



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



Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de MASTER

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : sciences biologiques

Option : PHARMACO-TOXICOLOGIE

Thème:

**Impact de Lambda-cyhalothrine sur les Cellules
Hépatiques *In Vivo* des Rats Wistar**

Présenté par:

M^{me}. REBIAI Imen

M^{elle}. ZEGHDANI Meriem

Devant le jury

M.MENACEUR Fouad	M.C.A	Université Larbi Tébessi- Tébessa	Président
M. ROUABHI Rachid	Professeur	Université Larbi Tébessi- Tébessa	Rapporteur
M. GASMI Salim	M.A.B	Université Larbi Tébessi- Tébessa	Examineur

Date de soutenance : 16/06/2019

Note : _____ Mention : _____

المخلص

لامدا-سيهالوثرين مبيد حشري جديد من عائلة البيروثرويدات ، وهي مبيدات حشرية تستخدم على نطاق واسع في الإنتاج الزراعي في جميع أنحاء العالم. إساءة استخدام هذه المبيدات الحشرية والإفراط في استخدامها من قبل المزارعين، قد تشكل خطراً صحياً على المستهلكين.

هذه الدراسة التجريبية ركزت على تقييم تأثير لامدا-سيهالوثرين على خلايا كبد الجرذان من فئة ويستار. لتحديد هذا التأثير يتم تعريض 18 جرذ ذكر من صنف وستار لجرعات مختلفة التركيز من لامدا-سيهالوثرين (5 و 10 مغ/ كغ / يوم) عن طريق الفم لمدة 3 أشهر.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ما يلي: لامدا-سيهالوثرين يؤدي إلى انخفاض في وزن كبد الجرذان المعالجة مقارنة مع الضوابط.

التأثيرات الضارة على الأيض أدت إلى انخفاض كبير للغاية في مستوى الدهون في الكبد وزيادة كبيرة في مستوى البروتينات عند الجرذان المعالجة مقارنة مع الضوابط.

يمكن وصف أفضل للسمية الكبدية فيما يتعلق بسمية لامدا-سيهالوثرين من خلال تحديد نشاط GPx ، GSH ، GST،MDA و CAT على مستوى الكبد وهو ما يفسره انخفاض نشاط الجلوتاثيون بيروكسيداز GPx ، GSH و CAT وكذلك زيادة في علامة بيروكسيد الدهون (MDA) و GST عند الجرذان المعالجة مقارنة مع الضوابط. هذه النتائج تبين التأثير التأكسدي للامدا-سيهالوثرين ، والتي يمكن أن تحفز الإجهاد التأكسدي في خلايا الكبد.

الكلمات المفتاحية: المبيدات ، لامدا-سيهالوثرين ، السمية ، الاكسدة ، الكبد.

Abstract

Lambda-cyhalothrin (LCT) is a new insecticide based on pyrethroids, which are insecticides widely used in agricultural production around the world. This insecticide is misused and overused by farmers and may therefore pose a health risk to consumers.

In this Experimental study focused on assessing the impact of lambda-cyhalothrin on liver cells *in vivo* Wistar rats.

To define this impact by exposing male Wistar rats to different doses of lambda-cyhalothrin (LCT) (5 and 10 mg / kg / day) orally for 3 months.

The results obtained show that: lambda-cyhalothrin leads to a decrease in liver weight in treated rats compared with controls.

Adverse effects have affected metabolites including; there is a very highly significant decrease in liver lipid levels compared to controls. And a significant increase in protein levels in treated rats compared with controls.

A better characterization of hepatotoxicity with respect to the toxicity of lambda-cyhalothrin through the determination of GSH, GPx MDA, GST and CAT at the liver level which is explained by a decrease in the activity of Glutathione peroxidase GPx, and GSH and CAT as well as an increase in a lipid peroxidation marker (MDA), and Glutathione-S-transferase in treated versus control rats.

These results inspire the oxidative effect of lambda-cyhalothrin, which can induce oxidative stress in liver cells.

Key words: Pesticids , Lambda-cyhalothrin, toxicity, Oxidative stress, , Liver,

Résumé

La lambda-cyhalothrine (LCT) est un nouvel insecticide à base de pyréthriinoïde qui sont des insecticides largement utilisés dans la production agricole partout dans le monde. Cet insecticide est mal utilisé et trop utilisé par les agriculteurs et peut donc causé un risque pour la santé des consommateurs.

Dans cette étude Expérimentale a porté sur l'évaluation de l'impact de lambda-cyhalothrine sur les cellules hépatiques *in vivo* des rats Wistar.

Pour définir cette impact en exposant les rats Wistar à des doses différentes de lambda-cyhalothrine (LCT) (5 et 10 mg/kg/jour) par voie orale pendant 3 mois.

