l) chez les rats témoins et traités après 60 jours du traitement.

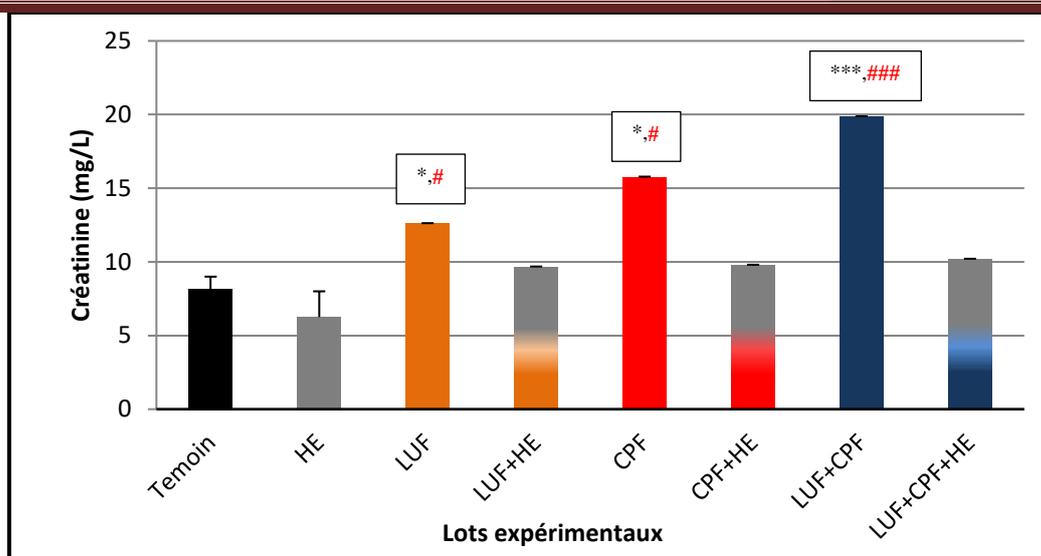


Figure 28 : Variation de la concentration plasmatique en créatinine (mg/l) chez les rats témoins et traités après 60 jours du traitement.

II.3. Stress oxydant induit par LUF et CPF et leur mixture : Effets protecteurs de la supplémentation en huile essentielle

II.3.1. Au niveau cytosolique

II.3.1.1. Effet sur les taux du malondialdéhyde et du glutathion réduit tissulaires

Les données concernant la variation des taux du malondialdéhyde et du glutathion réduit au niveau du foie chez les rats témoins, traités par les deux pesticides et par les combinaisons des pesticides plus l'huile essentielle sont résumées dans les figures (29 ; 30).

II.3.1.1.1. Taux du malondialdéhyde (MDA)

On constate une augmentation significative du taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau hépatique chez les rats recevant LUF ($p \leq 0,05$), CPF ($p \leq 0,01$), LUF+CPF ($p \leq 0,001$) par rapport aux rats témoins. On a trouvé une différence significative ($p \leq 0,05$) entre les lots traités uniquement par le pesticide et ceux traités par le pesticide + HE, et hautement significative ($p \leq 0,01$) en comparant les rats traités par LUF+CPF et le groupe des rats traités par LUF+CPF+HE

Par contre, l'administration de l'HE a permis de réduire cette perturbation chez les rats intoxiqués, ceci est illustré par une diminution significative du taux du MDA chez les lots traités par la combinaison du LUF, CPF, CPF+LUF plus HE par rapport au lot traité par le pesticide seul ou bien en mixture, et on enregistre aucune variation significative par rapport au témoin (Figure 29).

II.3.1.1.2. Taux du glutathion réduit (GSH)

Le taux du glutathion réduit (GSH) hépatique est diminuée chez les lots traités par les pesticides, avec une différence hautement significative ($p \leq 0,01$) chez les rats recevant LUF, très

hautement significative ($p \leq 0.001$) chez les rats recevant CPF et LUF+CPF par rapport au témoin. Ainsi nous constatons une différence significative ($p \leq 0,05$) entre les lots traités uniquement par le pesticide et ceux traités par le pesticide + HE, et très hautement significative ($p \leq 0,001$) en comparant les rats traités par LUF+CPF et le groupe des rats traités par LUF+CPF+HE.

En présence de l'HE, les teneurs en GSH sont augmentées, et ne présente aucune variation significative par rapport au témoin (Figure 30).

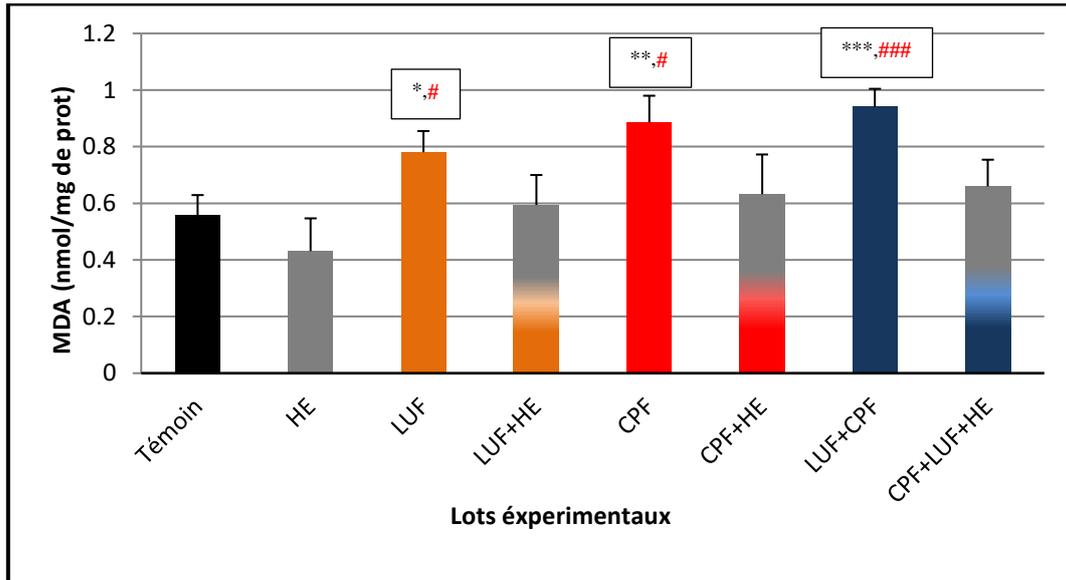


Figure 29 : Variation du taux en malondialdéhyde (nmol/mg protéine) hépatique chez les rats témoin et traités pendant 60 jours du traitement.

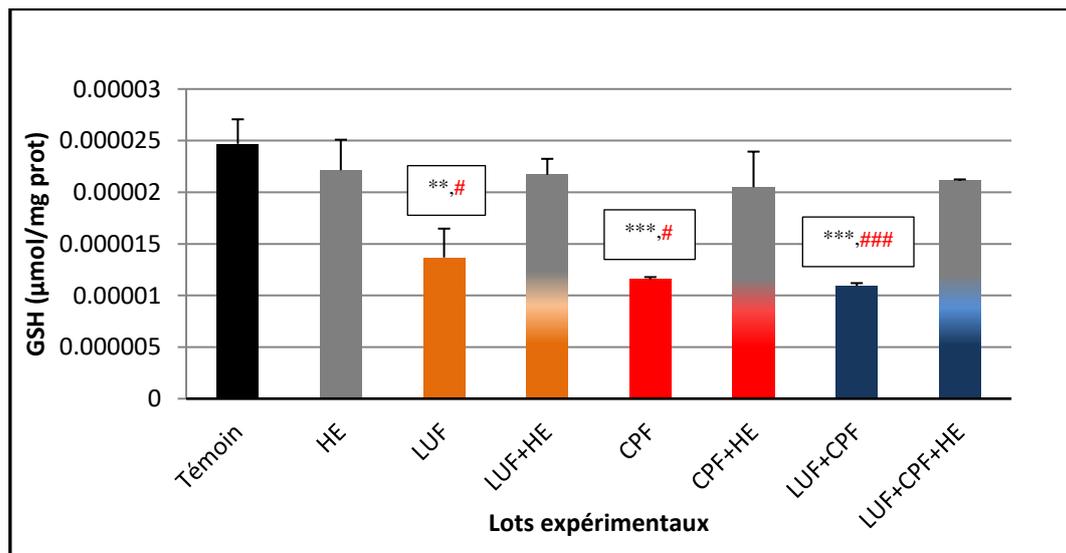


Figure 30 : Variation de la teneur cellulaire en glutathion (µmol/mg protéine) hépatique chez les rats témoins et traités pendant 60 jours du traitement.

II.3.1.2. Effet sur l'activité de quelques enzymes antioxydantes tissulaires

La variation de l'activité de certaines enzymes antioxydantes au niveau hépatique des rats témoins et traités par l'huile essentielle (HE), Lufenuron (LUF), Chlorpyrifos (CPF) et les combinaisons de (LUF+HE), (CPF+HE), (LUF+CPF) et de (LUF+CPF+HE) est résumée dans les figures (31 ; 32 et 33).

II.3.1.2.1. Activité de la glutathion peroxydase (GPx)

Sur une durée de 60 jours de traitement, on ne constate aucune différence significative de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) au niveau hépatique entre les rats des lots témoin et ceux des tous les lots traités, hormis le lot traité par Chlorpyrifos ($p \leq 0,05$) (Figure 31).

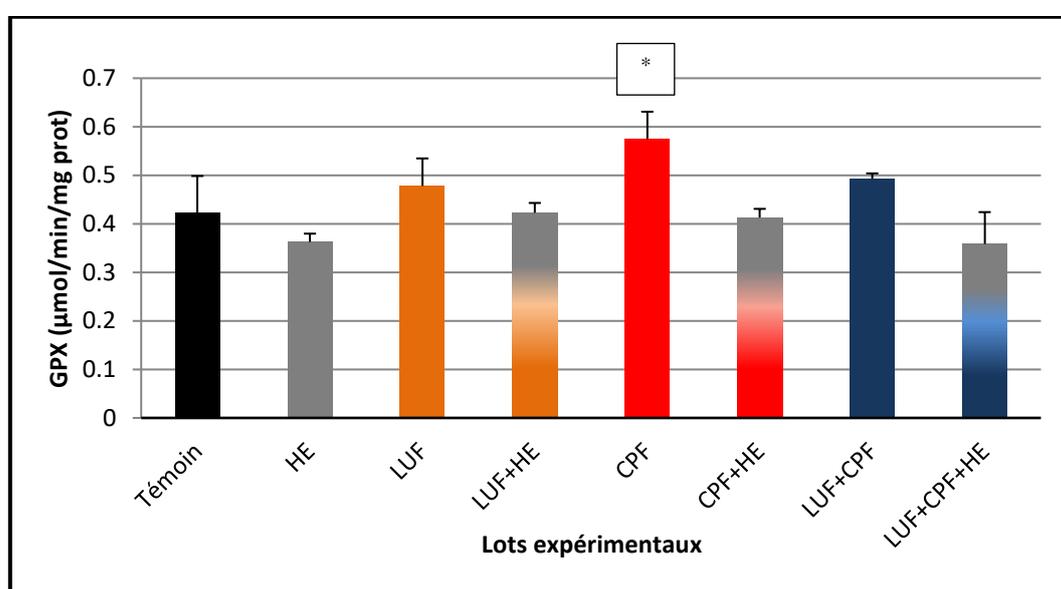


Figure 31 : Variation de l'activité enzymatique hépatique de la glutathion peroxydase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) chez les rats témoins et traités pendant 60 jours du traitement.

II.3.1.2.2. Activité de la catalase (CAT)

Les activités de la catalase présentent une réduction significative chez les lots traités par LUF, CPF, LUF+CPF. L'analyse de la variance met en évidence une différence significative entre les animaux du lot témoin et ceux des lots traités par LUF ($p \leq 0,01$), CPF ($p \leq 0,001$), LUF+CPF ($p \leq 0,001$). La combinaison du l'HE avec les pesticides provoque une augmentation significative ($p \leq 0,05$) chez les groupes traités par LUF et CPF, et une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) chez le groupe LUF+CPF en comparant par les groupes traités uniquement par LUF, CPF, LUF+CPF. En revanche, le traitement protecteur des animaux avec HE normalise clairement l'activité de cette enzyme, et on ne constate aucune variation significative de leur activité par rapport au témoin (Figure 32).

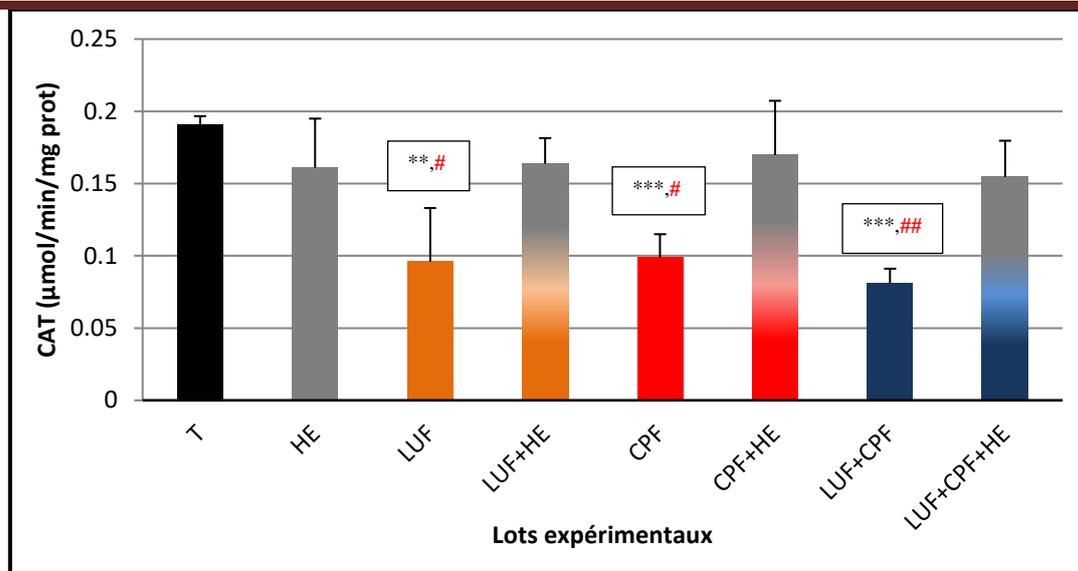


Figure 32 : Variation de l'activité de la catalase hépatique (CAT) chez les témoins et les lots expérimentaux après 60 jours du traitement.

II.3.1.2.3. Activité de la glutathion S-transférase (GST)

L'administration des pesticides étudiés pendant 60 jours chez les rats, induit une diminution de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) au niveau du foie par rapport aux rats témoins. On note une différence significative ($p \leq 0,05$) de l'activité de la GST chez le lot traité par LUF, et hautement significative ($p \leq 0,01$) chez les rats administrés CPF et LUF+CPF comparant au lot témoin.

Ainsi, on observe une différence significative ($p \leq 0,05$) chez le lot traité par LUF, et hautement significative ($p \leq 0,01$) chez les lots traités par CPF, LUF+CPF comparant aux lots traités par les pesticides associés au l'huile essentielle.

Tandis qu'on enregistre un rétablissement par une augmentation significative de l'activité de la GST chez les rats recevant les combinaisons pesticides plus HE, avec aucune variation dans les valeurs de l'activité de cette enzyme chez ces groupes par rapport au groupe témoin (Figure 33).

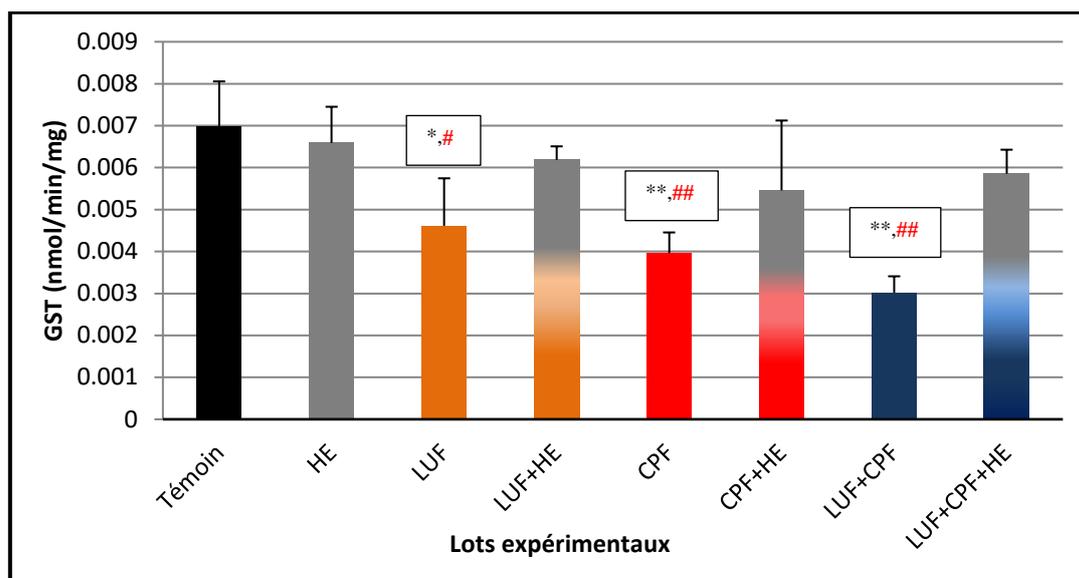


Figure 33 : Variation de l'activité du glutathion-S-transférase (GST) au niveau hépatique chez les lots témoins et expérimentaux après 60 jours du traitement.

II.3.2. Au niveau mitochondrial

II.3.2.1. Effet sur les taux du malondialdéhyde et du glutathion réduit mitochondrial

Les données concernant la variation des taux du malondialdéhyde et du glutathion réduit au niveau mitochondrial chez les rats témoins, traités par les deux pesticides et par les combinaisons des pesticides plus l'huile essentielle sont résumées dans les figures 34 et 35.

II.3.2.1.1. Taux du malondialdéhyde (MDA)

Nous avons constaté une élévation du MDA significative ($p \leq 0.05$) chez les rats recevant CPF, et hautement significative ($p \leq 0.01$) du MDA chez les rats recevant LUF, et la mixture par rapport au groupe témoin.

Cependant, l'administration de l'HE a diminué le taux du MDA de façon significative ($p \leq 0,05$) chez les lots traités par CPF, LUF, et hautement significative chez les rats ayant subi la mixture par rapport au groupe traité par le pesticide seul. Par ailleurs, aucune variation significative du MDA n'est constatée chez les rats recevant CPF, LUF, CPF+LUF et prétraités par l'huile essentielle par rapport au groupe témoin (Figure 34).

II.3.2.1.2. Taux du glutathion réduit (GSH)

Nos résultats indiquent une diminution hautement significative ($p \leq 0.01$) du taux de GSH chez les groupes traités par CPF, CPF+LUF, et significative ($p \leq 0.05$) chez le groupe traité par LUF comparé au groupe témoin (Figure 35).

En contrepartie, on remarque une augmentation de la teneur en GSH chez les lots recevant la

combinaison du pesticide et l'HE de façon hautement significative ($p \leq 0.01$) chez les rats traités par CPF, et significative ($p \leq 0.05$) chez le groupe traité par LUF comparés aux groupes traités uniquement par le pesticide. Ainsi aucune différence n'est constatée lorsqu'on les compare avec le témoin, sauf pour le lot traité par CPF+HE ($p \leq 0.05$).

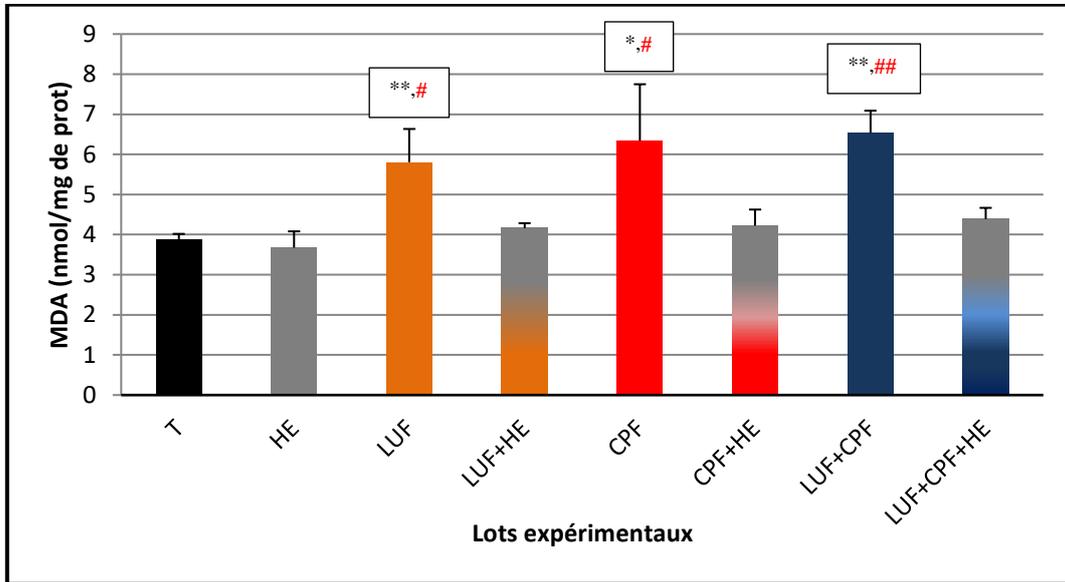


Figure 34 : Variation du taux en malondialdéhyde (nmol/mg protéine) au niveau mitochondrial chez les rats témoins et traités pendant 60 jours du traitement.

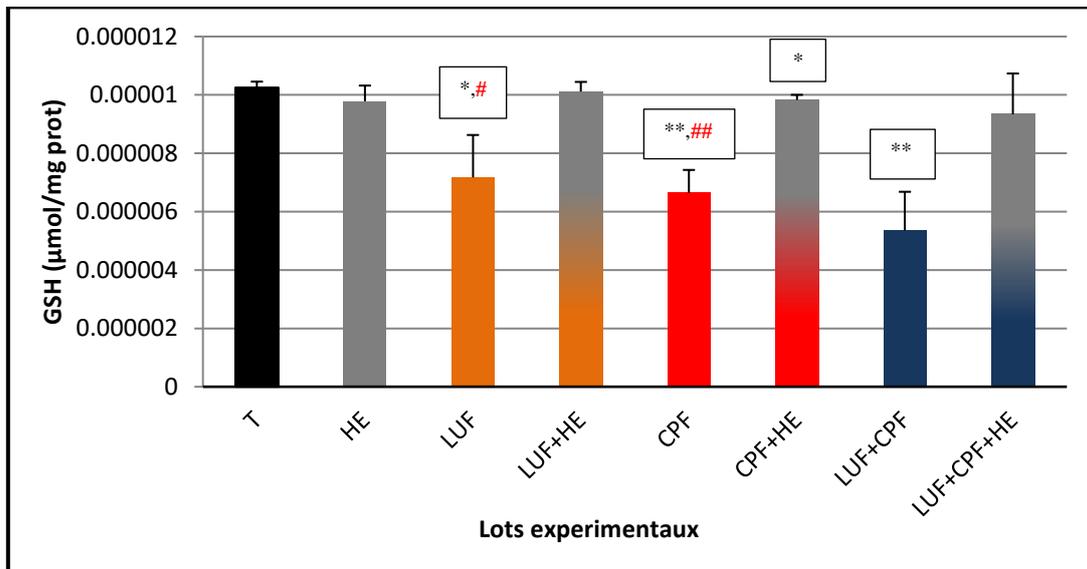


Figure 35 : Variation de la teneur mitochondriale en glutathion (µmol/mg protéine) chez les rats témoins et traités pendant 60 jours du traitement.

II.3.2.1. Effet sur l'activité de quelques enzymes antioxydantes

La variation de l'activité de certaines enzymes antioxydantes au niveau mitochondrial des rats témoins et traités par l'huile essentielle (HE), Lufenuron (LUF), Chlorpyrifos (CPF) et les combinaisons de (LUF+HE), (CPF+HE), (LUF+CPF) et de (LUF+CPF+HE) est résumée dans les figures 36 ; 37 et 38.

II.3.2.1.1. Activité de la glutathion peroxydase (GPx)

L'exposition sub-chronique au LUF, CPF, et leur combinaison a induit une augmentation de l'activité enzymatique mitochondrial de la glutathion peroxydase, mais on ne constate aucune différence significative de l'activité de cette enzyme entre les rats des lots témoin et ceux des tous les lots traités (Figure 36).

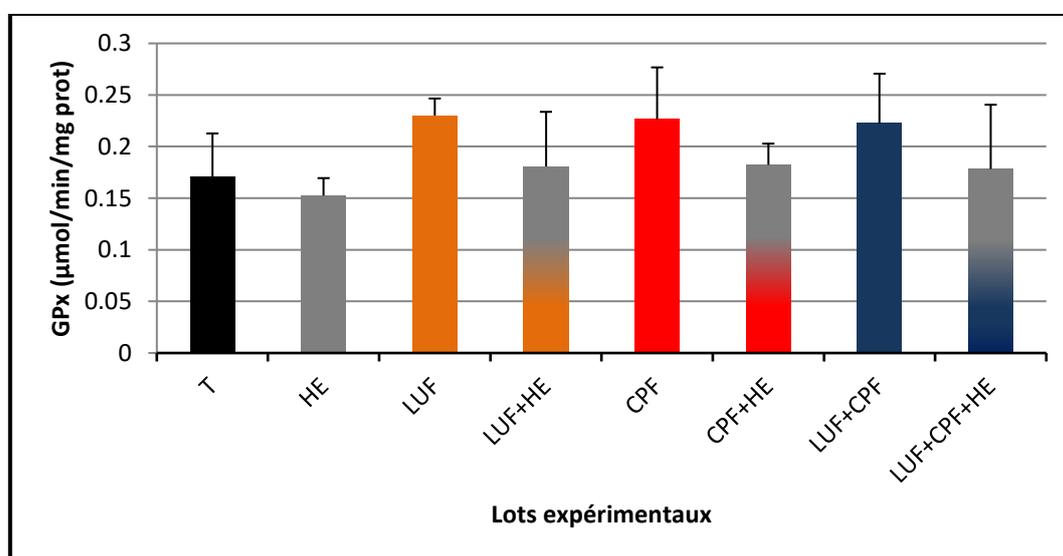


Figure 36 : Variation de l'activité enzymatique mitochondrial de la glutathion peroxydase (µmol/min/mg protéine) chez les rats témoins et traités pendant 60 jours du traitement.

II.3.2.1.2. Activité de la catalase (CAT)

Les activités de la catalase présentent une diminution chez les lots traités par LUF, CPF, LUF+CPF. L'analyse de la variance met en évidence une variation significative entre les animaux des lots témoin et ceux des lots traités par CPF ($p \leq 0,05$), LUF ($p \leq 0,01$), LUF+CPF ($p \leq 0,01$). La combinaison du l'HE avec les pesticides provoque une augmentation significative ($p \leq 0,05$) chez le groupe traité par CPF, et une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) chez les groupes traités par LUF, LUF+CPF en comparant par les groupes traités uniquement par LUF, CPF, LUF+CPF. En revanche, le traitement protecteur des animaux avec HE normalise clairement l'activité de cette enzyme, et on ne constate aucune variation significative de leur activité par rapport au témoin (Figure 37).

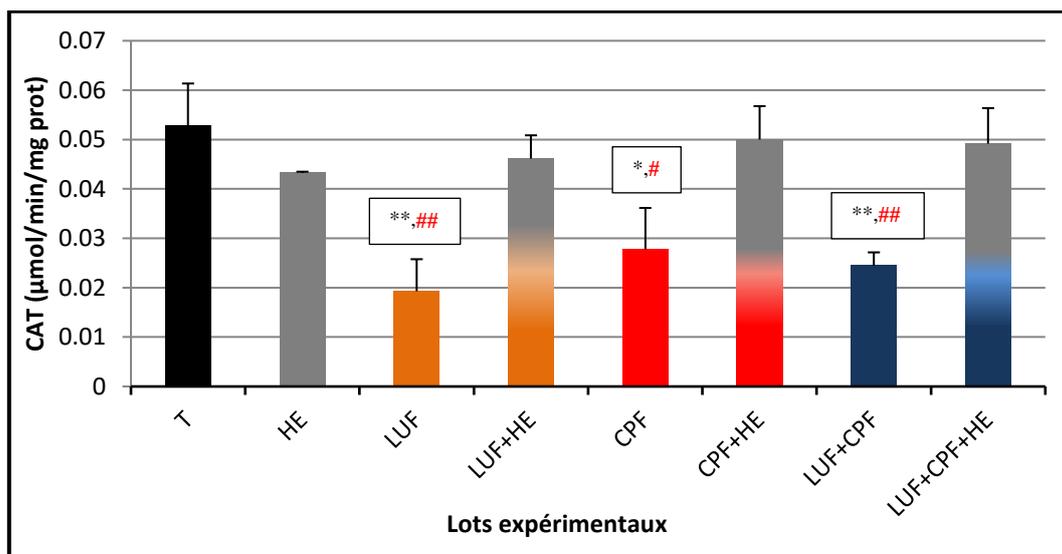


Figure 37 : Variation de l'activité de la catalase (CAT) au niveau mitochondrial chez les témoins et les lots expérimentaux après 60 jours du traitement.

II.3.2.1.3. Activité de la glutathion S-transférase (GST)

L'administration des pesticides étudiés pendant 60 jours chez les rats, induit une diminution de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) au niveau des mitochondries du foie par rapport aux rats témoins. On note une différence significative ($p \leq 0,05$) de l'activité de la GST chez le lot traité par CPF, et hautement significative ($p \leq 0,01$) chez les rats administrés LUF et LUF+CPF comparant au lot témoin.

Ainsi, on observe une différence significative ($p \leq 0,05$) chez le lot traité par LUF, comparant au lot traité par le pesticide associé au l'huile essentielle.

Tandis qu'on enregistre un rétablissement par une augmentation significative de l'activité de la GST chez les rats recevant les combinaisons pesticides plus HE, avec aucune variation dans les valeurs de l'activité de cette enzyme chez ces groupes par rapport au groupe témoin (Figure 38).

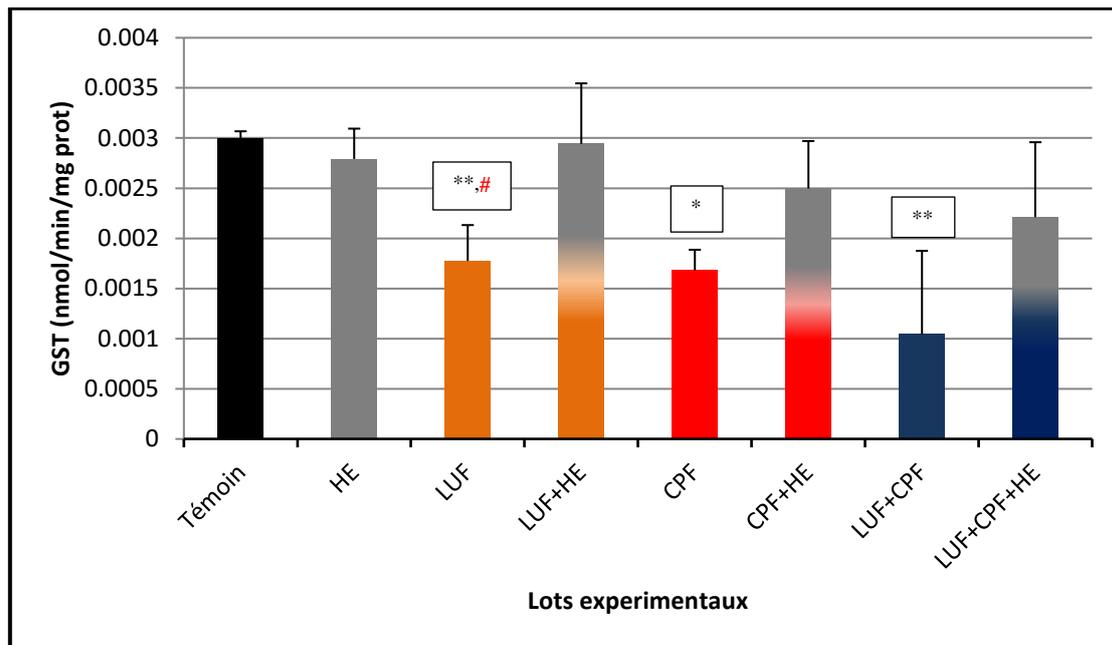


Figure 38 : Variation de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST) au niveau mitochondrial chez les lots témoins et expérimentaux après 60 jours du traitement.

II.4. Impact du LUF, CPF et leur mixture sur l'activité de l'acétylcholinestérase : Effets protecteurs de la supplémentation en huile essentielle (HE)

Le tableau (07) représente la variation de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) au niveau cérébral des rats témoins et traités par LUF, CPF, LUF+CPF et leurs associations avec l'HE, après 60 jours du traitement.

