

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed-Seddik Benyahia - Jijel



Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de l'environnement
et des sciences agronomiques

كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم علوم المحيط و العلوم الفلاحية

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de master académique en Biologie

Filière : *Sciences Biologiques*

Option : *Toxicologie Fondamentale et Appliquée*

Thème

Contribution à l'étude de l'effet toxique de l'Endosulfan, et la prévention par l'utilisation d'un extrait de thé vert (*Camellia sinensis*) chez les rats *Wistars*.

Membres Jury :

Président : Dr Rouibeh M.

Examineur : M^{elle} Benterrouche I.

Encadreur : Dr Lekroun Z.

Présenté par :

Belhadj Siham

Session : Juin 2018

Numéro d'ordre :

Laboratoire de la pharmacologie de l'université de Jijel

Remerciements

Sous la tension et la fatigue, ces lignes écrites au dernier moment sont pourtant certainement les plus lues ! Pas de pression....Beaucoup de personnes ont contribué à ce travail, de diverses manières...Pour leur aide, leur soutien, leurs conseils ou encouragements, je veux les remercier, en espérant n'oublier personne.

Tout d'abord, je remercie le Dieu, mon créateur de m'avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

J'adresse le grand remerciement à mon encadreur Lekroun Zehoura, pour ses conseils et qui m'a dirigé du début jusqu' à la fin de ce travail.

Je tiens également à remercier les membres de jury Dr M. Rouibeh et M^{lle} Benterrouche, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de siéger à ma soutenance.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma famille qui m'a toujours soutenues et ne m'a jamais oublié dans sa prière.

Enfin, je tiens à remercier chaleureusement, tous mes proches et tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin, j'ai apporté leurs sollicitudes pour accomplir ce travail.

Sihem

Sommaire

Sommaire	i
Liste des abréviations	v
Liste des figures	vii
Liste des tableaux	ix
Introduction	1
Chapitre I : Rappel bibliographique	
I. Généralité sur les pesticides	3
I.1. Définition	3
I.2. L'importance d'utilisation des pesticides	3
I.3. Classification des pesticides	3
I.3.1. Selon les organismes vivants ciblés.....	4
I.3.1.1. Les fongicides	4
I.3.1.2. Les herbicides	4
I.3.1.3. Les insecticides	4
I.3.2. Selon leurs caractéristiques chimiques	4
I.3.2.1. Les organochlorés	4
I.3.2.1. Les organophosphorés.....	5
I.3.2.3. Les pyréthriinoïdes	5
I.3.2.4. Les carbamates	5
I.4. La toxicité des pesticides	5
I.5. Les impacts des pesticides	6
I.5.1. Effets neurologiques	6
I.5.2. Effets sur le système immunitaire	7
I.5.3. Effets sur le système endocrinien	7
I.5.4. Effets sur la reproduction et le développement	7
I.5.5. Effets sur le système respiratoire.....	7
I.5.6. Pesticides et cancer	8
I.6. Endosulfan	8
I.6.1. Définition	8
I.6.2. Propriétés physico-chimiques	10

I.6.3. Utilisation de l'endosulfan	10
I.6.4. Les voies d'exposition de l'endosulfan.....	10
I.6.5. La toxicité d'endosulfan.....	10
II. Le stress oxydant et les pesticides	11
II .1. Définition de stress oxydant	11
II.2. Le stress oxydant induit par les pesticides.....	11
II.3. Les radicaux libres.....	12
II.3.1. Définition.....	12
II.3.2. Les sources des radicaux libres de l'oxygène :	12
II.3.2.1. Les ERO d'origines endogènes	12
II.3.2.2. Les ERO d'origines exogènes	13
II.4. Les dommages oxydatifs des macromolécules.....	14
II.4.1. Dommage de l'ADN :	14
II.4.2. Oxydation des protéines :	14
II.4.3. Peroxydation lipidique.....	15
II.5. Les antioxydants et système de défense	15
II.5.1. Définition.....	15
II.5.2. Systèmes de défense enzymatique.....	15
II.5.2.1. Super oxyde dismutase (SOD)	15
II.5.2.2. La catalase	16
II.5.2.3. Les glutathion peroxydases et réductases	16
II.5.3. Système de défense non enzymatique :	17
II.5.3.1. Oligoéléments	17
II.5.3.2. Glutathion	17
II.5.3.3. Vitamine C.....	18
II.5.3.4. Vitamine E.....	18
II.5.3.5. Les caroténoïdes	18
II.5.3.6. Les poly phénols	18
II.5.3.6.1 L'effet antioxydante de polyphénol.....	19
II.5.3.6.2 La chélation des ions métalliques	19
II.5.3.6.3 Les pièges des radicaux libre	20

II.5.3.6.4 Inhibition enzymatique	20
Chapitre II : Matériel et méthodes	
I. Matériel et méthodes	21
I.1 Matériel	21
I.1.1 Entretien des animaux	21
I.1.2 Matériel végétal : le thé vert	21
I.1.2.1 Classification systématique.....	21
I.1.2.2 Description botanique	22
I.1.3 Matériel chimique : L'endosulfan.....	22
I.2 Méthodes.....	22
I.2.1 Extraction des polyphénols	22
I.2.2 Traitement des animaux :.....	23
I.2.3 Prélèvement sanguin :.....	23
I.2.4 Sacrifice des animaux et prélèvement des organes (foies, reins, et pancréas).....	23
I.2.5 Préparation de la fraction cytosolique.....	24
I.2.6. Les paramètres sanguins	24
I.2.6.1 les globules blancs	24
I.2.6.2 Les globules rouges.....	24
I.2.6.3 Les plaquettes.....	24
I.2.8 Les paramètres biochimiques.....	25
I.2.8.1 Dosage du glucose	25
I.2.8.2 Dosage de l'urée	26
I.2.8.3 Dosage de créatinine	28
I.2.8.4 Dosage de Triglycérides	29
I.2.8.5 Mesure de marqueur enzymatique GPT-ALAT.....	31
I.2.8.6 Mesure de marqueur enzymatique GOT-ASAT	32
I.2.7 Les paramètres de stress oxydatif	34
I.2.7.1 Dosage de MDA	34
I.2.7.2 Mesure de l'activité de la catalase :	35
I.2.7.3 Mesure de l'activité de la SOD	36
I.2.7.2 Dosage des protéines cytosoliques.....	37

I.3 Etude statistique	38
Chapitre III : Résultats et interprétations	
I.1 Les paramètres sanguins (FNS)	39
I.1. Les Globules blancs	39
I.2 Les Monocytes	40
I.3 Les Granulocytes	41
I.4 Les Basophiles	42
I.5 Les Eosinophiles	43
I.6 Les Neutrophiles :	44
I.7 Les lymphocytes	45
I.8 Les globules rouges.....	46
I.9 Les Hémoglobines :	47
I.10 Les plaquettes.....	48
II. Les paramètres biochimiques	49
II.1 La concentration de Glucose	49
II.2 La concentration d'urée	50
II.3 La concentration de créatinine.....	51
II.4 La concentration du triglycéride.....	52
II.5 La concentration de GPT-ALAT	53
II.6 La concentration de GOT-ASAT	54
III. les paramètres de stress oxydant	55
III.1 La concentration de MDA.....	55
III.2 La concentration de SOD	56
III.3 Concentration de la Catalase	57
III.4 La concentration des Protéines cytosoliques.....	58
Discussion	59
Conclusion	65
Référence bibliographie	67
Annexes.....	I

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

•OH : Radical hydroxyle.

¹O₂ : l'oxygène singlet (¹O₂),

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ALAT : Alanine amino Transaminase

ASAT : Aspartate Amino Transaminase

BSA : Sérum Albimine de bœuf

C° : Degré Celsius.

CAT : Catalase.

CH : Liaison méthylène.

CO : Groupe carbonyle.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

Cyt c : Cytochrome c.

DO : Densité optique.

e- : électron.

END : Endosulfan

EXT : Extrait

Fe²⁺ : Fer réduit.

Fe³⁺ : Fer oxydé.

FI-O : Radical phénoxy flavonoïde.

FI : Flavonoïdes.

g : gramme.

GPx : Gluthation peroxydase.

GR : Glutathion réductase.

GSH : Gluthation réduit.

GSSG : Glutathion oxydé.

GST : Glutathion "S"-transférases.

H⁺ : Proton.

H₂O₂ : le peroxyde d'hydrogène

HOCl : Chlorid hydroxyle

IC₅₀ : Concentration d'inhibition de 50 %.

IR : insuffisance rénale

LPO : Peroxydation lipidique.

MDA : Malondialdéhyde.

mg : Milligramme.

mmol : Milimole.

MPOC : maladie pulmonaire obstructive chronique

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.

NH₂ : Groupes amine.

nm : Nanomètre.

NO[°] : Monoxyde d'azote.

O₂ : Oxygène moléculaire.

O₂[°] : Le super oxyde dismutase

OH⁻ : Anion hydroxyle.

OH[°] : le radicale d'hydroxyle

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

RH : Pont méthylène.

RL : Radicaux libres.

ROO[°] : Radical peroxyde.

ROS : Espèces réactives oxygénées.

SH : Thiol.

SOD : Superoxyde dismutase.

TBA : Thiobarbituriques.

TBARS : Thiobarbituric acid reactive substances.

TCA : Acide Trichloroacétique

TCA: Acide trichloroacétique.

TNB : Thionitrobenzoïque

UV : Ultra-violet.

VC : Vitamin C

VE : Vitamine E

µl : Microlitre.

Liste des figures

Figure 1 : la structure chimique d'endosulfan	9
Figure 2 : L'activité de balayage radical de SOD, CAT et GPx	17
Figure 3 : Structure de base des flavonoïdes	19
Figure 4 : Le piégeage des espèces réactives de l'oxygène par les flavonoïdes	20
Figure 5 : <i>Cammellia sinensis</i>	21
Figure 6 : Le mécanisme de la quantification de la réaction de TBARS	34
Figure 7 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration des Globules blancs chez les rats <i>Wistar albinos</i>	39
Figure 8 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration des monocytes chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	40
Figure 9 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration des granulocytes chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	41
Figure 10 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration des basophiles chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	42
Figure 11 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration des éosinophiles chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	43
Figure 12 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration des neutrophiles chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	44
Figure 13 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration des lymphocytes chez les rats <i>Wistar albinos</i>	45
Figure 14 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration des globules rouges chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	46
Figure 15 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration des Hémoglobines chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	47
Figure 16 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration des plaquettes chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	48

Figure17 : Effet d’endosulfan et l’extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration de glucose sérique chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	49
Figure18 : Effet d’endosulfan et l’extrait de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration d'urée sérique chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	50
Figure 19 : Effet d’endosulfan et l’extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration de la créatinine sérique chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	51
Figure 20 : Effet d’endosulfan et l’extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration du triglycéride sérique chez les rats <i>Wistar albinos</i>	52
Figure 21 : Effet d’endosulfan et l’extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration du GOT-ASAT sérique chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	53
Figure 22 : Effet d’endosulfan et l’extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration de GPT-ALAT sérique chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	54
Figure 23 : Effet d’endosulfan et l’extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration de MDA hépatique, rénale et de pancréas chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	55
Figure24 : Effet d’endosulfan et l’extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration de SOD hépatique, rénale et de pancréas chez les rats <i>Wistar albinos</i>	56
Figure 25 : Effet d’endosulfan et l’extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration de la Catalase hépatique, rénale et de pancréas chez les rats <i>Wistar albinos</i>	57
Figure 26 : Effet d’endosulfan et l’extrait polyphénolique de <i>Cammellia sinensis</i> sur la concentration de protéines hépatique, rénale et de pancréas chez les rats <i>Wistar Albinos</i>	58

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des composées de la famille de l'endosulfan	9
Tableau 2 : Étape de dosage du glucose	25
Tableau 3 : Les réactifs de dosage de glucose	26
Tableau 4 : Étape de dosage de l'urée.....	27
Tableau 5 : Les réactifs de dosage de l'urée	27
Tableau 6 : protocole de dosage de la créatinine	28
Tableau 7 : Les réactifs de dosage de la créatinine	29
Tableau 8 : protocole de dosage de Triglycérides	30
Tableau 9 : les réactifs de dosage de Triglycérides	30
Tableau 10 : protocole de dosage de GPT – ALAT.....	31
Tableau 11 : Les réactifs de dosage de GPT – ALAT.	32
Tableau 12 : Protocole de dosage de GOT-	33
Tableau 13 : Les réactifs de dosage de GOT-ASAT	33
Tableau 14 : Étape de dosage du MDA	35
Tableau 15 : Étape de dosage du CAT	36
Tableau 16 : Étape de dosage du SOD.....	37
Tableau 17 : Étape de dosage des protéines	38

Introduction

Le développement de l'agriculture est accompagné par l'utilisation des produits phytosanitaires partout dans le monde. Cette utilisation a montré ses avantages notamment dans l'augmentation des rendements de production par l'élimination ou la réduction des prédateurs des cultures. Toutefois, derrière ces bienfaits, ils peuvent se cacher des effets insidieux dont les méfaits sur l'environnement, sur la qualité des produits agricoles, ainsi que sur la santé des populations (Cisse I., 2006).

Les pesticides sont largement connus par de nombreux effets dommageables qui affectent les différents tissus et systèmes biologiques. Pour identifier le mécanisme d'action précis de ces substances chimiques, des études de plus en plus nombreuses examinent, le lien entre l'exposition à ces substances et l'induction d'un stress Oxydant responsable des effets dommageables observés (Abdollahi et al., 2004).

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie est une pratique aussi vieille que l'histoire de l'humanité. Au cours des dernières décennies une attention particulière a ciblé l'utilisation des plantes médicinaux dans le traitement, la prévention de certaines maladies et le rétablissement de la physiologie de certaines fonctions endommagées. Malgré la découverte des nouveaux composés en chimie de synthèse, les sources naturelles, sont depuis toujours, restent le principal fournisseur de nouveau médicament et de nouvelles, structures chimiques. Nous assistons donc à un regain de la phytothérapie surtout pour les produits riches en polyphénols, et principalement en flavonoïdes qui ont montré des propriétés biologiques antioxydants intéressantes (Hostettman et al., 1998 ; Chahine, 2014 ; Georgie et al., 2014). Ils possèdent potentiellement des activités biologiques, anti-inflammatoires, anti-cancérigènes, antimicrobiennes et anti-oxydantes (Marfak, 2003).

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est d'étudier les effets toxiques induits par l'endosulfan chez le rat *wister* à la dose de 5.8 mg /kg, aussi bien sur le plan hématologique que sur le plan biochimique. Il a également été question d'évaluer certains indicateurs biochimiques du stress oxydatif. D'une autre part de cette étude, on identifie les mécanismes des effets protecteurs des composantes polyphénoliques implicites dans l'extrait de *Cammellia sinensis* et on évaluée l'intérêt et l'efficacité de la plante de thé vert contre le stress oxydant et donc la toxicité des pesticides organochlorés.

Ce manuscrit est organisé en trois chapitres principaux ; un premier chapitre porte sur des généralités sur les pesticides et une étude détaillée sur l'endosulfan. Nous avons également expliqué les notions de stress oxydant, les radicaux libres, les antioxydants, et les flavonoïdes.

Le deuxième chapitre rassemble tous les méthodes et les réactifs utilisés pour faire ce travail.

Le troisième chapitre représente les résultats et la discussion, et finalement nous avons une conclusion qui résume tous les résultats obtenus.

Rappel bibliographique

I. Généralité sur les pesticides

I.1. Définition

L'étymologie du mot pesticide s'est construite à partir du suffixe «-cide » qui signifie « tuer » et de la racine anglaise pest (animal, insecte ou plante nuisible) provenant du latin Pestis (peste) qui désignait le fléau en général. Donc les pesticides sont des composés chimiques dotés de propriétés toxicologiques (El Habib, 2013). Le terme « pesticides » désigne principalement les substances ou les préparations utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes (plantes, animaux, champignons ou bactéries) jugés indésirables car provoquant des dommages aux denrées alimentaires, aux produits agricoles, au bois et aux produits ligneux, ou aux aliments pour animaux (Ménard et al., 2014).

I.2. L'importance d'utilisation des pesticides

Le principal usage des pesticides est la protection des cultures, on parle alors de pesticide à usage agricole. Leur emploi est massif (Camard et Magdelaine, 2001) dans les secteurs agricoles, industriels et médicaux constitue donc une réelle menace mondiale (Jawich, 2006). Au niveau national, 6 à 9 % des tonnages seraient destinés à un usage non agricole (Airparif, 2016) Regroupant l'usage domestique (traitement des parasites, soin des animaux), l'usage industriel (traitement des bois et des textiles) (Damien et al., 2010), et l'usage médicinal aussi pour but de l'amélioration de la santé publique, en particulier en luttant contre les insectes, vecteurs de pathologies contre certaines maladies comme paludisme, typhus et autres épidémies (Benziane, 2012).

I.3. Classification des pesticides

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe. D'une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose (El mrabet et al., 2008).

I.3.1. Selon les organismes vivants ciblés

Il existe principalement trois grandes familles de produits phytosanitaires :

I.3.1.1. Les fongicides

Très fréquemment employés contre les maladies cryptogamiques, les fongicides assurent une excellente protection contre le développement des champignons parasites et permettent l'obtention de plantes saines. On distingue deux grands groupes de fongicides : les fongicides minéraux et les fongicides organiques qui sont majoritairement des produits de synthèse (Alain et al., 2004). Ils peuvent agir différemment sur les plantes par l'inhibition de système respiratoire ou la division cellulaire et d'autre par la perturbation la biosynthèse des acide aminés, des protéines ou le métabolisme des glucides.

I.3.1.2. Les herbicides

Les herbicides représentent les pesticides les plus utilisés dans le monde toutes cultures confondues (El mrabet et al., 2008). Ils permettent d'éliminer les mauvaises herbes. Ce sont des phénoxydes, des triazines, des amides, des dinitro-anilines dérivés d'urée, des sulfonylurées et uraciles (Benziane, 2014). Ils possèdent différents modes d'action sur les plantes et peuvent agir comme des perturbateurs de la régulation d'une hormone « l'auxine », et des inhibiteurs de la division cellulaire, de la synthèse des lipides, de cellulose ou des acides aminés ou encore affecter la photosynthèse.

I.3.1.3. Les insecticides

Les insecticides sont utilisés pour la protection des plants contre les insectes. Ils interviennent en les tuant ou en empêchant leur reproduction, ce sont souvent les plus toxiques (Christine, 2008 ; El mrabet et al., 2008). Ils peuvent agir sur le système nerveux (inhibition de l'acétylcholinestérase, ouverture du canal sodium), la respiration cellulaire (inhibition du transport des électrons dans la mitochondrie). Enfin, ces substances peuvent agir par contact (sur les parasites cibles), ingestion, pression de vapeur.

I.3.2. Selon leurs caractéristiques chimiques

Les principaux groupes chimiques comprennent les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthrinoïdes (El mrabet et al., 2008).

I.3.2.1. Les organochlorés

Les pesticides organochlorés sont des dérivés chlorés d'hydrocarbures cycliques et/ou aromatiques, chimiquement très stables, ils sont parmi les plus anciens et les plus persistants (ex.

DDT). Ils sont surtout utilisés comme insecticides en agriculture et dans les métiers du bois. Ils ont une action sur le système nerveux central (Camard et Magdelaine, 2001 ; Damien et al., 2010). Ces produits sont très efficaces mais se dégradent très lentement dans l'environnement. Certains continuent cependant à être utilisés en particulier pour lutter contre les moustiques dans les pays infestés par le paludisme (Bernard, 2014).

I.3.2.1. Les organophosphorés

Les pesticides organophosphorés sont des dérivés de molécules de phosphore, Leur action ne se prolonge pas dans le temps (Camard et Magdelaine, 2001). Ils ont des effets neurotoxiques sur les vertébrés. Ils peuvent être utilisés comme insecticides, désherbants ou comme antiparasitaires. Le plus connu est le malathion (insecticide et antiparasitaire) (Bernard, 2014).

I.3.2.3. Les pyréthriinoïdes

Les pyréthriinoïdes sont des dérivés du pyrèthre, ils sont des produits qui présentent, en général, une toxicité moindre que les organophosphorés et carbamates ; une faible persistance et s'emploient à des faibles doses (Sament, 2010). Ils sont utilisés comme insecticides ou comme répulsifs (en particulier contre les moustiques), ce sont des composés de synthèse qui peuvent être très toxiques pour de nombreux organismes mais qui présentent l'avantage de se dégrader très vite dans l'environnement (Bernard, 2014).

I.3.2.4. Les carbamates

Les carbamates sont des dérivés de l'acide carbamique (Alin et al., 2004), ils sont utilisés comme insecticides et fongicides. L'un des plus connus est le carbofuran (Bernard, 2014). Leur demi-vie s'étend de quelques jours à plusieurs mois, voire plusieurs années dans les eaux souterraines. Ces pesticides sont solubles dans l'eau, leur toxicité est variable d'une molécule à l'autre. Par exemple, le carbamyl est peu toxique pour les homéothermes (Errami, 2012).

I.4. La toxicité des pesticides

La toxicité des pesticides dépend d'un certain nombre de facteurs parmi lesquels on cite la nature de la formulation (solide, liquide ou gaz), les moyens d'application et d'emploi (pulvérisation, dispersion, etc) et les conditions d'utilisation. Mais le facteur principal qui conditionne la toxicité de ces produits concerne le mode de pénétration et le devenir du produit dans l'organisme (El bakouri, 2006). Deux types d'intoxication peuvent être mis en évidence :

L'intoxication aiguë se manifeste généralement immédiatement ou peu de temps (quelques minutes, heures ou jours) après une exposition unique ou de courte durée à un pesticide. Le délai d'apparition des effets varie en fonction de la toxicité intrinsèque du produit utilisé, de la dose reçue, de la voie d'absorption et de la susceptibilité de la personne (Samuel et ST-Laurent, 2001). Le risque d'exposition est important, chez les agriculteurs qui utilisent fréquemment des doses importantes de produits. Les effets observés sont des brûlures au niveau des yeux, des lésions cutanées, des troubles neurologiques et hépatiques, des manifestations digestives et respiratoires, des troubles cutanés ou muqueux et rhino-pharyngiques (Camard et Magdelaine, 2001).

L'intoxication chronique survient suite à l'absorption répétée pendant plusieurs jours, plusieurs mois et même plusieurs années, de faibles doses de pesticides qui peuvent s'accumuler dans l'organisme. Elle peut être aussi le résultat d'intoxications aiguës répétées (Samuel et ST-Laurent, 2001). Ces effets chroniques sont plus difficiles à apprécier (Aire parif, 2016).

I.5. Les impacts des pesticides

L'exposition humaine et environnementale aux pesticides dangereux est une source de graves problèmes de santé dans toutes les régions du monde, surtout dans les pays en développement et les pays à économie en transition.

I.5.1. Effets neurologiques

Plusieurs pesticides peuvent être responsables d'effets neurologiques et ce, tant lors d'une exposition aiguë que d'une exposition chronique. En vertu de leur mécanisme d'action sur les neurones sensoriels et moteurs, les insecticides plus particulièrement (organochlorés, pyréthrinoïdes, organophosphorés et carbamates) sont plus susceptibles de provoquer une neurotoxicité (Samuel et ST-Laurent, 2001). De manière générale, l'exposition aux pesticides sur des longues durées provoquerait des troubles psychologiques et en particulier des syndromes dépressifs. En particulier, la survenue de suicides dans un groupe d'agriculteurs serait liée à l'utilisation de produits phytosanitaires. Cependant, il convient de rester prudent quant à cette association car de nombreux autres facteurs sont à prendre en compte (Aire parif, 2016).

