

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne démocratique et populaire

Ministère d'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة جيجل

Université de Jijel



M. Ph. 06/15

Faculté des Sciences de nature et de la vie
Département: Biologie Moléculaire et cellulaire



كلية العلوم الدقيقة و علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

01
01

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique en Biologie

Option : Académique Pharmacologie Experimentale

Thème

**Effet chronique hépatotoxique et
pancréatotoxique induit par une mixture des
POPs : chlorpyrifos, endosulfan, naphthalène,
benzo(α)pyrène.**

Membres de jury :

Présidente : CHERBAL Asma

Examinatrice : ROUIBAH Hassiba

Encadreur : KEBIECHE Mohamed

Présenté par :

FAFA Khawla

HANTIT Nassira

SELLAMNA Aicha

Année Universitaire 2014-2015.

Remerciement

Au terme de ce travail :

Nous tenons à remercier tout d'abord Dieu le tout puissant et maître de l'univers qui nous a donné la capacité nécessaire, la forte volonté et la patience afin d'accomplir ce travail et qui nous a toujours guider vers le bon chemin.

*Nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail en particulier notre encadreur **Dr KEBIECHE Mohamed** qui nous a proposé ce sujet de recherche et qui nous a encadrée et soutenu par ses conseils et ses efforts durant la préparation de notre mémoire.*

*Un grand merci s'adresse à notre co-encadreur **LAHOUEL Asma** pour tout ce qu'elle a fait pour nous au cours de ce travail.*

*Nous remercions aussi notre examinatrice **ROUIBAH Hassiba** et notre présidente **CHERBAL Asma** d'avoir accepté de juger le contenu du présent mémoire.*

Nous remercions vivement tous les ingénieurs du laboratoire de pharmacologie expérimentale pour leurs aides précieux ainsi que le docteur Maisa, chef médecin de l'hôpital de Jijel.

Nos plus vifs remerciements et toute notre reconnaissance vont à tous les enseignants du département de biologie moléculaire et cellulaire de l'université de Jijel et en particuliers ceux qui nous ont transmis leurs savoirs durant les cinq ans.

Nous ne serions bien sûr jamais arrivées là sans l'aide et le soutien de nos familles. Merci à nos parents pour avoir toujours cru en nous. Merci de nous avoir soutenus dans cette voie, merci de votre présence, de vos encouragements, de vos conseils, de vos attentions constantes, merci pour tout. Nous espérons vous rendre le bonheur que vous nous apportez.

Merci à tous.

✍ Nassira

✍ Khawla

✍ Aicha

Sommaire

Liste des figures	i
Liste des tableaux	iii
Liste des abréviations	iv
Liste des annexes.....	vii
Introduction	01
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	03
I : les polluants organiques persistants	03
I.1.Définitions-généralités	03
I.2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques	04
I.2.1. Généralités	04
I.2.2.Naphtalène	05
I.2.3. Benzo(α)pyrène.....	05
a- Généralités.....	05
b- Toxicité	06
I.3. Les pesticides	06
I.3.1. Endosulfan	07
a- Généralités	07
b- Toxicité	07
I.2.3. Chlorpyriphos	08
a- Généralités	08
b-Toxicité.....	08
II. La Toxicité des POPs sur le foie et le pancréas	09
II.1. La toxicité des POPs sur le foie	09
II.1.1. Anatomie et physiologie du foie.....	09
II.1.1.1. Anatomie	09
II.1.1.2. Les fonctions physiologiques du foie.....	09
II.1.1.2.1. Le métabolisme hépatique	09
II.1.1.2.2. La fonction de détoxification	11
II.1.1.2.3. D'autres fonctions du foie	11
II.1.2. L'hépatotoxicité induite par les POPs	11

II.1.2.1. Le stress oxydatif	11
II.1.2.2. Effet de l'endosulfan sur le foie	14
II.1.2.3. Effet du chlorpyriphos sur le foie	14
II.1.2.4. Effet du naphthalène sur le foie	15
II.1.2.5. Effet du benzo(α)pyrène sur le foie	15
II.2. La toxicité des POPs sur le pancréas	16
II.2.1. Anatomie pancréatique	16
II.2.2. Physiologie du pancréas	16
II.2.3. Les effets pancréatiques chroniques des POPs	18
II.2.3.1. Effet de l'endosulfan sur le pancréas	18
II.2.3.2. Effet du chlorpyriphos sur le pancréas	18
II.2.3.3. Effet du naphthalène sur le pancréas	19
II.2.3.4. Effet du benzo(α)pyrène sur le pancréas	19
Chapitre 2 : La partie expérimentale	20
I. Matériel et méthodes	20
I.1. Animaux et conditions d'hébergement	20
I.2. Choix et préparation des doses	20
I.3. Préparation des mixtures	20
I.4. Répartition et Traitement des animaux	21
I.5. Test de tolérance au glucose	21
I.6. Sacrifice des animaux	21
I.7. Dosage des paramètres biochimiques	22
I.7.1. Dosage des lipides	22
I.7.2. Dosage des marqueurs enzymatiques	23
I.8. Evaluation de l'effet des POPs sur le stockage de glycogène hépatique	23
I.9. Evaluation du statut redox dans le foie et le pancréas	24
I.9.1. Evaluation de l'activité des enzymes antioxydants	24
I.9.1.1. Préparation de la fraction cytosolique	24
I.9.1.2. Dosage des protéines totales	24
I.9.1.3. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)	24
I.9.1.4. Estimation de l'activité de la Superoxyde dismutase (SOD)	25

I.9.1.5. Estimation de l'activité de la glutathion-S- transférase (GST).....	26
I.9.2. Détermination du glutathion réduit (GSH).....	27
I.9.3. Estimation de la peroxydation lipidique.....	28
I.10. Evaluation statistique.....	28
II. Résultats et interprétations.....	29
II.1. Effet de la mixture des POPs sur la tolérance au glucose.....	29
II.2. Effet de la mixture des POPs sur les paramètres biochimiques.....	29
II.2.1. Effet de la mixture des POPs sur le taux de lipides dans le sang.....	29
II.2.1.1. Effet de la mixture sur le taux sanguin de triglycérides.....	29
II.2.1.2. Effet de la mixture sur le taux sanguin de cholestérol.....	30
II.2.2. Effet de la mixture sur les marqueurs enzymatiques.....	31
II.2.2.1. Effet de la mixture sur le taux sanguin du TGO.....	31
II.2.2.2. Effet de la mixture sur le taux sanguin du TGP.....	32
II.2.2.3. Effet de la mixture sur le taux sanguin du PAL.....	32
II.3. Effet de la mixture sur la teneur hépatique en glycogène.....	33
II.4. Effet de la mixture des POPs sur le statut redox dans le foie et le pancréas.....	34
II.4.1. Effet des POPs sur le statut redox dans le foie.....	34
II.4.1.1. Effet de la mixture sur l'activité enzymatique de la CAT.....	34
II.4.1.2. Effet de la mixture sur l'activité enzymatique de la SOD.....	35
II.4.1.3. Effet de la mixture sur l'activité enzymatique de la GST.....	35
II.4.1.4. Effet de la mixture sur le taux du GSH.....	36
II.4.1.5. Effet de la mixture sur le taux de MDA.....	37
II.4.2. Effet des POPs sur le statut redox dans le pancréas.....	38
II.4.2.1. Effet de la mixture sur l'activité enzymatique de la CAT.....	38
II.4.2.2. Effet de la mixture sur l'activité enzymatique de la SOD.....	38
II.4.2.3. Effet de la mixture sur l'activité enzymatique de la GST.....	39
II.4.2.4. Effet de la mixture sur le taux du GSH.....	40
II.4.2.5. Effet de la mixture sur le taux de MDA.....	41
III. Discussion.....	42
III.1. L'effet de la mixture sur le foie.....	42
III.1.1. L'altération du statut redox cytosolique du foie.....	42

III.1.1.1. L'altération des paramètres antioxydants	42
III.1.1.2.Elévation du taux du MDA cytosolique	43
III.1.2. Dysfonctionnement hépatique.....	44
III.1.2.1. L'augmentation du taux sanguin du TGO, TGP et PAL	44
III.1.2.2. L'augmentation du taux sanguin du cholestérol total et TG.....	45
III.1.3. L'épuisement de la teneur hépatique en glycogène	46
III.2. Effets de la mixture sur le pancréas	47
III.2.1. Altération du statut redox cytosolique du pancréas	47
II.2.1.1 Altération des paramètres antioxydants	47
III.2.1.2.2élévétion du taux du MDA cytosolique.....	47
III.2.2. Evaluation de la tolérance au glucose	48
Conclusion.....	49
Référence.....	50
Annexes	

Liste des figures

Figure 1: La voie métabolique du naphthalène	05
Figure 2: Structure du benzo(α)pyrène	06
Figure 3: Structure de l'endosulfan	07
Figure 4: Structure du chlorpyrifos	08
Figure 5 : Les systèmes endocriniens du pancréas.....	16
Figure 6: Mécanisme biochimique de l'action de l'insuline	17
Figure 7: Principe de dosage du glutathion.....	27
Figure 8: Principe du dosage du MDA	28
Figure 9 : Evolution de la tolérance au glucose chez les rats traités par les différentes doses de la mixture des POPs	29
Figure10: Variation du taux sanguin des triglycérides chez les rats traités par différentes doses de la mixture des POPs	30
Figure 11 : Variation de la concentration sanguine du cholestérol chez les rats traités par différentes doses de la mixture des POPs.....	30
Figure 12: Variation de la concentration sanguine du TGO chez les groupes des rats traités par différentes doses de la mixture des POPs.....	31
Figure 13: Variation de la concentration sanguine du TGP chez les groupes des rats traités par différentes doses de la mixture des POPs après 3 mois	32
Figure 14 : Variation de la concentration sanguine de la phosphatase alcaline (PAL) chez les groupes des rats traités par différentes doses de la mixture des POPs après 3 mois.....	33
Figure 15: Variation de la quantité du glycogène hépatique stocké en fonction de la dose ...	33
Figure 16 : Variations de l'activité enzymatique de la CAT cytosolique dans le foie après l'administration de la mixture des POPs à différentes doses pendant 3 mois.....	34

Figure 17 : Variations de l'activité enzymatique de la SOD cytosolique dans le foie après l'administration de la mixture des POPs à différentes doses pendant 3 mois.....	35
Figure 18 : Variations de l'activité enzymatique du GST cytosolique hépatique après l'administration de la mixture de POPs à différente dose pendant 3 mois	36
Figure 19 : Variations de taux de GSH cytosolique hépatique après administration de la mixture des POPs à différentes doses pendant 3 mois.....	36
Figure 20 : Variations de taux du MDA cytosolique hépatique après administration de la mixture des POPs à différentes doses pendant 3 mois	37
Figure 21 : Effet de la mixture des POPs sur l'activité enzymatique de la CAT pancréatique après 3 mois du traitement.....	38
Figure 22 : Variations de l'activité enzymatique de la SOD cytosolique pancréatique après l'administration de la mixture des POPs à différentes doses pendant 3 mois.....	39
Figure 23 : Variations de l'activité enzymatique du GST cytosolique pancréatique après L'administration de la mixture de POPs à différentes doses pendant 3 mois	39
Figure 24 : Variations de taux du GSH cytosolique pancréatique après l'administration de la mixture des POPs à différentes doses pendant 3 mois	40
Figure 25 : Variations de taux du MDA cytosolique pancréatique après l'administration de la mixture des POPs à différentes doses pendant 3 mois.....	41

Liste des tableaux

Tableau 1: Les mécanismes possibles de l'hyperglycémie induite par une exposition aux organophosphorés y compris le chlorpyrifos	19
Tableau 2: Le choix des doses composant la dose D de la mixture.....	20
Tableau 3 : Répartition et traitement des animaux	21

Liste des abréviations

A : Absorbance

ACh: Acétylcholine

AChE: Acétylcholinestérase

ADN: Acid Desoxyribo- Nuclear

AhR: Hydrocarbure Aryl Receptor

ATP: Adenosine triphosphate

B(α)P : Benzo(α)pyrène

BPDE : B(a)P-7,8-diol-9,10-époxyde

CAT : Catalase

CDNB : Chlorodinitrobenzène

CPF : Chlorpyrifos

CPO : Chlorpyrifos-oxon

CYP2E1 : Cytochrome P450 2E10

CYP450: Cytochromes P450

DO : Densité optique

DTNB : 5-5'-Dithiobis2-Nitrobenzoïque

EDTA : Acide Ethylène diamine tétra-acétique

END: Endosulfan.

ER α : Récepteur à l'œstrogène alpha.

ERK ½: Extracellular signal-Regulated Kinases 1/ 2

FAS: Fatty Acid Synthase

FSH: Hormone Folliculo-Stimulante

GABA : Acide γ -Aminobutyrique

GLUT : Glucose Transporter

GP : Glycogène Phosphorylase

GPx: Glutathion Péroxydase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion Oxydé

GST : Glutathion -S- Transférase
HAPs : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
HK: Hexokinase
HNE: 4-Hydroxynonéal
HSL: Hormone Sensitive Lipase
IARC: International Agency of Research for Cancer
IL-1 β : Interleukine-1 bêta
INF γ : Interféron gamma
JNK : kinases Jun N-terminal
LDH: Lactate Déshydrogénase
LH : Hormone Lutéinisante
MAP Kinase: Mitogen-Activated protein kinase.
MDA: Malondialdéhyde
NaCN : Cyanide de Sodium
NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide
NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NAP: Naphthalene
NBT: Nitro Blue Tétrazolium
O₂^{-o}: Anion Superoxyde
OC : Organochlorés
OP : Organophosphoré
PAL : Phosphatase Alcaline
PC2 : prohormone convertase 2
PCB : Polychlorobiphényle
PGM : Phosphoglucomutase
pH : Potentiel d'hydrogène
PKC : Proteine kinase C
POPs : Polluants Organiques Persistants
RL: Radicaux Libres
ROS: Reactive Oxygen Species

SOD: Superoxyde Dismutase

TBA: Thiobarbituric Acid

TCA: Acide Trichloroacétique

TGO: Transaminase Glutamate Oxaloacétate

TGP: Transaminase Glutamate Pyruvate

TNB: Acide Thionitrobenzoïque

UI : Unité Internationale

VIP : Vasoactive intestinal peptide.

Liste des annexes

Figure 01: Courbe d'étalonnage du glycogène avec le réactif de Lugol.

Figure 02: Courbe d'étalonnage des protéines (sérum albumine bovine comme standard).

Figure 03 : Courbe d'étalonnage du GSH avec le réactif de DTNB.

Tableau 01 : Effets des POPs sur la tolérance au glucose.

Tableau 02 : Effets des POPs sur la fonction hépatique.

Tableau 03 : Effet des POPs sur le stockage de glycogène hépatique.

Tableau 04 : Effet des POPs sur le statut redox au niveau du foie.

Tableau 05 : Effet des POPs sur le statut redox du pancréas.

Introduction

Introduction

Au cours du 21^{ème} siècle, la prévalence mondiale du syndrome métabolique et les maladies associées (le diabète de type 2, la résistance à l'insuline, l'hypertension artérielle...etc) et ses coûts économiques et sociaux colossales représentent un problème majeur de la santé publique pour nos sociétés. Bien qu'ils soient l'objet d'enquêtes intenses, les origines de ces maladies restent mal comprises. La génétique seule et les facteurs de risque classiques (l'obésité, l'inactivité physique et la consommation des régimes riches en énergie...etc) ne suffisent pas pour expliquer cette incidence rapide et explosif (*Ibrahim et al., 2011*). Récemment, des études épidémiologiques ont associé la prévalence du diabète de type 2 avec des charges corporelles élevées de polluants organiques persistants (POPs), ce qui indique la contribution de ces polluants à l'épidémie de maladies métaboliques (*Airaksinen et al., 2011*).

Les polluants organiques persistants font l'objet d'une attention internationale grâce à leurs propriétés spécifiques: persistance, omniprésence, bioaccumulation et toxicité à faible dose dont la gravité de leur dissémination dans l'environnement (*Fattach, 2010*). Selon leur utilisation, les POPs se répartissent en trois catégories : les pesticides, les produits chimiques industriels et les sous-produits de réactions (*Marmugi, 2012*).

Les effets aigus d'une intoxication par les POPs sont bien documentés et mettant en évidence le stress oxydatif comme étant un mécanisme commun de toxicité. Plusieurs auteurs démontrent dans l'ensemble qu'une trop grande exposition à certains POPs est associée à une foule d'effets biologiques et même à des maladies et à la mort (*Ruzzin, 2012*).

Cependant, les effets nocifs associés à une faible exposition chronique aux POPs sont particulièrement préoccupants de fait que ces effets ne s'expriment pas aussi franchement dans le cas d'une exposition à des concentrations plus faibles provenant de l'environnement et de la chaîne alimentaire (*Lee, 2007*).

Comme les espèces sauvages, les humains sont exposés à toute une gamme de substances dans l'environnement, et souvent à un mélange de ces substances à la fois. Peu d'études ont évalué l'effet de multiples contaminants chimiques sur la santé humaine et animale que les efforts ont porté sur l'évaluation de l'effet d'un seul contaminant (*Ambali et al., 2011*).

De notre part, nous nous sommes intéressées aux effets chroniques d'un mélange des POPs sur deux organes essentiels intervenant dans l'homéostasie énergétique : le foie et le pancréas. La mixture qui fait l'objet de cette étude est composée de deux pesticides (endosulfan et chlorpyrifos) et deux hydrocarbures aromatiques polycycliques (benzopyrène et naphthalène) dont les doses sont

ajustées pour refléter l'exposition journalière aux POPs de la population humaine de la zone de Jijel
Pour répondre à notre objectif, différents paramètres seront étudiés :

- Détermination du caractère pro-oxydant de la mixture sur le foie et le pancréas.
- Evaluation de l'effet de la mixture sur la fonction hépatique.
- Estimation de l'effet de la mixture sur l'homéostasie énergétique.

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. Les polluants organiques persistants

I.1. Définitions-généralités

Au cours des 30 dernières années, les polluants environnementaux, y compris les polluants organiques persistants (POPs) ont reçu une attention croissante dont le risque posé des mélanges de ces derniers pour la santé humains est de plus en plus discuté (Carvalho *et al.*, 2014 ; Tartu *et al.*, 2014).

La quasi-totalité de la population humaine est quotidiennement exposé aux POPs qui sont définis comme étant des composés lipophiles, capables de traverser les membranes biologiques et de bioaccumuler dans les tissus adipeux d'êtres humains pendant de nombreuses années. En raison de leur capacité à résister aux dégradations biologiques naturelles et à se transporter à longue distance, ces molécules sont persistantes et omniprésentes dans l'environnement. De plus, ces molécules présentent une certaine toxicité même à faible dose (Airaksinen *et al.*, 2011 ; Ruzzin, 2012).

L'alimentation et en particulier les graisses animales (les poissons gras, la viande et les produits laitiers), l'environnement ou les accidents du travail représentent les modes les plus fréquents d'exposition de la population humaine aux POPs (Ruzzin *et al.*, 2010 ; Airaksinen *et al.*, 2011 ; Ruzzin, 2012). En outre, l'exposition aux POPs peut être également prénatale ou périnatale, du fait que les POPs accumulés dans l'organisme de la femme au cours de sa vie, notamment pendant la grossesse et l'allaitement durant lesquels ses réserves de graisse sont mobilisées constituant une source lipidique pour le fœtus et le bébé allaité (Buhler, 2009).

Ces polluants sont initialement décrite comme étant des agents cancérigènes et pour leurs effets nocifs sur la reproduction due à leur capacité d'agir comme des perturbateurs endocriniens et donc, de modifier le fonctionnement des grands axes endocriniens (Ruzzin, 2012 ; Tartu *et al.*, 2014). Il existe actuellement plusieurs preuves qui montrent que l'exposition aux POPs conduit à des perturbations métaboliques tel que le diabète de type 2 et l'obésité, car ils sont hautement résistants à la dégradation métabolique (Ruzzin, 2012). D'une manière générale, les mécanismes d'action menant à la toxicité des POPs ne sont pas tous élucidés (Ruzzin *et al.*, 2010).

Trois classes des POPs sont distinguées selon leur utilisation : les pesticides principalement les organochlorés, les produits chimiques industriels tel que les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les sous-produits de réactions tel que les polychlorobiphényles (PCB) (Fattach, 2010).

I.2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)

I.2.1. Généralités

Les HAPs représentent une famille des composés organiques fréquemment retrouvés dans l'environnement, constitués de deux à sept cycles aromatiques dont chacun composé de 5 ou 6 atomes de carbone, avec une conformation plane. Ils peuvent contenir des atomes outre que le carbone et l'hydrogène tels que le soufre et peuvent ainsi être substitués par des groupements alkylés. Selon le nombre et la position des cycles, plus de 10 000 structures différentes peuvent être identifiées. Une large gamme des propriétés physicochimiques et toxiques au sein de cette famille résulte de cette gamme de structures (Neff, 1976).

Les HAPs sont des molécules chimiquement inertes, solide à température ambiante, hydrophobes et stables. Du fait de leur forte hydrophobicité, ces molécules s'adsorbent fortement aux particules rendant leur élimination ou leur transformation difficile par réaction chimique et biologique favorisant ainsi leur accumulation dans les réserves lipidiques (Hahn *et al.*, 2005).

Ces HAPs proviennent de la combustion incomplète de la matière organique à haute température suite à des processus naturels (feux de forêts, éruptions volcaniques), mineurs ou pour la majorité issues des processus anthropiques (activité industrielle, automobile, chauffage domestique, incinération des déchets, fumée de cigarette...etc) (Wilcke, 2000).