Tableau 7 : Variation de l'activité de l'acétylcholinestérase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) au niveau cérébral chez les rats témoins et traités (HE, LUF, CPF, LUF+CPF, LUF+HE, CPF+HE, LUF+CPF+HE) après 60 jours du traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux							
	Témoin	HE	LUF	LUF+HE	CPF	CPF+ HE	CPF+ LUF	CPF+ LUF+HE
<i>Activité de (AChE)</i> ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot)	0,00013± 6,588E-06	0,00012± 2,023E-05	9,51E-05± 4,736E-06*	0,00011 ± 2,048E-05	6,609E-05 ± 6,425E06***,##	0.182±0,020	0,00011± 1,571E-05***,##	0,00010± 1,913E-05

* $p \leq 0.05$ comparant aux témoins ;

* : Différence significative ($p \leq 0.05$) ;

** : Différence hautement significative ($p \leq 0.01$) ;

*** : Différence très hautement significative ($p \leq 0.001$).

$p \leq 0.05$ comparant aux traités ;

: Différence significative ($p \leq 0.05$) ;

: Différence hautement significative ($p \leq 0.01$) ;

: Différence très hautement significative ($p \leq 0.001$).

L'exposition des rats aux pesticides (LUF, CPF, LUF+CPF) a provoqué une diminution de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE) dans le cerveau comparant au groupe témoin. Nos résultats révèlent que l'administration du CPF et leur combinaison par LUF provoque une variation très hautement significative ($p \leq 0.001$) par rapport aux non traités, et hautement significative ($p \leq 0.01$) comparant aux CPF+HE et LUF+CPF+HE. Alors que LUF engendre une différence significative ($p \leq 0.05$) par rapport aux rats non traités. Aucune différence significative n'est mise en évidence quand le compare par LUF+HE. Chez les lots des rats ayant reçu l'HE, on a observé une nette amélioration par l'augmentation de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE) au niveau cérébral, et n'est pas significativement différente de ceux de lot témoin.

II.5. Effet des pesticides et l'huile essentielle sur les paramètres de respiration, perméabilité membranaire et gonflement mitochondriale dans le foie chez les rats

II.5.1. Effet des pesticides et l'huile essentielle sur la respiration mitochondriale

Les résultats du suivi durant 60 jours concernant l'effet du CPF, LUF, LUF+CPF et leur combinaison avec l'huile essentielle sur la respiration mitochondriale sont rapportés dans les figures (39 ; 40 et 41).

La figure (39) montre une diminution très hautement significative ($p \leq 0.001$) de la concentration d'oxygène consommé dans le foie chez le lot traité par LUF comparés au témoin, et au lot traité par LUF+HE. L'analyse de la variance ne met en évidence aucune modification statistiquement significative chez les rats traités par HE en association avec le pesticide par rapport aux témoins.

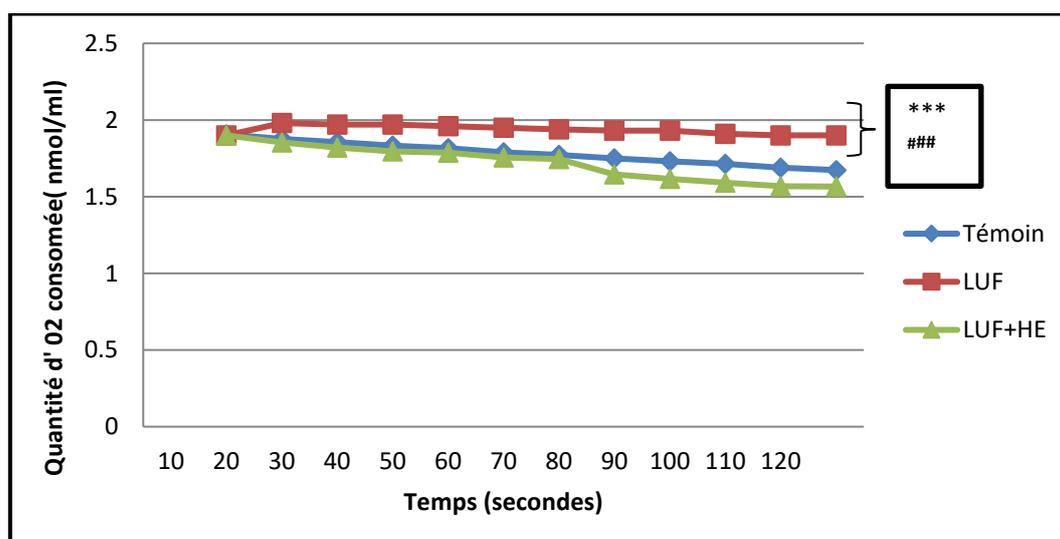


Figure 39 : Variation de la respiration mitochondriale dans le foie chez les rats traités par lufenuron et leur combinaison avec l'huile essentielle pendant 60 jours du traitement.

Les résultats de la figure (40) montrent une diminution hautement significative ($p \leq 0.01$) de la concentration d'oxygène consommé dans le foie chez le lot traité par CPF comparés au témoin, et au lot traité par CPF+HE.

L'analyse de la variance ne met en évidence aucune modification statistiquement significative chez les rats traités par HE en association avec le pesticide par rapport aux témoins.

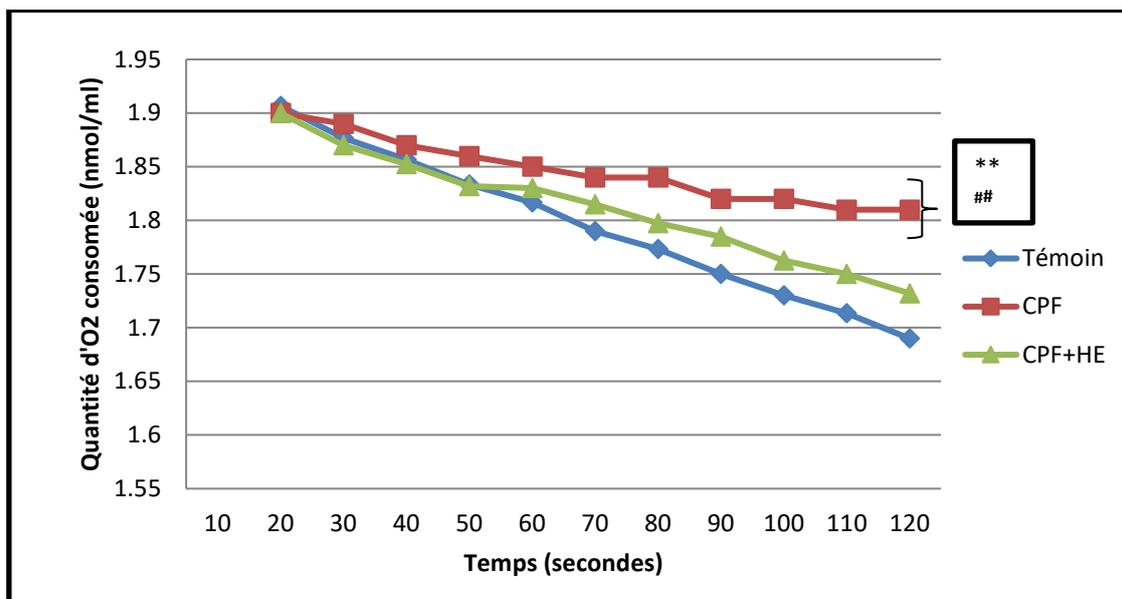


Figure 40 : Variation de la respiration mitochondriale dans le foie chez les rats traités par chlorpyrifos et leur combinaison avec l'huile essentielle pendant 60 jours.

La figure (41) illustre les résultats concernant l'effet de deux pesticides et leurs combinaisons avec l'huile essentielle sur la respiration mitochondriale.

Les résultats montrent une réduction hautement significative ($p \leq 0.01$) de la concentration d'oxygène consommé dans le foie chez le lot traité par LUF+CPF comparés au témoin, et très hautement significative ($p \leq 0.001$) comparés au lot traité par LUF+HE. L'analyse de la variance ne met en évidence aucune modification statistiquement significative chez les rats traités par HE en association avec le mélange du CPF et LUF par rapport aux témoins.

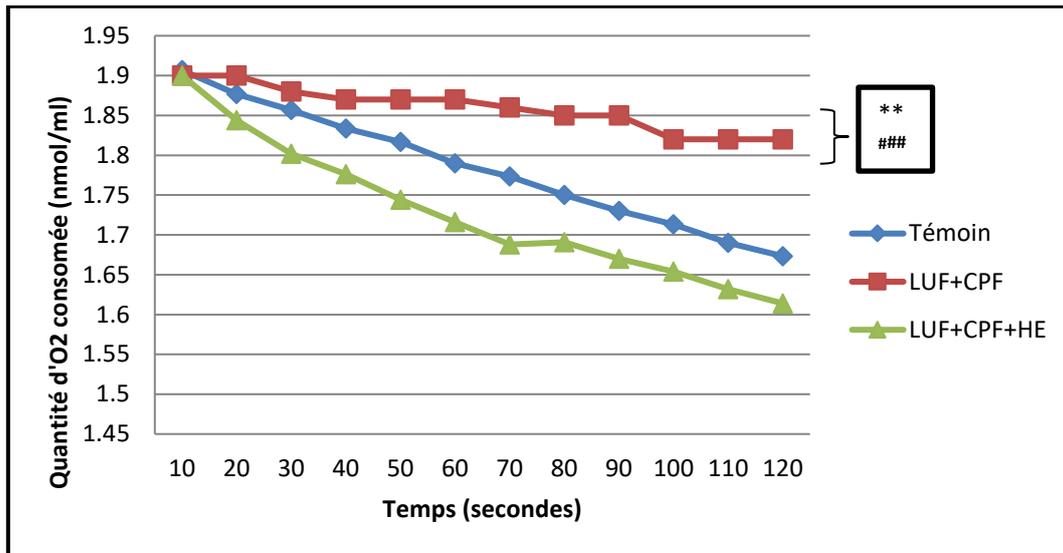


Figure 41 : Variation de la respiration mitochondriale dans le foie chez les rats traités par la mixture des deux pesticides et leur combinaison avec l'huile essentielle pendant 60 jours.

La figure (42) illustre les résultats concernant l'effet de l'huile essentielle sur la respiration mitochondriale. L'analyse de la variance ne met en évidence aucune modification statistiquement significative chez les rats traités par HE par rapport aux témoins.

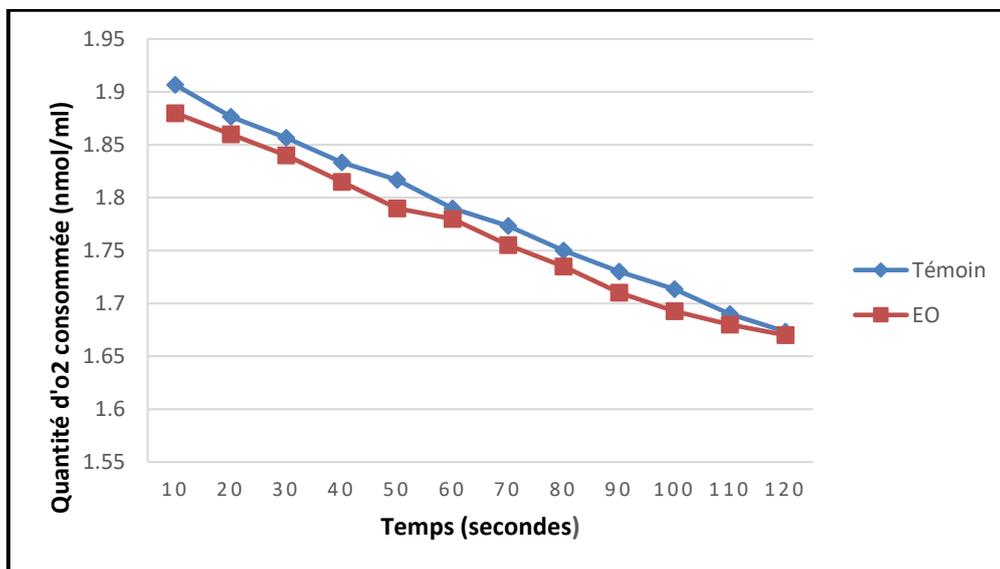


Figure 42 : Variation de la respiration mitochondriale dans le foie chez les rats traités avec l'huile essentielle et témoins pendant 60 jours.

II.5.2. Effet des pesticides et l'huile essentielle sur le gonflement mitochondrial

Les résultats du suivi durant 60 jours concernant l'effet du CPF, LUF, LUF+CPF et leur combinaison avec l'huile essentielle sur le gonflement mitochondrial sont rapportés dans la figure (43).

Les résultats obtenus montrent une augmentation significative ($p \leq 0.05$) chez le lot LUF, et hautement significative ($p \leq 0.01$) chez les lots CPF, LUF+CPF par rapport au témoin. En revanche, cette augmentation est diminuée pour les lots traités par l'addition d'HE de façon hautement significative ($p \leq 0.01$) comparé aux lots traités uniquement par les pesticides et la mixture. Ainsi nous ne constatons aucune différence significative entre ces lots traités et le lot témoin. Seulement pour le lot LUF+HE, une différence significative ($p \leq 0.05$) a été constatée.

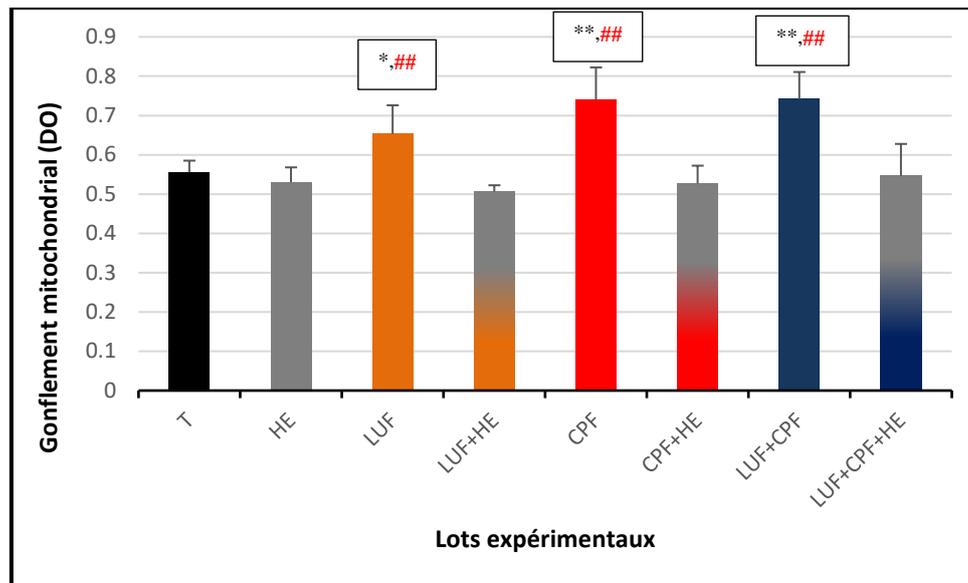


Figure 43 : Variation du gonflement mitochondrial des cellules hépatiques chez les rats traités et témoins pendant 60 jours du traitement.

II.5.3. Effet des pesticides et l'huile essentielle sur la perméabilité mitochondriale

Les résultats concernant l'effet du CPF, LUF, LUF+CPF et leur combinaison avec l'huile essentielle sur la perméabilité mitochondriale durant 60 jours sont représentés dans les figures (44 ; 45).

La figure (44) illustre les résultats concernant l'effet de deux pesticides et leurs combinaisons avec l'huile essentielle sur la perméabilité mitochondriale.

Les résultats montrent une augmentation très hautement significative ($p \leq 0.001$) de la perméabilité mitochondriale dans le foie chez les lots traités par le pesticide seul et en mixture, et significative ($p \leq 0.05$) chez les lots traités par pesticide + HE comparés au témoin.

L'analyse de la variance met en évidence une variation très hautement significative ($p \leq 0.001$) chez les rats traités par HE en association avec CPF et LUF ou en mélange, par rapport aux rats traités uniquement par le pesticide.

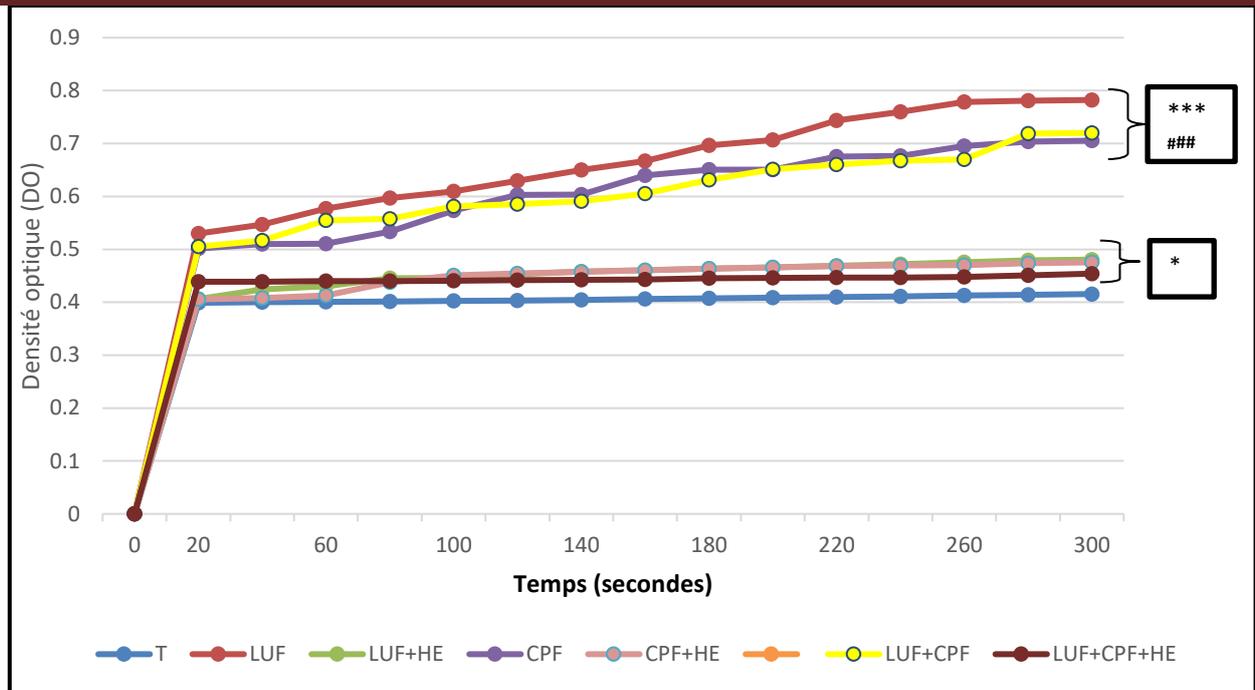


Figure 44 : Variation de la perméabilité mitochondriale dans le foie chez les rats traités par lufenuron, chlorpyrifos, lufenuron+chlorpyrifos et leur combinaison avec l'huile essentielle pendant 60 jours du traitement.

La figure (45) illustre les résultats concernant l'effet de l'huile essentielle sur la perméabilité mitochondriale. L'analyse de la variance ne met en évidence aucune modification statistiquement significative chez les rats traités par HE par rapport aux témoins.

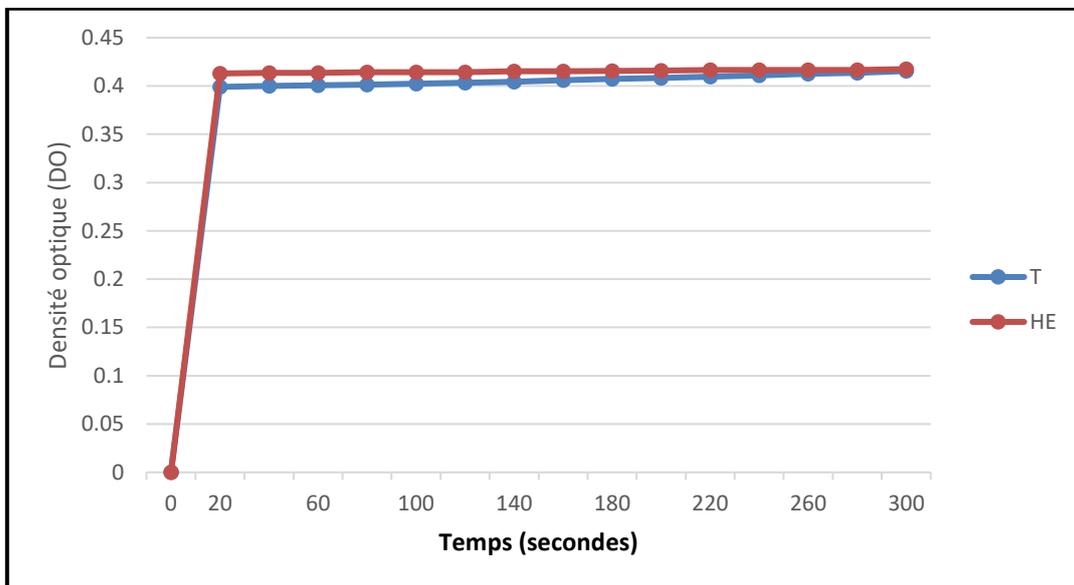


Figure 45 : Variation de la perméabilité mitochondriale dans le foie chez les rats témoins et traités par l'huile essentielle pendant 60 jours.

III. Discussion

III.1. Rendement et composition chimique des huiles essentielles du *Cuminum cyminum*

L'hydrodistillation des fruits de *C. cyminum* a donné un rendement de 1,98%, ce qui est proche de celui obtenue par Nadeem et Riaz (2012) 2.5%, tandis qu'il est plus important que l'étude sur la même espèce de Moghaddam *et al.* (2015) avec un rendement de masse sèche de 0,85%, et moins important que les résultats apportés par Li et Jiang (2004) où le rendement est 3,8%.

Moghaddam *et al.* (2015) ont prouvé la variation de la composition de l'huile essentielle et de l'activité antioxydante des fruits du cumin (*Cuminum cyminum L.*) au cours des étapes de maturité. Des rendements maximum et minimum d'huile essentielle (4,3% et 2,7%) ont été observés dans les stades matures et immatures, respectivement.

L'analyse CPG/SM de notre échantillon a révélé 15 composants, dont les majoritaires sont : le carvacrol (36,81%), para-cymene (16,08%), α -terpinene-7-al (16%), β -terpinène (13,18%) et à moindre pourcentage, le tricyclene et linalool acetate à 0,05% et eucalyptol à 0,02%. Les diverses études effectuées sur la caractérisation de l'huile essentielle de *Cuminum cyminum* ont permis d'avancer l'existence d'une variabilité chimique de cette huile essentielle (Tableau 08).

D'une manière générale, les études menées sur la composition chimique de l'huile de cumin de différents pays ont montré la présence des composants suivants: α -pinène (0,5%), myrcène (0,3%), limonène (0,5%), 1-8-cinéole (0,2%), p-menth-3-ène-7-ol (0,7%), p-mentha-1, 3-diène-7-ol (5,6%), caryophyllène (0,8%), β -bisabolène (0,9%), β -pinène (13,0%), P-cymène (8,5%), β -phellandrène (0,3%), D-terpinène (29,5%), aldéhyde cuminique (32,4%), alcool cuminylique (2,8%), β -farnésène (1,1%) ainsi que de plus petites quantités d' α -phellandrène, α -terpinène, cis et trans sabinène, Myrtenol, α -terpinéol et phellandral (Nadeem et Riaz, 2012).

La détermination de la composition chimique de l'huile essentielle de *Cuminum cyminum* à partir de la plante récoltée en Iran a été effectuée par Derakhshan *et al.* en 2008, qui ont identifiés les composés majoritaires suivants : cumin aldehyde (25,2%), p-mentha-1,3-dien-7-al (13%), p-mentha-1,4-dien-7-al (16,6%), γ -terpinene (19%), p-cymene (7,2%) and β -pinene (10,4%), par contre Gachkar *et al.* (2007) ont trouvé 32 composants dont les composants majeurs sont : α -pinene (29,1%), limonene (21,5%), 1,8-cineole (17,9%) et linalool (10,4%).

Tableau 8 : Diverses études effectuées sur la composition de l'huile essentielle de *Cuminum cyminum*.

L'origine de la plante	Les composants majeures	Pourcentage	Nombres des composants de l'huile	Références
Iran	cumin aldehyde	25,20%	-	Derakhshan <i>et al.</i> , 2008
	p-mentha-1,3-dien-7-al	13,00%		
	p-mentha-1,4-dien-7-al	16,60%		
	γ -terpinene	19,00%		
	p-cymene	07,20%		
	β -pinene	10,40%		
Iran	α -pinene	29,10%	32 composants	Gachkar <i>et al.</i> , 2007
	limonene	21,50%		
	1,8-cineole	17,90%		
	linalool	10,40%		
Inde	cuminaldéhyde	36,67%	10 composants	Patil <i>et al.</i> , 2016
	carène-10-al	21,34%		
Tunisie	cumin laldehyde	39,48%	21 composants	Hajlaoui <i>et al.</i> , 2010
	gamma-terpinene	15,21%		
	O-cymene	11,82%		
	beta-pinene	11,13%		
	2-caren-10-al	07,93%		
	trans carveol	04,49%		
	myrtenal	03,50%		
Tehran (Iran)	thymol	40,05%	11 composants	Reza et Moghadam, 2015
	γ -terpinene	19,66%		
	β -pinene	09,05%		

	γ -terpinene	23,91%		
	3-carene	07,66%		
-	cumin aldehyde	19,43%	-	Sheweita <i>et al.</i> , 2016
	2-carene-10-al	15,22%		
	cuminy lalcohol	09,08%		
	cuminal	36,31%		
	cuminic alcohol safranal	16,92%		
	γ -terpinene	10,87%		
Chine	p-cymene	11,14%	37 composants	Li et Jiang, 2004
	β -pinene	09,85%		
		07,75%		
	Extraction par SFE	06,39%		
	cuminal	03,72%		
	edulcan-I	09,11%		
	acide linoléique	14,69%		
Turkish	acide palmitique	42,94%	62 composants	Topal <i>et al.</i> , 2008
	acide oleique			
	Extraction par SD			
	cuminal	55,38%		
	edulcan-I	09,63%		
	carotol	04,90%		

L'huile essentielle de l'espèce récoltée en inde, constituée de 10 composants, est riche en cuminaldéhyde (36,67%) et du carène-10-al (21,34%) (Patil *et al.*, 2016). En Tunisie, 21 composants ont été identifiés, et cumin laldehyde (39,48%), gamma-terpinene (15,21%), O-cymene (11,82%), beta-pinene (11,13%), 2-carene-10-al (7,93%), trans carveol (4,49%) et myrtenal (3,5%) sont les majeurs composants (Hajlaoui *et al.*, 2010).

L'huile essentielle récupérée dans l'étude du Reza et Moghadam (2015) contient 11

composants, dont les majeurs sont thymol (40,05%), γ - terpinene (19,66%) et β - pinene (9,05%), et par Sheweita *et al.* (2016) γ -terpinene (23,91%), 3-carene (7,66%), cumin aldehyde (19,43%), 2-carene-10-al (15,22%) et cuminy lalcool (9,08%) sont les principaux constituants.

Trente-sept (37) composants ont été caractérisés dans l'huile essentielle provenant de la Chine. Les principaux composants identifiés dans cette fraction étaient cuminal (36,31%), cuminic alcohol (16,92%), safranal (10,87%), γ -terpinene (11,14%), p-cymene (9,85%) et β -pinene (7,75%) (Li et Jiang, 2004).

En outre, Topal *et al.* (2008) ont comparé la composition chimique de l'huile de cumin obtenue par extraction par fluide supercritique (SFE) à celle obtenue par distillation à la vapeur classique (SD). L'huile essentielle récupérée à partir des graines de *C. cuminum*, était un liquide jaune foncé en raison d'une forte concentration d'acides gras dans l'extrait de SFE, alors que la couleur était plus claire en SD. 62 composants : Les principaux composants identifiés étaient cuminal (6,39%) edulan-I (3,72%), acide linoléique (9,11%), acide palmitique (14,69%) et acide oleique (42,94%) dans le SFE extrait, et cuminal (55,38%), edulan-I (9,63%), carotol (4,9%) dans le SD extrait.

En effet, la composition de l'huile essentielle de *C. cuminum* dépend de nombreux facteurs, tels que la partie de la plante, la durée de la récolte, la méthode d'extraction, le type de cultivar, l'origine géographique et les conditions de stockage. En général, le cumin aldéhyde, les dérivés de menthane, le cterpinène, le p-cymène et le β -pinène sont des composants majeurs de nombreuses huiles essentielles de cumin et sont principalement responsables de l'arôme et des effets biologiques (Hiller, 1999).

III.2. Effets des pesticides et l'huile essentielle sur les paramètres de la croissance globale

La réduction du poids corporel est utilisée comme indicateur de la détérioration de l'état de santé générale du rat. Les résultats relatifs à la prise alimentaire ont montré une modification dans le gain de poids corporel entre les rats traités par les pesticides et lot témoin.

En effet, l'administration du CPF, LUF, et leur 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 permettent de suggérer que ces insecticides présentent des effets néfastes sur la croissance corporelle des rats. Ces effets peuvent être refléter des changements programmés dans l'hypothalamus, qui joue un rôle central dans la régulation de l'appétit et la prise alimentaire (Mc Millen *et al.*, 2005).

Les résultats du Badawy *et al.* (2013) ont montré que la diminution du poids après l'exposition aux pesticides IGR (Buprofezin, Triflumuron, et Lufenuron) dépendait de la dose

pendant la période d'exposition de 28 jours ; la diminution la plus importante a été observée après deux semaines d'exposition aux trois IGR, tandis que lufenuron était le plus actif.

En général, la chute corporelle est due en premier à une diminution de la masse grasse suivie de celle de la masse maigre. Elle représente la conséquence ultime d'un déséquilibre de la balance énergétique entre les apports qui sont inférieurs aux dépenses énergétiques (Ritz *et al.*, 2007).

Ces résultats sont en accord avec les travaux de Mattsson *et al.*, 1996 ; Goel *et al.*, 2000 ; Yu *et al.*, 2008 ; Karanth *et al.*, 2006 et Peris-Sampedro *et al.*, 2015 qui ont observé une réduction dans la consommation de la nourriture chez les rats traités par chlotpyrifos. Des études antérieures réalisées sur des rats adultes traités par des insecticides ont montré également une diminution significative de leurs poids corporels (El-Demerdash *et al.*, 2004 ; Saoudi *et al.*, 2011 ; Medjdoub, 2013 ; Mossa *et al.*, 2014). Contrairement à nos résultats, Bhaskar et Mohanty (2014) ont trouvé que la coexposition au mancozeb et imidaclopride à des faibles doses provoque un gain significatif de poids corporel relatif.

Dans nos conditions expérimentales, l'addition de l'huile essentielle du cumin aux rats traités par ces pesticides a engendré une élévation de poids corporel. Ceci pourrait être due à la réduction de l'accumulation des radicaux libres induite par les antioxydants et confirmée par l'augmentation de la consommation quotidienne de nourriture. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par Al-Shinnawy (2008), Ismail *et al.* (2009), Sankar *et al.* (2010), Messarah *et al.* (2012) et Mossa *et al.* (2014), qui ont utilisé d'autres antioxydants.

Concernant le poids des organes, nous remarquons une augmentation de poids relatif de foie et des reins chez les rats traités par CPF, LUF, et leur combinaison par gavage. Ceci est explicable par l'hypertrophie tissulaire de ces organes causée par ces insecticides d'une part, et par leurs accumulations dans ces organes cibles de détoxification d'autre part. Une diminution significative du gain de poids corporel et une augmentation du poids relatif du foie ont été observées chez les animaux traités au CPF comparativement au groupe témoin (Tanvir *et al.*, 2015). Selon Zama *et al.* (2005), le poids du foie augmente de manière significative après traitement aux différentes doses de deux pesticides (chlorpyrifos et phosalone). Ainsi l'intoxication au l'hexachlorobenzène chez *Meriones unguiculatus* entraîne une hypertrophie hépatique (Bitri *et al.*, 2007).

Simons *et al.* (1995) ont signalé que l'augmentation des poids relatifs des organes des animaux représente un indicateur de la cytotoxicité par les insecticides.

En revanche, nos résultats indiquent que l'administration de l'huile essentielle du cumin au groupe traité par CPF, LUF et la mixture a entraîné une amélioration des poids relatifs des organes (foie et reins). Cette amélioration est due à l'effet protecteur de l'huile essentielle contre la toxicité

de ces pesticides et leur mixture.

III.3. Effets des pesticides et l'huile essentielle sur les métabolites tissulaires

Les protéines sont des constituants organiques importants des cellules animales. Ils jouent un rôle essentiel dans le processus d'interactions entre les milieux intra et extra-cellulaires faisant partie de la membrane cellulaire (Amutha *et al.*, 2002), et ils sont requises par un organisme dans la construction de tissus, la réparation des organites cellulaires et aussi le métabolisme cellulaire (Yeragi *et al.*, 2000). Sa synthèse est considérée comme un paramètre biochimique de premier ordre puisqu'il est l'indicateur de stress le plus sensible et le plus précoce. Ils peuvent être reflétés par un grand nombre de substances exogènes, principalement par la réduction du réticulum endoplasmique dans les cellules (Deivanayagam *et al.*, 2014).

