

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل -



Faculté : Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Moléculaire et Cellulaire

قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Toxicologie Fondamentale et Appliquée

Thème

**Etude de l'impact de l'exposition sub-chronique de pesticide
imidaclopride chez le rat *Wistar albinos* sur le foie**

Membre de Jury :

Présenté par :

Président : Dr. Ouanas. I

Benyahia Amina

Examinatrice : Dr. Benguedouar. L

Boucetta Meriem

Encadreur : Pr. Leghouchi. E

Année Universitaire : 2020-2021

Numéro d'ordre (bibliographique) :.....

Remerciements

*C'est avec un énorme plaisir que nous réservons ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail. Avant tout, nous remercions **Dieu** le tout puissant pour nous avoir aidé à réaliser ce modeste travail*

*Nos vifs remerciements à notre encadreur **Pr. LEGHOUCHI Essaid** pour son encadrement, sa disponibilité, ses conseils et ses orientations enrichissantes de ce travail.*

*Un grand merci pour les deux doctorants **AMIOUR Chouaib** et **BELEHCEN Samya** pour tout ce qu'ils ont fait pour nous faire réussir ce travail.*

*Nous remercions aussi notre examinatrice **Dr. Benguedouar Lamia** et notre présidente **Dr. OUANAS Ilhem** d'avoir accepté de juger le contenu du présent mémoire.*

*Nous remercions vivement tous les ingénieurs du laboratoire de notre département pour leurs aides précieuses ainsi que le médecin **Dr. Nasreddine BOUGHERRA** spécialiste en anatomie pathologique*

Enfin, Tous nos remerciements à tous nos enseignants depuis le premier qui nous a accueilli à l'âge de cinq ans dans une classe, jusqu'à celles et ceux qui nous encadrent aujourd'hui et à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

À mes chers parents Votre affection et votre amour sans limite m'ont accompagné tout au long de mes études. Vos sacrifices consentis m'ont permis d'atteindre cette étape de ma vie. Qu'Allah vous garde longtemps parmi nous.

*À mon âme sœur **Amina*** qui m'a accompagné tout au long de mon parcours universitaire.

*A mon cher frère **Bilal**.*

À mes sœurs et mes beaux-frères.

*A mes petites adorables nièces **Batoul et Sondons**.*

*À mes très chères amies **Feriel, Halima, Ghada, Zahra, Ines, Selma, Rihab et Meriem**.*

*A mes chères collègues de **Doha School** et ma professeure d'anglais **Miss Djihan**.*

*À mes chers **oncles, tantes, cousins, cousines**.*

A toutes mes amies et mes camarades de la promotion toxicologie fondamentale et appliqué 2020/2021.

à tous ceux qui ont participé au développement de ce travail, à tous ceux que j'ai oublié de les mentionner.

Je dédie ce travail

Meriem Bouceta

Dédicace

À mes chers parents. Vos sacrifices consentis m'ont permis d'atteindre cette étape de ma vie. Que dieu vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

À la personne absente par le corps présente par l'âme, imploration et tout le soutien moral pouvant un jour exister, en m'accompagnant tout le long de mon cursus universitaire.

*À mon âme sœur **Meriem** qui m'a accompagné tout au long de mon parcours universitaire.*

*À mon cousin **Khaled Souyet** qui a su être là lors de nombreux moments de vulnérabilité et a été un bon frère.*

*À mes frères, mes sœurs, ma belle-sœur **Amina**, mes beaux-frères et mon cousin **khaled Benyahia** qui ont été toujours à mes côtés pour m'encourager et me soutenir*

*À mes très chères amies **Feriel, Zahra, Ines, Samira, Samah et Merwa.***

*A mes chères collègues de **Doha School** et ma professeure d'anglais **Miss Djihan***

*À mes chers **oncles, tantes, cousins, cousines** et à toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail.*

*À toutes **mes collègues** de la promotion toxicologie fondamentale et appliqué
2020/2021*

Je dédie ce travail

BENYAHIA Amina

liste des abréviations

ACh : Acétylcholine

AChE : Acétylcholinestéras

AGPI: Acide gras polyinsaturé

ALAT: Alanine Aminotransférase.

ASAT: Aspartate Aminotransférase.

ATP: Adénosine triphosphate

BBC: le bleu brillant de coomassie

BSA: Bovin Sérum Albumine

CAT: Catalase

CCl₄: tetrachlorure de carbone

Cd: Cadimume

CDNB: 1-chloro-2,4-dinitrobenzene

CHC: Le carcinome hépatocellulaire

DDT: Dichlorodiphényltrichloroéthane

DL50: la dose létale médiane

EAO: Les espèces activées de l'oxygène

EBV: Epsteine-Barr virus

ERO : Espèces Réactives d'oxygène

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Disulfure de glutathion (Glutathion oxydé)

GST : Glutathion S-transférase

HDL : lipoprotéine haute densité

IMI: Imidaclopride

LDL: lipoprotéine à faible densité

LPO: Peroxydation lipidique

MDA: Malondialdéhyde

MDH : la malate déshydrogénase

NAD⁺: Nicotinamide adénine dinucléotide

NADPH: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NO: Oxyde nitrique ou monoxyde d'azote

NOEL: No observed effect level

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAL: la phosphatase alcaline

SOD: Superoxyde dismutase

TBA: de l'acide thiobarbiturique

TEP: tetramethoxypropane

TGO: la transaminase glutamate-oxaloacétate

TGP: la transaminase glutamate-pyruvate

UV: ultra-violet

VLDL: lipoprotéine à très basse densité

Liste des figures

Figure 01: Modes d'exposition des êtres vivants aux pesticides	4
Figure 02: Structure de certains néonicotinoïdes courants.....	6
Figure 03: La structure chimique de l'imidaclopride	6
Figure 04: Anatomie et vascularisation	12
Figure 05: Localisation des différents types cellulaires constituant le foie	13
Figure 06: La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants	18
Figure 07: Principales étapes de production des espaces réactives de l'oxygène	20
Figure 08: Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.	22
Figure 09: Variations du poids relatifs (%) chez les rats témoins et les rats traités par l'imidaclopride.	32
Figure 10: Effet d'imidaclopride sur la concentration des aminotransférases (ALAT) et (ASAT).	33
Figure 11: Effet de l'IMI sur le taux de PAL dans le plasma des rats traités et non traités ...	34
Figure 12: Effet de l'imidaclopride sur le taux de la GSH hépatique.	35
Figure 13: Effet d'imidaclopride sur le taux de GST cytosolique dans le foie.....	35
Figure 14: Effet de l'imidaclopride sur le taux de la GSH hépatique chez les groupes T, IMI.	36
Figure 15: Influence de l'administration d'IMD sur la peroxydation lipidique (taux de l'MDA).	37

Liste des tableaux

Tableau 01 : Propriétés physico- chimiques de l'imidaclopride	7
Tableau 02 : Relations entre les maladies et le stress oxydant	23
Tableau 03: évolution de l'activité enzymatique (U/L) chez les rats témoins, et les rats traités par les l'imidaclopride.	33

Sommaire

Remercîments

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste du tableau

Introduction1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : L'imidaclopride

I .1. Généralité sur les pesticides2

I.1.1. Historique définition et intérêt des pesticides2

I.1.2. Classification des pesticides2

I.1.2.1. Selon la cible3

I.1.2.2. Selon la composition chimique et la nature des ingrédients actifs3

I.1.2.3. Selon leur toxicité3

I.1.3. Devenir des pesticides dans l'environnement.....3

I.1.4. Voies d'exposition des humains aux pesticides4

I.1.4.1. Exposition respiratoire.....5

I.1.4.2. Exposition cutanée5

I.1.4.3. Exposition oculaire5

I.1.4.4. Exposition orale.....5

II. L'imidaclopride.....5

II.1. Généralité5

II.2. Mécanisme d'action.....8

II.3. Métabolisme d'imidaclopride.....8

II.4. Effets toxicologiques.....8

II.4.1. Toxicité aiguë8

II.4.2. Toxicité chronique8

II.4.3. Perturbateur endocrinien9

II.4.4. Effets cancérogènes.....9

II.4.5. Toxicité pour la reproduction9

II.4.6. Effets Neurotoxique9
II.4.7. Effets tératogènes.....10

Chapitre II: Le foie

II.5. L'hépatotoxicité de l'imidaclopride10
I. Généralité11
II. Anatomie et vascularisation.....11
III. Les différentes cellules constituant le foie12
IV. La fonction physiologique du foie.....13
 IV.1. Fonction d'épuration13
 IV.2. La fonction de stockage et de production13
 IV.3. Fonctions métaboliques.....14
 IV.4. Métabolisme des glucides.....14
 IV.5. Métabolisme lipidique.....14
 IV.6. Métabolisme des protéines.....14
V. Les marqueurs biologiques15
 V.1. La bilirubine15
 V.2. Les transaminases ALT et AST15
 V.3. Les Phosphatases alcalines15
VI. Les maladies du foie.....16
 VI.1. Le cancer16
 VI.2. La stéatose16
 VI.3. L'hépatite16
 VI.4. La fibrose.....16
 VI.5. La cirrhose17

Chapitre III: Le stress oxydative

I. Généralité18
II. Les radicaux libres19
 II.1. Définition d'un radical19
 II.2. Les sources radicalaires19
 II.3. Le système antioxydant:.....21
 II.3.1. Les systèmes enzymatiques.....21
 II.3.2. Les systèmes non-enzymatiques23
 II.4. Maladies humaines liées à un stress oxydant.....23

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I- Matériel	24
I-1- Le choix de pesticide	24
I-2- Matériel biologique et conditions d'élevage	24
I-3- Traitement des animaux	24
I-4- Prélèvement du sang	24
I-5- Sacrifice des animaux et prélèvement de foie	24
II. Méthodes	25
II.1. L'évolution des poids absolus et relatif de foie	25
II.2. Exploration de la fonction hépatique	25
II.2.1. Dosage de la transaminase glutamate- pyruvate (TGP)	25
II.2.2. Dosage de la transaminase glutamate-oxaloacétate (TGO)	26
II.2.3. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL) plasmatique	26
II.3. Exploration du stress oxydatif tissulaire hépatique	27
II.3.1. Préparation de la fraction cytosolique	27
II.3.2. Dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976)	27
II.3.3. Evaluation de la peroxydation lipidique mitochondriale	27
II.3.4. Mesure de l'activité des antioxydants	28
II.4. Etude histologique	29
II-5- Evaluation statistique	30

Résultats et discussion

I. Résultats	32
I.1. Variations du poids relatif du foie	32
I.2. Action sur certains biomarqueurs de la fonction hépatique	33
I.2. 1. La variation des activités enzymatiques des aminotransférases	33
I.2. 2. La variation des activités enzymatiques de la phosphatase alcaline (PAL)	34
I.3. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif hépatique	34
I.3.1. Effets sur le taux de GSH dans le foie	34
I.3.2. Effets sur l'activité de la glutathion S-transférase (GST)	35
I.3.3. Variation de l'activité de la catalase	36
I.3.4. Effet sur les taux de MDA dans le foie	36
I.4. Etude histologique du foie	37

II. Discussion :	38
II.1. L'effet de l'imidaclopride sur le poids relatif de foie	38
II.2. L'altération du statu redox cytosolique du foie	38
II.2.1. L'altération des paramètres antioxydant	39
II.2.2. Augmentation du taux de MDA	39
II.3. Dysfonctionnement hépatique (augmentation du taux sanguin du TGO, TGP et PAL) ...	40
II-4- Les changement histologique du foie	40
Conclusion	43
<i>Références bibliographiques</i>	44

Annexe

Introduction

Les pesticides sont des produits synthétiques ou naturel destinés à l'élimination des organismes nuisibles comme les ravageurs, les mauvaises herbes, les champignons et les insectes (Kim *et al*, 2017). L'utilisation massive des pesticides a pour but d'améliorer la productivité agricole mais ils possèdent également des effets néfastes sur les organismes non cible et présentent un risque pour la santé humaine (Hernández *et al*, 2013).

Les néonicotinoïdes sont des analogues synthétiques de la nicotine, utilisée depuis des siècles comme insecticide. Les néonicotinoïdes sont des neurotoxiques: leur cible est le récepteur post-synaptique à l'acétylcholine dont le blocage induit paralysie et mort de l'insecte (Thany, 2010). Les néonicotinoïdes sont homologués en agriculture dans plus de 120 pays. Leur chef de file est l'imidaclopride : commercialisé pour la première fois en France depuis 1994, il est à ce jour l'insecticide le plus vendu dans le monde (Testud, 2014), est considéré comme un remplaçant possible pour l'organophosphoré diazinon, est utilisé dans le monde entier pour les insectes nuisibles et la lutte contre les puces chez le chat et le chien (Lohiya *et al*, 2017).

Des recherches récentes ont suggéré que l'imidaclopride peut provoquer un stress oxydatif et une inflammation dans les organes comme le foie (El-Halwagy *et al*, 2018).

Le foie est le centre majeur du métabolisme , avec une activité élevée d'antioxydants et d'enzymes associées, de sorte qu'il est l'organe principal responsable de la détoxification des xénobiotiques (El-Gendy *et al*, 2010).

Il existe plusieurs études sur l'hépatotoxicité induite par l'imidaclopride (Bizerra *et al*, 2020), (Bhardwaj *et al*, 2010). Sur ce nous nous sommes alors intéressé à évaluer l'hypatotoxicité induite par l'imidaclopride après 28 jour d'exposition chez la rats. Pour atteindre notre objectif, nous avons déterminé les paramètres biochimiques (TGP, TGO, PAL) ainsi que les paramètres du stress oxydatif au niveau du foie (MDA, GST, CAT, et GSH) et nous avons les accompagnés avec les changements histopathologiques et ultra structuraux observés dans le foie.

Analyse
bibliographique

Chapitre I

L'imidaclopride

I.1. Généralité sur les pesticides

I.1.1. Historique, définition et intérêt des pesticides

Le terme pesticide désigne toute substance ou un mélange de substances biologiquement toxiques, ils sont utilisés dans le monde entier dans le cadre de prévenir les cultures, détruire, repousser ou atténuer l'activité de tout organisme nuisible et aussi minimiser leurs dommages indésirables (les mauvaises herbes, insectes, champignons et les rongeurs) (Goel et Aggarwal, 2007; Speck-Planche *et al*, 2012). Depuis les temps anciens, l'homme a essayé d'appliquer les méthodes les plus efficaces dans un temps limité pour préserver les cultures agricoles (Abubakar *et al*, 2020), le premier pesticide connu était probablement la poussière élémentaire de soufre utilisé à Sumeria avant environ 4500 ans. Au XVII^e siècle, le sulfate de nicotine a été extrait des feuilles de tabac pour être utilisé comme insecticide. Après sa découverte en 1939 par Paul Muller, le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) a trouvé une utilisation généralisée. Cependant, avec la reconnaissance que c'était une menace pour la biodiversité, son utilisation a considérablement diminué. Il est crucial de noter qu'au cours de cette période, plusieurs scientifiques ont souligné les effets néfastes des pesticides sur la santé humaine (Goel et Aggarwal, 2007).

Les pesticides sont largement utilisés dans la plupart des secteurs de la production agricole pour prévenir ou réduire les pertes par les organismes nuisibles et peut ainsi améliorer le rendement ainsi que la qualité du récoltes agricoles (Damalas *et al*, 2011). Le processus d'application de ces pesticides a une réduction importante des insectes nuisibles, des maladies et des mauvaises herbes qui peuvent réduire de façon importante la quantité de rendement agricole récoltable et donc la marge économique. L'application de pesticides contribue à la préservation du bois contre la destruction par les termites et autres insectes foreurs ainsi que dans le contrôle du vecteur du paludisme, les moustiques Anophèles... (Abubakar *et al*, 2020).

I.1.2. Classification des pesticides

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une variété de structures chimiques, de groupes fonctionnels et d'activités. Ils peuvent être classés en fonction de l'espèce à combattre, de la nature chimique de la principale substance active qui les compose et leur degré de toxicité (Kaur *et al*, 2019).

I.1.2.1. Selon la cible

Il existe principalement trois grandes familles de produits phytosanitaires selon la nature des cibles: les herbicides, les fongicides les insecticides. Les herbicides sont utilisés pour contrôler les mauvaises herbes et les végétations ligneuse (Goel et Aggarwal, 2007), les insecticide qui sont des substances actives ayant la propriété de tuer les insectes, leurs larves et/ou leurs œufs et les fongicides qui sont des produits chimiques utilisés pour lutter contre les champignons (Kim *et al*, 2017).

I.1.2.2. Selon la composition chimique et la nature des ingrédients actifs

C'est la classification qui donne un indice sur l'efficacité physique et les propriétés chimique des pesticides. Selon la composition chimique, les pesticides sont classés en quatre groupes principaux: organochlorés, organophosphorés, carbamates et pyréthrine et pyréthroides (Yadav et Devi, 2017).