I.5.2. Effets sur le système immunitaire

Certaines études récentes indiquent la probabilité d'une relation entre les pesticides et l'augmentation des risques de maladies infectieuses. La chute de production d'anticorps et des

réactions d'hypersensibilité retardées pourrait aussi être associée à l'exposition à ces produits (Samuel et ST-Laurent L, 2001).

L'exposition aux pesticides peut compromettre le système immunitaire ce qui augmente le risque de maladies infectieuses et de cancer. Cela devient particulièrement préoccupant quand le système immunitaire est déjà compromis par d'autres facteurs, telle que la malnutrition. Certains pesticides altèrent le développement des organes du système immunitaire comme le thymus et la rate et portent des atteintes à la capacité des globules blancs et des lymphocytes à tuer les bactéries, les virus et les cellules cancéreuses (IPEN, 2009).

I.5.3. Effets sur le système endocrinien

Aujourd'hui les chercheurs s'interrogent sur l'hypothèse selon laquelle une exposition à des Substances exogènes possédant des effets sur le système endocrinien, pourrait être à l'origine d'une grande variété d'effets délétères sur l'organisme tels des cancers, des atteintes de la fonction, ainsi que des effets sur le système immunitaire et sur la fonction thyroïdienne (Merhi, 2008).

Certaines substances de synthèse, dont les pesticides, peuvent perturber le système hormonal ou endocrinien et provoquer un déséquilibre physiologique. Parmi les effets possibles chez l'humain, on peut noter l'obésité, la décalcification des os et le diabète (Samuel et ST-Laurent, 2001).

I.5.4. Effets sur la reproduction et le développement

Certains pesticides peuvent être liés à un certain nombre de problèmes de reproduction, y compris des anomalies congénitales, la stérilité, les grossesses prolongées, l'avortement spontané, les mort-nés, les naissances prématurées, le retard de croissance intra-utérin, mortalité périnatale, l'endométriase, et la baisse de spermatozoïdes. Des études épidémiologiques ont établi un lien entre l'exposition des parents à certains pesticides et des anomalies du tube neural, des malformations congénitales cardiaques, la fente labiale et la fente palatine, les malformations congénitales musculo-squelettiques, anomalies du tractus urinaire et anomalies des organes génitaux masculins (IPEN, 2009).

I.5.5. Effets sur le système respiratoire

Parmi les symptômes respiratoires, tels que la toux, la respiration sifflante et l'inflammation des voies respiratoires, sont fréquemment observés chez les personnes exposées aux pesticides (Jallow et al., 2017). Certaines études ont montré que l'exposition chronique aux pesticides peut

jouer un rôle dans le développement de certaines pathologies respiratoires comme l'asthme et la bronchite chronique (Merhi, 2008), maladie pulmonaire obstructive chronique (MPOC) et cancer du poumon (Jallow et al., 2017).

I.5.6. Pesticides et cancer

Il est connu que beaucoup de matières actives des pesticides sont à l'origine ou sont soupçonnés d'être à l'origine du cancer. Les pesticides sont associés, soit par des éléments de preuve en laboratoire ou des études épidémiologiques, à une longue liste de cancers, y compris le myélome multiple, les sarcomes des tissus mous, le sarcome d'Ewing, le lymphome, le lymphome non hodgkinien, la leucémie, le mélanome, le neuroblastome, les tumeurs à cellules germinales, le rétinopathie (tumeur de l'œil) et le cancer de l'œsophage, de l'estomac, de la prostate, du testicule, du sein, de l'ovaire, du col de l'utérus, de la vessie thyroïde, des poumons, du cerveau, des reins, du pancréas, du foie, du colon et du rectum (IPEN, 2009).

I.6. Endosulfan

I.6.1. Définition

L'endosulfan (6, 7, 8, 9, 10, 10-hexachloro-1, 5, 5a, 6, 9, 9a-hexahydro-6, 9-méthano-2, 4, 3-benzodioxathiépin-3-oxyde) est un pesticide, appartenant à la famille chimique des organochlorés, sous-classe des chlorodiènes chlorés, contenant une seule double liaison (Figure 1). Il est utilisé pour contrôler plus de 100 différents insectes nuisibles qui infestent un grand nombre de cultures (Gary et al., 2008). Il a été répertorié comme un polluant organique persistant (POP) par le Stockholm Convention et suppression progressive de tous les produits manufacturés et utilisées à l'échelle mondiale (Hua Du et al., 2015). Il se présente sous la forme de deux isomères (Tableau 1), représentés dans des proportions différentes dans la forme commerciale, l'isomère alpha étant présent à hauteur de 70% et l'isomère bêta à hauteur de 30%, en plus d'impuretés et de produits de dégradation. L'endosulfan alpha est plus toxique que l'isomère bêta, Sa dose journalière admissible est de 6 µg par Kilo de poids corporel (Dorothee et al., 2011).

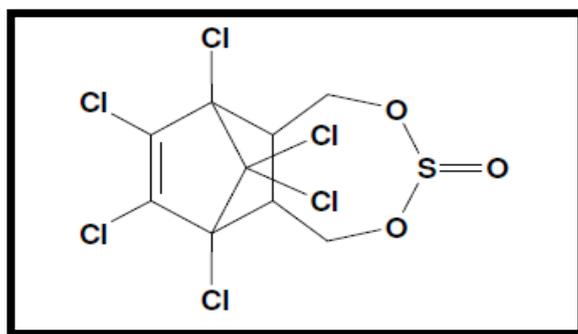


Figure 1 : la structure chimique d'endosulfan (Gouzy et Brignon, 2006)

Le tableau ci-dessous montre les caractéristiques des composés de la famille de l'endosulfan

Tableau 1 : Caractéristiques des composés de la famille de l'endosulfan (Brignon et Gouzy, 2006).

Substance chimique	Synonymes	Formule développée
Endosulfan $C_9H_6Cl_6O_3S$	Endosulphan Thiodan Rasayansulfan Thiosulfan	
a-endosulfan $C_9H_6Cl_6O_3S$	Endosulfan I Endosulphan	
b-endosulfan $C_9H_6Cl_6O_3S$	sulfate d'endosulfan	
Endosulfan alcohol $C_9H_6Cl_6O_2$		
Endosulfan sulfate $C_9H_6Cl_6O_4S$	sulfate d'endosulfan	

I.6.2. Propriétés physico-chimiques

L'endosulfan, de poids moléculaire de 406.9 g/mol, est très lipophile et donc peu soluble dans l'eau. Ses vapeurs sont stables dans l'atmosphère, ce qui lui permet de se propager par voie aérienne. Il est très peu hydrosoluble avec une solubilité de 0.32 mg/L dans l'eau à 20°C (FOOTPRINT, 2011).

- Le point de fusion de l'endosulfan de qualité technique se situe entre 70 et 100 °C (Mackay et al., 1997).
- La pression de vapeur (0,83m Pa à 25°C) ; Ainsi que la constante calculée de la loi de Henry (1.48 Pa m³mol⁻¹) (FOOTPRINT, 2011).
- La dose létale 50% [DL₅₀ (mg/kg)] d'endosulfan chez les rats est 30 mg /kg et leur demie vie dans le sol est d'environ 50 jours (Testud et Grillet, 2007). et selon Dorothée et al., d'environ 35 jours.

I.6.3. Utilisation de l'endosulfan

L'endosulfan est un insecticide/acaricide par contact et ingestion. Il est utilisé sur les grandes cultures (céréales, crucifères oléagineuses, féveroles, pois protéagineux, pomme de terre) les arbres fruitiers (abricotier, cassissier, framboisier, noisetier, noyer, pêcher, poirier cognassier) et les cultures légumières (Brignon et Gouzy, 2006).

Il a aussi été utilisé pour lutter efficacement contre de nombreuses espèces nuisibles broyeuses, suceuses et foreuses, en particulier les pucerons, thrips, coléoptères, chenilles phyllophages, acariens, foreurs de tige ou de bois, vers gris, vers du cotonnier, punaises, aleurodes, cicadelles, escargots des rizières et mouches tsé-tsé (UNEP, 2009).

I.6.4. Les voies d'exposition l'endosulfan

Les voies d'exposition à l'endosulfan sont la voie orale par ingestion de nourriture contaminée (poissons, légumes) pour la population générale, la voie pulmonaire surtout pour les professionnels et enfin la voie cutanée car l'endosulfan est liposoluble. Il est hautement toxique et peut être mortel pour toutes les voies d'exposition (Dorothee et al, 2011).

I.6.5. La toxicité d'endosulfan

L'endosulfan représente l'une des causes principales d'intoxications aiguës, Seules les expositions accidentelles ou volontaires importantes (comme les suicides) ont permis de décrire

les effets toxiques de l'endosulfan sur l'Homme. Les professionnels manipulant ce pesticide dans l'agriculture, la viticulture et l'horticulture sont bien évidemment les plus à risque vis-à-vis d'une toxicité aigüe. Il peut causer des effets toxiques dans presque tous les tissus humains et animaux, y compris le foie, les poumons, le système nerveux central, le système génital, le pancréas (Dorothee et al., 2011 ; Ozlem, 2011).

L'exposition répétée à l'endosulfan est très toxique pour nombreux organismes vivants ; chez les humains, un lien a été établi entre les troubles physiques congénitaux, le retard mental et les décès d'ouvrières agricoles dans les pays en voie de développement d'Afrique, d'Asie du sud et d'Amérique latine, d'une part, et une utilisation excessive, des application inappropriées de l'endosulfan d'autre part (UNEP, 2009).

II. Le stress oxydant et les pesticides

II .1. Définition de stress oxydant

La notion de stress oxydant cellulaire ou encore stress oxydatif cellulaire a été largement employée depuis la découverte dans les années 1930 des espèces radicalaires qui en sont la cause (Lenzi, 2011). En 1991, Sies a défini la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées, suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue d'EOA, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydant (Defraigne et Pincemail, 2008 ; Lenzi, 2011 ;Alin et al., 2016).

II.2. Le stress oxydant induit par les pesticides

Les pesticides sont largement connus pour avoir de nombreux effets dommageables sur les différents tissus et systèmes biologiques. Pour tenter d'identifier le mécanisme d'action précis de ses substances chimiques, des études de plus en plus nombreuses examinent, le lien entre l'exposition à ces substances et l'induction d'un stress oxydant responsable des effets dommageables observés (AbdoIlahi et al., 2004). La toxicité induite par des nombreux pesticides appartenant à différentes classes chimiques est associée par une accumulation d'espèces réactives de l'oxygène et de produit dérivants de lipides membranaires endommagés tels que les substances réactives de l'acide thiobarbituriques et diènes conjugués (possamai et al., 2006). Les mécanismes moléculaires par lesquels les pesticides provoquent un stress oxydant peuvent être multiples, l'induction des cytochromes P450 représente toutefois la piste la plus intéressante. Les pesticides se caractérisent, en effet, par leur capacité à induire des enzymes hépatiques détoxifiantes, de type monooxygénase, à cytochrome P450 assurant la transformation de la plus part de ces molécules en

leurs métabolites excrétables de l'organisme. Or, il est bien établi que les monoxygénases produisent au cours de leur cycle catalytique des ROS responsables de multiples dommages cellulaires caractérisent le stress oxydant (Perret et pompon, 1998).

II.3. Les radicaux libres

II.3.1. Définition

Un radical libre peut être défini comme toute espèce chimique, moléculaire et active générée à partir d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), capable de l'existence indépendante qui contient un ou plusieurs électrons non appariés dans les orbitales atomiques ou moléculaires externe (Mustafa et al., 2015 ; Valko et al., 2006 ; Dominique et al., 2003 ; Lobo et al., 2010 ; Siahpoosh et Soleimani, 2016). Beaucoup de radicaux sont instables et très réactifs et représentent très dommageables composés (Lobo et al., 2010 ; Alzoghaibi, 2013) qui entraînent des altérations des composants cellulaires par réactions chimiques des espèces oxygénées réactives avec les lipides, les protéines et les acides nucléiques Cellulaires (Boueille et Chamoin, 2012). Les principaux espèces réactives d'oxygènes(ROS) sont : le super oxyde dismutase $O_2^{\circ-}$, l'oxygène singlet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radicale d'hydroxyle (OH°), nitric oxide (NO), Chlorure d'hydroxyle($HOCl$) (Ben salama, 2012).

II.3.2. Les sources des radicaux libres de l'oxygène :

Des radicaux libres sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes

Qu'exogènes. Sans vouloir faire du finalisme, nous pouvons considérer que certaines de ces productions sont volontairement programmées par l'organisme à des fins de défense ou d'envoi des signaux (El-Demerdash et al, 2013).

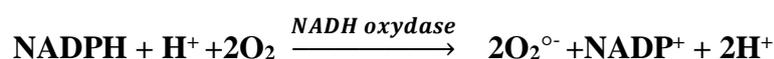
II.3.2.1. Les ERO d'origines endogènes

II.3.2.1.1. Respiration mitochondriale

La réduction à quatre électrons de l'oxygène se produit dans le système de transport d'électrons mitochondrial de toutes les cellules subissant la respiration aérobie. On estime que 2-3% d' O_2 consommé par les mitochondries est incomplètement réduite, ce qui donne les ROS et 1-5% mène à la production H_2O_2 . Il est bien documenté que les mitochondries sont une source de H_2O_2 , Cependant, la sortie de $O_2^{\circ-}$ de la mitochondrie dans le cytosol doit encore être définitivement établi (Mohammed et al., 2015).

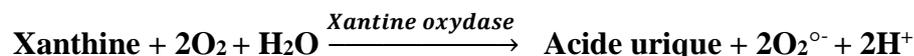
II.3.2.1.2. NADPH oxydase

Une source majeure de ROS dans les cellules vasculaires est le NADPH oxydase, qui se compose des sous-unités de la membrane (Wassmann et al., 2004). L'explosion respiratoire est le processus par lequel les cellules phagocytaires consomment de grandes des quantités d'oxygène pendant la phagocytose, principalement via l'activation de la NADPH oxydase et la libération d'O₂ (Asima et al., 2014)



II.3.2.1.3. Xanthine Oxidase

La xanthine oxydase catalyse l'oxydation de la molécule de xanthine et de l'hypoxanthine pendant le métabolisme des purines. Cette enzyme réduit l'oxygène moléculaire, conduisant à la formation des deux superoxyde et peroxyde d'hydrogène. Il est capable de produire de grandes quantités de ROS (Wassmann et al., 2004).



II.3.2.1.4. Les peroxysomes

Les peroxysomes sont une importante source de production d'H₂O₂ cellulaire. Toutefois, l'H₂O₂ est utilisé comme substrat de la catalase paroxysmale (enzyme antioxydant) afin de réaliser des réactions de peroxydation d'autre substrat. Ces réactions sont importantes dans le processus de détoxification présent dans le foie et le rein. Seule une faible quantité d'H₂O₂ produite à niveau des peroxysomes pourrait échapper à la catalase (Garait, 2006).

II.2.2.2. Les ERO d'origines exogènes

Les radicaux libres exogènes proviennent d'un apport extérieur, lors d'une Exposition à un environnement toxique. Les sources environnementales des toxines qui peuvent pénétrer au corps humain et induire la formation de radicaux libres comprennent :

- Les rayonnements qu'ils s'agissent des rayons ionisants X ou gamma, ou des rayons ultraviolets capables de produire des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet après activation de photosensibilisants (Favier, 2006).

- Les Xénobiotiques et de nombreux médicaments contribuent à la formation de radicaux libres dans le corps (Asima et al., 2014).
- La production excessive de ROS est causée par les facteurs environnementaux, c'est-à-dire une forme intensifiée du style de vie moderne (apport alimentaire excessif, inactivité, tabagisme), mais aussi, par exemple, la malnutrition, consommation d'alcool et maladies infectieuses. Cela peut suggérer que les troubles psychiatriques (Asima et al., 2014).
- L'exercice physique induit une augmentation de la production de radicaux libres et d'autres espèces réactives de l'oxygène (ROS), La production élevée de ROS responsable des dommages musculaires (Belviranli et Okudan, 2015).

II.4. Les dommages oxydatifs des macromolécules

Les scientifiques élaborent également de multiples expériences in vitro qui montrent la toxicité des radicaux libres responsables de dégâts cellulaires importants (Defraigne et Pincemail, 2008) ils peuvent endommager l'intégrité des molécules biologiques, y compris l'ADN, les protéines et les lipides impliqués dans le maintien biologique de l'organisme (Zorawar, 2018) et entraînent aussi à la perturbation du métabolisme et de la physiologie (Colakoglu et al., 2017).

II.4.1. Dommage de l'ADN

Les espèces réactives de l'oxygène constituent la plus importante source endogène qui endommage l'ADN, Cet dernier soumis à l'attaque par différentes espèces radicales génère une large modification covalente telles des délétions/insertion de nucléotide (purines et pyrimidines), des cassures simple et double brins, des pontages inter et intra brin et des pontages inter et intra protéine (Powers et al., 2010) Si elles ne sont pas réparées, les modifications des bases de l'ADN conduisent à leur tour à des défauts génétiques(Zegarac, 2017).

II.4.2. Oxydation des protéines

Les protéines peuvent être endommagées par une réaction directe avec les ROS (Powers et al., 2010). Cela peut affecter de nombreux types de protéines, interférant avec l'activité enzymatique et la fonction des protéines structurelles (Sarma et al., 2010).

L'oxydation des protéines peut entraîner une fragmentation au niveau des résidus d'acides aminés, la formation de liaisons croisées protéine-protéine et l'oxydation du squelette de la protéine, ce qui conduit finalement à une perte de fonction. Les protéines endommagées affectent les voies intracellulaires et contribuent à différents troubles et maladies (Zegarac, 2017) et peut

affecter aussi l'activité enzymatique, la stabilité thermique et la susceptibilité à la protéolyse, qui conduit au vieillissement (Mustafa et al., 2015).

II.4.3. Peroxydation lipidique

Les lipides peuvent être oxydés par de nombreux ROS et radicaux (Powers et al., 2010) la peroxydation des lipides est la dégradation des acides gras membranaires. Elle constitue par conséquent un indice de dommages oxydatifs effectués aux lipides. Ces dommages peuvent entraîner une perte de la fluidité et de l'élasticité de la membrane, une altération du fonctionnement cellulaire et même une rupture des cellules (Zegarac, 2017).

La peroxydation des lipides peut également affecter négativement la fonction des protéines liées à la membrane telles que l'activité des enzymes et les récepteurs et du transport membranaire (Lobo et al., 2010 ; Sarma et al., 2010).

II.5. Les antioxydants et système de défense

II.5.1. Définition

Un antioxydant est une substance organique ou minérale susceptible de prévenir ou de réduire le stress oxydant dans l'organisme vivant à faible concentration, elle prévient ou retarde significativement les dommages oxydatifs des molécules biologiques, l'antioxydant a pour de conserver l'homéostasie du statut redox intracellulaire et d'empêcher ainsi à travers les différents mécanismes la dénaturation des molécules cibles en éliminant les ROS et en réparant les dégâts qui en résultent (Clémentine, 2014 ; Colakoglu et al., 2017 ; Siahpoosh et Soleimani, 2016).

II.5.2. Systèmes de défense enzymatique

Les antioxydants enzymatiques (La superoxyde dismutase, La catalase, la glutathion)

Sont considéré comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS.

II.5.2.1. Super oxyde dismutase (SOD)

Des plus importantes enzymes antioxydantes présentes dans le corps humain est la superoxyde dismutase (Shazia et al., 2012). Il est une métalloprotéine, considérée être la première ligne de défense contre la formation de radicaux libres (Dilip et al., 2014). Il catalyse la dégradation de l'anion superoxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène. Les SOD sont une

classe d'enzymes étroitement apparentées, présentes dans presque toutes les cellules aérobies et dans les fluides extracellulaires (Lobo et al., 2010).



Trois isoformes différentes de SOD ont été identifiées chez l'homme selon le cofacteur métallique (Manganèse, Cuivre ou Zinc) sont : la SOD mitochondriale, la SOD cytosolique, et la SOD extracellulaire (Wassmann et al., 2004 ; Lobo et al., 2010 ; Shazia et al., 2012).

II.5.2.2. La catalase

La catalase est une enzyme antioxydante intracellulaire qui est principalement située dans les peroxyosomes cellulaires (80%) et dans une certaine mesure dans le cytosol (20%) (Dilip et al., 2014 ; Kevin et al., 2012), elle est trouvée dans presque tous les organismes vivants, qui sont exposés à l'oxygène (Lobo et al., 2010) elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire selon la réaction suivante (Marfak, 2003).



II.5.2.3. Les glutathion peroxydases et réductases

Le système de glutathion comprend la glutathion réductase, les glutathion peroxydases et les glutathion S-transférases. Ce système se trouve chez les animaux, les plantes et les micro-organismes (Lobo et al., 2010).

Le glutathion réductase (GR) est une oxydoréductase NADPH-dépendant, coopérant avec la glutathion peroxydase. Il catalyse la conversion du glutathion oxydé (GSSG) en glutathion réduit (GSH) (Csiszár et al., 2016).

Le glutathion peroxydase (GPX) convertit le glutathion (GSH), un tripeptide constitué de glutamate, de cystéine et de glycine, glutathion oxydé et, au cours de ce processus, réduit H_2O_2 en H_2O et hydroperoxydes lipidiques (ROOH) en alcools stables. La réaction GPX est couplée à la glutathion réductase (GSSG-R), qui maintient un niveau de glutathion (GSH) (Asima et al., 2014). La GPX joue également un rôle majeur dans la régulation de l'état redox intracellulaire des cellules vasculaires (figure 2) (Wassmann et al., 2004).

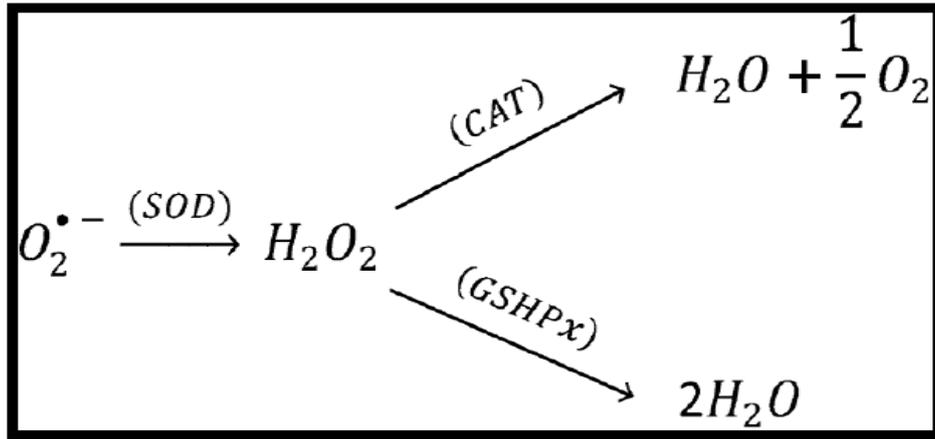


Figure 2 : L'activité de balayage radical de SOD, CAT et GPx (Nimse et al, 2015).