Nos résultats montrent que l'exposition aux insecticides, seuls ou en mixture, a provoqué une augmentation de la teneur en protéine. Lorsque le stress oxydatif se produit, les cellules tentent de neutraliser les effets oxydants et de rétablir l'équilibre rédox en activant ou en neutralisant les gènes codant pour les enzymes de défense, les facteurs de transcription et les protéines structurales (Dalton *et al.*, 1999 ; Birben *et al.*, 2012). Les ERO sont connus pour modifier ou inactiver les protéines dans une variété des voies. Généralement, ils peuvent causer des modifications réversibles et/ou irréversibles sur les protéines sensibles (Manawadi et Kaliwal, 2010). Ces résultats sont en accord avec d'autres études réalisées au niveau hépatique (Amigo *et al.*, 1999) au niveau cérébrale (Gasmi *et al.*, 2016) et au niveau testiculaire (Choudhary et Joshi, 2003 ; Joshi *et al.*, 2007 ; El-Kashoury, 2009). Cette augmentation est obtenue par Heikal *et al.* (2013) suite à l'exposition des rats aux cyromazine et chlorpyrifos seul et en mixture. En revanche, une étude a montré que le taux de protéine a été diminué au niveau hépatique suite à l'exposition au d'autre xénobiotique (Dwivedi *et al.*, 1991 ; Iwalokun *et al.*, 2006).

Nos résultats montrent que le taux du lipide dans le foie chez les rats traités par CPF, LUF, et leur mixture est plus élevé que celui des rats témoins. Certains pesticides organophosphorés causent des changements dans le métabolisme des lipides par l'inhibition des serines hydrolases y compris les lipases. Ces lipases sensibles aux pesticides OPs, jouent un rôle essentiel dans la régulation cellulaire, la nutrition et les maladies. Leur inhibition pourrait perturber l'homéostasie lipidique entraînant des pathologies chez les mammifères (Quistad *et al.*, 2006).

L'implication du CYP dans le métabolisme du CPF peut entraîner la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que l'anion superoxyde hautement réactif et le peroxyde d'hydrogène. Par conséquent, l'exposition au CPF pourrait entraîner des dommages aux protéines, à l'ADN ou aux lipides en raison d'une surproduction de ROS (Cacciatore *et al.*, 2015).

La perturbation des taux de protéines, lipides, et glucides peut être expliquée par d'une part l'induction de la synthèse des protéines en rapport avec le phénomène de bioactivation / biotransformation et d'autre part par la peroxydation lipidique générée par les ROS (Benbouzid, 2012) qui peuvent entraîner les dommages des macromolécules tels que les acides nucléiques, lipides et protéines (Agrawal et Sharma, 2010). Nos résultats sont en parfait accord avec cités ci-dessus puisque nous avons mis en évidence une perturbation du taux de tous les métabolites confirmant ainsi la toxicité des deux pesticides testés et leur mixture.

D'autre part, la co-exposition des pesticides et l'huile essentielle a tendance de diminuer les taux des protéines, lipides, et glucides dans les groupes préventifs, car cette plante possède une activité antioxydante basée sur le piégeage des radicaux libres, ou la modulation du statut antioxydant, la régénération tissulaire ou le maintien du métabolisme.

III.4. Effets des pesticides et l'huile essentielle sur les paramètres biochimiques sanguins

L'analyse des résultats obtenus a montré une augmentation significative en glucose plasmatique chez les rats traités par LUF, CPF et LUF+CPF. Le stress est également connu pour l'augmentation relative du sucre sanguin dû au sécrétions des corticostéroïdes (Kioukia *et al.*, 2002). Selon Surwit (1992), le stress augmente la production hépatique de glucose et diminue sa clairance périphérique. L'un des mécanismes proposés pour l'hyperglycémie induite par les organophosphoré "chlorpyrifos" est l'activation de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HPA) qui régule le processus de synthèse et de sécrétion des glucocorticoïdes par le cortex surrénalien (Rahimi et Abdollahi, 2007). Dans la réponse au stress, l'hypothalamus libère l'hormone libérant la corticotropine (CRH) qui stimule l'hypophyse pour libérer l'hormone adrénocorticotrope (ACTH). L'ACTH stimule ensuite la sécrétion de glucocorticoïdes à partir de la glande surrénale (Beishuizen et Thijs, 2003). Les hormones glucocorticoïdes (principalement le cortisol chez l'homme et la corticostérone chez les rongeurs) augmentent la glycémie en induisant la voie de la néoglucogenèse (Khani et Tayek, 2001). Il a été démontré que les organophosphorés provoquaient l'activation de l'HPA entraînant une augmentation des taux plasmatiques de corticostérone (Joshi et Rajini, 2009 ; 2012).

Les études faites chez l'animal et sur les cellules humaines, montrent que les pesticides semblent modifier le métabolisme du glucose et l'action de l'insuline (Sargis, 2014). En plus, l'inhibition de l'acétylcholinestérase par nos pesticides cause l'augmentation de la libération de l'acétylcholine dans la circulation, stimulant ainsi une hypersécrétion des catécholamines chez les rats. Ces derniers stimulent à leur tour la glycogénolyse par l'intervention du système d'adényl cyclase donc l'apparition de l'hyperglycémie (El Missiry et Othman, 1993).

Plusieurs études récentes ont ainsi fortement suggéré une association entre exposition aux

pesticides et trouble de la glycémie, dont Codru *et al.* (2007) qui a rapporté une association entre exposition aux pesticides et troubles de la glycorégulation. Cet état est dû aux effets du stress oxydant induit par ces pesticides. En effet, le stress oxydant est responsable d'une multitude de dysfonctions métaboliques qui est un facteur clé caractéristique de la résistance à l'insuline (Izquierdo-Vega *et al.*, 2006). Cette hyperglycémie probablement due à l'activation de la glycogénolyse (Abdollahi *et al.*, 2004) et la néoglucogénèse dans le foie (Rezg *et al.*, 2007), provoquant la libération de glucose dans le sang. Des travaux antérieurs ont indiqué ainsi un état d'hyperglycémie suite à l'exposition aux pesticides (El Missiry et Othman, 1993 ; Al-Shinnawy, 2008 ; Zaahkoug *et al.*, 2000 ; Makrides *et al.*, 2005). L'étude du Acker et Nogueira (2012) a démontré qu'une seule administration de CPF provoquait une hyperglycémie et une hyperlipidémie chez les rats.

D'autre part, la co-exposition des pesticides et l'huile essentielle a tendance de diminuer les taux en glucose dans les groupes préventifs. Des études chez l'animal ont révélé que les combinaisons d'huiles essentielles telles que le cumin réduisaient les taux de glucose circulant, ce qui suggère que ces produits naturels améliorent la sensibilité à l'insuline (Talpur *et al.*, 2005). De plus, Jagtap et Patil (2010) ont prouvé l'activité anti-hyperglycémiant de l'huile essentielle de cumin.

Le foie joue un rôle central dans le processus de désintoxication des xénobiotiques environnementaux. Il pourrait métaboliser des substances étrangères en composés hépatotoxiques (Geubel et Rahier, 2006). De plus, les enzymes sériques, notamment l'ALP, l'ALAT, l'ASAT et la LDH, sont les biomarqueurs les plus sensibles utilisés pour déterminer le dysfonctionnement hépatique et les lésions hépatotoxiques (Heikal *et al.*, 2013 ; Uzun et Kalender, 2013 ; Moser *et al.*, 2015).

L'ALAT et ASAT sont généralement utilisées pour évaluer la fonction hépatique ; ils se trouvent dans le cytoplasme et les mitochondries de la plupart des cellules (Khalidoun-Oularbi *et al.*, 2013). Dans notre étude, nous avons démontré que les deux pesticides et leur combinaison ont provoqué une élévation marquée dans des activités sériques du l'AST et l'ALT. L'élévation des transaminases indique l'utilisation des acides aminés pour l'oxydation ou bien pour néoglucogénèse (Philip *et al.*, 1995). Ces résultats reflètent le changement de la perméabilité membranaire des hépatocytes (Eissa et Zidan, 2010 ; Raina *et al.*, 2015) qui permet la sortie de ces enzymes du cytoplasme dans la circulation sanguine indiquant une nécrose et des réactions inflammatoires (Navarro *et al.*, 1993 ; Acker *et al.* 2012 ; El-Demerdash *et al.*, 2012 ; Heikal *et al.*, 2013 ; Tanvir *et al.* 2015). Donc ils ont causé des dommages hépatiques sévères (Oluah, 1998, 1999 ; Rao, 2006).

En outre, le niveau de l'ALAT plasmatique est également utile en indiquant l'existence des

affections hépatiques, car cette enzyme est présente en grande quantité dans le foie. Il augmente dans le plasma quand la dégénération ou la destruction cellulaire se produit dans cet organe (Hassoun et Stohs, 1995). L'augmentation du taux d'ASAT est virtuellement responsable de tous les types de maladies hépatiques. Sa concentration maximale et son rapport aux autres enzymes reflètent le type de lésion hépatique. Il est bien connu que l'ASAT est une enzyme très spécifique pour le tissu hépatique. Il est plus sensible aux dommages hépatiques et son niveau augmente plus vite et plus haut dans la plupart des types de dommages cellulaires hépatiques (Tivari et Srivastava, 2001).

Nos résultats sont en concordance avec ceux de Shalby (2006), Farrag et Shalby (2007) et Deivanayagam *et al.* (2014). En effet, les résultats obtenus par Shalby (2006) ont indiqué que les rats traités au Lufenuron présentaient des changements dans les activités des transaminases plus que l'insecticide organophosphoré. De même, Deivanayagam *et al.* (2014) ont constaté que Lufenuron induit des dommages oxydatifs dans le tissu hépatique qui conduit à l'élévation des transaminases. L'étude de Farrag et Shalby (2007) a montré que le Lufenuron et le Profenofos ont tous deux causé des effets histopathologiques et histochimiques au niveau des foies et des reins, même après une période de récupération avec un effet plus prononcé du Lufenuron. En outre, une augmentation d'ALAT après une exposition au Chlorpyrifos a été également observée dans plusieurs autres études (Geol *et al.*, 2005 ; Ncibi *et al.*, 2008 ; Ambali *et al.*, 2011 ; Mansour et Mossa, 2011 ; Heikal, 2012). L'étude d'El-Shenawy (2010) sur l'action toxique *in vitro* de quelques insecticides sur les hépatocytes isolés des rats, a montré une augmentation significative d'ALAT et l'activité d'ASAT. De plus, après une exposition subchronique ou chronique aux pesticides a également été observée expérimentalement dans des études antérieures (El Missiry et Othman, 1993 ; Makrides *et al.*, 2005 ; Bitri *et al.*, 2007 ; Shalaby *et al.*, 2010 ; El-Demerdash *et al.*, 2012 ; Khaldoun-Oularbi *et al.*, 2013 ; El-Sheikh *et al.*, 2015 ; Raina *et al.*, 2015).

Nos résultats montrent que le co-traitement des pesticides avec l'huile essentielle du cumin a tendance d'alléger l'activité des transaminases. Ceci est en accord avec les résultats de plusieurs études antérieures qui ont investi l'effet hépato-protecteurs des huiles essentielles. En effet, El-Scheik *et al.* (2015) ont montré un effet hépatoprotecteur des huiles essentielles du *Foeniculum vulgare* contre la toxicité sub-chronique d'un insecticide (emamectin benzoate) sur les rats. De même, nos résultats concordent avec ceux de Khan *et al.* (2005) qui ont prouvé que la supplémentation d'antioxydants a tendance de réduire la toxicité mixte du chlorpyrifos et d'autres pesticides. Cela explique que l'huile essentielle maintient l'intégrité de la membrane et limite la fuite de ces enzymes hépatiques (Hassan *et al.*, 2011). C'est la principale preuve de leur activité hépatoprotectrice des huiles essentielles.

Le rein est un organe cible pour les composés xénobiotiques notamment les polluants environnementaux à cause du débit sanguin important dans cet organe, et son rôle concentrant les solutés. Cette susceptibilité du rein conduit à une variété d'effets toxiques impliquant les cellules tubulaires et glomérulaire (Mohamed *et al.*, 2003). L'urée et la créatinine sanguines constitue les paramètres essentiels pour évaluer la fonction rénale et la filtration glomérulaire (Fingo, 1997).

L'augmentation des taux plasmatique en urée et en créatinine chez les rats exposés au CPF, LUF et CPF+LUF est considérée comme biomarqueur de la dysfonction rénale et les dommages provoqués par ces insecticides.

Ces résultats sont indirectement dus à l'effet néphrotoxique de nos insecticides, puisque l'urée est le produit final du catabolisme des protéines. En plus, l'augmentation en urée et créatinine plasmatique reflètent la diminution de la capacité rénale à filtrer les déchets du sang et de les excréter dans l'urine. Une association entre l'hyperuricémie et les dommages rénaux a été rapporté par Feig *et al.* (2006).

La créatinine (l'anhydride de la créatine) est formée par la déshydratation non enzymatique irréversible du phosphate de créatine, qui sert de réserve temporaire d'énergie. En outre, la concentration sérique en créatine est un meilleur indicateur du taux de filtration glomulaire (Shalaby *et al.*, 2010), puisque le taux d'urée peut être augmenté par de nombreux autres facteurs tels que la déshydratation, les médicaments antidiurétiques et l'alimentation, tandis que la créatinine est la plus spécifique au rein, car les lésions rénales sont le seul facteur significatif qui augmente le niveau sérique de la créatinine (Nwanjo *et al.*, 2005).

Ces résultats sont en accord avec d'autres études (Medjdoub, 2013 ; Tanvir *et al.*, 2015). L'augmentation des taux de créatinine et d'urée observée dans l'étude réalisée par Shalaby *et al.* (2010) a confirmé les lésions fonctionnelles du rein suite à l'exposition au chlorpyrifos. Abdel-Gawad *et al.* (2005) ont également observé que la créatinine et la concentration d'urée était significativement augmentée chez les poules pondeuses nourries avec un régime contaminé par du chlorpyrifos. Les données trouvées par Shalby (2006) montrent clairement qu'une dose (1/10 LD50) de Lufenuron et Profénofos induit une augmentation significative de la teneur en urée et du taux de créatinine sanguine chez les rats traités, avec un effet plus intense du Lufenuron par rapport au profenofos atteignant un pic après 60 jours de traitement. Il a expliqué cette augmentation par le rôle décroissant de l'IGR sur la filtration, qui a ensuite augmenté le taux de créatinine et d'urée. Une telle découverte suggère que ce pesticide peut provoquer une lésion rénale ou une toxicité rénale, et entraîner probablement une insuffisance rénale.

L'échec des fonctions rénales résultant de l'exposition aux pesticides a été rapporté par de

nombreux chercheurs. El-Maghraby (2004), a noté que des différences significatives dans les niveaux d'urée et de créatinine sanguine après 3 mois de souris nourries sur la féverole et le soja traités au carbaryl. Par ailleurs, Ozcan *et al.* (2012) ont montré également que la Warfarine est responsable des lésions tubulaires aiguës chez les rats traités. Les travaux de Siddharth *et al.* (2012) ont mesuré le taux sanguin des pesticides organochlorés chez des patients atteints d'une insuffisance rénale chronique (IRC) comparés à des témoins sains et ont observé un niveau très élevé de l'hexachlorocyclohexane, l'endosulfane, l'aldrine, le dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE) dans le sang des patient atteints d'IRC. Ces résultats peuvent être en faveur d'une association positive et directe entre la présence des pesticides dans le sang des patients et leur insuffisance rénale chronique. Ainsi, des changements significatifs sur le sang et certains paramètres chimiques (ALAT, ASAT, activité de l'urée et de la créatinine) des rats traités par thiamethoxam ont été constatés, sans retour à des niveaux normaux à la fin de la période de récupération (3 jours) (Farrag et Shalby, 2007). Nos résultats sont en parfait accord avec cités ci-dessus puisque nous avons mis en évidence une perturbation du taux des transaminases, l'urée et créatinine signe de l'hépto-toxicité et nephro-toxicité induite par ces deux pesticides testés et leur mixture.

En revanche, l'administration de l'huile essentielle du cumin aux rats traités par les insecticides à tester, a restauré les taux en urée et en créatinine. Ce résultat peut être dû soit à l'activité antioxydante remarquable de cet antioxydant qui a été révélée par plusieurs études, soit à ces actions bénéfiques au niveau des reins. En effet, l'huile essentielle du cumin protège le rein contre l'effet néfaste induit par ces insecticides, il augmente les processus de défense cellulaire vis-à-vis les effets cytotoxiques du stress oxydant induit par ces insecticides et réduit la production des radicaux libres. Kumar *et al.* (2011 ; 2011) ont proposé que l'utilisation d'antidote comme le cumin peut être la meilleure solution contre la néphrotoxicité.

III.5. Effets des pesticides et l'huile essentielle sur le statut redox

L'exposition aux pesticides peut induire un état de stress oxydant (SO) par : (1) production accrue des radicaux libres qui s'accumulent dans la cellule, (2) altération des mécanismes de défense antioxydante ; y compris la détoxification et les enzymes de balayage, ou (3) augmentation de la peroxydation lipidique suite à l'interaction entre les ERO et les membranes cellulaires ou sous-cellulaires (Abdollahi *et al.*, 2004).

Plusieurs recherches sur des animaux d'expérience ont rapporté que le SO joue un rôle important dans la toxicité de divers pesticides, y compris OPs (Possamai *et al.*, 2007). En plus, les études épidémiologiques chez l'homme après exposition de long terme à un mélange des pesticides ont montré la stimulation des enzymes antioxydantes et l'induction de la peroxydation lipidique

dans les érythrocytes même en l'absence d'une diminution d'acétylcholinestérase (Ogut *et al.*, 2011).

La peroxydation lipidique (LPO) est considérée comme le principal mécanisme moléculaire impliqué dans l'endommagement oxydatif des structures cellulaires. Il s'agit d'une réaction en chaîne initiée par l'extraction d'hydrogène ou l'addition d'un radical oxygène, entraînant l'endommagement oxydatif des acides gras polyinsaturés et la production de nombreux aldéhydes (Repetto *et al.*, 2012). Les résultats de la présente étude ont montré que l'exposition des rats aux deux pesticides (LUF et CPF) et leur mixture causait l'accumulation de malondialdéhyde (MDA), les principaux produits finaux de la peroxydation lipidique au niveau cytosolique et mitochondrial. L'exposition aux insecticides induit un stress oxydatif (Abdollahi *et al.*, 2004 ; Che-Mendoza *et al.*, 2009), et le malondialdéhyde est considérée comme un indicateur du stress oxydatif (Ma *et al.*, 2013, Akande *et al.*, 2014), qui résultent des dommages des radicaux libres sur les composants membranaires des cellules causant des changements dans la structure et la fonction membranaires et mène à la diminution de la fluidité de la membrane et l'inactivation de plusieurs enzymes membranaires (Amin et Hashem, 2012 ; Halliwell et Gutteridge, 1995). Diverses études indiquent que la production de ROS est un moyen secondaire de la toxicité (Sidhu *et al.*, 2014).

Cette élévation peut être attribuée à une production excessive de ROS par une cellule oxydative induite par un pesticide (Akande *et al.*, 2014). Les dommages oxydatifs se produisent principalement par la production d'espèces réactives de l'oxygène, y compris les radicaux hydroxyles et le peroxyde d'hydrogène qui réagissent ensuite avec les molécules biologiques et causent des dommages aux membranes et autres tissus (Favier, 2003 ; Elsharkawy *et al.*, 2013).

L'élévation du taux de MDA est un signe d'altération de la membrane des hépatocytes (Raina *et al.*, 2015). Cette augmentation marquée pourrait être attribuée dans notre étude à la capacité des pesticides utilisés à produire (ROS) au niveau cytosolique et sur les mitochondries du foie. De faibles doses de chlorpyrifos, qui ne causent pas toujours l'inhibition de l'AChE, peuvent produire d'autres mécanismes de l'action toxique, qui conduisent à des perturbations de l'état rédox normal et au développement du stress oxydatif (Saulsbury *et al.*, 2009). Ceci est également montré dans le tissu hépatique par Deivanayagam *et al.* 2010 après l'exposition au lufenuron, et en accord avec des résultats qui ont trouvé une augmentation de la peroxydation lipidique après traitement au CPF ou bien leur combinaison avec d'autres pesticides (Gultekin *et al.*, 2000 ; Saulsbury *et al.*, 2009 ; Ojha *et al.*, 2011 ; Kalender *et al.*, 2012 ; Uzun et Kalender 2013). Tuzmen *et al.* (2008) ont démontré que des rats ont développé une peroxydation lipidique et des dommages au foie à la suite de l'exposition au CPF.

Les résultats obtenus par Bagchi *et al.* (1995) démontrent clairement que le CPF est parmi

les pesticides qui induit la production d'espèces réactives de l'oxygène et des dommages tissulaires oxydatifs qui peuvent contribuer aux manifestations toxiques de ce xénobiotique. Le traitement au CPF a produit des effets cytotoxiques qui semblaient impliquer une augmentation des ROS (Ki *et al.*, 2013)

Saulsbury *et al.* (2009) ont démontré que la toxicité induite par CPF dans les oligodendrocytes n'est pas associée à l'activation du système cholinergique, mais plutôt à l'induction du stress oxydatif.

Cacciatore *et al.* (2015) ont prouvé que Azinphos-methyl, Chlorpyrifos, et leur mélange peut produire un dommage oxydatif après 48 h d'exposition, par contre dans l'étude réalisée par Ojha et Srivastava (2014), les lymphocytes ont reçu une exposition combinée de mélange de chlorpyrifos, méthyl parathion et malathion, l'augmentation de ROS était moins que causée par l'un des pesticides seul, et ils n'ont pas d'effet synergique.

L'implication de ROS a déjà été rapportée dans la cytotoxicité de nombreux pesticides OPs dans des cellules cultivées (Idris *et al.*, 2012 ; Lu *et al.*, 2012). De nombreux stress cellulaires activent la voie intrinsèque qui perturbe la structure et la fonction des mitochondries (Assefa *et al.*, 2005). Cette augmentation peut être attribuée dans notre étude à la capacité de ces pesticides à produire (ROS) sur les mitochondries du foie. La principale source de ROS est la chaîne mitochondriale de transport d'électrons (Garcia-Ruiz *et al.*, 1995 ; Shi *et al.*, 2004 ; Orrenius *et al.*, 2007 ; Ranjbar *et al.*, 2010) qui peuvent conduire à un dysfonctionnement mitochondrial sévère et la mort cellulaire (Martin *et al.*, 2000). Les peroxydes lipidiques altèrent les fonctions mitochondriales vitales, telles que la respiration et la phosphorylation oxydative (Orrenius *et al.*, 2007). Nous pouvons ajouter à cela que les niveaux élevés de MDA observés et le dysfonctionnement mitochondrial pourraient alors compromettre la capacité de la cellule à maintenir les niveaux d'énergie (Kaur *et al.*, 2007). Il est possible que le CPF, comme plusieurs autres insecticides, affecte négativement le système du cytochrome P450 ou le système de transport membranaire mitochondrial des hépatocytes (Elsharkawy *et al.*, 2013). Zhao *et al.* (2016) ont prouvé la perturbation du métabolisme énergétique, induits en raison de l'exposition au CPF.

On peut en déduire que la lésion induite par lufenuron, chlorpyrifos et leur combinaison est provoquée par l'induction du stress oxydatif, qui a été suggéré comme étant un facteur supplémentaire induisant l'apoptose. Les espèces réactives de l'oxygène peuvent servir de médiateurs communs de la mort cellulaire programmée (apoptose) en réponse à de nombreux toxiques et conditions pathologiques (Bagchi *et al.*, 1995 ; Bolognesi, 2003 ; Calviello *et al.*, 2006)

Nos résultats sont en accord avec les résultats d'autres études qui ont montré une

augmentation de la peroxydation lipidique après traitement avec des pesticides dans les mitochondries cérébrales (Lakroun *et al.*, 2015 ; Gasmi *et al.*, 2017), et les mitochondries hépatiques des rats intoxiqués au méthoxychlor (Latchoumycandane et Mathur, 2002) et au CPF et leur mixture avec endosulfan (Chebab *et al.*, 2009), même dans la mitochondrie hépatique du poisson (Marigoudar *et al.*, 2012).

Les résultats globaux révèlent l'effet d'amélioration prononcé de la peroxydation lipidique, après l'addition de l'huile essentiel chez les rats intoxiqués par LUF, CPF et leur mixture. Ces résultats concordent avec de nombreux travaux réalisés avec d'autres antioxydants contre la toxicité du chlorpyrifos utilisé seul ou bien en mixture avec des différents pesticides (Khan *et al.*, 2005 ; Verma *et al.*, 2007 ; Mansour et Mossa, 2009 ; Acker *et al.*, 2012 ; Al-Awthan *et al.*, 2012 ; Ozkan *et al.*, 2012 ; Elsharkawy *et al.*, 2013 ; Ma *et al.*, 2013). Tanvir *et al.*, 2015 ont prouvé la diminution du taux MDA après l'administration du miel. Cette amélioration peut être due à leur diffusion plus élevée dans les membranes, en permettant le piégeage des radicaux libres (Uzun et Kalender 2013).

Dans la présente étude, le taux de MDA a été augmenté, tandis que les activités des antioxydants (GSH, GST, CAT) ont été réduites dans le groupe traité par LUF, CPF et la mixture de ces derniers. La concentration accrue de MDA dans les groupes traités peut être attribuée à une production excessive de ROS par les deux toxiques, ce qui peut avoir provoqué la diminution des activités des enzymes antioxydantes (Akande *et al.*, 2014). Les travaux menés par Banerjee (1999) ont clairement démontré que les pesticides avaient une influence sur les enzymes antioxydants.

Nos travaux sont en accord avec les travaux antérieurs (Ajay *et al.*, 2005, Khan *et al.*, 2005 ; Hai *et al.*, 1997 ; Yurumez *et al.*, 2007 ; Mansour et Mossa 2011 ; Raina *et al.*, 2015). Des résultats similaires sont rapportés par Deivanayagam *et al.* (2010) qui ont montré une diminution du niveau de glutathion et de CAT, mais la teneur en GPx a été significativement augmenté, chez les souris lorsqu'ils sont traités avec une dose subletale de lufenuron. Une inhibition plus forte du GST a été obtenue après l'exposition au lufenuron par rapport à la buprofézine (Badawy *et al.*, 2013). L'utilisation de Novaluron (IGR) sur les cellules Paramcium par Rouabhi et Bazouzi (2012) a provoqué une déplétion du stock de GSH cellulaire.

Les mêmes résultats ont été trouvés par Goel *et al.* (2005) au niveau hépatique des rats, et Yu *et al.* (2008) dans la rétine de souris administrées au chlorpyrifos sauf que le GPx a été diminué. Ainsi les résultats obtenus par Chebab *et al.* (2009) renforcent l'implication du stress oxydatif, et en particulier la peroxydation lipidique dans la toxicité de chlorpyrifos et l'endosulfan et suggèrent un effet synergique entre ces deux pesticides agissant en simultanéité.

Par conséquent, Adedara *et al.* (2015) a révélé une diminution des activités de CAT et de

GST chez *Drosophila melanogaster* traité avec CPF. De même les travaux menés par Banerjee, (1999) ont clairement démontré que les pesticides avaient une influence sur les enzymes antioxydants. Bas et Kalender, 2011 indiquent qu'une faible dose de chlorpyrifos provoque une toxicité cardiaque par l'élévation du taux de MDA et CAT avec diminution du GST, GPx. De plus la diminution du taux de GSH a été observée chez les souris traitées par chlorpyrifos après 13 jours de traitement (Cometa *et al.*, 2007).

Par contre, d'autres chercheurs ont observé une élévation de l'activité CAT (Tuzmen *et al.*, 2008, Ozkan *et al.*, 2012, Uzun et Kalender, 2013) et au niveau de la GST (Cacciatore *et al.*, 2015). Aly *et al.* (2010) ont montré une augmentation du niveau de GSH et de l'activité GPx inchangée, tandis que Yurumez *et al.*, 2007 a démontré la diminution de ce dernier suite à l'utilisation du OP pesticide. Ojha et Srivastava (2012) ont constaté une chute significative des teneurs hépatiques en glutathion réduit suite à l'exposition aux pesticides organophosphorés comparées aux valeurs témoins.

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'effet de deux pesticides et leur mixture à l'échelle subcellulaire. La préparation mitochondriale des rats hépatiques traités avec ces xénobioques a démontré une diminution significative du GSH mitochondrial, des niveaux de GST et de l'activité CAT, mais il y a une augmentation de l'activité GPx. Ceci est en accord avec ceux obtenus dans des travaux antérieurs sur les mitochondries cérébrales sur différents pesticides (Kaur *et al.*, 2007, Lakroun *et al.*, 2015, Beghoul *et al.*, 2017). Lukaszewicz-Hussain et Moniuszko-Jakoniuk (2004) ont découvert les mêmes résultats dans les mitochondries du foie de rat. De même, Latchoumycandane et Mathur (2002) ont démontré une diminution de l'activité de GPx dans les fractions mitochondriales des testicules des rats.

L'influence des systèmes enzymatiques responsables de la métabolisation d'un pesticide par présence d'autres pesticides a été rapportée. Canistro *et al.* (2007) ont montré que le traitement des souris mâles par différentes combinaisons de trois pesticides perturbe l'activité des enzymes dépendantes des cytochromes P450 hépatiques d'une manière très complexe et imprévisible. Woods *et al.*, 2002 ont étudié la toxicité aiguë des pesticides chlorpyrifos, profenofos et endosulfan, séparément et en différentes combinaisons. Leurs résultats ont montré un effet synergique entre le chlorpyrifos et l'endosulfan. Par contre une étude *in vivo* a également montré que trois pesticides organophosphorés courants, à savoir le malathion, le chlorpyrifos et le méthylparathion, administrés en mélange avec des rats, n'étaient pas capables de potentialiser la toxicité l'un de l'autre (Ojha *et al.*, 2013). Nombreux stress cellulaires activent la voie intrinsèque qui perturbe la structure et la fonction des mitochondries (Assefa *et al.*, 2005). Vasseur *et al.* (1980) ont enregistré une inhibition totale des taux d'ATP après deux heures d'exposition à un pesticide, ce qui atteste d'une perturbation

rapide des activités mitochondriales.

L'exposition des patients pendant 2 ans à la combinaison du chlorpyrifos cyperméthrine, dans les concentrations actuellement commercialisées, peuvent être plus toxiques que le chlorpyrifos seul (Iyyadurai *et al.*, 2015). Des études antérieures ont également montré que l'exposition au chlorpyrifos, séparément ou en mélange cause l'inhibition de la défense antioxydante et la perturbation de l'équilibre redox dans les tissus du rat (Ojha *et al.*, 2011 ; 2012).

Cependant, l'administration de ces deux pesticides seuls et en mixture augmentent le taux de peroxydation lipidique hépatique (MDA), avec une déficience dans le système de défense. Cette altération a confirmé que ces xénobiotiques et leur mixture induisent un stress oxydatif. La perturbation de ces enzymes peut être due au stress oxydatif de l'intoxication aux pesticides avec un effet synergique entre le chlorpyrifos et lufenuron.

D'autre part, l'huile essentielle du cumin a tendance de maintenir ou augmenter ces taux dans les lots supplémenté par ces HE.

Les antioxydants peuvent être divisés en catégories selon des caractéristiques spécifiques. Ils comprennent des enzymes telles que la catalase, la glutathion réductase et la glutathion peroxydase (GPx) ainsi que des métabolites non enzymatiques tels que le glutathion (Uttara *et al.*, 2009 ; Veskoukis *et al.*, 2012). Les enzymes antioxydantes sont considérées comme la première ligne de défense cellulaire contre les dommages oxydatifs. Ainsi, la GPx est une enzyme antioxydante essentielle qui neutralise la production de radicaux libres (Messarah *et al.*, 2012). La GPx, qui nécessite du sélénium comme cofacteur, est présente dans le cytoplasme et les mitochondries et constitue une voie alternative de la dégradation du H₂O₂ (Veskoukis *et al.*, 2012). Elle catalyse la réaction de H₂O₂ et des hydroperoxydes lipidiques avec le GSH (forme réduite du glutathion) pour former leurs analogues réduits et le GSSG (forme oxydée du glutathion) (Orrenius *et al.*, 2007 ; Acker *et al.*, 2012). Tout ceci explique l'augmentation de GPx dans notre étude afin de réduire la génération de ROS provoquée par les pesticides étudiés. Cette augmentation a pu être produite pour surmonter la production du peroxyde d'hydrogène due à la peroxydation lipidique, et à la diminution de leur neutralisation par la CAT défectueuse ; produite après exposition aux pesticides (Samanta et Chainy, 1997).

Les ROS sont générés, en grande partie, de simples électrons qui s'échappent de la chaîne respiratoire mitochondriale et réduisant l'oxygène moléculaire. Le rôle protecteur de la CAT dans les cellules est lié à la réduction du H₂O₂ délétère (Uttara *et al.*, 2009 ; Schriener *et al.*, 2005 ; Victor, 2013).