I.1.2.3. Selon leur toxicité

L'organisation mondiale de la santé (OMS) après avoir fait des expériences sur des rats et d'autres animaux de laboratoire en administrant une dose des pesticides par voie orale et cutanée, ils ont ensuite estimé la dose létale médiane (DL50), la toxicité la plus faible à la plus élevée de l'ordre I à IV indique respectivement :extrêmement toxique, Hautement toxique, modérément toxique, légèrement toxique(Yadav et Devi, 2017).

I.1.3. Devenir des pesticides dans l'environnement

L'utilisation inappropriée de pesticides a été liée à des effets néfastes tel que la réduction des populations d'espèces bénéfiques, la contamination de l'eau par les pesticides ou de la dérive de pesticides, la pollution de l'air par des pesticides volatils, la dégradation des plantes non-cibles, les dommages aux cultures de rotation causés par des résidus d'herbicide restés dans le champ et des dommages aux cultures dus à des taux d'application élevés (Damalas et Eleftherohorinos, 2011). Différents types de pesticides sont pulvérisés sur une grande superficie de terres, en particulier sur les terres agricoles. L'opération de pulvérisation à l'aide de divers équipement sa permet de transporter les pesticides dans des endroits les plus éloignés des endroits cibles et la formation de gouttelettes qui pourraient atteindre la surface de l'eau (Mfarrej et Rara, 2019). Les résidus de pesticides dans les gouttelettes de pluie, l'eau d'irrigation et les eaux usées affectent également les organismes vivants de l'environnement aquatique tels que les crustacés et les poissons. Comme tous les organismes vivants de

l'écosystème, bien sûr, les plantes et les animaux sont touchés par les pesticides. Pour les plantes, le taux de développement des plantes a diminué en raison de l'utilisation de pesticides le sol qui se traduit par une diminution énorme des récoltes (Mfarrej et Rara, 2019). D'autre part pour les animaux; ils sont également empoisonnés par la consommation d'aliments contaminés par des résidus de pesticides après pulvérisation, ce qui peut affecter la source de nourriture et pousser les animaux à changer leur nourriture. La présence des pesticides dans un écosystème a un impact sur la chaîne alimentaire ;ces produits chimiques synthétiques se caractérisent par leur capacité de s'accumuler dans ses tissus biologiques conduisant à l'apparition de diverses formes de toxicité (Gill et Garg, 2014).

I.1.4. Voies d'exposition des humains aux pesticides

L'exposition aux pesticides peut se produire soit directement pendant le processus de la production et l'utilisation professionnelle soit indirectement par l'alimentation. De plus, la population générale peut être exposée aux pesticides en raison de leur application sur les terrains de golf, autour des routes principales etc. Les principales voies d'exposition humaine aux pesticides passent par les chaînes alimentaires, l'air, et la consommation de l'eau potable. Les pesticides sont distribués dans tout le corps humain par la circulation sanguine et sont excrétés ensuite par l'urine, la peau et l'air expiré: Il existe quatre voie d'exposition humaine aux pesticides. La voie cutanée, orale, oculaire et respiratoire (Kim *et al*, 2017).

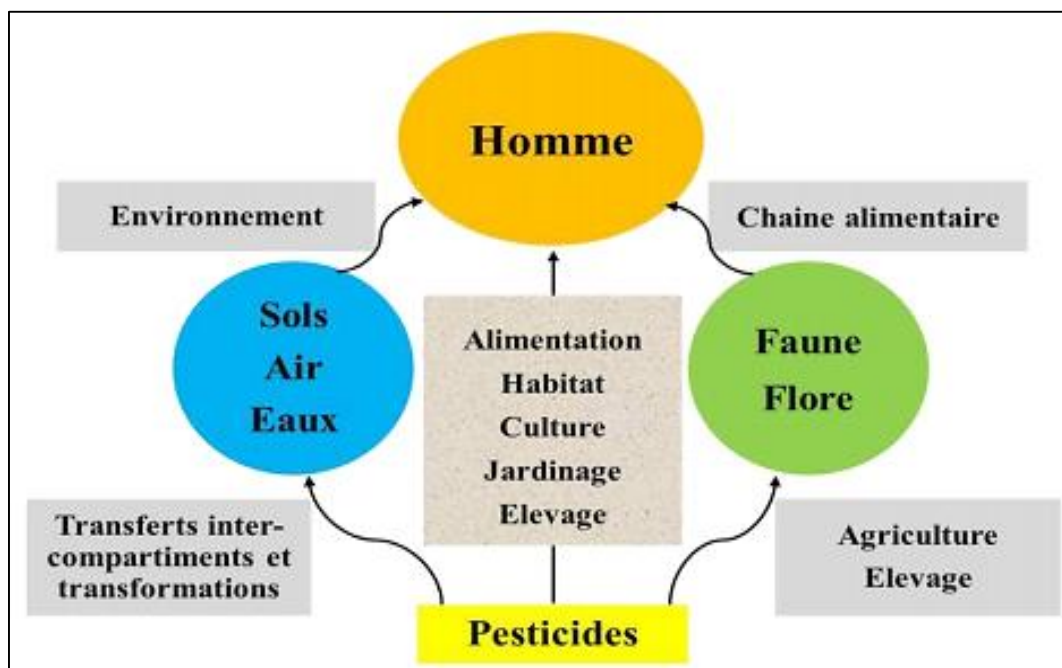


Figure 1 : Modes d'exposition des êtres vivants aux pesticides (CPP, 2002).

I.1.4.1. Exposition respiratoire

Les pesticides contiennent des éléments volatils, ce qui rend l'exposition respiratoire importante.(Amaral, 2014). L'inhalation de quantités suffisantes de pesticides entraîne de graves dommages au niveau du nez et des poumons. Plus la concentration de pesticides est élevée, plus la possibilité d'exposition est grande et aussi pour la température car le niveau d'évaporation augmente (Damalas et Eleftherohorinos, 2011).

I.1.4.2. Exposition cutanée

L'exposition cutanée est l'une des voies les plus courantes et les plus efficaces par lequel les applicateurs de pesticides sont exposés aux pesticides. L'absorption cutanée peut survenir lors de l'application, de déversements ou de dérives de pulvérisation, lors du mélange, du chargement (Kim *et al*, 2017).

I.1.4.3. Exposition oculaire

Le potentiel de lésions chimiques est élevé pour les tissus de l'œil. Certains pesticide ont été absorbés par les yeux à des quantités suffisantes pour provoquer des maladies mortelles (Kim *et al*, 2017).

I.1.4.4. Exposition orale

C'est le cas le plus dangereux qui peut survenir lorsque le pesticide est introduit par voie orale, généralement par action accidentelle à des causes intentionnelles ou en raison de négligence, par exemple lorsque les pesticides sont vidés dans les bouteilles en verre, ils peuvent être bus accidentellement d'une manière inévitable (Kim *et al*, 2017) .

II. L'imidaclopride

II.1. Généralité

En 2004, plus de cinq milliards tonnes de pesticides ont été utilisés dans le monde entier, les insecticides néonicotinoïde représentaient 11 à 15% du marché mondial des insecticides. Les néonicotinoïde sont les nouvelles classes d'insecticides synthétiques des trois dernières décennies, utilisés dans la protection des cultures et les soins de santé animale (David *et al*, 2007).

En raison de la diminution de l'efficacité des dérivés organophosphatés et carbamates, les néonicotinoïdes comprennent l'acétamipride, la clothianidine, le dinotéfurane, nitenpyram, thiaclopride et thiaméthoxame (David *et al*, 2007). Le premier néonicotinoïde commercialisé était l'imidaclopride, qui représentait la plus grande vente de tous les insecticides dans le monde (Thany, 2010).

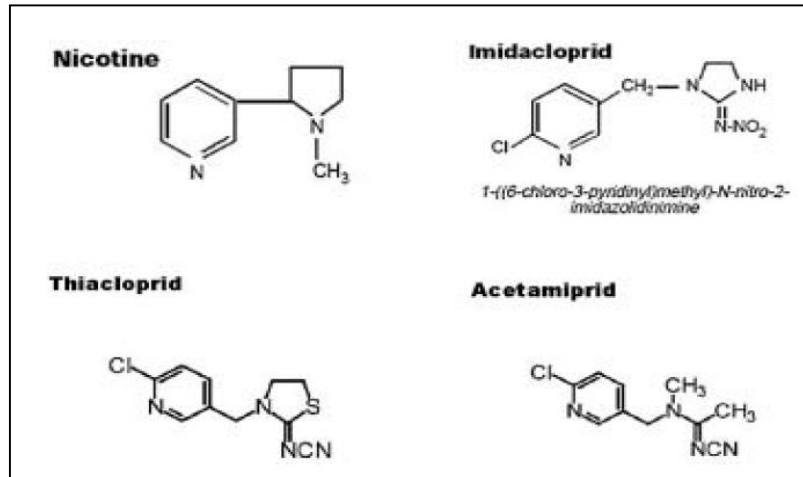


Figure 02 : Structure de certains néonicotinoïdes courants (David *et al*, 2007).

L'imidaclopride (1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylidèneamine), est un chloro-nicotinyle systémique insecticide sa formule développée est représentée dans la **figure 03**, qui agissent comme agonistes des récepteurs nicotinique post synaptiques de l'acétylcholine (nAChRs), dont le mode d'action sur le système nerveux des insectes diffère de celui des produits neurotoxiques traditionnels (Wamhoff et Schneider, 1999). Il s'agit d'un insecticide utilisé dans le monde entier, qui a été commercialisé en 1991 par Bayer AG et Nihon Tokushu Noyaku Seizo KK et a été utilisé de plus en plus depuis lors. Il est utilisé principalement pour contrôler les insectes suceurs sur les cultures comme les pucerons, les cicadelles, les thrips et termites (Tišler *et al*, 2009). Leur Propriétés physico-chimiques est représentée dans le **tableau 01**.

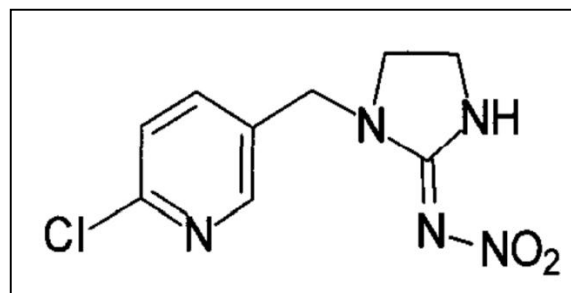


Figure 03 : La structure chimique de l'imidaclopride (Wamhoff et Schneider, 1999).

Tableau 01 : Propriétés physico- chimiques de l'imidaclopride (Footprint, 2011).

Paramètre	Valeur
Aspect	Cristaux sans couleur avec une odeur caractéristique faible
Nom chimique	1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidine-2-ylidèneamine
Poids moléculaire	255,7
Solubilité dans l'eau	0,61 G L ⁻¹ (20 ⁰ C)
Solubilité dans d'autres solvants	dichloromethane 50,0-100,0g L ⁻¹ ; isopropanol 1,0 g L ⁻¹ ; toluène 0,5 -1,0 g L ⁻¹ ; n-hexane <0,1 g ⁻¹ ; eau 0,061 g 100mL ⁻¹
Point de fusion	134,4 ⁰ C (forme en cristal 2) – 143,8 ⁰ C (forme en cristal 1)
Pression de vapeur	4.10 ⁻⁷ mPa (20 ⁰ C)
Henry	2.10 ⁻¹⁰ Pa m ³ mole ⁻¹
Coefficient de partage carbone organique/ eau	247 cm ³ /g. ce paramètre, noté k _{oc} représente le potentiel de rétention de cette substance active sur la matière organique du sol .
Durée de demi –vie	180 jours. Ce paramètre noté DT50, représente le potentiel de dégradation de cette substance active, et sa vitesse de dégradation dans le sol.
Coefficient de partage octanol/ eau	0,57 .Ce paramètre est noté log Kow
LD50 rat	450 mg /kg
CL50 poisson	>82 mg L ⁻¹
CL50 daphnies	85mg L ⁻¹
CL50 algues	>9mg L ⁻¹
DJA	0,06 mg / kg /j

II.2. Mécanisme d'action

Le mode d'action des insecticides nicotinoïdes a été décrit par Schroeder et Flattum (1984) comme un effet sur les synapses cholinergiques qui entraîne un blocage post synaptique conséquent dans le système nerveux du Cafard américain. Nous comprenons maintenant que l'imidaclopride au récepteurs nicotineriques de l'acétylcholine. Cette liaison est très spécifique, impliquant uniquement des récepteurs nicotiniques et non muscariniques, qui déclenchent une toxicité typique des réactions nicotiniques (Thyssen et Machemer, 1999).

II.3. Métabolisme d'imidaclopride

Le métabolisme de l'imidaclopride est simple; il existe deux voies principales de métabolisme dans les systèmes mammifères. Le premier est le clivage oxydatif en imidazolidine, qui ne semble pas être métabolisé davantage, et l'acide nicotinique 6-Cl. Le fragment imidazolidine est excrété directement via l'urine, et le fragment nicotinique est dégradé via une conjugaison au GSH eu dérivé d'acide mercapturique et ensuite au l'acide méthylmercaptanicotinique. La deuxième importante voie de biotransformation est l'hydroxylation de la molécule dans l'anneau imidazolidine suivi de l'élimination de l'eau sous la formation d'un métabolite insaturé (Thyssen et Machemer, 1999).

L'imidaclopride est rapidement absorbée par le tractus intestinal et rapidement distribué dans le système mammifère, il est rapidement absorbée, métabolisé dans le foie et excrété principalement via l'urine (Vardavas *et al*, 2018).

II.4. Effets toxicologiques

II.4.1. Toxicité aiguë

Selon l'OMS et l'agence de protection de l'environnement des États-Unis, l'imidaclopride est classée dans la catégorie «modérément toxique» classe II ou III, et présente une toxicité aiguë par voie orale plus importante chez la souris que chez le rat : la DL50 orale est de 450 mg.kg⁻¹ de poids corporel chez le rat et 131 mg.kg⁻¹ chez la souris (Ajermoun *et al*, 2021).

II.4.2. Toxicité chronique

Plusieurs études illustrent la toxicité de l'IMI par ses différents mécanismes et leurs effets sur différents organes comme le cœur, les reins, le système nerveux et même la mort.

Des études récentes montrent des effets de toxicité de l'IMI sur le système immunitaire, en plus des effets sur la reproduction chez les rat mâle (Hassan *et al*, 2019).

L'exposition chronique à l'imidaclopride induit une inflammation et un stress oxydatif dans le foie et les reins et même dans le système nerveux central chez le rat (Duzguner *et al*, 2010; Sonphule *et al*, 2019).

II.4.3. Perturbateur endocrinien

L'imidaclopride peut agir comme perturbateur endocrinien et peut perturber le métabolisme et l'homéostasie et contribuent à l'obésité et perturbent la stéroïdogenèse en inhibant les activités enzymatiques du cytochrome P450. Tous ces effets indésirables de l'imidaclopride peuvent présenter un grand risque pour la reproduction et le développement à long terme (Conséquences à l'âge adulte) (Mikolić et Brčić Karačonji, 2018).

II.4.4. Effets cancérogènes

L'imidaclopride est classé comme cancérogène du «groupe E», ce qui signifie qu'il n'y a aucune preuve de cancérogénicité chez l'homme (Mikolić et Brčić Karačonji, 2018).

II.4.5. Toxicité pour la reproduction

Une affection d'organe reproducteur chez les rats mâle, exposé trois mois à des doses d'imidaclopride inférieure à la dose sans effet observable (NOEL) qui est de 5 à 10 mg kg⁻¹ et diminution de la masse des organes sexuels accessoires, une diminution également du niveau de la testostérone et la concentration de sperme, avec une distorsion des spermatozoïdes, une modification des lipide qui composent le tissu testiculaire, une fragmentation de l'ADN séminal et l'apoptose des cellules spermatogènes (Bal *et al*, 2012).

II.4.6. Effets Neurotoxique

Dans une étude chez le rat administré par sonde gastrique jusqu'à 45 et 90 mg/kg de poids corporel pendant 28 jours provoquent une baisse significative de la activité locomotrice spontanée et douleur seuil chez le rat. Il existe également des études de neurotoxicité chronique et même aigue (Lonare *et al*, 2014).

II.4.7. Effets tératogènes

Une étude de toxicité développementale réalisée sur 400 œufs fertiles de poule qui sont exposés à différentes doses d'imidaclopride. Le 21^e jour, les coquilles d'œufs ont été détruites et les embryons ont été prélevés retard de croissance entraînant un échec de la rétraction du sac vitellin, des anomalies des membres, grossissement du tête, ectopie viscérale et diminution du poids du poussin, de la longueur de la couronne et du croupion par rapport aux témoins (Hussein et Singh, 2016).