L'activation biochimique responsable des effets génotoxiques, tératogènes et cancérigènes est l'un des mécanismes de toxicité des HAPs (Cadet *et al.*, 1999) qui se résulte du fait que l'exposition aux HAPs pourrait induire une auto-induction enzymatique en se liant à des récepteurs (aryle-hydrocarbure) induisant l'expression des cytochromes P450. La métabolisation de la plupart des HAPs génère des molécules plus réactives et toxiques que les molécules initiales capables d'altérer le patrimoine génétique des cellules exposées (Hahn *et al.*, 2005).

Il est à noter que les différentes sources d'HAPs ont pour point commun de produire des mélanges de composés d'où de nombreuses études sont concentrées sur l'évaluation de la toxicité des mélanges des HAPs et ont permis de mettre en évidence une additivité des toxicités des composés individuels (McElroy *et al.*, 1989).

Il existe généralement 16 HAPs principaux plus ou moins complexes en fonction du nombre des cycles composant leur structure chimique à savoir: naphthalène, acénaphthylène, acénaphthène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène, triphénylène, benzo(b)fluoranthène, , benzo(k)fluoranthène, benzo(e)pyrène, benzo(a)pyrène, pérylène, dibenzo(a,h)anthracène, coronène (Yunker *et al.*, 2002)

I.2.2. Naphtalène

Le naphtalène est un composé aromatique bicyclique qui est largement utilisé dans les applications industrielles et commerciales comme matière de départ dans la fabrication d'autres composés organiques, comme un répulsif des papillons, dans la fumigation des sols et comme déodorant des toilettes. Il est fabriqué à partir des acides phtaliques, anthranilique, et des résines synthétiques (Tozan *et al.*, 2007; Sehirli *et al.*, 2008).

Le naphtalène est métabolisé par cytochrome P450 oxygénases dans le micrososome qui produit une arène époxyde électrophile intermédiaire et l'oxyde de 1,2-naphtalène. Les époxydes peuvent spontanément réarranger pour former le naphtol, qui a subi un métabolisme supplémentaire au naphtoquinone directement toxiques pour les leucocytes mononucléaires (figure 1) (Tozan *et al.*, 2007; Sehirli *et al.*, 2008).

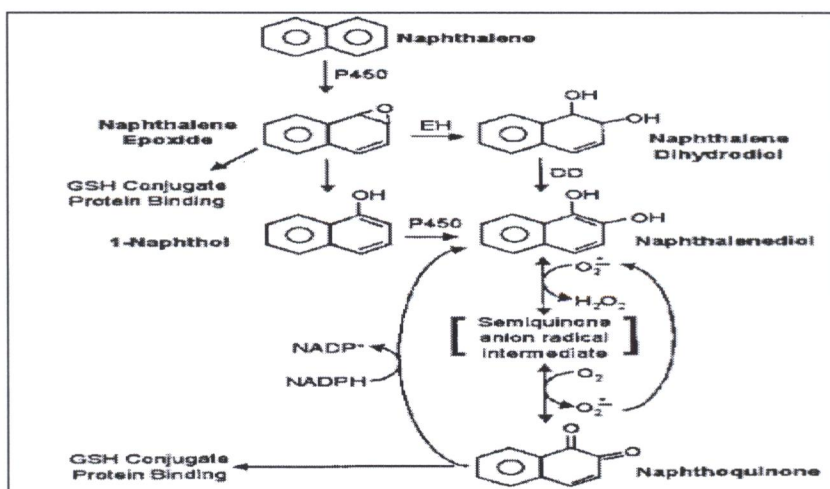


Figure 1: La voie métabolique du naphtalène (Viravaidya *et al.*, 2004).

I.2.3. Benzo(α)pyrène (B(α)P)

a- Généralité

Le benzo(α)pyrène est un HAP à 5 cycles (figure 2) connu pour son potentiel génotoxique, mutagène et cytotoxiques dans pour espèces et tissus (Nithya *et al.*, 2012) ce qui l'avait fait classé en termes de cancérogénicité dans le groupe 1 par l'Agence internationale pour la recherche sur le cancer : IARC, (1983).

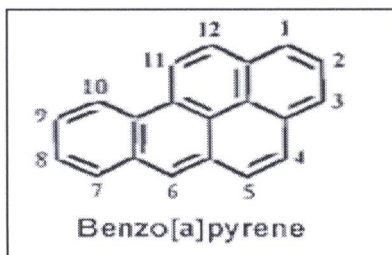


Figure 2: Structure de benzo(α)pyrène (Maitre et Douki, 2009).

b- Toxicité

Le B(α)P a un métabolisme hépatique qui s'effectue principalement en deux phases. Dans un premier temps, il subit une oxydation induite par les cytochromes P450, ce qui donne lieu à la formation d'époxyde. Puis, après transformation par les époxy-hydrolases mitochondriales, on a lieu de dihydrodiols. Ces derniers sont alors oxydés en diol époxydes puis en tétrols par les cytochromes P450 (Jiang *et al.*, 2007). Une fois le B(α)P biotransformé, ses métabolites dont certains sont des cancérogènes ultimes (particulièrement le B(α)P-7,8-diol-9,10-époxyde (BPDE)) sont capables de se lier de façon covalente aux macromolécules des cellules, et en particulier aux protéines et à l'ADN pour former des adduits qui semble être le mécanisme d'action principal de B(α)P. Une partie de ces adduits, s'ils ne sont pas réparés, s'accompagnent de mutations génétiques dans les tissus. De ce fait ce sont des agents d'initiation de la cancérogenèse (Zhao *et al.*, 2006).

Dépendamment de la voie d'exposition, les principales voies d'élimination du B(α)P sont le système hépatobiliaire et le tractus gastro-intestinal sachant qu'après une administration orale de 100 mg/kg de B(α)P chez le rat, 45% de la dose est excrétée dans les urines et les fèces après 24 h (Bonard *et al.*, 2007).

I.3. Les pesticides

En agriculture, les pesticides sont des produits phytosanitaires destinés à lutter contre les ravageurs y compris les vecteurs de maladies, les insectes, les mauvaises herbes, les mollusques, les oiseaux, les mammifères, les nématodes et les microbes susceptibles de provoquer des lésions pendant la production, le traitement, le stockage, le transport ou la commercialisation des aliments, des produits agricoles et des produits de l'alimentation animale. De ce fait, les pesticide peuvent être des substances chimiques, des agents biologiques (virus ou bactérie), des agents antimicrobiens, des désinfectants ou des dispositifs utilisé contre ces organismes nuisibles et agissant comme régulateurs de la croissance végétale, défoliants ou déshydratants (Agrawal et Sharma, 2010).

De nombreuses études épidémiologiques montrent qu'en vu de leurs propriétés toxicologiques : ubiquité, persistance, présence et concentration dans la chaîne alimentaire ; les pesticides peuvent affecter des organismes non cibles notamment la population humaine exposée involontairement aux ces derniers par contact cutané, inhalation ou par ingestion (Lasram *et al.*, 2014 ; Ullah *et al.*, 2014).

Des effets cytotoxiques, neurotoxiques, embryotoxiques, mutagènes, tératogènes, carcinogènes ou endocriniens des pesticides ont déjà été mis en évidence chez l'animal (Fattach, 2010).

Il existe plusieurs classes de pesticides essentiellement sont les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates.

I.3.1. Endosulfan

a- Généralités

L'endosulfan (6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a, 6,9,9a-hexahydro-6,9- méthano-2,4,3-benzodioxathiepin-3- oxide) est l'un des pesticides utilisé dans l'agriculture et l'horticulture en vue de son large spectre insecticide / acaricide malgré que sa nature lipophile qui lui permet de persister dans l'environnement et de bioaccumuler dans les organismes non-cibles pour de longues périodes de temps fait de lui l'objet d'une interdiction mondiale. Ce composé appartenant au sous-groupe de cyclodiène de pesticides organochlorés est absorbé principalement par le tractus intestinal, les poumons et la peau (figure 3) (Uboh *et al.*, 2011; Kovalkovicova *et al.*, 2013 ; Lee *et al.*, 2013).

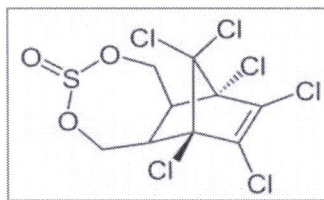


Figure 3: structure d'endosulfan d'après Kovalkovicova (2013).

b- Toxicité

La neurotoxicité induite par l'endosulfan chez les insectes résulte au fait que ce dernier agit comme un antagoniste de l'inhibition par l'acide γ -aminobutyrique (GABA) des neurones post-synaptiques en se liant et bloquant le canal chlorure liée au récepteur de GABA au niveau des synapses, inhibant de ce fait les flux membranaires de chlore via ces récepteurs ce qui conduit à une excitation incontrôlée (Lakroun *et al.*, 2014).

Concernant la toxicité de l'endosulfan sur la reproduction, Takhshid et ses collaborateurs (2012) ont montré que l'administration orale de l'endosulfan a provoqué une réduction dans la motilité des

spermatozoïdes, la viabilité, la production quotidienne de sperme ainsi que l'augmentation des anomalies du sperme chez les rats mâles via la diminution d'hormone folliculo-stimulante (FSH) circulant et l'hormone lutéinisante (LH) d'une part, et d'autre part via l'induction d'un stress oxydatif dans les testicules.

I.3.2. Chlorpyrifos

a- Généralités

Le chlorpyrifos (CPF) : [O, O-diéthyl-O- (3, 5, 6-trichloro-2 pyridyl) –phosphorothioate] est un insecticide organophosphoré (OP) de la classe de phosphorothioate à large spectre d'action utilisé largement à des fins à la fois agricole et domestique avec des expositions humaines possibles (figure 4) (Heikal *et al.*, 2012).

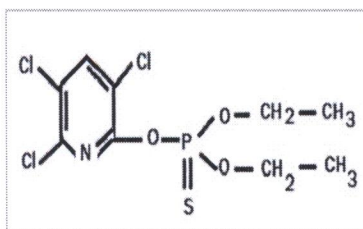


Figure 4: Structure du chlorpyrifos d'après Deb et Das (2013).

b- Toxicités

La toxicité aiguë du chlorpyrifos se manifeste habituellement dans le système nerveux central et périphérique et provient de sa biotransformation par une réaction de désulfuration effectuée par le cytochrome P450 en un plus puissant inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChE), le chlorpyrifos-oxon (CPO). Ce dernier inactive l'AChE par phosphorylation d'un résidu sérine du site actif et l'établissement d'un lien covalent avec lui. Une fois AChE est inactivé, l'acétylcholine (ACh) s'accumule dans tout le système nerveux menant à une hyperstimulation cholinergique des récepteurs muscariniques et nicotiques (Deb et Das, 2013).

Les signes de toxicité comprennent un dysfonctionnement autonome, des fasciculations, des saisies et des convulsions, et une insuffisance respiratoire. Outre que la neurotoxicité, le CPF provoque un certain nombre d'effets supplémentaires, y compris un dysfonctionnement hépatique, hématologiques, immunologiques ainsi qu'une embryotoxicité, génotoxicité, tératogénéité et changements neurocomportementaux (Olorunshola *et al.*, 2011 ; Deb et Das, 2013).

II. La toxicité chronique des POPs sur le foie et le pancréas

II.1. L'hépatotoxicité induite par les POPs

II.1.1. Anatomie et physiologie du foie

II.1.1.1. Anatomie

Le foie est la plus volumineux des organes annexes du tube digestif. Il est situé à la partie supérieure et droite de la cavité abdominale et placé entre le tube digestif et le reste de l'organisme, de ce fait, toutes les molécules absorbées subissent un effet de premier passage hépatique que ce soit les nutriments ou les xénobiotiques. Il représente alors un carrefour entre deux fonctions importantes de l'organisme : le métabolisme énergétique et la détoxification (Elaine et Marieb., 2008).

Il est composé de plusieurs lobes, subdivisés en segments hépatiques délimités par des cloisons fibreuses qui vont le diviser en unités fonctionnelles plus petites, appelées espaces porte ou lobules.

Les lobules comprennent les cellules hépatiques contribuant à la régulation des fonctions hépatocytaires et réparent les lésions tissulaires : 1)- Les cellules épithéliales nommées hépatocytes qui sont les cellules principales fonctionnelles du foie. Ils sont en lieu étroit avec les sinusoides permettant des échanges avec le sang par l'espace de disse et forment à une de leurs pôles avec un hépatocytes adjacent le canalicule biliaire ; 2)- Les cellules endothéliales (cellules sinusoidales) qui bordent la sinusoides et permettent les échanges de petites molécules entre le sang et les hépatocytes ; 3)- Les macrophages résidents (cellules de Kupffer) : sécrètent des cytokines, des enzymes lysosomiales et génèrent des espèces activées de l'oxygène ; 4)- Les cellules stellaires (cellules d'Ito) dont différents constituants de la matrice extracellulaire sont synthétisées par ces cellules ; 5)- Les cellules lymphocytes granulaires qui sont impliquées dans la défense antivirale et antitumorale et 6)- Les cellules épithéliales biliaires ou cellules polarisées qui constituent le canal biliaire et concourent à la sécrétion de la bile (Malarkey *et al.*, 2005).

II.1.1.2. Les fonctions physiologiques du foie

II.1.1.2.1. Le métabolisme hépatique

a- Métabolisme des glucides

Selon le statut nutritionnel de l'individu c'est-à-dire le gradient de concentration du glucose, le foie répond différemment en s'orientant vers une voie métabolique de synthèse, de stockage, de réserve ou au contraire de dégradation des nutriments (Bechmann *et al.*, 2012).

Alors, en situation post-prandiale (4 heures après un repas), il y a une hyperglycémie (le glucose présente en quantité importante), l'excès de glucose est transporté à l'intérieur de la cellule via les protéines de transport GLUT (glucose transporter) qui sont exprimées de manière ubiquitaire et assurant la diffusion facilitée du glucose. Le pancréas intervient par une sécrétion importante de l'insuline alors que celle du glucagon est inhibée et le foie met en réserve la majeure partie du glucose sous la forme du glycogène, c'est la glycogénogenèse dans laquelle différentes enzymes telles que l'hexokinase (HK), la glucokinase, le glycogène synthase sont impliqués (Rahimi et Abdollahi, 2007).

A l'état de jeûne, le foie est capable d'assurer un apport de glucose à l'organisme à partir de ses ressources en glycogène, c'est la glycogénolyse catalysée par des enzymes de glycogène phosphorylase (GP), phosphoglucomutase (PGM) et glucose-6-phosphatase, et à partir de la synthèse de novo de glucose (néoglucogenèse) lorsque le jeûne se prolonge (Rahimi et Abdollahi, 2007). Le maintien de la glycémie par la glycogénolyse est temporaire puisque les réserves du foie sont limitées et s'épuisent au bout de 24 heures (Roach *et al.*, 2012).

b- Métabolisme lipidique hépatique

Le foie joue un rôle central dans l'homéostasie lipidique, en synthétisant : 1)- Les acides gras à partir des nutriments, principalement des glucides, et de l'alcool; 2)- Les triglycérides et des phospholipides à partir d'acides gras exogènes et endogènes ; 3)- le cholestérol, entrant dans la composition de certaines molécules et essentiel à la structure des membranes cellulaires, à partir d'acétyl-CoA ; 4)- Les acides et les sels biliaires, indispensables à la digestion des lipides, à partir du cholestérol ; 5)- Les lipoprotéines, qui assurent le transport intertissulaire des triglycérides, des phospholipides et du cholestérol et 6)- Les molécules énergétiques utilisables par les organes glucodépendants, les corps cétoniques, via la β -oxydation et la cétogenèse (Després *et al.*, 2005).

Le maintien de l'homéostasie lipidique est assuré par des régulateurs nutritionnels (acides gras et glucose), hormonaux (insuline, glucagon, leptine et adiponectine entre autres), transcriptionnels, enzymatiques et allostériques capables d'activer la synthèse et d'inhiber la dégradation en période alimentaire et l'inverse en période de jeûne (Di Marzo et Matias, 2005).

c- Métabolisme des protéines

Le foie permet le métabolisme des neuf acides aminés essentiels par des transaminations et désaminations oxydatives et emmagasine les vitamines liposolubles (A, D, E et K) et les oligo-éléments (fer, cuivre). Il assure aussi la synthèse importante des protéines plasmatique (l'albumine)

et des facteurs de la coagulation du sang ainsi que la production d'urée à partir de l'ammoniaque circulant (Bottcher *et al.*, 2011).

II.1.1.2.2. La fonction de détoxification hépatique

Pour faciliter l'élimination des xénobiotiques ou neutraliser leurs groupements réactifs afin de les rendre moins toxiques, il faut que ces derniers soient hydrophiles ; pour cela, ils y subissent des réactions de fonctionnalisation (Cytochromes P450) et de conjugaison (glutathion) au niveau du foie. Ces réactions ont lieu au niveau du réticulum endoplasmique lisse des hépatocytes, et dans une moindre mesure des cellules Kupffer (Maronpot *et al.*, 2010).

Dans la réaction de fonctionnalisation, le cytochrome P450 transforme un substrat hydrophobe (RH) en produit hydrophile (R-OH) souvent par l'introduction d'une fonction hydroxyle (-OH). Pour cela, il utilise une molécule d'oxygène O₂, un proton (H⁺) et deux électrons. Les molécules ainsi transformées peuvent être éliminées par l'intermédiaire de la bile, emmagasinées dans la vésicule biliaire, puis libérées dans l'intestin grêle (Maronpot *et al.*, 2010).

Il est à noter que la métabolisation de certains xénobiotiques comme les pops conduit à la formation des métabolites plus toxiques que le composé parent d'où le danger de ces xénobiotiques (Maronpot *et al.*, 2010).

II.1.1.2.3. D'autres fonctions du foie

Le foie joue un rôle dans la digestion des lipides en synthétisant la bile contenant des sels et des acides biliaires. De plus, il participe à la formation de l'hémoglobine grâce à ces réserves en fer et en vit B12 (Elaine et Marieb., 2008).

II.1.2. L'hépatotoxicité induite par les POPs

Les POPs d'une manière générale sont des générateurs du stress oxydatif (Tartu, 2014) dont la production de ROS participe à la genèse de leur toxicité qui est la cause principale du développement des différentes conditions physiopathologiques conduisant à un certain nombre de maladies chroniques (Agrawal et Sharma, 2010).

II.1.2.1. Le stress oxydatif

a- Généralité

Le trio "radicaux libres", "antioxydants" et "stress oxydatif" est de plus en plus utilisé pour expliquer différentes atteintes pathologiques et leurs approches thérapeutiques où de nombreuses études ont montré l'implication du stress oxydant dans la mise en place des maladies chroniques et

dégénératives, sans toutefois que l'ensemble des mécanismes impliqués soient totalement compris (Lehucher *et al.*, 2001).

Le stress oxydatif peut être défini en terme d'une altération cellulaire et tissulaire par des molécules oxydantes résultante d'un déséquilibre profond dans la balance entre les prooxydants, producteurs d'espèces réactifs, et les antioxydants, au profit des premiers (Sies, 1985 ; Agrawal et Sharma, 2010).

Les organismes aérobies, y compris les êtres humains utilisent de l'oxygène moléculaire pour la respiration et l'oxydation des nutriments à travers la mitochondrie, l'usine énergétique de la cellule. Comme conséquence de cette utilisation, les espèces hautement réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote sont générées comprenant les radicaux libres (RL), et H₂O₂ (Agrawal et Sharma, 2010). Les RL sont très instables en raison de la présence sur la couche externe de l'atome d'un électron non apparié ce qui lui confère une forte tendance à oxyder tout les composants qu'il rencontre en leur arrachant ou cédant un électron pour l'apparier (Ferradini, 1986).

Diverses formes chimiques de RL ont été distinguées : anion superoxyde (O₂^{•-}), peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), radical hydroxyles (OH[•]), radicaux organique (RO[•], R[•], RS[•]), radical peroxyde (RCOO[•]), peroxyxynitrite (ONOO[•]) (Gutteridge et Halliwell, 1993).

Les ROS sont naturellement présents dans l'organisme à des concentrations pouvant être prises en charge par les défenses antioxydantes et ils sont impliqués physiologiquement dans la prolifération cellulaire, dans l'apoptose en agissant comme second messenger, dans les voies de transduction de signal, dans le fonctionnement de certaines enzymes et dans la défense immunitaire (Human, 2002). Ils sont notamment produits lors des voies métaboliques aérobies, telles que la phagocytose, la respiration cellulaire, la phosphorylation oxydative, ou lors de la synthèse et la dégradation des biomolécules

b- La production des ROS

Nombreuses sont les sources aboutissant à la genèse des ROS: On parle alors de sources endogènes et de sources exogènes (Valko *et al.*, 2007). D'une part, la principale source endogène de ROS in vivo est la respiration mitochondriale (la fuite des électrons), de plus les ROS sont également produites par des peroxysomes via la β -oxydation des acides gras, par le métabolisme du cytochrome P450 microsomal des xénobiotiques au niveau du réticulum endoplasmique, par la stimulation de la phagocytose par des agents pathogènes ou lipopolysaccharides, par le métabolisme de l'arginine et de l'acide arachidonique, ainsi que par les enzymes oxydase (NAD(P)H oxydases, xanthine-oxydase, NO synthase) (Agrawal et Sharma, 2010).

D'autre part, la production exogène des ROS résulte de l'exposition, aux rayons ionisants, aux métaux de transition ou à un accroissement brutal de l'apport en oxygène (Michelson, 1982).