Cette enzyme joue un rôle dans la protection du corps contre les dommages provoqués par le

stress oxydatif (Sbartai *et al.*, 2012). Il peut piéger le H₂O₂, et O₂ qui sont les principaux ROS. Donc la diminution de cet activité enzymatique conduit à un déséquilibre de l'accumulation de ROS et de la capacité antioxydante totale (Yu *et al.*, 2008). La localisation subcellulaire de la catalase se trouve dans les peroxysomes, dans les mitochondries et dans le noyau (Veskoukis *et al.*, 2012). Kono et Fridovich (1982) ont rapporté que le radical superoxyde pouvait inhiber l'activité de CAT. Dans la présente étude, il est évident que l'intoxication aux deux pesticides a réduit l'activité du CAT. Ces résultats ont été confirmés par Manna *et al.* (2008) et Sbartai *et al.* (2012) qui ont expliqué cette diminution par l'augmentation du niveau de ROS résultant de l'exposition à des concentrations élevées de xénobiotiques.

Cette diminution explique l'altération probable du système de transport d'électrons de la chaîne respiratoire qui a provoqué la production intense d'anions superoxydes (Kebieche *et al.*, 2009). Une étude réalisée par Schriener *et al.* (2005) ont observé l'effet protecteur de la CAT contre la toxicité mitochondriale induite par l'H₂O₂, des dommages oxydatifs de l'ADN, et l'accumulation de délétion de l'ADN mitochondrial aurait pu être beaucoup plus élevée chez les souris, et ils ont prouvé que la mitochondrie est la principale source de radicaux libres. La réduction de l'activité de la catalase peut refléter l'incapacité des mitochondries à éliminer l'H₂O₂ produite par l'activation du pesticide. De même, cela peut être dû à l'inactivation de l'enzyme causée par une production supplémentaire de ROS dans les mitochondries (Latchoumycandane et Mathur 2002). Ce déséquilibre dans l'état d'oxydation cellulaire au moyen des dommages oxydatifs a provoqué des changements ultra-structurels présentés comme des réponses sous-cellulaires (Marigoudar *et al.*, 2012). Aussi, les insecticides OPs peuvent affecter le système du cytochrome P450 ou le système de transport de la membrane mitochondriale des hépatocytes (Gokcimen, 2007).

Les agents environnementaux sont capables de minimiser les défenses antioxydantes cellulaires, y compris la déplétion de GSH intracellulaire qui s'est avérée apparaître par la conjugaison directe des agents environnementaux au GSH, ou indirectement par l'activité des GSH-transférases (Franco *et al.*, 2009).

Le glutathion, un tripeptide omniprésent contenant des thiols et un antioxydant cellulaire important, est connu pour protéger les membranes cellulaires et les lipoprotéines de la peroxydation, ce qui peut minimiser la peroxydation des lipides dans les systèmes biologiques (Buyukokuroglu, 2008 ; Elsharkawy *et al.*, 2013). Il est principalement présent dans les cellules sous sa forme réduite (GSH), qui est l'état actif.

Les résultats de la présente étude ont montré que les niveaux de GSH étaient diminués. La relation entre l'étendue de la peroxydation lipidique et l'état du glutathion au niveau hépatique a une relation significativement inverse. Le métabolisme des OPs par le biais des CYP et GST, et la

génération de ROS ont induit une diminution de la teneur en GSH provoquant la perturbation du statut redox des cellules (Cacciatore *et al.*, 2015). Au cours de la réaction de détoxification du CPF par la Cytochrome P-450, il se produit un cycle futile dans lequel une fuite d'anion superoxyde se produirait (Puntarulo et Cederbaum, 1996). Parmi les nombreuses fonctions importantes du GSH, elle contribue à l'élimination des électrophiles réactifs (tels que de nombreux métabolites formés par le système du cytochrome P-450) par conjugaison au moyen de GST. En outre, la réduction de la teneur en GSH est considérée comme un potentiel biomarqueur du stress environnemental. Cette réduction est due à la conjugaison du GSH avec l'insecticide car le GSH joue un rôle important dans la détoxification des xénobiotiques en tant que cofacteur pour la famille des GST et en tant qu'antioxydant important pour l'élimination des ERO (Garg *et al.*, 2009 ; Li *et al.*, 2010 ; EL-Demerdash *et al.*, 2012). Le GSH piège également les ROS directement ou dans une réaction catalysée par la GPx en oxydant deux molécules de GSH en une molécule de glutathion disulfure (GSSG). L'appauvrissement de GSH réduit se traduit par une diminution du pouvoir antioxydant de la cellule avec accumulation de ROS, et déficiences mitochondriales (Yurumez *et al.*, 2007).

Cependant, un stress oxydant aigu peut supprimer des niveaux de GSH dus à l'affaiblissement des mécanismes adaptatifs (Zhang *et al.*, 2004). Selon Elia *et al.* (2003), l'épuisement de la GSH peut réduire la capacité cellulaire d'éliminer les radicaux libres soulevant le potentiel oxydant général dans les cellules.

La diminution du GSH peut entraîner une altération des mécanismes de détoxification métabolique (Verma *et al.*, 2007), car le rôle du GSH dans la détoxification a été démontré dans de nombreuses études (Lu, 1999 ; Rouabhi et Bazouzi, 2012). Cet antioxydant joue un rôle crucial dans le maintien de l'homéostasie redox cellulaire (Shi *et al.*, 2004). Bien que les mitochondries produisent des ROS continues pendant la phosphorylation oxydative, les fuites de superoxyde dans la chaîne de transport d'électrons sont examinées par la superoxyde dismutase mitochondriale et cytoplasmique (SOD) et les peroxydases en réduisant le taux de GSH (Gasmi *et al.*, 2016).

Une diminution des niveaux de GSH mitochondriale peut donc entraîner l'accumulation de ROS dans les mitochondries, conduisant à l'apoptose et à la mort cellulaire éventuelle (Raza *et al.*, 2002, Orrenius *et al.*, 2007, Franco *et al.*, 2009). En conséquence de la génération de ROS dans les cellules, la dysfonction mitochondriale est causée par la dissipation du potentiel de la membrane mitochondriale observée dans l'étude de Song *et al.* (2008). Franco *et al.* (2009) ont indiqué qu'il a été démontré que différents pesticides induisent l'apoptose par appauvrissement du glutathion et que le stress oxydatif déclenche la voie apoptotique mitochondriale intrinsèque.

Les mitochondries ne synthétisent pas le GSH (Lu, 1999) mais l'obtiennent du cytosol par un système de transport à plusieurs composants, ce qui explique la capacité remarquable des

mitochondries à absorber et à conserver le GSH (Martin *et al.*, 2000). Ainsi, nous pouvons expliquer la diminution de GSH chez les rats traités par le LUF, le CPF, et leur combinaison par l'inhibition du transport de GSH dans les mitochondries du cytosol, qui est dépendant de l'énergie. On peut ajouter que Zhao *et al.* (2016) ont prouvé la perturbation du métabolisme énergétique, induits en raison de l'exposition au CPF. Ceci est prouvé par Fernandez-Checa *et al.* (1997) qui ont constaté que ce transporteur est sélectivement altéré chez les rats nourris à l'alcool et explique la chute des mitochondries. Les mitochondries produisent de l'O₂ • et de l'H₂O₂ et devraient être désintoxiquées (par le biais du GSH) pour éviter la production de OH• hautement toxique. Ainsi, lorsque les niveaux de GSH diminuent fortement, l'H₂O₂ s'accumule, ce qui entraîne des dommages mitochondriaux importants (Martín *et al.*, 2000).

Les glutathion S-transférases (GST) représentent un groupe majeur d'enzymes de détoxification (Hayes et Pulfordet, 1995) et/ou dans la protection contre les métabolites nocifs générés par la dégradation des macromolécules en raison de leur exposition au stress oxydatif (Che-Mendoza *et al.*, 2009 ; Rouabhi *et al.*, 2015). Sur la base de nos observations, nous avons observé une diminution significative de l'activité de la GST cytosolique et dans les mitochondries hépatiques des rats traités au deux pesticides.

Le GSH protège les cellules contre un stress oxydatif généré par les produits chimiques environnementaux tels que les pesticides (Che-Mendoza *et al.*, 2009). Il catalyse la conjugaison de divers substrats électrophiles du groupe thiol du GSH, produisant des formes moins toxiques (Mansour et Mossa, 2009). La diminution de l'activité de GST observée dans la présente étude pourrait de loin contribuer à la peroxydation lipidique augmentée, représentée par les niveaux accrus du MDA (Zaidi et Banu, 2004). En outre, cette diminution reflète l'insuffisance des niveaux de GSH (Garg *et al.*, 2008 ; 2009).

Raza *et al.* (2002) ont montré que la GST purifiée à partir des mitochondries hépatiques de souris peut jouer un rôle important dans la défense contre le stress chimique et oxydatif, et le maintien d'un état redox mitochondrial favorable durant le métabolisme cellulaire. Hubatsch *et al.* (1998) ont démontré que la GST joue un rôle protecteur important, et que des variations dans son expression peuvent avoir des conséquences physiopathologiques importantes.

Les enzymes de détoxification peuvent détoxifier non seulement les CPF, mais aussi les produits oxydatifs toxiques dérivés du CPF formés après sa dégradation par le P450 (Fujioka et Casida, 2007). Les GST détoxifient les insecticides organophosphorés en formant une conjugaison O-désalkylation ou O-dearylation avec le GSH. Cette enzyme détoxifient également les produits secondaires générés par les ROS avec leur activité antioxydante (Zhang *et al.*, 2015).

Enfin, le stress oxydatif exercé par les pesticides, seuls ou en mélange, a conduit à la production de dommages oxydatifs, comme en témoigne l'augmentation des taux de MDA, avec une diminution du pouvoir antioxydant de la cellule hépatique. Les effets du mélange binaire sur les paramètres du stress oxydatif étaient synergiques et similaires à ceux des pesticides simples. D'autre part, l'huile essentielle a tendance à maintenir ou à augmenter le pouvoir antioxydant dans les groupes préventifs.

Halliwell et Gutteridge (1995) ont tenté de définir un antioxydant comme « toute substance lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations comparées à celles d'un substrat oxydable (chaque molécule organique trouvée *in vivo*) retarde ou empêche de manière significative l'oxydation de ce substrat.

Nos résultats indiquent que l'administration de l'huile essentielle du cumin associée ou non au pesticides étudiés et leur mixture, a réduit les niveaux de MDA, GPx activité et a augmenté les taux de GST, CAT et GSH. Cela favorise la restauration des activités enzymatiques perdues lorsque les animaux sont exposés aux ces xénobiotiques. Ces résultats suggèrent une activité antioxydante du l'huile essentielle du cumin, obtenue dans des études antérieures (Gachkar *et al.*, 2007, Bettaieb *et al.*, 2010, Einafshar *et al.*, 2012, Patil *et al.*, 2016), et à la capacité de neutraliser les radicaux libres et empêcher l'oxydation des acides gras insaturés (Gachkar *et al.*, 2007). De plus, par leur activité anti-hyperglycémiant, l'huile essentielle de cumin avait un meilleur effet pour contrôler le stress oxydatif dans les modèles des animaux diabétiques (Jagtap et Patil, 2010). Banerjee *et al.* (1994) indiquent que les huiles essentielles de certaines épices telles que le cumin sont consommées par les humains peuvent être antagoniste contre l'exposition aux composés xénobiotiques, et ils ont prouvé l'élévation du niveau de GSH après l'utilisation d'huile essentielle de cumin.

Le cumin est susceptible de prévenir les mutations car il a augmenté le potentiel antioxydant des animaux grâce aux activités accrues de GST, SOD et CAT ainsi qu'aux niveaux de GSH. En outre, le cumin pourrait également avoir empêché les mutations en piégeant les radicaux libres et en les rendant non disponibles pour des interactions avec des cibles critiques telles que l'ADN. Cette possibilité est soutenue par l'inhibition significative de la peroxydation lipidique par le cumin (Gagandeep *et al.*, 2003).

Les activités antioxydantes des huiles essentielles présentaient une corrélation positive avec leurs teneurs en composés phénoliques (Moghaddam *et al.*, 2015 ; Reza et Moghadam, 2015), ce qui confirme nos résultats car dans notre étude, le composant majeur du l'HEc est le carvacrol (composé phénolique). L'effet antiradicalaire de l'huile essentielle de cumin était trois fois plus puissant que le L'hydroxyanisole butylé (BHA) standard et 4,8 fois plus important que le butylhydroxytoluène (BHT) (Allahhadri *et al.*, 2010). L'activité hépato-protectrice de l'huile

essentielle de cumin a été réalisée dans l'étude de Mostafa *et al.* (2015) qui ont montré une activité antioxydante et hépatoprotectrice ainsi qu'une protection efficace contre diverses maladies chroniques par une seule application transdermique de cette huile. Dans les études de Kumar *et al.* (2011 ; 2011), les auteurs ont proposé l'utilisation d'antidote comme le cumin peut être la meilleure solution contre la néphrotoxicité et l'hépatotoxicité induite par l'insecticide organophosphoré. Nos résultats sont en parfait accord avec cités ci-dessus prouvant l'effet préventif du l'HEc contre la toxicité induite par les deux pesticides testés et leur mixture.

Par ailleurs, l'extrait aqueux de *C. cyminum* possède une activité hépatoprotectrice (Mushtaq *et al.*, 2014) et peut empêcher l'augmentation des lipidiques plasmatiques et tissulaires qui surviennent chez les rats femelles diabétiques alloxaniques (Dhandapani *et al.*, 2002).

III.6. Effets des pesticides et l'huile essentielle sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)

Il est connu que la plupart insecticides organophosphorés possèdent des effets neurotoxiques. Récemment, certaines études ont montré cet effet neurotoxique chez d'autres famille de pesticides (Kamel et Hoppin, 2004).

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme caractéristique des jonctions neuromusculaires des insectes et des vertébrés responsables de l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine (ACh), de sorte que l'activation des récepteurs cholinergiques est transitoire. L'AChE des insectes est la principale cible des organismes nuisibles aux OPs en phosphorylant le groupe hydroxyle sérine situé dans le site actif de l'AChE, inhibe son activité (Ozmen *et al.*, 1999).

Nos résultats ont révélé que chez les groupes de rats traités par le chlorpyrifos, lufenuron et leur mixture, il y a une diminution de l'activité de l'AChE. Cette diminution peut être expliquée par la production et l'accumulation de ROS suite à l'administration de ces pesticides, ce qui entraîne des dommages à l'ADN et aux phospholipides membranaires ainsi qu'une inhibition de l'AChE (Yu *et al.*, 2008). Le mécanisme principal de la toxicité du CPF implique l'inhibition d'AChE (Yu *et al.*, 2008 ; Liu *et al.*, 2013), qui régule la neurotransmission aux synapses cholinergiques centrales et périphériques (Campbell *et al.*, 1997, Steevens et Benson, 1999). L'inhibition persistante de l'activité de l'AChE empêche la dégradation de l'acétylcholine (ACh), provoquant son accumulation, ce qui peut entraîner une hyperstimulation cholinergique (Eaton *et al.*, 2008, Flaskos, 2012). Le principal mécanisme d'action pour les effets toxiques du chlorpyrifos est lié à la capacité du métabolite oxon du chlorpyrifos à se lier à l'acétylcholinestérase et à l'inhiber de manière irréversible dans les tissus cibles, ce qui induit une toxicité aiguë par CPF (Chanda et Pope 1996 ; Verma *et al.*, 2009)

Le chlorpyrifos est activé à l'analogue correspondant de l'oxygène, qui est responsable de sa

toxicité pour les mammifères par inhibition de l'AChE. Plus récemment, il a été démontré que l'exposition à court terme au chlorpyrifos sur le corps entier chez le rat provoquait une inhibition significative de l'activité de l'AChE dans différents tissus, notamment le foie, les reins et la rate (Tuzmen *et al.*, 2008).

Nos résultats sont compatibles avec d'autres études (Verma *et al.*, 2007 ; Acker et Nogueira, 2012 ; Wang *et al.*, 2014 ; del Pino *et al.*, 2015). L'activité de l'AChE était fortement inhibée par lufenuron par rapport aux autres pesticides IGR (Badawy *et al.*, 2013).

Concernant la mixture, l'interaction des deux insecticides organophosphorés le chlorpyrifos et le méthyle parathion chez des rats adultes provoque une inhibition de l'acétylcholinestérase (Karanth *et al.*, 2004). Wang *et al.* (2013) ont prouvé l'inhibition de l'activité de l'AChE dans le cerveau et la moelle épinière chez des rats traités pendant 90 jours avec du chlorpyrifos et du carbaryl en association, et était similaire à celle de rats traités avec du chlorpyrifos seul. Ainsi, Laetz *et al.* (2009) ont mesuré l'inhibition de l'AChE cérébrale après l'exposition à des concentrations sublétales d'organophosphates diazinon, malathion et chlorpyrifos, ainsi que les carbamates carbaryl et carbofuran. De plus, les deux PO ont produit un plus grand degré de synergie que les mélanges contenant un ou deux insecticides, et la toxicité de chaque mélange d'insecticides était synergique.

Ki *et al.* (2013) ont montré que le CPF induit l'apoptose neuronale en générant des ROS. Les résultats de Schallreuter *et al.* (2006) ont démontré que l'oxydation de l'AChE médiée par l' H_2O_2 contribue de manière significative au stress oxydatif bien établi.

Sindi *et al.* (2016) suggèrent que des niveaux élevés d'inhibition de cholinestérase peuvent augmenter la sévérité de certains effets des OPs sur la croissance neuritique.

Après 30 jours de traitement répété, la dose sans effet observable (NOEL) était de 1,56 mg / kg / jour pour l'inhibition de l'activité ChE cérébrale induite par le CPF, considérée comme le point final pertinent pour sa toxicité (Cometa *et al.*, 2007)

Les résultats obtenus par Karanth *et al.* (2006) suggèrent que des différences marquées dans l'accumulation d'acétylcholine peuvent se produire avec des doses de CPF provoquant des degrés relativement similaires d'inhibition de la cholinestérase.

Del Pino *et al.* (2015) suggèrent que le CPF pourrait contribuer à la perte neuronale cholinergique, car il fournit des preuves directes que le CPF peut être neurotoxique (en particulier avec une exposition prolongée) indépendamment de ses effets indirects sur l'acétylcholinestérase.

Une seule dose orale élevée du CPF a provoqué un large spectre de signes cliniques

caractéristiques de la surstimulation cholinergique. Les femelles étaient clairement plus touchées que les mâles (Mattsson *et al.*, 1996).

Nos résultats montrent que le traitement par les huiles essentielles du cumin corrige la diminution de l'activité de l'AChE engendrée par les pesticides. A notre connaissance, il n'y a pas de travaux scientifiques antérieurs traitant l'effet des HEs sur l'activité de l'AChE. A défaut, nous nous permettant donc de comparer nos résultats avec ceux des études investiguant l'effet d'autres antioxydants sur la l'activité l'AChE (Verma *et al.*, 2007 ; Wang *et al.*, 2014). En effet, Verma *et al.* (2007) ont trouvé que la combinaison des vitamines C et E a augmenté l'activité de l'AChE qui a été initialement réduite suite à un traitement par le CPF. Wang *et al.* (2014) quant-à-eux ont trouvé un résultat comparable en utilisant l'eau riche en hydrogène comme antioxydant.

Ces résultats peuvent démontrer que l'huile essentielle du cumin peut protéger les rats contre la neurotoxicité induite par ces pesticides, et les effets protecteurs peuvent être médiés en régulant l'état oxydant et antioxydant des rats.

III.7. Effets des pesticides et l'huile essentielle sur la respiration, la perméabilité et le gonflement mitochondrial

Les facteurs des stress environnementaux peuvent créer un stress oxydatif en agissant sur une réaction différente à travers des voies métaboliques variables, telles que celles induites par des enzymes détoxifiantes. Cela peut endommager les mitochondries et leur intégrité dans la cellule (Franco *et al.*, 2009). La chaîne respiratoire mitochondriale est capable d'interférer avec certains xénobiotiques au cours de leur métabolisme. Les résultats de cette étude ont montré que LUF, CPF, et leur mixture provoquaient une inhibition de la chaîne respiratoire. Cette diminution est probablement due à l'inhibition du complexe IV et du complexe V qui a été démontré par Delgado *et al.* (2006). De la même manière, Sbartai *et al.* (2012) ont expliqué que les ROS pouvaient interagir avec les composants de la chaîne respiratoire spécifiquement sur le site responsable de l'oxydation du substrat du cycle de Krebs causant un dysfonctionnement mitochondrial conduisant à l'apoptose. L'atteinte de la chaîne respiratoire mitochondriale engendre une hyperproduction d'espèces oxygénées réactives (Fromenty, 2010). Bernuau *et al.* (1986) ont découvert que la respiration mitochondriale des hépatocytes de rat, est inhibée en raison d'une forte diminution des taux d'ATP.

Cette perturbation au niveau des mitochondries peut être expliquée également par l'inhibition de la β -oxydation mitochondriale des acides gras via l'inhibition d'une des enzymes impliquées dans ce processus métabolique et/ou la déplétion en L-carnitine et en coenzyme A, et par l'inhibition de la chaîne respiratoire via l'inhibition d'une des enzymes impliquées dans le transport des électrons ou la phosphorylation oxydative (Fromenty, 2010).

Le gonflement peut être expliqué par la stimulation de la perméabilité membranaire des mitochondries traitées car certains xénobiotiques sont capables d'entraîner une ouverture des pores transitoires de perméabilité mitochondriale (PTPM), tels que les médicaments (Labbe *et al.*, 2008, Berson *et al.*, 2006 ; Pessayre *et al.*, 2010). Les protéines impliquées dans le PTPM peuvent être altérées par la production des ROS par la chaîne respiratoire, ou d'autres sources subcellulaires, et/ou par la production d'un ou de plusieurs métabolites réactifs par l'intermédiaire de cytochromes P450 (Boulassel, 2014). Il semble que ce dernier cas survienne dans notre étude avec le chlorpyrifos qui est transformé par le cytochrome P450. Une préparation mitochondriale du foie de rat traité par un pesticide montre une augmentation significative de l'absorption mitochondriale de Ca^{2+} et les niveaux de ROS (Binukumar *et al.*, 2010). L'augmentation du Ca^{2+} et des ROS activent la transition de perméabilité mitochondriale (Chen *et al.*, 2007). Parathion (insecticide organophosphoré) est un inhibiteur du complexe II, de l'ATP-synthase et du transporteur de phosphate, et il provoque une diminution du contrôle respiratoire et le potentiel de la membrane mitochondriale (Gomez *et al.*, 2007).

Les travaux du Lablanche (2012) ont rapporté que l'incubation des cellules humaines en présence de glucose déclenche une ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondriale (PTP). Ainsi, le stress oxydant a un rôle fondamental dans le déclenchement de l'ouverture de ces pores ce qui induit la mort cellulaire. Une autre étude a rapporté que les niveaux accrus d'ALAT dans le sérum peuvent indiquer l'augmentation de la perméabilité, des dommages et/ou de la nécrose des hépatocytes chez les rats traités au dichlorvos (Binukumar, 2010). Au total, un stress oxydatif intense occasionne ces transitions de perméabilité mitochondriale qui vont à leur tour engendrer un stress oxydatif, favorisant l'auto-entretien des dysfonctionnements des systèmes antioxydants débordés (Hinson et Kadlubar, 1988). Ceci conforte nos résultats, puisque nous avons également mis en évidence une inhibition des activités enzymatiques antioxydantes mitochondriales, une hyperglycémie et une augmentation du taux des transaminases en présence de lufenuron, chlorpyrifos et leur combinaison.

De plus, une diminution du potentiel membranaire mitochondrial réduit et une perméabilité accrue ont été induites par deltaméthrine (Chen *et al.*, 2007), et l'éthylazinphos qui interagit avec la bicouche lipidique de la membrane mitochondriale, modifiant l'organisation lipidique et augmentant la perméabilité protonique de la membrane interne (Videira *et al.*, 2001). Un herbicide a entraîné une transition de la perméabilité mitochondriale, associée à une oxydation des protéines membranaires thiol par des espèces réactives de l'oxygène (Castilho *et al.*, 1997). Les résultats suggèrent que la transition de perméabilité mitochondriale (MPT) semble être impliquée dans l'exécution de l'apoptose dans des cellules hépatiques de rats (Isenberg and Klaunig, 2000).

Nos résultats mettent en évidence un gonflement mitochondrial et une augmentation de la perméabilité mitochondriale chez les mitochondries traitées avec le CPF, LUF, et leur combinaison. Ils sont en parfait accord avec d'autres travaux (Taib *et al.*, 2016 ; Salmi *et al.*, 2017 ; Toualbia *et al.*, 2017)

Ces résultats sont similaires à ceux rapportés dans Benbouzid *et al.* (2015) et Rouabhi *et al.* (2009) qui ont utilisé deux IGR. Cette inhibition a été également remarqué dans des études testant l'effet d'autre xénobiotiques sur les mitochondries (Jasso-Chavez *et al.*, 2010 ; Boulassel, 2014)

Kon *et al.* (2004) suggère que le mécanisme de MPT pourrait être un des mécanismes fondamentaux impliqués dans les altérations de la chaîne respiratoire en condition d'intoxication au xénobiotique.

En fin, l'administration par voie orale à des rats intoxiqués d'un huile essentielle du cumin pendant 60 jours, a pu maintenir l'intégrité et le fonctionnement mitochondrial grâce à l'effet antioxydant de l'huile essentielle contre les ROS, qui peuvent interagir avec les sites responsables de l'oxydation provoquant l'apoptose, à l'activité anti-hyperglycémiant, et à l'effet hépatoprotecteur de l'HEc. Ces résultats sont en accord avec des travaux qui ont étudié l'effet protecteur de la quarcétine (Gasmi *et al.*, 2017 ; Lakroun *et al.*, 2015)

Conclusion

Conclusion et perspectives

L'objectif de cette étude consistait à étudier la toxicité induite par chlopyrifos, lufenuron et leur mixture au niveau cytosolique hépatique et mitochondrial chez les rats Wistar, et à évaluer l'effet protecteur des HEs du *Cuminum cyminum* contre cette toxicité. Les résultats indiquent que l'HE du *Cuminum cyminum* n'a pas affecté la plupart des biomarqueurs étudiés. Ceci peut être dû à une activité oxydante dissimulée des huiles essentielles du *Cuminum cyminum* liée probablement à la dose utilisée. En revanche, ces pesticides influencent tous les paramètres étudiés reflétant son habilité à créer un stress oxydatif. En effet, ils causent une réduction de poids corporel, et une augmentation des poids relatifs de certains organes (foie et reins), augmentation au niveau des biomarqueurs de la lésion hépatique (ALT et AST), et rénale (créatinine ; urée), une augmentation du taux des protéines, des lipides et des glucides, une modification de l'équilibre pro et anti-oxydant se manifestant notamment par une augmentation de la peroxydation lipidique (MDA) et de l'activité du GPx avec une diminution de la quantité de GSH, GST, CAT. En outre, une diminution de l'activité de l'enzyme acétylcholinestérase a été observée.

Le traitement des mitochondries isolées de foie par ces pesticides a démontré une diminution de la respiration mitochondriale (consommation d'O₂), une augmentation de la perméabilité avec un gonflement mitochondrial.

Parallèlement, le traitement des rats par les huiles essentielles du *Cuminum cyminum* en présence des deux pesticides a ramené tous les marqueurs biochimiques et oxydatifs à des niveaux proches de ceux obtenus chez les rats témoins. Ceci souligne l'effet protecteur des huiles essentielles du *Cuminum cyminum* contre l'intoxication par ces pesticides en raison de leurs propriétés antioxydantes prouvées dans la littérature.

Les résultats de la présente étude permettent de conclure que les huiles essentielles du *Cuminum cyminum* pourraient s'avérer très bénéfiques lors d'une intoxication par CPF, LUF, et en mélange. Ils peuvent être proposés alors dans le schéma thérapeutique des personnes intoxiquées par les pesticides sans risque d'effets secondaires, et peut être utilisée comme un antidote contre cette toxicité.

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

- Évaluer la toxicité des huiles essentielles du *Cuminum cyminum* sur une période plus longue afin de mettre en évidence leurs effets nocifs sur les rats.

Conclusion

- Approfondir l'étude par une étude histologique visant à localiser les dégats tissulaires engendrés par les pesticides.
- Définir le ou les composants actifs de l'huile essentielle de *Cuminum cyminum* originaires des effets observés.
- Approfondir l'étude par des techniques plus complètes au niveau moléculaire.

Références bibliographiques

A

- Abou-Donia M.B., Khan W.A., Dechkovskaia A.M., Goldstein L.B., Bullman S.L., Abdel-Rahman A. 2006. In utero exposure to nicotine and chlorpyrifos alone, and in combination produces persistent sensorimotor deficits and Purkinje neuron loss in the cerebellum of adult offspring rats. *Arch. Toxicol.* 80: 620-31.
- Abdollahi M., Ranjbar A., Shadnia S., Nikfar S., Rezaiee A. 2004. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit.* 10: RA141-RA147.
- Abdel-Gawad, H., Taha H., Hegazi B. 2005. Toxicological potential and fate of the insecticide chlorpyrifos in laying hens. *Bull. NRC, Egypt.* 30(2): 179-193.
- Achour S., Khattabi A., Rhalem N., Ouammi L., Mokhtari A., Soulaymani A., Soulaymani Bencheikh R. 2011. L'intoxication par les pesticides chez l'enfant au Maroc : profil épidémiologique et aspects pronostiques (1990-2008). *Santé Publique.* 23 :195-205.
- Acker C.I., Nogueira C.W. 2012. Chlorpyrifos acute exposure induces hyperglycemia and hyperlipidemia in rats. *Chemosphere.* 89 : 602–608.
- ACTA, 2005. Index Phytosanitaire ACTA 2005.41ème. Association de Cordination Technique Agricole. France. pp. 820.
- Adedara I.A., Klimaczewski C.V., Barbosa N.B.V., Farombi E.O., Souza D.O., Rocha J.B.T. 2015. Influence of diphenyl diselenide on chlorpyrifos-induced toxicity in *Drosophila melanogaster*, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 1-31.
- Aebi H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology.* 105: 121–126.
- Agrawal A., Sharma B. 2010. Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems: Review Article. *Int. J. Biol. Med. Res.* 1(3): 90 - 104.
- Ajay, G., Vijayta, D., Dhawan, D.K. 2005. Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos induced toxicity. *Chemico-Biological Interactions.* 156: 131-140.
- Akande M.G., Aliu Y.O., Ambali SF, Ayo J.O. 2014. Co-treatment of chlorpyrifos and lead induce serum lipid disorders in rats: Alleviation by taurine. *Toxicol. Ind. Health.* doi: 10.1177/0748233714560394.
- Al-Attar A.M. 2011. Vitamin E attenuates liver injury induced by exposure to lead, mercury, cadmium and copper in albino mice. *Saudi J Biol Sc.* 18: 395–401.
- Alavanja, M. C., Hoppin, J. A., and Kamel, F., 2004. Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annual Review of Public Health.* 25: 155-197
- Al-Awthan Y.S., Al-Douis M.A., El-Sokkary G.H. and Aqlan E.M. 2012. Dimethoate-induced Oxidative Stress and Morphological Changes in the Liver of Guinea Pig and the Protective Effect of Vitamin C and E. *Asian Journal of Biological Sciences.* 5(1):9-19.
- Allahghadri T., Rasooli I., Owlia P., Nadooshan M.J., Ghazanfari T., Taghizadeh M. Astaneh S.D. 2010. Antimicrobial Property, Antioxidant Capacity, and Cytotoxicity of Essential Oil from Cumin Produced in Iran. *Journal of food science.* 75: H54-H61.

Références bibliographiques

Almasiova V., Holovska K., Tarabova L., Cigankova V., Lukacinova A., Nistiar F. 2012. Structural and ultrastructural study of the rabbit testes exposed to carbamate insecticide. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*. 47 :1319-1328.

Al-Shinnawy M.S. 2008. Vitamin C as ameliorative agent against thiodicarb toxicated male albino rats (*Rattus norvegicus*). *Egypt. Acad. J. Biol. Sci.* 1(2): 177-187.

Aly N., EL-Gendy K., Mahmoud F., El-Sebae A.K. 2010. Protective effect of vitamin C against chlorpyrifos oxidative stress in male mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 97: 7–12.

Ambali S.F., Akanbi D.O., Oladipo O.O., Yaqub L.S., Kawu, M.U. 2011. Subchronic Chlorpyrifos-Induced Clinical, Hematological and Biochemical Changes in Swiss Albino Mice: Protective Effect of Vitamin E. *International Journal of Biological & Medical Research*. 2: 497 – 503.

Amigo L., Mendoza H., Zanlungo S., Miquel J.F., Rigotti A., Gonzalez S., et Nervi F. 1999. Enrichment of canalicular membrane with cholesterol and sphingomyelin prevents bile salt-induced hepatic damage. *J. Lipid Res.* 40: 533–542.