II.5. L'hépatotoxicité de l'imidaclopride

L'hépatotoxicité est l'un des principaux effets secondaires de la toxicité de l'IMI car le foie est l'organe principal pour la détoxification et de métabolisation des pesticides (Hassan et al, 2019). L'exposition à long terme à l'IMI a provoqué des changements histopathologiques dans le foie, des inflammation à long terme et le stress oxydatif, ces derniers provoquent une fibrose hépatique comme un processus de récupération du la forme normal du foie (Lohiya *et al*, 2017b). Et aussi des lésions hépatiques, telles que l'hémorragie, une dégénérescence hépatocytaire, et la congestion sinusoidale et la dilatation (Bizerra *et al*, 2020). L'imidaclopride induit le stress oxydatif chez le rat, cela provoque un déséquilibre aux niveaux des enzymes antioxydants endogènes. Cette perturbation dans le système enzymatique (antioxydant), se manifeste par la peroxydation lipidique et l'oxydation des protéines ce qui conduit à une lésion tissulaire hépatique (Lohiya *et al*, 2017b).

Chapitre II
Le foie

I. Généralité

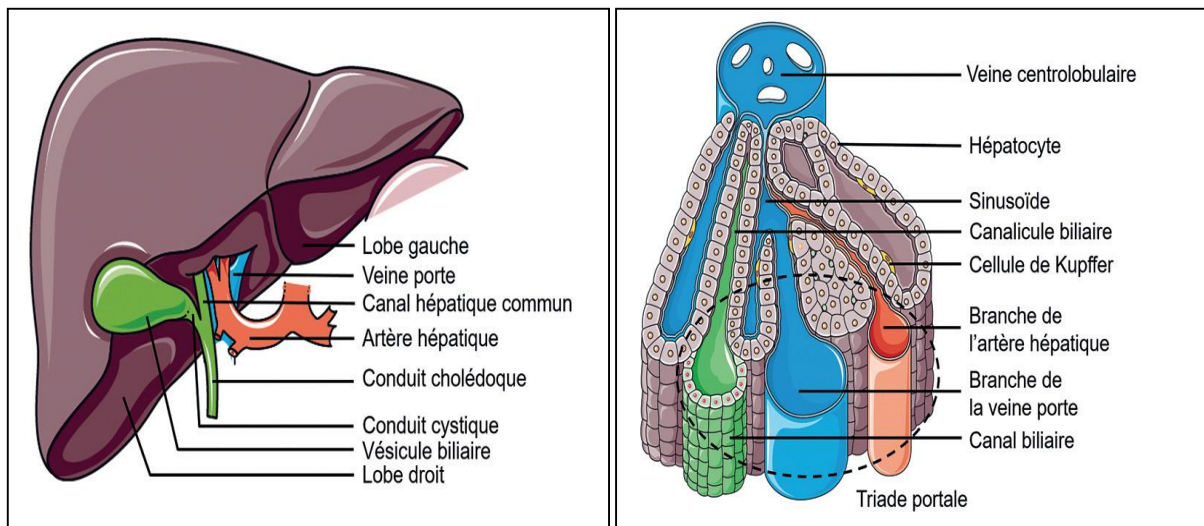
Le foie est parmi les principaux organes du corps, est l'un des plus grands organes du corps humain puisqu'il pèse entre 1,6 et 2 kg. Il remplit de très nombreuses fonctions vitales et les maladies qui l'affectent sont souvent préoccupantes. C'est un lieu de synthèse et/ou de stockage majeur pour de nombreux éléments, notamment des protéines, des glucides, des vitamines et des ions, donc il joue un rôle important dans de nombreuses fonctions physiologiques. Il permet aussi l'assimilation de la plupart des nutriments et l'élimination des éléments toxiques ou pathogènes provenant du tractus digestif (Bessaguet et Desmoulière, 2021).

II. Anatomie et vascularisation

Le foie est l'organe le plus volumineux du corps humain. Il est situé à droite, sous le diaphragme, de couleur brun-rouge. Il est entouré et protégé par la capsule fibreuse de Glisson (Bessaguet et Desmoulière, 2021). Le foie est un organe très vasculaire et au repos reçoit environ un quart du débit cardiaque, plus que tout autre organe.

Le foie normal à un double apport sanguin est uniquement divisé entre l'artère hépatique, qui contribue de 25% à 30% de l'approvisionnement en sang riche en oxygène, et la veine porte, qui est responsable des 70% à 75% restants riche en nutriments.

Le sang artériel et porte se mélange finalement dans les sinusoides hépatiques avant de s'écouler dans la circulation systémique via le système veineux hépatique, Ces sinusoides, qui composent le lit capillaire dans le parenchyme hépatique, sont caractérisées par la présence des pores en forme de tamis sur l'endothélium, et par l'absence de membrane basale, facilitant les échanges transvasculaires entre les cellules sanguines et hépatiques (Kan et Madoff, 2008; Abdel-Misih et Bloomston, 2010).



a) : Anatomie du foie.

b) : Coupe transversale d'un lobule hépatique

Figure 04 : Anatomie et vascularisation (Bessaguet et Desmoulière, 2021).

III. Les différentes cellules constituant le foie

Le foie est composé de différents types cellulaires ; Les cellules parenchymateuses, ou hépatocytes, qui constituent environ 60% de toutes les cellules du foie et 90 % de la masse cellulaire du foie. Les 40% restants comprennent les cellules non parenchymateuses, qui comprennent les cellules endothéliales sinusoidales, les cellules de Kupffer, les lymphocytes, les cellules étoilées et les cholangiocytes (cellules épithéliales constituant le canal biliaire) (Celton-Morizur *et al*, 2010).

Le principal type cellulaire du foie qui effectue la plupart des fonctions sont les cellules parenchymateuses, ou les hépatocytes. Les hépatocytes sont le centre de métabolisme et de détoxification des xénobiotique, (Celton-Morizur *et al*, 2010) et sont situées dans les zones péri portale et péri veineuse du lobule hépatique, les niveaux et les activités de diverses enzymes et autres protéines des hépatocytes sont différent (Braeuning *et al*, 2006). Le foie contient de grande quantités de cellules de Kupffer, qui représentent le plus grand groupe de macrophages du corps. Ils sont situés dans la sinusoides et sont en contact permanent avec des produits d'origine intestinale particules, ils sont capables de sécréter une vaste gamme de médiateurs inflammatoires tels que cytokines, espèces réactives de l'oxygène, et l'oxyde nitrique (Tso et McGill, 2003).

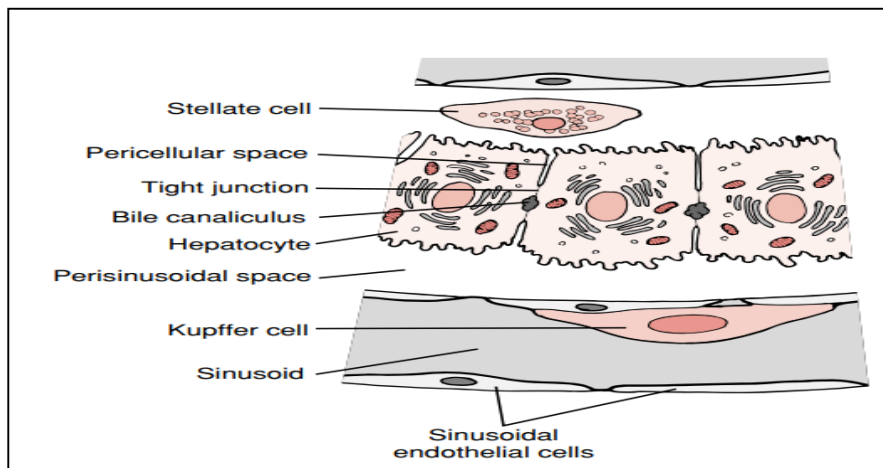


Figure 05 : Localisation des différents types cellulaires constituant le foie (Tso et McGill, 2003).

IV. La fonction physiologique du foie

Le foie réalise une large variété de fonctions, notamment la détoxification primaire de divers xénobiotiques, la synthèse des protéines et la production d'enzymes digestives. Le foie joue également un rôle important dans le métabolisme, la régulation des globules rouges ainsi que la synthèse et le stockage du glucose (Lala *et al*, 2020).

IV.1. Fonction d'épuration

Le foie est l'organe central de détoxification qui permettant de détruire ou transformer les substances endogènes ou exogènes (dites xénobiotique) qui pourraient être néfaste pour l'organisme. Les substances liposolubles sont ensuite reversé dans la bile, puis dans l'intestin, et éliminés dans les selles. Les produits hydrosolubles sont reversés dans le sang, qui les mène jusqu'aux reins : ils sont éliminés par les urines (Sendensky et Dufour, 2011). Le processus de la détoxification implique la mobilisation, la biotransformation, et l'élimination des toxiques ; la phase I permet l'hydroxylation du composé à éliminer, la phase II la conjugaison de ce dernier avec une protéine (Cline et Medicine, 2015). Ces deux étapes permettent de transformer le composé très hydrophobe en une molécule hydrosoluble plus facile à éliminer (Cline et Medicine, 2015).

IV.2. La fonction de stockage et de production

Le foie stocke de nombreux composés, par exemple (glucose, fructose, galactose) sont stockés sous forme de glycogène et les lipides sont sous forme de triglycérides (pour être

métabolisé). Il stocke également les vitamines et les minéraux. Ces éléments sont ensuite libérés dans la circulation selon les besoins de l'organisme (Sendensky A et Dufour JF, 2011). Le foie synthétise également un grand nombre des protéines essentielles pour l'organisme comme l'albumine (protéine plasmatique), et aussi des protéines reliées au système immunitaire telles que le complément, ainsi que la plupart des facteurs impliqués dans la régulation de la coagulation les protéines du métabolisme du fer (ferritine, transferrine) ou encore les lipoprotéines. (Sendensky A et Dufour JF, 2011).

IV.3. Fonctions métaboliques

Le foie joue un rôle important dans le métabolisme des glucides, des protéines et des graisses dans le corps humain.

IV.4. Métabolisme des glucides

Le foie transforme l'excès de glucose en glycogène, la forme de glucides dans le foie. Ce processus est stimulé par l'insuline libérée par le pancréas (Glycogénèse). En fonction des besoins de l'organisme, le foie retransforme ensuite ce glycogène en glucose qui peut être transportés vers d'autres tissus pour générer de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) (Glycogénolyse). Si les réserves de glycogène sont épuisées, les cellules hépatiques peuvent aussi synthétiser du glucose à partir d'acides aminés notamment. On parle alors de la néoglucogénèse (Mitra *et al*, 2009; Adeva-Andany *et al*, 2016).

IV.5. Métabolisme lipidique

Les lipides parvenant au foie sont transformés en triglycérides et stockés dans les cellules hépatiques en réponse aux besoins énergétiques du corps les triglycérides sont hydrolysés en acides gras libres et en glycérol pour produire de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). De plus, le foie synthétise les lipoprotéines telles que la lipoprotéine à faible densité (LDL), la lipoprotéine à très basse densité (VLDL) et la lipoprotéine haute densité (HDL) (Sundaram et Yao, 2010). Il synthétise également les phospholipides et le cholestérol, dont certains sont liés à des lipoprotéines et sont disponibles pour d'autres tissus du corps (Maitre et Blicklé, 2008).

IV.6. Métabolisme des protéines

Le foie permet le métabolisme des neuf acides aminés essentiels par des transaminations et désaminations oxydatives et emmagasine les vitamines liposolubles (A, D, E et K) et les

oligo éléments (fer, cuivre). Il assure aussi la synthèse importante des protéines plasmatique (l'albumine) et des facteurs de la coagulation du sang ainsi que la production d'urée à partir de l'ammoniaque circulant (Böttcher *et al*, 2011).

V. Les marqueurs biologiques

Par ses nombreuses fonctions, le foie dispose de différents marqueurs permettant d'évaluer ses fonctions ou ses atteintes.

V.1. La bilirubine

La bilirubine est le résultat final du catabolisme de l'hème, étant dérivé de l'hémoglobine, elle est absorbé par les cellules hépatocellulaire, subit une catalyse et une conjugaison avec de l'acide glucuronique (bilirubine directe) avant d'être excrété dans la bile. En général, hyper bilirubinémie peut être causée par des pathologies préhépatiques (une hémolyse), des facteurs intra-hépatiques (une hépatite, une lésion des cellules hépatiques) ou occlusion post-hépatique (par exemple colestase). Le taux de "la bilirubine totale" est la somme des taux de bilirubine libre et conjuguée (Sakka, 2007).

V.2. Les transaminases ALT et AST

ALT (Alanine-aminotransférase) et AST (Aspartate-aminotransférase) sont des indicatrice sensibles de blessure, mais elles manquent de spécificité par ce que elles sont présentes dans plusieurs tissus notamment dans les muscles, les reins, et les globules rouges et dans le cytoplasme des hépatocytes, la concentration en ALAT est supérieure à celle de ASAT, dans le muscle c'est l'inverse. Ces transaminases peuvent être augmentées chez les patients présentant une cirrhose chronique hépatite, hépatite alcoolique, hépatite virale aiguë et les lésions ischémiques toxique (Yap et Aw, 2010b).

V.3. Les Phosphatases alcalines

Les Phosphatases alcalines (PAL) sont une famille d'enzyme à métal zinc, localisées dans les microvillosités des canalicules biliaires et au pôle sinusoïdal des hépatocytes. Les niveaux les plus élevés de PAL se produisent dans des cas des troubles cholestatiques ou d'atteinte osseuse. La colestase peut être intra hépatique (stéatose, cirrhose) ou extra hépatique (lithiase et obstruction biliaire) (Thapa et Walia, 2007).

VI. Les maladies du foie

VI.1. Le cancer

Le cancer du foie est le cinquième cancer le plus fréquent et la troisième cause de décès par cancer dans le monde. Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est la plus fréquente des tumeurs malignes primitives du foie et était le principal type parmi les tumeurs hépatiques diagnostiquées en Europe pour la période 1998-2002 (Ribes *et al*, 2008). Généralement, le CHC se développe sur fond de maladie du foie ou inflammation et cirrhose dans la majorité des cas. Tous les facteurs de risque de cirrhose du foie jouent un rôle dans la carcinogenèse hépatocellulaire. L'inflammation chronique (hépatite) entraîne des nécrose cellulaire puis régénération par induction de la prolifération cellulaire (Schütte *et al*, 2009) .

VI.2. La stéatose

La stéatose hépatique c'est un excès de graisse au niveau des cellules du parenchyme hépatique (les hépatocytes), à savoir plus de 5 % du poids du foie ou plus de 5% des hépatocytes chargés de gouttelettes lipidiques à l'histologie (Lanthier, 2018).

VI.3. L'hépatite

L'hépatite est un processus inflammatoire du foie, qui peut être aiguë ou chronique. La guérison est spontanée dans la plupart des cas d'hépatites virales aiguës, mais dans certains cas elles peuvent progresser vers une hépatite chronique (Koff, 1998). Les causes fréquentes d'hépatites sont les virus de l'hépatite, A ce jour, 5 virus provoquant une infection ciblée et une inflammation du foie ont été identifiés. Ces virus, désignés par les lettres A, B, C, D, et E (Abro *et al*, 2009).

VI.4. La fibrose

La fibrose hépatique est la réponse de cicatrisation tissulaire à diverses agressions chroniques du foie qu'elles soient d'origine virale, parasitaire .Elle peut évoluer vers une cirrhose et, si elle n'est pas évitée, elle peut entraîner un cancer du foie et une insuffisance hépatique. La fibrogène hépatique est une conséquence physiopathologique des lésions hépatiques chroniques caractérisées par une accumulation excessive de protéines de la matrice extracellulaire (Dhar *et al*, 2020).

VI.5. La cirrhose

La cirrhose du foie est une maladie chronique irréversible, elle est la conséquence des maladies du foie causées par le virus de l'hépatite, l'alcool, les troubles métaboliques, la colestase, les troubles circulatoires, l'auto-immunité, les substances toxiques, les médicaments. Les cirrhoses hépatiques sont caractérisées par la présence de tissu conjonctif et la formation de nodules de régénération après une nécrose ou inflammation. Ces problèmes entraînent une diminution de la fonction hépatique due à des troubles hépatocellulaires (Arakawa *et al*, 2004).

***Chapitre III: Le
stress oxydant***

I. Généralité

Le stress oxydatif reste toujours un sujet ouvert à être étudié car il est le facteur déclenchant originel de certaines pathologies comme : les tumeurs, les insuffisances rénales, les maladies hépatiques, les atteintes osseuses...etc (Favier, 2006).