Les résultats obtenus montrent que: lambda-cyhalothrine entraîne une diminution de poids du foie chez les rats traitées par rapport aux témoins.

Des effets néfastes ont touché les métabolites dont; il y a une diminution très hautement significative de taux des lipides du foie par rapport aux témoins. Et une augmentation significative de taux des protéines chez les rats traités en comparaison avec témoins.

Une meilleure caractérisation de la hépatotoxicité vis-à-vis à la toxicité du lambda-cyhalothrine à travers le dosage de GSH, GPx MDA, GST et CAT au niveau de foie qui est expliqué par une diminution de l'activité du Glutathion peroxydase GPx, et GSH et CAT ainsi qu'une augmentation d'un marqueur de la peroxydation lipidique (MDA), et le Glutathion-S-transférase chez les rats traités par rapport aux témoins.

Ces résultats inspirent l'effet oxydant du lambda-cyhalothrine qui peut induit le stress oxydatif dans les cellules hépatiques.

Mots clés: pesticides , Lambda-cyhalothrine, toxicité, Stress Oxydative, Foie.

Remerciements

Avant tout, nous remercions notre Dieu ALLAH le tout puissant pour toute la volonté , et le courage de nous avoir donné la force et la capacité d'avoir exécuté ce travail après maintes recherches approfondies que nous espérons convaincre tout lecteur de leur authenticité et leur vérité scientifique .

Nous remercions vivement:

Tout d'abord notre encadreur, Monsieur Pr.ROUABHI Rachid doyen de la faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie , Université Larbi Tébessi à Tébessa de nous avoir proposé de réaliser ce travaille et de ne pas avoir cessé de nous encourager et de nous avoir donné de son expérience.

Monsieur Dr.MENACEUR Fouaed président du jury d'avoir accepté de nous donner de son temps précieux pour écrire ce mémoire.

Nos sincères révérences à Monsieur Dr.Gasmi Salim, pour nous symbole de succès, de sacrifice et fidélité. Sa présence permanente au laboratoire à nos côté nous a encouragé de réaliser ce projet .

Que DIEU vous gardes Messieurs ...

Monsieur BEN AICHA Brahim de nos avoir aidé à effectuer ce travail. Nous tenons également à le remercier vivement pour son aide et ses très précieux conseils.

Nous tenons à remercier aussi tous les enseignants du département de biologie appliquée qui nous ont pris en charge durant les années de notre cursus.

Nous remercions aussi notre famille qui nous a toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Tous ceux et celles qui nous sont chers, tous nos proches et amis (amies) et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

MERCI À TOUS ET À TOUTES

إهداء

قال رسول الله صلى الله عليه وسلم: "من لم يشكر الناس لم يشكر الله" صدق رسول الله صلى الله عليه وسلم الحمد لله على إحسانه والشكر له على توفيقه وإمتهانه ونشهد أن لا إله إلا الله وحده لا شريك له تعظيماً لشأنه ونشهد أن سيدنا ونبينا محمد عبده ورسوله داعي إلى رضوانه صلى الله عليه وعلى آله وأصحابه وأتباعه وسلم بعد شكر الله سبحانه وتعالى على توفيقه لنا لإتمام هذا البحث المتواضع أتقدم بأهدائه من كل قلبي ...

إلى **الوالدين العزيزين** اللذين أماناني و شجاعتي على الإستمرار في مسيرة العلم والنجاح، و إكمال الدراسة الجامعية والبحث

إلى **باسم الروح**... اليك حياتي لحين مماتي ..امدك كلماتي وعباراتي الناطقة بأحاسيسي ..

إلى من أعطاني الأمل والحياة.

إلى شريك الدرب **زوجي الغالي**..

إلى **فلذات قبدي**... من هم فرحتي وكل دنيتي ، وحصاد عمري وسنيني...

رحاب زكرياء روان ونور العيون محمد إسلام... حفظكم الله ورحمكم

إلى من شرفني بإشرافه على مذكرة بحثي الأستاذ البروفيسور "**روابي رشيد**" الذي لن

تكفي حروفه هذه المذكرة لإيجائه حقه

إلى استاذي الصديق الوفي الدكتور **قاسمي سليم** .. ممتنة له وأشكر توجيهاته العلمية التي لا

تقدر بثمن، والتي ساهمت بشكل كبير في إتمام واستكمال هذا العمل

إلى إخوتي وأخواتي، أهلي وأهل زوجي الغالي، أبنائهم وبناتهم

إلى كل **زملائي وزميلاتي، أساتذة وأستاذات، أصدقائي و صديقاتي**...

إلى كل من ساعدني من قريب أو من بعيد على إنجاز وإتمام هذا العمل.

"رب أوزعني أن أشكر نعمتك التي أنعمت علي وعلى والدي وأن أعمل صالحاً ترضاه وأدخلني

برحمتك في عبادة الصالحين "



إهداء

أحمد الله عز وجل على منه و عونہ لإتمام هذا البحث.