II.5.3. Système de défense non enzymatique :

II.5.3.1. Oligoéléments

Zinc (Zn), cuivre (Cu), manganèse (Mn), fer (Fe) et le sélénium (Se) sont des composants clés des enzymes avec des fonctions antioxydantes et sont désignés comme micronutriments antioxydants. Zn, Mn et Cu sont des cofacteurs du superoxyde dismutase (Cu / Zn-SOD). Fe est un composant de la catalase. C'est un antioxydant majeur sous la forme de sélénoprotéines atténue les effets cytotoxiques des ROS. Les céréales contiennent de la sélénométhionine, un acide aminé naturel qui est la source nutritionnelle la plus importante de Se. Lorsque Se-GPX est inhibé dans des conditions physiologiques, notamment un état de carence, il conduit à la toxicité par l'augmentation de l' $O_2^{\bullet -}$, $^{\bullet}NO$, et peroxydation lipidique. Donc, l'équilibre alimentaire suivi par la bonne absorption de ces micronutriments est essentiel pour maintenir l'homéostasie redox (Asima et al., 2014).

II.5.3.2. Glutathion

Le glutathion est un peptide contenant de la cystéine que l'on trouve dans la plupart des formes de vie aérobies, il a des propriétés antioxydants puisque le groupe thiol dans son acide aminé cystéine est un agent réducteur et peut être oxydé de façon réversible (Lobo et al., 2010) Ceci est omniprésent (Asima et al., 2014). Le glutathion (GSH) joue un rôle unique et essentiel dans la préservation des formes actives de divers antioxydants de faible taille (vitamines C, E, ubiquinone, polyphénols) (Defraigne et Pincemail, 2008).

II.5.3.3. Vitamine C

L'acide ascorbique ou "vitamine C" est un antioxydant monosaccharide trouvé chez les animaux et les plantes. En revanche il ne peut pas être synthétisé chez l'homme (Lobo et al., 2010). Il existe physiologiquement sous la forme de l'anion ascorbate (Descamps et al., 2006). La vitamine C donne des électrons à d'autres composés et empêche leur oxydation (Asima et al., 2014). C'est un agent réducteur et peut réduire et ainsi neutraliser les ROS tels que le peroxyde d'hydrogène (Lobo et al., 2010).

II.5.3.4. Vitamine E

Est un composé lipophile mono phénolique (Descamps et al., 2006) qui sont des vitamines liposolubles ayant des propriétés antioxydantes, piégeant les radicaux libres (Lobo et al., 2010) la vitamine E, comme la vitamine C, est très efficace du fait de sa faible propension à être un donneur d'électrons. Elle agit principalement par le transfert direct d'atomes d'hydrogène (Pourrut, 2008) elle joue un rôle important et abondant qui protège la membrane cellulaire de la peroxydation lipidique (Asima et al., 2014).

II.5.3.5. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes, y compris la vitamine A, qui se trouve dans les aliments, est appelée caroténoïdes ou provitamine A. Fruits jaunes et oranges ainsi que légumes à feuilles vertes fournissent la plupart des caroténoïdes à notre alimentation. Alpha- et bêta-carotène, lycopène et cryptoxanthine sont les principaux caroténoïdes dans la nourriture ainsi que dans le corps) (Asima et al., 2014). Ils peuvent réduire ou piéger les espèces réactives de l'oxygène et interférer avec des réactions radicalaires. Ils peuvent ainsi bloquer ou limiter la peroxydation lipidique (Descamps et al., 2006).

II.5.3.6. Les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires végétaux contenant des propriétés oxydatives, inflammatoires et / ou effets métaboliques aider à protéger les maladies chroniques contre les dommages causés par les radicaux libres (Lacroix et al., 2017). Les polyphénols sont un grand groupe de composés omniprésents dans les aliments et les boissons d'origine végétale tels que le thé, le café, le vin, fruits, légumes, céréales à grains entiers et cacao. Ils sont les plus antioxydants abondants dans l'alimentation humaine (Fantini et al., 2015 ; Zamora-Ros et al.,

2014). Ils possèdent dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Parrl et Bolwell, 2000).

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, ils sont composés de 15 atomes de carbone avec 2 anneaux aromatiques (anneaux A et B) reliés par un pont à 3 carbones se lie avec 1 oxygène et 2 carbones de l'anneau A, formant un troisième anneau à 6 carbones (Figure 3) (Fantinie et al., 2015). les flavonoïdes divisent en plusieurs classes : les flavonols, isoflavones, flavones , et flavanones (Tapas et al., 2008).

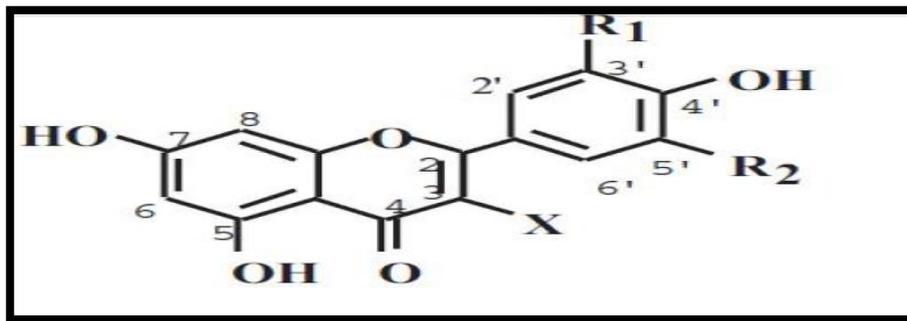


Figure 3 : Structure de base des flavonoïdes (Lugasi et al., 2003).

II.5.3.6.1. L'effet anti-oxydante de polyphénols

Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action : éliminateurs de radicaux libres, Chélateurs d'ions métalliques, piègeurs d'oxygène dans des systèmes fermés. Les polyphénols, naturellement présents dans les aliments ou formés au cours des procédés de transformation sont considérés comme éliminateurs des radicaux libres (Chew et al., 2009).

II.5.3.6.2. Chélation des ions métalliques

Les ions du fer ou du cuivre sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques. Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et de cofacteurs d'enzymes du système de défense antioxydant (par exemple, les ions du fer pour la catalase, et ceux du cuivre pour le superoxyde dismutase). Mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction de Fenton (Nkhili 2009).



La chélation des ions métalliques par les flavonoïdes nécessite trois sites principaux :

- Noyau catéchol sur le cycle B

- Les groupe 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C.
- Le groupe 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C (Van acker et al., 1996).

II.5.3.6.3. Piégeage des radicaux libres

La réduction de divers radicaux par les polyphénols a été beaucoup étudiée afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante. Grâce à leur faible potentiel redox, Les polyphénols, plus particulièrement les flavonoïdes (FI-OH), sont thermodynamiquement Capables de réduire rapidement les radicaux superoxydes, peroxydes (ROO°), alkoxydes (RO°) et hydroxyle par transfert d'hydrogène (Figure 4) (Nkhili, 2009).

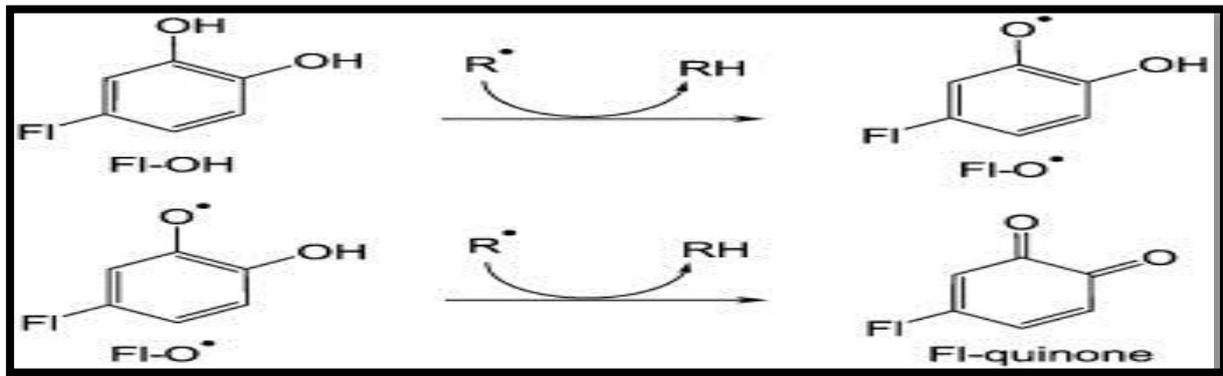
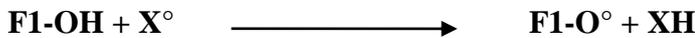


Figure 4 : Le piégeage des espèces réactives de l'oxygène par les flavonoïdes (Procházková et al, 2011).

II.5.3.6.4. Inhibition enzymatique

Les phénomènes d'interaction polyphénols-protéines ont été largement étudiés *in vitro*, Particulièrement dans le cas des flavonoïdes : inhibition d'une grande variété d'enzymes (Galati et al., 2002). Afin de préciser le mécanisme d'action de l'activité inhibitrice des flavonoïdes, des études ont été réalisées sur l'effet de la quercétine sur l'oxydation de l'acide linoléique par une lipoxygénase. Ces auteurs ont constaté que le mécanisme d'inhibition des lipoxygénases par la quercétine ne serait pas dû à une complexation ou à une oxydation du Fe^{2+} , mais plutôt à une inhibition irréversible résultant de liaisons covalentes entre l'enzyme et les dérivés oxydés de la quercétine (quinone ou radical phénoxy) (Chebil, 2006).

Partie expérimentale

L'objectif de ce travail est l'étude de l'effet toxique de l'endosulfan et la prévention par l'extrait polyphénolique de *Camellia sinensis* chez les rats *Wistar albinos*.

Les travaux d'étude de mon mémoire ont été réalisés au niveau de laboratoire de pharmacologie de l'université de Jijel en collaboration avec le service de laboratoire des analyses de l'hôpital d'El-Milia.

I. Matériel et méthodes

I.1 Matériel

I.1.1 Entretien des animaux

Notre étude expérimental a porté sur des rats *Wistar albinos* adultes, femelles, pesant 180g -260 g (Institut Pasteur, Alger), acclimatées à une température ambiante (22°C - 26°C). Les rats ont eu un régime Standard de laboratoire. Les rats restent dans l'animalerie une semaine avant de faire le travail pour l'adaptation.

I.1.2 Matériel végétal : le thé vert

On a utilisé les feuilles de la plante de Thé vert « *Camellia sinensis* L. »(Figure5).

I.1.2.1 Classification systématique

La classification de *Camellia sinensis* L. est la suivante :

Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Théales
Famille	Theaceae
Genre	Camellia
Espèce	<i>Camellia sinensis</i> L.
Nom commun	Théier, thé vert, thé



Figure 5 : la photographique de *Camellia sinensis*

I.1.2.2 Description botanique

A l'état naturel, le théier est un petit arbre très rameux, de 5 à 10 mètres de haut et pouvant atteindre 15 mètres. Les fleurs de théier sont des petites fleurs blanches à jaune claire, odorantes, axillaires et solitaires. Leur taille varie et peut aller jusqu'à 3 centimètres (cm). Elles portent 5 à 7 pétales, et cinq sépales persistants, de nombreuses étamines, et un ovaire trilobulaire (Kabouche, 2010 ; Sanchez-Alonso et al., 2007).

Les feuilles de théier représentent la partie la plus importante de point de vue utilisation. Elles sont alternes, persistantes, leur forme est allongée, elliptiques, brillantes avec une face en vert foncé le pétiole est court et mesure de 4 à 10mm, la base est canée et l'apex est aigüe à acuminer et des marges dentées (Kabouche, 2010).

Le fruit est une capsule loculicide trigone, ne renfermant qu'une ou deux graines oléagineuses, exalbuminées, entourées d'un tégument sans arille (Marthe, 2009). Le théier possède un système racinaire pivotant et sa durée de vie est en moyenne de 50ans (Marcel, 2002).

Le thé est une plante médicinale qui a été employée pendant des siècles comme remèdes des maladies humaines parce qu'elle contient des composants de valeurs thérapeutiques (Marie, 2009). Dans notre travail, on utilise le thé vert comme source de polyphénols pour prévenir la toxicité des pesticides.

I.1.3 Matériel chimique : L'endosulfan

C'est un pesticide appartient de la famille des organochlorés, la posologie recommandée pour réaliser cette étude était de 5.8mg/Kg. C'est la dose rencontrée chez certains légumes cultivés dans la région de Jijel.

I.2 Méthodes

I.2.1 Extraction des polyphénols

L'extraction a été réalisée selon le protocole inspire par Bruneton (1993).

- ✚ Séchage : après le lavage de thé vert, ces dernières sont séchées à l'aire libre pendant une semaine à l'abri de la lumière et de l'humidité.
- ✚ Broyage : le broyage est effectué à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.
- ✚ Macération : 400g de poudre sont mis dans 4l d'une solution hydro-éthanolique (8 :2) et laisser macérer pendant 5 jours puis la macérât est filtré.

- ✚ Evaporation : pour éliminer l'éthanol nous avons passé le macérât par la Rota-vapeur à une température de 55-60°C à une vitesse maximale jusqu'à l'obtention d'une petite quantité de la phase aqueuse.
- ✚ Lyophilisation : la phase aqueuse obtenue après l'évaporation est lyophilisée par le lyophilisateur pour obtenir les extraits en poudre de polyphénols de teste de thé vert.

I.2.2 Traitement des animaux :

Les rats (n=18) sont répartis en 3 lots expérimentaux à raison de 6 rats par lot :

Lot 1 : Animaux témoin (control) recevant quotidiennement l'huile de maïs par gavage gastrique chaque jour pendant 10 jours.

Lot 2 : Animaux intoxiqués recevant quotidiennement par gavage gastrique une dose de 5.8mg /Kg d'endosulfan chaque jours pendant 10 jours.

Lot 3 : Animaux préventifs recevant quotidiennement par gavage gastrique une dose de 100 mg /Kg de l'extrait éthanolique de thé vert suivie d'une dose de 5.8 mg /kg d'endosulfan après 30 minutes, chaque jour pendant 10 jours.

I.2.3 Prélèvement sanguin :

À l'aide d'un tube hématocrite on prélève le sang par ponction introduisant son bout délicatement au niveau de sinus rétro orbitaire après un jeûne de 12 h. le sang est récupéré dans des tubes héparines afin de doser les paramètres sanguins et dans des tubes secs afin d'étudier les paramètres biochimiques.

I.2.4 Sacrifice des animaux et prélèvement des organes (foies, reins, et pancréas)

Cette opération est effectuée dans le but de la préparation d'une fraction cytosolique et faire les dosages des paramètres de stress oxydatif. À la fin de la période de traitement, tous les animaux ont été sacrifiés (jour 11), suivant les règles de l'euthanasie par l'anesthésie (le chloroforme). Les organes (foies, reins et les pancréas) sont prélevés afin de réaliser les dosages des paramètres de stress oxydatif (MDA, SOD, catalase) segmenté et conservé à 4°C.

I.2.5 Préparation de la fraction cytosolique

Pour obtenir la fraction cytosolique du pancréas, du foie et des reins, ces organes ont été Homogénéisés avec 3 volume de tampon phosphate 0.1M (KH₂PO₄), cet homogénat a été centrifugé à 2000 Tpm pendant 15 min à 4°C pour éliminer les débris cellulaires, le surnageant obtenu a été récupéré et centrifugé à 9600 Tpm pendant 30 min à 4°C, le surnageant final est considéré comme fraction cytosolique utilisé pour le dosage de différents paramètres du stress (Iqbal et al., 2003).

I.2.6. Les paramètres sanguins

La numération des paramètres sanguins est réalisée automatiquement par l'appareil d'Hémogramme qui calcule de façon automatique le nombre des GB, GR et les plaquettes.

I.2.6.1 Les globules blancs

Le nombre des globules blancs fournit des données sur la capacité du corps à combattre les infections. Un nombre élevé de globules blancs indique que le corps est en train de lutter contre une infection, tandis qu'un petit nombre de ces globules signifie que le corps a perdu une partie de sa capacité de combattre les infections (Kaplan, 1984).

I.2.6.2 Les globules rouges

La numération des globules rouges fournit des données sur la capacité du corps à transmettre de l'oxygène aux cellules, elle fournit également de l'information sur la taille des globules rouges. Les valeurs les plus importantes sont l'hémoglobine et l'hématocrite qui mesurent la capacité d'oxygéner le corps. Un taux faible des deux valeurs est un signe d'anémie (Kaplan, 1984).

I.2.6.3 Les plaquettes

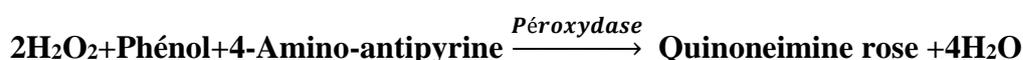
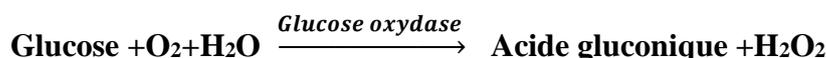
Les plaquettes sanguines ont un rôle très important dans la coagulation. Une diminution trop importante du taux de plaquettes entraîne un risque hémorragique (à envisager avant une intervention chirurgicale par exemple). Une augmentation du taux entraîne au contraire un risque de thrombose par formation d'agrégats plaquettaires (Kaplan, 1984).

I.2.7 Les paramètres biochimiques

I.2.7.1 Dosage du glucose

Le glucose représente le taux de sucre dans le sang. Un taux de sucre élevé dans le sang (hyperglycémie) et celle-ci peut être l'indice du diabète, un taux de sucre faible dans le sang (hypoglycémie) qui a plusieurs ordres de cause : Soit un excès d'insuline, soit un défaut de la production de glucose (Kaplan, 1984).

La détermination enzymatique du glucose se fait selon les réactions suivantes :



On utilise le sérum non hémolysé de chaque rat ; on le met dans la cuve du spectrophotomètre à une température de 37°C et à une longueur d'ondes de 505nm. Comme il est montré dans le Tableau 2.

✚ Protocole de dosage du glucose

Le dosage du glucose est effectué selon le protocole récapitulé dans le tableau 2 :

Tableau 2 : Étape de dosage du glucose (Trinder, 1969 ; Dineon, 1975 ; Iott, 1975 ; Kaplan, 1984).

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard (glucose)	---	10µl	---
Echantillon	---	---	10µl
Réactif de travail (R1+R2)	1 ml	1ml	1ml
Mélanger, lire les DO après une incubation de 10minutes a 37°C ou 30mn a 20-25°C. la coloration est stable 30 minutes			

✚ Les réactifs de dosage du glucose sont rapportés dans le tableau 3

Tableau 3 : Les réactifs de dosage de glucose (Kaplan, 1984).

Réactif 1	Tampon tris PH =7	100 mmol/l
Solution tampon	phénol	0,03 mmol/l
Réactif 2	Glucose oxydase	10 000 u /l
Ezymes	Péroxydase	1000 u/l
	Amio 4-atipyrine	2,6 mmol/l
Réactif 3	Glucose	100 mg/dl
Standard		1 g/l
		5,56mmol/l

✚ Le calcul de concentration de Glucose se fait par la formule suivante :

$$\text{Glucose (g /l)} = \frac{\text{D.O Echantillon}}{\text{DO Standard}} \times n \quad \text{Avec } n=1 \text{ (g/l)}$$

I.2.7.2 Dosage de l'urée

Dosage de l'urée est l'un des dosages les plus fréquemment effectués, il permet en une première approximation de rechercher une insuffisance rénale avec le dosage concomitant de la créatinine (Siby, 2008). L'urée est dosée en cinétique selon la réaction suivante :



Les ions ammonium, en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium réagissent en formant un composé de couleur verte (dicarboxylindophenol) dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en urée. On utilise le sérum non hémolysé de chaque rat et on le met dans la cuve du spectrophotomètre à une température de 25-30-37°C et à longueur d'onde de 590 nm comme il est montré dans le tableau 4.

✚ Protocole de dosage de l'urée

Le dosage de l'urée est effectué selon le protocole récapitulé dans le tableau 4

Tableau 4 : Étape de dosage de l'urée (Mackey et al., 1927 ; Balleterl et al., 1859).

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1ml
A (1+2+4)			
Mélanger, incuber 5mn à 37 ou 10min, à 20-25°C ; Ajouter ensuite.			
Réactif 4	1 ml	1 ml	1 ml
Mélanger, incuber 5 min, à 37° C ou 10 min ; à 20°-25°C. Lire contre le blanc. Stabilité de la coloration 2 heures a' l'abri de la lumière.			

✚ Les réactifs de dosage de l'urée sont rapportés dans le tableau 5

Tableau 5 : Les réactifs de dosage de l'urée (Balleterl et al., 1961).

Réactif 1	Tampon	
Réactif 2	EDTA	2 mmol/l
	Salicylate de sodium	60 mmol/l
	Nitro prussiate de sodium	32 mmol/l
	Uréase	30 000 u/l
	Phosphate PH6.7	60 mmol/l
Réactif 3	Etalon urée	0,50 g/l
		8,325
		mmol/l
Réactif 4	hypochlorite de sodium	40 mmol /l
10 x []	hydroxyde de sodium	150 mmol/l

✚ Le calcul de concentration de l'urée se fait par la formule suivante :

$$\text{Urée (g/l)} = \frac{\Delta.\text{DO Echantillon}}{\Delta.\text{DO Etalon}} \times n \quad \text{avec : } n=0.50 \text{ (g/l)}$$

I.2.7.3 Dosage de créatinine

La créatinine dans l'organisme provient dans la dégradation de la créatinine qui est d'une part contenue dans l'alimentation et d'autre part produite par l'organisme (principalement localisée dans les muscles), la créatinine est exclusivement éliminée par les reins, ce qui en fait un très bon marqueur de fonction rénal (siby, 2008). La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine (larsen, 1972).

On utilise le sérum ou le plasma hépariné sans hémolyse de chaque rat et on le met dans la cuve du spectrophotomètre à une température de 20-30 ou 37°C et à longueur d'onde de 492nm comme le tableau 6 montre :

Tableau 6 : protocole de dosage de la créatinine (larsen, 1972).

	Standard	Echantillon
Standard	100	---
Echantillon	---	100µl
Réactif de travail (R1+R2)	1 ml	1 ml
Mélanger et lire les densités optiques DO1, après 30 sec. Lire ensuite DO2 exactement 1 min après.		

✚ Les réactifs de dosage de la créatinine sont rapportés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Les réactifs de dosage de la créatinine (Iarsen, 1972).

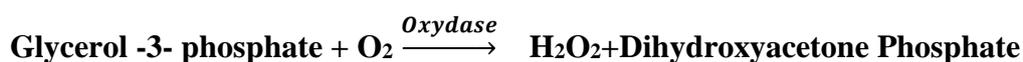
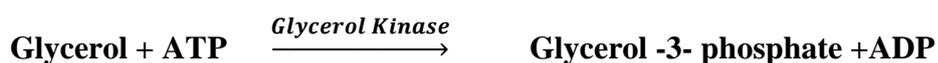
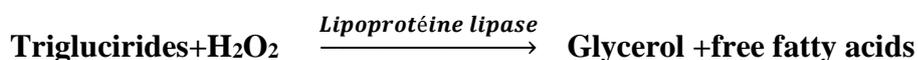
Réactif 1	hydroxyde de sodium	1,6mol/l
Réactif 2	acide picrique	17,5mmol/l
Réactif 3	créatinine	2 mg/dl
Standard		20 mg/l
		176,8µmol/l

✚ Le calcul de concentration de la créatinine se fait par la formule suivante :

$$\text{Créatinine} = \frac{\Delta.\text{DO Echantillon}}{\Delta.\text{DO Standard}} \times n \quad \text{avec : } n=20 \text{ (mg/l)}$$

I.2.7.4 Dosage de triglycérides (TG)

Le dosage de TG est effectué selon la méthode de Fossati et de Prencipe (1982), c'est une méthode enzymatique et colorimétrique. Par l'action des lipases, les TG sont hydrolysés en glycérol et en acide gras libre. Le glycérol est ensuite transformé selon le schéma réactionnel suivant :



✚ Protocole de dosage de triglycérides

Le dosage de triglycérides est effectué selon le protocole récapitulé dans le tableau 8

Tableau 8 : protocole de dosage de triglycérides (Fossati et principe, 1982).