Amin K.A., Hashem K.S. 2012. Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol. *BMC Vet Res.* doi: 10.1186/1746-6148-8-45.

Amutha P., Sangeetha G., and Mabalingam S. 2002. Dairy effluent induced alterations in the protein, carbohydrate and lipid metabolism of freshwater teleost fish, *Oreochromis mossambicus*. *Poll. Res.* 21: 35-51.

Andreescu S., Barthelmebs L., Marty J.L. 2002. Immobilisation of AChE on screen-printed electrodes; Comparative study between three immobilisation methods; Applications to the detection of organophosphorus insecticides. *Anal. Chim. Acta.*, 464: 171-180.

Apra C., Strambi M., Novelli M. T., Lunghini L. and Bozzi N. 2000. Biologic monitoring of exposure to organophosphorus pesticides in 195 Italian children. *Environ Health Perspect.* 108: 521–525.

Arora A., Sairam R., Srivastava G. 2002. Oxidative stress and anioxidative system in plantes –*Cur. Sci.* 82 (10): 122-144.

Assefa Z., Van Laethem A., Garmyn M., Agostinis P. 2005. Ultraviolet radiationinduced apoptosis in keratinocytes: on the role of cytosolic factors. *Biochim Biophys Acta.* 1755:90–106.

B

Badawy M.E.I., Kenawy A., et El-Aswad A.F. 2013. Toxicity Assessment of Buprofezin, Lufenuron, and Triflumuron to the Earthworm *Aporrectodea caliginosa*. *International Journal of Zoology*. ID 174523, 9 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/174523>.

Bagchi D., Bagchi M., Hassoun E.A., Stohs S.J., 1995. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology*, 104: 129-140.

Baillie J.K., Bates M.G.D., Thompson A.A.R., Waring W.S., Partridge R.W., Schnopp M.F., Simpson A., Gulliver-Sloan F., Maxwell S.R.J., Webb D.J. 2007. Lowland Subjects Exposed to High Altitude Plasma Antioxidant Capacity in Healthy Endogenous Urate Production Augments. *Chest*. 131 : 1473-1478.

Bain, B.J. 2006. *Blood cells a practical guide*. Ed Blackwell, Australia, pp: 71-89.

Références bibliographiques

- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils –A review. Food and Chemical Toxicology. 46: 446–475.
- Bakke, J.E., Feil, V.J., and Price, C.E. 1976. Rat urinary metabo-lites from O,O-diethyl-O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphoroth-ioate. J.Environ.Sci. Health Bull. 3:225–230.
- Bakke J.E., et Price C.E. 1976. Metabolism of O,O-dimethyl-O- (3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate in sheep and rats and of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in sheep. J.Environ. Sci. Health B. 11:9–22.
- Baldi I., Cantagrel., Lebaillyl A. 2003. Association between Parkinson’s disease and exposure to pesticides in south western France. Neuroepidemiology. 22: 305-10.
- Banerjee B.D.; Seth V.; Bhattacharya A.; Pasha S.T. and Chakraborty A.K. 1999. Biochemical effects of some pesticides on lipid-peroxidation and free-radical Scavengers. Toxicol. Lett.107: 33–47.
- Baris D., Silverman D. T., Brown L. M., Swanson G. M., Hayes R. B., Schwartz A.G., Liff J. M., Schoenberg J. B., Pottern L. M., Greenberg R. S., and Stewart P. A., 2004. Occupation, pesticide exposure and risk of multiple myeloma. Scand J Work. Environ Health. 30(3): 215-222.
- Barnoud D., Cano N., Schneider S.M., Vasson M.P., Hasselmann M., Leverve X. 2007. Traité de nutrition artificielle de l'adulte. Springer, troisième édition. Paris : 241-242.
- Barr D.B., et Angerer, J. 2006. Potential uses of biomonitoring data: Acase study using the organophosphorus pesticides chlorpyrifos and malathion. Environ. Health Perspect.114:1763–1769.
- Baş H., kalender Y., 2011. Chlorpyrifos Induced Cardiotoxicity in Rats and the Protective Role of Quercetin and Catechin. Gazi University Journal of Science. 24(3):387-395.
- Basdevant J.L., Rich J., Spiro M. 2006. Énergie nucléaire. Editions de l’école polytechnique, Palaiseau. 175-176.
- Bayala B., 2014. Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes. Thèse présentée pour obtenir le grade de docteur. Université Blaise Pascal -Clermont-Ferrand II. 139p.
- Bazzi L.H. 2010. Etude de la persistance de quelques pesticides dans la culture de l'haricot vert dans la région de Souss Massa. Thèse de doctorat en science, spécialité Environnement. Université Ibn Zohr : Ecole nationale des sciences appliquées Agadir. 139p
- Beghoul A., Kebieche M., Gasmi S., Chouit Z., Amiour C., Lahouel A., Lakroun Z., Rouabhi R., Fetoui H., Soulimani R. 2017. Impairment of mitochondrial integrity and redox status in brain regions during a low-dose long-term exposition of rats to pyrethrinoids: the preventive effect of quercetin. Environ Sci Pollut Res. doi 10.1007/s11356-017-9675-0.
- Behera S., Nagarajan S., Rao, L.J.M. 2004. Microwave heating and conventional roasting of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) and effect on chemical composition of volatiles. Food Chem. 87: 25-29.
- Beishuizen A., Thijs L.G., 2003. Endotoxin and the hypothalamo–pituitary–adrenal (HPA) axis. J. Endotoxin Res. 9: 3–24.
- Belinato T.A., Martins A.J., Lima J.B.P., Valle D., 2013. Effect of triflumuron, a chitin synthesis inhibitor, on *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* under laboratory conditions. Parasit Vectors. 6 : 83.

Références bibliographiques

- Bellakhdar J. 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press (Ed). Paris. 764 p.
- Benbouzid H. 2012. Evaluation et étude de la toxicité d'une famille d'acaricide sur des protistes ciliés. Thèse de doctorat de l'université d'Annaba. 87p.
- Benbouzid H., Berrebbah H., Djebar M.R. 2015. Toxicity of the Chlorfenapyr: Growth inhibition and induction of oxidative stress on a freshwater protozoan: *Paramecium* sp. *Adv Environ Biol.* 9:281-285
- Bernuau J., Goudeau A., Poynard T., Dubois F., Lesage G., Yvonnet B, *et al.*, 1986. Multivariate analysis of prognostic factors in fulminant hepatitis. *Hepatology.* 6:648-51.
- Berson A., Cazanave S., Descatoire V., Tinel M., Grodet A., Wolf C. 2006. The anti-inflammatory drug, nimesulide (4-nitro-2- phoxymethane-sulfoanilide), uncouples mitochondria and induces mitochondrial permeability transition in human hepatoma cells protection by albumin. *J Pharmacol Exp Ther.* 318: 444-54.
- Bettaieb I., Bourgou S., Wannas WA., Hamrouni I., Limam F., Marzouk B. 2010. Essential Oils, Phenolics, and Antioxidant Activities of Different Parts of Cumin (*Cuminum cyminum* L.). *J Agric Food Chem.* 58:10410–10418.
- Beugnet F. 2004. Antiparasitaires externes chez les carnivores domestiques. *EMC – Vétérinaire.* 1(4): 138-53.
- Bhaskar R., Mohanty B. 2014. Pesticides in mixture disrupt metabolic regulation: In silico and in vivo analysis of cumulative toxicity of mancozeb and imidacloprid on body weight of mice. *General and Comparative Endocrinology* 205: 226–234.
- Binukumar B.K., Bal A., Kandimalla R., Sunkaria A., Gill K.D. 2010. Mitochondrial energy metabolism impairment and liver dysfunction following chronic exposure to dichlorvos. *Toxicology.* 270(2-3):77-84.
- Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O. 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J.* 5(1): 9–19.
- Bismuth C. 1993. Armes chimiques, description et risques toxiques. *Reanim Urg.* 2 :625- 33.
- Bitri L., Dhaouadi N., Ouertani L., Maurel D., Ben Saad M., 2007. Toxicité de l'hexachlorobenzène chez *Meriones unguiculatus* : effets sur la thyroïde et le foie. *C. R. Biologies.* 330 : 410–418.
- Blagburn B.L., Hendrix C.M., Vaughan J.L., Lindsay D.S., Bar-nette S.H. 1995. Efficacy of lufenuron against developmental stages of fleas (*Ctenocephalides felis felis*) in dogs house in simulated home environments. *Am J Vet Res.* 56 :464–467.
- Bliefert C., et Perraud R. 2001. Chimie de l'environnement : air, eau, sols, Déchets. 2^{ème} éditions Paris, De Boeck Université. 478p.
- Bolognesi C. 2003. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring Studies. *Mutat Res.* 543 : 251–572.
- Bonnefont-Rousselot D., Théron P., Beaudeau J.L., Peynet J., Legrand A., Delattre J. 2001. Aging and oxidative stress. Which potential markers? *Ann. Biol. Clin.* 59(4): 453-459.
- Bonnefont-Rousselot D., Théron P., Delattre J. 2003. Radicaux libres et antioxydants. En : Delattre J., Durand G., Jardillier J-C. *Biochimie pathologique.* Flammarion, Paris. 317p.
- Bonvallet N., Dor F. 2004. Insecticides organochlorés aux Antilles : identification des dangers et valeurs toxicologiques de référence (VTR). Institut de Veille Sanitaire. 50p.
-

Références bibliographiques

- Boubali Z. 2017. Biomarqueurs du stress oxydatif. Thèse de Doctorat, Université Mohamed V- Rabat. 134p.
- Boulassel A. 2014. Evaluation de la toxicité de deux médicaments : le Paracétamol et l'Ibuprofène, sur un modèle cellulaire : *Paramecium tetraurelia*. Essai à l'échelle subcellulaire. Thèse de Doctorat, Université d'Annaba. 134p.
- Boullard B. 2001. Plantes médicinales du monde réalités et croyances. ESTEM (Ed) Paris .660 p.
- Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248–254.
- Braquenier J.B., 2009. Etude de la toxicité développementale d'insecticides organophosphorés : Analyse comportementale de la souris CD1. Thèse de Doctorat. 181p.
- Bremness L. 2002. Plantes aromatiques et médicinales. Bordas (Ed). Paris, 303 p.
- Brown T. P., Rumsby P. C., Capleton A. C., Rushton L. and Levy L. S. 2006. Pesticides and Parkinson's disease--is there a link. *Environ Health Perspect*. 114(2) 156-164.
- Bruneton J. 1999. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales (3^{ème} Ed). Technique et Documentation (Paris). pp: 484.
- Bruneton J. 1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, partie 03: Terpénoïdes et stéroïdes, Ed : Lavoisier, tec et doc, 2^{ème} édition. Paris. 387-429.
- Busschers M., Dourson M. 2015. Lufenuron. *JMPR*. 453–500.
- Butter N.S., Gurmeet Singh G., Dhawan A.K. 2003. Laboratory Evaluation of the Insect Growth Regulator Lufenuron against *Helicoverpa armigera* on Cotton. *Phytoparasitica*. 31(2) :200-203.
- Buzio L., Tondel M., De Palma G., Buzio C., Franchini I., Mutti A., and Axelson O., 2002. Occupational risk factors for renal cell cancer. An Italian case-control study. *Med Lav*. 93(4): 303-309.

C

- Cacciatore L.C., Nemirovsky S.I., Verrengia Guerrero N.R., Cochón A.C. 2015. Azinphos-methyl and chlorpyrifos, alone or in a binary mixture, produce oxidative stress and lipid peroxidation in the freshwater gastropod *Planorbis corneus*. *Aquatic Toxicology*. 167: 12–19.
- Cadenas E. 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu Rev Biochem*. 58: 79-110.
- Cai H., Harrison DG. 2000. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ. Res*. 87(10): 840-844.
- Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M.P. Coquet Y. 2005. Les pesticides dans le sol, Conséquence agronomique et environnementales. ed. France Agricole. 637 p
- Calviello G., Piccioni E., Boninsegna A., Tedesco B., Maggiano N., Serini S., Wolf F.I., Palozza P. 2006. DNA damage and apoptosis induction by the pesticide Mancozeb in rat cells: involvement of the oxidative mechanism. *Toxicol Appl Pharmacol*. 211(2): 87-96

Références bibliographiques

- Campbell C.G., Seidler F.J., Slotkin T.A. 1997. Chlorpyrifos interferes with cell development in rat brain regions. *Brain Res. Bull.* 43: 179–189.
- Campoy, C., Jimenez, M., Olea-Serrano, M.F., MorenoFrias, M., Canabate, F., Olea N., Bayés, R. and Molina-Font, J.A., 2001. Analysis of organochlorine pesticides in human milk: preliminary results. *Early Hum dev.* 65: 183-190.
- Canistro D, Pozzetti L, Sapone A, et al., 2007. Perturbation of murine liver cyp-superfamily of isoforms by different combinations of pesticide mixtures. *Food Chem Toxicol.* 46: 34-42
- Capkin E., Altinok I. and Karahan S. 2006. Water quality and fish size affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chemosphere.* 64: 1793–1800.
- Carp P.M. et Bashamohideen M. 1989. Fenvalerate and Cypermethrin induced changes in the haematological parameters of cyprinus carpio. *Acta. Hydrochimica, et. Hydrobiologica.* 17(1): 101-107.
- Carrière A., Galinier A., Fernandez Y., Carmona M.C., Pénicaud L., Casteilla L. 2006. Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie. *22 (1):* 47-53.
- Carson C.F., Rilley T.V., Bosque F. 2002. Antimicrobial activity of the major components of essential oil of *Malaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology.* 78 :264-269.
- Castilho RF., Vicente JA., Kowaltowski AJ., Vercesi AE. 1997. 4,6-Dinitro-o-cresol uncouples oxidative phosphorylation and induces membrane permeability transition in rat liver mitochondria. *Int J Biochem Cell Biol.* 29(7):1005-11.
- Cetin N., Cetin E., Eraslan G., Bilgili A., 2007. Chlorpyrifos induces cardiac dysfunction in rabbits. *Research in Veterinary Science.* 82: 405–408.
- Chanda S.M., Pope C.N. 1996. Neurochemical and neurobehavioral effects of repeated gestational exposure to chlorpyrifos in maternal and developing rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 53:771–776.
- Chang-Gue S., Seung-Hyun H., Jung-Hyo C., Jang-Woo S., Chin-Ho C., Yeon-Weol L., Chong-Kwan C. 2003. Induction of hemopoiesis by saenghyuldan, a mixture of Ginseng radix, Paeoniae radix alba, and Hominis placenta extracts. *Act. Pharmacol. Sinica.* 24: 120–126.
- Chaouki W., Leger D.Y., Eljastimi J., Beneytout J.L., Hmamouchi M. 2010. Antiproliferative effect of extracts from *Aristolochia baetica* and *Origanum compactum* on human breast cancer cell line MCF-7. *Pharm Biol.* 48(3):269- 74.
- Charpentier B., 2008. New therapeutic targets for antibodies and recombinant proteins in organ transplantation. *Bull. Académie Natl. Médecine.* 192: 883–893.
- Chavan V.U., Melinker R.R. 2013. Study of protein carbonyl group, nitric oxide and MDA (index of lipid peroxidation) as biomarkers of oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Natl J Community Med.* 4(2):294-9.
- Chebab S., Belli N., Leghouchi E., Lahouel M. Stress oxydatif induit par deux pesticides : l'endosulfan et le chlorpyrifos. *Environnement, Risques & Santé.* 8(5):425-432.
- Che-Mendoza A., Patricia Penilla R., Américo Rodríguez D. 2009. Insecticide resistance and glutathione S transferases in mosquitoes: A review. *African Journal of Biotechnology.* 8: 1386-1397.

Références bibliographiques

- Chen D., Huang X., Liu L., Shi N. 2007. Deltamethrin induces mitochondrial membrane permeability and altered expression of cytochrome C in rat brain. *J. Appl. Toxicol.* 27: 368–372.
- Choudhary N., Joshi S. C. 2003. Reproductive Toxicity of Endosulfan in Male Albino Rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 70: 285-289.
- Christopher G. 1991. Monoterpenes: An easily accessible but neglected class of natural products. *Journal of chemical Education.* 68(3): 267-268.
- Cochran R.C. 2002. Appraisal of risks from nonoccupational exposure to chlorpyrifos. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 35:105–121.
- Codru N., Schymura M.J., Negoita S., Rej R., Carpenter D.O. 2007. Diabetes in relation to serum levels of polychlorinated biphenyls and chlorinated pesticides in adult Native Americans. *Environ Health Perspect.* 115(10) :1442-7.
- Colin F. 2000. Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires Cas de l'Atrazine dans le bassin versant de Sousson (Gers, France). Unité mixte Cemagref-ENGREF "Structure des systèmes spatiaux" .233p.
- Cometa M.F., Buratti F.M., Fortuna S., Lorenzini P., Volpe M.T., Parisi L., Testai E., Meneguz A. 2007. Cholinesterase inhibition and alterations of hepatic metabolism by oral acute and repeated chlorpyrifos administration to mice. *Toxicology.* 234 (1-2) :90-102.
- Connolly J.D., Hill R.A. 1991. *Dictionary of Terpenoids.* Vol. 1: Mono- and Sesquiterpenoids, Vol. 2: Di- and higher Terpenoids, Vol. 3: Indexes. New York, Tokyo, Melbourne, Madras: Chapman & Hall London.
- Cook T.J., Shenoy S.S. 2013. Intestinal permeability of chlorpyrifos using the single-pass intestinal perfusion method in the rat. *Toxicology* 184: 125-133.
- Costa L.G. 2006. Current issues in organophosphate toxicology. *Clin Chim Acta.* 366: 1-13.
- Cotonat J. 1996. *La toxicologie.* Presses universitaires de France, Paris. 127p.
- Couic-Marinier F., Lobstein A. 2013. Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques.* 52 (525) : 18-21.
- Couteux A., Salaün C. 2009. *Index phytosanitaire ACTA 2009.* 45ème édition. Association de Coordination Technique Agricole. MAME.
- CPP. 2002. Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Comité de la Prévention et de la Protection. 47p.
- Crapo J.D. 1997. Mouse extracellular superoxide dismutase: primary structure, tissue specific gene expression, chromosomal localization, and lung in situ hybridization. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 17: 393-403.
- Crystal R., Saundres L., Salil K. *et al.* 2006. Benzo(a)pyrene-induced acute neurotoxicity in the F-344 rat: role of oxidative stress. *Journal of Applied Toxicolog.* 26: 427-438.

Références bibliographiques

- Dalton T.P., Shertzer H.G., Puga A. 1999. Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 39: 67–101.
- Dal-Zotto S., Marti O., Armario A. 2000. Influence of single or repeated experience of rats with forced swimming on behavioural and physiological responses to the stressor. *Behav. Brain Res.* 114(1-2): 175–181.
- Davidson P.M. 1997. Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. *Food Technology.* 43 :148-155.
- Deaton C. M., Marlin D. J. 2011. Exercice-associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice.* 2(3): 278-91.
- Deivanayagam C., Asokan S., Rajasekar S. 2014. The Study of Lipid Peroxidation, Liver Enzymes and Antioxidant status In Iufenuron Treated Mice, *Mus Musculus* species. *ChemTech Res.* 6: 5321-5328.
- 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. 405p.
- Delgado E.H.B., Dal-Pizzol F., Streck E.L., Quevedo J.L. 2006. Mitochondrial Respiratory Dysfunction and Oxidative Stress after Chronic Malathion Exposure. *Neurochem Res.* 31:1021–1025.
- Del Pino J., Moyano P., Anadon M.J., García J.M., Díaz M.J., García J., Frejo M.T. 2015. Acute and long-term exposure to chlorpyrifos induces cell death of basal forebrain cholinergic neurons through AChE variants alteration. *Toxicology.* 336 :1-9.
- De Moffarts B., Kirschvink N., Pincemail J., Lekeux P. 2005. Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. 149: 1-9.
- Derakhshan S., Sattari M., et Bigdeli M. 2008. Effect of subinhibitory concentrations of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed essential oil and alcoholic extract on the morphology, capsule expression and urease activity of *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 32: 432–436
- Dhadialla T.S., Retnakaran A., Smaghe G. 2005. Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert, L.I., Kostas, I. and Gill, S. [Eds] Kostas, I. and Gill, S. [Eds] *Comprehensive Insect Molecular Science.* Vol. 6. Pergamon Press, New York, NY. p. 55-116.
- Dhandapani S., Subramanian V.R., Rajagopal S., Namasivayam N. 2002. Hypolipidemic effect of *cuminum cyminum* L. on alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacological research.* 46: 251-255.
- Dias E., Gomes M., Domingues C., Ramalheira E., Morais S., Pereira M.L. 2013. Subacute Effects of the Thiodicarb Pesticide on Target Organs of Male Wistar Rats: Biochemical, Histological, and Flow Cytometry Studies. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues.* 76(9): 533-539.
- Dordevic S., Petrovic S., Dobric S., Milenkovic M., Vucicevic D., Zizic S., Kukic J. 2007. Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *Journal of Ethnopharmacology.* 109:458–463.
- Douris P.C., Elokda A.S., Handrakis J.P., Principal S., Rondo E., Bovell J., Coughlin W.P., Mastroianni C.N., Wong M.J., Zimmerman T. 2009. Martial art training enhances the glutathione antioxidant system in middle-aged adults. *J. Strength Cond. Res.* 23(5): 1518-23.
- Duarte T.L., Jones G.D.D. 2007. Vitamin C modulation of H₂O₂ -induced damage and iron homeostasis in human cells. *Free Radical Biology and Medicine.* 43: 1165-1175.
- Duchateau G., Florkin M. 1959. Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Insect. Physiol. Biochem.* 67: 306-314.
-

Références bibliographiques

Duramad P., Tager I.B. and Holland N.T. 2007. Cytokines and other immunological biomarkers in children's environmental health studies. *Toxicology (Letters)*. 172(1-2): 48-49.

Dwivedi Y., Rastogi R., Garg N. K., Dhawan B. N. 1991. Prevention of paracetamol-induced hepatic damage in rats by picroliv, the standardized active fraction from *Picrorhiza kurroa*. *Phytotherapy Research*. 5: 115-119.

E

Eaton D.L., Daroff R.B., Autrup H., Bridges J., Buffler P., Costa LG., Coyle J., McKhann G., Mobley WC., Nadel L., Neubert D., Schulte-Hermann R. and Spencer PS. 2008. Review of the Toxicology of Chlorpyrifos With an Emphasis on Human Exposure and Neurodevelopment. *Critical Reviews in Toxicology*. 38 (2): 1–125.

EEA., WHO E.2002. Children's Health and Environment: A review of evidence. Environmental issue report. No 29. 223p

EFSA Scientific Report. 2008. Conclusion on the peer review of lufenuron. 189: 1-130.

EFSA. 2017. Review of the existing maximum residue levels for lufenuron according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. 15(1):4652

Einafshar S., Poorazrang H., Reza Farhoosh R., Seiedi S.M. 2012. Antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of cumin seed (*Cuminum cyminum*). *Eur J Lipid Sci Technol*. 114: 168–174.

Eissa F.I., Zidan N.A. 2010. Haematological, biochemical and histopathological alterations induced by abamectin and *Bacillus thuringiensis* in male albino rats. *Acta Biol Hung*. 61: 33-44.

EL Bakouri H. 2006. Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des substances organiques naturelles. Thèse de doctorat. Université Abdelmalek Essaadi, faculté des sciences et techniques. Tanger. 203p.

El-Demerdash F.M. 2004. Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 18: 113-121.

El-Demerdash F.M., Attia A.A., Elmazoudy R.H. 2012. Biochemical and histopathological changes induced by different time intervals of methomyl treatment in mice liver. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*. 47(12): 1948-1954.

El-Ghorab A.H., Nauman M., Anjum F.M., Hussain S. Nadeem M. 2010. A comparative study on chemical composition and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) and cumin (*Cuminum cyminum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 8231–8237.

Elia A.C, Galarini R, Taticchi M.I, Dorr A.J, Mantilacci L. 2003. Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf*. 55:162–167.

Elisabeth L. 2008. Matériaux mésomorphes à empreinte moléculaire pour le développement d'un capteur de pesticides. Thèse de doctorat de l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. 262p

El-Kashoury A. A. 2009. Influence of sub-chronic exposure of profenofos on biochemical markers and microelements in testicular tissue of rats. *Nat. Sci.*, 7 (2) : 16 – 29.

Références bibliographiques

El-Khawaga O.Y. 2012. Protective effects of tannic acid against methomyl-induced oxidative stress. *J. Biotechnol. Biomaterial.* 2(2): 127.

Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V., Featherstone R.M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholine esterase activity. *Biochem Pharmacol.* 7(88).

El-Maghraby S. 2004. Toxicological potential to mice of carbaryl bound residues in faba and soybeans. *Bull. NRC, Egypt.* 29(6): 681-690.

El Missiry M.A., Othman A.I. 1993. Influence of lannate on biochemical and hematological parameters in old rats. *J. Egypt. Ger. Soc. Zool.* 11: 219-229.

El-Sawi S.A., Mohamed M.A. 2002. Cumin herb as a new source of essential oils and its response to foliar spray with some micro-elements. *Food Chem.* 77: 75-80.

El-Sayed K.A., Dunbar D.C., Perry T.L, Wilkins S.P., Hamann M.T. 1997. Marine natural products as phototype insecticidal agents. *J. Agri. Food Chem.* 45: 2735-2739.

Elsharkawy E.E., Doha Yahia D., Neveen A., El-Nisr N.A. 2013. Sub-chronic exposure to chlorpyrifos induces hematological, metabolic disorders and oxidative stress in rat: Attenuation by glutathione. *Environmental toxicology and pharmacology.* 35: 218-227.

El-Sheikha S.A., Azza A.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.* 39:1177–1188.

El-Shenawy N.S. 2010. Effects of insecticides fenitrothion, endosulfan and abamectin on antioxidant parameters of isolated rat hepatocytes. *Toxicol In Vitro.* 24: 1148–1157.

El-Sheikh E-S.A., 2014. Comparative toxicity and sublethal effects of emamectin benzoate, lufenuron and spinosad on *Spodoptera littoralis* Bois. (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Crop Protection* 67: 228-234.

Engel L.S., O'Meara E.S., and Schwartz S.M. 2000. Maternal occupation in agriculture and risk of limb defects in Washington State. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health.* 26: 193-198.

Eraslan G., Kanbur M., Silici S. 2009. Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen. *Food and Chemical Toxicology.* 47: 86-91.

Ernster L., Forsmark-Andree P. 1993. Ubiquinol: an endogenous antioxidant in aerobic organisms. *Clin. Investig.* 71: 60-65.

Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jürgens G. 1992. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med.* 13(4):341-90.

Evans J. L., Goldfine I. D., Maddux B. A., Grodsky G. M. 2002. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 23: 599-622.

F

FAO. 2007. Specifications and evaluations for agricultural pesticides "Lufenuron". 21p

FAO., WHO. 2015. Pesticide residues in food 2015. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. 627p.

Références bibliographiques

Farrag A.R.H. Shalby Sh E.M. 2007. Comparative Histopathological and Histochemical Studies on IGR, Lufenuron and Profenofos Insecticide Albino Rats. *Journal of Applied Sciences Research*. 3: 77-386.

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.

Favier A. 2011. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. 65 (4) 108-115.

Feig D.I., Mazzali M., Kang D.H., Nakagawa T., Price K., Kannelis J., et al. (2006). Serum uric acid: a risk factor and a target for treatment? *Journal of the American Society of Nephrology*. 17: S 69-73.

Fetoui H., Makni M., Garoui E.M., Zeghal N. 2010. Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroids pesticide, on the rat kidney: involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 62: 593-599.

Filipov N. M., Pinchuk L. M., Boyd B. L. and Crittenden P. L. 2005. Immunotoxic effects of short-term atrazine exposure in young male C57BL/6 mice. *Toxicol Sci*. 86(2) : 324- 332.

Fillatre Y. 2011. Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat, spécialité chimie analytique. Université ANGERS, Ecole doctorale : Matières, molécules, matériaux des pays de Loire. 267p.

Finaud J., Lac G., Filaire E. 2006. Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. *Sports med*. 36(4): 327-358.

Fingo D.R. 1997. Kidney function. In: Kaneko J.J., Harvey J.W., Bruce M.L. *clinical Biochemistry Domestic Animals*. Academic Press, San Diego, California. 462-478

Flaskos J. 2012. The developmental neurotoxicity of organophosphorus insecticides: a direct role for the oxon metabolites. *Toxicol. Lett*. 209: 86-93.

Flohe L., Gunzler W.A. 1984. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 105: 114-121

Fournier M., Friberg J., Girard D., Mansour S. and Krzystyniak K. 1992. Limited immunotoxic potential of technical formulation of the herbicide atrazine (AAtrex) in mice. *Toxicol. Lett*. 60(3): 263-274.

Franco R., Sanchez-Olea R., Reyes-Reyes E.M., Panayiotidis M.I. 2009. Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis : Ménage à Trois. *Mutat Res* 674: 3-22.

Fromenty B. 2010. Drug-induced mitochondrial and metabolic toxicity: Mechanisms and deleterious consequences for the liver. *Réanimation*. 19(6): 552-567.

Fujioka K., Casida J.E. 2007. Glutathione S-transferase conjugation of organophosphorus pesticides yields S-phospho-, S-aryl-, and S-alkylglutathione derivatives. *Chem. Res. Toxicol*. 20(8):1211-7.

G

Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A., Rasooli I. 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*. 102: 898-904.

Références bibliographiques

- Gagandeep, Dhanalakshmi S., Méndiz E., Rao A.R., Kale R.K. 2003. Chemopreventive effects of *Cuminum cyminum* in chemically induced forestomach and uterine cervix tumors in murine model systems. *Nutr Cancer*. 47(2):171-80.
- Gamet-Payraastre L. 2011. Effets physiopathologiques des mélanges de pesticides. Original Research Article *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 46 (2) : 82-85.
- Garg D.P., Bansal A.K., Malhotra A., Kiran R., Dhawan D.K. 2009. Methomyl induced hematological and biochemical alterations protection by vitamin E. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 93(3): 127-132.
- 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.
- Garcia-Ruiz C., Colell A., Morales A., Kaplowitz N., Fernandez-Checa J.C. 1995. Role of oxidative stress generated from the mitochondrial electron transport chain and mitochondrial glutathione status in loss of mitochondrial function and activation of transcription factor nuclear factor-kappa B: studies with isolated mitochondria and rat hepatocytes. *Mol Pharmacol*. 48: 825-834.
- Garg D.P., Kiran R., Bansal A.N., Malhotra A. and Dhawan D.K. 2008. Role of vitamin E in mitigating methomyl acute toxicity in blood of male Wistar rats. *Drug and Chemical Toxicology*. 31 : 487-499.
- Gasmi S., Rouabhi R., Kebieche M., Salmi A., Boussekine S., Toualbia N., Taib C., Henine S., Bouteraa Z., Djabri B. 2016. Neurotoxicity of Acetamiprid in Male Albino Rats and the Opposite Effect of Quercetin. *Bio.Technology*. 12(7): 1-16.
- Gasmi S., Rouabhi R., Kebieche M., Boussekine S., Salmi A., Toualbia N., Taib C., Bouteraa Z., Chenikher H., Henine S., Djabri B. 2017. Effects of Deltamethrin on striatum and hippocampus mitochondrial integrity and the protective role of Quercetin in rats. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int*. 24:16440-16457.
- Geubel A.P., Rahier P. 2006. Toxicité hépatique des médicaments : le point de vue du clinicien et du pathologiste. *Act. Endoscop*. 36(3): 315-323.
- Ghafourifar P., Cadenas E. 2005. Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trendes Pharmacol Sci*. 26 : 190-5.
- Goel A., Chauhan D.P., Dhawan D.K. 2000. Protective effects of zinc in chlorpyrifos induced hepatotoxicity: a biochemical and trace elemental study. *Biological trace element research*. 74: 171-183.
- Gokcimen A., Gulle K., Demirin H., Bayram D., Kocak A., Altuntas I., 2007. Effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 87(2) 103-108.
- Goldsworthy G.J., Mordue W., Guthkelch J. 1972. Studies on insect adipokinetic hormones. *Gen. Comp. Endocrinol*. 18 (3): 545
- Gomez C., Bandez M.J., Navarro A. 2007. Pesticides and impairment of mitochondrial function in relation with the parkinsonian syndrome. *Front Biosci*. 12:1079-93.
- Gordon C.J., Padnos B.K., 2000. Prolonged elevation in blood pressure in the unrestrained rat exposed to chlorpyrifos. *Toxicology* 146: 1 – 13
- Goto M., Ueda K., Hashimoto T., Fujiwara S., Matsuyama K., Kometani T., Kanazaw K. 2008. A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-. *Free Radical Biology and Medicine*. 45: 1318-1325.

Références bibliographiques

Goudable J., Favier A. 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 11 : 115-20.

Grandjean D. 2005. Comprendre le stress oxydatif cellulaire chez le chien. *Le Nouv. Prat.Vét.* 22: 11-15.