Une large variété de xénobiotiques (toxines, pesticides, anesthésiques, tabac, etc...) et médicaments (antibiotiques, anticancéreux, etc...) peuvent contribuer ainsi à la production des ROS qui se forment comme un des produits de leur métabolisme (Valko *et al.*, 2007).

c- Les cibles privilégiées des ROS au sein de la cellule

Les ROS choisissent particulièrement trois cibles cellulaires importantes pour les attaquer dans les systèmes vivants: 1) Les protéines: notamment les protéines de soutien, de reconnaissance et les protéines circulantes dont les attaques s'effectuent préférentiellement sur les acides aminés portant des chaînes latérales aromatiques et sur les acides aminés soufrés ; 2) ADN: les ROS sont capables de léser et de modifier soit des bases puriques et pyrimidiques en particulier la 8-hydroxy-guanine ou les désoxyriboses de l'ADN, soit les systèmes de protection et de réparation des erreurs, et 3) Les lipides: les acides gras insaturés sont aussi des cibles privilégiés des ROS. La peroxydation lipidique a pour conséquence l'altération de la fluidité et la perméabilité des membranes et qui peut conduire jusqu'à leur lyse (Agrawal et Sharma, 2010). Ces lésions sont à l'origine d'apparition de nombreuses pathologies misant en place le stress oxydant comme étant un mécanisme commun: cancer, athérosclérose, cataracte, allergies, maladies neuro-dégénératives, les maladies cardiovasculaires, diabète, parkinson...etc (Magder, 2006).

d- Le système de défense antioxydant

Pour faire face à l'agression des ROS, l'organisme a développé de puissants systèmes de défense antioxydants permettant de contrôler et de neutraliser ces derniers reposant sur deux mécanismes distincts : les enzymes : dont la superoxyde dismutase (SOD) représente la première ligne de défense contre les ROS et a pour fonction d'accélérer la dismutation de l'anion superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène qui se transforme en oxygène et en eau via la catalase (CAT) péroxysomale qui empêche sa propagation dans le reste de la cellule, de plus, la glutathion peroxydase (GPx) : qui sont des enzymes à sélénium semble catalyser la réduction d'un peroxyde en son alcool correspondant avec l'oxydation du glutathion réduit (GSH) en sa forme disulfide (GSSG) ... etc (Colado *et al.*, 2006).

De part le système de défense enzymatique, il existe ainsi les molécules antioxydantes : qui pour la majorité sont apportés par l'alimentation, d'où l'intérêt porté aux aliments dans le renforcement du système de défense contre le stress oxydant. Ces molécules sont capables d'inactiver les espèces réactives de l'oxygène par des processus d'oxydoréduction. Elles sont essentiellement : le glutathion, les acides ascorbique et urique, la vitamine E, le bêta-carotène, les flavonoïdes, les thiols, les quinones, les chélateurs de métaux et les oligo-éléments (Swain *et al.*, 2002).

II.1.2.2. Effet de l'endosulfan sur le foie

Récemment, des études ont révélé que l'endosulfan peut exercer leur toxicité via l'induction d'un stress oxydatif au niveau du foie suite à leur métabolisation comme un xénobiotique lipophile à intermédiaires hépatotoxiques par le système monooxygénase dont leurs métabolites ont une forte tendance à s'accumuler dans le tissu adipeux comme dans le foie ce qui altère les fonctions métaboliques (Uboh *et al.*, 2011).

Les ROS ainsi générés au cours de ce stress oxydatif causent la peroxydation lipidique des membranes hépatocytaires ce qui altère la fonctionnalité membranaire conduisant alors à la fuite des constituants intracellulaires y compris les enzymes hépatiques (les transaminases et la phosphatase alcaline) dans leurs concentrations sériques semblent augmenter indiquant une nécrose et une dégénérescence de tissu hépatique, deux résultats histopathologiques marqués à être associée à l'exposition à l'endosulfan. Ces même ROS provoquent le dysfonctionnement mitochondrial qui permet l'installation d'une stéatose hépatique (Uboh *et al.*, 2011).

Song et ses collaborateurs (2012) ont montré grâce à une étude *in vitro* sur les cellules HepG2 que via la genèse des ROS qui agissent comme seconds messagers et modulateurs critiques de la transcription des gènes, l'endosulfan peut moduler les activités des voies de transduction du signal sensibles au stress y compris les voies des MAP Kinase (Mitogen-activated protein kinases) qui comprennent un groupe de kinases de sérine / thréonine telles que Extracellular signal-Regulated Kinases 1/ 2 (ERK) 1/2, les kinases Jun N-terminal 3(JNK) et les p38 qui contrôlent l'expression des gènes par la double phosphorylation des facteurs de transcription. Ces MAP-K sont impliquées dans un certain nombre d'évènements de la vie de la cellule, comme la mitose, mais aussi très liées aux phénomènes apoptotiques, à la différenciation ou encore à la survie cellulaire dont l'augmentation de l'activité de ERK1 / 2 et p38 par l'endosulfan semble participer à la genèse d'un hépatocarcinome (Song *et al.*, 2012).

De plus, il a été prouvé que les organochlorés y compris l'endosulfan sont capables de se fixer et d'activer le récepteur à l'œstrogène alpha (ER α) ainsi que le PXR, conduisant à la modulation de l'expression des cytochromes P450 (CYP1A1 et CYP3A4) (Coumoul *et al.*, 2002).

II.1.2.3. Effet du chlorpyriphos sur le foie

De même, plusieurs d'autres auteurs ont révélé que l'exposition aux organophosphorés y compris le CPF n'implique pas seulement l'inhibition de l'AChE et les conséquences qui en résultent, mais aussi l'induction d'un stress oxydatif qui se traduit par une altération remarquable de la défense antioxydante dans le foie menant à un dysfonctionnement hépatique sévère dont une élévation

importante des transaminases (TGO: Transaminase Glutamate Oxaloacétate, TGP: Transaminase Glutamate Pyruvate et TGP), une atrophie hépatique, une destruction de l'architecture hépatique normale, une dégénérescence, une nécrose des hépatocytes, une infiltration de cellules inflammatoires, une prolifération des cellules de Kupffer ainsi qu'une diminution d'activité du lactate déshydrogénase (LDH) dans le foie et leur augmentation dans le plasma ont été constatées suite à l'exposition des rats à ce pesticide (Hussain, 2010 ; Heikal *et al.*, 2012). De plus, les dommages oxydatifs induits par ce pesticide semble réduire la capacité du foie pour synthétiser le glycogène (Ambali *et al.*, 2011).

II.1.2.4. Effet du naphthalène sur le foie

Tant que HAP, l'exposition chronique au naphthalène a abouti à des altérations structurales et fonctionnelles des organes. Leur toxicité est associée avec son métabolite oxydatif, y compris les quinones, qui sont connus pour induire des dommages oxydatifs. L'administration de naphthalène est connue pour provoquer une augmentation de la peroxydation lipidique due aux radicaux libres générés par les neutrophiles ce qui a été conduit à des augmentations significatives dans les niveaux de collagène avec une augmentation concomitante des cytokines pro-inflammatoires (IL-6 (Interleukine 6), TNF- α (Tumor Necrosis Factor α) et IL-1 β (Interleukine1 β) dans le sang. De ce fait, le naphthalène conduit à une blessure du tissu hépatique de premier plan, à une congestion dans la veine centrale, à une grave détérioration des hépatocytes et à une forte accumulation de cellules inflammatoires ainsi que les cellules de Kupffer (Tozan *et al.*, 2007; Sehirlı *et al.*, 2008).

II.1.2.5. Effet du benzo(α)pyrène sur le foie

Le B(α)P aussi et par l'intermédiaire du récepteur d'hydrocarbure d'aryle (AhR), conduit à la génération des ROS (Latif *et al.*, 2010) causant ainsi plusieurs modifications biochimiques et moléculaires dans les tissus du foie comme la baisse du niveau de thiorédoxine, diminution de l'activité de la GPx et production excessive de hydroperoxydes lipidiques (Nithya *et al.*, 2012).

II.2. La pancréatotoxicité induite par les POPs

II.2.1. Anatomie pancréatique

Le pancréas est une glande digestive accessoire située derrière l'estomac, et s'étend depuis le duodénum vers la rate, croisant plus ou moins transversalement la paroi abdominale postérieure, dans l'espace rétropéritonéal. Il peut être subdivisé en quatre régions : la tête, le col, le corps et la queue (Moore et Dalley, 2001).

II.2.2. Physiologie du pancréas

Le pancréas est une glande mixte, à la fois exocrine et endocrine. Le pancréas endocrine est représenté par les îlots de Langerhans qui sont des cellules endocrines dispersées au sein du parenchyme exocrine dont le diamètre varie de 100 à 300 μm et dont le total ne représente qu'environ 1 % de la glande (Pansky, 1990).

Au sein de ces îlots, il existe 4 types cellulaires majeurs : - Les cellules bêtas (β) produisant de l'insuline, représentant 60 à 80% des cellules des îlots et localisées au centre de ces derniers ; - Les cellules Alpha (α) produisant le glucagon (qui est un facteur antagoniste de l'insuline et agit en stimulant la glycogénolyse hépatique), représentant 15 à 20% des cellules des îlots ; - Les cellules PP, produisant le polypeptide pancréatique, représentant 15 à 20% des cellules des îlots ; - Les cellules γ synthétisant la somatostatine (hormone hyperglycémiant), représentant 5 à 10% des cellules des îlots (figure 5). La gastrine, la sérotonine et le vasoactif intestinal peptide VIP sont d'autres peptides pouvant être détectés dans les cellules du pancréas endocrine (Raccah, 2004).

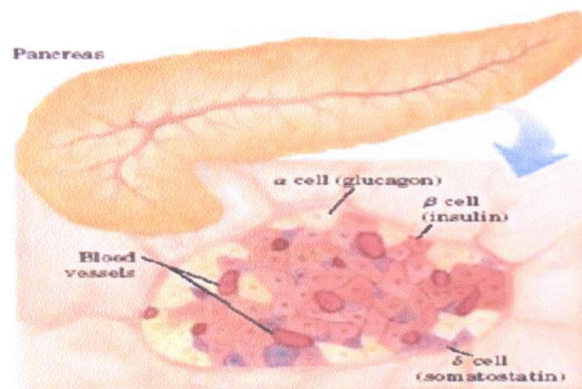


Figure 5 : Les systèmes endocriniens du pancréas (Nelson et Cox, 2004).

Le pancréas exocrine : Les sécrétions du pancréas exocrine sont produites par les cellules épithéliales des acini par deux mécanismes sécrétoires distincts : les sécrétions électrolytiques et enzymatiques dont les sécrétions enzymatiques comprennent : le trypsinogène, le

chymotrypsinogène, l'amylase et la lipase qui sont responsables de la digestion du bol alimentaire et les bicarbonates qui alcalinisent le contenu intra luminal de l'intestin grêle. Le débit sécrétoire varie en fonction des repas, pour un volume quotidien d'environ 1,5 litre (Fumat, 2014).

- **Le pancréas et l'insulino-sécrétion**

Le rôle principal du pancréas est la production d'insuline qui est une hormone polypeptide dont le précurseur est la pro-insuline dégradée par une protéase en insuline et peptide C. On estime qu'environ 50 unités d'insuline sont secrétées par jour (Nelson et Cox, 2004).

L'insuline est une hormone anabolisante qui participe à toutes les réactions de synthèse de l'organisme. Son action biologique est marquée sur le métabolisme des lipides, des protéides et surtout des glucides dont il baisse le taux plasmatique : c'est donc une hormone hypoglycémiante qui augmente l'utilisation périphérique du glucose et inhibe sa production hépatique en inhibant la glycogénolyse et la néoglucogenèse et stimule la glycogénogenèse (figure 6) (Oberley, 1988).

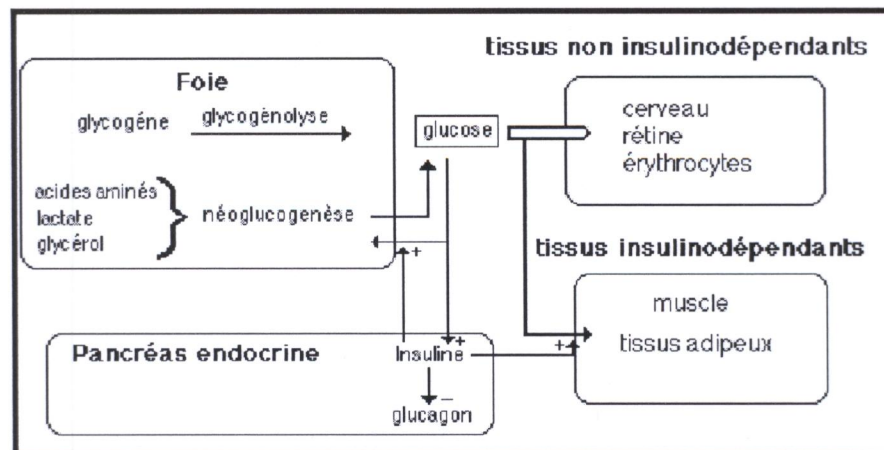


Figure 6: Mécanisme biochimique de l'action de l'insuline (Oberley, 1988).

Au niveau des cellules cibles, cette hormone facilite la pénétration du glucose dans les cellules en augmentant la perméabilité de leur membrane via des récepteurs au glucose exemple : GLUT 4. Au niveau du foie, elle stimule l'enrichissement de la membrane plasmique en transporteurs GLUT 4, où des vésicules contenant les transporteurs fusionnent avec la membrane (Malaisse *et al.*, 1982).

Les régulations des sécrétions endocrines pancréatiques font donc intervenir de nombreuses molécules d'origines diverses: pas seulement les hormones, mais aussi des neurotransmetteurs et des produits de la digestion (Havrankova *et al.*, 1978).

- **L'insulinorésistance**

Lorsque les tissus cibles de l'insuline y compris le foie, le muscle et le tissu adipeux, ne répondent pas convenablement à la présence de taux circulants normaux d'insuline grâce à une altération du récepteur à l'insuline, altération de l'expression ou de la sécrétion d'insuline ou de la voie de transduction du signal et ou grâce à la destruction des cellules β des îlots de langerhans, dans ce cas, certaines voies métaboliques ne seront plus régulées par cette hormone et c'est l'insulinorésistance qui s'installe (Obici *et al.*, 2002; Raccach, 2004).

II.2.3. Les effets pancréatiques chroniques des POPs

II.2.3.1. Effet de l'endosulfan sur le pancréas

Le gonflement des mitochondries, les vacuoles dans le cytoplasme, la dissolution de la matrice mitochondriale, et le noyau pycnotique dans les cellules β des îlots de langerhans ont été observées après 6 semaines de traitement par l'endosulfan (Hussain, 2010).

II.2.3.2. Effet du chlorpyriphos sur le pancréas

Le CPF semble augmenter les dommages lipoperoxydatifs en augmentant la concentration en MDA dans le pancréas ce qui affecte l'intégrité structurale et fonctionnelle de cet organe, cela conduit à la pathogenèse de l'inflammation du pancréas (Ambali *et al.*, 2011).

En outre, le flux d'acide gras libre augmenté suite à l'exposition à ce pesticide accélère l'apoptose des cellules bêta du pancréas (lipotoxicité). D'autre part, il a été suggéré que le chlorpyriphos induit une sorte de résistance à l'insuline qui ne peut submerger l'hyperglycémie. Cette action est médiée par perturbation de la fonction des mitochondries d'îlots (Hamza *et al.*, 2014).

Une exposition aiguë ou chronique au CPF semble affecter l'homéostasie énergétique du corps humain conduisant alors à une hyperglycémie et une hyperlipidémie. Différents mécanismes impliqués dans l'incidence de l'hyperglycémie induite par le CPF ont été signalés par plusieurs auteurs (tableau 1) (Orabi *et al.*, 2013).

Tableau 1: Les mécanismes possibles de l'hyperglycémie induite par une exposition aux organophosphorés y compris le chlorpyrifos (Rahimi et Abdollahi, 2007 ; Ambali *et al.*, 2011).

Mécanisme	Résultats
Stress physiologique.	Activation de l'axe HPA (Hypothalamic-Pituitary-Adrenal) et l'activation du système nerveux sympathique autonome ce qui augmente la libération de glucocorticoïdes, catécholamines, glucagon, hormone de croissance et cytokines qui entraînent la promotion de la néoglucogenèse, glycogénolyse, résistance à l'insuline, et la constitution d'hyperglycémie.
Stress oxydatif.	Augmentation de la production du glucose via la stimulation de glucose 6-phosphate déshydrogénase et via l'altération des voies de signalisation de l'insuline.
Inhibition du paraoxonase.	Développement d'un stress oxydatif.
Stress nitrique.	Augmentation d'oxyde nitrique qui intervient dans la destruction des cellules β .
Pancréatite.	Altération des cellules pancréatiques et perturbation dans la sécrétion d'insuline.
Inhibition de l'ACHÉ.	Libération continue du glucose via la stimulation permanente de la glycogénolyse pour supporter les besoins en énergie.
Stimulation de la glande surrénale.	hypersécrétion d'adrénaline qui stimule la glycogénolyse dans les cellules hépatiques et les cellules musculaires ce qui cause l'insulinorésistance accompagnée d'une lipolyse accrue.
Perturbations dans le métabolisme du tryptophane du foie.	Augmentation de la formation d'acide xanthurénique menant à l'altération du métabolisme du glucose. De plus, il a été rapporté que l'acide xanthurénique forme un complexe avec l'insuline et endommage les cellules β pancréatiques.

II.2.3.3. Effet du naphtalène sur le pancréas

La toxicité du naphtalène est étroitement liée aux mécanismes inflammatoires et aux dommages oxydatifs (Sehirli *et al.*, 2008). Il a été démontré que la concentration en glucose du sang augmente significativement après l'exposition au naphtalène ce qui signifie que le naphtalène a un effet hyperglycémique via l'induction d'un stress oxydatif au niveau des cellules pancréatiques (Reddy *et al.*, 1996).

II.2.3.4. Effet du benzo(α)pyrène sur le pancréas

L'exposition chronique au B(α)P modifie l'expression des protéines clés dans la réponse au stress du réticulum endoplasmique et le stress cellulaire dans le pancréas. Ces données suggèrent que l'exposition au B(α)P à long terme peut être préjudiciable à la fonction de la cellule bêta et, finalement, être un contributeur important à l'étiologie de diabète de type 2 (Makaji, 2011).

Matériel et Méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1. Animaux et conditions d'hébergement

Les rats utilisés au cours de cette étude sont des rats femelles de souche *Wistar Albinos* provenant de l'institut Pasteur d'Alger, pesant environ 180 à 250 g. Ces rats sont maintenus dans l'animalerie du département des SNV, université de Jijel, rangés dans des cages en porcelaine et ils ont accès à volonté à la nourriture standard (Crockett) et à l'eau. La température de l'animalerie est maintenue à $(24 \pm 1^\circ\text{C})$ avec une hygrométrie de 60 % et un cycle jour/nuit de 12/12 h.

I.2. Choix et préparation des doses

Deux pesticides (chlorpyrifos et endosulfan), et deux HAPs (naphtalène et benzo(α)pyrène) sont les composants de la mixture que nous avons utilisé dans cette étude dont les doses des pesticides ont été choisies en se référant aux doses réelles explorées dans certains légumes vendus au marché de la ville de Jijel (Roula, 2009) et les doses des HAPs ont été choisies selon l'étude de (Martorell *et al.*, 2010). Ces doses ont été ajustées pour respecter le taux d'exposition journalière (tableau 2). La dose de chaque polluant est calculée selon l'équation :

$$D = \sum C \times QC$$

Où :

C : concentration de polluant en $\mu\text{g}/\text{kg}$ dans un aliment donnée.

QC : quantité d'aliment consommé /jours par une femme adulte.

D : dose de polluant consommée par jour en $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Tableau 2: Le choix des doses composant la dose D de la mixture.

Les POPs	Chlorpyrifos	Endosulfan	Naphtalène	α -benzopyrène
Concentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	5,2	2,6	0,023	0,002

I.3. Préparation des mixtures

Dans la présente étude, nous avons utilisé le benzo(α)pyrène et le naphtalène pur, alors que le chlorpyrifos et l'endosulfan ont été utilisés sous leur forme commerciale provenant de la phytopharmacie. Les pesticides et les HAPs ont été mélangés dans l'huile de maïs et administrés aux rats sous forme de mixture. Par la méthode de dilution successive, 3 concentrations de cette mixture ont été préparées; D*100, D*10 et D avec ; D : dose de polluant consommée par jour $\mu\text{g}/\text{kg}$.

I.4. Répartition et traitement des animaux

Après une période d'acclimatation (15 jours), les animaux (n = 20) sont répartis en 4 lots de 5 rats chacun. Le traitement est réalisé par l'administration de la mixture préparée par gavage gastrique à l'aide d'une sonde fixée à une seringue et ce quotidiennement pendant une durée de 3 mois (tableau 3).

Tableau 3 : Répartition et traitement des animaux.

Les lots	Traitement des animaux
Lot1	Animaux témoins, recevant 0,5 ml d'huile de maïs par voie orale chaque jour pendant 3mois.
Lot2	Animaux recevant par voie orale 0,5 ml du mélange (D*100) quotidiennement pendant 3mois.
Lot3	Animaux recevant par voie orale 0,5 ml du mélange (D*10) quotidiennement pendant 3mois.
Lot4	Animaux recevant par voie orale 0,5 ml du mélange (D) chaque jour pendant 3mois.

I.5. Test de tolérance au glucose

Comme il est dit précédemment, la littérature a signalé l'effet diabéto-gène (hyperglycémiant) de chaque composé appartenant à la mixture utilisée dans cette présente étude. Dans le but d'étudier ce même effet dans le cas de la mixture (B(α)P + NAP+ END + CPF), un test de la tolérance au glucose a été effectué. Ce test consiste à mesurer la réponse de l'organisme au glucose. Pour cela et après une période de jeûne de 21 heures, la glycémie a été mesurée puis une solution de glucose (4g/kg) a été administrée aux rats par gavage gastrique. Après 15 min, un prélèvement du sang de la queue des rats est effectué et la glycémie est monitorée, cette opération est refaite chaque 30 min sur une durée de 180 min. Le dosage du glucose sanguin a été réalisé à l'aide d'un glucomètre (Accu-Chek active, Roche Diagnostics, Meylan, Germany).