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif de travail (R1+R2)	1 ml	1 ml	1ml

✚ Les réactifs de dosage de triglycérides sont rapportés dans le tableau 9

Tableau 9 : Les réactifs de dosage de triglycérides (Fossati et principe, 1982).

Réactif 1	Tampon pipes PH7.2	50mmol/l
	Solution tampon chloro-4-phénol	2mmol/l
Réactif 2	Lipoprotéine lipase	150000µl
	Glycérokinase	800 µl
	Glycerol 3-P-Oxydase	4000 µl
	Peroxydase	440 µl
	Amino4-Antipyrine	0.7mmol/l
	ATP	0.3 mmol/l
Réactif 3	standard glycérols	2 mg/dl
Standard	(en trioléine)	20 g/l
		2,28µmol/l

✚ Le calcul de concentration de triglycérides est fait par la formule suivante :

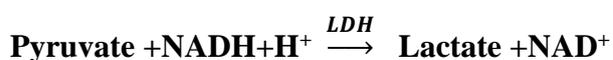
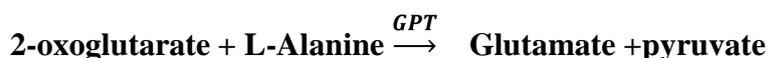
$$\text{Triglycérides} = \frac{\Delta.\text{DO Echantillon}}{\Delta.\text{DO Standard}} \times n \quad \text{avec : } n=2 \text{ (g/l)}$$

I.2.7.5 Mesure de marqueur enzymatique GPT-ALAT

ALAT (alanine aminotransférase) est aussi une enzyme des transaminases qu'abonde dans le foie, toute altération de cet organe libère ALAT (siby, 2008).

✚ Principe de dosage

Le principe de ce dosage est la détermination cinétique de l'activité alanine amino transférase, la réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif, le schéma réactionnel est le suivant :



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité d'alanine transférase dans l'échantillon (Bergmeyer et al., 1978 ; Bergmeyer et Horder, 1980).

On utilise le sérum ou le plasma hépariné sans hémolyse de chaque rat et on le met dans la cuve du spectrophotomètre à une température de 25 à 37 et à la longueur d'onde de 340nm comme il est montré dans le tableau 10.

✚ Protocole de dosage de GPT – ALAT

Le dosage de GPT – ALAT est effectué selon le protocole récapitulé dans le tableau 10 :

Tableau 10 : protocole de dosage de GPT – ALAT (Bergmeyer et al., 1978 ; Bergmeyer et Horder, 1980).

Solution de travail (R1+R2)	1ml	3 ml
Pré-incuber à la température choisie (25.30 ou 37°C)		
Echantillon	100µl	300µl
Mélanger et incuber 1 minute, mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minutes		

✚ Les réactifs de dosage GPT – ALAT sont rapportés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Les réactifs de dosage de GPT – ALAT (Bergmeyer et al., 1978).

Réactif 1	Tampon tris pH 7,5 à 30°C	100 mmol/l
Solution tampon	alanine	500 mmol/l
Réactif 2	NADH	0,18 mmol/l
Substrat	LDH	1200 u/l
	Oxoglutarate	15 mmol/l

✚ Le calcul de concentration de GPT – ALAT se fait par la formule suivante :

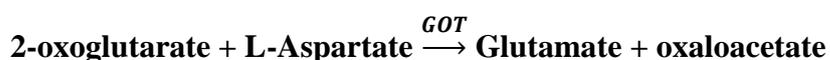
$$\Delta.DO/min \times 1750 = U/l$$

I.2.7.6 Mesure de marqueur enzymatique GOT-ASAT

ASAT (aspartate amino transférase) est un enzyme majeur des transaminases de la cytolysse hépatique, libérées dans le sang lorsque la membrane de la cellule hépatique est lésée, et on la trouve surtout dans le foie et le cœur mais aussi dans les muscles squelettiques et les reins (Calay et Gayraude, 2009).

✚ Principe de dosage

Le principe de ce dosage est la détermination cinétique de l'activité aspartate amino transférase, la réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif, le schéma réactionnel est le suivant :



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité aspartate aminotransférase dans l'échantillon (Bergmeyer et al., 1976).

On utilise le sérum ou le plasma héparine sans hémolyse de chaque rat on le met dans la cuve du spectrophotomètre à une température de 25 à 37 et à la longueur d'onde de 340nm comme il est montré dans le tableau 12.

✚ Protocole de dosage de GOT-ASAT

Le dosage de GOT-ASAT est effectué selon le protocole récapitulé dans le tableau 12 :

Tableau 12 : Protocole de dosage de GOT-ASAT (Bergmeyer et al., 1976).

Solution de travail	1 ml	3ml
Pré-incuber à la température choisie (25,30 ou 37)		
Echantillon	100	300µl
Mélanger et incuber 1 minute, mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minutes		

✚ Les réactifs de dosage de GOT-ASAT sont rapportés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Les réactifs de dosage de GOT-ASAT (Bergmeyer et al., 1978).

Réactif 1	tampon tris ph 7,8 à 30°C	80 mmol/l
Solution tampon	L. aspartate	200 mmol/l
Réactif 2	NADH	0,18 mmol/l
Substrat	LDH	800 u/l
	MDH	600 U/L
	Oxoglutarate	12 mmol/l

✚ Le calcul de concentration de **GOT-ASAT** se fait par la formule suivante :

$$\Delta.DO/min \times 1750 = U/l$$

I.2.8 Les paramètres de stress oxydatif

I.2.8.1 Dosage de MDA

A ce jour, le marqueur le plus utilisé pour déterminer un stress oxydatif reste le malonaldéhyde (MDA), qui est évalué par la méthode d'Ohkawa et al., (1979).

✚ Principe de dosage

La notion de dosage du MDA est substituée à la notion de TBARS substance réagissant avec l'acide thiobarbiturique. En milieu acide à chaud (100°C), la réaction de dosage du MDA (figure 6) repose sur la formation entre le MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment de couleur rose absorbant à 532 nm extractible par les solvants organiques comme le n-butanol (Lefèvre, 2003).

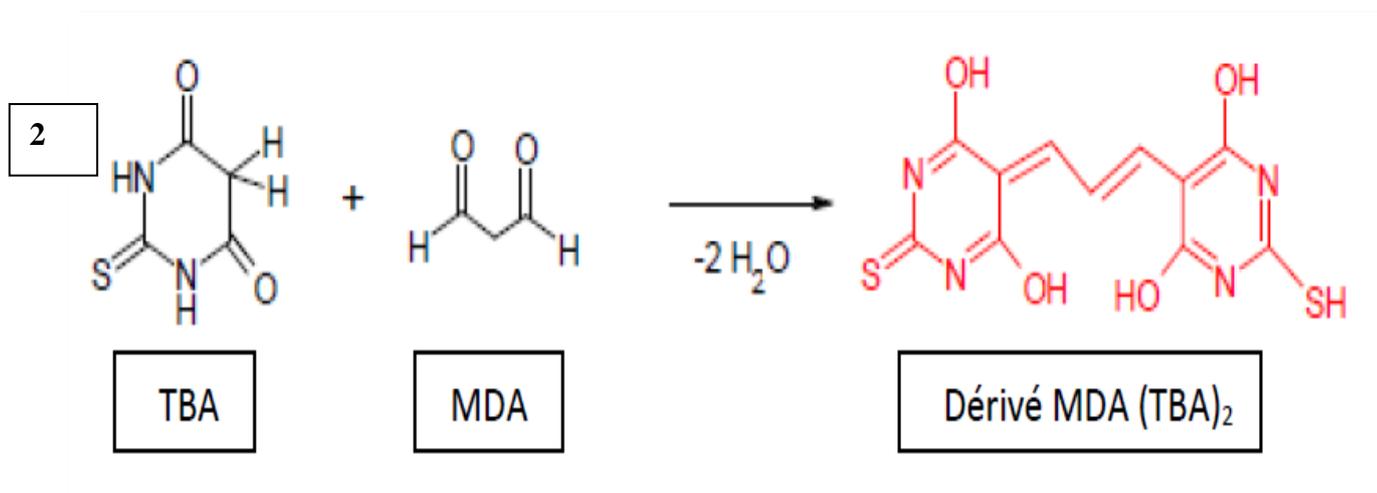


Figure 6 : Le mécanisme de la quantification de la réaction de TBARS (Schaur et al., 2015).

✚ Protocole d'évaluation de MDA

Le dosage du MDA est effectué selon le protocole récapitulé dans le tableau 14.

Tableau 14 : Étape de dosage du MDA (Okhawa et al., 1979).

Solution (ml) \ Tubes	Tube blanc	Tube échantillon
Fraction cytosolique	---	0.5
Kcl	0.5	-
TCA (20%)	0.5	0.5
TBA	1	1
Bain Marie 100°C pendant 45 min puis refroidissement avec des glaces		
n-butanol	4	4
Centrifugation à 3000 tpm pendant 15 min		
Lecture spectrophotométrique à 532nm		

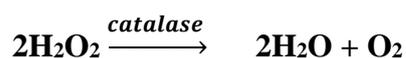
- Les valeurs de MDA sont exprimées en nmol/g des organes et sont déduites à partir d'une gamme d'étalon préparée dans la même condition en utilisant le 1, 1, 3,3-tétraéthoxypropane qui donne du MDA après son hydrolyse (voir l'annexe3).

I.2.8.2 Mesure de l'activité de la catalase :

L'activité catalytique a été mesurée selon la méthode de Clairborne, (1985).

Principe de dosage :

La catalase est une enzyme héminique peroxysomal qui possède quatre groupes protoporphyrines. L'activité catalytique est évaluée par la mesure de la diminution de l'absorbance d'une solution d'H₂O₂ à 240 nm pendant 1 min à 25 °C. Cette diminution de l'absorbance étant due à la dismutation du peroxyde d'hydrogène par la catalase selon la réaction suivante :



Protocole de mesure de l'activité de CAT :

Le dosage du CAT est effectué selon le protocole récapitulé dans le tableau 15

Tableau 15 : Étape de dosage du CAT (Clairborne, 1985)

Tubes	Tube blanc	Tube échantillon
Solution (ml)		
Tompon phosphate KH ₂ PO ₄ (0.1M ,PH :7.2)	1	1
H ₂ O ₂ (0.019)	0.97	0.97
Fraction cytosolique	---	0.025
Eau distillée	0.025	---
Lecture spectrophotométrique chaque minute pendant 2 min à 240 nm		

- ✚ L'activité enzymatique est exprimée en UI/mg de protéine, l'unité de l'activité de la catalase est calculée par la formule suivante :

$$\text{UI/g de protéine} = (2.303 / T) \log \frac{A1}{A2}$$

A1 : absorbance au temps 0min.

A2 : absorbance au temps 1min.

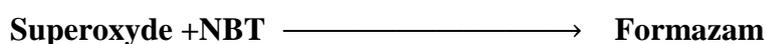
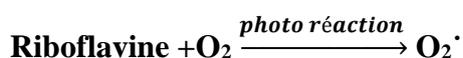
T : intervalle de temps en 1min.

I.2.8.3 Mesure de l'activité de la SOD

L'activité du SOD est mesurée selon la méthode de (Beauchamp et Fridovich, 1971).

✚ Principe de dosage

La détermination de l'activité dépend de la capacité de l'enzyme à inhiber la réduction du nitroblutetrazoliu [NBT] inhibition de la formation de formazan par les superoxydes qui sont produits par la réaction de la riboflavine et l'oxygène photo réduit est comme suit :



✚ Protocole de mesure de l'activité de la SOD :

Le dosage de la SOD est effectué selon le protocole récapitulé dans le tableau 16 :

Tableau 16 : Étape de dosage du SOD (Beauchamp et Fridovich, 1971).

Tubes	Tubes blanc	Tube échantillon
Solutions		
Réactif	2ml	2ml
Fraction cytosolique	---	50µl
	50µl	
Exposition à une lamp UV (15W/10min)		
Lecture au spectrophotométrique à 560 nm		

✚ Une unité de l'activité de la SOD est calculée pour l'enzyme causant 50% d'inhibition de la réduction du Formazan.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs du blancs} - \text{Abs d'échantillon}}{\text{Abs du blancs}} \times 100$$

✚ L'activité enzymatique est calculée en µl/mg de protéine.

$$\text{SOD } \mu\text{l/mg} = \% \text{ inhibition} \times 6.35$$

I.2.8.4 Dosage des protéines cytosoliques

Le dosage des protéines cytosolique a été réalisé selon la méthode de lowry, (1951).

✚ Principe de dosage

Le principe de cette méthode est basé sur la réduction de réactif de Folin-ciocalteus(acide phosphoprotéine et phosphotungestic) en présence de protéines à une solution condensée de couleur bleue .cette coloration est due à la réaction de cuivre avec les liaison peptidiques et aussi à la réaction de l'acide phosphotungstomolybdique avec les acides aminés :tyrosine, tryptophane et cystéine.

✚ Protocole de dosage des protéines

Le dosage des protéines est effectué selon le protocole récapitulé dans le tableau 17 :

Tableau 17 : Étape de dosage des protéines (lowry, 1951).

Tubes	Tube blanc	Tube échantillon
Solutions (ml)		
Fraction cytosolique	---	1
Tampon phosphate	1	---
Solution R	1	1
Bien agiter et laissez à une température ambiante pendant 15 min		
Folin dilué à 10% (fraîchement préparé)	3	3
Laisser pendant 45 min à une température ambiante et à l'abri de la lumière		
Lecture au spectrophotomètre à 750 nm		

✚ Les concentrations des protéines en mg /g des organes sont obtenus à l'aide d'une courbe d'étalonnage établit par le sérum bovin albumine (BSA), (voir l'annexe3).

I.3 Etude statistique

Les résultats numériques et graphiques ont été représentés sous forme de moyennes \pm écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en comparant les moyennes des groupes traités par l'endosulfan et l'extrait de *Cammellia sinensis* à celles des groupes témoins. La signification de la différence entre le groupe témoin et les autres groupes a été vérifiée en utilisant le test t de Student. La valeur trouvée par le calcul du « t » peut confirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :

- ✚ $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative ns
- ✚ $0,05 \geq p > 0,01$ = la différence est significative *
- ✚ $0,01 \geq p > 0,001$ = la différence est hautement significative **
- ✚ $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative ***

Les calculs statistiques sont réalisés par le Microsoft Excel 2010.

Résultats et interprétations

I. Les paramètres sanguins (FNS)

I.1 Les Globules blancs

D'après les résultats consignés dans la figure 7, nous constatons que le nombre des GB est plus important chez les rats traités par l'endosulfan que les rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est inférieurs à celui des rats intoxiqués.

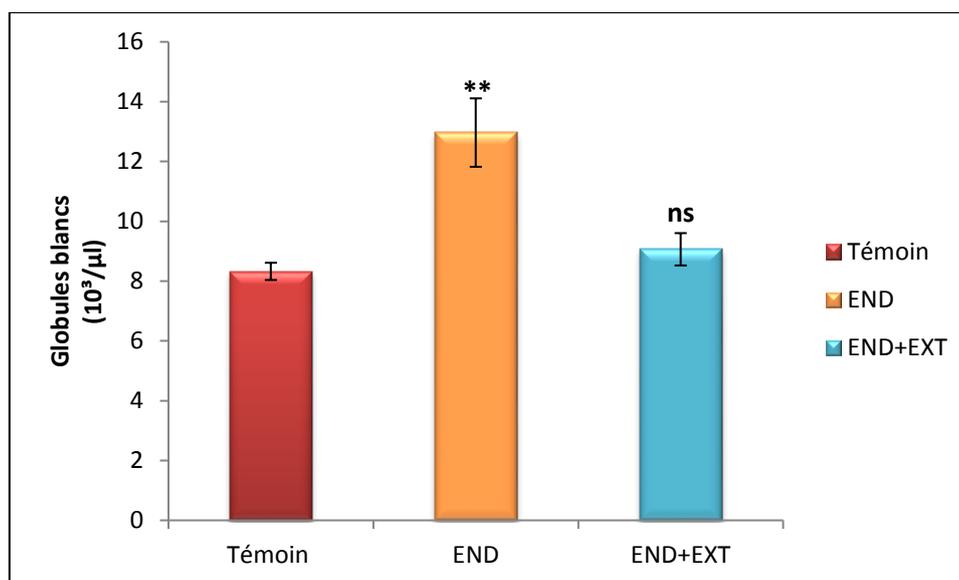


Figure 7 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration des Globules blancs chez les rats *Wistar albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : **P<0.01, la différence est hautement significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans le nombre des GB entre les divers groupes des rats, cette différence est très significative ($P \leq 0.01$) entre les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (12.97 ± 1.14) et le groupe témoin. Et une différence non significative ($P > 0.05$) entre les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Camellias sinensis*.L et le groupe témoin.

I.2 Les Monocytes

D'après les résultats consignés dans la figure 8, nous constatons une diminution significative du nombre des monocytes chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est élevé à celui des rats intoxiqués.

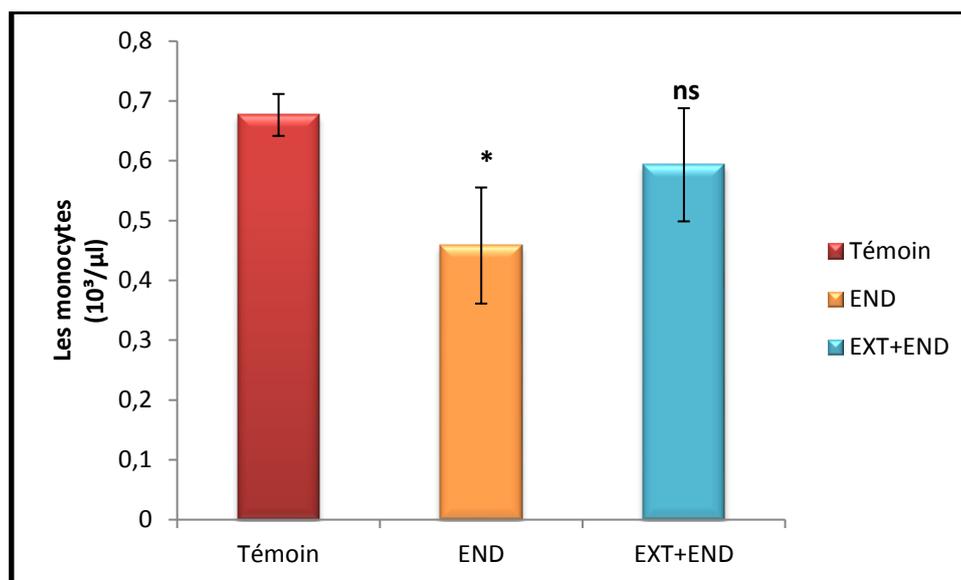


Figure 8 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration des monocytes chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : *P<0.05, la différence est significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans le nombre des monocytes entre les divers groupes des rats, cette différence est significative (P<0.05) entre les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (0.46 \pm 0.1) et le groupe témoin mais la différence n'est pas significative (P>0.05) entre les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Camellias sinensis*.L et le groupe témoin.

I.3 Les Granulocytes

D'après les résultats consignés dans la figure 9, nous constatons une diminution du nombre des granulocytes chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est plus important à celui des rats intoxiqués.

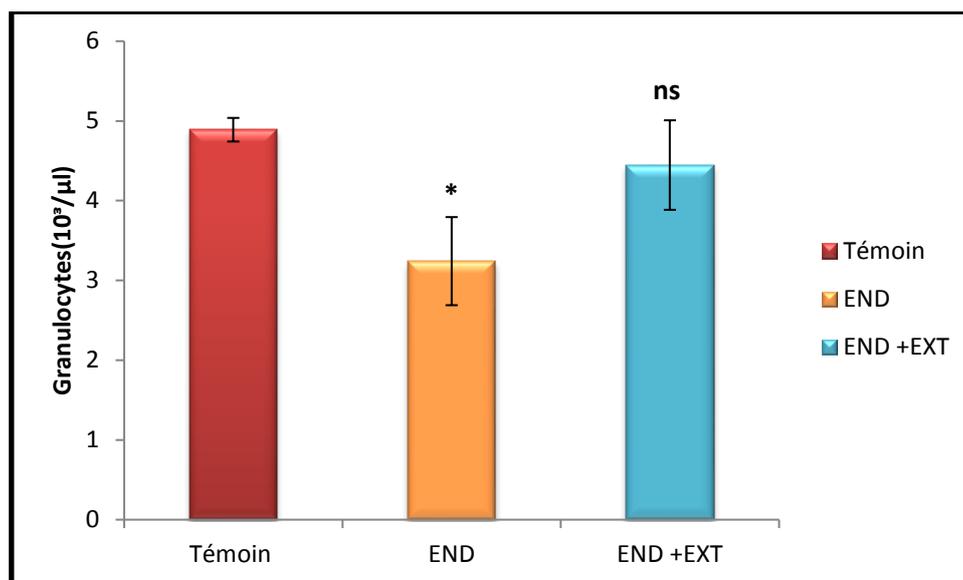


Figure 9 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration des granulocytes chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : *P<0.05, la différence est significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans le nombre des granulocytes entre les divers groupes des rats, cette différence est significative (P<0.05) entre les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (3.24 \pm 0.55) et le groupe témoin, mais on observe une différence non significative (P>0.05) entre le groupe traités par l'extrait polyphénolique de *Camellias sinensis*.L et le groupe témoin.

I.4 Les Basophiles

D'après les résultats consignés dans la figure 10, nous constatons une diminution du nombre des basophiles chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est plus important à celui des rats intoxiqués.

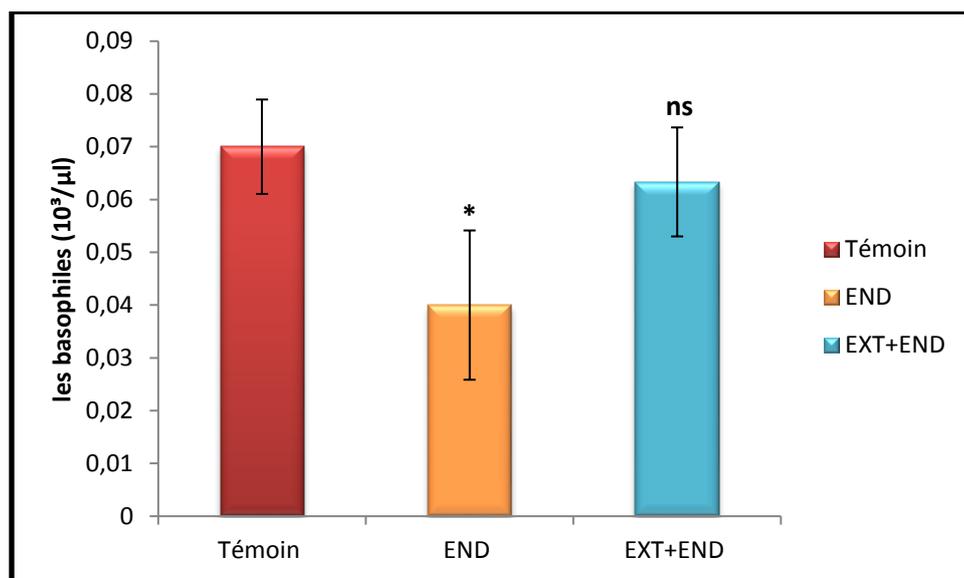


Figure 10 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration des basophiles chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : *P<0.05, la différence est significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans le nombre des basophiles entre les divers groupes des rats, cette différence est significative (P<0.05) chez les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (0.04 \pm 0.01) par rapport au groupe témoin, et une différence non significative (P>0.05) ont été observées chez les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Camellias sinensis*.L comparativement au groupe témoin.