Le stress oxydatif (oxydant) est défini comme étant la conséquence d'un déséquilibre entre les systèmes pro- producteurs d'espèces radicalaires oxydantes et les systèmes de défense anti- oxydantes au profit de premiers (Betteridge, 2000). Ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides ce qui entraînent une perturbation des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, l'altération de l'ADN avec un risque de mutation et de cancérisation.(Sergent *et al*, 2001)

Dans des circonstances normales, la production des radicaux libres est permanente mais faible. Une telle production physiologique mais elle est maîtrisée par des systèmes de défense, lesquels sont adaptatifs par rapport au niveau des radicaux présents. Dans ces cas normales, on dit que la balance antioxydants/peroxydant est équilibrée. Si il y a-t-il un déséquilibre, que ce soit par suite d'une production énorme de radicaux ou par déficit en antioxydants, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (**figure 06**) (Favier, 2006).

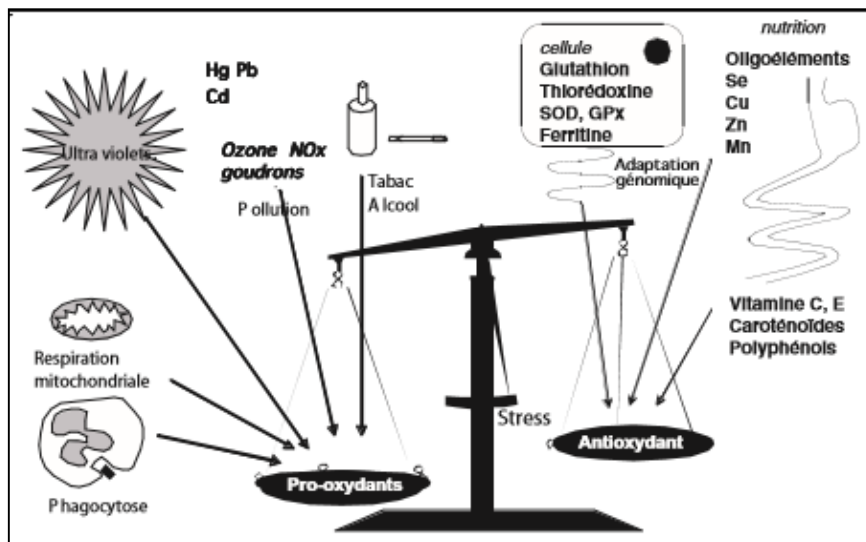


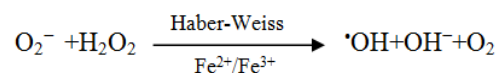
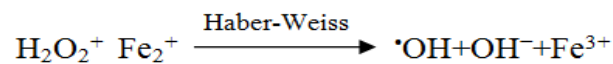
Figure 06: La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006).

II. Les radicaux libres

II.1. Définition d'un radical

Ce terme désigne tout atome, ou molécule chimique instable contenant un ou plusieurs électrons célibataire sur leur orbitale externe, produite en faibles quantités, réagir avec les molécules environnantes pour appairer cet électron célibataire, ce qui leur confère une extrême réactivité et toxicité (Leverve, 2009).

Les espèces activées de l'oxygène (EAO) sont principalement représentées par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$) et le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$). Ces deux dernières molécules sont des radicaux libres. Le radical ($\cdot\text{OH}$), considéré comme un des plus réactifs (a une demi-vie extrêmement courte) est obtenu par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss mettant en jeu l' H_2O_2 et l' $\text{O}_2^{\cdot-}$. Qui sont catalysées par le fer (Storz et Imlay, 1999)



Le fer est essentiel dans les processus d'oxydation soit indirectement en catalysant les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss soit directement sous la forme d'espèces de type ferryl ou perferryl ($\text{Fe}^{3+}\text{O}_2^{\cdot-}$) (Betteridge, 2000).

II.2. Les sources radicalaires

Les ERO sont produites au cours de différentes réactions chimiques. Elles peuvent être formées au niveau du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire, lors de la réduction tétravalente du dioxygène en eau, au cours du métabolisme physiologique. Dans la mitochondrie, on estime que 0,2 % à 0,4 % du dioxygène est à l'origine des ERO formées (Balaban *et al*, 2005).

Un autre système cellulaire enzymatique, représenté par les NADPH-oxydases membranaires (NOX), est à l'origine de la formation de radicaux superoxydes. D'autres systèmes faisant intervenir la xanthine-oxydase, les enzymes peroxysomales, lysosomales, du réticulum endoplasmique (dont les cytochromes P_{450} assurant l'oxydation des acides gras et la

détoxication des xénobiotiques), les enzymes de la voie de l'acide arachidonique et du noyau (via des cytochromes-oxydases), sont également responsables de la production d'ERO (Ouznadji et Desmons, 2020).

L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées qui sont le siège d'un phénomène appelé explosion oxydative consistant en l'activation du complexe de la NADPH oxydase, ce dernière enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes au niveau de la membrane cellulaire. Ce mécanisme, lorsqu'il est contrôlé, est capital dans la lutte anti-infectieuse car il permet la phagocytose des bactéries et des corps étrangers (Favier, 2003).

Les sources exogènes sont majoritairement des pro-oxydants environnementaux tels que les pesticides, la fumée de cigarettes, les polluants, la poussière (d'amiante, de silice), et les composés induits par la prise de certains médicaments, ou lors d'un coup de chaleur (Démarchez, 2012). Ils peuvent aussi être produits par des agents physiques. Ainsi, sous l'effet des rayonnements UVA, l' O_2 peut être transformé en oxygène singulet (1O_2). (Ouznadji et Desmons, 2020). Les métaux lourds (chrome, cuivre, vanadium), génèrent des radicaux hydroxyles, très réactifs, à partir de l'espèce peu réactive H_2O_2 , par la réaction de Fenton (Favier, 2003).

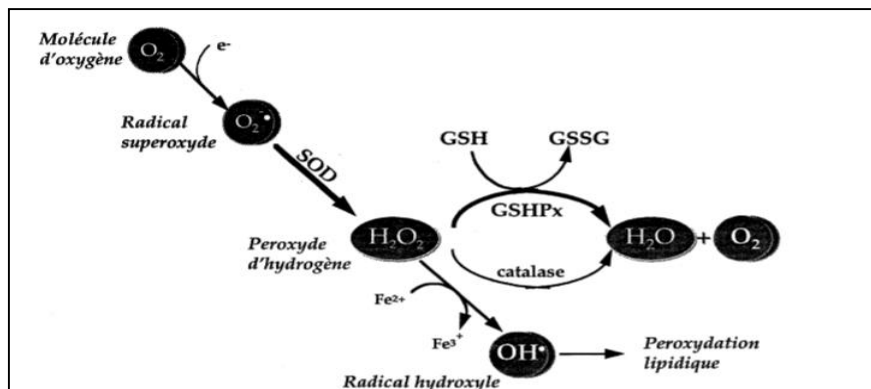


Figure 07: Principales étapes de production des espèces réactives de l'oxygène (Goudable et Favier, 1997).

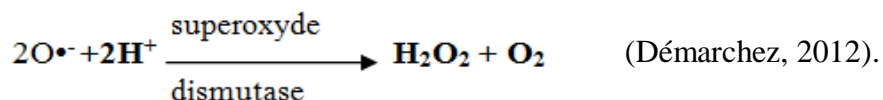
II.3. Le système antioxydant:

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydants et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003). Le système antioxydant C'est l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces actives de l'oxygène (Favier, 2003).L'organisme impliqué dans la prévention contre les ROS une activité anti -oxydants soit par la transformation des ROS en espèces moins toxiques, par l'empêchement de l'interaction entre espèces chimiques, ou par prévention ou réparation des lésions qui sont induites par les ROS . Ces systèmes peuvent être soit enzymatiques, soit non enzymatiques : (Démarchez, 2012).

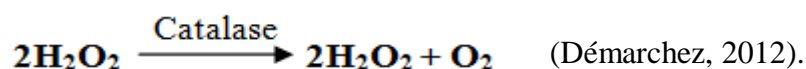
II.3.1. Les systèmes enzymatiques

Plusieurs enzymes sont impliquées dans la défense antioxydant. Les trois enzymes antioxydants majeures sont les superoxydes dismutases (SOD), les glutathions peroxydases (GPx) et la catalase (CAT) (Favier, 2003).

Les superoxydes dismutases (SOD) sont des métalloprotéines qui éliminent les radicaux superoxydes par dismutation du radical en H₂O₂ et en OH⁺ et OH⁻ (CuZn SOD dans le cytosol et les érythrocytes, Mn SOD dans la mitochondrie) (Burton et Jauniaux, 2011). Elles assurent d'élimination des radicaux superoxydes mais coustent l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusible et dangereux à distance (Goudable et Favier, 1997) selon la réaction suivante :



La voie de la catalase est une autre voie enzymatique qui permet de se débarrasser du radical libre moyennant la synthèse d'eau et d'oxygène (Leverve, 2009) selon la réaction suivant :

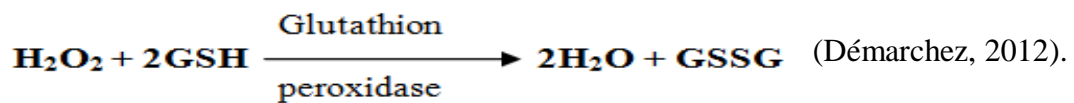


Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en

permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène pour empêcher la réaction de Fenton (Goudable et Favier, 1997).

Des glutathions peroxydases à sélénium existent dans le cytosol, dans le plasma, au niveau de la membrane cellulaire, et une iso enzyme est spécifique des cellules digestives (Favier, 2003). Elles sont quantitativement plus efficaces que la catalase (Goudable et Favier, 1997).

Ces enzymes sont sans doute le principal système de protection car elles détruisent non seulement H_2O_2 , mais aussi les peroxydes organiques toxiques formés par oxydation des acides gras ou du cholestérol (Favier, 2003) selon la réaction suivante :



L'activité de la glutathion peroxydase dépend de la présence de glutathion réduit (GSH) comme un donneur d'hydrogène (Burton et Jauniaux, 2011).

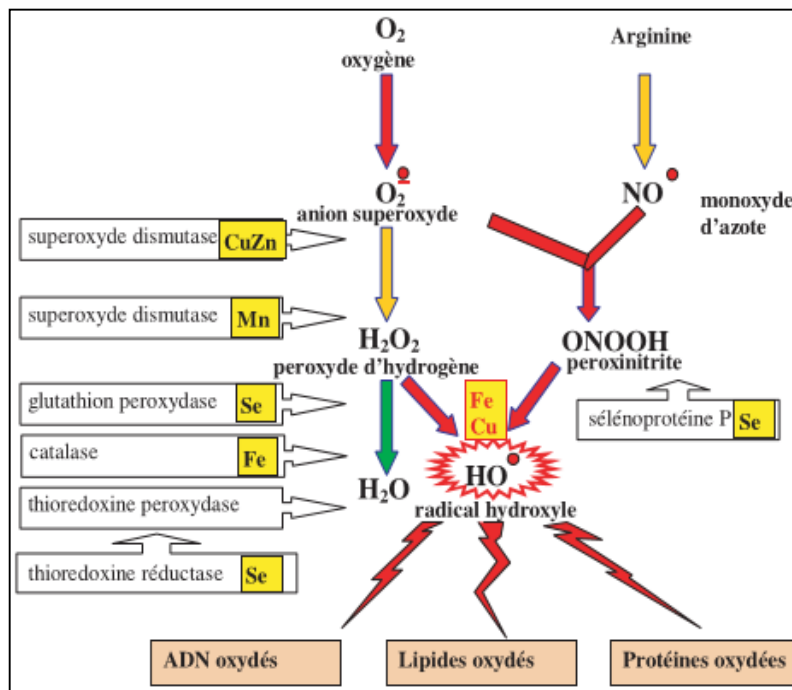
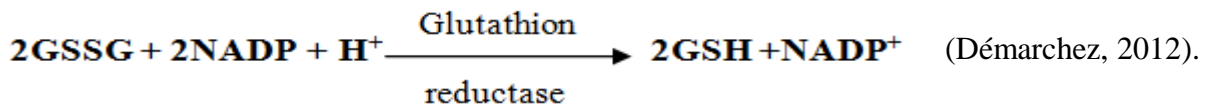


Figure 08 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

II.3.2. Les systèmes non-enzymatiques

La principale source d’approvisionnement de l’organisme en antioxydants exogènes sont les aliments soit d’origine animale, soit d’origine végétale. Les plus connus sont la vitamine E, la vitamine C et les polyphénols (Démarchez, 2012).

Les défenses non enzymatiques comprennent essentiellement l'ascorbate (vitamine C) et la tocophérol (vitamine E) (Burton et Jauniaux, 2011). Ce sont des composés apportés par les aliments qui agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire et les transformant en molécules ou ions stables. La vitamine piégeuse va devenir un radical, puis sera soit détruite, soit régénérée par un autre système. Ainsi, la vitamine E est régénérée par la vitamine C qui est elle-même régénérée par des enzymes. Ce type d'antioxydant est appelé piégeur ou éboueur « scavenger ». De très nombreux composés alimentaires peuvent aussi avoir ce comportement : polyphénols, alcaloïdes, phytates (Favier, 2003).

Le glutathion 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 résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GSHPX. Il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection anti-oxydante tels que la vitamine C ou la vitamine E (Goudable et Favier, 1997).

II.4. Maladies humaines liées à un stress oxydant

Dans plusieurs maladies graves, notamment celles liées au vieillissement, le stress oxydant est le facteur déclenchant originel (**Tableau 02**).

Tableau 02 : Relations entre les maladies et le stress oxydant (Favier, 2006).

Maladies dues à une production insuffisante de radicaux libres	Maladies où le stress oxydant est la cause primordiale	Maladies où le stress oxydant fait partie des facteurs déclencheurs	Maladies entraînant un stress oxydant secondaire
<p>Agranulomatose septique. Psoriasis</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Cancers • Auto-immunité • Cataracte • Dégénérescence maculaire latérale • Sclérose amyotrophique • Photo-veillissement cutané • Photosensibilisation • Irradiation • Intoxications: CCl₄, Cd, Fe, alcool, • Hémochromatose 	<ul style="list-style-type: none"> • Maladie d’Alzheimer • Stérilités masculines • Maladies virales : EBV, HVB • Rhumatismes • Athérome • Asthme • Insuffisance respiratoire 	<ul style="list-style-type: none"> • Diabète • Insuffisance rénale • Mucoviscidose • Sida • Choc septique • Infarctus du myocarde • Ischémies/reperfusion • Parkinson • Brûlures • Thalassémie

Etude
expérimentale

Matériel

Et

Méthodes

Le présent travail est effectué au niveau de laboratoire de recherche de Biotechnologie, Environnement et Santé de la faculté de Science de la Nature et de la Vie, Université de Jijel. Ce travail s'intéresse à l'étude de l'impact de l'exposition sub-chronique de l'imidaclopride chez le rat *Wistar albinos* sur le foie.

I- Matériel

I-1- Le choix de pesticide

Nous avons utilisé dans notre expérimentation l'insecticide imidaclopride sous le nom commerciale (Ultrapride 35 SC) qui appartient à la famille des néonicotinoïdes, le choix est fait selon une enquête sur l'utilisation des pesticides dans la wilaya de Jijel. Pour appuyer cette enquête, nous nous sommes rapprochés auprès des agriculteurs ainsi que des points de vente des produits phytosanitaires.

I-2- Matériel biologique et conditions d'élevage

L'expérience est réalisée sur 12 rats mâles, de souche *Wistar albinos* (180-285g). Les animaux sont maintenus dans des cages en polypropylène, avec libre accès à la nourriture et à l'eau. L'animalerie est soumise à une température entre 20 et 27 °C et une photopériode de 12/24h.

I-3- Traitement des animaux

Après une période d'adaptation de 15 jours, les rats sont répartis au hasard en deux groupes de six animaux, pour chacun:

- **Le 1^{er} groupe** : groupe témoins recevant 1 ml d'eau distillée quotidiennement pendant 28 jours par gavage gastrique.
- **Le 2^{ème} groupe** : rats traités par une dose de 22.5 mg/kg/Poids/jour de poids corporel, équivalent à 1/20 de la DL₅₀ de l'imidaclopride (le nom commerciale) par gavage gastrique, DL₅₀ = 450 mg/kg de poids corporel (Bal *et al*, 2012b).