Grenier S., et Grenier A.M. 1993. Fenoxycar b, a fairly new insect growth regulator: a review of its effects on insects. *Ann. Appl. Biol.* 122: 369–403.

Gril j.j., Gouy V., Carluer C. 1998. Processus de transfert des pesticides par ruissellement, de la parcelle au bassin versant. *Agriculture et environnement " les produits entraînés par l'eau"*. Colloque d'Hydrotechnique 159 Session du Comité Scientifique et technique. Document de la Société Hydrotechnique de France. 380p.

Gultekin F., Ozturk M., Akdogan M. 2000. The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro). *Arch. Toxicol.* 74(9):533-8.

H

Habig H., Pabst M.J., Jokoby W.B. 1974. Glutathione-S-transferase: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249: 7130-7139.

Hai D.Q., Varga S.I., Matkovics B. 1997. Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 117 (1):83–88.

Hajlaoui H., Mighri H., Noumi E., Snoussi M., Trabelsi N., Ksouri R., Bakhrouf A. 2010. Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. essential oil: A high effectiveness against *Vibrio* spp. strains. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 2186–2192.

Halliwell B. 1989. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J ExpPathol.* 70: 737 – 757

Halliwell B. 1990. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic. Res. Commun.* 13: 1-32.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C. 1995. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med.* 18:125–126.

Hancock D. B., Martin E. R., Mayhew G. M., Stajich J. M., Jewett R., Stacy M. A., Scott B. L., Vance J. M., and Scott W. K. 2008. Pesticide exposure and risk of Parkinson's disease: a family-based case-control study. *BMC Neurol.* Vol. 8, n°6. doi: 10.1186/1471-2377-8-6

Hardell L., Eriksson M., Nordstrom M. 2002. Exposure to pesticides as risk factor for non-Hodgkin's lymphoma and hairy cell leukemia: pooled analysis of two Swedish case-control studies. *Leuk Lymphoma*. 43(5): 1043-1049.

Harman D. 2000. Aging: overview. *Ann. NY. Acadsci.* 928 :1–21.

Hassoun E.A., Stohs S.J. 1995. Comparative studies on oxidative stress as a mechanism for the fetotoxicity of TCDD, endrin and lindane in C57BL/6J and DBA/2J mice. *Teratol.* 51: 186.

Hassan S., Abd El-Twab S., Hetta M., Mahmoud B. 2011. Improvement of lipid profile and antioxidant of hypercholesterolemic albino rats by polysaccharides extracted from the green alga *Ulva lactuca* Linnaeus. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 18:333–340.

Références bibliographiques

Hayes J.D., Pulford D.J. 1995. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 30(6):445-600

Heikal T., Mossa A., Abdel Rasoul M.A., Marei K.H. 2013. The ameliorating effects of green tea extract against cyromazine and chlorpyrifos induced liver toxicity in male rats. *Asian J Pharm Clin Res.* 6: 48-55.

Hiller K., 1999. *Cuminum cyminum* L. In: Hiller, K., Melzig, M. (Eds.), *Lexikon der Arzneipflanzen und Drogen*. Spektrum–Akademischer Verlag, Heidelberg. 229p.

Hinson, J.A., Kadlubar, F.F., 1988. Glutathione and glutathione transferases in the detoxification of drug and carcinogen metabolites. In *Glutathione Conjugation, Mechanisms and Biological Significance*, edited by B. Ketterer and H. Sies (London: Academic Press), p. 235-280

Hotchkiss A. K., Rider C. V., Blyston C. R., Wilson V. S., Hartig P. C., Ankley G.T., Foster P. M., Gray C. L. and Gray L. E. 2008. Fifteen years after Wingsprea environmental endocrine disrupters and human and wildlife health: where we are today and where we need to go. *Toxicological Sciences.* 105(2): 235-259.

Hubatsch I., Ridderstrom M., Mannervik B. 1998. Human glutathione transferase A4-4: an alpha class enzyme with high catalytic efficiency in the conjugation of 4-hydroxynonenal and other genotoxic products of lipid peroxidation. *Biochem J.* 330: 175-179.

Hughes D.N., Boyer M.G., Papst M.H., Fowle C.D., Rees G.A.V. and Baulu P. 1980. Persistence of three organophosphorus insecticides in artificial ponds and some biological implications. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 9: 269.

I

Idris S.B., Ambali S.F., Ayo J.O. 2012. Cytotoxicity of chlorpyrifos and cyperme-thrin: the ameliorating effects of antioxidants. *African. J. Biotechnol.* 11: 16461–16567.

INERIS- Données technico-économiques sur les substances chimiques en France, Chlorpyrifos (Chlorpyrifos-Ethyl), Responsable de Programme : J.M. Brignon, Expert ayant participé à la rédaction : A.Gouzy, 2006. <http://www.ineris.fr/substances/fr/>

Inouye S. 2003. Laboratory evaluation of gaseous essential oils (part 1). *International journal of Aromatherapy.* 45 :22-35.

INSERM. Pesticides, effets sur la sante [« Pesticide Health Effets »]. Collective Expertise collection, INSERM, Paris. 2013. <http://www.inserm.fr/actualites/rubriques/actualites-societe/pesticides-effets-sur-lasante-une-expertise-collective-de-l-inserm>.

Isenberg J.S., Klaunig J.E. 2000. Role of the Mitochondrial Membrane Permeability Transition (MPT) in Rotenone-Induced Apoptosis in Liver Cells. *Toxicological Sciences.* 53: 340 –351.

Ismail R.S.A, El-Megeid Ashraf A.A. and Abdel-Moemin A.R. 2009. Carbon tetra chloride-induced liver disease in rats: the potential effect of supplement oil with vitamins E and C on the nutritional status. *German Medical Sci-ence.*7: 1–10.

Istamboulie, G. 2009. Biocapteur associant l'acétylcholinestérase et la phosphotriestérase pour un contrôle environnemental des insecticides organophosphorés. Thèse de doctorat de l'université de Perpignan.

Références bibliographiques

Iwalokun B. A., Efedede B. U., Alabi-Sofunde J. A., Oduala, T., Magbagbeola O. A., et Akinwande A. I. 2006. Hepatoprotective and Antioxidant Activities of Vernonia amygdalina on Acetaminophen-Induced Hepatic Damage in Mice. *Journal of Medicinal Food*. 9(4): 524–530.

Iyyadurai R., Peter J.V., Immanuel S., Begum A., Zachariah A., Jasmine S., Abhilash K.P. 2015. Organophosphate-pyrethroid combination pesticides may be associated with increased toxicity in human poisoning compared to either pesticide alone. 52(5):538-41.

Izquierdo-Vega J.A., Soto C.A., Sanchez-Pena L.C., Vizcaya-Ruiz A.D., Del Razo L.M. 2006. Diabetogenic effects and pancreatic oxidative damage in rats subchronically exposed to arsenite. *Toxicology Letters*. 160: 135-142.

J

Jagtap A.G., Patil P.B. 2010. Antihyperglycemic activity and inhibition of advanced glycation end product formation by *Cuminum cyminum* in streptozotocin induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*. 48:2030–2036.

Jalali-Heravi M.J., Zekavat B., Sereshti H. 2007. Use of gas chromatography- mass spectrometry combined with resolution methods to characterize the essential oil components of Iranian cumin and caraway. *J Chromatography A*. 1143: 215-226.

Jamel Al-Layl, K.M.S. 2004. Toxicological and histopathological effects of the Cyanobacterium *Oscillatoria rubescens* blood and liver of the white albino rats. *Arab Univ. J. Agric. Sci., Ain Shams Univ., Cairo, Egypt*. 12(2): 821-837.

Janahmadi M., Niazi F., Danyali S., Kamalinejad M. 2006. Effects of the fruit essential oil of *Cuminum cyminum* Linn. (Apiaceae) on pentylenetetrazol-induced epileptiform activity in F1 neurones of *Helix aspersa*. *J. Ethnopharmacol*. 104: 278-282.

Janssen W. 1984. *Forensic Histopathology*. Springer-Verlag, Berlin, NY, pp. 314-315.

Jasso-Chavez R., Pacheco-Rosales A., Lira-Silva E., Gallardo-Perez J.C., Noemi Garcia, Rafael Moreno-Sanchez. 2010. Toxic effects of Cr (VI) and Cr (III) on energy metabolism of heterotrophic *Euglena gracilis* *Aquatic Toxicology*. 100: 329–338.

Johnson T. N. 2003. The development of drug metabolising enzymes and their influence on the susceptibility to adverse drug reactions in children. *Toxicology*. 192: 37-48.

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*. 33: 1290-1300.

Joshi S.C., Mathur R., Gulati N. 2007. Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. *Toxicol. Ind. Health*. 23(7):439-44.

Jurewicz, J, Hanke W., Johansson C., Lundqvist C., Ceccatelli S., van den Hazel P., Saunders M., Zetterstrom R. 2006. Adverse health effects of children's exposure to pesticides: what do we really know and what can be done about it. *Acta. Paediatr. Suppl*. 95(453): 71-80.

K

Kalender S., Uzun F.G., Durak D., Demir F., Kalender Y. 2010. Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 633-638.

Références bibliographiques

- Kalender Y., Kayaa S., Durakb D., Uzuna F.G., Demir F. 2012. Protective effects of catechin and quercetin on antioxidant status, lipid peroxidation and testis-histoarchitecture induced by chlorpyrifos in male rats. *Environmental toxicology and pharmacology*. 33: 141–148.
- Kamatou G.P.P., Viljoen A.M., Figueiredo A.C., Tilney P.M., Van Zyl R.L., Barroso J.G., Pedro L.G., Van Vuuren S.F. 2007. Trichomes, essential composition and biological activities of *Salvia albicaulis* Benth. and *S. dolomitica* Codd, two species from the Cape region of South Africa. *South African Journal*. 73:102–108.
- Kamel F., Hoppin J. A. 2004. Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. *Environ Health Perspect*. 112(9): 950-958.
- Kaplan A. 1984. Urea. Kaplan A *et al.* Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton; 1257-1260 and 437 and 418.
- Kaplan L.A. 1984. Glucose. Kaplan A *et al.* Clin chem. The C.V. mosby Co. Si louis. Tronto. Princeton; 1032-1036.
- Karaca M., Ozbek H., Him A., Tutuncu M., Akkan H.A., Kaplanoglu V. 2007. Investigation of anti-inflammatory activity of bergamot oil. *Eur J Gen Med*. 4(4):176-179.
- Karant S., Shivanandappa T. 1995. Organophosphate-Sensitive Carboxylesterase Isozyme (S) in the Rat Liver Enzymes of the Cholinesterase. Family Springer US. 394-395.
- Karant S., Liu J., Mirajkar N., Pope C. 2006. Effects of acute chlorpyrifos exposure on in vivo acetylcholine accumulation in rat striatum. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 216(1):150-6
- Kaur P., Radotra B., Minz R.W., Gill K.D. 2007. Impaired mitochondrial energy metabolism and neuronal apoptotic cell death after chronic dichlorvos (OP) exposure in rat brain. *Neurotoxicology*. 28:1208– 1219.
- Kebieche M., Lakroun Z., Lahouel M., Bouayed J., Meraihi Z., Soulimani R. 2009. Evaluation of epirubicin-induced acute oxidative stress toxicity in rat liver cells and mitochondria, and the prevention of toxicity through quercetin administration. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 61:161–167.
- Kenfack A., Ferdinand N., Paul D.W.D., Omer B.N., Tsambou M.A.M., Judith K.C., Guylène M.Z., Narcisse B.V. 2015. Persistence of the reproductive toxicity of chlorpyrifos-ethyl in male Wistar rat. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. 4(1): 37-40.
- Khaldoun-Oularbi H., Richeval C., Djenas N., Lhermitte M., Humbert L., Baz A. 2013. Effect of sub-acute exposure to abamectin (insecticide) on liver rats (*Rattus norvegicus*). *Annales de Toxicologie Analytique*. 25(2): 63-70.
- Khan S.M., Sobti R.C., Kataria L. 2005. Pesticide-induced alteration in mice hepato-oxidative status and protective effects of black tea extract *Clinica Chimica Acta*. 358:131–138
- Khani S., Tayek, J.A. 2001. Cortisol increases gluconeogenesis in humans: its role in the metabolic syndrome. *Clin. Sci. (Lond.)* 101 :739–747.
- Khokhar J.Y., Tyndale R.F. 2012. Rat Brain CYP2B-Enzymatic Activation of Chlorpyrifos to the Oxon Mediates Cholinergic Neurotoxicity. *Toxicological Sciences*. 126(2): 325–335.
- Ki Y.W., Park J.H., Lee J.E., Shin I.C., Koh H.C. 2013. JNK and p38 MAPK regulate oxidative stress and the inflammatory response in chlorpyrifos-induced apoptosis. *Toxicology Letters*. 218(3) :235-245.

Références bibliographiques

- Kioukia-Fougia N, Antoniou K, Bekris S, Liapi C, Christofidis I, Papadopoulou-Daifoti Z. 2002. The effects of stress exposure on the hypothalamic–pituitary–adrenal axis, thymus, thyroid hormones and glucose levels. *Progress in Neuro -Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 26(5):823– 830.
- Kohen R. et Nyska A. 2002. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods of their quantification. *Toxicol Pathol*. 30 (6): 620-50.
- Kon K., Kim J.S., Jaeschke H. et al., 2004. Mitochondrial permeability transition in acetaminophen-induced necrosis and apoptosis of cultured mouse hepatocytes. *Hepatology*. 40(5):1170-9.
- Kono Y., Fridovich I. 1982. Superoxide radical inhibits catalase. *J. Biol. Chem*. 257:5751–5754.
- Koolman J., Röhm K.H. 2004. *Atlas de Poche de Biochimie*. 3^e édition. Flammarion, Paris. 478p.
- Krinsky N. I. 2014. Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biology and Medicine*. 7(6): 617-635.
- Kumar A., Malik F., Bhushan S., Sethi V.K., Shahi A.K., Kaur J., Taneja S.C., Qazi G.N., Singh J. 2008. An essential oil and its major constituent isointermedeol induce apoptosis by increased expression of mitochondrial cytochrome c and apical death receptors in human leukaemia HL-60 cells. *Chemico-Biological Interactions*. 171:332–347.
- Kumar A., Kumar R., Kumar N., Nath A., Singh J.K., Ali M. 2011. Protective Effect of *Cuminum cyminum* and *Coriandrum sativum* on Profenofos Induced Liver Toxicity. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 2:1405-1409.
- Kumar A., Singh J.K., Ali M., Kumar R., Kumar A., Nath A., Roy A.K., Roy S.P., Singh J.K. 2011. Evaluation of *Cuminum cyminum* and *Coriandrum sativum* on Profenofos induced nephrotoxicity in Swiss albino mice. *Elixir Applied Botany*. 39: 4771-4774.

Ł

- Labbe G., Pessayre D., Fromenty B., 2008. Drug-induced liver injury through mitochondrial dysfunction: mechanisms and detection during preclinical safety studies. *Fundam Clin Pharmacol*. 22:335-53
- Lablanche S. 2012. Implication du PTP dans l'apoptose de la cellule B pancréatique. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'Université de Grenoble. 135p
- Lackmann, G. M., Schaller, K. H., and Angerer, J., 2004. Organochlorine compounds in breast-fed vs. bottle-fed infants: preliminary results at six weeks of age. *Sci Total Environ*. 329(1-3); 289-293.
- Laetz C.A., Baldwin D.H., Collier T.K., Hebert V., Stark J.D. and Scholz N.L. 2009. The Synergistic Toxicity of Pesticide Mixtures: Implications for Risk Assessment and the Conservation of Endangered Pacific Salmon. *Environ Health Perspect*. 117(3): 348–353.
- Lahlou M., Berrada R., 2003. Composition and niticidal activity of essential oils of three chemotypes of *Rosmarinus officinalis* L. acclimatized in Morocco. *Flavour Fragr. J*. 18: 124–127.
- Lahlou M. 2004. Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour Fragr. J*. 19, 159–165.
- Lakhdar L. 2015. Evaluation De l'activite Antibacterienne d'huiles Essentielles Marocaines Sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* : Etude In Vitro. These de doctorat. Centre d'études Doctorales des Sciences de la vie et de la sante. Université de Rabat. 165p.

Références bibliographiques

- Lakroun Z., Kebieche M., Lahouel A., Zama D., Desor F., Soulimani R. 2015 Oxidative stress and brain mitochondria swelling induced by endosulfan and protective role of quercetin in rat. *Environ Sci Pollut Res.* 22 :7776-81.
- Landrigan P. J. and Kimmel C. A. 2004. Children's health and the environment: public health issues and challenges for risk assessment. *Environmental Health Perspectives.* 112 (2): 257-265.
- Latchoumycandane C., Mathur P.P. 2002. Effect of methoxychlor on the antioxidant system in mitochondrial and microsome-rich fractions of rat testis. *Toxicology.* 176: 67–75.
- Lee W. J., Son M., Chun B. C., Park E. S., Lee H. K., Coble, J., and Dosemeci M., 2008. Cancer mortality and farming in South Korea: an ecologic study. *Cancer Causes Control.* 19(5): 505-513.
- Levet D., Hen L., Jacques S., Mouchelin J., Berly A. 2008. Guide pratique des Substances Toxiques dans les Eaux Douces et Littorales du Bassin Seine-Normandie. Éditions AESN. 271p.
- Levine S.L., Oris J.T. 1999. Enhancement of acute parathion toxicity to fathead minnows following pre-exposure to Propiconazole, pesticide biochemistry and physiology. 65: 102-109.
- Li R., Jiang Z.T. 2004. Chemical composition of the essential oil of *Cuminum cyminum* L. from China. *Flavour Fragr. J.* 19: 311–313.
- Li Z.H., Zlabek V., Velisek J., Grabic R., Machova J., Randak T. 2010. Modulation of antioxidant defence system in brain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after chronic carbamazepine treatment. *Comp. Biochem. Physiol.* 151: 137-141.
- Li D., Huang Q., Lu M., Zhang L., Yang Z., Zong M., Tao L. 2015. The organophosphate insecticide chlorpyrifos confers its genotoxic effects by inducing DNA damage and cell apoptosis. *Chemosphere.* 135: 387–393.
- Lis-Balchin M. 2002. Lavender: the genus *Lavandula*, Taylor and Francis, London. 37-40.
- Liu Y., Liu J., Tetzlaff W., Paty D.W., Cynader M.S. 2006. Biliverdin reductase, a major physiologic cytoprotectant, suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis. *Free Radical Biology and Medicine.* 40(6): 960-967.
- Liu J., Parsons L., Pope C., 2013. Comparative effects of parathion and chlorpyrifos on extracellular endocannabinoid levels in rat hippocampus: influence on cholinergic toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 272(3) :608-15.
- Loi Algérienne N°87-17 relative à la protection phytosanitaire. 1987. Journal officiel de la république algérienne N°32 du 05-08-1987.
- Lotti, M. 1995. Cholinesterase inhibition: complexities in interpretation. *Clin. Chem.* 41(12): 1814-1818.
- Loyant L., 2017. Neurotoxicité développementale du chlorpyrifos via le système endocannabinoïde : effets comportementaux chez le rat. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE. 112p.
- Lu S.C. 1999. Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. *The FASEB Journal.* 13: 1169 – 1183.
- Lu C., Toepel K., Irish R., Fenske R.A., Barr D.B., and Bravo, R. 2006. Organic diets significantly lower children's dietary exposure to organophosphorus pesticides. *Environ Health Perspect.* 114(2); 260-263.
- Lu C., Barr D. B., Pearson M. A. and Waller L.A. 2008. Dietary intake and its contribution to longitudinal organophosphorus pesticide exposure in urban/suburban children. *Environ Health Perspect.* 116(4): 537-542.
-

Lu X.T., Ma Y., Wang C., Zhang X.F., Jin daQ., Huang C.J. 2012. Cytotoxicity and DNA damage of five organophosphorus pesticides mediated by oxidative stress in PC12 cells and protection by vitamin E. *J. Environ. Sci. Health.* 47: 445–454.

Lukaszewicz-Hussain A., Moniuszko-Jakoniuk J. 2004. Chlorfenvinphos, an Organophosphate Insecticide, Affects Liver Mitochondria Antioxidative Enzymes, Glutathione and Hydrogen Peroxide Concentration. *Polish Journal of Environmental Studies.* 13: 397-401.

M

Ma T., Chambers J.E. 1994. Kinetic parameters of desulfuration and dearylation of parathion and chlorpyrifos by rat liver microsomes. *Food Chem Toxicol.* 32(8):763-7.

Ma P., Wu Y., Zeng Q., Gan Y., Chen J., Ye X., Yang X. 2013. Oxidative damage induced by chlorpyrifos in the hepatic and renal tissue of Kunming mice and the antioxidant role of vitamin E. *Food and Chemical Toxicology.* 58:177–183.

Madhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D. K. 1996, *Food Antioxidants, Technological, Toxicological, and Health Perspectives*, Marcel Dekker, Inc. New York. 65p.

Makrides C., Koukouvas M., Achillews G., Tsikkos S., Vounou E., Symeonides M., Christodoulides P., Ioannides M. 2005. Methomyl-induced severe acute pancreatitis: possible etiological association. *Journal of Pancreas.* 6(2): 166-171.

Manawadi S.I., Kaliwal B.B. 2010. Methomyl-induced alteration in mice hepatic-oxidative status. *Inter. J. Biotech. App.* 2(2): 11-19

Mancianti F., Dabizzi S., Nardoni S. 2009. A lufenuron pre-treatment may enhance the effects of enilconazole or griseofulvin in feline dermatophytosis? *Journal of Feline Medicine and Surgery.* 11: 91-95.

Manna P., Sinha M., Sil P.C. 2008. Arsenic-induced oxidative myocardial injury: protective role of arjunolic acid. *Arch Toxicol* 82:137–149.

Mansour S.A., Mossa A.T.H., Heikal T.M. 2009. Effects of methomyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat erythrocytes: In vitro studies. *Toxicol. Indust. Health.* 25(8): 557-563

Mansour S.M., Bahgat A.K., El-Khatib A.S., Khayyal M.T. 2011. Ginkgo biloba extract (EGb 761) normalizes hypertension in 2K, 1C hypertensive rats: Role of antioxidant mechanisms, ACE inhibiting activity and improvement of endothelial dysfunction. *Phytomedicine.* 18: 641–647.

Marcheterre L., Choudhry G. and Webster G. 1988. *Environmental Photochemistry of Herbicides. Reviews of Environmental Contaminations and Toxicology.* 103: 61-126.

Marigoudar S.R., Nazeer Ahmed R., David M. 2012. Ultrastructural responses and oxidative stress induced by cypermethrin in the liver of *Labeo rohita*. *Chemistry and Ecology.* 29:1-13.

Marinovich M., Ghilardi F., Galli C.L. 1996. Effet of pesticide mixtures on in vitro nervous cells: Comparison with single pesticides. *Toxicology.* 108: 201-206.

Marlière F. 2001. Pesticides dans l'air ambiant. Rapport INERIS DRC 01-27138-AIRE N°801.182p

Martin M., Macias M., Escames G., León J., Acuña-Castroviejo D. 2000. Melatonin but not vitamins C and E maintain glutathione homeostasis in t-butyl hydroperoxide-induced mitochondrial oxidative stress. *The FASEB Journal.* 14:1677-9.

Références bibliographiques

- Matozzo V., Tomei A., Marin M.G. 2005. Acetylcholinesterase as a biomarker of exposure to neurotoxic compounds in the clam *Tapes philippinarum* from the Lagoon of Venice. *Mar. Pollut. Bull.* 50: 1686–1693.
- Mattsson J.L., Wilmer J.W., Shankar M.R., Berdasco N.M., Crissman J.W., Maurissen J.P., Bond D.M. 1996. Single-dose and 13-week repeated-dose neurotoxicity screening studies of chlorpyrifos insecticide. *Food and Chemical Toxicology.* 34(4) :393-405.
- McMichael M. 2007. Oxidative stress, antioxidants, and assessment of oxidative stress in dogs and cats. *JAVMA.* 231(5): 714-720.
- McMillen I.C., Adam C.L., Mühlhäusler B.S. 2005. Early origins of obesity: programming the appetite regulatory system. *565* :9-17.
- Medjdoub A., 2013. Evaluation des effets métaboliques d'un gavage par les pesticides (Mancozèbe, Métribuzine) chez le rat Wistar. En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat. En Physiologie et Biochimie de la Nutrition. 132p.
- Meuling W.J., Ravensberg L.C., Roza L., van Hemmen J.J. 2005. Dermal absorption of chlorpyrifos in human volunteers. *Int Arch Occup Environ Health.* 78: 44–50.
- Messarah M., Klibet F., Boumendjel A., Abdennour C., Bouzerna N., Boulakoud M.S, El Feki A. 2012. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of selenium on arsenic induced liver injury in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 64: 167-174.
- Merhi M., 2008. Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse doctorat de l'université de Toulouse. Ecole doctorale : SEVAB. 140p
- Merzendorfer H. 2006. Insect chitin synthases: a review. *J. Comp. Physiol. B, Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 176: 1–15.
- Meyer A., Chrisman J., Moreira J.C., Koifman S. 2003. Cancer mortality among agriculture workers, from Serrana Region. State of Rio de Janeiro Brazil. *Environmental Research.* 93: 264-271.
- Mills P. K., et Yang R. 2003. Prostate cancer risk in California farm workers. *J Occup Environ Med.* 45(3): 249-258.
- Moghaddama M., Khaleghi Miranb N.S., Pirbalouti A.G., Mehdizadehd L., Ghaderi Y., 2015. Variation in essential oil composition and antioxidant activity of cumin (*Cuminum cyminum* L.) fruits during stages of maturity. *Industrial Crops and Products.* 70: 163–169.
- Mohamed M., Abdellatif M.D., Sabar A., Elglammal M.D. 2003. Sodium fluoride ion and renal function after prolonged sevoflurane or isoflurane anaesthesia. *BJA British Journal of Anaesthesia.* 19 :78-83.
- Moller P., Wallin H., Knudsen L.E. 1996. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chemico-Biological Interactions.* 102 (1):17-36.
- Monocada, S. 1993. The L- arginine- nitric oxide Pathway. *Nengl. J. Med.* 329 : 2002- 2012.
- Moser V.C., Stewart N., Freeborn D.L., Crooks J., MacMillan D.K., Hedge J.M., Wood C.E., McMahan R.L., Strynar M.J., Herr D.W. 2015. Assessment of serum biomarkers in rats after exposure to pesticides of different chemical classes. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 282: 161–174.
- Mossa A-T.H., Heikal T.M., Omara E.A.Z. 2014. Liver damage associated with exposure to aspirin and diazinon in male rats and the ameliorative effect of selenium. *Biomed. Aging. Pathol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomag.2014.01.004>.
-

Références bibliographiques

- Mossa A.T.H., Swelam E.S., Mohafrash S.M.M. 2011. Sub-chronic exposure to fipronil induced oxidative stress, biochemical and histopathological changes in the liver and kidney of male albino rats. *Toxicology Reports*. 2: 775–784.
- Mostafa D.M., Kassem A.A., Asfour M.H., Al Okbi S.Y., Mohamed D.A., El-Sayed Hamed T. 2015. Transdermal cumin essential oil nanoemulsions with potent antioxidant and hepatoprotective activities: In-vitro and in-vivo evaluation. *Journal of Molecular Liquids*. 212: 6–15.
- Mueller R.F., Hornung S., Furlong C.E., Anderson J., Giblett E.R., and Motulsky A.G. 1983. Plasma paraoxonase polymorphism: A new enzyme assay, population, family, biochemical, and linkage studies. *Am.J. Hum. Genet.* 35:393–408.
- Mullenbach GT, Tabrizi A, Irvine BD, Bell GI, Tainer JA, Halliwell RA. (1988). Selenocysteine's mechanism of incorporation and evolution revealed in cDNAs of three glutathion peroxidases. *Protein Eng.* 2: 239–246.
- Multigner L. 2005. Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement, risques & santé*. 4(3): 187-194.
- Mukinda J.T., Syce J.A. 2007. Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *J. Ethnopharmacol.* 112: 138–144.
- Murray R.L. 1984. Alanine aminotransferase. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. 1088-1090.
- Murray R.L. 1984. Aspartate aminotransferase. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. 1112-1116.
- Murray R.L. 1984. Creatinine. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. 1261-1266.
- Mushtaq A., Ahmad M., Jabeen K., Saqib A., Wajid M., Akram M.A. 2014. Hepatoprotective investigation of *cuminum cyminum* dried seeds in nimesulide intoxicated albino rats by phytochemical and biochemical methods. *Int J Pharm Pharm. Sci* 6:506-510.

N

- Nadeem M. et Riaz A., 2012. Cumin (*Cuminum cyminum*) as a potential source of antioxidants. *PAK. J. FOOD. SCI.* 22(2) 101-107.
- Naganuma M., Hirose S., Nakayama Y., Nakajima K., Someya T. 1985. A study of the phototoxicity of lemon oil. In : étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémisynthèse. *Arch. Dermatol. Res.* 278: 31-36.
- Navarro C.M., Montilla P.M. Martin A., Jimenez J., Utrilla P.M. 1993. Free radicals scavenger and antihepatotoxic activity of rosmarinus. *Plant. Med.* 59: 312-314.
- Ncibi S., Ben Othma, M., Akacha A., Krifi M.N., Zourgui L. 2008. *Opuntia ficus indica* extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 797–802.
- Neuzil J., Stocker R. 1993. Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. *20*: 281-284.
- Nolan R.J., Rick D.L., Freshour N.L. and Saunders J.H. 1984. Chlorpyrifos: Pharmacokinetics in human volunteers. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 73: 8– 15.

O

Références bibliographiques

Ogut S., Gultekin F., Kisioglu A.N., Kucukoner E. 2011. Oxidative stress in the blood of farm workers following intensive pesticide exposure. *Toxicol Ind Health*. 27(9):820-5.

Ojha A., Yaduvanshi S.K., Srivastava N. 2011. Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues, *Pestic. Biochem. Physiol.* 99: 148–15.

Ojha A., Srivastava N. 2012. Redox imbalance in rat tissues exposed with organophosphate pesticides and therapeutic potential of antioxidant vitamins. *Ecotoxicol Environ Saf.* 75(1):230-241

Ojha A., Yaduvanshi S.K., Pant S.C., Lomash V., Srivastava N. 2013. Evaluation of DNA damage and cytotoxicity induced by three commonly used organophosphate pesticides individually and in mixture, in rat tissues, *Environ. Toxicol.* 28(10) :543-52.

Ojha A., Srivastava N. 2014. In vitro studies on organophosphate pesticides induced oxidative DNA damage in rat lymphocytes. *Mutation Research* 761: 10–17.

Oluah N.S. 1998. Effect of sublethal copper (II) ions on the serum transaminase activity in catfish *Clarias albopunctatus*. *J Aquat Sci.* 13: 45–47.

Oluah N.S. 1999. Plasma aspartate aminotransferase activity in the catfish *Clarias albopunctatus* exposed to sublethal zinc and mercurys, *Bull. Environ. Contam Toxicol.* 63: 343–34.

Orrenius S., Gogvadze V., Zhivotovsky B. 2007. Mitochondrial Oxidative Stress: Implications for Cell Death *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol* 47:143–83.

Oudin Y. 2017. Mise à jour bibliographique de l'utilisation des antiparasitaires externes chez les carnivores domestiques. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire. Université Claude-Bernard - Lyon I. 195p.

Ozcan A., Ware K., Calomeni E., Nadasdy T., Forbes R., Satoskar A.A., Nadasdy G., Rovin B.H., Hebert L.A., Brodsky S.V. 2012. 5/6 nephrectomy as a validated rat model mimicking human warfarin-related nephropathy. *Am J Nephrol.* 35(4): 356-364.

Ozkan F., Gunduz S.G., Hunt A.O., Berköz M., Yalın S. 2012. The protective role of ascorbic acid (vitamin C) against chlorpyrifos-induced oxidative stress in *Oreochromis niloticus* Fish. *Physiol Biochem.* 38:635–643.

Ozmen M., Sener S., Mete A., Kucukbay H., 1999. In vitro and in vivo acetylcholinesterase-inhibiting effect of new classes of organophosphorus compounds. *Environ. Toxicol Chem.* 18 (2): 241–246.

P

Patil J.A.A, Patil A.J.V., Sontakke A.V., Govindwar S.P. 2008. Effect of methomyl on hepatic mixed function oxidases in rats. *Indian J. Pharmacol.* 40: 158-163.

Patil S.D., Maknikar P.P., Wankhade S.J., Ukesh C.S., Rai M.K. 2016. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of essential oils from cumin and ajowan. *Nusantara Bioscience.* 8 (1): 60-65

Peris-Sampedro F., Basaure P., Reverte I., Cabré M., Domingo J.L., Colomina M.T., 2015. Chronic exposure to chlorpyrifos triggered body weight increase and memory impairment depending on human apoE polymorphisms in a targeted replacement mouse model. *Physiology & Behavior* 144: 37–45.