I. 5 Les éosinophiles

D'après les résultats consignés dans la figure 11, nous constatons une diminution du nombre des éosinophiles chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est plus important à celui des rats intoxiqués.

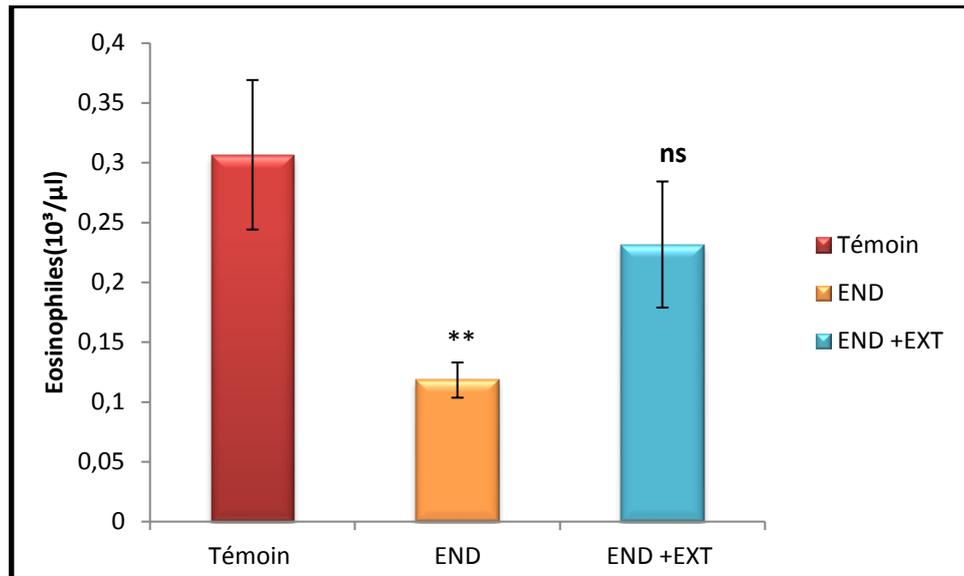


Figure 11 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration des éosinophiles chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : **P<0.01, la différence est hautement significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans le nombre des éosinophiles entre les divers groupes des rats, cette différence est hautement significative (P<0.01) chez les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (0.12 ± 0.01) par rapport au groupe témoin et une différence non significative (P>0.05) entre les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Camellias sinensis*.L et le groupe témoin.

I.6 Les Neutrophiles

D'après les résultats consignés dans la figure 12, nous constatons une diminution du nombre des neutrophiles chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est plus important à celui des rats intoxiqués.

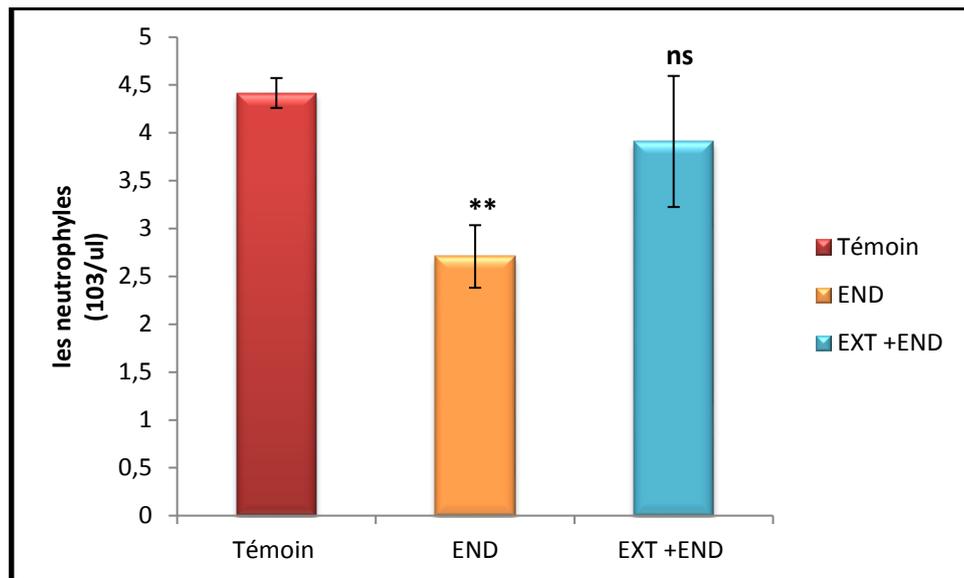


Figure 12 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration des neutrophiles chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : ** $P < 0.01$, la différence est hautement significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans le nombre des neutrophiles entre les divers groupes des rats, cette différence est hautement significative ($P < 0.01$) entre les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (2.71 ± 0.33) et le groupe témoin. Et une différence non significative ($P > 0.05$) entre les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Camellias sinensis*.L et le groupe témoin.

I.7 Les lymphocytes

D'après les résultats consignés dans la figure 13, nous constatons que le nombre des lymphocytes est plus important chez les rats traités par l'endosulfan que les rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est inférieur à celui des rats intoxiqués.

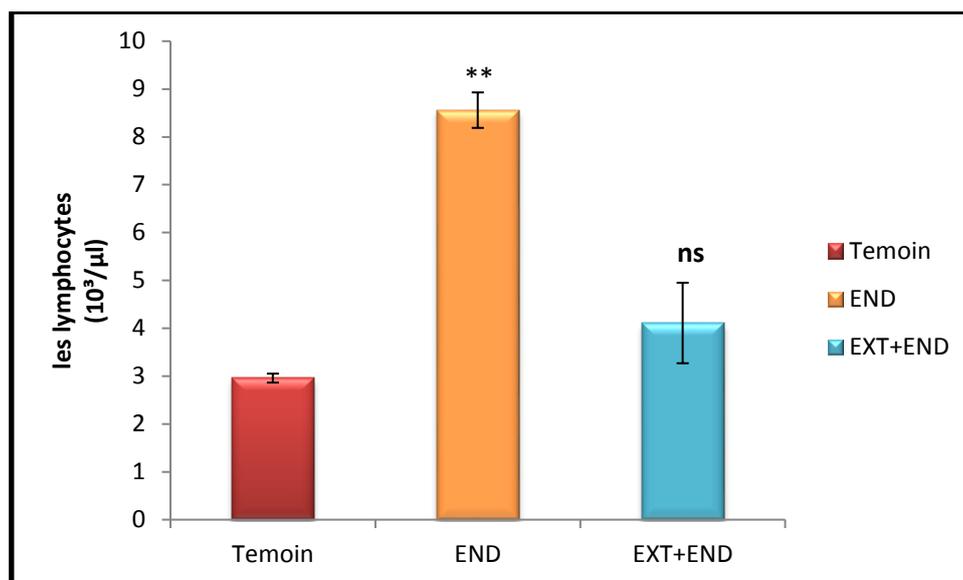


Figure 13 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration des lymphocytes chez les rats *Wistar albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : **P<0.01, la différence est hautement significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans le nombre des lymphocytes entre les divers groupes des rats, cette différence est hautement significative (P<0.01) chez les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (8.56 \pm 0.37) comparativement au groupe témoin et non significative (P>0.05) entre les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* et le groupe témoin.

I.8 Les globules rouges

D'après les résultats consignés dans la figure 14, nous constatant une diminution du nombre des GR chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est plus important à celui des rats intoxiqués.

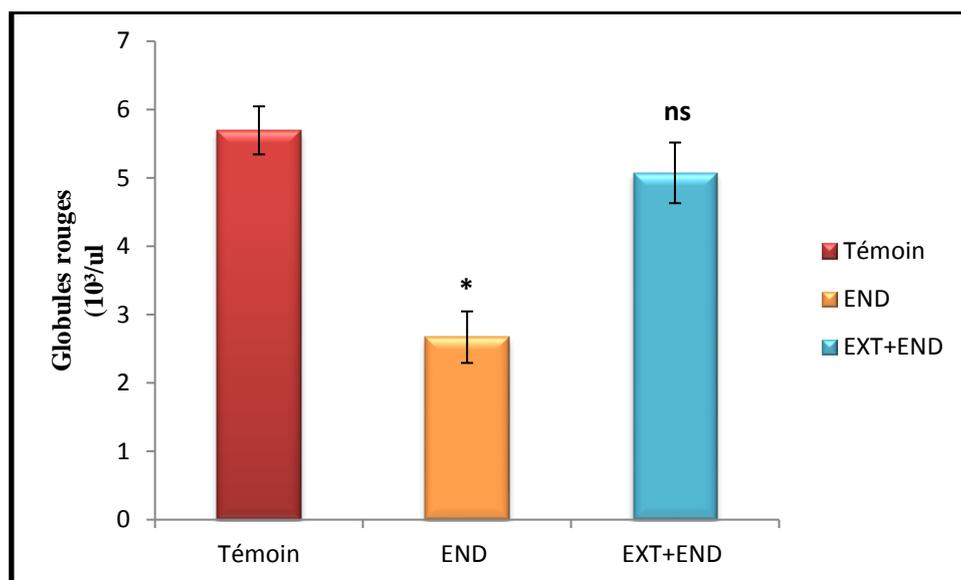


Figure 14 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration des globules rouges chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : *P<0.05, la différence est significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans le nombre des GR entre les divers groupes des rats, cette différence est significative (P<0.05) chez les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (2.67 \pm 0.38) par rapport au groupe témoin, et non significative (P>0.05) entre les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* et le groupe témoin.

I.9 Les Hémoglobines

D'après les résultats consignés dans la figure 15, nous constatons une diminution de l'hémoglobine chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est élevé à celui des rats intoxiqués.

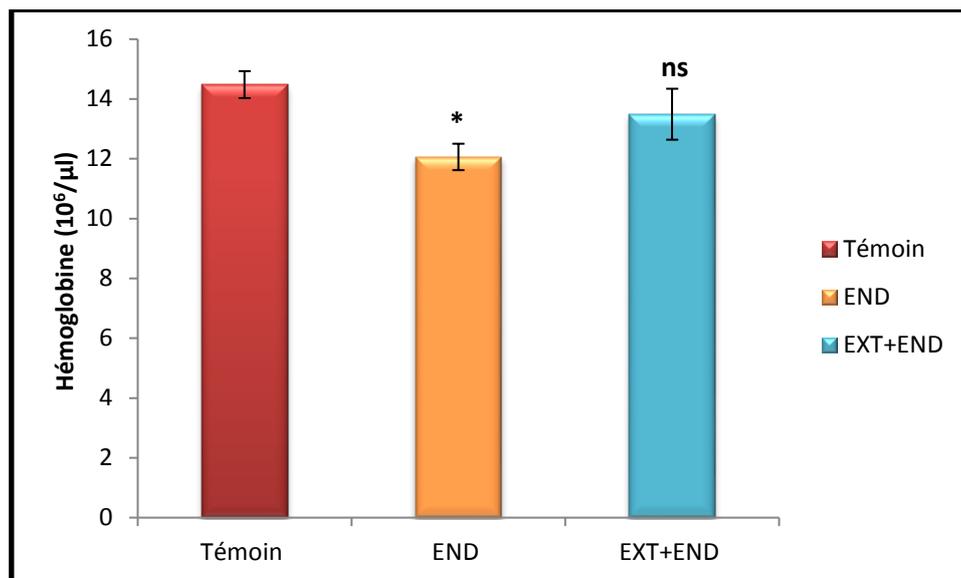


Figure 15 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration des Hémoglobines chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : *P< 0.05, la différence est significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans le nombre des GR entre les divers groupes des rats, cette différence est significative (P<0.05) chez les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (12.06 \pm 0.44) et non significative(P>0.05) chez les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* comparativement au groupe témoin.

I.10 Les plaquettes

D'après les résultats consignés dans la figure 16, nous constatons une diminution du nombre des plaquettes chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est plus important à celui des rats intoxiqués.

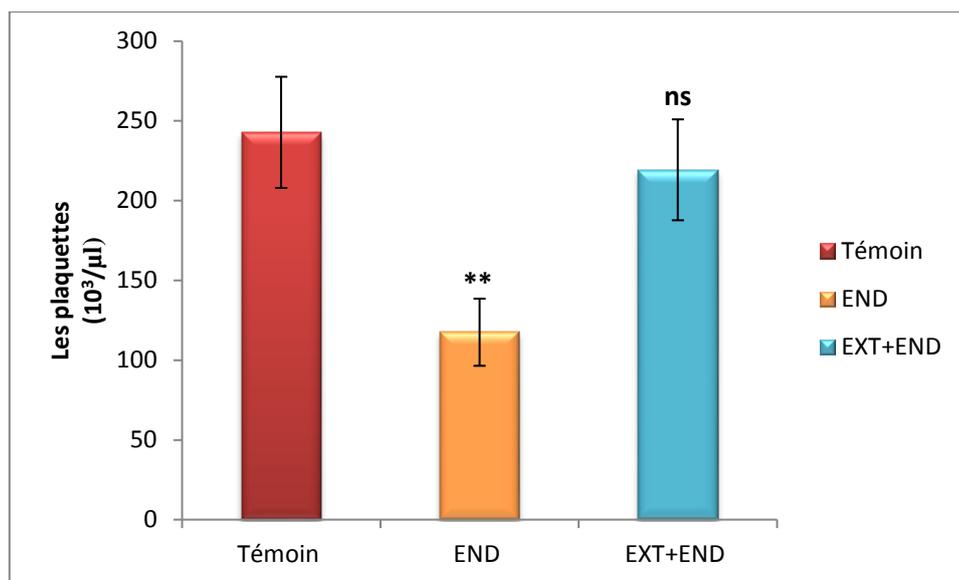


Figure 16 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration des plaquettes chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison =des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : **P<0.01, la différence est hautement significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans le nombre des lymphocytes entre les divers groupes des rats. Une différence hautement significative (P<0.01) a été observée chez les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (117.5 \pm 23.05) comparativement aux rats témoins et non significative(P>0.05) entre les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* et le groupe témoin.

II. Les paramètres biochimiques

II.1 La concentration de Glucose

D'après les résultats consignés dans la figure 17, nous constatons une augmentation de la concentration du glucose chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est inférieur à celui des rats intoxiqués.

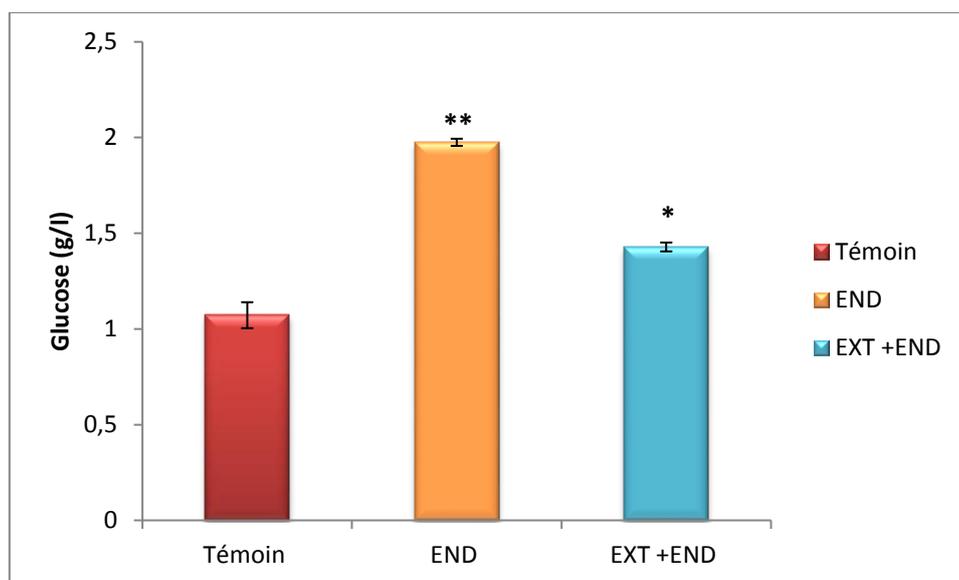


Figure17 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration de glucose sérique chez les rats Wistar Albinos.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : **P<0.01, la différence est hautement significative : *P<0.05, la différence est significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans la concentration du glucose entre les divers groupes des rats. Cette différence est hautement significative (P<0.01) a été observée entre les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (1.97 \pm 0.02) comparativement aux rats témoins et significative (P<0.05) entre les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* avec une valeur (1.43 \pm 0.02) et les rat témoins.

II.2 La concentration d'urée

D'après les résultats consignés dans la figure 18, nous constatons une augmentation de la concentration d'urée chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est inférieur à celui des rats intoxiqués.

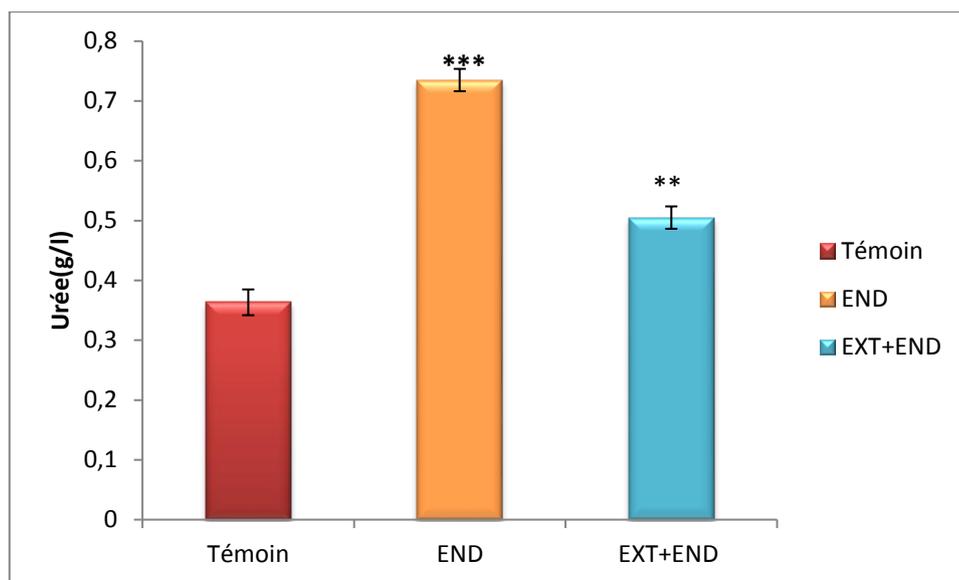


Figure18 : Effet d'endosulfan et l'extrait de *Cammellia sinensis* sur la concentration d'urée sérique chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : ***P<0.001, la différence est très hautement significative ; **P<0.01 la différence est hautement significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans la concentration d'urée entre les divers groupes des rats. Cette différence est très hautement significative (P<0.001) a été observée entre les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (0.73 \pm 0.02) comparativement aux rats témoins et hautement significative (P<0.01) entre les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* avec une valeur (0.5 \pm 0.02) et les rat témoins.

II.3 La concentration de créatinine

D'après les résultats consignés dans la figure 19, nous constatons une augmentation de la concentration de la créatinine chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est inférieur à celui des rats intoxiqués.

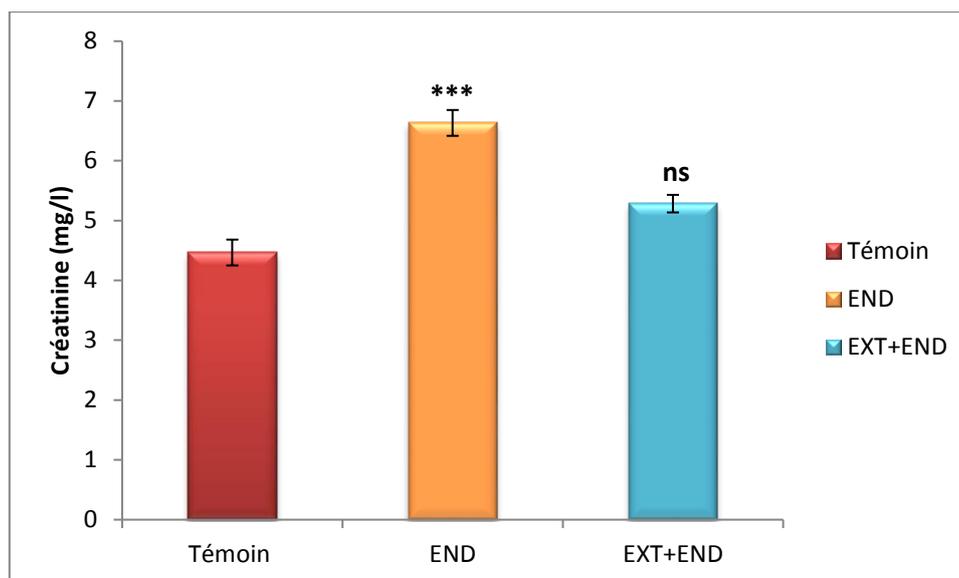


Figure 19 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration de la créatinine sérique chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : ***P<0.001, la différence est très hautement significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans la concentration de la créatinine entre les divers groupes des rats. Cette différence est très hautement significative (P<0.001) a été observée chez les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (6.63 \pm 0.22) comparativement aux rats témoins et non significative entre les rats traités par l'extrait de *Cammellia sinensis* et le groupe témoins.

II.4 La concentration du triglycéride

D'après les résultats consignés dans la figure 20, nous constatons une augmentation de la concentration du triglycéride chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est inférieur à celui des rats intoxiqués.

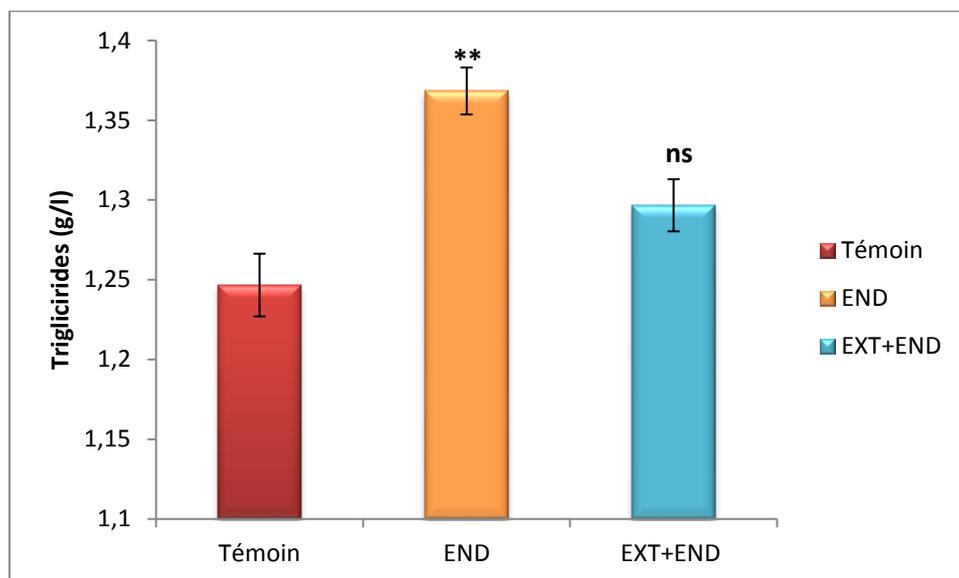


Figure 20 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration du triglycéride sérique chez les rats *Wistar albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : ** $P < 0.01$, la différence est hautement significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans la concentration de la créatinine entre les divers groupes des rats. Cette différence est hautement significative ($P < 0.01$) a été observée chez les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (1.37 ± 0.01) comparativement aux rats témoins et non significative entre les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* et le groupe témoin.