1-4- Prélèvement du sang

Nous avons prélevé le sang au niveau de l'œil à l'aide d'un tube capillaire d'hématocrite à travers le sinus rétro-orbital, le sang est recueilli dans des tubes héparinés pour le dosage des paramètres biochimique et centrifugé à 3000 rpm pendant 15 min, le plasma est aliquote et conservé à une température -20 °C jusqu'au moment de dosage.

1-5- Sacrifice des animaux et prélèvement de foie

A la fin du traitement, et après un jeûn d'une nuit, les rats ont été sacrifiés après une anesthésie avec l'éther. Le foie de chaque rat est soigneusement prélevé, plongé et lavé dans l'eau physiologique (0,9%) pour éliminer le sang, puis divisé en 2 fraction, la fraction destinée aux dosages des paramètres du stress oxydatif est maintenue à (-20 °C), alors que la fraction destinée à l'étude histologique est conservée dans une solution de formol tamponné 10%.

II. Méthodes

II.1. L'évolution des poids absolus et relatif de foie

Le poids relatif de chaque organe a été calculé comme :

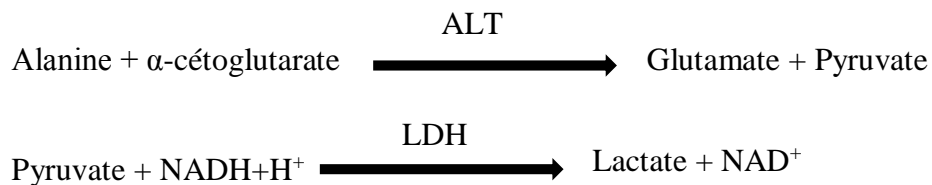
$$\text{Poids relatif} = \frac{\text{Poids de foie}}{\text{Poids corporel}} \times 100 \quad (\text{Abbassy et Mossa, 2012})$$

II.2.Exploration de la fonction hépatique

Les paramètres biochimiques mesurés pour évaluer l'atteinte hépatique sont : la transaminase glutamate-pyruvate (TGP), la transaminase glutamate-oxaloacétate (TGO), la phosphatase alcaline (PAL) plasmatique.

II.2.1. Dosage de la transaminase glutamate- pyruvate (TGP)

Le dosage de transaminase glutamate-pyruvate est réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit SPINREACT (Espagne). La transaminase glutamate-pyruvate (TGP) appelée aussi l'alanine aminotransférase (ALAT) 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 lactate-déshydrogénase (LDH) et le NADH selon les réactions suivantes :



Le taux de la diminution de la concentration en $\text{NADH} + \text{H}^+$, mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de l'alanine aminotransférase. Pour ce dosage nous avons mélangé et incubé 1ml de réactif avec 100 μ l de l'échantillon pendant 1 minute, puis nous avons mesuré les absorbances de l'échantillon pendant 3 minutes à une minute d'intervalle à 340 nm.

Calcul de la concentration

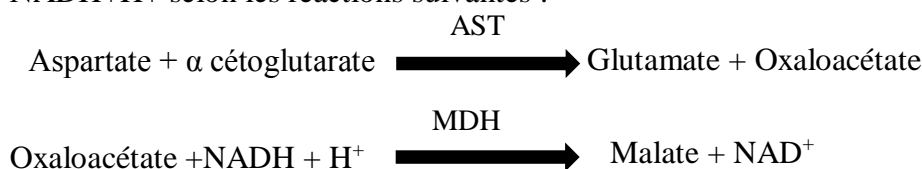
L'activité catalytique de la TGP est calculée par la formule suivante:

$$\text{Activité de TGP (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 1750$$

Où : A est l'absorbance.

II.2.2. Dosage de la transaminase glutamate-oxaloacétate (TGO)

Le dosage de transaminase glutamate-oxaloacétate est réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit SPINREACT (Espagne). La transaminase glutamate-oxaloacétate (TGO) appelée aussi l'aspartate aminotransférase (ASAT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α -cétooglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH+H⁺ selon les réactions suivantes :



Le taux de la diminution de la concentration en NADH+H⁺, mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de l'aspartate Aminotransférase. Pour ce dosage nous avons mélangé et incubé 1ml de réactif de travail avec 100 μ l de l'échantillon pendant 1 minute, puis nous avons lu les absorbances de l'échantillon pendant 3 minutes à une minute d'intervalle à 340 nm.

Calcul de la concentration

L'activité catalytique de la TGO est calculée par la formule suivante:

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

Où : A est l'absorbance.

II.2.3. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL) plasmatique

Pour réaliser ce dosage, nous avons utilisé des coffrets (Spinreact). La phosphatase alcaline catalyse l'hydrolyse de p-nitrophényl phosphate à pH 10.4 pour donner le p-nitrophénol et le phosphate (Wenger *et al*, 1984; Rosalki *et al*, 1993), selon la réaction suivant:



La formation de p-nitrophénol est mesurée spectre photométriquement. Où elle est proportionnelle à l'activité catalytique de la phosphatase alcaline dans l'échantillon. Après le

mélange on a incubé pendant une minute. On à lire à 405 nm l'absorbance initiale. On à lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes. La moyenne des absorbances est lire par minutes (Δ abs/min) pour l'utiliser dans les calculs.

Calcul de la concentration

Pour estimer l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline, on utilise la formule suivante :

$$\text{Phosphatase alcaline (U/L)} = \Delta \text{ DO/min} \times 3300$$

II.3.Exploration du stress oxydatif tissulaire hépatique

II.3.1. Préparation de la fraction cytosolique

Pour la préparation de la fraction cytosolique ; 1g du foie est homogénéisé avec une solution KCL (1,15%). L'homogénat obtenu est centrifugé pendant 10 minutes, à 2000 rpm et à 4°C à l'aide d'une centrifugeuse pour séparer les débris cellulaires, le surnageant obtenu est centrifugé pendant 5 minutes, à 1000 rpm et à 4°C. Le surnageant final est utilisé comme source d'enzymes cytosolique.

II.3.2.Dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976)

Cette méthode mesure la concentration protéique, est basée sur une réaction colorimétrique entre les protéines et le bleu brillant de coomassie (BBC) qui se lie avec les acides aminés aromatiques et les résidus hydrophobes des acides aminés présent dans les protéines. Le changement de l'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant lié, indiquant la concentration en protéines dans l'échantillon.

Pour le dosage des protéines, 50 μ l de la fraction cytosolique diluée au 1/5ème avec de l'eau distillée (100 μ l BSA pour la gamme étalon) sont ajoutés à 2 ml du réactif bleu brillant de coomassie (BBC). Après agitation et incubation à température ambiante pendant 5 mn, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 595 nm (Bradford, 1976). La concentration des protéines est déduite à l'aide de la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions par la BSA (Bovin Sérum Albumine) (voir annexe 01).

II.3.3. Evaluation de la peroxydation lipidique mitochondriale

La peroxydation lipidique est estimée par le dosage de malondialdéhyde (MDA) selon la méthode(Uchiyama et Mihara, 1978). MDA est l'un des produits terminaux de l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) par les radicaux libres libérés au cours de stress. En milieu acide et à chaud (100°C) une molécule d'MDA est condensée avec deux molécules de l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose.

A 0,25 ml de l'homogénat nous avons ajouté 1,5ml de l'acide phosphorique (1%) et 0.5ml de TBA (0,67 %). Ensuite nous avons chauffé le mélange à 100°C pendant 45 min, refroidis puis additionné 2 ml de n-butanol. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 rpm. La densité optique du complexe formé entre le MDA de l'échantillon et le TBA est mesurée à 532 nm et la concentration du MDA est exprimée en nmol/g tissue. Le taux de MDA est déduit à partir d'une droite d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions que les échantillons avec de 1, 1, 3, 3-tetraméthoxypropane « TEP ». La concentration en MDA est exprimée en nmol (annexe 02).

II.3.4.Mesure de l'activité des antioxydants

II.3.4.1.Mesure de l'activité des antioxydants enzymatiques

a) Mesure de l'activité de la catalase (CAT)

L'activité enzymatique de la CAT est déterminée par la méthode de (Claiborne, 1985). Le principe de cette méthode est basé sur la disparition du H₂O₂ en présence de la source enzymatique à 25°C selon la réaction suivante :



1 ml de tampon phosphate 0.1 M, pH 7.2 a été additionné de 0.95 ml de peroxyde d'hydrogène 0.019 M et 25 µl fraction cytosolique. Puis l'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie à 240 nm pendant 2 minutes. L'activité enzymatique de la catalase est exprimée en UI / mg de protéine selon la relation suivante:

$$\text{CAT (UI / mg de protéine)} = (2, 3033/T \cdot \text{Log } A1/A2) / \text{mg protéine}$$

Sachant que : A1: Absorbance au temps 0 mn

A2: Absorbance après 1 mn.

b)Evaluation de l'activité enzymatique de la Glutathion S-Transférase (GST) cytosolique

L'activité de la GST a été évaluée selon la méthode de (Habig *et al*, 1974) qui consiste à fournir à l'enzyme un substrat, en général du chlorodinitrobenzène (CDNB), qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et de glutathion, un mélange de 850 µl de tampon phosphate à 0,1 M de pH 6,5 et de 50 µl de CDNB à 20 mM a été préparé et incubé à 37°C pendant 10 min. La réaction est déclenchée par l'addition à ce mélange de 50 µl d'une solution de GSH à 20 mM et 50 µl de fraction cytosolique. Un contrôle est préparé dans les mêmes conditions avec du tampon phosphate. L'absorbance est mesurée par

spectrophotométrie à 340 nm toutes les minutes pendant 5 min. Les résultats sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{Enzyme (UI /ml)} = \frac{(\Delta A_{340}/\text{mintest} - \Delta A_{340}/\text{minblanc})}{V_t \times F_d \times 9.6 \times V_e}$$

V_t : volume total (ml) c.

F_d : facteur de dilution.

9.6 : coefficient d'extinction molaire (mM de glutathion- Chlorodinitrobenzène conjugué à 340 nm).

V_e : volume (ml) de l'enzyme utilisée.

Les résultats sont exprimés en UI/mg de protéines.

II.3.4.2. Mesure de l'activité des antioxydants non enzymatiques (GSH)

La méthode que nous avons employé (Akerboom et Sies, 1981) est basé sur l'évaluation du contenu en groupement –SH par spectrophotométrie.

Le principe de dosage des groupements –SH est basé sur leur réaction avec le réactif d'Ellman, le 5-5'-DiThiobis (2-acide nitrobenzoïque) (DTNB) pour former des quantités stœchiométriques de TNB (thiontrobenzoate), un composé jaunâtre ayant une densité optique maximale à $\lambda = 412$ nm. 50 μ l de la fraction cytosolique sont additionné a 10 ml de tampon phosphate 0.1 M, pH = 8. Après agitation, on a prélevé 3 ml de ce mélange auquel on a ajouté 20 μ l de la solution DTNB 0.01 M, après incubation pendant 15 minutes à température ambiante l'absorbance est lue à 412 nm. Le taux de GSH est déduit à partir d'une courbe d'étalonnage préparés dans les mêmes conditions (voir annexe 03), et dans laquelle l'absorbance est une fraction linéaire de la concentration en GSH (μ mol/ml). Les résultats sont exprimés en μ mol/mg de tissu.

II.4. Etude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau d'un laboratoire d'anatomie pathologique. La technique utilisée est celle décrite par (Houlod, 1984) qui comporte les étapes suivantes :

➤ **Fixation :**

La fixation est réalisée immédiatement après prélèvement des organes (foie, et rein) à température ambiante dans le liquide de Bouin. Les prélèvements réalisés sont alors mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

➤ **Déshydratation des échantillons :**

Les échantillons sont ensuite déshydratés pendant 12 heures au minimum pour éliminer l'eau des tissus et cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 80%, 90%, 100%).

➤ **Inclusion et réalisation des blocs :**

Les tissus sont alors plongés dans des bains de paraffine liquide (sous l'effet de la chaleur). Les tissus étant maintenus et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. Chaque bloc de paraffine est coupé à l'aide d'un microtome en coupes de 5µm d'épaisseur.

Les coupes sont étalées et collées sur des lames par l'utilisation d'une eau gélative chauffée.

➤ **La coloration :**

Pour la coloration, nous avons utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine qui nécessite la présence de l'alcool acide (100 ml d'alcool éthylique à 70% + 50ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100ml d'eau distillée + 2ml d'ammoniaque) et solution d'Eosine (100 ml Eosine solution aqueuse à 3%, 125 ml alcool éthylique à 95%, 375 ml eau distillée et 2 gouttes d'acide acétiques) Enfin les lames sont déshydratées, éclaircies et montrées à Eukitt. tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau du robinet.

II-5- Evaluation statistique

L'étude statistique a été effectuée à l'aide d'un logiciel statistique nommé SPSS version 20 (IBM SPSS Statistics 20). Les résultats sont exprimés de manière générale sous la forme : moyenne ± écart type.

❖ $P > 0.05$: la différence n'est pas significative.

❖ $P < 0.05$: la différence est significative (*).

- ❖ $P < 0.01$: la différence est très significative (**).
- ❖ $P < 0.001$: la différence est hautement significative (***)

Résultats et discussion

I. Résultats

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'effet de l'insecticide commercial à base d'imidaclopride sur les paramètres du stress oxydant et le fonctionnement du foie. Cet effet a été estimé après 4 semaines de traitement des rats (Toxicité sub chronique).

I.1. Variations du poids relatif du foie

Le poids corporel des deux lots est augmenté d'une façon naturel cette augmentation est due a sont accès libre a l'alimentation. Aucune mortalité n'a été observée dans tous les groupes au cours de la période expérimentale.

Notre étude nous a permis de suivre les variations des poids relatif du foie au niveau du lot et nous avons enregistré une augmentation non significative $P > 0.05$ par rapport au lot témoin.

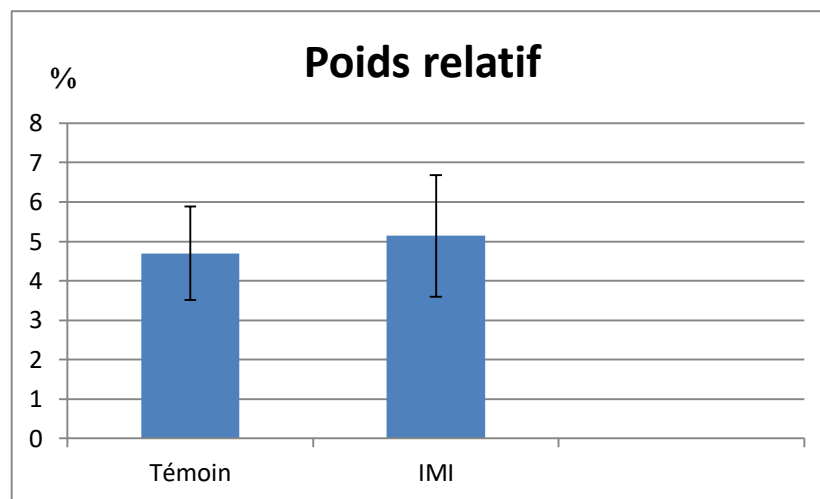


Figure 09 : Variations du poids relatifs (%) chez les rats témoins et les rats traités par l'imidaclopride.

Chaque valeur est exprimée en Moyenne \pm écart-type. Teste de student $P > 0.05$: la différence n'est pas significative. $P < 0.05$: la différence est significative (). $P < 0.01$: la différence est très significative (**). $P < 0.001$: la différence est hautement significative (***) comparativement au groupe témoin.*

I.2. Action sur certains biomarqueurs de la fonction hépatique

Tableau 03: évolution de l'activité enzymatique (U/L) chez les rats témoins, et les rats traités par les l'imidaclopride.

Chaque valeur est exprimée en moyenne \pm écart-type. Significativité statistique. $p < 0,001$: résultat hautement significatif (***), $p < 0,01$: résultat très significatif (**), $p < 0,05$: résultat significatif (*), $p > 0,05$: non significatif (NS),

	ASAT	ALAT	PAL
Témoin	72.16 \pm 4.95	69.40 \pm 3.84	121.50 \pm 10.63
IMI	103.60*** \pm 13.39	88.75*** \pm 4.34	214.00*** \pm 13.47

I.2. 1. La variation des activités enzymatiques des aminotransférases

Nos résultats sont illustrés dans la figure 10 et qui montrent que les rats traités par l'IMI ont enregistré une augmentation statistiquement hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité enzymatique d'ALAT et ASAT par rapport au lot témoin.