I.6. Sacrifice des animaux

A la fin du traitement, tous les rats ont été sacrifiés et les organes (foie et pancréas) sont prélevés en vue des dosages des différents paramètres (la nourriture a été retirée de la cage la nuit précédant le jour du sacrifice des animaux).

Au départ, le rat a été anesthésié par inhalation d'éther et fixé sur son dos à l'aide d'épingles, une fois le rat est fixé, la dissection abdominale a été effectuée par une pince et une paire de ciseau. En suite, le sang a été prélevé à partir du cœur le plus rapidement possible à l'aide d'une seringue et recueilli respectivement sur des tubes héparinés qui seront par la suite centrifugés à 3000 tours/min pendant 10 min, et dans le sérum obtenu, sont dosés les paramètres biochimiques suivants (TGO, TGP, PAL, cholestérol et triglycérides). De plus, le foie et le pancréas ont été prélevés et submergés dans une solution physiologique pour drainer toutes les globules rouges. A la fin, après que le foie soit pesé, les deux organes sont étiquetés et conservés dans un congélateur à -20 C° jusqu'à leurs utilisations.

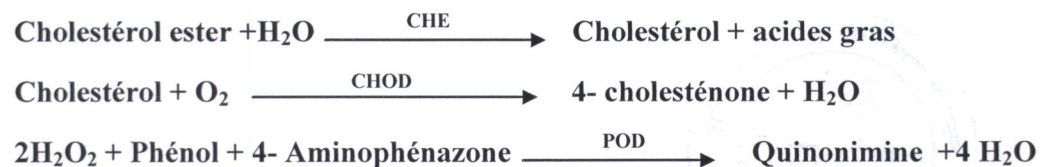
I.7. Dosage des paramètres biochimiques

I.7.1. Dosage des lipides totaux (cholestérol et triglycérides)

Pour savoir si la mixture étudiée a un effet hyperlipidémiant, nous avons procédé aux dosages du cholestérol et des triglycérides sanguins. Le dosage de ces deux paramètres a été effectué au niveau de laboratoire central de l'hôpital de *Jijel*.

▪ Dosage du cholestérol

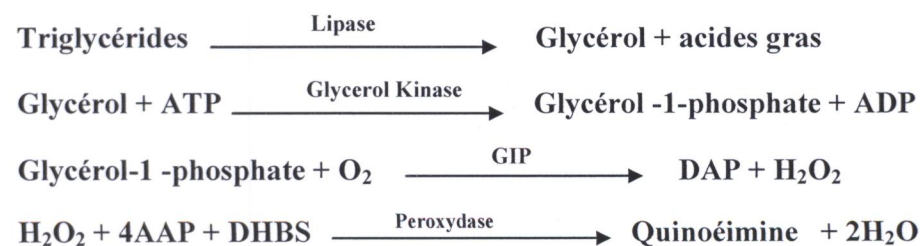
Principe : Le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré, Selon la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol présente dans l'échantillon testé (Naito *et al.*, 1984).

▪ Dosage des triglycérides

Principe : Le dosage des triglycérides est basé sur la méthode enzymatique colorimétrique de (Fossati, 1982) dont la séquence de réaction enzymatique utilisée est la suivante:



La quantité du colorant formé (quinoéimine) est déterminée en utilisant un spectrophotomètre (Basic Medience-1720). Les résultats obtenus sont exprimés en (g/l).

I.7.2. Le dosage des marqueurs enzymatiques (TGO, TGP et PAL)

Pour évaluer l'atteinte hépatique, les activités des transaminases TGO et TGP et de la phosphatase alcaline dans le sérum ont été dosées.

Les transaminases (TGO et TGP) sont des enzymes ayant une activité métabolique importante à l'intérieur des cellules hépatiques. Leur rôle est de transférer un groupe amine lors des nombreux processus chimiques qui se déroulent au niveau hépatique. Leur augmentation reflète une lésion cellulaire, en particulier au niveau hépatique, cardiaque, rénal ou musculaire (Clark *et al.*, 2003).

Les phosphatases alcalines sont des enzymes présentes partout dans l'organisme mais surtout dans le foie, l'os, l'intestin, les reins et les globules blancs dont l'atteinte de ces organes provoque leur libération dans le sang. Elles participent à la minéralisation des os, ainsi qu'à la fabrication du tissu osseux et du cartilage (Harris, 1989).

Ces enzymes catalysent les réactions suivantes :



Le dosage du taux des transaminases par la méthode de *Reitman et al (1957)* et de la phosphatase alcaline par la méthode de (*Young et al., 1975*) dans le sang a été effectué au niveau du laboratoire central de l'hôpital de Jijel en utilisant des kits de commerce par appareil multiparamétrique (automate de biochimie, Diam'S2300+ Mat Me DCO, 2008). Les résultats sont exprimés en UI/l.

I.8. Evaluation de l'effet des POPs sur le stockage de glycogène hépatique

Le dosage de glycogène a été effectué en utilisant une méthode colorimétrique (Dedier, 1994) selon le protocole suivant: 5 grammes de foie frais sont coupés en petits morceaux et bouillis ensuite dans 50 ml d'eau distillée pendant 2 minutes. Les fragments de foie sont égouttés à l'aide d'une passoire et broyés avec le mortier. 25 ml d'eau distillée sont ajoutés au broyat et la suspension obtenue est bouillie pendant 5 minutes. Le bouillonnât est filtré sous vide sur Büchner puis le filtrat est récupéré avec 3 gouttes d'HCl (pour précipiter les protéines) et est filtré à nouveau. Le filtrat est traité par 4 fois son volume d'alcool 95% puis filtré sous vide et le filtrat final est repris avec 2 ml d'eau distillée. Pour doser le glycogène, 3 ml

d'eau distillée et une goutte de lugol sont ajoutés à 1 ml d'extrait de glycogène obtenu et la densité optique de la coloration brun acajou est lue à 470 nm. La concentration de glycogène est déduite à partir d'une gamme étalon établie avec du glycogène pur comme standard. Les résultats sont exprimés en mg/g de tissu.

I.9. Evaluation des différents paramètres du statut redox dans le foie et le pancréas

I.9.1. Evaluation de l'activité des enzymes antioxydants

La mesure des activités enzymatiques de catalase (CAT), glutathion -S- transférase (GST) et de superoxyde dismutase (SOD), impliquées dans la réponse au stress oxydant induit par la mixture étudiée, a été réalisée sur les mêmes échantillons utilisés pour le dosage des protéines totales solubles. L'ensemble des mesures a été effectué par des dosages spectrophotométriques.

I.9.1.1. Préparation de la fraction cytosolique

La fraction cytosolique est préparée selon la méthode d'Iqbal *et al* (2003) comme suit : à l'aide d'un mortier et un pilon placé dans du la glace, 1g de foie (0.3g de pancréas) a été homogénéisé avec 3 volume du tampon phosphate KH_2PO_4 (0.1M, pH 7.4) contenant du KCl (1.17%). L'homogénat est centrifugé à 2000 rpm pendant 15 min à 4°C pour séparer les débris nucléaires. Le surnageant obtenu est centrifugé à 9600 rpm durant 30 minutes à 4°C et le surnageant final représente la source utilisée pour l'évaluation de l'activité des enzymes antioxydants.

I.9.1.2. Dosage des protéines totales

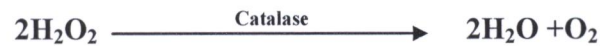
La teneur en protéines a été quantifiée par la méthode de Bradford (1976). Pour cela, 100 µl du concentré bleu de Coomassie a été dilué dans 100 µl de l'eau distillée, puis 4 µl de ce colorant dilué a été ajouté à 10 µl de l'échantillon dilué à 1/10^{ème}. Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 30 min et une mesure d'absorbance a été prise à 590 nm par un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage comprise entre 1 et 0.062 mg/ml a été construite en utilisant l'albumine de sérum bovin comme standard (BSA).

I.9.1.3. Evaluation de l'activité enzymatique de catalase (CAT)

La Catalase : enzyme antioxydant responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène produit dans les conditions physiologiques est un tétramère dont chaque unité porte une molécule d'hème et une molécule de NADPH. La fixation du NADPH sur la catalase augmente son efficacité et le protège contre l'inactivation. Elle est principalement située dans les peroxysomes de tous les

types cellulaires de mammifères où H_2O_2 est généré par les différentes oxydases (Corinsein *et al.*, 2008).

L'activité enzymatique du CAT a été estimée dans le foie et le pancréas par la méthode de Clairborne (1985) (avec modification) dont le principe est basé sur la disparition de H_2O_2 en présence de la source enzymatique à 25 C° selon la réaction suivante :



Procédure: Dans une cuvette en quartz, 50 μl de la fraction cytosolique est additionnée à 3 ml d'un mélange fraîchement préparé constitué de 1 ml du tampon phosphate (KH_2PO_4 : 0.1 M, pH 7.2) et 0.975 ml d' H_2O_2 (0.019 M). La décomposition de H_2O_2 en présence de la source enzymatique est suivie à $\lambda=240\text{ nm}$ chaque minute pendant 2 minutes par une diminution de l'absorbance et l'activité enzymatique est calculée en terme d'unité internationale par gramme de protéine (UI / mg de protéine) selon la formule :

$$\text{UI/mg de protéine} = (2,3033/T. \log A_1/A_2) / \text{mg protéines.}$$

Sachant que :

- A_1 : Absorbance à la première minute.
- A_2 : Absorbance à la deuxième minute.
- T : Intervalle de temps en minute.

I.9.1.4. Estimation de l'activité de la Superoxyde dismutase cytosolique (SOD)

La superoxyde dismutase (SOD) est l'enzyme antioxydante la plus importante dans la défense contre le stress oxydatif, c'est une métalloenzyme qui dismute l'anion superoxyde en oxygène moléculaire et peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivant :



Cette réaction considérée la plus rapide à ce jour, constitue le facteur déclenchant les mécanismes de la défense naturelle (Vouldoukis, 2004).

L'évaluation de l'activité de la SOD est réalisée sur la fraction cytosolique par la méthode de Beauchamp et Fridovich (1971).

Principe : La SOD a une capacité d'inhiber la réaction entre le nitrobleu-tétrazolium (NBT) et l'anion superoxyde produit suite à la photo réaction de l'oxygène et de la riboflavine en présence

d'un donneur d'électron comme la méthionine. La réduction du NBT par l'anion superoxyde en formazan peut être suivie par spectrophotométrie à 560 nm.

Procédure : Pour le dosage de la SOD, un mélange réactionnel est constitué de 2 ml du milieu réactionnel (Cyanide de Sodium 10^{-2} M, solution de NBT (nitrobleu de tétrazolium) à 0.176 mM, EDTA (66 mM), méthionine 10^{-2} M, Riboflavine 2 μ M, pH 7.8) et 50 μ l de la source enzymatique. Ce mélange est exposé à la lumière d'une lampe de 15 Watt pendant 10 min pour induire la photoréaction de La riboflavine et de l' O_2 . La réduction de NBT par les anions superoxydes en formazan est suivie par le spectrophotomètre à 560 nm dans des cuves en quartz. Un tube contrôle est préparé avec du tampon phosphate dans les mêmes conditions que les échantillons. Par le calcul de pourcentage d'inhibition:

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{DO}_{\text{contrôle}} - \text{DO}_{\text{échantillon}} / \text{DO}_{\text{contrôle}}) * 100$$

L'activité de la SOD est déduite en multipliant ce pourcentage d'inhibition par 6.35. Les résultats sont exprimés en UI/mg de protéines.

I.9.1.5. Estimation de l'activité de la glutathion-S- transférase (GST)

La glutathion -S-transférase est une famille des enzymes multifactorielles présentes chez tous les organismes (Renuka *et al.*, 2003). Ces enzymes sont très importants dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène, par sa capacité de conjuguer le glutathion avec les composés électrophiles et la réduction des peroxydes organiques (ROOH). Son activité est estimée par son action sur le composé 1-chloro-2,4- dinitrobenzène (CDNB) en présence de glutathion comme un co-substrat (Habig *et al.*, 1974).

Procédure : Un mélange de 1.7 ml du tampon phosphate KH_2PO_4 (0.1M, pH 6.5) et de 100 μ l de CDNB (20 mM) a été préparé et incubé à 37°C pendant 10 min. A ce mélange, 100 μ l du glutathion GSH (20mM) est additionné puis la réaction est entamée par l'addition de 100 μ l de la fraction cytosolique (du foie ou du pancréas). Le changement dans l'absorbance est enregistré à une longueur d'onde 340 nm dans un intervalle d'une minute pendant 5 minutes contre un contrôle préparé dans les même conditions avec du tampon phosphate. Les résultats sont exprimés en UI/mg de protéines selon la formule :

$$K = (\text{DO}_{\text{échantillon}} - \text{DO}_{\text{contrôle}}) \times 100 / (9,6 \times 0,05)$$

1.9.2. Détermination du taux du glutathion réduit (GSH)

Le glutathion est un tripeptide, dont les propriétés réductrices et nucléophiles jouent un rôle majeur dans la protection contre les altérations oxydantes des lipides, des protéines et des acides nucléiques. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant réside principalement dans sa fonction de co-substrat des glutathion peroxydases (Lehucher *et al.*, 2001).

Principe : La concentration du glutathion est déterminée par la méthode colorimétrique d'Ellman (Ellman, 1959) (avec modification) dont le principe de la réaction consiste en l'oxydation du GSH par le 5-5'-dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB), ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) (figure 8) lequel à pH alcalin présente une couleur jaune foncée et peut être déterminé spectrophotométriquement à une longueur d'onde 412 nm (figure 8)

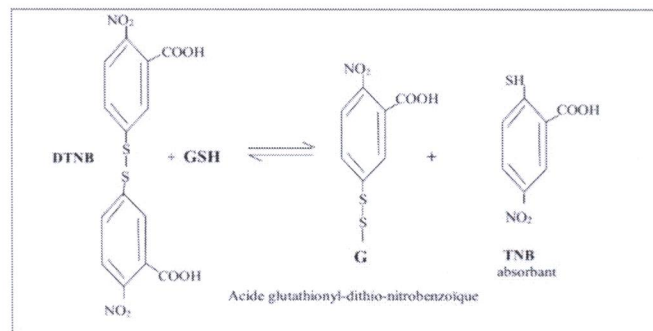


Figure 7: Principe de dosage du glutathion (Ellman, 1959).

Procédure : Pour ce dosage, 1 g du foie (0.3 g du pancréas) est homogénéisé avec 3 volumes du TCA (5 %). Ensuite, l'homogénat est centrifugé à 2000 rpm pendant 15 minutes. 50 μ l du surnageant ainsi obtenu est additionné à 10 ml du tampon phosphate KH_2PO_4 (0.1 M, pH = 8). A 3 ml de ce mélange est ajouté 20 μ l du DTNB. Enfin, la densité optique est mesurée à une longueur d'onde 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA (5%). Les concentrations sont exprimées en nmol/ mg de protéines. Elles sont déduites à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec le glutathion.

1.9.3. Estimation de la peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique dans le foie et le pancréas a été évaluée par la quantification de malondialdéhyde (MDA) qui est un produit métabolique résulté de l'attaque des lipides membranaire (acides gras polyinsaturés) par les radicaux libres.

Principe : La détermination de la concentration du MDA au niveau de ces organes a été réalisée par une méthode spectrophotométrique : la méthode d'Ohkawa (Ohkawa *et al.*, 1979) qui utilise l'acide

thiobarbiturique (TBA). En effet, une molécule de MDA en milieu acide (pH 2 à 3) et à chaud (100°C) est condensée avec deux molécules de TBA pour former un complexe coloré en rose (figure 7) susceptible d'un dosage spectrophotométrique à une longueur d'onde $\lambda = 532 \text{ nm}$.

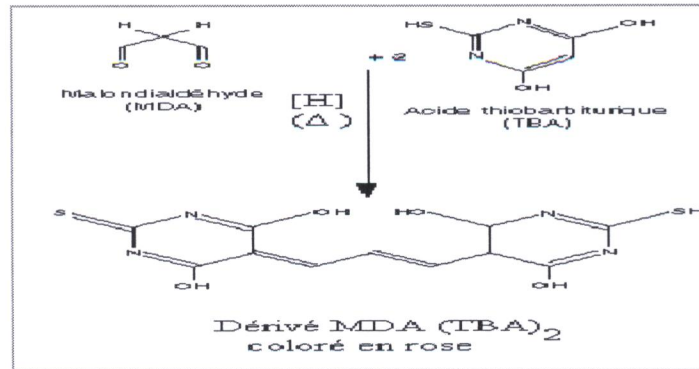


Figure 8: Principe du dosage du MDA (Ohkawa *et al.*, 1979).

Procédure : Pour ce dosage, un mélange réactionnel a été préparé constitué de : 0.5 ml de la fraction cytosolique du foie (0.3 ml dans le cas du pancréas), 0.5 ml du TCA 20%, 1.02 ml du HCl et 1 ml du TBA 0.67%. Ce mélange a été chauffé à 100°C pendant 45 mn puis refroidi sous un cours d'eau de robinet. 4 ml de n- butanol sont ajoutées et après une centrifugation de 15 minutes à 3000 rpm, la densité optique est déterminée sur le surnageant à 530 nm et la quantité du MDA est déduite à partir de l'équation suivante :

$$[\text{MDA}] = (\text{DO} \cdot 10 / 1.56) / \text{mg de protéine.}$$

I.10. Evaluation statistique

Les résultats numériques et graphiques ont été représentés sous forme de moyennes \pm les écart-types. 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,
- $0,05 > p > 0,01$ = la différence est significative *,
- $0,01 > p > 0,001$ = la différence est hautement significative **,
- $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative ***.

Le calcul statistique est réalisé en utilisant le logiciel EXCEL 2010.

Résultats

II. Résultats et interprétations

II.1. Effet de la mixture des POPs sur la tolérance au glucose

Les résultats d'effet de la mixture des POPs sur la tolérance au glucose sont illustrés par la figure 9.

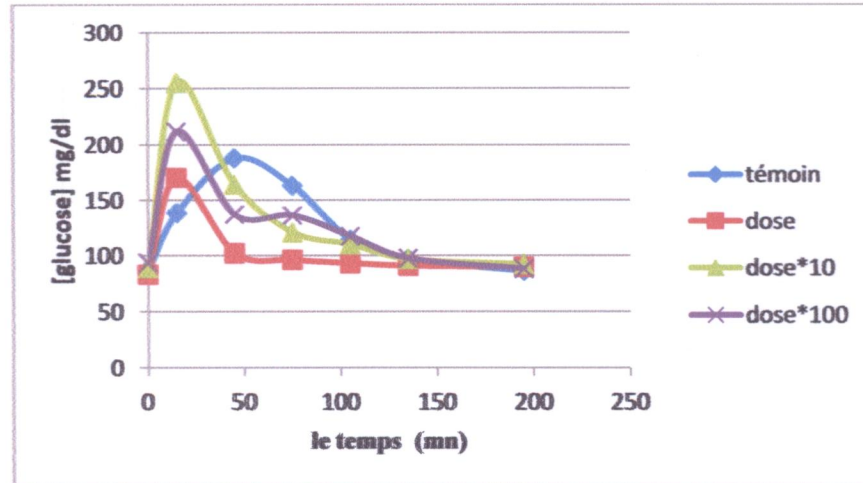


Figure 9 : Evaluation de la tolérance au glucose chez les rats traités par les différentes doses de la mixture des POPs.

Nous avons constaté que chez le groupe témoin, le taux de glucose sanguin atteint son maximum ($187,8 \pm 20,86$ mg/dl) (le pic de la glycémie) après 45 mn de l'administration de la solution du glucose (4g/kg). A partir de ce temps, la glycémie commence à réduire et revient à sa valeur initiale après 195 mn. Comparés aux groupe témoin, le pic de la glycémie est déplacé vers la gauche chez les rats recevant les différentes doses (dose réelle, dose*10, dose*100) de la mixture dont les valeurs maximales sont atteintes après 15mn d'administration ($170,25 \pm 29,29$; $255,25 \pm 70,82$; $211,75 \pm 75,43$ respectivement). Il est à noter que le pic de la glycémie chez les rats recevant la dose réelle au-dessous de celui du groupe témoin alors que, le pic de la dose*100 et la dose *10 est au-dessus de ce dernier significativement.

II.2. Effets de la mixture des POPs sur les paramètres biochimiques

II.2.1. Effet de la mixture des POPs sur le taux de lipides dans le sang

II.2.1.1. Effet de la mixture des POPs sur le taux sanguin des triglycérides

La figure 10 illustre la variation du taux des triglycérides dans le sang chez les rats traités par différentes doses de la mixture des POPs.