II.5 La concentration de GPT-ALAT

D'après les résultats consignés dans la figure 21, nous constatons une augmentation de la concentration du GPT-ALAT chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est inférieur à celui des rats intoxiqués.

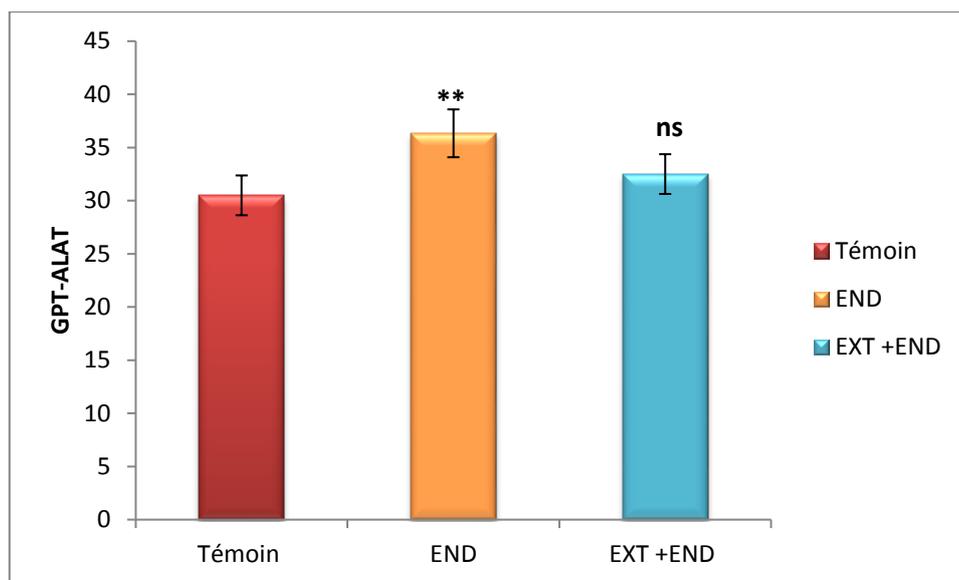


Figure 21 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration de GPT-ALAT sérique chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : **P<0.01, la différence est hautement significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans la concentration de la créatinine entre les divers groupes des rats. Cette différence est hautement significative (P<0.01) a été observée chez les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (36.33 \pm 2.25) comparativement aux rats témoins et non significative entre les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* et le groupe témoin.

II.6 La concentration de GOT-ASAT

D'après les résultats consignés dans la figure 22, nous constatons une augmentation de la concentration du GOT-ASAT chez les rats traités par l'endosulfan par rapport aux rats témoins, tandis que leur nombre chez les rats traités préventivement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* est inférieur à celui des rats intoxiqués.

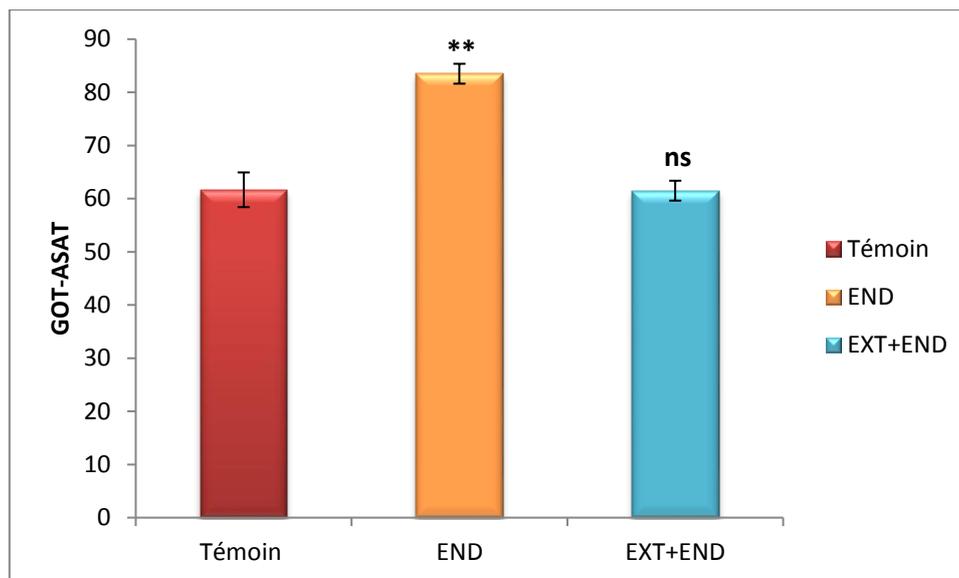


Figure 22 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration du GOT-ASAT sérique chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : **P<0.01, la différence est hautement significative ; ns=non significative.

Le test de Student montre la présence ou non d'une différence dans la concentration de la créatinine entre les divers groupes des rats. Cette différence est hautement significative (P<0.01) a été observée chez les rats traités par l'endosulfan avec une valeur (83.5 \pm 1.87) comparativement aux rats témoins et non significative entre les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensises* et le groupe témoin.

III. les paramètres de stress oxydant

III.1 La concentration de MDA

Les résultats de l'évaluation de la MDA cytosolique dans le foie, les reins et le pancréas chez les différents groupes de rats après le traitement par l'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* pendant 10 jours sont illustrés par la figure 23.

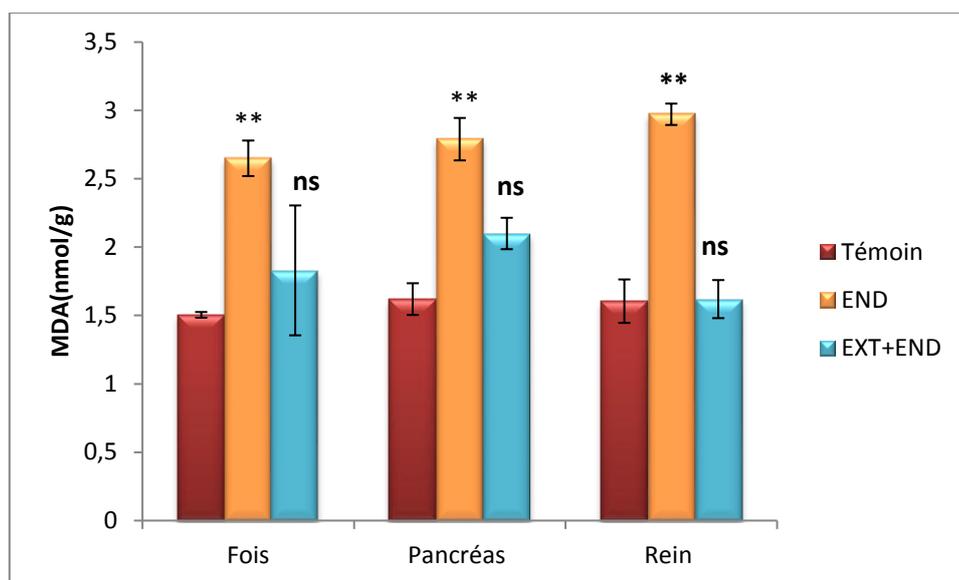


Figure 23 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration de MDA hépatique, rénale et de pancréas chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : **P<0.01, la différence est hautement significative ; ns=non significative.

D'après les résultats effectués au niveau de cytosols de foie, les reins et le pancréas, nous constatons qu'une augmentation hautement significative (P<0.01) au niveau du MDA dans le cytosol de chaque organe (foie, les reins et le pancréas) chez les rats traités par l'endosulfan avec des valeurs respectives (2.65 \pm 0.13), (2.79 \pm 0.15) et (2.97 \pm 0.08).

Une augmentation significative (P<0.05) au niveau du MDA dans le cytosol de pancréas avec une valeur (2.1 \pm 0.11) et une augmentation non significative (ns) dans les cytosols de foie et des reins avec des valeurs respectives : (1.83 \pm 0.47) et (1.62 \pm 0.14) Chez les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* comparativement au groupe témoin.

III.2 La concentration de SOD

Les résultats de l'évaluation de la SOD cytosolique dans le foie, les reins et le pancréas chez les différents groupes de rats après le traitement par l'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* pendant 10 jours. Ils sont illustrés par la figure 24.

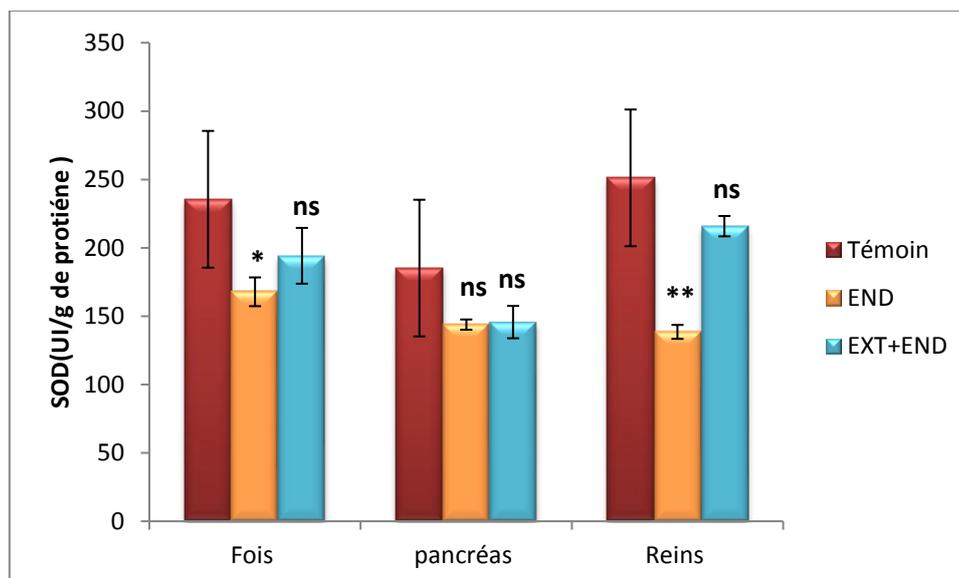


Figure 24 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration de SOD hépatique, rénale et de pancréas chez les rats *Wistar albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : **P<0.01, la différence est hautement significative, *P<0.05, la différence est significative ; ns=non significative.

D'après les résultats obtenus nous constatons que : chez les rats traités par l'endosulfan marquent Une diminution hautement significative (P<0.01) au niveau de SOD dans le cytosol des reins avec une valeur (143.83 \pm 3.76) et Une diminution significative (P<0.05) au niveau de SOD dans le cytosol de fois avec une valeur (167.83 \pm 10.51), alors que dans le cytosol de pancréas ils marquent aucune différence significative par rapport au groupe témoin.

Les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* marquent aucune différence significative par rapport au groupe témoin.

III.3 Concentration de la Catalase

Les résultats de l'évaluation de l'activité de la CAT cytosolique dans le foie, les reins et le pancréas chez les différents groupes de rats après le traitement par l'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* pendant 10 jours. Sont illustrés par la figure 25.

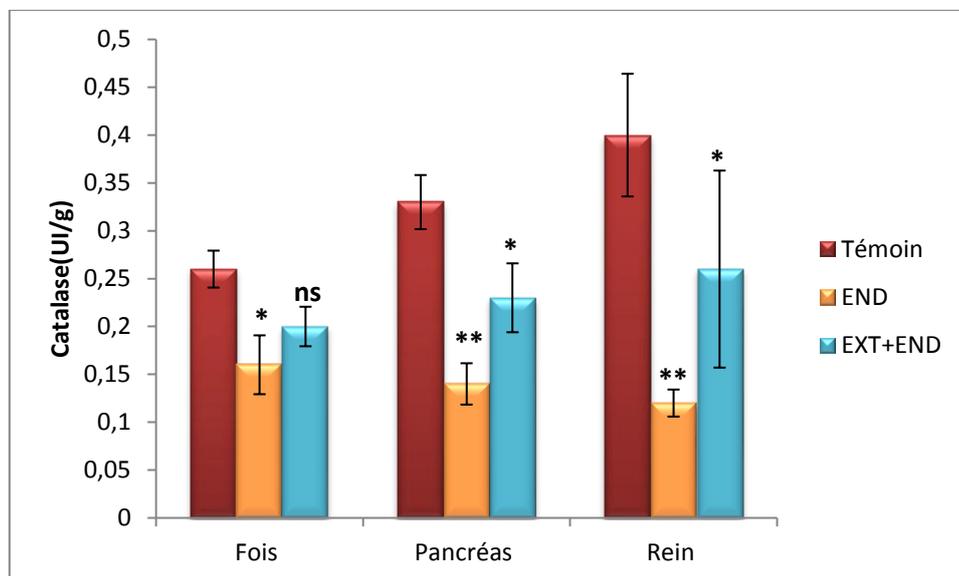


Figure 25 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration de la Catalase hépatique, rénale et de pancréas chez les rats *Wistar albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : **P<0.01, la différence est hautement significative, *P<0.05, la différence est significative ; ns=non significative.

Les résultats montrent également une diminution hautement significative (P<0.01) de la catalase dans le cytosol de pancréas et les reins avec les valeurs respectives (0.12 \pm 0.01) et (0.14 \pm 0.02). Alors que dans le cytosol de la fois nous enregistrons une diminution significative (P<0.05) avec une valeur (0.16 \pm 0.03) chez les rats traités par l'endosulfan par rapport les rats témoins.

Une diminution significative (P<0.05) de la catalase dans le cytosol de pancréas et les reins avec des valeurs respectives (0.26 \pm 0.1) et (0.23 \pm 0.04) chez les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis*, alors que dans le cytosol de fois marquent une différence non significative comparativement au groupe témoin

III.4 La concentration des Protéines cytosoliques

Les résultats de l'évaluation de la concentration des protéines cytosolique dans le foie, les reins et le pancréas chez les différents groupes de rats après le traitement par l'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* pendant 10 jours. Sont illustrés par la figure 26.

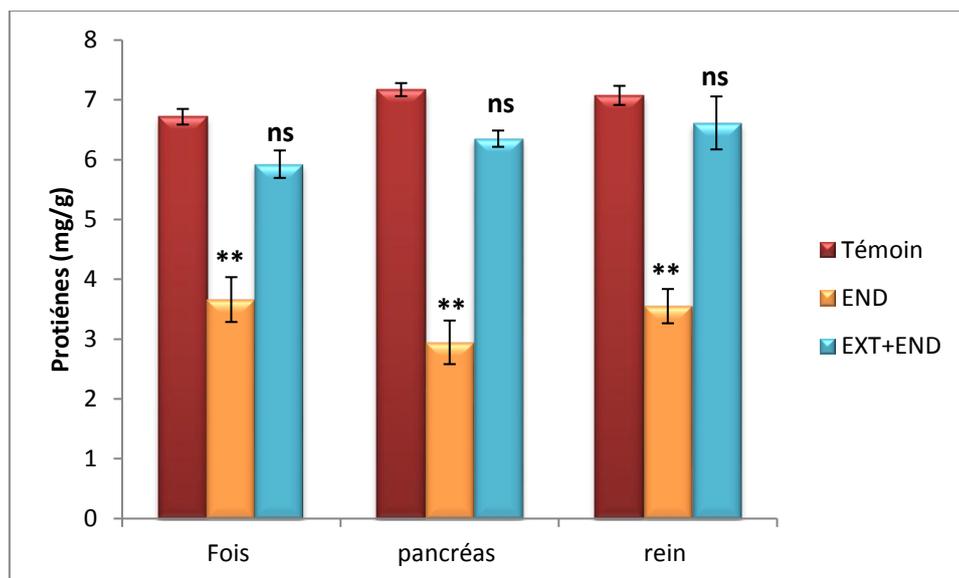


Figure 26 : Effet d'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* sur la concentration de protéines hépatique, rénale et de pancréas chez les rats *Wistar Albinos*.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=6. La comparaison des moyens par rapport au témoin effectuée par le test de student : **P<0.01, la différence est hautement significative, ns=non significative.

La comparaison des moyens montre une diminution hautement significative (P<0.01) dans le cytosol de foie, les reins et le pancréas avec des valeurs respective : (3.66 \pm 0.37) ; (2.95 \pm 0.36) ; (3.55 \pm 0.29) chez les rats traités par l'endosulfan comparativement au groupe témoin. Tandis que nous observons une différence non significative dans le cytosol de foie, les reins et le pancréas chez les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* par rapport au groupe témoin.

Discussion

Les pesticides sont toute substance destinée à prévenir, détruire, ou lutter contre tous élément nuisible. Leur immense succès dans les applications agricoles afin d'optimiser la productivité des denrées, a entraîné une étendue rapide de leur production et utilisation (Jawich, 2006). Avec l'utilisation massive des pesticides sont apparus des signes évidents de toxicité et d'effets néfastes pour l'environnement et pour l'Homme (Bonde et al., 2008). Parmi les pesticides les plus utilisées en Algérie il y'a l'endosulfan.

Les polyphénols constituent un ensemble de molécules très largement répandues dans le règne végétal. De nos jours, les activités pharmacologiques des polyphénols sont amplement étudiées, ils jouent un rôle très important dans le domaine médical notamment leurs activités antioxydantes (Boulkour, 2004).

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'effet pro-oxydant d'endosulfan sur les paramètres sanguins, biochimiques et de stress oxydant d'une part et l'effet antioxydant des polyphénols de l'extrait de *Cammellia sinensis* contre la toxicité d'endosulfan d'une autre part. Peu d'étude épidémiologique ont été entreprise dans la population générale. Pour mesurer l'impact des pesticides sur le système immunitaire, les chercheurs ont relevé celle menée dans le nord Caronique (USA) montrant que les personnes habitant près d'un site largement contaminé par les pesticides organochlorés présentaient les déficiences de leurs systèmes immunitaire (Vine, 2001).

Dans cette étude, nous avons testé l'activité de l'endosulfan in vivo sur des rats femelles du Wistar albinos. Le dosage des paramètres sériques, biochimiques, et hématologiques nous a révélé que les taux anormaux des paramètres sanguins et des transaminases sont liés à la nécrose au niveau des cellules hépatiques, pancréatiques et rénale. Nous avons constaté que l'administration d'endosulfan engendre chez les rats wistar albinos, une augmentation hautement significative du taux des globules blancs et des lymphocytes, un nombre élevé de globules blancs indique que le corps a déclenché une réaction immunitaire (Kaplan, 1984). Ceci explique l'effet inflammatoire potentiel d'endosulfan.

Ces résultats signifient la présence d'une réponse immunitaire, le corps est en train de lutter contre les infections immunotoxiques, la prévention par les polyphénols neutralisent ces effets immunotoxiques grâce à leur pouvoir de piéger des radicaux libres qui sont produits par le métabolisme de l'endosulfan, donc les polyphénols remplacent le rôle immunitaire des GB.

Les résultats obtenus par Seth et al. (2005) lors d'une étude qui porte sur une exposition à un fongicide par 13 viticulteurs, révèle des signes cliniques et biologiques sévères d'intoxication par insecticide organochloré.

Les résultats hématologiques obtenus ont révélé également une chute significative du taux des globules rouges et l'hémoglobine par rapport au groupe témoin. Cela est expliqué par l'apparition d'une anémie. Lorsque la dose des pesticides est faible et la durée d'exposition est longue les GR subissent une apoptose. Durant ce processus la membrane demeure en intacte évitant la libération des constituants dans le milieu extracellulaire. Cela prévient ainsi une réaction inflammatoire suite à une condensation de l'ADN et la fragmentation de la cellule sous forme de corps apoptotique qui sont phagocytés par les macrophages (Chebeb, 2008).

L'évaluation du nombre du GR de nos résultats entre les rats préventifs et toxiques a montré que les polyphénols empêchent l'effet toxique d'endosulfan.

D'autre part, nos résultats ont pu montrer une diminution hautement significative du taux d'éosinophiles, des neutrophiles et des plaquettes par rapport au groupe témoin. Ajoutant à cela les résultats hématologiques obtenus ont révélé également une diminution significative du taux de monocytes, des granulocytes et des basophiles par rapport aux rats témoins.

Le profil biochimique est devenu une importance cruciale dans le diagnostic de plusieurs maladies (OMS, 2007) .

L'urée est la forme principale d'élimination des déchets azotés provenant du catabolisme des protéines chez l'homme. Son cycle se déroule essentiellement dans le foie ; elle est complètement filtrée par le glomérule est réabsorbé partiellement au niveau du tubule rénal de façon inversement proportionnelle au débit urinaire.

L'augmentation de l'urée sanguine traduit un déficit de la fonction d'excrétion des reins, avec ou sans lésion de l'organe (Jobert, 2010). La créatinine est un produit de dégradation de la créatine. Celle-ci est stockée au niveau musculaire sous forme libre et surtout sous forme de créatine-phosphate. La créatinine est filtrée au niveau glomérulaire, mais n'est pas réabsorbée au niveau tubulaire. En revanche, il existe une sécrétion tubulaire qui augmente dans certaines situations pathologiques, en particulier à la cour de l'insuffisance rénale (Dimitrios et Binrt, 2006).

Nos résultats, montrent également une élévation très hautement significative ($P < 0.001$) du taux sérique de créatinine et d'urée chez les rats traités par l'endosulfan comparativement au groupe témoins, ce qui explique l'effet toxique d'endosulfan sur la fonction rénale et donc le système urinaire à cause de l'effet des ROS sur les membranes phospholipidiques des cellules hépatiques. Ce résultat est en accord avec les résultats de (Mohajeri et AbdoIlahi, 2011) qui montrent que l'administration des pesticides aux rats provoque un stress oxydant au niveau de système urinaire ainsi qu'au niveau des reins. L'augmentation d'urée et de créatinine signant à une perturbation des fonctions des reins comme la filtration de déchet sériques et la sécrétion sérique (Feige et al., 2006). Comme l'urée, la créatinine sont des marqueurs de l'insuffisance rénale (IR), donc il y a une relation entre IR et l'effet toxique d'endosulfan.

Nous n'enregistrons aucune différence significative de la créatinine par rapport au groupe témoin chez les rats traités par l'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* tandis que nous constatons une diminution hautement significative ($P < 0.01$) d'urée, ces résultats expliquent le rôle préventif de l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis*.

Les triglycérides (TG) sont essentiels pour la structure et le fonctionnement de l'organisme, de sorte que les TG font partie des graisses de l'organisme, rapidement métabolisables pour fournir de l'énergie. Ils constituent la majeure partie des lipides alimentaires et des lipides de l'organisme stockés dans le tissu adipeux (Dallongeville, 2006).