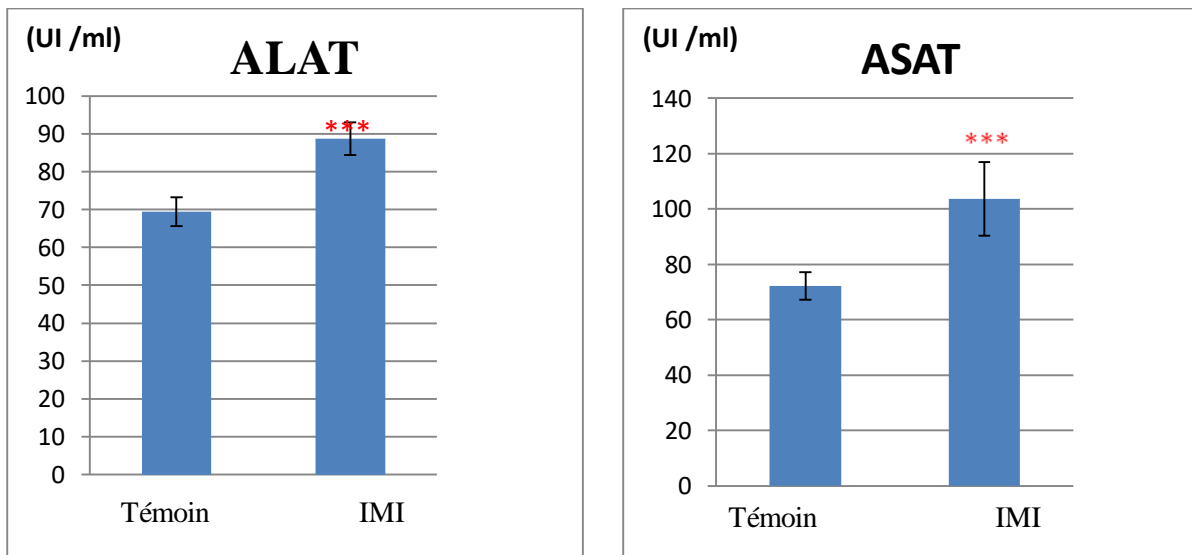


Figure 10 : Effet d'imidaclopride sur la concentration des aminotransférases (ALAT) et (ASAT).

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Teste de student $P > 0.05$: la différence n'est pas significative. $P < 0.05$: la différence est significative (*). $P < 0.01$: la différence est très significative (**). $P < 0.001$: la différence est hautement significative (***) comparativement au groupe témoin.

I.2. 2. La variation des activités enzymatiques de la phosphatase alcaline (PAL)

Notre étude nous a permis de suivre les variations de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline (PAL) chez les rats témoins et les rats traités par l'imidaclopride. Ces variations sont représentées dans la **figure 11**. Les rats des groupes qui sont traités par IMI, ont connus une augmentation hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL) comparativement au lot témoin.

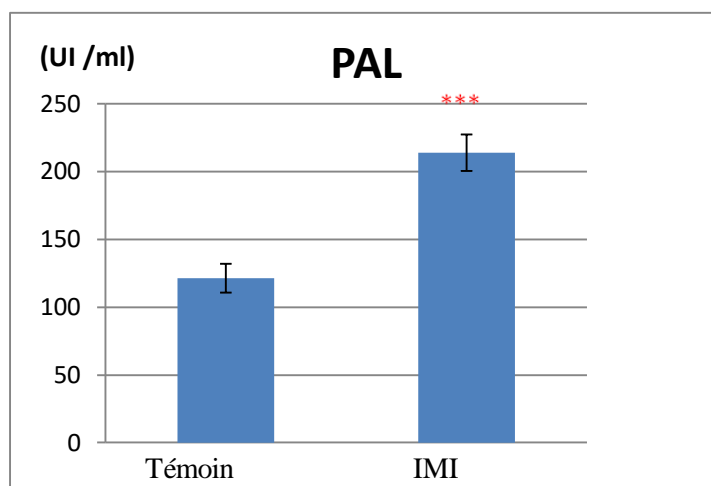


Figure 11 : Effet de l'IMI sur le taux de PAL dans le plasma des rats traités et non traités.

Chaque valeur est exprimée en moyenne \pm écart-type. Significativité statistique. $p < 0,001$: résultat hautement significatif (***), $p < 0,01$: résultat très significatif (**), $p < 0,05$: résultat significatif (*), $p > 0,05$: non significatif (*) : relatif au témoin.

1.3. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif hépatique

1.3.1. Effets sur le taux de GSH dans le foie

La variation de la concentration du glutathion réduit chez les rats traités par IMI en comparaison avec les rats témoins est illustrée dans la **figure 12**. L'administration d'IMI chez des rats du lot traité, a pu provoquer une diminution significative ($p < 0,05$) du GSH comparativement au lot témoin.

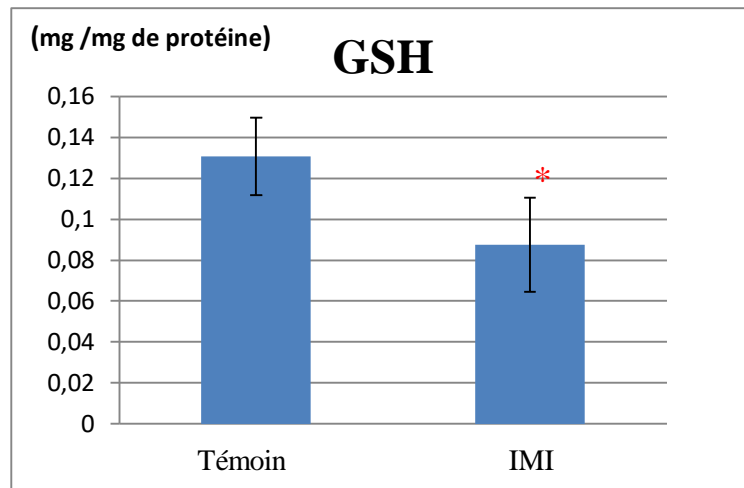


Figure 12 : Effet de l'imidaclopride sur le taux de la GSH hépatique chez les groupes T,IMI. Chaque valeur est exprimée en moyenne \pm écart-type. Significativité statistique. $p < 0,001$: résultat hautement significatif (***), $p < 0,01$: résultat très significatif (**), $p < 0,05$: résultat significatif (*), $p > 0,05$: non significatif (NS),

1.3.2. Effets sur l'activité de la glutathion S-transférase (GST)

L'administration du l'IMI pendant 4 semaines chez les rats induit une diminution non significative $P > 0.05$ de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) dans le foie par rapport aux rats témoins.

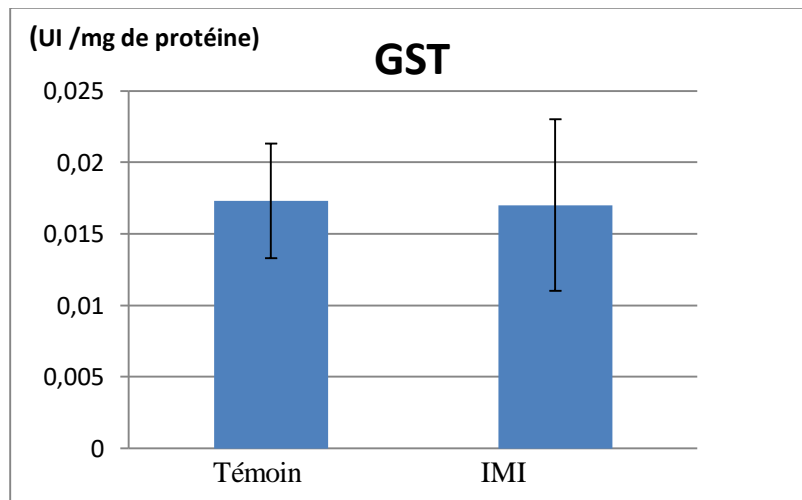


Figure 13 : Effet d'imidaclopride sur le taux de GST cytosolique dans le foie.

Chaque valeur est exprimée en moyenne \pm écart-type. Significativité statistique. $p < 0,001$: résultat hautement significatif (***), $p < 0,01$: résultat très significatif (**), $p < 0,05$: résultat significatif (*), $p > 0,05$: non significatif (NS),

1.3.3. Variation de l'activité de la catalase

La **Figure14** montre que l'administration d'IMI induit une augmentation significative ($P < 0.05$) de l'activité du CAT après exposition sub chronique chez les rats traités par la IMI comparativement au groupe témoin.

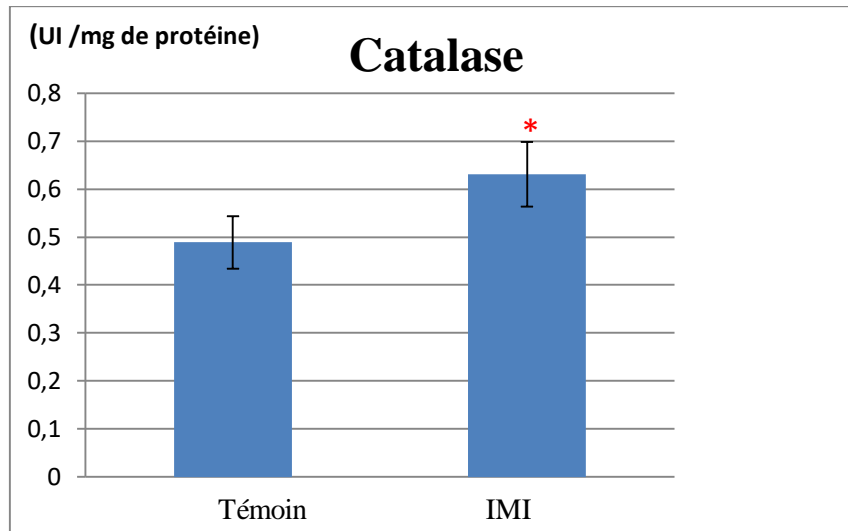


Figure 14 : Effet de l'imidaclopride sur le taux de la catalase chez les groupes T, IMI.

Chaque valeur est exprimée en moyenne \pm écart-type. Significativité statistique. $p < 0,001$: résultat hautement significatif (***), $p < 0,01$: résultat très significatif (**), $p < 0,05$: résultat significatif (*), $p > 0,05$: non significatif (NS),

1.3.4. Effet sur les taux de MDA dans le foie

D'après les résultats obtenus, on observe une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) de la concentration de l'MDA chez le groupe traité par l'IMI en comparant au groupe témoin.

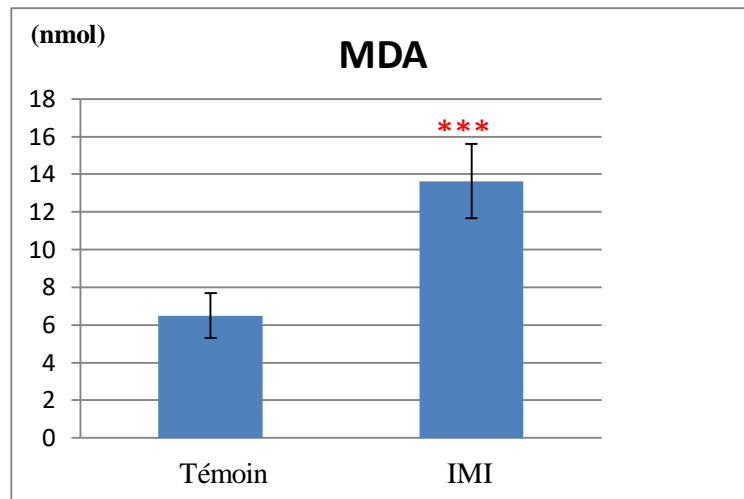


Figure 15 : Influence de l'administration d'IMI sur la peroxydation lipidique (taux de l'MDA).

Chaque valeur est exprimée en moyenne \pm écart-type. Significativité statistique. $p < 0,001$: résultat hautement significatif (***), $p < 0,01$: résultat très significatif (**), $p < 0,05$: résultat significatif (*), $p > 0,05$: non significatif (NS) : comparativement au groupe témoin

I.4. Etude histologique du foie

Les coupes histologiques du foie des rats témoins et traités par L'IMI ont été réalisés pour observer les changements tissulaires qui peuvent être apparaître suite à l'exposition.

L'histologie des foies des rats témoins montre une architecture conservée, des hépatocytes normaux, organisés en travées autour de veines centro-lobulaires. Tandis que l'architecture des foies des rats traités par l'IMI présente plusieurs modifications tels que :

- L'architecture bouleversée avec perte d'organisation tubulaire.
- Signe de colestase.
- Ballonisation et clarification hépatocytaire.
- Nécrose hépatocytaire et cellules lymphocytaire assez nombreuses autour de la vaine centro-lobulaires avec une inflammation.

II. Discussion :

Dans la présente étude, des dosages concernant les paramètres biochimiques (TGO, TGP, PAL), le stress oxydatif (MDA) et le statut antioxydant enzymatique (catalase, GST) et non enzymatique (GSH) ainsi qu'une étude histologique ont été réalisés, suite à une exposition sub-chronique des rats à une dose équivalente de 1/20 de la DL_{50%} d'un insecticide appartenant à la famille des néonicotinoïdes, l'imidaclopride afin de déterminer leur effet hépatotoxique.

II.1. L'effet de l'imidaclopride sur le poids relatif de foie

L'administration d'imidaclopride pendant 28 jours provoquée une augmentation statistiquement non significative ($P > 0.05$) de poids relatif du foie, cette augmentation est due probablement à la sécrétion massive des enzymes au cours de la détoxification (Bhardwaj *et al*, 2010).

II.2. L'altération du statu redox cytosolique du foie

II.2.1. L'altération des paramètres antioxydant

La production physiologique des ROS est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes comme le catalase, les glutathion S-transférase, et de molécules antioxydants de petite taille comme la glutathion (Pincemail *et al*, 2002) donc ces derniers permet indirectement l'évaluation de la production des ROS (Orabi *et al*, 2013).

Le glutathion réduit (GSH) joue un rôle critique dans plusieurs processus biologiques importants, notamment le maintien de groupes sulfhydrile essentiel sur les protéines membranaires, le nettoyage des ROS par la formation de glutathion oxydé (GSSG) et d'autres disulfures, les réactions de désintoxication des xénobiotiques impliquant la GST, la dégradation des peroxydes intracellulaires et la régulation de l'état d'oxydoréduction cellulaire (Pralathan *et al*, 2004). Une baisse de son niveau cellulaire a été considéré comme indicateur du stress oxydatif (Taleb-Senouci *et al*, 2009).

Dans la présente étude, nous avons constaté une baisse significative ($P < 0.05$) du taux hépatique en GSH chez les rats traités par IMI par rapport aux sains témoins. (Lohiya *et al*, 2017) ont également enregistré des résultats similaires, ils constaté que l'imidaclopride a supprimé de manière significative la concentration de GSH dans le foie.

Cette diminution dans le groupe IMI est due très probablement à son implication dans le système de détoxification pour neutraliser les espèces radicalaires toxiques générées par l'IMI.

Le catalase (CAT) est une enzyme péroxydomales, particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. Il réduit le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en libérant de l'oxygène et d'eau dont le rôle est de prévenir les peroxydations des molécules biologiques induites par l'eau oxygénée (Goudable et Favier, 1997).

Dans notre étude, l'évaluation du système enzymatique antioxydant a mis en évidence une augmentation significative ($P < 0.05$) de la CAT chez les rats traités par l'IMI comparativement aux sains témoins, nos résultats sont en accord avec les autres rapports publiés comme (El-Halwagy *et al*, 2018). La CAT est parmi les enzymes les plus puissantes contre les ROS et qui est utilisée comme un agent détoxifiants.

Le GST est une enzyme antioxydant joue un rôle critique dans la protection des cellules contre les électrophiles et les produits d'oxydation du stress en catalysant la conjugaison du glutathion à une variété de composés électrophiles (phase II de la détoxification) (El-Shenawy, 2010).

Dans la présente étude, nous avons constaté une baisse non significative ($P > 0.05$) du taux hépatique en GST chez les rats traités par IMI par rapport aux sains témoins, (El-Gendy *et al*, 2010 ; Yang *et al*, 2020) ont également enregistré des résultats similaires avec des doses faibles de l'IMI, et il a été interprété que l'imidaclopride a un effet non seulement sur l'activité de GST mais aussi éventuellement au niveau de l'expression génétique des GST, car l'initiation de la régulation de l'ARNm GST nécessite une dose élevée de l'IMI.

II.2.2. Augmentation du taux de MDA

Dans notre étude, nous avons trouvé que l'administration de l'IMI provoque un stress oxydatif révélé par une augmentation hautement significatif ($P < 0.001$) du MDA hépatique qui est un marqueur de la peroxydation lipidique. Des résultats identiques ont été obtenus par (Duzguner et Erdogan, 2012).

Les ERO sont capables d'induire une peroxydation lipidique, il s'agit d'une dégradation des acides gras polyinsaturés en sous-produits parmi les : le MDA (Misra *et al*, 2009).