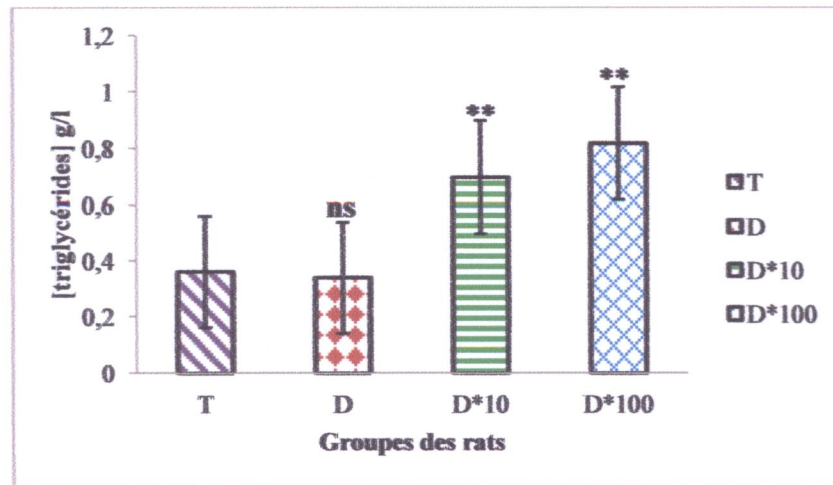


Figure 10: Variation du taux sanguin des triglycérides chez les rats traités par différentes doses de la mixture des POPs.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

La teneur sanguine en triglycérides est évaluée après une administration chronique des POPs. Nous constatons une différence non significative ($p > 0,05$) chez les rats recevant la dose réelle ($0,34 \pm 0,13$ g/l), comparativement aux rats témoins ($0,36 \pm 0,10$ g/l). Par ailleurs, chez les rats recevant la dose*10 ($0,69 \pm 0,17$ g/l) et la dose*100 ($0,82 \pm 0,22$ g/l) les triglycérides sont augmentés d'une manière hautement significative ($0,01 > p > 0,001$) par rapport aux témoins.

II.2.1.1. Effet de la mixture des POPs sur le taux sanguin du cholestérol

Les résultats de la variation de la concentration sanguine du cholestérol chez les rats traités par différentes doses de la mixture de POPs sont illustrés par la figure 11.

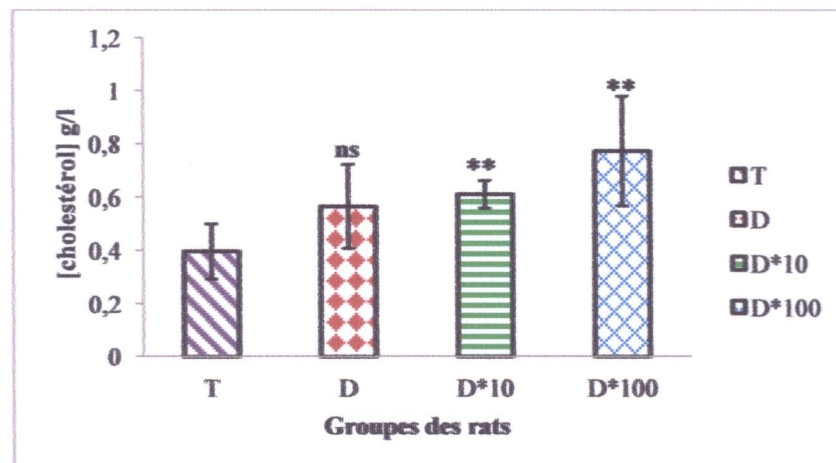


Figure 11 : Variation de la concentration sanguine du cholestérol chez les rats traités par différentes doses de la mixture des POPs.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Le traitement des rats par la mixture des POPs pendant 3 mois conduit à une augmentation non significative ($p > 0,05$) du taux du cholestérol sanguin chez les rats recevant la dose réelle ($0,57 \pm 0,16$ g/l) par rapport aux groupes témoins ($0,39 \pm 0,10$ g/l). Chez les rats traités par la dose*10 ($0,61 \pm 0,05$ g/l) et la dose*100 ($0,77 \pm 0,21$ g/l) : une augmentation hautement significative ($0,01 > p > 0,001$) du taux du cholestérol sanguin a été enregistrée par rapport aux témoins.

II.2.2. Effet des POPs sur les marqueurs enzymatiques (TGO, TGP et PAL)

II.2.2.1. Effet de la mixture sur le taux sanguin du TGO

Les résultats de la variation du taux sanguin du TGO sont illustrés par la figure 12.

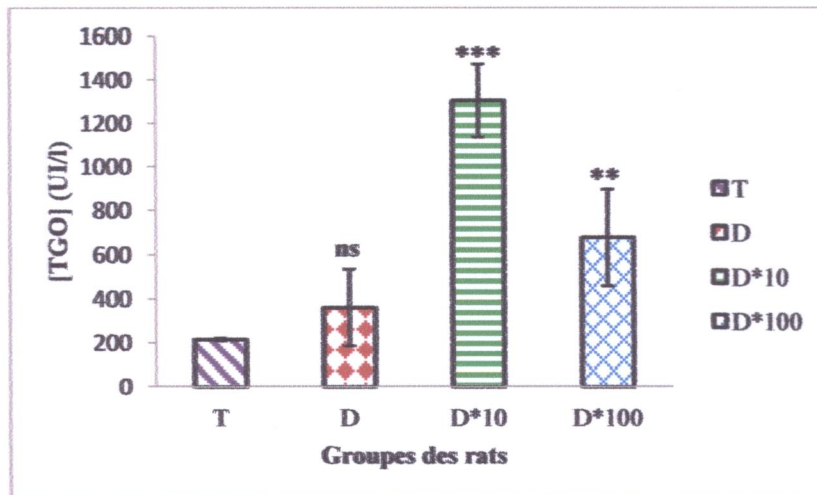


Figure 12: Variation de la concentration sanguine du TGO chez les groupes des rats traités par différentes doses de la mixture des POPs.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Le traitement des rats par la dose*10 de la mixture conduit à une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) du taux du TGO dans le sang qui atteint ($1306,25 \pm 167,68$ UI/l) alors que chez les rats traités par une dose plus élevée (D*100), l'augmentation du TGO sanguin est hautement significative ($0,01 > p > 0,001$) atteint ($680 \pm 219,31$ UI/l). Par ailleurs, la concentration du TGO dans le sang se trouve toutefois légèrement augmentée ($p > 0,05$) chez les rats recevant la dose réelle de cette mixture ($362,5 \pm 173,68$) par rapport au témoin ($218,33 \pm 5,89$ UI/l).

II.2.2.2. Effet de la mixture sur le taux sanguin du TGP

La figure 13 illustre l'effet des POPs sur la variation du taux sanguin du TGP chez les rats traités par la mixture .

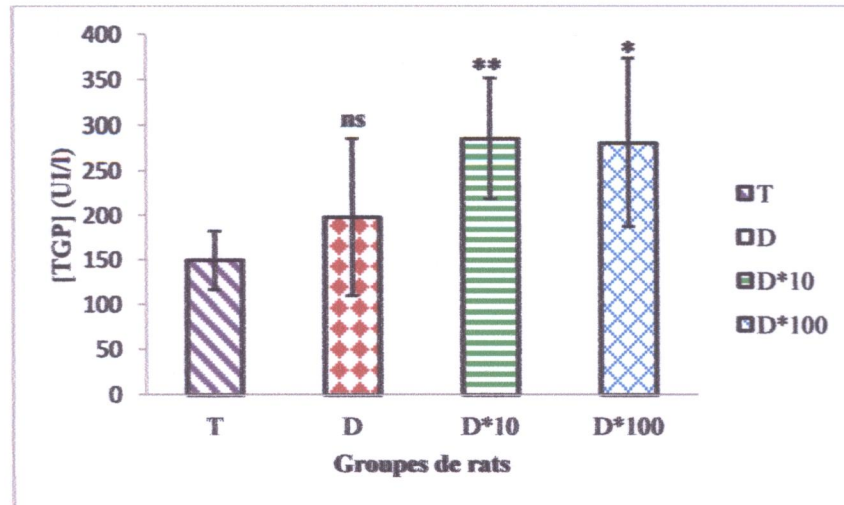


Figure 13: Variation de la concentration sanguine du TGP chez les groupes des rats traités par différentes doses de la mixture des POPs après 3mois.

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Nous avons remarqué une augmentation significative de TGP ($0,05 > p > 0,01$) chez les rats recevant la dose*100 ($281 \pm 92,97$ UI/l) et hautement significative ($0,01 > p > 0,001$) chez les rats recevant la dose*10 ($285,8 \pm 66,44$ UI/l) par rapport au groupe témoin ($150 \pm 32,69$ UI/l). Par contre, aucune variation significative du TGP n'est constatée chez les rats recevant la dose réelle de la mixture ($198,332 \pm 87,87$ UI/l) comparativement au témoin.

II.2.2.3. Effet de la mixture sur le taux sanguin du PAL

Les résultats de la variation du taux sanguin de la phosphatase alcaline (PAL) chez les rats traités par différentes doses de la mixture des POPs sont illustrés par la figure 14.

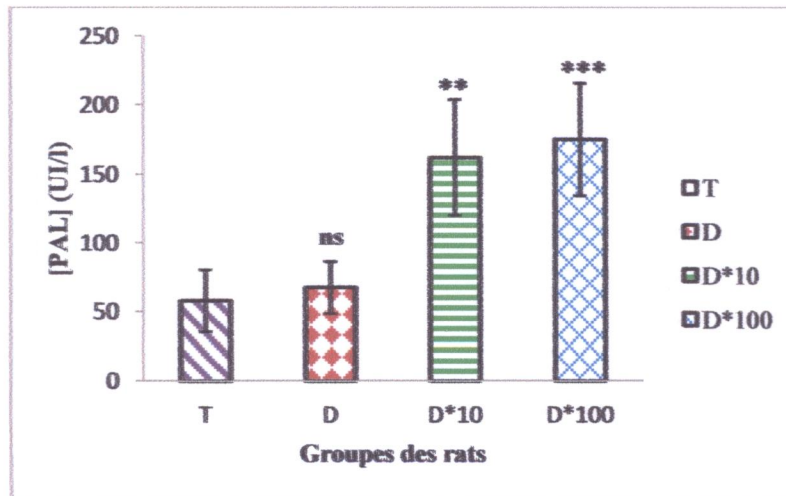


Figure 14 : Variation de la concentration sanguine de la phosphatase alcaline (PAL) chez les groupes des rats traités par différentes doses de la mixture des POPs après 3 mois.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Comparés aux rats témoins ($58 \pm 22,54$ UI/l), les rats traités par la dose réelle ($67,75 \pm 18,77$ UI/l) montrent une augmentation statistiquement non significative ($p > 0,05$) des taux du PAL sanguin. Une augmentation hautement significative ($0,01 > p > 0,001$) du taux du PAL dans le sang est signalé chez les rats recevant la dose*10 ($162,25 \pm 41,81$ UI/l) alors que l'augmentation la plus accentuée ($p < 0,001$) est enregistrée chez les rats ayant reçu la dose*100 ($175,25 \pm 40,71$ UI/l).

II.3. Effet de la mixture sur la teneur hépatique en glycogène

Les résultats de l'effet de la mixture des POPs sur le stockage du glycogène hépatique sont illustrés par la figure 15.

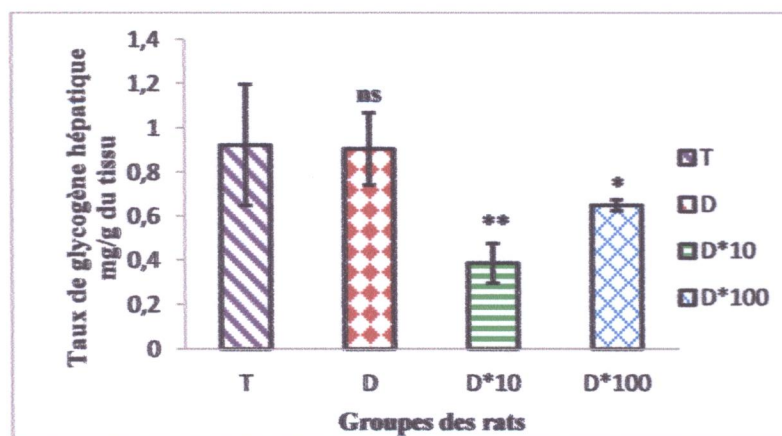


Figure 15: Variation de la quantité du glycogène hépatique stocké en fonction de la dose.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Le taux de glycogène hépatique se trouve diminué de façon non significative ($p > 0,05$) chez les groupes d'animaux recevant la dose réelle de la mixture ($0,84 \pm 0,08$ mg/g du tissu). Une diminution significative a en effet, été enregistrée par rapport aux témoins ($1,04 \pm 0,24$ mg/ g du tissu) chez le groupe d'animaux recevant la dose*100 ($0,74 \pm 0,14$ mg/ g du tissu) alors que la diminution est hautement significative ($0,01 > p > 0,001$) chez le groupe prenant la dose*10 ($0,40 \pm 0,14$ mg/ g du tissu).

II.4. Effet de la mixture des POPs sur le statut redox dans le foie et le pancréas

II.4.1. Effet des POPs sur le statut redox dans le foie

II.4.1.1. Effet de la mixture sur l'activité enzymatique de la CAT

La figure 16 illustre la variation de l'activité enzymatique de la catalase chez les rats traités par différentes doses de la mixture des POPs.

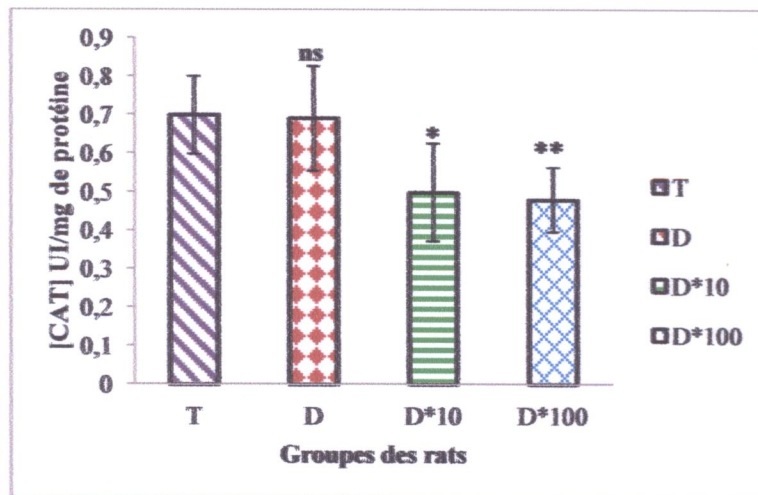


Figure 16: Variations de l'activité enzymatique de la CAT cytosolique dans le foie après administration de la mixture des POPs à différente dose pendant 3 mois.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

L'activité enzymatique du catalase dans le foie présente une diminution non significative ($p > 0,05$) chez le groupe de la dose réelle ($0,69 \pm 0,14$ UI/mg) et une diminution significative ($0,05 > p > 0,01$) chez le groupe D*10 ($0,50 \pm 0,13$ UI/mg) par rapport au groupe témoin ($0,70 \pm 0,10$ UI/mg). Cette diminution est hautement significative ($0,01 > p > 0,001$) chez le groupe D*100 ($0,48 \pm 0,08$ UI/mg) par rapport au témoin.

II.4.1.2. Effet de la mixture sur l'activité enzymatique de la SOD

La figure 17 illustre la variation de l'activité enzymatique de la SOD chez les rats traités par différentes doses de la mixture de POPs.

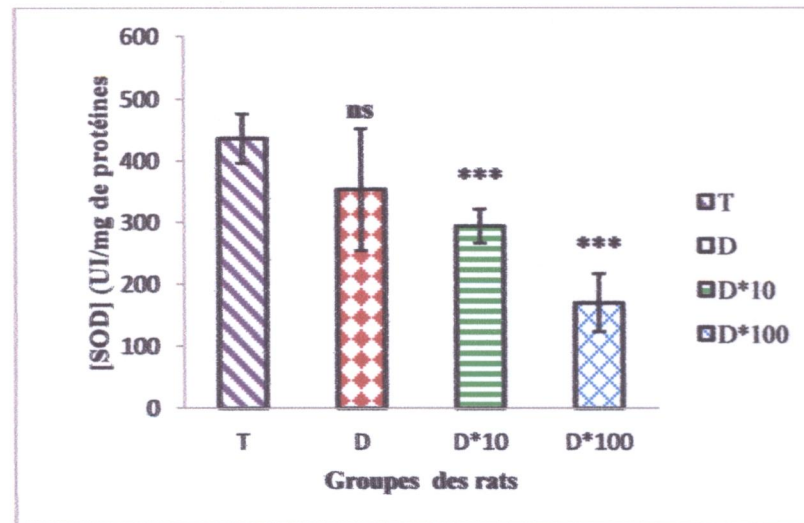


Figure 17 : Variations de l'activité enzymatique de la SOD cytosolique dans le foie après administration de la mixture des POPs à différente dose pendant 3 mois.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

L'activité enzymatique de la SOD hépatique présente une diminution non significative ($p > 0,05$) chez les rats recevant la dose réelle ($353,83 \pm 98,93$ UI/mg) par rapport aux témoins ($437,17 \pm 40,09$ UI/mg) mais chez les rats traités par la dose*10 ($294,79 \pm 27,59$ UI/mg) et la dose*100 ($170,89 \pm 46,69$ UI/mg) l'activité est diminuée d'une façon très hautement significative ($p < 0,001$).

II.4.1.3. Effet de la mixture sur l'activité enzymatique de la GST

La figure 18 illustre l'effet des POPs sur l'activité enzymatique de la GST cytosolique chez les rats traités par la mixture des POPs.

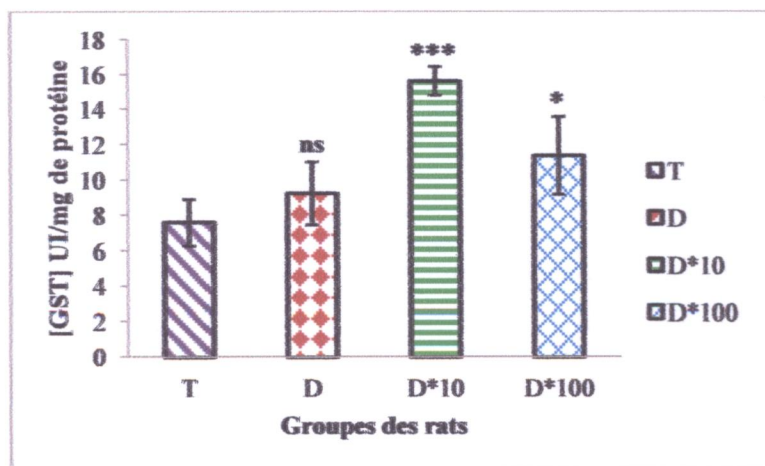


Figure 18: Variations de l'activité enzymatique du GST cytosolique hépatique après l'administration de la mixture de POPs à différentes doses pendant 3 mois.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

L'évaluation des résultats de l'activité antioxydant de la glutathion -S- transférase dans le foie montre une différence non significative ($p > 0,05$) chez le groupe traité par la dose réelle ($9,25 \pm 1,78$ UI/mg) par rapport au groupe témoin ($7,60 \pm 1,31$ UI/mg). Cependant cette différence est très hautement significative dans le sens d'augmentation ($p < 0,001$) dans le groupe recevant la dose*10 ($15,63 \pm 0,82$ UI/mg) et significative ($0,05 > p > 0,01$) dans le groupe prenant la dose*100 ($11,38 \pm 2,19$ UI/mg) par rapport au témoin.

II.4.1.4. Effet de la mixture sur le taux du GSH

La figure 19 illustre l'effet de la mixture sur la variation du taux du GSH hépatique.

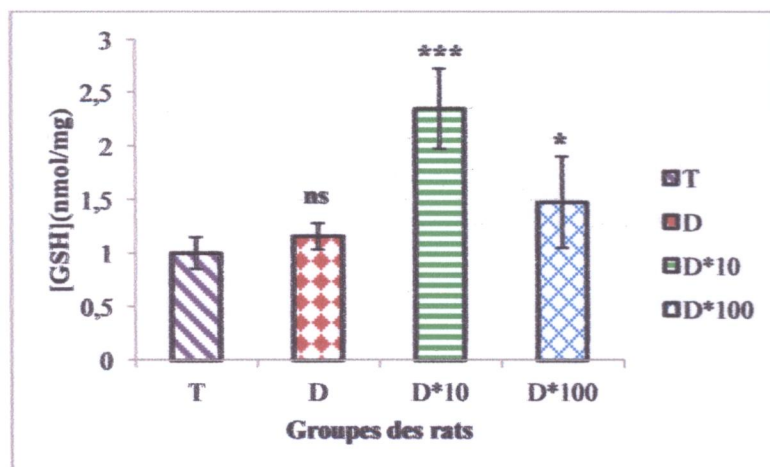


Figure 19 : Variations de taux de GSH cytosolique hépatique après administration de la mixture des POPs à différentes doses pendant 3 mois.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Le traitement des rats par les POPs pendant 3 mois conduit à une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) du taux de GSH dans le foie chez les rats recevant la dose*10 ($2,35 \pm 0,38$ nmol/mg) et significative ($0,05 > p > 0,01$) chez les rats prenant la dose *100 ($1,48 \pm 0,43$ nmol/mg) par rapport au groupe témoin ($1,01 \pm 0,15$ nmol/mg). Au contraire, chez les rats recevant la dose réelle ($1,16 \pm 0,12$ nmol/mg) l'augmentation n'est pas significative ($p > 0,05$).

II.4.1.5. Effet de la mixture sur le taux de MDA

La figure 20 illustre la variation du taux du MDA cytosolique chez les rats traités par la mixture des POPs à différentes doses.