Les TG apparaissent dans toutes les études épidémiologiques comme un important facteur de risque cardiovasculaire en analyse univariée (Bruckert et al., 1992). Ils sont considérés comme un marqueur de conditions cliniques et métaboliques associées à un risque élevé d'athérosclérose (Gardner et al., 1996). Il est à noter aussi que les acides gras constituant les triglycérides soient impliqués dans le processus de défense de l'organisme contre la surproduction des formes radicalaires.

Les résultats obtenus montrent une augmentation hautement significative ($P < 0.01$) des taux sériques en triglycérides à cause de l'effet d'endosulfan sur la perméabilité de la membrane cellulaire hépatique et /ou la perturbation de la fonction du foie et donc la perturbation de l'activité des transaminases (Youcef et al., 2003).

Chez les rats traités par l'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* nous ne constatons aucune différence significative comparativement au groupe témoin à cause de l'effet préventif des flavonoïdes.

Le pancréas joue un rôle essentiel à la sécrétion d'insuline, glucagon et des enzymes digestives, c'est le principale organe cible des pesticides, Il modifie le métabolisme d'hydrocarbures (Mohajeri et Abdollahi, 2011).

Nous avons enregistré une augmentation hautement significative ($P < 0.01$) du glucose dans le sang chez les rats traités par l'endosulfan par rapport au groupe témoin ; ce qui reflète l'effet toxique d'endosulfan sur les cellules béta pancréatiques, selon les résultats de (Kamath et Rajini, 2007) qui ont confirmé l'effet toxique des composés organiques sur le fonctionnement des cellules pancréatiques en induisant une augmentation de la production des ROS, ces dernière altèrent les mécanismes métaboliques de synthèse et sécrétion de l'insuline provoquant une hyperglycémie chronique qui se développe en diabète en absence de prévention et de traitement (Orabi et al., 2013).

Dans les études cliniques, les transaminases sont des indicateurs importants des lésions et d'endommagements du foie (Kalender et al., 2005). Les enzymes sériques TGO, TGP sont des enzymes synthétisés au niveau du cytoplasme de la cellule et déchargées dans la circulation en cas de cellules endommagées (Singh et al., 1998 ; Ozturk et al., 2009). Ces derniers sont considérés comme de bons indicateurs de la cytolysse hépatique.

Les résultats obtenus montrent une augmentation hautement significative dans l'activité enzymatique de l'Aspartate Aminotransférase (TGO) et de l'Alanine Aminotransférase (TGP) chez les rats wistar exposés à la dose 5.8mg /kg d'endosulfan comparativement au groupe témoin. Suggérant que l'utilisation excessive de cet organochlorée pourrait causer des dommages critiques au foie. Ceci pourrait résulter de l'hépatotoxicité qui mène à l'altération de la perméabilité de la membrane plasmique, facilitant donc la fuite des enzymes du tissu vers le plasma (EL-Demerdash et al., 2013). Ces résultats sont confirmés par les recherches de (Orabi et al., 2013) en traitant les rats par des polluants organophosphoré (POPs) ce qui augmentent les enzymes hépatiques à cause de destruction des tissus suivie par l'apparition des pores au niveau du foie (EL-Demerdash et al., 2012). Tandis que la différence est non significative chez les rats traités par l'endosulfan et l'extrait polphénolique de *Camellia sinensis* par rapport au groupe témoin. Nos résultats sont en accord avec les investigations de (Elberry et al., 2010) sur des rats intoxiqués et non traités qui signalent une augmentation de la concentration sérique de TGP. Cette augmentation est moins accrue chez les sujets intoxiqués et traités.

Notre étude comporte principalement une évaluation de l'état du stress oxydatif.

Les xénobiotiques, y compris les pesticides, sont connus pour leur rôle dans l'augmentation de la production des radicaux libres qui à leur tour génèrent le stress oxydatif dans les différents tissus (Mehta et al., 2008). La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation d'ADN, des protéines, des lipides et des glucides), (Favier, 2003). Les ROS induisent la néphrotoxicité ainsi que l'hépatotoxicité (Mahino et al., 2015).

Afin d'étudier le stress oxydatif engendré par l'endosulfan, nous avons mesuré les taux du MDA et du SOD et nous avons aussi évalué les activités de CAT et des protéines cytosoliques hépatiques, rénales, et de pancréas.

Dans notre étude le traitement par l'endosulfan à entrainer une augmentation hautement significative du taux de MDA dans le cytosol hépatique, rénal et de pancréas ce qui s'explique par la production excessive des ROS et beaucoup plus les peroxyde d'hydrogène (Padmavathi et al., 2006). L'augmentation du taux des espèces réactives oxydantes à l'intérieurs des cellules peut être due soit à une surproduction de ses substances réactives soit à une diminution de la capacité de les neutraliser (Kirschvink et al., 2008).

Ce résultat est en accord avec les résultats des autres études qui ont mis en évidence une augmentation de la peroxydation lipidique après traitement par le CPF. Zama et ses collaborateurs (2007) ont montré que le taux du MDA dans le foie des rats augmente de façon significative après l'administration du CPF. Cette observation est corroborée par les travaux des autres auteurs (Ajay et al., 2005 ; Chebab et al., 2009).

D'un autre côté, l'activité de CAT dans l'homogénat du foie a très significativement ($P < 0.05$) diminué chez les rats à qui ont recevant l'endosulfan par rapport à celle mesurée chez les témoins. Mais dans l'homogénat des reins et de pancréas on observe une chute hautement significative ($P < 0.01$) chez les rats wistar à qui ont administré l'endosulfan comparativement au groupe témoin. Ce résultat est en accord avec les résultats des autres études qui ont mis en évidence une diminution de l'activité de CAT après un traitement par le CPF (Ojha et al., 2011 ; Chebab et al., 2009). Selon Ozcan Oruç (2010), la diminution de l'activité de la CAT pourrait être due à la production excessive d'anion superoxyde.

L'évaluation de l'activité enzymatique de la SOD a montré une chute hautement significative dans l'homogénat du rein et une diminution significative pour le foie et non significative pour le pancréas par rapport aux rats témoins.

La catalase est un enzyme anti oxydante qu'est présente principalement dans le foie et les reins. Elle agit en synergie avec le SOD, elle accélère la dismutation du peroxyde d'hydrogène(H_2O_2).

La diminution de la CAT et la SOD pourrait se produire à cause de la production excessive des radicaux libres après l'administration de l'endosulfan, provoquant ainsi l'altération de l'activité biologique des macromolécules cellulaires, notamment les enzymes, en raison de l'absence de la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En effet, la réduction de l'activité enzymatique peut résulter de nombreux effets due à une accumulation des radicaux superoxydes et peroxyde d'hydrogène (El-Hossary, 2000).

D'un autre côté, nous avons testé l'activité de ces enzymes cytosolique hépatique, rénaux, et pancréatique sur des rats wistar traités par l'endosulfan. Nos résultats montrent une diminution hautement significative ($P < 0.01$) comparativement au groupe témoin. Ces résultats concordent avec ceux rapporté par Choi, (2008). Tandis que chez les rats traités par l'endosulfan et l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensise* on n'enregistre aucune différence significative dans le cytosole du foie, des reins et de pancréas ce qui explique l'effet préventif de polyphénols contre le stress oxydatif. Nos résultats sont en accord avec les investigations de plusieurs chercheurs : (Saja et al., 1995 ; Pandey and Rizvi, 2009 ; Cook and Samman, 1996).

L'augmentation au niveau des enzymes antioxydant après le traitement par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensise* peut être expliquée par l'effet des flavonoïdes qui ont joué un rôle biologique essentiel comme étant un antioxydant.

Les flavonoïdes sont des protecteurs de l'organisme de diverses maladies cardiovasculaires, immunitaires, diabète et le cancer. Ils inhibent la peroxydation lipidique par le piégeage des ROS.

Conclusion

Dans ce travail, on a étudié l'effet toxique de l'endosulfan, comme exemple des pesticides organochlorée qui sont très utilisés en Algérie, et a évalué la possibilité de protéger les animaux de laboratoire par les polyphénols de l'extrait de *Cammellia sinensis* contre cette toxicité.

Cette étude m'a permis de confirmer la toxicité d'endosulfan après l'administration d'une dose quotidienne par gavage gastrique de 5.8 mg /kg pendant 10 jours chez les rats femelles de Wistar albinos, un déclenchement d'un déséquilibre du statut redox au profit des prooxydants, témoignant d'un état de stress oxydant. Ce stress est à l'origine de la peroxydation lipidique des bio-membranes qui est la cause de la cytolyse et la diminution de la défense antioxydante endogène exprimée par la chute des antioxydants cytosoliques provoquant un dysfonctionnement des cellules hépatiques, pancréatiques, rénales et immunitaires.

Les paramètres biochimiques étudiés justifient l'effet toxique d'endosulfan au niveau des divers organes (le foie, les reins et le pancréas).

Au niveau hépatique : l'étude des différents marqueurs biologiques notamment, le glucose, triglycéride ainsi que les transaminases qui ont marqué une augmentation respectivement significative révélé un dysfonctionnement hépatique traduit par une cytolyse. Cette dernière provoque la dégradation du tissu hépatique sous l'effet de l'endosulfan.

Au niveau rénal : l'administration de l'endosulfan provoque la perturbation des différentes fonctions rénales confirmées par l'étude des deux indicateurs (l'urée et de la créatinine) qui ont marqué une augmentation respectivement significative.

Au niveau de pancréas : la toxicité d'endosulfan cause une diminution de la sécrétion de l'insuline, c'est-à-dire il provoque une hyperglycémie qui résulte de l'augmentation du glucose.

Pour les paramètres de stress oxydatif, nous avons évalué l'activité antioxydante des SOD, MDA, la catalase et l'activité des protéines cytosoliques. Ces différents paramètres révèlent l'effet toxique d'endosulfan au niveau du foie, des reins et du pancréas. L'augmentation hautement significative de MDA provoque une peroxydation lipidique des cellules cytosoliques des organes étudiés qui induit la perturbation de la structure membranaire des cellules.

Nous avons enregistré une diminution significative de l'effet antioxydant de CAT et de la SOD dans le cytosol des reins et de pancréas. Nous avons enregistré également une

augmentation hautement significative de la SOD dans le cytosol des reins et non significative dans le cytosol de pancréas.

Nous avons constaté un effet préventif de l'extrait polyphénolique du thé vert à une dose de 100 mg /kg contre les agressions qui sont induites par les pesticides organochlorées notamment l'endosulfan.

*Références
bibliographique*

Abdollahi M .,Ranjbar A .,Shadnia S .,NikfarS.,2004. Pesticides and oxidative stress: a Review.Med Sci Monil, 10(6), p141-147.

Airparif., 2016. Les pesticides dans l'air Francilien –Partie I-état des connaissances. L'observatoire de l'air en ile –de – France, p 6-29.

Ajay G., Vijayta D., Dhawan D.K., 2005. Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos induced toxicity. Chem. Biol. Inter. 156, p131-140.

Alain p., Michele B., Francine C., Michele C., Jean – Michel L., Carole L., 2004. Pesticides ,risques, sécurité alimentaire, p255-323.

Ali A.A., CoulterJ.A., Ogle C.H., Migaud M.M., Hirst D. G., RobsonT., Mc CarthyH.O., 2015. The contribution of N₂O₃ to the cytotoxicity of the nitric oxide donor DETA/ NO : an emerging role for S-nitrosylation/BiosciRep, p33(2).

Alin C., Ioana Miruna B., Anca T.,Carol S., 2016. The Implications of Oxidative Stress and Antioxidant Therapies in Inflammatory Bowel Disease: Clinical Aspects and Animal Models. Saudi J Gastroenterol.22(1), p 3–17.

Alzoghaibi M. A., 2013. Concepts of oxidative stress and antioxidant defense in Crohn's disease. World J Gastroenterol.19(39), p6540-6547.

Ashida H., Furuyashiki T., Nagayasu H., Bessho., Sakakibara H., Hashimoto T., Kanazawa K., 2004. Anti-obesity actions of green tea: possible involvements in modulation of the glucose uptake system and suppression of the adipogenesis-related transcription factors. Biofactors, 22(1-4), p135-40.

Asima B., Chattopadhyay, R., Mitra, S., Crowe, S. E. 2014. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. Physiological reviews, 94(2), p 329-354.

Balleter W.G., Bushaman C.S., Tidwell P.W., 1859.Urée, méthode cinétique Berthelot modifiés Anal, Chem, p33-59.

Beauchamp C., Fridovich I., 1971.assay of superoxide dismutase. Anal Biochem .44, p276-87.

- Belviranl M., Okudan N. 2015.** The effects of Ginkgo biloba extract on cognitive functions in aged female rats: the role of oxidative stress and brain-derived neurotrophic factor. Behavioural brain research. 278, p453-461.
- Ben Salama A., 2012.** Activité anti-oxydante et inhibiteur de xanthine oxydase de l'extrait de feuilles *Hertia cheirifolia* L. En vue de l'obtention du diplôme magister en biochimie. Université de Farhat abbass-Sétif-, p30-55.
- Benziane A.D., 2014.** Effet d'un régime enrichi en chlorpyrifos chez le rat wistar : étude de l'activité enzymatique des cholinestérases comme indicateur biologique. Thèse de master. Université Telemansane, p51.
- Benziane C., 2012.** Effet toxique des résidus des pesticides utilisés Sur la flore de la région de Sétif. Thèse de doctorat, p 65-83.
- Bergmeyer H., Bower et colts., 1976.** GPT-ALAT, méthode cinétique sans phosphate pyridoxal. Clin .Chem Acta, p70.
- Bergmeyer H., Horder M., 1980.** GPT-ALAT, méthode cinétique sans phosphate de pyridoxal. Clin. Chem. Acta, p105-147.
- Bergmeyer H., Schaibe et Walefeld., 1978.** GPT-ALAT, méthode cinétique sans phosphate de pyridoxal. Clin. Chem. 24, p58-73.
- Bernard C., 2014.** Y-a-t-il trop de pesticides dans les milieux aquatiques.p1-24.
- Bonds-Raacke J., Raacke J., 2008.** My Space and Facebook: Applying the uses and gratifications theory to exploring friend-networking sites. Cyber psychology & behavior.11(2), p 169-174.
- Boulkour S., 2004.** Etude du rôle des Flavonoïdes dans la prévention de la toxicité hématologique, hépatique et rénale de la Vinblastine l'Isoniazide et du paracétamol. Thèse de magister de toxicologie. Université de Jijel. Algérie, p 20-40.
- Boureille E., Chamoin V., 2012.** Cours n°7 : Introduction aux radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène, p1-12.
- Brignon J.M., Gouzy A., 2006.** Endosulfan, données techno-économiques sur les substances chimiques en France. INERIS. France, p3-11.

- Bruckert E., Emmerich J., Delahaye F., Richard JL., Thomas D., 1992.** Rôle des triglycérides dans les maladies cardiovasculaires. Arch Mal Coeur Vaiss. 85, p29-35.
- Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, photochimie plantes médicinales. Technique et Documentation. Loisier. (2), p200-319.
- Calay V., Gayraude A., 2009.** conduit à tenir devant une augmentation des transaminases Carcassone, p 42.
- Camard J.P., Magdelaine C., 2001.** Produits phytosanitaires risques pour l'environnement et la santé : connaissances des usages en zone non agricole. Institut d'aménagement et d'urbanisme, observatoire régional de santé d'île de- France (IAU/ ORS), p 58.
- Chahine N., 2014.** Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique. Thèse de Doctorat de de Reims Champagne-Ardenne, p 55-60.
- Chebab S., 2008.** Etude du stress oxydatif secondaire à la contamination potentielle des eaux d'alimentation de la ville de Jijel par les pesticides, mémoire de Majester. Université de Jijel, p56.
- Chebab S., Belli N., Leghouchi E., Lahouel M., 2009.** Stress oxydatif induit par deux pesticides : l'endosulfan et le chlorpyrifos. 8, p 425-432.
- Chebile L., 2006.** Acylation des flavonoides par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia* : étude cinétique. Structurale et conformationnelle. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, Institut National Polytechniques de Lorraine. France, p5.
- Chew E. G., Fullwood M. J., Liu M. H., Pan Y. F., Liu J., Xu H., Mohamed Y. B., 2009.** An oestrogen receptor- α -bound human chromatin interactome. Nature. 462(7269), p58.
- Choi E., 2008.** Antioxydative effects of hesperetin Science, 82: against 7.12-dimethylbenzene (a) anthracene -induced oxidative stress in mice. Life, p1059-1064.
- Cisse I., Fall S.T., Badiane M., Diop Y M., Diouf A., 2006.** Horticulture et usage des pesticides dans la zone périurbaine des Nayas au Sénégal. Institut sénégalais de recherches agricoles (Isra), p14.
- Clairborne A., 1985.** Catalase activité .in: green waldr, editor. crc handbook of methods for oxygen radical research. boca raton, fl :crc press, p283-4.

Clémentine C., 2014. L'évolution des villes dans l'espace post-soviétique. Observation et modélisations (Doctoral dissertation, Université Paris 1 Panthéon-Sorbonne).

Cooke N.C and Samman S., 1996. Flavonoids –chemistry, metabolism, cardio protective effects and dietary sources. *Nutritional Biochemistry* .7, p66-76.

Corcini E., Birindelli S., Fuustinoni S., 2005. Immunomodulatory effects of the fungicide mancozede in agricultural workers. *Toxico-appliqué pharmacol*, 208(2), p178-85.

Csiszár J., Horváth E., Bela K., Gallé Á., 2016. Glutathione-Related Enzyme System: Glutathione Reductase (GR), Glutathione Transferases (GSTs) and Glutathione Peroxidases (GPXs)/Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses, p137-158.

Dallongeville J., 2006. Le métabolisme des lipoprotéines *Cah. Nutr. Diét.*41(1), p12.

Damien A., Justine B., Julian G., Didier G., Damien L., 2010. Projet d'estimation des risques sanitaires, estimation des expositions de la population générale aux insecticides : les organochlorés, les organophosphorés et les pyréthrinoides. *Mémoire de l'école des hautes études en Santé Publique*, p8-16.

Defraigne .J., Pincemail .J. 2008. Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med Liège*.63, p10-19.

Descamps E., Gelé .P., Bordet R., Vamecq J., 2006. Modulation pharmacologique du stress oxydatif. *Pharmacological control of oxidative stress*.20 (4), p107-117

Dilip S., Nidhi M., Sangita S., Swapan K .N., Bishnuhari P., 2014. Oxidative stress and its biomarkers in systemic lupus erythematosus. *Journal of Biomedical Science*, p21-23.

Dimitrios T., Isabelle B., 2006. Appréciation de la fonction rénale créatininurie, urée et filtration glomérulaire. *Forum med suiss*. 6, p 414-419.

Dingeon B., 1975. Glucose. Méthode enzymatique (GOP-PAP). *Ann. Biol. Clin*, p 3-33.

Dominique B.R., Zohreh., Monique G.A., 2003. Espèces réactives de l'oxygène .Comment l'oxygène peut-il devenir toxique, p 91-96.

Dorothee V., Pauly L., Stehle P., Sieber C., 2011. Prevalence of mal nutrition in orally and tube-fed elderly nursing home residents in Germany and its relation to health complaints and dietary intake. *Gastro enterology research and practice*.

EL Bakouri H., 2006. Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et Contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des substances organiques naturelles. Thèse de doctorat. Université Abdelmalel Essaadi, faculté des sciences et techniques. Tanger, p203.

El Habib E.A., 2013. Processus Physico-chimiques d'Elimination des pesticides dans l'environnement : Cas de l'Imazéthapyr. Thèse de doctorat. Université de Mohammed AGDAL. Induced cardio toxicity in rats. *Food and chemical toxicology*. 48(5), p 1178-1184.

El Hossary F.M., 2000. Effect of plasma nitriding power density on microhardness, structure, and magnetic properties of 304 austenite stainless steel. *Surface engineering*. 16(6), p491-494.

El mrabet K., Charl P., Later B., 2008. Les pesticides, Laboratoire national de métrologie et d'essais, p15-35.

Elberry A.A., Abdel-Naim A.B., Abdel-Sattar E.A., Nagy A.A., Mosli H.A., Mohamadin A.M., Ashour O. M., 2010. Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) protects against doxorubicin.

El-Demerdash F.M., Dewer Y., Elmazoudy R.H., Attia A.A. 2013. Kidney antioxidant status, biochemical parameters and histopathological changes induced by methomyl in CD-1mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 65, p 897-901.

Errami M., 2012. Devenir atmosphérique de bupirimate et transfert de ses métabolites (les diazines) dans l'atmosphère, sa dissipation dans les fruits de tomate et sa dégradation électrochimique. Thèse de doctorat. Université de Reims Champagne-Ardenne, p8.

Fantini M., Benvenuto M., Masuelli L., Frajese G. V., Tresoldi I., Modesti, A., Bei R. 2015. In vitro and in vivo antitumoral effects of combinations of polyphenols, or polyphenols and anticancer drugs: perspectives on cancer treatment. *International journal of molecular sciences*. 16 (5), p9236-9282.

Fatima M ., Usmani N., Firdaus F., Zafeer M. F., Ahmad S., Akhtar K., Hossain M.M., 2015. In vivo induction of antioxidant response and oxidative stress associated with genotoxicity, and histopathological alteration in two commercial fish species due to heavy metals exposure in northern India (Kali) river. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*.176, p17-30.

Favier A. 2003. Le stress oxydant - Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique/L'actualité chimique, p109.

Favier A., Charreyre M. T. (2006). Experimental Requirements for an Efficient Control of Free-Radical Polymerizations via the Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer (RAFT) Process. *Macromolecular Rapid Communications*.27(9), p 653-692.

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

Fossati P., Principe L., 1982. Serum triglycerides determined calorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin. chem.* 28(10), p2077-80.

Galati G., Sabzevari O., Wilson, J. X., O'Brien P. J. 2002. Prooxidant activity and cellular effects of the phenoxyl radicals of dietary flavonoids and other polyphenolics. *Toxicology*. 177(1), p91-104.

Garait., 2006. Le stress oxydant induit par voie métabolique (régime alimentaires) ou par la voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la SOD. Thèse de doctorat. Université Joseph fourier, France, p159.

Gardner D. C et al., 1996. Physical mapping of a centromere-proximal region of chromosome IV-L defines the placement of genes *uso1*, *mbp1*, *psa1* and *slc1* yeast 12(4), p411-3.

Garg H., Sarin S.K., Kumar A., Almeida J.A., Chawla Y.K., Fan S.T., Lau G.K. 2009. Acute on-chronic liver failure: consensus recommendations of the Asian Pacific Association for the study of the liver (APASL). *Hepatology international*. 3(1), p269.

Gary T. Patterson, Ph.D., Chief., 2008. Endosulfan Risk Characterization Document. Medical Toxicologique and Worker Health and Safety Branche. 1, p43.

Georgiev V., Ananga A and Tsoleva V., 2014. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. *Nutrients*.6(1), p391-415.

Hostettman K., Poterat O., Wolfender J.L., 1998.the potential of higher plants as a source of drugs.*Chimia*.52, p10-17.

Hua D., Meimei W., Lei W., Hui D., Min W., Wei H, Xinxin N., Lijun W., An X., 2015. Reproductive toxicity of endosulfan: implication from germ Cell apoptosis modulated by mitochondrial dysfunction and genotoxic response genes in caenorhabditis elegans. *Toxicological sciences*. 145(1), p118–127.

IPEN., 2009 .International pops elimination network endosulfan in West Africa: Adverse effects, it's banning, and Alternative. *Afrique*.