Pessayre, D., Mansouri, A., Berson, A., Fromenty, B., 2010. Mitochondrial involvement in drug-induced liver injury. *Handb Exp Pharmacol.* 196 :311-65.

Références bibliographiques

Philip G.H., Reddy P.M., Sridevi G. 1995. Cypermethrin induced in vivo alterations in the carbohydrate metabolism of freshwater Wsh *Labeo rohita*. *Ecotoxicol Environ Saf.* 31: 173–178.

Pibiri M. C. 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat. EPFL Lausanne. 161p.

Pichersk, E., Noel J.P., Dudareva N. 2006. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. *Science.* 311 : 808–811.

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J.O. 2002. Mécanismes physiologiques de la défense anti-oxydante. *Physiological action of antioxidant defenses.* *Nutrition clinique et métabolisme.* 16: 233-239.

Pincemail J., Haleng J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P. 2007. Le stress oxydant. 62 (10): 628-38

Poet T. S., Wu H., Kousba A. A., and Timchalk, C. 2003. In vitro rat hepatic and intestinal metabolism of the organophosphate pesticides chlorpyrifos and diazinon. *Toxicol Sci.* 72: 193-200.

Pourmortazavi S.M., Hajimirsadeghi S.S. 2007. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Journal of Chromatography A.* 1163:2–24.

Possamai F.P., Fortunato J.J., Feier G., Agostinho F.R., Quevedo J., Wilhelm Filho D., Dal-Pizzol F. 2007. Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 23: 198-204.

Powers S., Jackson M. 2008. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol. Rev.* 88: 1243-1276.

Puntarulo et Cederbaum, 1996 S. Puntarulo A.I. Cederbaum Role of Cytochrome P450 in the stimulation of microsomal production of reactive oxygen species by ferritin *Biochim. Biophys. Acta* 1289 238–246

Q

Quistad G.B., Liang S.N., Fisher K.J., Nomura D.K., Casida J.E. 2006. Each lipase has A unique sensitivity profile for organophosphorus inhibitors. *Toxicol. Sci.* 91: 166-172.

R

Radwan M.U., indy Z.A, Abdel-Megeed M., Zrook A. 2001. Residual activity of orally administrated pesticides used on fruits and vegetables on rat blood parameters behavior. *Annals Agric. Sci., Ain Shams Univ., Cairo.* 46(1) : 365-382.

Rahimi R., Abdollahi M., 2007. A review on mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus insecticides. *Pest. Biochem. Physiol.* 88: 115–121.

Raina R., Baba N.A., Verma P.K., Sultana M., Singh M. 2015. Hepatotoxicity Induced by Subchronic Exposure of Fluoride and Chlorpyrifos in Wistar Rats: Mitigating Effect of Ascorbic Acid. *Biol Trace Elem Res.* 166:157-62.

Ramirez D.C., Gomez-Mejiba S.E., Corbett J.T., Deterding L.J., Tomer K.B., Mason R.P. 2008. Cu/Zn-Superoxide Dismutase-driven Free Radical Modifications: Copper-and Carbonate Radical Anion-initiated Protein Radical Chemistry. *Biochemical Society.* 10: 1-25.

Ranjbar A., Ghahremani M.H., Sharifzadeh M., Golestani A., Ghazi-Khansari M., Baeri M., Abdollahi M. 2010. Protection by pentoxifylline of malathion-induced toxic stress and mitochondrial damage in rat brain.

Références bibliographiques

- Human and Experimental Toxicology 29:851–864.
- Rao J.V. 2006. Toxic effects of novel organophosphorus insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline Wsh, *Oreochromis mossambicus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 86:78–84.
- Rauh V.A., Garcia W.E., Whyatt R.M., Horton M.K., Barr D.B., Louis E.D. 2015. Prenatal exposure to the organophosphate pesticide chlorpyrifos and childhood tremor. *Neurotoxicology*. 51:80-6.
- Raza H., Robin M.A., Fang J.K., Avadhani N.G. 2002. Multiple isoforms of mitochondrial glutathione S-transferases and their differential induction under oxidative stress. *Biochem. J.* 366: 45-55.
- Reichel F-X. 2010. Guide pratique de toxicologie. 2e édition. De Boeck, Bruxelles. 202, 203, 148.
- Reis F.M, Santos M.A, Reis A.M, Coimbra C.C. 1996. Alterations in plasma prolactin and glucose levels induced by surgical stress in hyperprolactinemic female rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 29 (6): 811 – 815.
- Repetto M. Repetto J. Semprine A., 2012. Boveris Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. In: Catala, A. (Ed), *Lipid Peroxidation Intech: New Delhi 2012* 1–28
- Reza A., Moghadam L. 2015. Chemical composition and antioxidant activity *Cuminum cyminum* L. essential oils. *International Journal of Food Properties* 19: 438-442.
- Rezg R., Mornagui B., Kamoun A., El-Fazaa S., Gharbi N., 2007. Effect of subchronic exposure to malathion on metabolic parameters in the rat. *Comptes Rendus Biologies*. 330(2) :143-147.
- Richard F. 1992. Manuel des corps gras, Paris, Ed: Lavoisier, Tec& Doc. 1228-1242.
- Ritz P., Sallé A., Couet C. 2007. How can we explain weight stability following weight loss? *Revue Obésité*. 1: 72-78.
- Robineau P., Mercier T. 2012. Quelle évaluation pour les produits phytopharmaceutiques Which assessment for plant protection products *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*. 6 : 927–933.
- Roe R.R., Merathe M.R., Gangoli S.D. 1979. Effect of exposure of human volunteers to aerial spray of monocrotophos. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 3: 325-334.
- Ross J.H., Driver J.H., Lunchick C., Wible C., Selman F. 2006. Pesticide exposure monitoring databases in applied risk analysis. *Rev Environ Contam Toxicol*. 186: 107-32.
- Rouabhi R., Saci F.Z., Berrebbah H., Djebar M.R. 2009. Toxic Effects of Combined Molecule from Novaluron and Diflubenzuron on *Paramecium caudatum*. *Journal of Toxicological Sciences* 1:74-80.
- Rouabhi R., Bazouzi K.H. 2012. Combination between vitamin E and calcium into the neutralization of Novaluron in a cellular model of fresh water *Paramecium* sp. *RRBS*. 6:317-327.
- Rouabhi R., Gasmi S., Boussekine S., Kebieche M. 2015. Hepatic Oxidative Stress Induced by Zinc and Opposite Effect of Selenium in *Oryctolagus Cuniculus*. *J Environ Anal Toxicol*. doi:10.4172/2161-0525.1000289.
- Rowe A. M., Brundage K. M., Barnett J. B. 2007. In vitro atrazine-exposure inhibits human natural killer cell lytic granule release. *Toxicol Appl Pharmacol*. 221(2): 188- 179.
- Ruberto G., Baratta M.T. 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem*. 69: 167–174.
-

S

- Salmi A., Rouabhi R., Toualbia N., Taib C., Chenikher H., Gasmi S., Boussekine S. 2017. Subcellular study of the cadmium selenide nanoparticles (CdSe-NPs) toxicity on a terrestrial bioindicator model *Helix aspersa*. *Toxicology and Environmental Health Sciences*. 9 (2): 135–140.
- Salokhe S.G., Pinakin W., Deshpande S.G. 2011. Studies on the effect of the insect growth regulator lufenuron on embryogenesis of chick gallus domesticus (white leghorn strain). *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 1 (2) 82-88.
- Samanta L., Chainy G.B. 1997. Comparison of hexachlorocyclohexane-induced oxidative stress in the testis of immature and adult rats. *Comp. Biochem. Physiol. C : Pharmacol. Toxicol. Endocrinol*. 118 : 319-327.
- Samuel O., Michaud L. 2000. Utilisation de pesticides en milieu urbain : risques à la santé et alternatives, *Bulletin d'information toxicologique*. Institut national de la santé publique du Québec. 6(2): 5-11.
- Samuel O. 2001. Réflexion sur l'utilisation des pesticides en milieu urbain, Mémoire présenté au groupe de réflexion sur les pesticides en milieu urbain. Institut national de la santé publique du Québec. 22p.
- Sanghi R., Pillai M.K., Jayalekshmi T.R. and Nair A. 2003. Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in breast milk from Bhopal, Madhya Pradesh, India. *Hum. Exp. Toxicol*. 22:73–76.
- Saoudi M., Messarah M., Boumendjel A., Jamoussi K., El Feki A. 2011. Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltamethrin in male Wistar rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 74: 1765-1769.
- Sankar P., Telang A.G., Manimaran A. 2010. Curcumin protects against cypermethrin-induced genotoxicity in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 30(3): 289–291.
- Sargis RM. 2014. The hijacking of cellular signaling and the diabetes epidemic: mechanisms of environmental disruption of insulin action and glucose homeostasis. *Diabetes Metab*. 28:13–24.
- Saulsbury M.D., Heyliger S.O., Wang K., Johnson D.J. 2009. Chlorpyrifos induces oxidative stress in oligodendrocyte progenitor cells. *Toxicology*. 259: 1–9.
- Saunders M., Fox D., Salisbury C., Strokes V., Palmer A. and Preece, A., 2004. Placental transfer and foetal uptake of pesticides. *Toxicology and applied pharmacology*. 197(341).
- Saunders M. 2012. Chlorpyrifos and neurodevelopmental effects: a literature review and expert elicitation on research and policy. *Environ Health*. 11 (1) S5.
- Sbartai I, Berrebbah H, Rouabhi R, Sbartai H, Djebar M.R. 2012. Induction of oxidative stress in a freshwater ciliated microorganism *Paramecium* sp., after treatment with Indoxacarb. *BTAIJ*. 6:304-311.
- Schallreuter K.U., Elwary S.M.A., Gibbons N.C.J., Rokos H., Wood J.M. 2004. Activation/deactivation of acetylcholinesterase by H₂O₂: more evidence for oxidative stress in vitiligo. *Biochem Biophys Res Commun*. 315 :502–8.
- Schauenberg P. et Paris F., 2010. Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes, Ed. Delachaux et Niestlé. 396 p.
- Scheunert I. 1992. Transformation and degradation of pesticides in soil, Springer-Verlag, Berlin. 125p.

Références bibliographiques

Schrack D., Coquil x., Ortar A., Benoît M. 2009. Rémanence des pesticides dans les eaux issues de parcelles agricoles récemment converties à l'Agriculture Biologique. *Innovations Agronomiques*. 4 : 259-268.

Schriner S.E., Linford N.J., Martin G.M., Treuting P., Ogburn C.E., Emond M., Coskun P.E., Ladiges W., Wolf N., Remmen H.V., Wallace D.C., Rabinovitch P.S. 2005. Targeted to Mitochondria Extension of Murine Life Span by Overexpression of Catalase. *Science* 308:1909:1911.

Scimeca D. et Tétau M. 2005. *Votre santé par les huiles essentielles, Guide pratique pour prévenir et guérir tous les maux quotidiens*, Ed. Alpen. 12-13.

Seirverd C.E. 1972. *Hematology for medical technology*, 4th Ed. Lee and Febiger Philadelphia. 300-363.

Shalby Sh.E.M. 2006. Comparative haematological and hepatorenal toxicity of IGR, lufenuron and profenofos insecticide on albino rats. *J. Egypt. Soc. Toxicol.* 34: 85-98.

Shalaby Sh.E.M., Farrag A.R.H., El-Saed G.S.M., 2010. Toxicological potential of thiamethoxam insecticide on albino rats and its residues in some organs. *JASMR*. 5 (2): 165-172.

Sheweita S.A., El-Hosseiny L.S., Nashashibi M.A. 2016. Protective Effects of Essential Oils as Natural Antioxidants against Hepatotoxicity Induced by Cyclophosphamide in Mice. *PLoS ONE*. 11(11): e0165667.doi:10.1371/journal.pone.0165667.

Shi H., Hudson L.G., Liu K.J. 2004. Oxidative stress and apoptosis in metal ion induced carcinogenesis. *Free Radic Biol Med* 37:582–593.

Shibko S., Koivistoinen P., Tratnyneck C., New hall A., Freidman L. 1966. A method for the sequential quantitative separation and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction, *Analyt. Biochem.* 19: 415-428.

Sergent O., Griffon B., Cillard P., Cillard J. 2000. Alcool et stress oxydatif. *Pathol. Biol.* 49 : 689-695.

Siddharth M., Datta S.K, Bansal S., Mustafa M., Banerjee B.D., Kalra O.P., Tripathi A.K. 2012. Étude des concentrations de pesticides organochlorés chez les patients atteints de néphropathie chronique: association avec le taux de filtration glomérulaire estimé et le stress oxydatif. *J Biochem Mol Toxicol.* 26 (6): 241-247.

Sidhu I.P.S., Bhatti J.S., Bhatti G.K. 2014. Modulatory action of melatonin against chlorpyrifos induced hepatotoxicity in Wistar rats. *Asian Journal of Multidisciplinary Studies*. 2: 123-131.

Simons J.E., Yang R.S.E., Bernan E. 1995. Evaluation of the nephrotoxicity of complex mixtures containing organic metals: advantages and disadvantages of the use of red-world complex mixtures. *Environ. Health. Perspect.* 103: 67-71.

Sindi R.A., Harris W., Arnott G., Flaskos J., Lloyd Mills C., Hargreaves A.J., 2016. Chlorpyrifos- and chlorpyrifos oxon-induced neurite retraction in pre-differentiated N2a cells is associated with transient hyperphosphorylation of neurofilament heavy chain and ERK 1/2. *Toxicology and Applied Pharmacology* 308: 20–31.

Sisein E.A. 2014. Biochemistry of Free Radicals and Antioxidants. *Scholars Academic Journal of Biosciences (SAJB)*. Sch. Acad. J. Biosci. 2(2): 110-118.

Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M. 1996. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Origanum Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.* 44 (5): 1202-5.

Références bibliographiques

- Smith C.K., Moore C.A, Alahi E.N, Smart, A.T. et Hotchkiss, S.A. 2000. Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol.* In : étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémisynthèse Appl. Pharmacol. 168: 89-99.
- Song Y., Liang X., Hu Y., Wang Y., Yu H. Yang K. 2008. P,P-DDE induces mitochondria mediated apoptosis of cultured rat. Sertoli cells, *Toxicology*. 253: 53–61.
- Soudani N., Sefi M., BenAmara I., Boudawara T., Zeghal N. (2010). Protective effects of Selenium (Se) on Chromium (VI) induced nephrotoxicity in adult rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73: 671-678.
- Sparks T.C., 2013. Insecticide discovery: An evaluation and analysis. *Pesticide Biochemistry and Physiology*.107: 8–17.
- Spodniewska A., Barski D., Gizejewska A. 2015. Effect of enrofloxacin and chlorpyrifos on the levels of vitamins A and E in Wistar rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 40(2) :587-91.
- Staels B., Koenig W., Habib A., Merval R., Lebret M., Torra I.P., Delerive P., Fadel A., Chinetti G., Fruchart J.C., Najib J., Maclouf J., Tedgui A. 1998. Activation of human aortic smoothmuscle cells is inhibited by PPARalpha but not by PPARgamma activators. *Nature*. 393 :790-793.
- Stapleton A.R., Chan V.T. 2009. Subtoxic chlorpyrifos treatment resulted in differential expression of genes implicated in neurological functions and development. *Arch Toxicol*. 83: 319-33.
- Steevens J.A., Benson W.H., 1999. Toxicological interactions of chlorpyrifos and methyl mercury in the amphipod, *Hyalella azteca*. *Toxicol. Sci*. 52: 168–177.
- Stéphanie T. 2006. Les pesticides en milieu agricole : état de la situation environnementale et initiatives prometteuses. Direction des politiques en milieu terrestre, Service des pesticides, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs. 90 p.
- Stocker R., Keaney J.F. 2004. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev*. 84: 1381-1478.
- Suemizu H., Sota S., Kuronuma M., Shimizu M., Yamazaki H. 2014. Pharmacokinetics and effects on serum cholinesterase activities of organophosphorus pesticides acephate and chlorpyrifos in chimeric mice transplanted with human hepatocytes. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 70: 468–473.
- Suntio L.R., Shiu W.Y., Mackay D., Seiber J.N. and Glotfelty. 1988. Critical review of Henry's Law constants for pesticides. *Rev. Environ. Contam. Toxicol*. 103: 1.
- Surveswaran S., Cai Y.Z., Corke H. Sun M. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*. 102: 938–953.
- Surwit R.S, Schneider M.S, Feinglos M.N. 1992. Stress and diabetes mellitus. *Diabetes Care*.15 (10): 1413-1422.
- Sylvestre M., Legault J., Dufour D., Pichette A. 2005. Chemical composition and anticancer activity of leaf essential oil of *Myrica gale* L. *Phytomedicine*. 12:299– 304.

T

Taib C., Rouabhi R., Gasmi S., Bakhouch L., Zarai G., Toualbia N., Salmi A., Henine S., Chenikher H., Boussekine S., Kebieche M., Aouimeur M., Djabri B. 2016. Toxicity of Fe₃O₄ nanoparticles on oxidative

Références bibliographiques

stress status, stromal enzymes and mitochondrial respiration and swelling of *Oryctolagus cuniculus* brain cortex. *Toxicology and Environmental Health Sciences*. 8 (5): 349–355.

Takahashi K., Avissar N., Whitin J., Cohen H. 1987. Purification and characterization of human plasma glutathione peroxidase: a selenoglycoprotein distinct from the known cellular enzyme. *Arch Biochem Biophys*. 256: 677–686.

Talpur N., Echard B., Ingram C., Bagchi D., Preuss H. 2005. Effects of a novel formulation of essential oils on glucose– insulin metabolism in diabetic and hypertensive rats: a pilot study. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 7:193–199.

Tessier F., Marconnet P. 2015. Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & Sports*. 10(16): 1-13.

Thabet H., Brahmi N., Kouraïchi N., Elghord H., Amamou M. 2009. Intoxications par les pesticides organophosphorés : nouveaux concepts. *Réanimation*. 18(7) : 633 -9.

Theus S. A., Lau K. A., Tabor D. R., Soderberg L. S. and Barnett J. B. 1992. In vivo prenatal chlordane exposure induces development of endogenous inflammatory macrophages. *J. Leukoc Biol*. 51(4): 366-372.

Tanvir E.M., Afroz R., Chowdhury M.A.Z., Khalil M.d.I., Hossain M.d.S., Rahman M.d.A., Rashid M.d.H., Gan S.H. 2015. Honey has a protective effect against chlorpyrifos-induced toxicity on lipid peroxidation, diagnostic markers and hepatic histoarchitecture, *European Journal of Integrative Medicine*. 7: 525-533.

Tomlin C.D.S. 2006. *The Pesticide Manual*. 13th edition. British Crop Protection Council, Surrey, UK. 697-698.

Toualbia N., Rouabhi R., Salmi A. 2017. Evaluation of cytochrome c level and mitochondrial dysfunction biomarkers of *Oryctolagus cuniculus* liver exposed to Chlorpyrifos. *Toxicology and Environmental Health Sciences*. 9 (5): 325–331.

Timchalk C., Busby A., Campbell J.A., Needham L.L., and Barr D.B. 2007. Comparative pharmacokinetics of the organophosphorus insecticide chlorpyrifos and its major metabolites diethylphosphate, diethylthiophosphate and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in the rat. *Toxicology*. 237:145–157.

Timchalk C., Poet T.S., Kousba A.A. 2006. Age-dependent pharmacokinetic and pharmacodynamic response in preweanling rats following oral exposure to the organophosphorus insecticide chlorpyrifos. *Toxicology*. 220:13–25.

Tisserand R., Young R. 2013. *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals*. Sconde édition. Ed. Elsevier Health Sciences. 784 p.

Tivari A., Srivastava V.K. 2001. Acetaminophen poisoning induced enzymological and biochemical changes in liver and kidney of male mice *Mus musculus*. *Biochem.Cell. Arch*. 1: 71-76.

Topal U., Sasaki M., Goto M., Otlés S. 2008. Chemical compositions and antioxidant properties of essential oils from nine species of Turkish plants obtained by supercritical carbon dioxide extraction and steam distillation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 59(7-8): 619-634.

Tsan M.F., White J.E., Treanor C., Shaffer J.B. 1990. Molecular basis for tum or necrosis factor induced increase in pulmonary superoxide dismutase activities. *Am J Physiol*. 259: 506- 512.

Tsumbu C.N., Deby-Dupont G., Tits M., Angenot L., Frederich M., Kohnen S., Mouithys-Mickalad A., Serteyn D., Franck T. 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.

Références bibliographiques

Tunaz H., Uygun N. 2004. Insect growth regulators for insect pest control. *Turk J Agric For.* 28: 377–387.

Turcant A., Dehon B., Ganiere-Monteil C., Dulaurent S., Delaroche O., Lamiabew D., Moulisma M., Olichon D., Capolaghi B., Charlier C., 2005. Lettre à la rédaction Diagnostic de l'intoxication aiguë par les insecticides organophosphorés basé sur la détermination de l'activité cholinestérasique. *Annales de Toxicologie Analytique*, vol. XVTL, n° 3.

Tuzmen N., Candan N., Kaya E., Demiryas N., 2008. Biochemical effects of chlorpyrifos and deltamethrin on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. *cell biochemistry and function.* 26(1):119-24.

U

Udut E.V., Zhdanov V.V., Gur'iantseva L.A., Minakova M.I., Dygai A.M. 2005. Mechanisms of the erythropoiesis stimulating effect of skullcap (*Scutellaria baicalensis*) extract. *Eksperimental'naia i Klinicheskaia Farmakologïia.* 68: 43–45.

Uttara B., Singh A.V., Zamboni P., Mahajan R.T. 2009. Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. *Current Neuropharmacology* 7: 65-74.

Uzun F.G. Kalender Y. 2013. Chlorpyrifos induced hepatotoxic and hematologic changes in rats: The role of quercetin and catechin. *Food and Chemical Toxicology.* 55: 549–556.

Uzunhisarcikli M., Kalender Y. 2011. Protective effects of vitamins C and E against hepatotoxicity induced by methyl parathion in rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 74: 2112-2118.

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.

Van Balen E. 2006. Exposure to non-arsenic pesticides is associated with lymphoma among farmers in Spain. *Occup. Environ. Med.* 63 (10): 663-668.

Van Der Werf H. 1996. Assessing the impact on the environment. *Agriculture, Ecosystems and Environment.* 60: 81-96.

Van Helden Y.G., Keijer J., Knaapen A., Heil S.G., Briedé J.J., Van Schooten F.J., Godschalk R. 2009. Carotene metabolites enhance inflammation-induced oxidative DNA damage in lung epithelial cells. *Free Radic Biol Med.* 46(2):299-304.

Van Leeuwen J. A., Waltner-Toews D., Abernathy T., Smit B., and Shoukri M. 1999. Associations between stomach cancer incidence and drinking water contamination with atrazine and nitrate in Ontario (Canada) agroecosystems, 1987-1991. *Int J Epidemiol.* 28(5): 836-840.

Vauzour D. 2014. Polyphénols et neuroprotection : où en sommes-nous aujourd'hui. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* 49(4), 181-187.

Ventura C., Nieto MR., Bourguignon N., Lux-Lantos V., Rodriguez H., Cao G, Randi A., Cocca C., Núñez M. 2015. Pesticide chlorpyrifos acts as an endocrine disruptor in adult rats causing changes in mammary gland and hormonal balance. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology.* 156 :1-9.

Vergheese J. 1991. Cumin, synthite industrial chemicals Ltd, Kerala, India, Perfumer et flavorist. 16 : 61-63.

Références bibliographiques

- Verma R.S., Mehta A., Srivastava N. 2007. In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins. *Pesticid Biochemistry and Physiology*. 88:191-196.
- Veskoukis A.S., Tsatsakis A.M., Kouretas D. 2012. Dietary oxidative stress and antioxidant defense with an emphasis on plant extract administration. *Cell Stress and Chaperones*. 17 :11–21.
- Vican P. 2001. *Encyclopédie des plantes médicinales*. Larousse (Ed). Paris, 355p.
- Victor, R. 2013. *Diabetes : Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*. ELSEVIER SCIENCE INC, London. 263p.
- Videira R.A., Antunes-Madeira M.C., Madeira V.M. 2001. Ethylazinphos interaction with membrane lipid organization induces increase of proton permeability and impairment of mitochondrial bioenergetic functions. *Toxicol Appl Pharmacol*. 175(3):209-16.
- Viel J. F., et Richardson S. T. 1993. Lymphoma, multiple myeloma and leukaemia among French farmers in relation to pesticide exposure. *Soc Sci Med*. 37(6): 771-777.
- Viel J. F., Challier B. 1995. Bladder cancer among French farmers: does exposure to pesticides in vineyards play a part? *Occup Environ Med*. 52(9): 587-592.
- Vos J. G., Dybing E., Greim H. A., Ladefoged O., Lambré C., Tarazona J. V., Brandt I. and Vethaak A. D. 2000. Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation. *Critical Reviews in Toxicology*. 30(1): 1-133.

W

- Wang HP., Liang YJ., Sun YJ., Hou WY., Chen JX., Long DX., Xu MY., Wu YJ. 2013. Subchronic neurotoxicity of chlorpyrifos, carbaryl, and their combination in rats. *Environmental Toxicology*. 29(10):1193-200.
- Wang T., Zhao L., Liu M., Xie F., Ma X., Zhao P., Liu Y., Li J., Wang M., Yang Z., Zhang Y. 2014. Oral intake of hydrogen-rich water ameliorated chlorpyrifos-induced neurotoxicity in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 280(1):169-76.
- Wassmann S., Wassmann K., Nickening G. 2004. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*. 44:381-6.
- Weckberker G., Cory G. 1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia 1210 cells in vitro. *Cancer letters*. 40: 257-264.
- Wendt-Rasch L., Van den Brink P.J., Crum S. J. H. and Woin P. 2004. The effects of a pesticide mixture on aquatic ecosystems differing in trophic status: responses of the macrophyte *Myriophyllum spicatum* and the periphytic algal community. *Ecotox Environ, Safe*. 57: 383–398.
- Weselak M., Arbuckle T. E., Wigle D. T., and Krewski D. 2007. In utero pesticide exposure and childhood morbidity. *Environmental Research*. 103(1): 79-86.
- Whalen M. M., Bommanna G., Loganathan, Yamashita N. and Saito T. 2003. Immunomodulation of human natural killer cell cytotoxic function by triazine and carbamate pesticides. *Chemico-Biological Interactions*. 45(3): 311-319
- White C.W., Ghezzi P., McMahon S., Dinarello C.A., Re pine J.E. 1989. Cytokines increase rat lung antioxidant enzymes during exposure to hyperoxia *J Appl Physiol*. 66:1003-7.

Références bibliographiques

Whyatt R.M., Camann D., Perera F.P., Rauh, V.A., Tang, D., Kinney, P.L., Garfinkel, R., Andrews, H., Hoepner, L., and Barr, D.B. 2005. Biomarkers in assessing residential insecticide exposures during pregnancy and effects on fetal growth. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 206:246–254.

Whyatt, R.M., Garfinkel, R., Hoepner, L.A., Holmes, D., Borjas, M., Williams M.K., Reyes, A., Rauh V., Perera F.P., Camann, D.E., 2007. Within- and between-home variability in indoor-air insecticide levels during pregnancy among an inner-city cohort from New York city. *Environ. Health Perspect.* 115 (3): 383–389.

Wieckowski M.R., Giorgi C., Lebedzinska M., Duszynski J., Pinton P. 2009. Isolation of mitochondria-associated membranes and mitochondria from animal tissues and cells. *Nature protocols* 4: 1582-90.

Wigle D. T., Arbuckle T. E., Turner M. C., Brub A., Yang O., Liu S. and Krewski D. 2008. Epidemiologic Evidence of Relationships Between Reproductive and Child Health Outcomes and Environmental Chemical Contaminants. *Journal of Toxicology and Environmental Health, May, Part B.* 11(5-6): 373-517.

Wilson T.G., Cain J.W. 1997. Resistance to the insecticides lufenuron and propoxur in natural populations of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Economic Entomology.* 90(5):1131-6.

Wolff, M. S., Berkowitz, G. S., Brower, S., Senie, R., Bleiweiss, I. J., Tartter, P., Pace, B., Roy, N., Wallenstein, S., and Weston, A., 2000. Organochlorine exposures and breast cancer risk in New York City women. *Environ Res.* 84(2); 151-161.

Woods M, Kumar A, Correll R. 2002. Acute toxicity of mixtures of chlorpyrifos, profenofos, and endosulfan to *Ceriodaphnia dubia*. *Bull Environ Toxicol.* 68: 801-8.

Worek F., Koller M., Thiermann H., Szincz L. 2005. Diagnostic aspects of organophosphate poisoning. *Toxicology.* 214: 182-9.

Υ

Yeragi, S.G., Koli, A. and Yeragi, S. 2000. Effect of pesticide malathion on protein metabolism of the marine crab, *Uca carolinensis*. *J. Ecotoxicol. Environ Monit.*, 10: 59-62.

Yu F., Wang Z, Ju B, Wang Y., Wang J., Bai D., 2008. Apoptotic effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos on mouse retina in vivo via oxidative stress and protection of combination of vitamins C and E. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 59: 415–423.

Yu S.J. 2015. *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides.* 2nd Edition. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. 380p.

Yurumez Y., Cemek M., Yavuz Y., Birdane Y.O., Buyukokuroglu M.E. 2007. Beneficial effect of N-acetylcysteine against organophosphate toxicity in mice. *Biol Pharm Bull.* 30(3):490-4.

Z

Zaahkouk S.A.M., Helal E.G.E., Abd-Rabo T.E.I, Rashed S.Z.A. 2000. Carbamate Toxicity and Protective effect of vitamin A and Vitamin E on some biochemical aspects of male albino rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine.* 1: 60-77.

Zaidi S.M.K.R., Banu N. 2004. Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta.* 340: 229-233.

Zama D., Meraihi Z., Boubekri N., Amrani A., Tebibel S., Baali N. 2005. Assessment of the changes in some diagnostic enzymes and other parameters in wistar albino rats treated with pesticides during gestation. *Sciences & Technologie.* 23 : 51-56

Références bibliographiques

Zaouni M. 2010. Contribution à l'évaluation de la toxicité aiguë et subchronique d'un produit phytosanitaire (Proclaim) chez le rat wistar. Thèse de doctorat de l'Université de Annaba. 97, p.47-48

Zhang J, Shen H, Wang X, Wu J, Xue Y. 2004. Effects of chronic exposure of 2,4 dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*. *Chemosphere*. 55(2): 167–174.

Zhang N., Liu J., Chen S., Huang L., LiFeng Q., Zheng S.C. 2015. Expression Profiles of glutathione S-transferasesuperfamily in *Spodopteralituratolerated* to sublethal doses of chlorpyrifos. doi: 10.1111/1744-7917.12202.

Zhao Y., Zhang Y., Wang G., Han R., Xie X. 2016. Effects of chlorpyrifos on the gut microbiome and urine metabolome in mouse (*Mus musculus*). *Chemosphere*. 153: 287- 293.

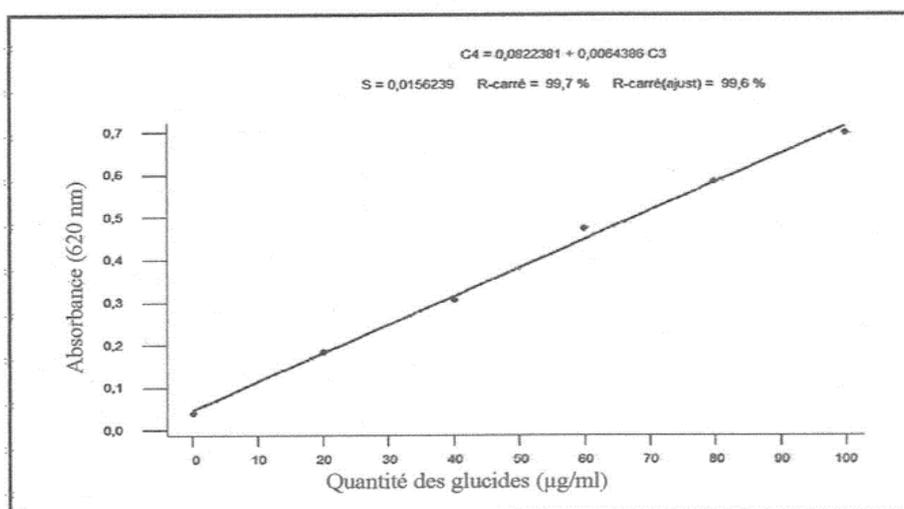
Zelko I.N., Marian T.J., Folz R.J. 2002. Superoxide dismutase multigenefamily : a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free radical biology&medicine*. 33: 337-349.