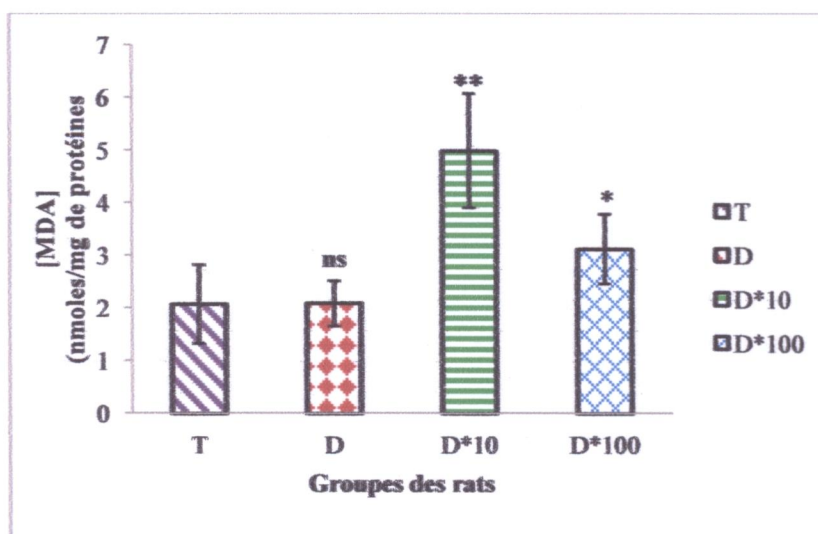


Figure 20 : Variations du taux du MDA cytosolique hépatique après administration de la mixture des POPs à différentes doses pendant 3 mois.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Nous avons constaté une élévation hautement significative ($0,01 > p > 0,001$) du MDA hépatique chez les rats traité par la dose*10 ($4,99 \pm 1,08$ nmol/mg) et significative ($0,05 > p > 0,01$) chez les rats recevant la dose*100 ($3,13 \pm 0,66$ nmol/mg) par rapport au groupe témoin ($2,08 \pm 0,75$ nmol/mg). Par ailleurs, aucune variation significative ($p > 0,05$) du MDA n'est constatée chez les rats recevant la dose réelle ($2,09 \pm 0,43$ nmol/mg).

II.4.2. Effets de la mixture sur le statut redox dans le pancréas

II.4.2.1. Effet de la mixture sur l'activité enzymatique de la CAT

La figure 21 illustre la variation de l'activité enzymatique de catalase chez les rats traités par différentes doses de la mixture des POPs.

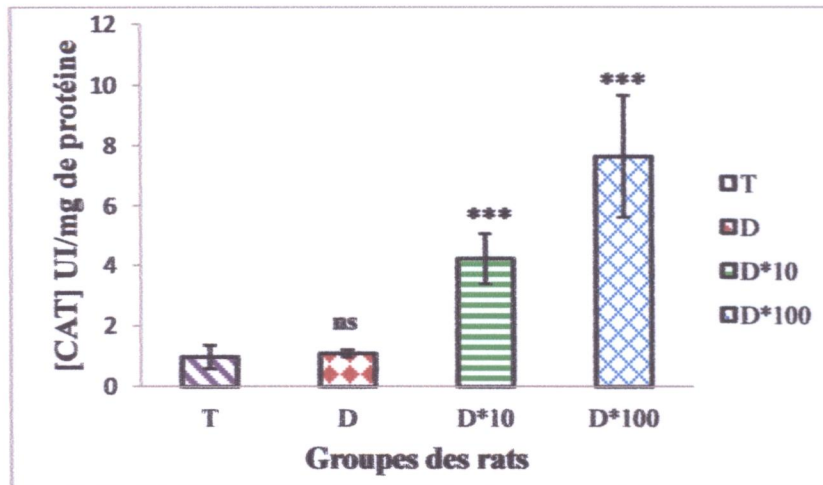


Figure 21 : Variations de l'activité enzymatique de la CAT cytosolique pancréatique après l'administration de la mixture des POPs à différentes doses pendant 3 mois.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Dans le pancréas, contrairement au foie, l'activité enzymatique du catalase présente une augmentation non significative ($p > 0,05$) chez le groupe de la dose réelle ($1,11 \pm 0,12$ UI/mg) par rapport au témoin ($0,99 \pm 0,39$ UI/mg), alors que cette augmentation est très hautement significative ($p < 0,001$) dans le groupe de la dose*10 ($4,23 \pm 0,83$ UI/mg) et la dose*100 ($7,64 \pm 2,03$ UI/mg) par rapport au témoin.

II.4.2.2. Effet de la mixture sur l'activité enzymatique de la SOD

La figure 22 illustre l'effet de la mixture des POPs sur la variation de l'activité enzymatique de la SOD pancréatique chez les rats traités par la mixture.

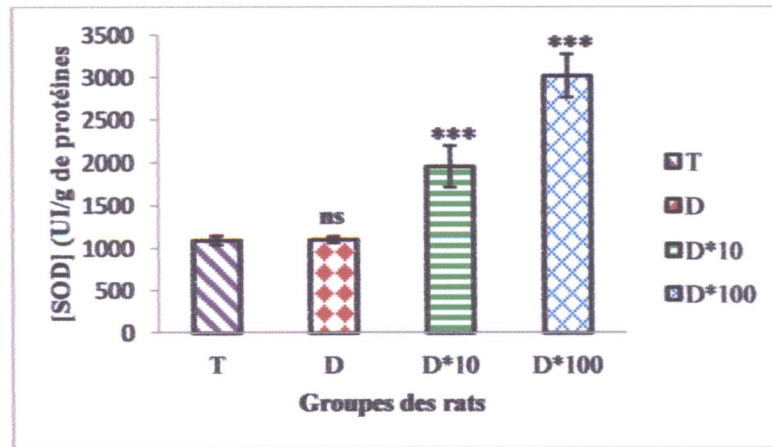


Figure 22 : Variations de l'activité enzymatique de la SOD cytosolique pancréatique après l'administration de la mixture des POPs à différentes doses pendant 3 mois.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Contrairement au foie, l'activité enzymatique de la SOD dans le pancréas est augmentée d'une manière non significative ($p > 0,05$) chez les rats prenant la dose réelle ($1106,49 \pm 33,46$ UI/mg) mais chez les rats traités par la dose*10 ($1962,814 \pm 243,29$ UI/mg) et la dose*100 ($3020,58 \pm 255,22$ UI/mg) l'augmentation est très hautement significative ($p < 0,001$) en comparant au témoin ($1097,84 \pm 49,92$ UI/mg).

II.4.2.3. Effet de la mixture sur l'activité enzymatique de la GST

La figure 23 montre l'effet des POPs sur la variation de GST cytosolique pancréatique chez les rats traités pendant 3 mois par la mixture étudiée.

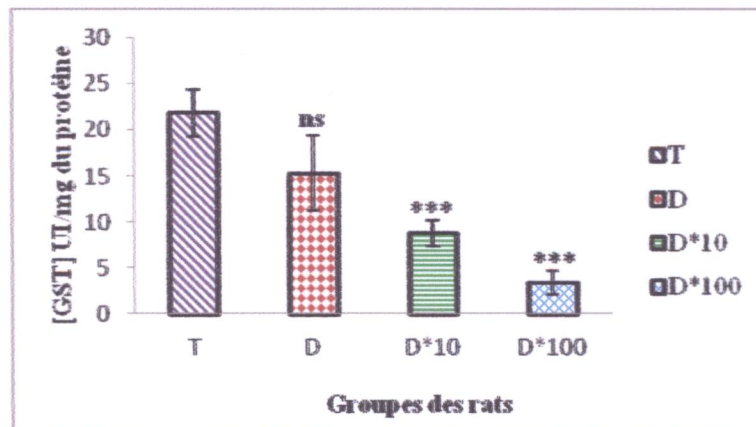


Figure 23: Variations de l'activité enzymatique du GST cytosolique pancréatique après administration de la mixture de POPs à différente dose pendant 3 mois.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Les résultats obtenus indiquent une diminution non significative ($p > 0,05$) de l'activité de la glutathion -S- transférase dans le groupe recevant la dose réelle ($15,33 \pm 4,09$ UI/mg) par rapport au témoin ($21,78 \pm 2,56$ UI/mg), cette diminution est très hautement significative ($p < 0,001$) dans le groupe prenant la D*10 ($8,81 \pm 1,42$ UI/mg) et dans le groupe traité par la D*100 ($3,43 \pm 1,29$ UI/mg) comparé au témoin.

II.2.2.4. Effet de la mixture sur le taux du GSH

La figure 24 illustre la variation de GSH cytosolique chez les rats traités par les la mixture.

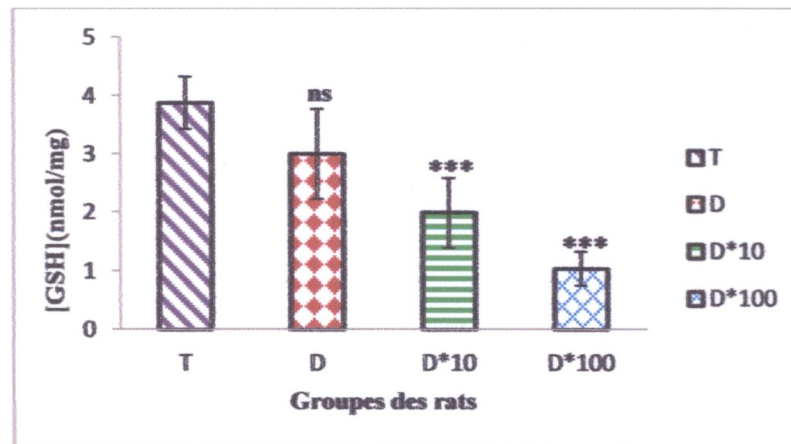


Figure 24: Variations de taux de GSH cytosolique pancréatique après administration de la mixture des POPs à différentes doses pendant 3 mois.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Au niveau du pancréas, nous avons remarqué une diminution significative du GSH ($0,05 > p > 0,01$) chez les rats recevant la dose réelle ($3,01 \pm 0,77$ nmol/mg) alors que, cette diminution chez les rats recevant la dose*10 ($1,99 \pm 0,60$ nmol/mg) et les rats recevant la dose *100 ($1,040 \pm 0,286$ nmol/mg) est très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au groupe témoin ($3,88 \pm 0,45$ nmol/mg).

II.4.2.5. Effet de la mixture sur le taux du MDA

Les résultats de l'effet des POPs sur la variation du MDA cytosolique sont illustrés par la figure 25.

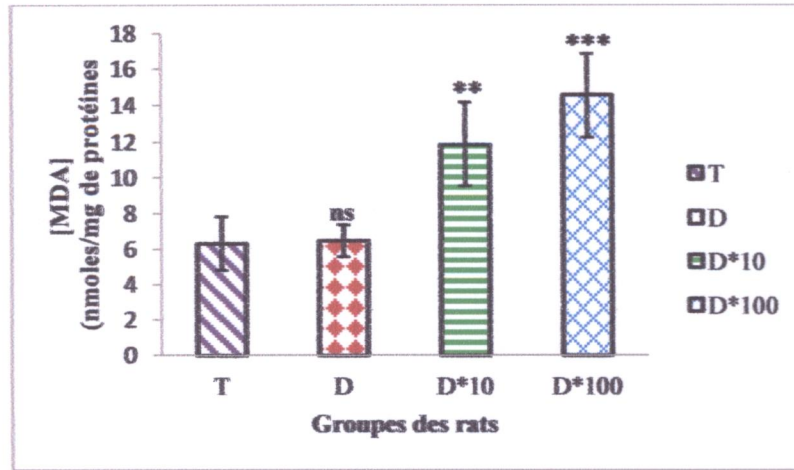


Figure 25 : Variations de taux de MDA cytosolique pancréatique après administration de la mixture des POPs à différentes doses pendant 3 mois.

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): $0,001 < p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$; (*) : $0,01 < p < 0,05$; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Dans le cas du pancréas, l'augmentation de MDA est très hautement significative ($p < 0,001$) et signalée chez les rats recevant la dose*100 ($14,59 \pm 2,28$ nmol/mg) alors que chez les rats traités par la dose*10 ($11,87 \pm 2,32$ nmol/mg), l'augmentation est hautement significative ($0,01 > p > 0,001$) par rapport au groupe témoin ($6,34 \pm 1,52$ nmol/mg). Par ailleurs, aucune variation significative ($p > 0,05$) du MDA n'est constatée chez le groupe recevant la dose réelle ($6,50 \pm 0,90$ nmol/mg).

Discussion

III. Discussion

Dans la présente étude, des dosages concernant les paramètres biochimiques (TGO, TGP, PAL, les triglycérides et le cholestérol), le stress oxydatif (MDA) et le statut antioxydant enzymatique (catalase, SOD) et non enzymatique (GSH) ont été réalisés, suite à une exposition chronique des rats à des faibles doses de la mixture (END + CPF + B(α)P + NAF).

III.1. L'effet de la mixture sur le foie

III.1.1. L'altération du statut redox cytosolique du foie

III.1.1.1. L'altération des paramètres antioxydants

Les enzymes antioxydants et les molécules antioxydantes limitent les effets toxiques des ROS sur les biomolécules cellulaires ou tissulaires grâce à leur effet piégeant. La production des ROS est estimée indirectement par l'évaluation des enzymes antioxydants : la SOD, la CAT, GST et les molécules antioxydantes GSH (Orabi et al., 2013).

La SOD dismute les anions $O_2^{\cdot-}$ en H_2O_2 et O_2 . Ce peroxyde d'hydrogène H_2O_2 ainsi formé est décomposé en O_2 et H_2O par la CAT.

Dans notre étude, l'administration chronique de la mixture des POPs montre une baisse significative de l'activité enzymatique de la SOD et de la CAT hépatique chez les groupes traités par la dose D*10 et D *100 de cette mixture par rapport au groupe témoin. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Vijayavel et Anbuselvam (2007) après une exposition des rats au naphthalène. De plus, l'administration de B(α)P entraîne une diminution significative de l'activité enzymatique de ces deux enzymes antioxydants (Nithya1 et al., 2012).

Chebab et ses collaborateurs (2009) ont constaté une synergie entre les deux pesticides en question (l'endosulfan et chlorpyrifos) résultante du fait que l'endosulfan induit le cytochrome P450 responsables de l'activation métabolique du chlorpyrifos en son métabolite secondaire, chlorpyriphos-oxon, qui est plus actif et plus toxique que le chlorpyriphos, ce qui amplifie sa toxicité conduisant alors à une diminution significative des activités enzymatiques y compris celles de la CAT et la SOD.

La diminution de l'activité de la SOD chez les groupes traités peut être attribuée à la consommation de cette enzyme dans la conversion de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) étant donné que la SOD peut être inactivée par les produits de sa propre réaction (Emre et al., 2014). De plus, cette diminution peut être une conséquence de la diminution

de la synthèse protéique de la SOD grâce aux effets exercés par le B(α) P ou son métabolite BPDE sur le gène codant pour cet enzyme sachant que le B(α) P est un composé cancérigène pouvant induire des adduits au niveau de l'ADN (Emre et al., 2014). En outre, une carence dans la disponibilité en cofacteurs Cu^{++} et Zn^{++} semble diminuer l'activité enzymatique de la SOD cytosolique.

- Par ailleurs, la diminution de l'activité enzymatique de la CAT peut être due à l'excès de l'anion superoxyde suite à la réduction de l'activité de la SOD (Hassan *et al.*, 2012 ; Mishra *et al.*, 2013).
- D'après Vijayavel et Anbuselvam (2007), la réduction observée dans l'activité de la CAT peut être expliquée par une carence en NADPH au cours du stress oxydatif induit par l'exposition au naphthalène sachant que le NADPH est nécessaire pour l'activation de la CAT.

Le glutathion est une molécule ubiquitaire qui joue un rôle important dans la neutralisation des ROS ainsi que dans la détoxification des xénobiotiques catalysée par le glutathion-S-transférase (GST) (Emre et al., 2014). Le GST est un enzyme antioxydant qui joue un rôle critique dans la protection des cellules contre les électrophiles et les produits d'oxydation du stress en catalysant la conjugaison du glutathion à une variété de composés électrophiles (phase II de la détoxification) (El-Shenawy, 2010).

Au niveau du foie, nous avons signalé dans cette présente étude, une augmentation considérable du taux de GSH chez les rats recevant la dose : D*10 et D*100. Cette élévation peut être due à une réponse adaptative à l'épuisement en GSH grâce à une production des ROS assez élevée.

Lin et ses collaborateurs (2007) ont constaté que le B(α)P active les CYP1A monoxygénases ce qui conduit à leur métabolisation en B(α)P quinones. Cette activation métabolique peut réguler à la hausse l'activité enzymatique du γ -GCS (γ glutamyl cystein-Synthétase) (impliqué dans la synthèse du glutathion) en augmentant leur expression génétique ce qui conduit à l'augmentation du taux du GSH au niveau des cellules HepG2. Cette augmentation facilite la désintoxication par la réaction de conjugaison effectuée par la GST ce qui explique le taux élevé de cette enzyme.

El-Shenawy (2010) a démontré une augmentation du GST après une exposition à l'endosulfan due au fait que les hépatocytes développent une réponse adaptative au stress oxydatif induit par ce pesticide.

III.1.1.2. Elévation du taux du MDA cytosolique

Les résultats obtenus montrent que l'administration de la mixture provoque une peroxydation lipidique accrue expliquée par le taux élevé du MDA cytosolique trouvé chez les rats traités par la

dose D*10 et D *100 de cette mixture. Ce taux élevé du MDA revient à la production excessive des ROS.

Chebab et ses collaborateurs (2009) ont constaté également une augmentation accrue du taux du MDA suite à une exposition aigue des rats à un mélange des deux pesticides en question dans cette étude (chlorpyriphos et endosulfan) à la dose de 4 mg/kg.

III.1.2. Dysfonctionnement hépatique

III.1.2.1. L'augmentation du taux sanguin du TGO, TGP et PAL

Dans cette étude, le dysfonctionnement hépatique est confirmé chez les groupes traités par la dose D*10 et D *100 de par rapport au témoin par l'augmentation du taux de TGO, TGP et PAL dans le sang suite à l'exposition chronique des rats à cette mixture. Cette augmentation peut être attribuée à la fuite de ces enzymes du cytosol vers le sang suite à une élévation de la perméabilité membranaire (Orabi *et al.*, 2013).

L'augmentation de cette perméabilité peut être due à des dommages au niveau des membranes hépatocytaires grâce à la peroxydation lipidique accrue résultant du stress oxydatif induit par les composants de la mixture étudiée, cela est confirmé par les résultats de la présente étude qui a montré une augmentation significative du taux du MDA cytosolique chez les groupes traités.

L'élévation du niveau de la phosphatase alcaline suggère une augmentation de la mobilisation lysosomale et une nécrose cellulaire en raison de la toxicité du foie induite par cette mixture (Orabi *et al.*, 2013).

Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres études qui ont mis en évidence une augmentation de ces paramètres hépatiques dans le sang associés à une peroxydation lipidique des membranes hépatocytaires lors d'une exposition des rats au naphthalène, endosulfan et au benzo(α)pyrène (Gulden *et al.*, 2005 ; Saravanan *et al.*, 2010 ; Emre *et al.*, 2014) respectivement.

D'après Hussain et ses collaborateurs (2004), l'aspartate aminotransférase est situé principalement dans la mitochondrie et donc son activité accrue dans le sang peut indiquer des troubles dans les fonctions de membranes mitochondriales et leur perméabilité accrue.

Heikal et ses collaborateurs (2012) ont constaté que l'exposition des rats pendant 28 jours au chlorpyriphos provoque une dégénérescence et une nécrose des hépatocytes ainsi qu'une infiltration de cellules inflammatoires et une prolifération des cellules de Kupffer.

III.1.2.2. L'augmentation du taux sanguin du cholestérol et de TG

Concernant les paramètres lipidiques, nous avons constaté que l'administration de la mixture étudiée engendre chez les rats recevant la dose (D*10) et la dose (D*100) une augmentation hautement significative du taux des triglycérides et du cholestérol total dans le sang alors que chez les rats recevant la dose réelle D, cette augmentation s'avère significative.

Cette élévation des deux paramètres peut être attribuée aux effets exercés par les composants de la mixture sur la perméabilité des membranes des hépatocytes, ce qui conduit à la fuite du contenu cytoplasmique. En outre, l'augmentation du taux de cholestérol total sérique peut être due à l'obstruction des canaux biliaires du foie, ce qui réduit ou arrête la sécrétion de cholestérol dans le duodénum aboutissant de ce fait à une cholestase. De ce fait, l'augmentation du taux de cholestérol sérique peut être un signe de dommages au niveau du foie résultant de l'effet de la mixture. Le même constat a été confirmé par l'étude d'Eman et ses collaborateurs (2013) après administration d'une dose de 30 mg/kg du chlorpyrifos aux rats.

Par ailleurs, un taux élevé de triglycérides dans le sang peut signifier une inhibition de l'enzyme responsable de l'hydrolyse des TG hépatique ou des lipoprotéines plasmatique; lipase (Ibrahim et El-Gamal, 2003) ou une augmentation de la lipogenèse par l'accélération de l'acétyl-CoA (AChE est inhibé par le chlorpyrifos).

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par de nombreux auteurs qui ont travaillé sur différents insecticides et HAPs tels que Acker et Nogueira (2012) qui ont observé une augmentation de triglycérides et du taux de lipoprotéines de basse densité (LDL) et une diminution du taux d'HDL dans le plasma après une administration aiguë du chlorpyrifos chez les rats. Selon ces deux auteurs, ces altérations ont été associées à l'augmentation des facteurs de risque cardiovasculaires et à l'indice athérogène.

De ce fait, il pourrait être possible que l'exposition à la fois de ces composés peut aggraver certaines maladies telles que l'athérosclérose, l'insuffisance rénale chronique et le diabète associé à l'augmentation du niveau de lipides sériques dans le corps (Rai *et al.*, 2009). Ces mêmes résultats ont été trouvés pour l'endosulfan et le benzo(α)pyrène par Saravanan et ses collaborateurs (2010) et Curfs et ses collaborateurs (2003) respectivement.