Jallow, M. F., Awadh, D. G., Albaho, M. S., Devi, V. Y., & Thomas, B. M. 2017. Pesticide knowledge and safety practices among farm workers in Kuwait: results of a survey. *International journal of environmental research and public health*. 14(4), p340.

Jawich D., 2006. Etude de la toxicité de pesticides vis-à-vis de deux genres de levures : approche cinétique et moléculaire. Thèse de doctorat ; Ecole doctorale transferts, dynamique des fluides, p12-33.

Jobert P., 2010. Le chimiste Jean-Baptiste Mollerat, 1772 : le prix de l'innovation. In *L'industrie chimique en question*, p29-39.

Colakoglu F., Cliff J. B., Holmes A. J., Chew Y. V., Klaassens E., Read M. N., Raubenheimer D., 2017. Diet-microbiome interactions in health are controlled by intestinal nitrogen source constraints. *Cell metabolism*. 25(1), p140-151.

Kabouche S., 2010.Etude de la relation du thé vert, maladies cardiovasculaires et stress oxydant. Mémoire de magister de l'université Mentouri de Constantine, p44.

Kalender S., Ogutcu A., Uzunhisarcikli M., Acikgoz F., Durk D., Ulusoy Y., Kalender Y., 2005. Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effects of vitamin E on some biochemical indices and protectective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultra-structural changes .*Toxicology* .21(3), p197-206.

- Kamath V., Rajini P S., 2007.** Altered glucose homeostasis and oxidative impairment in pancreas of rats subjected to dimethoate intoxication .toxicology. 231, p137-146.
- Kaplan L.A., 1984.** Glucose. Chem the C V. Mosby CO. Lous .Toronto, p1032-1036.
- Kevin A. M., Chris M. G, Moye-Rowley W. S., 2012.** The Response to Heat Shock and Oxidative Stress in *Saccharomyces cerevisiae* .190 , p1157–1195.
- Kirschvink N., Moffarts B., Lekeux P., 2008.** The oxidant /antioxidant equilibrium in horses. The Veter J .177, p178-191.
- Lacroix S., Badoux, J. K., Scott-Boyer, M. P., Parolo, S., Matone A., Priami C., Moco S., 2018.** A computationally driven analysis of the polyphenol-protein interactome. Scientific reports. 8(1),p 2232.
- Larsen K., 1972 .** Méthode cinétique colorométrique sans déprotéinisation .Clin. Chim. Acta, p 66,209.
- Lefèvre G., Beljean –Leymarie M., Beyole S., Rouselot D., Cristol J.P.R., Therond P., Thorreilles J., 2003.** Evaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique.J : Ann Biol Clin .56, p305.
- Lenzi F., 2011.** Contribution à l'étude du stress oxydant cellulaire chez le chien de traineau en course de sprint. Thèse de doctorat, p25.
- Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N., 2010 .** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health .Pharmacogn rev.4 (8)., p118-126.
- Lott J.A., 1975.** Glucose, Méthode enzymatique (GOD-PAP). Clin, Chem, p 21.
- Lowry O.H., Rosergrough N.J., Farr A .L., Randall R.J., 1951.** Protein measurement with the folin phenol reagent. J boil chem .193, p265-5.
- Lugasi A., Hóvári J., 2003.** Antioxidant properties of commercial alcoholic and nonalcoholic beverages. Food/Nahrung. 47(2), p79-86.
- Mac key D., Shui W-Y., Ma K-C. 1997.** Méthode Berthelot modifiée. Clin, Invest, p4-295.
- Mac key E.M., Rackeyll J., 1927.** Méthode Berthelot modifiée .Clin. Invest, p 4-295.

Marcel M., 2002 .la Rousse agricole, Ed, Mathilde Mjonel, p617-618

Marfak A., 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus. Des alcools : formation de pesticides. Université de Limoges. p1.

Marie L.P., 2009. Saison froide et thé vert font bon ménage. Le magazine santé au naturel

Marthe K., 2009. Le thé : Origine, Actualité et potentialités. Thèse de doctorat. Université Henri Poincare-Nancy 1, p12-44.

Mehta A., Verma R.S., Srivastava N., 2008. Chlorpyrifos- induced., damage in rat liver and brain. *Enviro mol mutagen* .49, p 426-433.

Ménard C., Beck F., Peretti-Watel P., 2014. Cancer et environnement : perceptions de la population à partir des enquêtes de l'Institut national de prévention et d'éducation pour la santé. *Environnement, Risques & Santé*. 13(4), p 312-317.

Merhi M., 2008. Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : Caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin, thèse de doctorat, Université de Toulouse.

Mohajeri S.K., Abdollahi M., 2011. Toxic influence of organophosphate, Carbamate, and organochlorines pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, lipids and carbohydrates: Asystematic. *Human and Experemental Toxicology*.30 (9), p1119-1140.

Mohammed M.T., Kadhim S.M., Jassim A. M.N., Abbas S.I. 2015. Free radicals and human health/ *International Journal of Innovation Sciences and research*. 4(6), p 218-223.

Mustafa T.M., Sura MJ., Sarah I., 2015. Free Radicals and human health *Innovation Sciences and Research* .4, p 218-223.

Nimse S.B., Pal D., 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv*, p325-450.

Nkhili E., 2009. polyphénols de l'alimentation : Extraction ,Intéraction avec les ions du Fer et du Cuivre ,Oxydation et pouvoir antioxydant . Thèse de doctorat . université Cadi Ayyad .Marrakech, p67-83.

O.M.S., 2007. Maladies cardiovasculaires.

Ojha A., Yaduvanshi S.K., Srivastava N., 2011 .Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. *Pestic. Biochem. Physiol.* 99, p148-156.

Okhawa H., Ohishi N .,Yagi K., 1979. Assy of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric reaction .*Anal .Biochim.* 95, p351-358.

Orabi S.H., Elbially B.E., Shawky S.M. 2013.Ameliorating and hypoglycemic effects of zine against acute hepatotoxic effect of chlorpyrifos .*Global vetrinaria*,10(4). p439-446.

Osman T., Cemile T., 2010. The Fate of Pesticide in the Environment. *Biol. Environ. SCI.* 4 (10), p 29-38.

Ozcan O. E., 2010. Oxidative stress, steroid hormone concentrations and acethyl cholinesterase activity in *Oreochromis niloticus* exposed to chlorpyrifos. *Pestic. Biochem. Physiol.* 96, p160-166.

Ozmen O., 2011. Pathology of endosulfan. In *Pesticides in the Modern World-Effects of Pesticides Exposure.* InTech, p290-301.

Ozturki C., Ozturk F., Gul M., Ates B., Cetin A., 2009. Protective effects of ascorbic acid on hepatotoxicity and oxidative stress caused by carbon tetrachloride in the liver of Wistar rats. *Cell Biochemistry and Function.* 27, p 309-315.

Padmavathi R., Senthilnathan P., Chodon D., & Sakthisekaran D., 2006.Therapeutic effect of paclitaxel and propolis on lipid peroxidation and antioxidant system in 7, 12 dimethyl benz (a) anthracene-induced breast cancer in female Sprague Dawley rats. *Life sciences*, 78(24), p 2820-2825.

Pandey K.B., Rizvi S.I., 2009. Plant polyphenols as dictary antioxydants in human health and disease .*Oxid Med Cell Longev.*2 (5), p270-278.

Parr A.J., Bolwell G.P., 2000. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenol content and profile. *J Sci Food Agric;* 80, p985–1012

- Perret A., Pompon D., 1998.** Electron shuttle between membrane –bound cytochrome P450 3A4 and b 5 rules uncoupling mechanisms , *Biochemistry*.37, p11412-11424.
- Possamail F.P.,Fortinato J.J., Feier G., AgosinhoF.R., Quevedo J., Wilhelm Filho D., Dal-Pizzol F., 2006.** Oxidative stress after acute and sub –chronic malathion intoxication in wistar rats.*Environmental toxicology and pharmacology* , p198-204.
- Pourrut B., 2008.** Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse,p15.
- Powers S.K., Jackson M.J. 2008.** Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiological Reviews*. 88 (4), p1243-1276.
- Procházková D., Boušová I., Wilhelmová N. 2011.** Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids/*fitoterapia*. 82(4), p513-523.
- Saja A., Scalease M., Lanza M., Marzullo D., Bonina F. and Castelli F.,1995.** Flavonoids as antioxidant agents importance of their interaction with biomembrane .*FREEr ADIC Biol Med*. (19), p481-486.
- Sameut B.A., 2010** .Mdelisation de dépôt des pesticides sur des plans d'eau. Stage de fin d'étude en vue de l'ebptention du diplôme de Master 2. Université Paris –est Marne la Vallé, p30.
- Samuel O., ST-Laurent L., 2001.** Guide de prévention pour les utilisations de pesticides en agriculture maraichère. Bibliothèque nationale de Québec, p30-52.
- Sarma A.D., Mallick R.A., Ghosh A.K., 2010.** Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions/*International Journal of Pharma Sciences et recherche (IJPSR)*. 1 (3), p185-192.
- Schaur R.J., Siems W., Bresgen N., Eckl P. M. 2015.**4-Hydroxy-nonenal A Bioactive Lipid Peroxidation Product. *Biomolécules* .5(4), p2247-2337.
- Schaur R.J., Siems W., Bresgen N., Eckl P.M., 2015.** 4-Hydroxy-nonenal a bioactive lipid peroxidation product/*biomolecules*.5 (4), p2247-2337.
- Seth V., Ahmed R.S., Suke S.G., 2005.**Lindan- induced immunological alteration in humain poisoning cases .*Clin Biochem*, p678.

Shazia Q., Mohammad Z. H., Rahman T., Shekhar H.U., 2012. Correlation of Oxidative Stress with Serum Trace Element Levels and Antioxidant Enzyme Status in Beta Thalassemia Major Patients: A Review of the Literature. *Anemia*, p7.

Siahpoosh A., Soleimani I., 2016. In vitro evaluation of inhibitory effect of Phoenix dactylifera bark extract on rat lipid peroxidation and blood hemolysis. *Tropical journal of pharmaceutical research*. 15 (8), p1707-1713.

Siby S., 2008. Etude de la variation des paramètres biochimiques et hématologiques dans le districts de Bamako. Thèse de doctorat, Université de Bamako, Mali, p43-55.

Singh B., Saxena A.K., Chandan B.K., Anand k.K., Suri O.P., Surisatti K.A., Surisatti N.K., 1998. Hepato protective activity of verbenalin on experimental liver damage in rodents. *Fitoterapia*.(69),p 134-140.

Starlin T., Gopalakrishnan V.K., 2013 enzymatic and non-enzymatic antioxidant properties of tylophora pauciflora wight and arn:an in vitro study/*Asian J Pharm Clin Res*. 6, p68-71.

Tapas A. R., Sakarkar D. M., Kakde R. B. 2008. Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), p1089-1099.

Testud F., Grillet J.P., 2007. Produits phytosanitaires : intoxication aiguë et risques professionnels. Éd, Eska, France.

Trinder P., Ann N., 1969. Glucose. **Méthode enzymatiques (GOD-PAP).** *Clin.Biochem*, p 6-24.

UNEP., 2009. Convention des stockholm sur les polluants organiques persistants .Proposition concernant l'Endosulfan, Genève.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J., 2007. Free radicals and anti oxydants in normal physiological function and human disease. *Int Biochem Cell Biol*.39.p44-84.

Van Acker S. A., Tromp M. N., Griffioen D. H., Van Bennekom W. P., Van Der Vijgh W. J., Bast A., 1996. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20(3), p331-342.

Vine M.F., 2001. plasma 1, 1 Dicloro -2, 2-bis (p-chlorophenyl) ethylene (DDE) in Levels and immune response. Am J of epidemiol. 221(153), p 53-63.

Wassmann S., Wassmann k., Nickenig G., 2004. Modulation of Oxidant and Antioxidant Enzyme Expression and Function in Vascular Cells. Hypertension.44, p381-386.

Youcef M.I., Demerdashe F.M., Salhen K.S., 2003. Changes in some hematological and biochemical indices of rabbits induced by isoflavones and biochemical indices of rabbits induced by isoflavones and cypermethrin .Toxicology.189, p223-234.

Zama D., Meraihi Z., 2007., Tebibel S., Benayssa W., Benayache F., Benayache S ., Vlietinck A.J., 2007. Chlorpyrifos induced oxidative stress and tissues damage in the liver, kidney, brain and fetus in pregnant rats: The protective role of the butanolic extract of *Paronychia argentea* L. Indian J. Pharmacol. 39, p145-150.

Zegarac J.P., PhD., 2017. Oxidative Stress: Effects on Lipids, Proteins, and DNA/BioAnalytical Testing and Research Laboratories. Brunswick Labs

Zorawar W., Baring M. G., Gonthier P. L., & Harding A. K. 2018. Resonant Inverse Compton Scattering Spectra from Highly Magnetized Neutron Stars. The Astrophysical Journal.854 (2), p98.

Annexes

Annexe 1

La préparation des solutions :

L'eau physiologie :

4.5g NaCl.....500 ml d'eau distillé

KCl 1.15 % :

1.15g.....100ml d'eau distillé

TCA 20% :

5g.....25ml d'eau distillé

TBA 0.67 %

0.335g.....50ml d'eau distillé

DTNB 0.01M :

0.01g.....5ml d'eau distillé

Tampon phosphate KH_2PO_4 0.1 M pH 7.2 :

0.684g100ml d'eau distillé

Cyanamide de K 10^{-2} M :

0.025g.....50ml d'eau distillé

NBT $1.76 \cdot 10^{-4}$ M à partir de 10^{-2} M :

0.3ml de NBT 10^{-2} M1.4 ml d'eau distillée

EDTA $66 \cdot 10^{-3}$ M :

0.0001g.....125ml d'eau distillé

Riboflavine $2 \cdot 10^{-6}$ M :

0.0001g125ml d'eau distillée

NaH_2PO_4 :

0.119g.....100 ml d'eau distillé

La solution C :

0.0075g de sulfate de cuivre0.75ml d'eau distillé

Solution B :

0.015g de tartrate de Na/K.....0.75ml d'eau distillé

NaOH 0.1mol/l :

1g.....250ml d'eau distillé

La solution A :

1.5g Na₂CO₃.....75ml NaOH

Le réactif de lowry :

0.75 ml de solution C+ 0.75 ml de solution B + 75 ml de solution A

Annexe 2

Tableau 1 : les moyens et l'écart type des globules blancs chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot / paramètre	Globules blancs ($10^3/\mu\text{l}$)
Témoin	8.32±0.29
END	12.97±1.14
EXT +END	9.06±0.54

Tableau 2 : les moyens et l'écart type des monocytes chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot / paramètre	Les monocytes ($10^3/\mu\text{l}$)
Témoin	0.68±0.03
END	0.46±0.1
EXT +END	0.59±0.09

Tableau 3 : les moyens et l'écart type des granulocytes chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot / paramètre	Les granulocytes ($10^3/\mu\text{l}$)
Témoin	4.89±0.15
END	3.24±0.55
EXT +END	4,45±0.56

Tableau 4 : les moyens et l'écart type des basophiles chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot / paramètre	Les basophiles (10³ / µl)
Témoin	0.07±0.01
END	0.04±0.01
EXT +END	0.06±0.01

Tableau 5 : les moyens et l'écart type des éosinophiles chez les différents groupes de rats pendant 10 jours.

Lot / Paramètre	Globules Eosinophiles (10³/µl)
Témoin	0.31±0.06
END	0.12±0.01
EXT +END	0.23±0.05

Tableau 6 : les moyens et l'écart type des neutrophiles chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot / paramètre	Les Neutrophiles (10³/µl)
Témoin	4.42±0.16
END	2.71±0.33
EXT +END	3,91±0.68

Tableau 7 : les moyens et l'écart type des lymphocytes chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot / paramètre	Les Lymphocytes (10³ / µl)
Témoin	2.96±0.094
END	8.56±0.37
EXT +END	4.11±0.84

Tableau 8 : les moyens et l'écart type des globules rouges chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot / paramètre	Les globules rouges (10³ / µl)
Témoin	5.69±0.35
END	2.67±0.38
EXT +END	5.07±0.44

Tableau 9 : les moyens et l'écart type d'hémoglobine chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot / Paramètre	L'hémoglobine (10³ / µl)
Témoin	14.48±0.45
END	12.06±0.44
EXT +END	13.49±0.85

Tableau 10 : les moyens et l'écart type des plaquettes chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot / paramètre	Les plaquettes (10³ / µl)
Témoin	242.83±34.84
END	117.5±21.04
EXT +END	219.33±31.63

Tableau 11 : les moyens et l'écart type de Glucose dans le sang chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot / paramètre	Le glucose (10³/µl)
Témoin	1.07±0.07
END	1.97±0.02
EXT +END	1.43±0.02

Tableau 12 : les moyens et l'écart type d'urées dans le sang chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot / Paramètre	Urées
Témoin	0.36±0.02
END	0.73±0.02
EXT +END	0.5±0.02

Tableau 13 : les moyens et l'écart type de créatinine dans le sang chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot	paramètre	créatinine
Témoin		4.47±0.22
END		6.63±0.22
EXT +END		5.28±0.14

Tableau 14 : les moyens et l'écart type des triglycérides dans le sang chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot	paramètre	Triglycérides
Témoin		1.25±0.02
END		1.37±0.01
EXT +END		1.30±0.02

Tableau 15 : les moyens et l'écart type des GPT-ALAT dans le sang chez des différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot	paramètre	GPT-ALAT
Témoin		30.5±1.87
END		36.33±2.25
EXT +END		32.5±1.87

Tableau 16 : les moyens et l'écart type des **GOT-ASAT** dans le sang chez les différents groupes des rats pendant 10 jours.

Lot \ paramètre	GOT-ASAT
Témoin	61.66±3.26
END	83.5±1.87
EXT +END	61.5±1.81

Tableau 17 : les moyens et l'écart type du MDA cytosolique des différents organes chez les divers groupes des rats pendant 10 jours.

Lot \ paramètre	MDA cytosolique dans le foie	MDA cytosolique dans les reins	MDA cytosolique dans le Pancréas
Témoin END	1.5 ± 0.02	1.62±0.12	1.6±0.16
END	2.65±0.13	2.79±0.15	2.97±0.08
EXT+END	1.83±0.47	2.1±0.11	1.62±0.14

Tableau 18 : les moyens et l'écart type du SOD cytosoliques des différents organes chez les divers groupes des rats pendant 10 jours.

Lot \ paramètre	SOD cytosolique dans le foie	SOD cytosolique dans les reins	SOD cytosolique dans le Pancréas
Témoin END	235.5± 19.41	185.17±12.46	251.17±2.32
END	167.83±10.51	143.83±3.76	138.5±5.09
EXT+END	194.17±20.4	215.83±7.44	145.67±11.84

Tableau 19 : les moyens et l'écart type du catalase cytosoliques des différents organes chez les divers groupes des rats pendant 10 jours.

Lot / paramètre	CAT cytosolique dans le foie	CAT cytosolique dans les reins	CAT cytosolique dans le Pancréas
Témoin END	0.26± 0.02	0.33±0.03	0.4±0 .06
END	0.16±0.03	0.14±0.02	0.12±0.01
EXT+END	0.2±0.02	0.23±0.04	0.26±0 .1

Tableau 20 : les moyens et l'écart type du protéines cytosoliques des différents organes chez les divers groupes des rats pendant 10 jours.

Lot / paramètre	protéine cytosolique dans le foie	Protéine cytosolique dans les reins	protéine cytosolique dans le Pancréas
Témoin END	6.72± 0.13	7.17±0.11	7.07±0 .16
END	3.66±0.37	2.95±0.36	3.55±0.29
EXT+END	5.92±0.23	6.35±0.14	6.61±0 .44

Encadré par : Dr Lekroum. Z	Présenté par: Belhadj Sihem	Date de soutenance: 04/07/2018
--------------------------------	--------------------------------	-----------------------------------

Thème : Contribution à l'étude de l'effet toxique de l'Endosulfan et la prévention par l'utilisation d'un extrait de plante *Camellia Sinensis* chez les rats "Wistar Albinos"

Résumé :

Depuis longtemps, les pesticides sont utilisés comme une bonne solution pour les ravageurs de l'agriculture, Avec le temps, ces produits sont développés et transformés à des substances très toxiques qui menacent la vie des êtres vivants menant à l'apparition de diverses pathologies considérées comme étant complexes. Dans ce contexte, les chercheurs ont présenté plusieurs études sur la prévention des risques suite à une exposition aux produits toxiques par l'utilisation des substances naturelles résultantes du métabolisme secondaire de plusieurs végétaux comme les polyphénols.

Dans ce travail, nous faisons une étude sur l'effet toxique des pesticides (l'endosulfan), sur les rats albinos wistar à qui nous avons administré une dose de 5.8 mg/kg pendant 10 jours et l'effet préventif des polyphénols par l'administration d'une dose de 100 mg/kg de l'extrait du thé vert pendant 10 jours. Les résultats obtenus montrent une intoxication au niveau des paramètres sanguins, biochimiques et les paramètres du stress oxydant de l'endosulfan. Nous constatons ainsi la présence de l'effet préventif de l'extrait polyphénolique contre l'endosulfan.

Mots clés : Pesticides, endosulfan, *Camellia sinensis*, polyphénols, effet toxique, effet préventif, stress oxydant.

Abstract:

Pesticides have long been used as a good solution for agricultural pests. Over time, these products are developed and transformed into very toxic substances that threaten the life of living beings leading to the appearance of various pathologies considered as complex. In this context, the researchers presented several studies on the prevention of risks following exposure to toxic products through the use of natural substances resulting from the secondary metabolism of several plants, such as polyphenols.

In this work, we make a study on the toxic effects of pesticides (endosulfan), on albinos wistar rats to whom we administered a dose of 5.8 mg/kg for 10 days and the preventive effect of polyphenols by administering a dose of 100 mg/kg of green tea extract for 10 days. The results obtained showed a poisoning in blood parameters, biochemical parameters and oxidative stress, we thus note the presence of the preventive effect of poly phenolic extract against endosulfan.

Key words: Pesticides, endosulfan, *Camellia sinensis*, polyphenol, toxic effect, preventive effect, oxidizing stress.

المخلص:

مند قديم الزمان استعملت المبيدات كحل أمثل ضد المشاكل الزراعية ومع مرور الوقت تطورت هذه المنتجات وأصبحت أكثر خطورة على حياة الكائنات الحية مما أدى إلى انتشار أمراض غير معروفة. فقام الباحثون بعدة دراسات على عدة نباتات قاموا من خلالها باستخلاص مركبات الأيض الثانوية مثل متعددات الفينول والدور الذي تلعبه في الوقاية من المبيدات. في بحثنا هذا قمنا بدراسة الأثر السمي للمبيدات المتمثلة في الأندوسيلفان على جردان البيبوس وستار بجرعة 5.8 ملغ/كغ لمدة 10 أيام والوقاية منها باستعمال متعددات الفينول المستخلصة من الشاي الأخضر بجرعة 100 ملغ/كغ لمدة 10 أيام. النتائج المنحصلة عليها أظهرت سمية على مستوى المعايير الدموية والبيوكيماوية ومعايير الإجهاد التأكسدي. كما أنه يوجد أثر وقائي للمتعديتات الفينول الموجودة في الشاي الأخضر ضد المبيدات.

الكلمات المفتاحية: المبيدات الحشرية، الأندوسلفان، البوليفينول، الشاي الأخضر، التأثير السام، التأثير الوقائي، الإجهاد المؤكسد.