Annexes

Annexe 1 : Courbes d'étalonnages pour le dosage des métabolites

1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des glucides

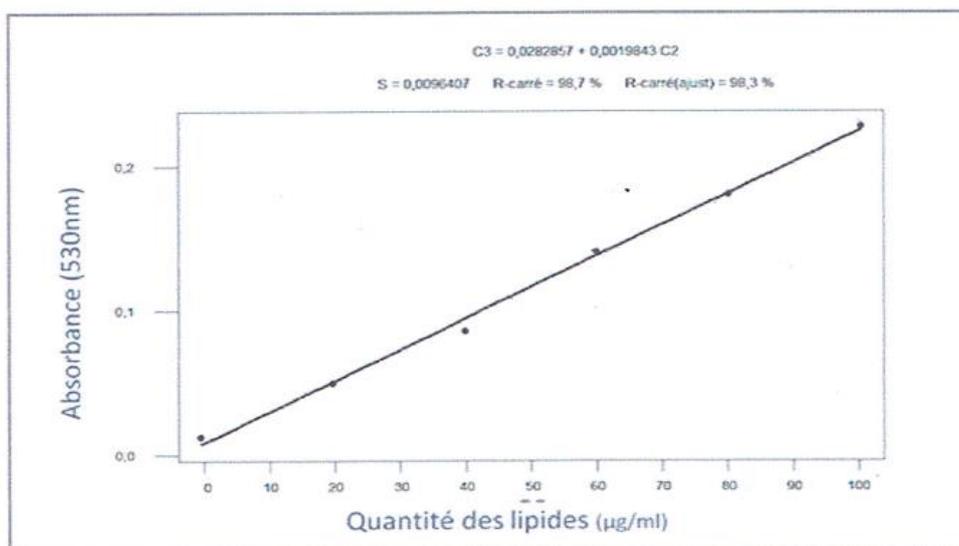
Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère (glucose) (μl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillé (μl)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4



Tableau/Figure (A) : Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des glucides.

2. Courbe d'étalonnage pour le dosage des lipides

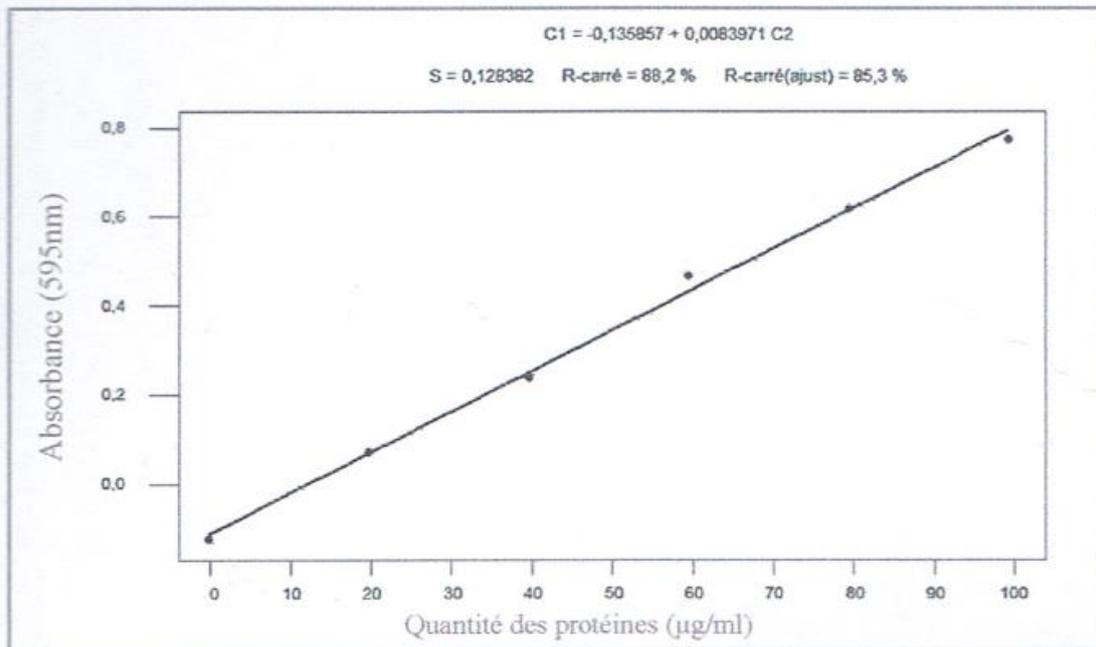
Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipide (μl)	0	20	40	60	80	100
Solvant éther/chloroforme (μl)	100	80	60	40	20	0
Réactif SPV (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5



Tableau/Figure (B) : Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des lipides.

3. Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines

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



Tableau/Figure (C) : Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.

Annexe 2 : Production scientifique

Communications internationales

CHENIKHAR Hadjer, DJABRI B., ROUABHI R., SALMI A., TOUALBIA N., TAIB C. Gasmi S. Etude de la toxicité subchronique d'un insecticide organophosphoré sur les rats Wistar. International Conference on Toxicology and Health (ICTH). 28-29 novembre 2016. Guelma.

CHENIKHAR H., DJABRI B., ROUABHI R., SALMI A., TOUALBIA N., TAIB C. 2017. Hépatotoxicité induite par le chlorpyrifos "insecticide organophosphoré" chez les rats Wistar. Sympoium Maghrébin sur la Protection Intégrée des Plantes. 30-01 novembre Sousse-Tunisie.

CHENIKHAR H., DJABRI B., ROUABHI R., SALMI A., TOUALBIA N., TAIB C. Evaluation du stress oxydatif induit par l'exposition subchronique au lufenuron chez les rats Wistar. VI^{ème} Congrès International de Biotechnologie et Valorisation des Bio-Ressources (AT-BVBR). 20-23 Mars 2018. Tabarka-Tunisie.

CHENIKHAR Hadjer, DJABRI B., ROUABHI R., SALMI A., TOUALBIA N., TAIB C. Evaluation du dysfonctionnement hépatique et rénal après l'administration d'un insecticide chez les rats "Wistar". Colloque International Eau- Environnement- Climat'2018 (E2C-2018). Hammamet, 22-23-24 Octobre 2018. Tunisie.

Communications nationales

CHENIKHAR Hadjer, DJABRI B., ROUABHI R., SALMI A., TOUALBIA N., TAIB C. Gasmi S. 2016. Etude de la toxicité de chlotpyrifos et l'effet protecteur des huiles essentielles de plantes médicinales. Séminaire National de Biologie, Santé et Stress Oxydant. Tebessa.

Publications internationales

Chenikhar H., Djabri B., Salmi A., Taib C., and Rouabhi R. 2018. Hepatotoxicity induced by chlorpyrifos in 'Wistar' rats. Tunisian Journal of Plant Protection. 13 (si): 23-30.

Article

*Hepatotoxicity Induced by Chlorpyrifos in 'Wistar'
Rats*

Hepatotoxicity Induced by Chlorpyrifos in 'Wistar' Rats

Hadjer Chenikhar, Belgacem Djabri, Aya Salmi, Chahinez Taib, and Rachid Rouabhi, Laboratoire des Molécules Bioactives et d'Application, Université de Tébessa, 12000 Tébessa, Algeria

ABSTRACT

Chenikhar, H., Djabri, B., Salmi, A., Taib, C., and Rouabhi, R. 2018. Hepatotoxicity induced by chlorpyrifos in 'Wistar' rats. *Tunisian Journal of Plant Protection* 13 (si): 23-30.

Chlorpyrifos-ethyl is one of the most widely used organophosphorus insecticides for industrial, agricultural and public health purposes. The present work aimed to evaluate the chlorpyrifos-ethyl induced hepatic toxicity on some parameters of oxidative stress in 'Wistar' rats. After daily gavage for 60 days, this insecticide induced cellular damage in exposed rats through the increase in alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) activities. In addition, liver parameters showed an increase in hepatic lipid peroxidation as indicated by the malondialdehyde (MDA) contents, as well as a decrease in the catalase (CAT) activity. A reduction in glutathione (GSH) and glutathione-S-transferase (GST) and an increase in glutathione peroxidase (GPx) activities were also noted. These alterations indicated that chlorpyrifos affected the antioxidant system in hepatic tissue, induced hepatic damage and consequently triggered the oxidative stress.

Keywords: Antioxidant system, chlorpyrifos-ethyl, hepatic toxicity, lipid peroxidation, oxidative stress

The widespread use of pesticides in public health and agricultural programs has caused severe environmental pollution and potential health hazards, including acute and chronic cases of human poisoning. Organophosphate insecticides (OPI) constitute one of the most widely used classes of pesticides being employed for both agricultural and landscape pest control (El-Bini Dhouib et al. 2015; Kamath and Rajini 2007). Moreover, residual amounts of pesticides have been detected in the soil, water bodies, vegetables, grains, and other food products (Poet et al. 2004).

Corresponding author: Hadjer Chenikhar
Email: chenikharhadjour@live.fr

Accepted for publication 23 January 2018

Chlorpyrifos (CPF) is one of the most widely used for domestic, agricultural, and industrial purposes and for public health applications OPI (Akande 2016; Richardson and Chambers 2005). It is able to cause oxidative stress and histopathologic changes in humans and animals, and it can cause embryotoxicity, teratogenicity, immunological abnormalities, neurobehavioral changes, developmental and reproductive toxicity, neurotoxicity (Breslin et al. 1996; Ki et al. 2013), hematologic changes (Uzun and Kalender 2013), and testicular toxicity (Joshi et al. 2007). These findings on the various toxicities caused by CPF are of great concern to the general public.

The principle mode of action of CPF is the phosphorylation and subsequent irreversible inhibition of

acetylcholinesterase (Eaton 2008; Wang et al. 2013). This enzyme hydrolyses acetylcholine at cholinergic synapses and neuro-muscular junctions and the persistent inhibition of its activity causes neurotoxic effects (Luis et al. 2015) disrupting cholinergic function in the nervous system (Lassiter and Brimijoin 2008). CPF has also been shown to elicit oxidative stress in biological systems (Ahmed et al. 2010; Alvarez et al. 2008; Vermaet al. 2007).

Oxidative stress caused by reactive oxygen species (ROS) has been reported in membrane lipid peroxidation, DNA damage, mutagenesis and has been associated with the various stages of tumor formation process (Sidhuet al. 2014). Oxidative stress can occur when there is an imbalance between ROS production and antioxidant defenses (Preedy 2013). Acute and chronic exposure to CPF has resulted in considerable liver damage, as evidenced by changes in several liver enzymes (Goel et al. 2000). Liver is the first organ exposed to ingested toxins including pesticides, metals, etc., for biotransformation. Therefore, toxic responses have been reported to occur more in the liver as compared to other organs (Raina et al. 2015) and it is the organ where activation and detoxification of CPF take place. It is demonstrated that OP pesticides like CPF causes hepatotoxicity by changing the profile of liver marker enzymes such as alanine aminotransferase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), lactate déshydrogénase (LDH) and histopathological changes (Mansour and Mossa 2009). Therefore, in toxicological studies histopathological lesions have been widely used as biomarkers (Neibi et al. 2008). For this reason, the aim of this work was to study the alterations in hepatic functions and oxidative damage in

hepatocytes following repeated oral exposure to CPF during 60 days in 'Wistar' rats.

MATERIALS AND METHODS

Pesticide.

DURSBAN 4® (Dow agrosiences) containing 480 g chlorpyrifos per liter was used in the present study.

Animals.

Adult female rats of 'Wistar' strain, weighing 190-210 g were purchased from the Pasteur Institute of Algiers, Algeria. They were kept in metal cages at 23±2°C, 40-60% relative humidity, and light/dark cycle of 12 h. These spleens received water and standard diet and were subjected to the force-feeding every day, during a period of 60 days.

Experimental protocol.

The body weight of all the animals was checked every day. The rats were randomly divided into two groups composed each of five rats. The protocol of rat treatment is given below:

- Group I (control): Animals were administered corn oil only.
- Group II (CPF-treated): Animals were administered CPF dissolved in corn oil (1/25 LD₅₀) (Tanvir et al. 2015).

After 60 days of treatment, the blood and liver tissue were collected for biochemical examinations as indicated below.

Biochemical marker enzymes in plasma.

After 60 days, rats were fasted overnight. Then, they were weighed and sacrificed. The blood samples were collected from each rat and a 2 ml-sample was injected in a glass tube without EDTA and left for 20 min to coagulate at

room temperature, and then centrifuged at 3000 rpm for 10 min to obtain serum samples used for biochemical assays.

Measurement of malondialdehyde level.

MDA can be detected by a colorimetric reaction with thiobarbituric acid (TBA). It was detected after degradation of polyunsaturated fatty acids 3 or 4 Double peroxidized bonds. This is a highly sensitive method for determining lipid peroxidation in vitro. The assay of MDA was carried out according to the method of Esterbauer et al. (1992). Optical density has been measured at $\lambda = 532$ nm.

Antioxidant enzymes assay.

Glutathione (GSH) level was determined according to the method of Ellman et al. (1959). This assay is based on the measurement of 2-nitro-5-mercapturic absorbance at $\lambda = 532$ nm. The latter resulted from the reduction of the acid 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (reagent Elleman) by groups (-SH) of glutathione. Once prepared, it must undergo homogenate deproteinization (by 0.25% sulfosalicylic acid) to protect the SH-groups of glutathione.

The enzymatic activity of GPx was determined according to Flohe and Gunzler (1984) method using H_2O_2 as substrate. The spectrophotometric assay of catalase (CAT) activity was performed according to Aebi (1984). The decrease of absorbance was noted for 3 min by a spectrophotometer at a wavelength of 240 nm and an extinction coefficient $\epsilon = 0.036$ $mM^{-1}cm^{-1}$.

The activity of glutathione S-transferase (GST) was determined according to the method of Habig et al. (1974). It is based on the conjugation reaction between GST and a substrate, the 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) as a

cofactor of GST, the conjugation results in the formation of a new molecule: 1-S-glutathionyl 2,4-Di nitrobenzene to measure the activity of GST.

Statistical analysis.

Data were expressed as mean \pm SD of five rats in the group. Significant differences between the control and the treated groups were determined by the Student's *t*-test. Statistical calculations were carried out using Minitab 17.1 statistical package and the Excel 16.0 (Microsoft, Inc.). The level of statistical significance was set at $P < 0.05$.

RESULTS

Effect on liver function biomarkers.

There was a significant increase ($P \leq 0.001$) in ALT activity levels in chlorpyrifos (CPF treated rats (58.66 ± 2.08 IU/L) compared to control animals (38.00 ± 4.00 IU/L). Similarly, the value of AST was significantly ($P \leq 0.001$) increased in CPF group (62.00 ± 2.64 IU/L) compared to control (32.33 ± 2.51 IU/L) (Table 1).

Effects of CPF on lipid peroxidation.

Treatment with CPF induced significant ($P \leq 0.01$) increases in MDA levels in the treated group (0.632 ± 0.140 nmol/mg prot) as compared to control group (0.557 ± 0.071 nmol/mg prot) (Table 2).

Effects of CPF intoxication on antioxidant defense system in the liver tissue.

The administration of CPF caused significant ($P \leq 0.05$) decreases in CAT (0.099 ± 0.015 $\mu mol/min/mg$ prot), GSH ($1.158 \times 10^5 \pm 1.093 \times 10^7$ $\mu mol/min/mg$ prot) and GST ($0.003 \pm 0.048 \times 10^2$ $\mu mol/min/mg$ prot) activities in liver compared to the control group (0.190 ± 0.005 $\mu mol/min/mg$ prot; 2.469×10^5

$\pm 2.376 \times 10^6$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot; 0.006 ± 0.001 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot, respectively). A significant ($P \leq 0.05$) increase in GPx activity was also noted following oral

administration of CPF to rats (0.574 ± 0.056 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot) relative to the control ones (0.422 ± 0.076 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot) (Table 2).

Table 1. Effect of treatment with chlorpyrifos (CPF) on hepatic injury markers in the plasma of 'Wistar' rats

Treatment	Liver function biomarker	
	ALT (IU/L)	AST (IU/L)
Control	38.00 \pm 4.00	32.33 \pm 2.51
Chlorpyrifos (CPF)	58.66 \pm 2.08***	62.00 \pm 2.64***

Values given are means \pm SD of the results obtained from 5 rats. Means with at least one common superscript do not differ significantly at $P \leq 0.05$. ALT: Alanine aminotransferase, AST: Aspartate aminotransferase
*** Very highly significant at $P \leq 0.001$

Table 2. Effect of chlorpyrifos (CPF) on lipidperoxidation, reduced glutathione and activities of enzymatic antioxidants in the liver of experimental animals.

Treatment	Control	Chlorpyrifos (CPF)
MDA	0.557 \pm 0.071	0.632 \pm 0.140**
GSGST	0.006 \pm 0.001	0.003 \pm 0.048 $\times 10^3$ *
GSH	2.469 $\times 10^5 \pm 2.376 \times 10^6$	1.158 $\times 10^5 \pm 1.093 \times 10^7$ *
CAT	0.190 \pm 0.005	0.099 \pm 0.015***
GPx	0.422 \pm 0.076	0.574 \pm 0.056

MDA (nmol/mg prot), GST ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot), GSH ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot), CAT ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot), GPx ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot). Values given are mean \pm SD of the results obtained from 5 rats. Means with at least one common superscript do not differ significantly at $P \leq 0.05$.
* Significant at $P \leq 0.05$; ** Highly significant at $P \leq 0.01$; *** Very highly significant at $P \leq 0.001$.

DISCUSSION

In the present study, we demonstrated that CPF administrated to rats provoked a marked elevation in serum AST and ALT activities. These findings are in accordance with various

previous studies (Ambaliet al. 2011; Geolet al. 2005; Heikal 2013; Mansour and Mossa 2011; Ncibi et al. 2008). These increases could potentially be attributed to the release of these enzymes from the cytoplasm into the blood

circulation indicating a necrosis and inflammatory reactions (Acker et al. 2012; Tanvir et al. 2015), and reflect the alteration of the membrane permeability of the hepatocytes (Raina et al. 2015).

Various studies indicate the production of reactive oxygen species (ROS) as secondary means of toxicity (Sidhu et al. 2014). We showed that rats exposure for 60 days to CPF caused an increase in malondialdehyde (MDA) level, which is the major end products of lipid peroxidation, in liver of rats. This effect may be ascribed to an excessive production of ROS by a pesticide-induced oxidative cell (Akande et al. 2014). This result is in agreement with those of other studies showing an increase in lipid peroxidation after treatment with CPF (Gultekin et al. 2000; Kalender et al. 2012; Ojha et al. 2011; Saulsbury et al. 2009; Uzun and Kalender 2013). We have demonstrated that CPF-induced injury is caused by the induction of oxidative stress which was suggested to be an additional factor inducing apoptosis. Tuzmen et al. (2008) demonstrated previously that rats developed lipid peroxidation and liver damage subsequent to CPF exposure.

In the present study, the liver rats treated with CPF showed significant decreases in GSH and GST levels and in CAT activity but there was an increase in the GPx activity. The perturbation of these enzymes may be due to oxidative stress of pesticide intoxication. This is in accordance with previous works (Aggarwal et al. 2014; Ajay et al. 2005;

Mansour and Mossa 2011; Raina et al. 2015). Therefore, Adedara et al. (2015) revealed a decrease of catalase and GST activities in treated *Drosophila melanogaster* following CPF treatments. Other researchers also recorded an elevation in CAT activity (Ozkan et al. 2012; Tuzmen et al. 2008; Uzun and Kalender 2013) and in GST level (Cacciatore et al. 2015). However, Aly et al. (2010) recorded an increase in GSH level and GPX activity was unchanged. Thus, CPF increased rate of hepatic lipid peroxidation (MDA), with the depletion in the defense system, suggesting that this alteration induced by CPF involved an oxidative stress.

GSH plays a key role in the detoxification of free radicals. It directly interacts with high affinity with thiol groups (-SH) of GSH. The GPx is a key antioxidant enzyme, which regulates the level of ROS (GPx is capable not only to reduce the hydrogen peroxide in water, but also the resulting hydroperoxides of oxidation of unsaturated fatty acids). Concerning the glutathione S-transferase (GST), this enzyme plays an important role in detoxification of xenobiotics. Catalase (CAT) is the second step in the enzymatic defense system (Preedy 2013).

To conclude, the results from the current study indicate that oral exposure of CPF produces hepatic damage. Furthermore, the oxidative stress and the altered antioxidant system in liver are due to imbalance between oxidant and antioxidant levels in hepatic tissues.

RESUME

Chenikhar H., Djabri B., Salmi A., Taib C. et Rouabhi R. 2018. Hépatotoxicité induite par le chlorpyrifos chez les rats 'Wistar'. *Tunisian Journal of Plant Protection* 13 (si): 23-30.

Le chlorpyrifos-éthyl est l'un des insecticides organophosphorés les plus largement utilisés à des fins industrielles, agricoles et des applications de la santé publique. Le présent travail consiste à évaluer la toxicité hépatique induite par le chlorpyrifos-éthyl sur quelques paramètres du stress oxydatif. Après

un gavage quotidien pendant 60 jours, cet insecticide a provoqué des dommages cellulaires chez les rats exposés par l'élévation des activités de l'alanine aminotransférase (ALT) et l'aspartate aminotransférase (AST). En outre, les paramètres hépatiques ont montré une augmentation de la peroxydation lipidique hépatique qui a été évaluée par les teneurs en malondialdéhyde (MDA), ainsi qu'une diminution de l'activité de la catalase (CAT). Une réduction de la glutathion (GSH) et de la glutathion-S-transférase (GST) et une augmentation des activités de glutathion peroxydase (GPx) ont également été notées. Ces altérations ont indiqué que le chlorpyrifos a affecté le système antioxydant dans le tissu hépatique, a induit des lésions hépatiques et a déclenché, par conséquent, le stress oxydatif.

Mots clés: Chlorpyrifos-éthyl, peroxydation lipidique, stress oxydatif, système antioxydant, toxicité hépatique

ملخص

شنيخ، هاجر وجابري بلقاسم وسالمي أية وتايب شهيناز وروابي رشيد. التسمم الكبدي الناجم عن كلوربيريفوس (chlorpyrifos) عند الفئران 'ويستار'. *Tunisian Journal of Plant Protection* 13 (si): 23-30.

كلوربيريفوس-إيثول (Chlorpyrifos-éthyl) هو أكثر المبيدات الفوسفورية استعمالاً للأغراض الصناعية والزراعية والصحة العامة. يهدف هذا العمل إلى تقييم التسمم الكبدي الناجم عن استعمال كلوربيريفوس-إيثول على بعض معاملات الإجهاد التأكسدي. بعد تزقيم الفئران يوماً لمدة 60 يوم أدى هذا المبيد الحشري إلى تلف الخلايا بارتفاع أنزيمات أمينوترانسفيراز (ALT) و Aspartate aminotransferase (AST). كذلك المعاملات الكبدية بينت زيادة مستوى الأكسدة الدهنية الكبدية وذلك من خلال تقييم تركيز Malondialdehyde (MDA)، إضافة إلى انخفاض في نشاط أنزيم كاتالاز (CAT). سجل أيضاً انخفاض في Glutathion (GSH) و Glutathion-S-transferase (GST)، مع ارتفاع في مستوى Glutathion peroxydase (GPx). أكدت هذه الاضطرابات أن كلوربيريفوس يؤثر على التنظيم المضاد للأكسدة في الكبد مؤدياً إلى جروح في الكبد وبالتالي بسبب الإجهاد التأكسدي.

كلمات مفتاحية: إجهاد تأكسدي، أكسدة دهنية، تسمم كبدي، كلوربيريفوس-إيثول، مضاد للأكسدة

LITERATURE CITED

- Acker, C.I., Souza, A.C.G., dos Santos, M.P., and Nogueira, C.W. 2012. Diphenyl diselenide attenuates hepatic and hematologic toxicity induced by chlorpyrifos acute exposure in rats. *Environmental Science and Pollution Research* 19: 3481-3490.
- Adedara, I.A., Klimaczewski, C.V., Barbosa, N.B.V., Farombi, E.O., Souza, D.O., and Rocha, J.B.T. 2015. Influence of diphenyl diselenide on chlorpyrifos-induced toxicity in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 32: 52-59.
- Aebi, H. 1984. Catalase in vivo. *Methods in Enzymology* 105: 121-126.
- Aggarwal, K., Singh, D., and Singla, S.K. 2014. Studies on the effect of oxidative stress induced by chlorpyrifos on antioxidant hepatic enzymes in rat. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3: 523-533.
- Ahmed, N.S., Mohamed, A.S., and Abdel-Wahhab, M.A. 2010. Chlorpyrifos-induced oxidative stress and histological changes in retinas and kidney in rats: Protective role of ascorbic acid and alpha tocopherol. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 98: 33-38.
- Ajay, G., Vijayta, D., and Dhawan, D.K. 2005. Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos induced toxicity. *Chemico-Biological Interactions* 156: 131-140.
- Akande, M.G., Aliu, Y.O., Ambali, S.F., and Ayo, J.O. 2014. Co-treatment of chlorpyrifos and lead induce serum lipid disorders in rats: Alleviation by taurine. *Toxicology and Industrial Health* 32: 1-7.
- Akande, M.G., Shittu, M., Uchendu, C., and Yaqub, L.S. 2016. Taurine ameliorated thyroid function in rats co-administered with chlorpyrifos and lead. *Veterinary Research Communications* 40: 123-129.
- Alvarez, A.A., Ramirez-San Juan, E., and Canizales-Román, A. 2008. Chlorpyrifos induces oxidative stress in rats. *Toxicological & Environmental Chemistry* 90: 1019-1025.
- Aly, N., EL-Gendy, K., Mahmoud, F., and El-Sebae, A.K. 2010. Protective effect of vitamin C

- against chlorpyrifos oxidative stress in male mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 97: 7-12.
- Ambali, S.F., Akanbi, D.O., Oladipo, O.O., Yaqub, L.S., and Kawu, M.U. 2011. Subchronic chlorpyrifos-induced clinical, hematological and biochemical changes in Swiss Albino Mice: Protective effect of vitamin E. *International Journal of Biological and Medical Research* 2: 497-503.
- Breslin, W.J., Liberacki, A.B., Dittenber, D.A., and Quast, J.F. 1996. Evaluate developmental and reproductive toxicity of chlorpyrifos in the rat. *Fundamental and Applied Toxicology* 29: 119-130.
- Cacciatore, L.C., Nemirovsky, S.I., Verrengia Guerrero, N.R., and Cochón, A.C. 2015. Azinphos-methyl and chlorpyrifos, alone or in a binary mixture, produce oxidative stress and lipid peroxidation in the freshwater gastropod *Planorbis corneus*. *Aquatic Toxicology* 167: 12-19.
- Eaton, D.L., Daroff, R.B., Autrup, H., Bridges, J., Buffler, P., Costa, L.G., Coyle, J., Mckhann, G., Mobley, W.C., Nadel, L., Neubert, D., Schulte-Hermann, R., and Spencer, P.S. 2008. Review of the toxicology of chlorpyrifos with an emphasis on human exposure and neurodevelopment. *Critical Reviews in Toxicology* 38: 1-125. doi: 10.1080/10408440802272158.
- El-Bini Dhouib, I., Lasram, M.M., Annabi, A., Gharbi, N., and El-Fazaa, S. 2015. A comparative study on toxicity induced by carbosulfan and malathion in Wistar rat liver and spleen. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 124: 21-28.
- Ellman, G.L. 1959. Tissue sulphydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 82: 70-77.
- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., and Jungens, G. 1992. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine* 13: 341-390.
- Flohe, L., and Gunzler, W.A. 1984. Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology* 105: 114-121.
- Goel, A., Chauhan, D.P., and Dhawan, D.K. 2000. Protective effects of zinc in chlorpyrifos-induced hepatotoxicity: a biochemical and trace elemental study. *Biological Trace Element Research* 74: 171-183.
- Gultekin, F., Ozturk, M., and Akdogan, M. 2000. The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro). *Archives of Toxicology* 74: 533-538.
- Habig, H., Pabst, M.J., and Jakoby, W.B. 1974. Glutathione-S-transferase: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry* 249: 7130-7139.
- Heikal, T., Mossa, A., Abdel Rasoul, M.A., and Marei, K.H. 2013. The ameliorating effects of green tea extract against cyromazine and chlorpyrifos induced liver toxicity in male rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 6: 48-55.
- Joshi, S.C., Mathur, R., and Gulati, N. 2007. Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. *Toxicology and Industrial Health* 23: 439-444.
- Kalender, Y., Kayaa, S., Durakb, D., Uzuna, F.G., and Demir, F. 2012. Protective effects of catechin and quercetin on antioxidant status, lipid peroxidation and testis-histoarchitecture induced by chlorpyrifos in male rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 33: 141-148.
- Kamath, V., and Rajini, P.S. 2007. Altered glucose homeostasis and oxidative impairment in pancreas of rats subjected to dimethoate intoxication. *Toxicology* 231: 137-146.
- Ki, Y.W., Parka, J.H., Leea, J.E., Shina, C., and Chul Koh, H. 2013. JNK and p38 MAPK regulate oxidative stress and the inflammatory response in chlorpyrifos-induced apoptosis. *Toxicology Letters* 218: 235-245.
- Lassiter, T.L., and Brimijoin, S. 2008. Rats gain excess weight after developmental exposure to the organophosphorothionate pesticide, chlorpyrifos. *Neurotoxicology and Teratology* 30: 125-130.
- Luis, C., Cacciatore Sergio, I., Nemirovsky Noemi, R., and Verrengia Guerrero Adriana, C., Cochón, A.C. 2015. Azinphos-methyl and chlorpyrifos, alone or in a binary mixture, produce oxidative stress and lipid peroxidation in the freshwater gastropod *Planorbis corneus*. *Aquatic Toxicology* 167: 12-19.
- Mansour, S.A., and Mossa, A.T.H. 2009. Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 93: 34-39.
- Mansour, S.A., and Mossa, A.T.H. 2011. Adverse effects of exposure to low doses of chlorpyrifos in lactating rats. *Toxicology and Health* 27: 213-224.
- Ncibi, S., Ben Othman, M., Akacha, A., Krifi, M.N., and Zourgui, L. 2008. *Opuntia ficus-indica* extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. *Food and Chemical Toxicology* 46: 797-802.
- Ojha, A., Yaduvanshi, S.K., and Srivastava, N. 2011. Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid

- peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 99: 148-156 .
- Ozkan, F., Gunduz, S.G., Hunt, A.O., Berkoz, M., and Yalin, S. 2012. The protective role of ascorbic acid (vitamin C) against chlorpyrifos-induced oxidative stress in *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiology and Biochemistry* 38: 635-643.
- Poet, T.S., Kousba, A.A., Dennison, S.L., and Timchalk, C. 2004. Physiologically based pharmacokinetic/pharmacodynamic model for the organophosphorus pesticide diazinon. *Neurotoxicology* 25: 1013-1030.
- Preedy, V.R. 2013. *Diabetes: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*. Elsevier Science INC, London, 263 pp.
- Raina, R., Baba, N.A., Verma, P.K., Sultana, M., and Singh, M. 2015. Hepatotoxicity induced by subchronic exposure of fluoride and chlorpyrifos in Wistar rats: Mitigating effect of ascorbic acid. *Biological Trace Element Research* 166: 157-162.
- Richardson, J.R., and Chambers, J.E. 2005. Effects of repeated oral postnatal exposure to chlorpyrifos on cholinergic neurochemistry in developing rats. *Toxicological Sciences* 84: 352-359.
- Rouabhi, R., Gasmii, S., Boussekine, S., and Kebieche, M. 2015. Hepatic oxidative stress induced by zinc and opposite effect of selenium in *Oryctolagus cuniculus*. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology* 5: 289. doi:10.4172/2161-0525.1000289.
- Saulsbury, M.D., Heyliger, S.O., and Deadre, J.J. 2009. Chlorpyrifos induces oxidative stress in oligodendrocyte progenitor cells. *Toxicology* 259: 1-9.
- Sidhu, I.P.S., Bhatti, J.S., and Bhatti, G.K. 2014. Modulatory action of melatonin against chlorpyrifos induced hepatotoxicity in Wistar rats. *Asian Journal of Multidisciplinary Studies* 2: 123-131.
- Tanvir, E.M., Afroz, R., Chowdhury, M.A.Z., Khalil, M.D.I., Hossain, M.D.S., Rahman, M.D.A., Rashid, M.D.H., and Gan, S.H. 2015. Honey has a protective effect against chlorpyrifos-induced toxicity on lipid peroxidation, diagnostic markers and hepatic histoarchitecture. *European Journal of Integrative Medicine* 7: 525-533.
- Tuzmen, N., Candan, N., Kaya, E., and Demiryas, N. 2008. Biochemical effects of chlorpyrifos and deltamethrin on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. *Cell Biochemistry and Function* 26: 119-124.
- Uzun, F.G., and Kalender, Y. 2013. Chlorpyrifos induced hepatotoxic and hematologic changes in rats: The role of quercetin and catechin. *Food and Chemical Toxicology* 55: 549-556.
- Verma, R.S., Mehta, A., and Srivastava, N. 2007. In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 88: 191-196.
- Wang, L., Ohishi, T., Akane, H., Shiraki, A., Itahashi, M., Mitsumori, K., and Shibutani, M. 2013. Reversible effect of developmental exposure to chlorpyrifos on late-stage neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus in mouse offspring. *Reproductive Toxicology* 38: 25-36.