Cependant, l'administration journalière d'une dose de 1.6 mg/kg, pendant 7 semaines de dichlorvos ; un insecticide organophosphoré largement utilisé dans la lutte antiparasitaire, provoque une augmentation du taux de cholestérol total alors que celui de triglycérides est diminué. Cette diminution dans le taux de triglycérides est souvent associée aux maladies du parenchyme.

III.1.3. L'épuisement de la teneur hépatique en glycogène

L'une des fonctions primordiales du foie est la détoxification des xénobiotiques ainsi que le stockage de glucose sous forme de glycogène pour maintenir une glycémie normale. Pour évaluer la fonction de la glycogénèse hépatique, nous avons dosé le glycogène dans le tissu hépatique après administration des POPs. En effet, les résultats obtenus ont montré une constance de la teneur hépatique en glycogène chez les rats recevant la dose réelle D. Par contre cette teneur a diminué significativement chez les groupes de rats recevant les doses D*10 et D*100. Cette diminution peut être due à l'inhibition de la voie de biosynthèse du glycogène dans le foie.

Hamza et ses collaborateurs (2014) ont constaté une inhibition d'AChE sur les sites neuroeffecteurs de la médullosurrénale chez les rats traités chroniquement (60 jours) par une dose de 6.75 mg/kg du chlorpyrifos, ce qui conduit à une hypersécrétion d'adrénaline qui favorise la glycogénolyse dans les hépatocytes et les cellules du muscle squelettique. Cette même équipe a signalé que le chlorpyrifos favorise la lipolyse qui conduit à l'amélioration des niveaux d'acides gras libres ayant un effet inhibiteur sur la signalisation de l'insuline et donc sur la synthèse de glycogène.

Anandakumar et ses collaborateurs (2009) ont suggéré que la diminution observée dans les niveaux de glycogène hépatique pourrait être due aussi à l'indisponibilité dans les sucres libres qui peuvent être convertis en glycogène à l'aide du glycogène synthase, ce qui donne une idée que cette enzyme là peut être inhibée par notre mixture.

Un potentiel glycogénolytique accrue a été observée également dans le foie de poissons exposés au B(α)P indiquant une diminution du taux de glycogène après 24 à 72 heures d'exposition (Tintos *et al.*, 2008).

Kumar et ses collaborateurs (2012) ont trouvé que l'exposition chronique des rats au malathion et à l'acéphate augmente le niveau de glucose dans le sang. D'après eux, cette hyperglycémie est souvent associée à une diminution de la teneur en glycogène hépatique grâce à l'augmentation de l'activité de la glycogène-phosphorylase et la phosphoénolpyruvate carboxykinase, deux enzymes impliquées dans la glycogénolytiques et la néoglucogenèse respectivement.

De plus, l'exposition des rats à une dose de 30 mg/kg du chlorpyrifos pendant 90 jours provoque également une diminution de la teneur en glycogène et quelques modifications histopathologiques associée à une hyperglycémie transitoire (Eman *et al.*, 2013).

Ces mêmes résultats ont été constatés par Saravanan et ses collaborateurs (2010) qui trouvent une diminution significative des sucres dans le tissu hépatique due à une exposition à l'endosulfan. La raison par laquelle ils expliquent ce résultat peut être l'utilisation de ces sucres pour répondre au stress induit par cet insecticide.

L'administration de la mixture étudiée aux rats semble stimuler le système de détoxification dans le foie et pour que cet organe puisse remplir cette fonction, il nécessite de l'énergie. Cette énergie provient de l'utilisation accrue d'hydrates de carbone comme combustible pour faire face aux processus de détoxification, ce qui conduit à la mobilisation des réserves en glycogène (Tintos *et al.*, 2008).

III.2. Effets de la mixture sur le pancréas

III.2.1. Altération du statut redox cytosolique du pancréas

III.2.1.1. Altération des paramètres antioxydants

Au niveau du pancréas, nous avons signalé une augmentation considérable de l'activité enzymatique de la SOD et de la CAT après l'exposition chronique à la dose D*10 et D*100 de la mixture des POPs. Cette élévation suggère une augmentation excessive de la formation des ROS, ce qui pourrait stimuler l'activité de la SOD pour faire face aux dommages résultant de cette augmentation (Orabi *et al.*, 2013).

Kamath et Rajini (2007) ont constaté une augmentation de la SOD et la CAT pancréatique due à une réponse adaptative à la production accrue des ROS suite à l'exposition des rats à une dose de 20 et 40 mg/kg de diméthoate (DM) (pesticide organophosphoré). La stimulation de la SOD par l'anion superoxyde va entraîner la dismutation de ce dernier en peroxyde d'hydrogène qui à son tour stimule l'activité de la CAT (Chebab *et al.*, 2009).

Au sein du pancréas, l'administration de la mixture provoque une diminution du taux de GSH et du GST en fonction de la concentration de la mixture témoignant un stress oxydatif et une cytotoxicité induite par cette mixture ce qui conduit à un échec de système antioxydant primaire d'agir contre les radicaux libres. Kamath et Rajini (2007) ont trouvé une déplétion dans le taux de GSH suite à l'exposition des rats au diméthoate alors que le taux du GST se trouve augmenté.

III.2.1.2. Elévation du taux du MDA cytosolique

L'évaluation de l'effet de la mixture sur la peroxydation lipidique au niveau du pancéas montre une augmentation du taux du MDA cytosolique en fonction de la concentration de la mixture,

témoignant une production élevée des ROS qui attaquent les acides gras polyinsaturés de la membrane cytoplasmique ainsi qu'une altération du système antioxydant. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Kamath et Rajini (2007) qui ont constaté que l'administration du DM pendant 30 jours semble augmenter la peroxydation lipidique au niveau de cellules pancréatiques.

III.2.2. Evaluation de l'intolérance au glucose

Concernant le test oral de la tolérance au glucose, les résultats obtenus montrent une certaine intolérance au glucose après administration orale de glucose (4g / kg) chez les rats recevant la dose D*10 et D*100 dont le taux de glucose sanguin augmente rapidement vers le pic qui dépasse le seuil rénal (1.83 g/l) survenant à 15 mn après le gavage de la solution glucosée et revient à la normale après 3 heures. Cette hyperglycémie rapide peut être attribuée à l'absorption rapide de glucose par les entérocytes ou à l'altération de la sécrétion de l'insuline par le pancréas.

D'après Yan (2010), le stress oxydatif induit par le chlorpyrifos au niveau des cellules β -pancréatiques peut activer les voies de transduction du signal sensible au stress y compris : p38 MAPK, JNK ainsi que la protéine kinase C (PKC). Ces voies sont impliquées dans la réduction de l'expression du gène de l'insuline. Selon ce même auteur, le CPF diminue la stimulation de l'insuline par le glucose et interrompt la conversion de pro-insuline à l'insuline perturbant donc leur sécrétion, cela est dû au fait que le CPF agit sur l'activité enzymatique de PC2 (prohormone convertase 2) qui est responsable sur le clivage de pro-insuline en insuline.

Ces résultats sont en accord avec d'autres résultats de Kamath et Rajini (2007) qui ont constaté que l'administration du solution de glucose (3g/kg) cause une augmentation significative des niveaux de glucose dans le sang avec inhibition concomitante de l'activité de l'acétylcholinestérase et l'épuisement de glutathion réduit dans le pancréas chez les rats prétraités par le diméthoate.

De plus, Mohajeri et Abdollahi (2010) ont trouvé qu'une glycosurie (rénale), même si transitoire, a été noté dans l'empoisonnement par les pesticides organophosphorés et les carbamate susceptibles en raison de l'induction d'un stress oxydatif au niveau de tube rénale. Cela, nous donne l'idée que la mixture étudiée pourrait provoquer une atteinte rénale ce qui explique le déplacement du seuil rénal.

Par ailleurs, Wali et ses collaborateurs (1982) ont constaté une augmentation considérable de l'absorption du glucose par les entérocytes associée à une diminution de l'activité de la pompe Na^+/K^+ ATPase après l'administration aux rats de 5 mg / kg de l'endosulfan ce qui suggère que la toxicité de l'endosulfan induit certains changements fonctionnels dans l'intestin. L'exposition au chlorpyrifos semble également inhiber l'activité du Na^+/K^+ ATPase et du Ca^{++} ATPase (Mohajeri et Abdollahi, 2010).

Conclusion

Conclusion

A l'issue de ce travail, nous pouvons conclure que l'exposition chronique à des faibles doses de la mixture des POPs (D*10 et D*100) a un effet toxique sur les deux organes choisis (foie et pancréas).

Après 3 mois du traitement des rats avec 3 doses différentes de la mixture, les transaminases (TGO et TGP), la phosphatase alcaline ainsi que les triglycérides et le cholestérol total ont été augmentés dans le sang chez les rats traités (D*10 et D*100) par rapport aux rats témoins ce qui reflète un dysfonctionnement hépatique dû aux effets toxiques chroniques qu'elle exerce la mixture sur le foie.

De plus, l'effet néfaste de la mixture sur le métabolisme glucidique se manifeste par la diminution de la teneur hépatique en glycogène d'une part et l'intolérance au glucose d'autre part chez les rats traités.

D'après nos résultats, l'augmentation du taux du MDA cytosolique au niveau du foie et du pancréas ainsi que l'altération du système antioxydant hépatique et pancréatique indiquent que la mixture des POPs étudiée a des propriétés pro-oxydantes contribuant à leur toxicité.

Afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la toxicité de la mixture étudiée, ces résultats mériteraient d'être approfondis et des travaux complémentaires seraient nécessaires tels que :

- Dosage d'autres paramètres biochimiques plasmatiques : LDH, insulïnémie, albumine, créatinine, urée, HDL, LDL...
- Dosage de métabolites de chaque composant de la mixture dans le sang et au niveau des organes.
- Détermination des activités des enzymes impliqués dans le métabolisme des glucides et des lipides et ceux impliqués dans la régulation du métabolisme.
- Utilisation d'autres modes d'administration et d'autres modèles expérimentaux.
- Elargir la durée d'expérimentation.
- Mesure du stress oxydatif rénal afin d'étudier l'impact de la mixture sur la fonction des reins.
- Etude histochimique.
- Proposer une démarche thérapeutique : propolis, quercétine, vitamine E, C...etc.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Acker C.I., Nogueira C.W., 2012. Chlorpyrifos acute exposure induces hyperglycemia and hyperlipidemia in rats. *Chemosphere*, 89: 602-608.

Agrawal A., Sharma B., 2010. Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems. *Int J Biol Med Res.*, 1(3): 90-104.

Airaksinen R, Rantakokko P., Eriksson J.G., Blomsted P., et al., 2011. Association between Type 2 Diabetes and Exposure to Persistent Organic Pollutants. *Diabetes Care*, 34:1972-1979.

Ambali S.F., Shuaib K., Edeh R., et al., 2011. Hyperglycemia induced by subchronic co-administration of chlorpyrifos and lead in Wistar rats: Role of pancreatic lipoperoxidation and alleviating effect of vitamin C. *Biology and Medicine*, 3(1):6-14.

Anandakumar P., Kamaraj S., Jagan S., Ramakrishnan G., et al., 2009. Effect of capsaicin on glucose metabolism studied in experimental lung carcinogenesis. *Taylor & Francis*, 23(8): 763-774.

Beauchamp C., Fridovich I., 1971. Assay of superoxide dismutase. *Anal Biochem*, 44: 276- 287.

Bechmann, L. P., Hannivoort R. A., et al., 2012. The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases. *J.Hepatol.*, 56(4): 952-64.

Bonnard M., Brondeau M.T., Clavel T., Falcy M., et al., 2007. Benzo(a)pyrène. INRS fiche toxicologique FT : 144.

Bottcher J. P., Knolle P. A., et al., 2011. Mechanisms balancing tolerance and immunity in the liver. *Dig. Dis.*, 29(4): 384-90.

Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Ann Biochem.*, 72: 248–252.

Buhler M., 2009. La femme enceinte et son enfant face au principe de Précaution. *La Revue Sage-femme*, 8 :220-225.

Cadet J., Delatour T., Douki T., Gasparutto D., et al., 1999. Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 424 (1-2):9-21.

Carvalho R .N., Arukwe A., Ait-Aissa S., Bado-Nilles A., 2014. Mixtures of Chemical Pollutants at European Legislation Safety Concentrations: How Safe Are They?, *Toxicological Sciences*, 141(1): 218–233.

- Chebab S., Belli N., Leghouchi E., et Lahouel M., 2009.** Stress oxydatif induit par deux pesticides : l'endosulfan et le chlorpyrifos. *Environnement, Risques & Santé*, 8(5): 425-432.
- Claiborne A., 1985.** Catalase activity In CRC, Handbook of Methods for Oxygen Radical Research (Ed. RA Greenwald) CRC Press. *Boca Raton, FL.*, 283-284.
- Clark J.M., Brancati F.L., Diehl A.M., 2003.**The Prevalence and Etiology of Elevated Aminotransferase Levels in the United States. *Am. J. Gastroenterol.*, 98(5):960-7.
- Colado Simao A. N., Suzukawa A. A., Casado M. F., Oliveira R. D., et al., 2006.** Genistein abrogates pre-hemolytic and oxidative stress damage induced by 2, 2'-Azobis (Amidinopropane). *Life Sci.*, 78:1202-1210.
- Coumoul X., Diry M., Barouki R., 2002.** PXR-dependent induction of human CYP3A4 gene expression by organochlorine pesticides. *Biochem Pharmacol.*, 64:1513-1519.
- Curfs D.M.J., Beckerus L., Godschalk R.W.L., Gijbels M.F.J., et al., 2003.** Modulation of plasma lipid levels affects benzo(α)pyrene-induced DNA damage in tissues of two hyperlipidemic mouse models. *Environmental and molecular mutagenesis*, 42: 243-249.
- Deb N., Das S., 2013.** A Review of Chlorpyrifos Toxicity in Fish. *Curr. World Environ.* 8(1):77-84.
- Després J.P., Golay A., Sjöström L., 2005.** Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *N.Engl. J. Med.*, 353(20): 2121-2134.
- Di Marzo V., Matias I., 2005.** Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat Neurosci.*, 8(5): 585-599.
- Elaine N., Marieb., 2008.** Biologie humaine : principe d'anatomie et de physiologie. *France, paris. Pearson éducation (8 éditions)*, p : 631.
- Ellman G.L., 1959.** Tissue sulfhydryl groups. *Arch Bioch Biophys.*, 74: 214-226.
- El-Shenawy N.S., 2010.** Effects of insecticides fenitrothion, endosulfan and abamectin on antioxidant parameters of isolated rat hepatocytes. *Toxicology in Vitro*, 24:1148–1157.
- Eman E., Elsharkawy N.S., Yahia D., Neveen A., et al., 2013.** Sub-chronic exposure to chlorpyrifos induces hematological, metabolic disorders and oxidative stress in rat: Attenuation by glutathione. *Environmental toxicology and pharmacology*, 35: 218–227.

- Emre M. H., Aktay G., Polat A., Öztürk F., 2014.** Effects of Benzo(a)pyrene and Ethanol on Morphology and Antioxidant Status and Transaminases in Rat Liver. *Medicine Science*. 3(1): 1054-106.
- Fattach N., 2010.** Les polluants organiques persistants. *Thèse de doctorat de l'université de Mohammed V Souissi*, p : 154.
- Ferradini C., 1986.** Espèces activées radicalaires de l'oxygène. *Biochimie*, 68: 779-785.
- Fossati P., 1982.** Principe. *L.clin. chem.*, 28 :2077.
- Fridovich B.L., 1995.** A superoxide dismutase mimic protects sod A sod B Escherichia coli against aerobic heating and stationary-phase death. *Arch. Biochem. Biophys.*, 322: 291-294.
- Fumat N., 2004.** Les fondamentaux de la pathologie digestive. Partie I : Les organes. Chapitre 7 : Pancréas, *Elsevier Masson*, P : 1-17
- Gorinstein S., Leontowics H., Leontowics M., Namiesnik J., et al., 2008.** comparison of the main bioactive compounds and antioxidant activities in garlic and white and red onions after treatment protocols. *J Agric Food Chem.*, 56: 4418-26.
- Gulden Z., Omurtag F., Arbak S., Uslu B., et al., 2005.** Protective effect of aqueous garlic extract against naphthalene-induced oxidative stress in mice. *Pharmacy and Pharmacology*, 57: 623-630.
- Gutteridge J.M., Halliwell B., 1993.** Comments on review of Free Radicals in Biology and Medicine, second edition, by Barry Halliwell and John M. C. Gutteridge. *Free Radic Biol Med.*, 12: 93-95.
- Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby., W.B., 1974.** Glutathione-S-transferase: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.*, 249: 7130-7139.
- Hahn M.E., Merson R.R., Karchner S.I., Mommsen T.P., et al., 2005.** Chapter 7 Xenobiotic receptors in fish: Structural and functional diversity and evolutionary insights. In *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*: Elsevier.
- Hamza R.Z., Diad A., Abd El-Aziz E .A., 2014.** Hyperglycemic effect of Chlorpyrifos, Profenofos and possible ameliorative role of Propolis and ginseng. *Scientia Agriculture*, 5(1): 4-14.
- Harris H., 1989.**The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clin Chim Acta.*, 180: 177-88.

Hassan Z. K., Elobeid M.A., Virk P., Sawsan A., et al., 2012. Bisphenol A Induces Hepatotoxicity through Oxidative Stress in Rat Model. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, p: 6.

Havrankova J., Roth J., Brownstein M., 1978. Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat. *Nature*, 272: 827-829.

Heikal M.T., El-Sherbiny M., Sohair A., et al., 2012. Antioxidant effect of selenium on hepatotoxicity induced by chlorpyrifos in male rats. *Int J Pharm Pharm Sci.*, 4(4): 603-609.

Human D., 2002. Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *Sci. Aging Knowl. Environ.*, 37: 14.

Hussain L.A., 2010. Role of oxidative stress in organophosphate insecticide toxicity. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98: 145-150.

Ibrahim N.A., El-gamal A., 2003. Effect of Diazinon, an Organophosphate insecticide, on plasma lipid constituents in experimental animals. *Biochemistry and Molecular Biology*, 36(5): 499-504.

Ibrahim M.M., Fjære E., Lock E.J., Naville D., Amlund H., et al., 2011. Chronic Consumption of Farmed Salmon Containing Persistent Organic Pollutants Causes Insulin Resistance and Obesity in Mice. *Plos one.*, 6 (9): 10.

Jiang H., Gelhaus S.L., Mangal D., Harvey R.G., et al., 2007. Metabolism of benzo[a]pyrene in human bronchoalveolar H358 cells using liquid chromatography-mass spectrometry. *Chemical Research in Toxicology*, 20(9): 1331-41.

Kamath V., Rajini P.S., 2007. Altered glucose homeostasis and oxidative impairment in pancreas of rats subjected to dimethoate intoxication. *Toxicology*, 231: 137-146.

Kovalkovičová N., Pistl J., Csank T., Polláková J., et al., 2013. Proliferation and LDH Leakage in Cell Cultures of Animal and Insect Origin Exposed to Insecticide Endosulfan. *Kafkas Univ V et Fak Derg.*, 19 (3): 433-437.

Kumar N. P., Pal S., Remya M.d., Aklakur R.S., et al. 2011. Anti-oxidative and immunohematological status of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during acute toxicity test of endosulfan. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99: 45-52.

Lakroun Z., Kebieche M., Lahouel A., Zama D., et al., 2015. Oxidative stress and brain mitochondria swelling induced by endosulfan and protective role of quercetin in rat. *Environ Sci Pollut Res. Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, p: 6

- Lasram M.M., Dhouib I.B., Bouzid K., Belhadjhmida N., et al., 2014.** Association of inflammatory response and oxidative injury in the pathogenesis of liver steatosis and insulin resistance following subchronic exposure to malathion in rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, 38: 542-553.
- Latif I. K., Karim A. J. ; Zuki A. B. Z., Zamri-Saad M., et al., 2010.** Pulmonary modulation of benzo(α)pyrene-induced hemato and hepatotoxicity in broilers. *Poultry Science*, 89: 1379–1388.
- Lee S.E., Woong C.Y., ho-Mo H., Son J., et al., 2013.** Endosulfan Induced Biomarkers in Japanese Rice Fish (*Oryzias latipes*) analyzed by SELDI-TOF-MS. *Int. J. Biol. Sci.*, 9(4):343-349.
- Lehucher-Michel M. P., Lesgards J. F., Delubac O., Stocker P., et al., 2001.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Press Med.*, 30: 1076-1081.
- Lin T., Yang M.S., 2007.** benzo(α)pyrene -induced elevation of GSH level protects against oxidative stress and enhances xenobiotic detoxification in human HepG2 cells. *Toxicology*, 235:1-10.
- Magder S., 2006.** Reactives oxygen species : toxic molecules or spark of life?. *Crit. Care.*, 10: 208.
- Maitre A., Douki T., 2009.** Adeline tarantini modulation de la génotoxicité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélanges. *Ecole doctorale Ingénierie pour la Santé*, p : 175.
- Makaji E., Raha S., Wade M.G., Holloway A.C., 2011.** Effect of environmental contaminants on Beta cell function. *Int J Toxicol.*, 30 (4): 8- 410.
- Malaisse W.J., Malaisse-Lage F., Sener A., Pipeleers D.G., 1982.** Determinants of the selective toxicity of alloxan to the pancreatic B-cell. *Proc. Natl Acad Sci USA.*, 79: 927-930.
- Malarkey D. E., Johnson K., et al., 2005.** New insights into functional aspects of liver morphology. *Toxicol Pathol.*, 33(1): 27-34.
- Maronpot R. R., Yoshizawa K., et al., 2010.** Hepatic enzyme induction: histopathology. *Toxicol Pathol.*, 38(5): 776-95.
- Mcelroy A.E., Farrington J.W., Teal J.M., 1989.** Bioavailability of PAH in the aquatic environment. In *Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment* (Varanasi U, ed). CRC Press, Boca Raton, FL, p: 1-40.
- Michelson A. M., 1982.** Oxygen radicals. *Agents. Actions. Suppl.*, 11: 179-201.