Les hydroperoxydes lipidiques formés par l'attaque des radicaux libres sur les résidus d'acides gras polyinsaturés des phospholipides peuvent encore réagir avec les métaux redox (comme le Fe^{2+} et le Fe^{3+}), produisant finalement un malondialdéhyde mutagène et cancérigène (Ścibior *et al.*, 2006).

II.3. Dysfonctionnement hépatique (augmentation du taux sanguin du TGO, TGP et PAL)

L'administration d'imidaclopride pendant 04 semaines chez les rats mâles de la souche *Wistar* a provoqué une perturbation au niveau des paramètres biochimiques. Les transaminases (AST et ALT) et phosphatase alcaline PAL dans le sérum reflètent l'activité fonctionnelle du foie. Ces enzymes sont utilisées comme des indicateurs des dommages cellulaires et de l'altération de la perméabilité membranaire (Yap et Aw, 2010).

Le traitement des rats par l'imidaclopride induit une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de l'activité enzymatique des transaminases et de phosphatase alcaline (PAL) dans le tissu hépatique. C'est probablement en raison d'une exposition prolongée aux pesticides quand le niveau d'enzymes a augmenté pendant la détoxification des pesticides, qui peut éventuellement être basée sur la mutation de gènes responsables de la synthèse de ces enzymes (Toor *et al.*, 2013). Cela peut être dû à la dégénérescence et à la nécrose des hépatocytes, qui attribuent une perméabilité accrue de la membrane cellulaire qui entraîne la libération de transaminases dans la circulation sanguine (Soujanya *et al.*, 2013).

Ces résultats étaient corrélés avec les changements histopathologiques et ultra structuraux observés dans le foie des rats du groupe imidaclopride. L'hépatotoxicité observée dans la présente étude peut être attribuée aux espèces réactives de l'oxygène (ROS) induites par l'imidaclopride,

II-4- Les changement histologique du foie

Concernant les résultats de l'étude histopathologiques des foies des rats traités par l'IMI on a observés plusieurs modifications comme l'architecture bouleversée avec perte d'organisation tubulaire. Signe de colestase, ballonisation et clarification, Nécrose hépatocytaire et les cellules lymphocytaire assez nombreuse autours de la vaine centrolobulaire (inflammation). Des résultats semblables sont montrés par d'autres auteurs (Johnson *et al.*, 2012), (Toor *et al.*, 2013) et (Chakroun *et al.*, 2017).

L'imidaclopride est également connue pour provoquer un stress oxydatif et une inflammation du foie chez les rats. Cet état de stress oxydatif favorise les réactions en cascade des radicaux libres par augmentation de la peroxydation lipidique suite à l'interaction entre les ERO et les membranes cellulaires qui causé l'augmentation du niveau intracellulaire du MDA et la déformation de la structure des membranes perméabilité et Perte d'organisation tubulaire et la mort cellulaire (Kebièche *et al.*, 2011). La nécrose dans les hépatocytes et la libération de cytokines inflammatoires, augmentant ainsi l'expression des molécules d'adhésion et l'infiltration de leucocytes. Une combinaison de tous ces processus provoque une destruction massive des tissus de foie (Mohamed *et al.*, 2016).

La présente étude révèle que l'administration orale d'IMI a causé des dommages au niveau du foie chez les rats, comme preuve une augmentation significative des niveaux plasmatique d'AST, ALT et PAL par rapport au groupe témoin. Les niveaux accrus de ces enzymes cellulaires pourraient être dus à la dégénérescence et à la nécrose des hépatocytes, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire avec fuite de ces biomarqueurs dans le sang (Mahajan *et al.*, 2018).

Dans la présente étude, notre analyse histopathologiques a également révélé infiltration lymphoïde comme signe d'inflammation et d'irritabilité cellulaire chez les rats traités, y compris la dilatation de la veine centrale et infiltration leucocytaire dans le tissu hépatique (Mohany *et al.*, 2011).

L'hépatocyte présentait une perte de leur architecture normale, et ballonnisation et clarification comme des signes de stéatose hépatique, qui due à cause de l'accumulation de le MDA produit de la peroxydation lipidique.

Conclusion

Plusieurs études in-vivo ont découvert que les néonicotinoïdes est capable d'induire une toxicité au niveau des différents organes.

L'ensemble de nos travaux a permis de prouver que l'imidaclopride a une toxicité remarquable au niveau du foie.

Les résultats obtenus dans la présente étude, ont permis de conclure que l'exposition sub-chronique des rats à l'imidaclopride provoqué une induction du système de détoxification ainsi qu'une hépatotoxicité. Par l'augmentation de l'activité de la CAT et un accroissement significatif du niveau de MDA indiquant l'augmentation de la peroxydation lipidique et diminution de façon significative le taux de GSH ainsi que une augmentation non significative de la GST. De plus, des augmentations hautement significatives des taux sériques ASAT, ALAT, et PAL. Ces résultats sont accompagnés par des changements morphologiques remarquables et des altérations qui ont touché l'architecture du tissu hépatique étudié.

Cette étude reste préliminaire, elle nécessite d'autres études à l'échelle moléculaire pour développer le mécanisme de la toxicité hépatique des néonicotinoïdes et en particulier de l'imidaclopride et à déterminer la toxicité à d'autres niveaux (étude de génotoxicité pour la recherche d'un dommage d'ADN). Et autres études qui utilisent des doses faibles proches de la NOALE dans une période prolongée.

Références bibliographiques

Références

- ABBASSY, M. & MOSSA, A. 2012. Haemato-biochemical effects of formulated and technical cypermethrin and deltamethrin insecticides in male rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 7, 312-321.
- ABDEL-MISIH, S. R. & BLOOMSTON, M. J. T. S. C. O. N. A. 2010. Liver anatomy. 90, 643.
- ABRO, A. H., ABDU, A., SALEH, A. A., USTADI, A. M. & HUSSAINI, H. S. J. J. P. M. A. 2009. Hepatitis E: a common cause of acute viral hepatitis. 59, 92-4.
- ABUBAKAR, Y., TIJANI, H., EGBUNA, C., ADETUNJI, C. O., KALA, S., KRYEZIU, T. L., IFEMEJE, J. C. & PATRICK-IWUANYANWU, K. C. 2020. Chapter 3 - Pesticides, History, and Classification. In: EGBUNA, C. & SAWICKA, B. (eds.) *Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control*. Academic Press.
- ADEVA-ANDANY, M. M., PÉREZ-FELPETE, N., FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, C., DONAPETRY-GARCÍA, C. & PAZOS-GARCÍA, C. J. B. R. 2016. Liver glucose metabolism in humans. 36, e00416.
- AJERMOUN, N., AGHRIS, S., FARAHI, A., LAHRICH, S., SAQRANE, S., BAKASSE, M. & EL MHAMMEDI, M. A. J. I. J. O. E. A. C. 2021. Electrochemical reduction of neonicotinoids insecticides catalysed by metallic silver: case of the detection of imidacloprid in tomato and orange juices. 101, 585-597.
- AKERBOOM, T. P. & SIES, H. 1981. [48] Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods in enzymology*. Elsevier.
- AMARAL, A. 2014. Pesticides and Asthma: Challenges for Epidemiology. 2.
- ARAKAWA, Y., MORIYAMA, M. & ARAKAWA, Y. J. H. R. 2004. Liver cirrhosis and metabolism (sugar, protein, fat and trace elements). 30, 46-58.
- BAL, R., NAZIROĞLU, M., TÜRK, G., YILMAZ, Ö., KULOĞLU, T., ETEM, E., BAYDAS, G. J. C. B. & FUNCTION 2012a. Insecticide imidacloprid induces morphological and DNA damage through oxidative toxicity on the reproductive organs of developing male rats. 30, 492-499.
- BAL, R., TÜRK, G., TUZCU, M., YILMAZ, O., KULOĞLU, T., GUNDOĞDU, R., GÜR, S., AGCA, A., ULAS, M. & ÇAMBAY, Z. 2012b. Assessment of imidacloprid toxicity on reproductive organ system of adult male rats. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 47, 434-444.

- BALABAN, R. S., NEMOTO, S. & FINKEL, T. 2005. Mitochondria, Oxidants, and Aging. *Cell*, 120, 483-495.
- BESSAGUET, F. & DESMOULIÈRE, A. 2021. Le foie. *Actualités Pharmaceutiques*, 60, 57-61.
- BETTERIDGE, D. J. J. M. 2000. What is oxidative stress? 49, 3-8.
- BHARDWAJ, S., SRIVASTAVA, M., KAPOOR, U. & SRIVASTAVA, L. 2010. A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: morphological, biochemical and histopathological evaluations. *Food and chemical toxicology*, 48, 1185-1190.
- BIZERRA, P. F., GUIMARÃES, A. R., MIRANDA, C. A., CONSTANTIN, R. P., UTSUNOMIYA, K. S., GILGLIONI, E. H., CONSTANTIN, J., ISHII-IWAMOTO, E. L., MAIOLI, M. A., MINGATTO, F. E. J. P. B. & PHYSIOLOGY 2020. Enhanced cytotoxicity of imidacloprid by biotransformation in isolated hepatocytes and perfused rat liver. 164, 183-190.
- BÖTTCHER, J. P., KNOLLE, P. A. & STABENOW, D. 2011. Mechanisms balancing tolerance and immunity in the liver. *Digestive diseases*, 29, 384-390.
- BRADFORD, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72, 248-254.
- BRAEUNING, A., ITTRICH, C., KÖHLE, C., HAILFINGER, S., BONIN, M., BUCHMANN, A. & SCHWARZ, M. J. T. F. J. 2006. Differential gene expression in periportal and perivenous mouse hepatocytes. 273, 5051-5061.
- BURTON, G. J. & JAUNIAUX, E. 2011. Oxidative stress. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 25, 287-299.
- CELTON-MORIZUR, S., DESDOUETS, C. J. P. & CANCER 2010. Polyploidization of liver cells. 123-135.
- CHAKROUN, S., GRISSA, I., EZZI, L., AMMAR, O., NEFFATI, F., KERKENI, E., NAJJAR, M. F., HAOUAS, Z. & CHEIKH, H. B. 2017. Imidacloprid enhances liver damage in Wistar rats: Biochemical, oxidative damage and histological assessment. *Journal of Coastal Life Medicine*, 5, 540-546.
- CLAIBORNE, A. 1985. CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research; Greenwald, R A., Ed. CRC Press: Boca Raton, FL.
- CLINE, J. C. J. A. T. I. H. & MEDICINE 2015. Nutritional aspects of detoxification in clinical practice. 21.

- DAMALAS, C. A. & ELEFTHEROHORINOS, I. G. 2011. Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. 8, 1402-1419.
- DAMALAS, C. A., ELEFTHEROHORINOS, I. G. J. I. J. O. E. R. & HEALTH, P. 2011. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. 8, 1402-1419.
- DAVID, D., GEORGE, I. A. & PETER, J. V. 2007. Toxicology of the newer neonicotinoid insecticides: Imidacloprid poisoning in a human. *Clinical Toxicology*, 45, 485-486.
- DÉMARCHEZ, M. 2012. Le stress oxydant cutané.
- DHAR, D., BAGLIERI, J., KISSELEVA, T., BRENNER, D. A. J. E. B. & MEDICINE 2020. Mechanisms of liver fibrosis and its role in liver cancer. 245, 96-108.
- DUZGUNER, V. & ERDOGAN, S. 2012. Chronic exposure to imidacloprid induces inflammation and oxidative stress in the liver & central nervous system of rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 104, 58-64.
- DUZGUNER, V., ERDOGAN, S. J. P. B. & PHYSIOLOGY 2010. Acute oxidant and inflammatory effects of imidacloprid on the mammalian central nervous system and liver in rats. 97, 13-18.
- EL-GENDY, K. S., ALY, N. M., MAHMOUD, F. H., KENAWY, A. & EL-SEBAE, A. K. H. 2010. The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 215-221.
- EL-HALWAGY, M. E., HUSSEIN, R. H., HAMZA, A. H. & AL-BISHRI, W. M. 2018. Hepatoprotective Effect of Alpha lipoic Acid versus Intoxication with Imidacloprid Widely Used in KSA in Albino Rats. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL RESEARCH AND ALLIED SCIENCES*, 7, 224-+.
- FAVIER, A. Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales pharmaceutiques françaises*, 2006. Elsevier, 390-396.
- FAVIER, A. J. L. A. C. 2003. Le stress oxydant. 108, 863-832.
- Footprint. The FOOTPRINT pesticide properties database. Database collated by the University of Hertfordshire as part of the EU-funded FOOTPRINT project (FP6-SSP- 022704), 2011.
- GILL, H. K. & GARG, H. J. P.-T. A. 2014. Pesticide: environmental impacts and management strategies. 8, 187.
- GOEL, A. & AGGARWAL, P. 2007. Pesticide poisoning. *The National medical journal of India*, 20, 182-91.
- GOUDABLE, J. & FAVIER, A. 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11, 115-120.

- HABIG, W. H., PABST, M. J. & JAKOBY, W. B. 1974. Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249, 7130-7139.
- HASSAN, A. M. S., ABO EL-ELA, F. I. & ABDEL-AZIZ, A. M. 2019. Investigating the potential protective effects of natural product quercetin against imidacloprid-induced biochemical toxicity and DNA damage in adults rats. *Toxicology Reports*, 6, 727-735.
- HERNÁNDEZ, A. F., LACASAÑA, M., GIL, F., RODRÍGUEZ-BARRANCO, M., PLA, A. & LÓPEZ-GUARNIDO, O. 2013. Evaluation of pesticide-induced oxidative stress from a gene–environment interaction perspective. *Toxicology*, 307, 95-102.
- HUSSEIN, M. & SINGH, V. J. J. O. T. A. S. O. I. 2016. Effect on chick embryos development after exposure to neonicotinoid insecticide imidacloprid. 65, 83-89.
- JOHNSON, W. M., WILSON-DELFOSE, A. L. & MIEYAL, J. 2012. Dysregulation of glutathione homeostasis in neurodegenerative diseases. *Nutrients*, 4, 1399-1440.
- KAN, Z. & MADOFF, D. C. Liver anatomy: microcirculation of the liver. *Seminars in interventional radiology*, 2008. Thieme Medical Publishers, 77.
- KAUR, R., MAVI, G., RAGHAV, S. & KHAN, I. 2019. Pesticides Classification and its Impact on Environment. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8, 1889-1897.
- KEBIÈCHE, M., LAKROUN, Z., MRAÏHI, Z. & SOULIMANI, R. 2011. Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie*, 9, 274-282.
- KIM, K.-H., KABIR, E. & JAHAN, S. A. 2017. Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the total environment*, 575, 525-535.
- KOFF, R. S. J. T. L. 1998. Hepatitis a. 351, 1643-1649.
- LALA, V., GOYAL, A., BANSAL, P. & MINTER, D. A. J. S. 2020. Liver function tests.
- LANTHIER, N. J. L. M. 2018. La NASH en 2018. 137, 308-313.
- LEVERVE, X. J. C. D. N. E. D. D. 2009. Stress oxydant et antioxydants? 44, 219-224.
- LOHIYA, A., KUMAR, V. & PUNIA, J. 2017a. Imidacloprid induced oxidative stress and histopathological changes in liver of rats. *Indian J. Anim. Res*, 51, 531-536.
- LOHIYA, A., KUMAR, V. & PUNIA, J. J. I. J. A. R. 2017b. Imidacloprid induced oxidative stress and histopathological changes in liver of rats. 51, 531-536.