- Mishra S. K., Singh P., Rath S. K., 2013.** Protective Effect of Quercetin on Chloroquine-Induced Oxidative Stress and Hepatotoxicity in Mice. *Malaria Research and Treatment*,:10 (7): 117- 121.
- Mohajeri S.K., Abdollahi M., 2011.** Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: A systematic. *Human and Experimental Toxicology*, 30(9):1119-1140.
- Moore K.L., Dalley A.F., 2001.**Anatomie Médicale. Éd. de Boeck Université.
- Naito H.K., Kaplan A., et al .1984.** Clin Chem the CV Mosby Co St Louis Toronto Panceton, 437: 1194-11206.
- Neff J.M., Cox B.A., Dixit D., Anderson J.W., 1976.** Accumulation and release of petroleum-derived aromatic hydrocarbons by four species of marine animals. *Mar. Biol.*, 38(3): 279-289.
- Nelson D.L., Cox M., 2004.** Lehninger Principles of Biochemistry. Ed. *W H Freeman and Co. Ltd, 4 th edition, Newyork*, p : 881 -901.
- Nithyal G., Veena M. S. P., Dhivya S., MuruganS., et al., 2012.** Studies on the Cytotoxic Effect of Benzopyrene in Liver of Swiss Albino Mice. *J. PharmTech Res*, 2(4): 2249-3387.
- Oberley L.W., 1988.** Free radicals and diabetes. *Free Radic Biol Med.*, 5: 1 13-124.
- Obici S., Feng Z., Karkanias G., Baskin D.G., et al. , 2002.** Decreasing hypothalamic insulin receptors causes hyperphagia and insulin resistance in rats. *Nat, Neurosci.*, 5: 566-572.
- Ohkawa H., Ohishi, N., Yagi K., 1979.** Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric reaction. *Analytical Biochemistry* 95: 351-358.
- Olorunshola K .V., Achie L.N., et Akpomemie M.L., 2011.** Ascorbic Acid Ameliorates Toxic Effects of Chlopyrifos on Testicular Functions of Albino Rats-British Journal of Pharmacology and Toxicology. *Br. J. Pharmacol. Toxicol*, 2(5): 262-269
- Orabi S.H., Elbially B.E., et Shawky S.M., 2013.** Ameliorating and Hypoglycemic Effects of Zinc against Acute Hepatotoxic Effect of Chlorpyrifos. *Global Veterinaria*, 10 (4): 439-446.
- Pansky B., 1990.**Anatomy of the pancreas: emphasis on blood supply and lymphatic drainage. *Int J Pancreatol.*, 7: 101-8.
- Pol D., 1994.** Travaux pratique de biologie, *Bordas Eds* ; Chap. 2 : 54-83.

- Rahimi R., Abdollahi M., 2007.** The mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88: 115–121.
- Rai D.K., Rai P.K., Gupta A., Watal G., Sharma B., 2009.** Cartap and carbofuran induced alterations in serum lipid profile of Wister rats. *India journal of clinical biochemistry*, 24(2):198-201.
- Raccah D., 2004.** Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*, 1 (1): 29-42.
- Reddy P.S., Katyayani R.V., Fingerman M., 1996.** Cadmium and Naphthalene-Induced Hyperglycemia in the Fiddler Crab, *Uca pugilator*: Differential Modes of Action on the Neuroendocrine System. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 56: 425-431.
- Renuka B., Rajurkar Z.H., Govind T.G., 2003.** Studies on levels of glutathione S-transferase, its isolation and purification from *Helicoverpa armigera*. *Current Science*, 85: 1355-1360.
- Reitman S., Frankel S., Amer J. A., 1957.** Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin Pathol*, 28:56–63.
- Roach P.J., Depaoli-Roach A.A., et al., 2012.** Glycogen and its metabolism: some new developments and old themes. *Biochem. J.*, 441(3): 763-87.
- Roula M., 2009.** evaluation du risque de contamination des légumes par les résidus de pesticides. *Thèse de magistère en ecotoxicologie de l'université de jijel*.
- Ruzzin J., Petersen R., Meugnier E., Madsen L., et al., 2010.** Persistent Organic Pollutant Exposure Leads to Insulin Resistance Syndrome. *Environmental Health Perspectives*, 118 (4):465-471.
- Ruzzin J., 2012.** Public health concern behind the exposure to persistent organic pollutants and the risk of metabolic diseases. *Ruzzin BMC Public Health*, p: 2-8.
- Saravanan T.S., Rajesh P., Sundaramoorthy M., 2010.** Studies on effects of chronic exposure of endosulfan to *Labeo rohita*. *Journal of Environmental Biology*, 31(5): 755-758.
- Sehirli O., Tozan A., Gulden Z., Gedik N., et al., 2007 .** Protective effect of resveratrol against naphthalene-induced oxidative stress in mice. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71: 301-308.
- Sies H., 1985.** Oxidative stress: introductory remarks. *H. Sies editor: Academic Press, London*: 1-2.

- Song M .O., Lee C.H., Yang H.O., Jonathan H., 2012.** Freedman-Endosulfan up regulates AP-1 binding and ARE-mediated transcription via ERK1/2 and p38 activation in HepG2 cells. *Toxicology February 6*, 292(1): 23-32.
- Swain S. D., Rohn T. T., Quinn M. T., 2002.** Neutrophil priming in host defense: role of antioxidants as priming agents. *Antioxid. Redox Signaling*, 4: 69-83.
- Takhshid M.A., Tavasuli A.R., Heidary Y., Keshavarz M., et al., 2012.** Protective Effect of Vitamins E and C on Endosulfan-Induced Reproductive Toxicity in Male Rats. *Iran. J .Med .Sci.*, 37 (3): 173-180.
- Tartu S., Angelier F., Herzke D., Moe B., et al., 2014.** The stress of being contaminated? Adrenocortical function and reproduction in relation to persistent organic pollutants in female black legged kittiwakes. *Science of the Total Environment*, 476 (477): 553–560.
- Tintos A ., Gesto M., Miguez J.M .,Soengas J.L.,2008.** β -Naphthoflavone and benzo(α)pyrene treatment affect liver intermediary metabolism and cortisol levels in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69:180-168.
- Tozan A., Tehirli Ö., Gülden Z., ursal Gedik N., et al., 2007.** Extract reduces Naphthalene induced Oxidative Damage in Mice. *Phytother. Res.*, 21:72–77.
- Uboh F .E., Asuquo E. N., Eteng M .U., 2011.** Endosulfan induced hepatotoxicity is route of exposure independent in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 27(6):483-488.
- Ullah S., Jalil M., Zorrieh Z., 2014.** A Review of Pesticides Induced Toxicity in Fish. *Adv. Anim. Vet. Sci.*, 3(1): 40-57.
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J., 2007.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39 (1): 44-84.
- Vijayavel K., Anbuselvam M., Balasubramanian P., 2007.** Antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rat *.Mol Cell Biochem.*, 303: 39- 44.
- Viravaidya K., Sin A., Shuler M. L., 2004.** Development of a Microscale Cell Culture Analog to Probe Naphthalene Toxicity. *Biotechnol. Prog.*, 20: 316-323.

Vouldoukis I., Conti M., Krauss P., et al., 2004. With gliadin – combined plant superoxide dismutase extract promotes antioxidant defences and protects against oxidative stress. *Phytother Res.*, 18:957-62.

Wali R.K., Singh R., Dudeja P.K., Mahmood A., 1982. Effect of a single oral dose of endosulfan on intestinal uptake of nutrients and on brush-border enzymes in rats. *Toxicology Letters*, 12:7-12.

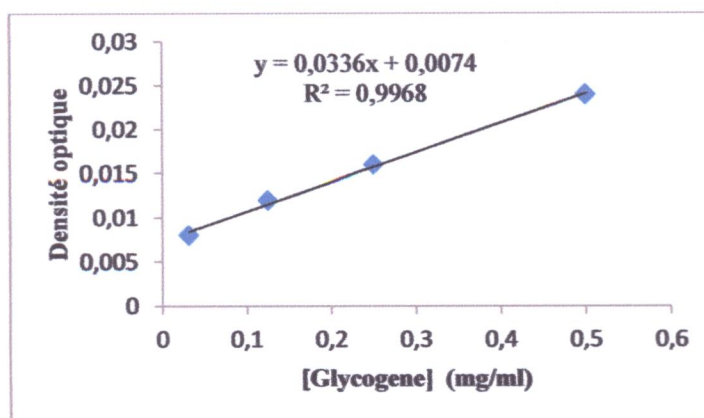
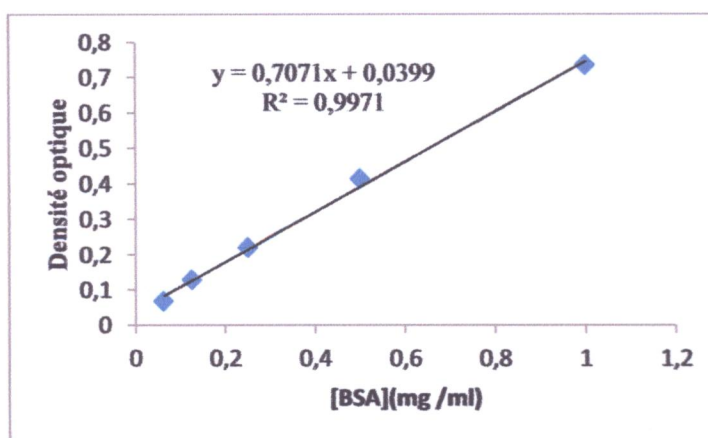
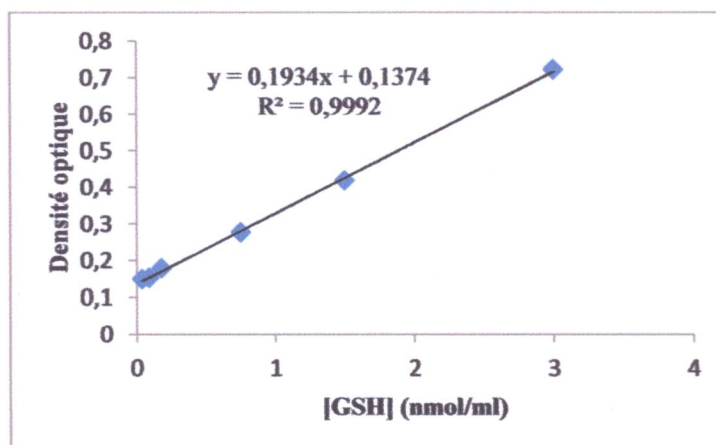
Wilcke W., 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in soils . a review, *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 163: 229-248.

Yan Z., 2010. Characterization of chlorpyrifos toxicity on the pancreatic beta cell line rinm5f. *Thèse de doctorat de l'université de science medical*, p: 126.

Young D.S., Pestaner L.C., Gibberman V., 1975. Effect of drug on clinical laboratory tests. *Clin. Chem.*, 21: D 431-2.

Yunker M.B., Macdonald R.W., Vingarzas R., Mitchell R.H., et al., 2002. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Org. Geochem*, 33(4): 489-515.

Zhao B., Wang J., Geacintov N.E., Wang Z., 2006. Poleta, Polzeta and Rev1 together are required for G to T transversion mutations induced by the (+) - and (-)-Trans-anti-BPDEN2-dG DNA adducts in yeast cells. *Nucle Acids Research*, 34(2):417-25.

Annexe 01 :**Figure 01 :** Courbe d'étalonnage du glycogène avec le réactif de Lugol.**Figure 02:** Courbe d'étalonnage des protéines (sérum albumine bovine comme standard).**Figure 03:** Courbe d'étalonnage du GSH avec le réactif de DTNB.

Annexe 02 :**Tableau 01 :** Effets des POPs sur la tolérance au glucose.

Temps (mn)	T ₀ =0	T ₁ =15	T ₂ =45	T ₃ =75	T ₄ =105	T ₅ =135	T ₆ =195
témoin	87,6 ± 26,12	138,5 ± 13,95	187,8 ± 20,86	163,1 ± 12,08	114 ± 7,56	96,88 ± 7,56	86,6 ^{ns} ± 9,18
D	83,4 ± 7,73	170,25 ± 29,29 ^{ns}	102,2 ± 11,03	96,25 ± 8,70	93,25 ± 7,33	90,8 ± 7,40	89,8 ^{ns} ± 7,29
D*10	89,2 ± 10,96	255,25 ^{***} ± 70,82	164 ± 51,26	120,8 ± 14,51	110 ± 11,31	96,8 ± 13,6	92,4 ^{ns} ± 10,80
D*100	93,8 ± 18,45	211,75 ^{***} ± 75,43	137,1 ± 4,04	136,25 ± 8,87	117,4 ± 11,86	97,6 ± 12,44	88,4 ^{ns} ± 9,84

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): 0,001 < p < 0,01 ; (***) : p < 0,001 ; (*) : 0,01 < p < 0,05 ; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Tableau 02 : Effets des POPs sur la fonction hépatique.

paramètres	Triglycérides	Cholestérol	TGO	TGP	PAL
groupes	g/l	g/l	UI/l	UI/l	UI/l
Témoin	0,36 ± 0,10	0,39 ± 0,10	218,33 ± 5,89	150 ± 32,69	58 ± 22,54
D	0,34 ± 0,13 ^{ns}	0,57 ± 0,16 ^{ns}	362,50 ± 173,68 ^{ns}	198,33 ± 87,87 ^{ns}	67,75 ± 18,77 ^{ns}
D*10	0,69 ± 0,17 ^{**}	0,61 ± 0,05 ^{**}	1306,25 ± 167,68 ^{***}	285,8 ± 66,44 ^{**}	162,25 ± 41,81 ^{**}
D*100	0,82 ± 0,22 ^{**}	0,77 ± 0,21 ^{**}	680 ± 219,31 ^{**}	281 ± 92,97 [*]	175,25 ± 40,71 ^{**}

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): 0,001 < p < 0,01 ; (***) : p < 0,001 ; (*) : 0,01 < p < 0,05 ; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Tableau 03 : Effet des POPs sur le stockage de glycogène hépatique.

Groupes des rats	Témoin	Dose	Dose*10	Dose*100
[glycogène] mg/g du tissu	1,04 ± 0,24	0,84 ± 0,08 ^{ns}	0,40 ± 0,14 ^{**}	0,74 ± 0,1 ^{4*}

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): 0,001 < p < 0,01 ; (***) : p < 0,001 ; (*) : 0,01 < p < 0,05 ; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Tableau 04: Effet des POPs sur le statut redox au niveau du foie.

Paramètre	Activité de CAT (UI/mg Protéine)	Activité de SOD (UI/mg Protéine)	Activité de GST (UI/mg protéines)	[MDA] (nmol/mg protéine)	[GSH] (nmol/mg protéine)
Groupe					
Témoin	0,70 ± 0,10	437,17 ± 40,09	7,60 ± 1,31	2,08 ± 0,75	1,01 ± 0,15
Dose	0,69 ± 0,14 ^{ns}	353,83 ± 98,93 ^{ns}	9,25 ± 1,78 ^{ns}	2,09 ± 0,43 ^{ns}	1,16 ± 0,12 ^{ns}
Dose*10	0,50 ± 0,13 [*]	294,79 ± 27,59 ^{***}	15,63 ± 0,82 ^{***}	4,99 ± 1,08 ^{**}	2,35 ± 0,3 ^{***}
Dose*100	0,48 ± 0,08 ^{**}	170,89 ± 46,69 ^{***}	11,38 ± 2,19 [*]	3,13 ± 0,66 [*]	1,48 ± 0,43 [*]

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): 0,001 < p < 0,01 ; (***) : p < 0,001 ; (*) : 0,01 < p < 0,05 ; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Tableau 05: Effet des POPs sur le statut redox du pancréas.

Traitement des rats	Activité de CAT (UI/mg)	Activité de SOD (UI/mg)	Activité de GST (UI/mg)	[GSH] (nmol/mg)	[MDA] (nmol/mg)
Témoin	0,99 ± 0,39	1097,84 ± 49,92	21,78 ± 2,56	3,88 ± 0,45	6,34 ± 1,52
Dose	1,11 ± 0,12 ns	1106,49 ± 33,46 ns	15,33 ± 4,09 ns	3,01 ± 0,77 [*]	6,50 ± 0,899ns
Dose*10	4,23 ± 0,83 ^{***}	1962,81 ± 243,29 ^{***}	8,81 ± 1,42 ^{***}	1,99 ± 0,60 ^{***}	11,87 ± 2,319 ^{**}
Dose*100	7,64 ± 2,03 ^{***}	3020,58 ± 255,22 ^{***}	3,43 ± 1,29 ^{***}	1,04 ± 0,29 ^{***}	14,59 ± 2,28 ^{***}

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type ; test de Student: ns (non significative), (**): 0,001 < p < 0,01 ; (***) : p < 0,001 ; (*) : 0,01 < p < 0,05 ; les groupes traités sont comparés au groupe témoin.

Thème : Effet chronique hépatotoxique et pancréatotoxique induit par une mixture des POPs : chlorpyrifos, endosulfan, naphtalène et benzo(α)pyrène.

Présenté par :

- FAFA Khawla
- HANTIT Nassira
- SELLAMNA Aicha

Encadreur : KEBIECHE Mohamed.

Master en sciences : option pharmacologie expérimentale.

Soutenu le : 24/06/2015.

Résumé

Les polluants organiques persistants (POPs) sont des composés organiques hautement toxiques et ont toute une série d'effets néfastes sur la santé humaine et animale même à faible dose. Cette étude vise à montrer les effets toxiques exercés sur le foie et le pancréas par une mixture des POPs (END+ CPF+ NAF+ B(α)P) administrée aux rats *Wistar albinos* quotidiennement durant 3 mois. 3 doses ont été utilisées (D, D*10, et D*100). Les marqueurs du dysfonctionnement hépatique (TGO, TGP, PAL, TG et cholestérol), la teneur hépatique en glycogène, la tolérance au glucose ainsi que le stress oxydatif (SOD, CAT, GST, GSH et MDA) ont été évalués. Le traitement des rats par cette mixture montre une augmentation de tous les paramètres biochimiques associée à une diminution de la teneur hépatique en glycogène. Une intolérance au glucose a été observée chez les rats traités et l'évaluation du stress oxydatif montre une diminution de l'activité de la SOD et la CAT et une augmentation de celle du GST et GSH dans le foie alors que ces résultats est au contraire avec ceux trouvés au niveau du pancréas. Par ailleurs, le taux du MDA est augmenté dans les deux organes. Cette étude montre clairement que l'exposition chronique de l'organisme à cette mixture provoque une hépatotoxicité et une pancréatotoxicité via l'induction d'un stress oxydatif.

Mots clés : POPs, stress oxydatif, glucose, hépatotoxicité, pancréatotoxicité.

Abstract

Persistent organic pollutants (POPs) are highly toxic organic compounds and have a range of adverse effects on human and animal health even at low doses. This study aims to show toxic effects on the liver and pancreas with a mixture of POPs (END + CPF + NAF + B (α) P) administered to albino Wistar rats daily for 3 months. Three doses were used (D, D * 10, and D * 100). Markers of hepatic dysfunction (GOT, GPT, PAL, TG and cholesterol), liver glycogen content, glucose tolerance and oxidative stress (SOD, CAT, GST, GSH and MDA) were evaluated. Treatment of rats by this mixture shows an increase in all the biochemical parameters associated with a decrease in hepatic glycogen content. Glucose intolerance was observed in rats treated and the evaluation of oxidative stress shows a decrease in the SOD activity and CAT and an increase in GST activity and GSH content in the liver. In fact these results are in reverse of those found in the pancreas. Furthermore, the MDA level is increased in both organs. This study clearly shows that chronic exposure of the body to this mixture causes hepatotoxicity and pancreatotoxicity via the induction of oxidative stress and alteration of liver function.

Keywords: POPs, oxidative stress, glucose, hepatotoxicity, pancreatotoxicity.

ملخص

المولوتات العضوية الدائمة هي مركبات عضوية شديدة السمية ولها مجموعة من الآثار السلبية على صحة الإنسان والحيوان حتى بجرعات منخفضة. تهدف هذه الدراسة إلى إظهار الآثار السامة على الكبد والبنكرياس لخليط من المولوتات العضوية الدائمة (END + CPF + NAF + B (α)P). تجرى على الفئران *Wistar* يوميا لمدة 3 أشهر بثلث جرعات (D, D*10, و D*100). لتقييم هذه السمية قمنا بمعايرة علامات القصور الكبدية (GOT, GPT, PAL, TG والكوليسترول) و محتوى الجليكوجين في الكبد، إضافة إلى تقييم القدرة على تحمل الجلوكوز والإجهاد التأكسدي (SOD, CAT, GST, GSH وMDA). علاج الفئران عن طريق هذا الخليط أظهر زيادة في جميع القياسات البيوكيميائية المرتبطة بالقصور الكبدية في حين أن محتوى الجليكوجين الكبدية انخفض. وقد لوحظت الحساسية المفرطة تجاه الجلوكوز في الفئران المعالجة وتقييم علامات الأكسدة أظهر أن هناك انخفاضاً في نشاط الـ SOD والـ CAT وارتفاع في نشاط الـ GST والـ GSH في الكبد في حين أن هذه النتائج هي على العكس مع تلك الموجودة في البنكرياس. وعلاوة على ذلك، لاحظنا زيادة في مستوى MDA في كلا العضوين. تبين هذه الدراسة بوضوح أن تعرض الجسم المزمن لهذا الخليط يسبب تسمم الكبد والبنكرياس عن طريق تحريض الأكسدة.