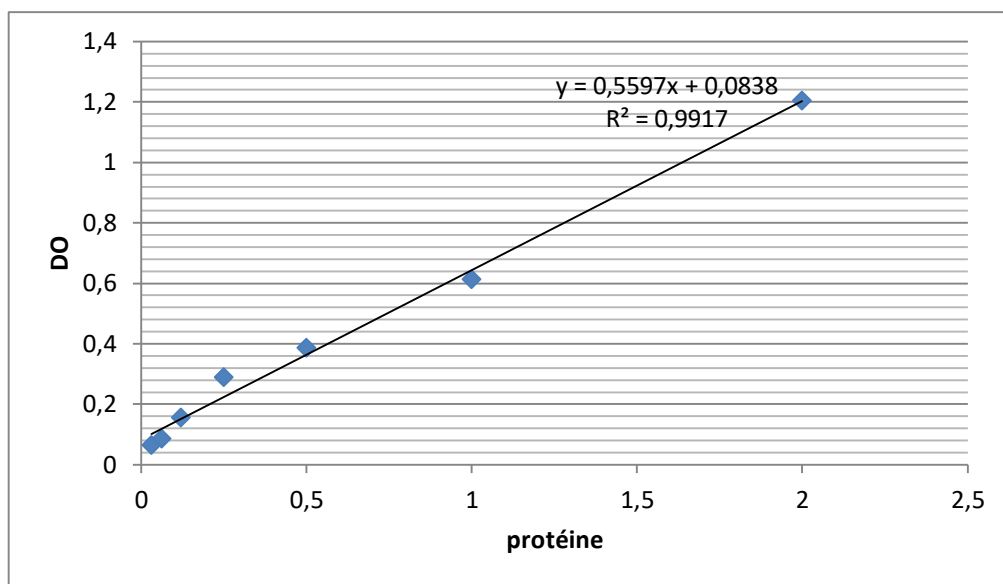
- LONARE, M., KUMAR, M., RAUT, S., BADGUJAR, P., DOLTADE, S. & TELANG, A. J. N. I. 2014. Evaluation of imidacloprid-induced neurotoxicity in male rats: a protective effect of curcumin. *78*, 122-129.
- MAHAJAN, L., VERMA, P. K., RAINA, R. & SOOD, S. 2018. Toxic effects of imidacloprid combined with arsenic: Oxidative stress in rat liver (vol 34, pg 726, 2018). *Toxicology and Industrial Health*, *34*, NP1-NP1.
- MAITRE, M. & BLICKLÉ, J. 2008. Métabolismes hépatiques. *EMC, Hépatologie*, 7-005.
- MFARREJ, M. F. B. & RARA, F. M. 2019. Competitive, Sustainable Natural Pesticides. *Acta Ecologica Sinica*, *39*, 145-151.
- MIKOLIĆ, A. & BRČIĆ KARAČONJI, I. J. A. Z. H. R. I. T. 2018. Imidacloprid as reproductive toxicant and endocrine disruptor: investigations in laboratory animals. *69*, 103-108.
- MISRA, D., MAITI, B. & GHOSH, D. 2009. Protection of swimming-induced oxidative stress in some vital organs by the treatment of composite extract of *Withania somnifera*, *Ocimum sanctum* and *Zingiber officinalis* in male rat. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, *6*.
- MITRA, V., METCALF, J. J. A. & MEDICINE, I. C. 2009. Metabolic functions of the liver. *10*, 334-335.
- MOHAMED, J., NAFIZAH, A. N., ZARIYANTEY, A. & BUDIN, S. 2016. Mechanisms of diabetes-induced liver damage: the role of oxidative stress and inflammation. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, *16*, e132.
- MOHANY, M., BADR, G., REFAAT, I. & EL-FEKI, M. 2011. Immunological and histological effects of exposure to imidacloprid insecticide in male albino rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *5*, 2106-2114.
- ORABI, S. H., ELBIALY, B. E. & SHAWKY, S. M. 2013. Ameliorating and hypoglycemic effects of zinc against acute hepatotoxic effect of chlorpyrifos. *Sigma*, *4*.
- OUZNADJI, A. & DESMONS, A. J. R. F. D. L. 2020. Les réactions d'oxydation des protéines et leurs biomarqueurs. *2020*, 31-38.
- PINCEMAIL, J., BONJEAN, K., CAYEUX, K. & DEFRAIGNE, J.-O. 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, *16*, 233-239.
- PRAHALATHAN, C., SELVAKUMAR, E. & VARALAKSHMI, P. 2004. Remedial effect of DL- α -lipoic acid against adriamycin induced testicular lipid peroxidation. *Molecular and cellular biochemistry*, *267*, 209-214.

- RIBES, J., CLÈRIES, R., ESTEBAN, L., MORENO, V. & BOSCH, F. X. J. J. O. H. 2008. The influence of alcohol consumption and hepatitis B and C infections on the risk of liver cancer in Europe. *49*, 233-242.
- SAKKA, S. G. J. C. O. I. C. C. 2007. Assessing liver function. *13*, 207-214.
- SCHÜTTE, K., BORNSCHEIN, J. & MALFERTHEINER, P. J. D. D. 2009. Hepatocellular carcinoma—epidemiological trends and risk factors. *27*, 80-92.
- ŚCIBIOR, A., ZAPOROWSKA, H., OSTROWSKI, J. & BANACH, A. 2006. Combined effect of vanadium (V) and chromium (III) on lipid peroxidation in liver and kidney of rats. *Chemico-biological interactions*, *159*, 213-222.
- SENDENSKY, A. & DUFOUR, J.-F. 2011. Liver physiology. *Chronic Liver Failure*. Springer.
- SERAGENT, O., GRIFFON, B., CILLARD, P. & CILLARD, J. 2001. Alcool et stress oxydatif. *Pathologie Biologie*, *49*, 689-695.
- SONPHULE, A., KARIKALAN, M., MOHAN, S. C., VERMA, M., TELANG, A. & SHARMA, A. J. I. J. O. V. P. 2019. Effect of imidacloprid on growth performance and haemato-biochemical parameters in male Wistar rats. *43*, 38-42.
- SOUJANYA, S., LAKSHMAN, M., KUMAR, A. A. & REDDY, A. G. 2013. Evaluation of the protective role of vitamin C in imidacloprid-induced hepatotoxicity in male Albino rats. *Journal of natural science, biology, and medicine*, *4*, 63.
- SPECK-PLANCHE, A., KLEANDROVA, V. V. & SCOTTI, M. T. 2012. Fragment-based approach for the in silico discovery of multi-target insecticides. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, *111*, 39-45.
- STORZ, G. & IMLAYT, J. A. J. C. O. I. M. 1999. Oxidative stress. *2*, 188-194.
- SUNDARAM, M. & YAO, Z. 2010. Recent progress in understanding protein and lipid factors affecting hepatic VLDL assembly and secretion. *Nutrition & metabolism*, *7*, 1-17.
- TALEB-SENOUCI, D., GHOMARI, H., KROUF, D., BOUDERBALA, S., PROST, J., LACAILLE-DUBOIS, M. & BOUCHENAK, M. 2009. Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, *16*, 623-631.
- TESTUD, F. 2014. Insecticides néonicotinoïdes. *EMC - Toxicologie-Pathologie*.
- THANY, S. H. 2010. Neonicotinoid Insecticides. In: THANY, S. H. (ed.) *Insect Nicotinic Acetylcholine Receptors*. New York, NY: Springer New York.
- THAPA, B. & WALIA, A. J. T. I. J. O. P. 2007. Liver function tests and their interpretation. *74*, 663-671.

- THYSSEN, J. & MACHEMER, L. 1999. Imidacloprid: Toxicology and Metabolism. In: YAMAMOTO, I. & CASIDA, J. E. (eds.) *Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor*. Tokyo: Springer Japan.
- TIŠLER, T., JEMEC, A., MOZETIČ, B. & TREBŠE, P. 2009. Hazard identification of imidacloprid to aquatic environment. *Chemosphere*, 76, 907-914.
- TOOR, H. K., SANGHA, G. K. & KHERA, K. S. 2013. Imidacloprid induced histological and biochemical alterations in liver of female albino rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 105, 1-4.
- TSO, P. & MCGILL, J. J. M. P., RA RHOADES, GA TANNER, EDS. 2003. The Physiology of the Liver. 514-525.
- UCHIYAMA, M. & MIHARA, M. 1978. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical biochemistry*, 86, 271-278.
- VARDAVAS, A. I., OZCAGLI, E., FRAGKIADAKI, P., STIVAKTAKIS, P. D., TZATZARAKIS, M. N., ALEGAKIS, A. K., VASILAKI, F., KALOUDIS, K., TSIAOUSSIS, J., KOURETAS, D., TSITSIMPIKOU, C., CARVALHO, F. & TSATSAKIS, A. M. 2018. The metabolism of imidacloprid by aldehyde oxidase contributes to its clastogenic effect in New Zealand rabbits. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 829-830, 26-32.
- WAMHOFF, H. & SCHNEIDER, V. 1999. Photodegradation of Imidacloprid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1730-1734.
- YADAV, I. & DEVI, N. 2017. Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment.
- YANG, G., YUAN, X., JIN, C., WANG, D., WANG, Y., MIAO, W. & JIN, Y. 2020. Imidacloprid disturbed the gut barrier function and interfered with bile acids metabolism in mice. *Environmental Pollution*, 266, 115290.
- YAP, C. Y. & AW, T. C. 2010a. Liver function tests (LFTs). *Proceedings of Singapore Healthcare*, 19, 80-82.
- YAP, C. Y. & AW, T. C. J. P. O. S. H. 2010b. Liver function tests (LFTs). 19, 80-82.

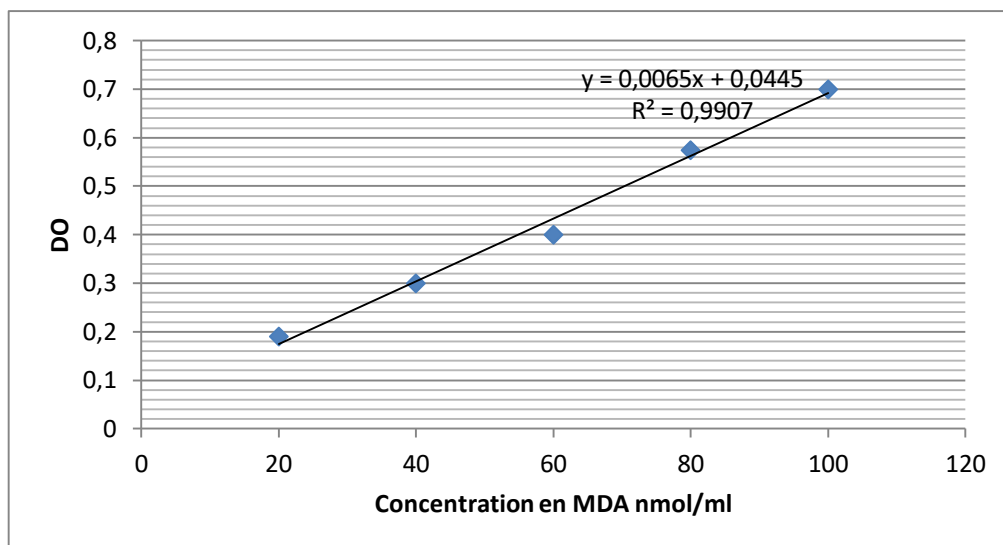
Annexe

Représentation graphiques de la courbe d'étalonnage de la protéine



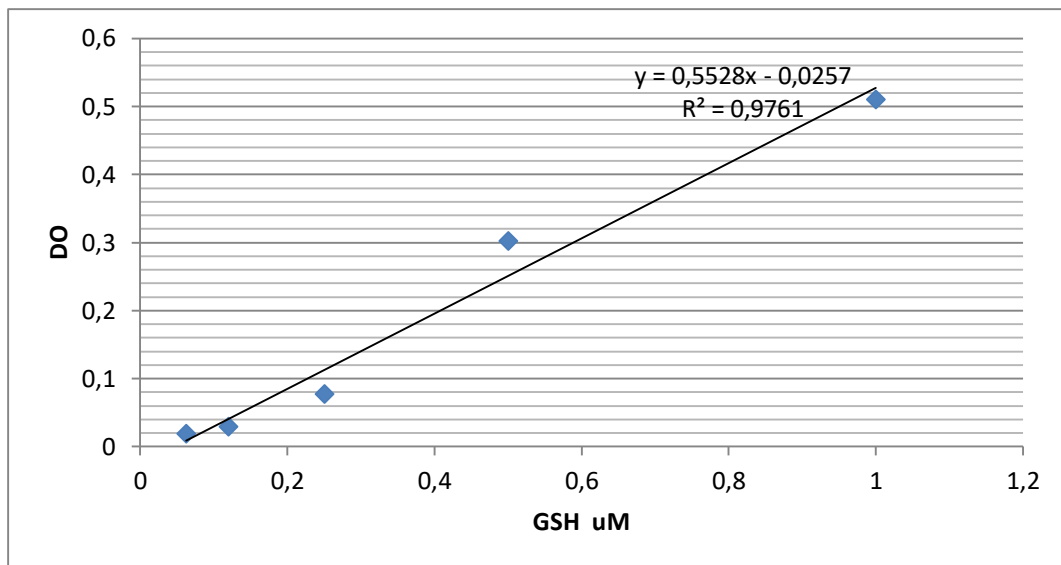
Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de la BSA

Représentation graphique de la courbe d'étalonnage du MDA



Annexe 2 : courbe d'étalonnage de TEP

Représentation graphiques de la courbe d'étalonnage du GSH



Annexe 3 : courbe d'étalonnage du GSH

Présenté par: Benyahia Amina Boucetta Meriem	Encadré par: LEGHOUCHI Essaid.
	Date de soutenance : 16 /09 / 2021

Thème : Etude de l'impact de l'exposition sub-chronique de l'imidaclopride chez le rat *wister albinos* sur le foie.

Master Académique en Biologie : option Toxicologie Fondamentale et Appliquée

Résumé:

L'imidaclopride (IMI) est un néonicotinoïdes connus pour cibler les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) chez les insectes, et potentiellement chez les mammifères. Il est capable d'induire un stress oxydatif par la génération des radicaux libres. Le but de ce travail était d'étudier les effets d'IMI et évaluer le stress oxydatif au niveau du foie des rats *Wistar albinos* en utilisant des paramètres biochimiques et histopathologiques. Les rats étaient répartis au hasard en deux groupes en tant que groupe témoin et groupe exposé à l'imidaclopride. Et a été administré par gavage gastrique (22.5 mg/kg/PC/jour) d'imidaclopride pendant 28 jours. À la fin de traitement les échantillons du foie ont été prélevés pour analyse. Concernent le stress oxydant, nos résultats révèlent une induction du système de détoxification ainsi qu'une hépatotoxicité. En effet, induisent de manière significative du CAT et le MDA et diminution de façon significative le taux de GSH, et une augmentation non significative de GST. De plus, des augmentations hautement significatives des taux sériques ASAT, ALAT, et PAL ont été observées dans le groupe traité par IMI. Ce dysfonctionnement induit par l'IMI a été également accompagné par des altérations et des changements de l'architecture du foie observé dans les coupes histologiques.

Mots clés: pesticide, L'imidaclopride, le foie, stress oxydatif, hépatotoxicité

Abstract:

Imidacloprid (IMI) is a neonicotinoid known to target the nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) in insects, and potentially in mammals. It is able to induce oxidative stress through the generation of free radicals. The aim of this work was to study the effects of IMI and assess oxidative stress in the liver of *Wistar albino* rats using biochemical and histopathological parameters. Rats were randomly divided into two groups as a control group and a group exposed to imidacloprid. And was administered by gastric gavage (22.5 mg/kg /bw/day) of imidacloprid for 28 days. After exposure the liver samples were surgically removed for analysis. As for oxidant stress, our results reveal induction of the detoxification system as well as hepatotoxicity. In fact significantly induce CAT and MDA significantly decrease the level of GSH and no significantly augmentation of GST. In addition, significant increases in serum AST and ALT, ALP levels were observed in the group treated with IMI. This IMI-induced dysfunction was also accompanied by alterations and changes in the architecture of the liver seen in histological sections.

Key words: pesticide, Imidacloprid, the liver, oxidative stress, hepatotoxicity.

ملخص:

اميداكلوبريد هو نيونيكوتينويد معروف باستهدافه للمستقبلات النيكوتينية للأسيتيل كولين (nAChR) عند الحشرات، وربما في الثدييات. إنه قادر على إحداث الإجهاد التأكسدي من خلال توليد الجذور الحرة. كان الهدف من هذا العمل هو دراسة آثار IMI وتقييم الإجهاد التأكسدي في كبد فئران *Wistar albinos* باستخدام المؤشرات البيوكيميائية ودراسة الأنسجة. تم تقسيم الفئران بشكل عشوائي إلى مجموعتين كمجموعة ضابطة ومجموعة تعرضت للاميداكلوبريد. وتم إعطاؤه بواسطة أنبوب التغذية المعدي (22.5 مغ/ كغ/ وزن الجسم / يوم) من اميداكلوبريد لمدة 28 يومًا. في نهاية التجربة تمت إزالة عينات الكبد لتحليلها. بالنسبة للإجهاد التأكسدي تكشف نتائجنا عن تنشيط نظام إزالة السموم وكذلك السمية الكبدية. في الواقع يحفز بشكل كبير نسبة كل من MDA و CAT ويقل بشكل كبير من مستوى GSH ويحفز بشكل غير ملحوظ GST. بالإضافة إلى ذلك لوحظت زيادات كبيرة في مستويات مصل AST و ALT و PAL في المجموعة التي عولجت باستخدام IMI. كان هذا الخلل الناجم عن IMI مصحوب أيضًا بتغيرات في بنية الكبد التي شوهدت في الدراسة النسيجية.

كلمات مفتاحية : المبيدات، اميداكلوبريد، الكبد، الإجهاد التأكسدي، السمية الكبدية