إلى الذي وهبني كل ما يملك حتى أحقق له آماله، إلى من كان يدفعني قدما نحو الأمام لنيل
المبتغى، إلى الإنسان الذي امتلك الإنسانية بكل قوة، إلى الذي سمر على تعليمي بتضحيات جسم
مترجمة في تقديسه للعلم، إلى مدرستي الأولى في الحياة،

أبي الغالي على قلبي أطل الله في عمره.

إلى التي وهبت فلذة كبدي كل العطاء و الحنان، إلى التي صبرت على كل شيء، التي رعتني
حق رعاية و كانت سندي في الشدائد، و كانت دعواها لي بالتوفيق، تتبعتني خطوة خطوة
في عملي، إلى من ارتحمت كلما تذكرت ابتسامتها في وجهي نبع الحنان **أمي** أعز ملك على
القلب و العين جزاها الله عني خير الجزاء في الدارين.

إليكم أهدي هذا العمل المتواضع لكي أدخل على قلوبكم شيئا من السعادة إلى **إخوتي**

و أخواتي الذين تقاسموا معي حبه الحياة.

كما أهدي ثمرة جهدي لأستاذي الكريم البروفيسور: **روابي رشيد** الذي كلما تظلمت الطريق

أمامي لجأت إليه فأنارها لي و كلما دعب اليأس في نفسي زرع فيا الأمل لأسير قدما

و كلما طلبت كمية من وقته الثمين وفره لي بالرغم من

مسؤولياته المتعددة.

إلى أستاذي الكريم الدكتور: **قاسم سليم** الذي تعلمت على يديه و بدأت معه تحضير رسالتي وتوجيه

خطواتي على طريق البحث العلمي. إقرارا بفضل و عرفانا بجميل صنيعه. دون أن أنسى طلبة الدكتوراه: **بن**

عيشة براهيم و عون الله سميرة اللذان لم يذرا أي جهد لضمان إنجاز هذا العمل؛ إلى كل أساتذة قسم علوم

الطبيعة والحياة؛ جزأهم الله عني خير جزاء.

إلى من أحبهم وقضيت معهم أجمل اللحظات: إلى الأهل والأقارب و الأصدقاء.

وإلى كل الذين أحبهم أهدي لهم هذا العمل المتواضع...

مريم . ز

Liste des abréviations

Δ	Ecart Type
8-OH-dG	8-hydroxy-2'-déoxyguanosine
ADN	Acide Désoxyribose Nucléique
AGPI	Acides Gras Polyinsaturés
BG	Branche Gauche
BSA	Sérum Albumine Bovine
BBC	Bleu Brillant de Coumassie
CAT	Catalase
CET	Cellule Etoilée
Cu	Cuivre
DNPH	Dinitrophényl hydrazone
EOA	Espèces Oxygénées Activées
ERO	Espèces Réactives Oxygénées
EDTA	Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique
Fe²⁺	Fer Ferreux
Fe³⁺	Fer Ferrique
GPx	Glutathion Peroxydase
GST	Glutathion S-Transférase
GRd	Glutathion Réductase
GSH	Glutathion Réduit
GSSG	Glutathion Oxydé
HO₂[·]	Radical Perhydroxyle
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
IndSeGPx	Glutathion Peroxydase-Sélénium Indépendant
LCT	Lambda-Cyhalothrine
LM	Lobe Médian
LLG	Lobe Latéral Gauche
LLDD	Lobe Latéral Droit Dorsal
LLDV	Lobe Latéral Droit Ventral
LC	Lobe Caudé
LG	Lobe Gauche
LD	Lobe Droit
MDA	Malondialdéhyde
Mg	Magnésium
ml	Millilitre
M	Molaire
mM	Millimolaire
mmol	Millimol
nM	Nanomètre
NO[·]	Monoxyde D'azote

Liste des abréviations

O₂^{•-}	Radical Superoxyde
•OH	Radical Hydroxyle
¹O₂	Oxygène Singulet
PBA	Phénoxy benzoïque
PF	Poids Du Foie
PT	Poids Total
PRF	Poids Relatif De Foie
P	Probabilité
R[•]	Radicaux Libres
ROS	Réactive Oxygen Species
ROO[•]	Radical Peroxyle
RO[•]	Radical Alcoxyle
RH	Substrat Organique
RLO	Radicaux Libres Dérivés De L'oxygène
SOD	Superoxyde Dismutase
SeGPx	Glutathion Peroxydase-Sélénium Dépendant
Se	Sélénium
Tr	Tour
T	Témoin
TCA	Acide Trichloroacétique
μl	Microlitre
μg	Microgramme
μmol	Micromole

Liste des figures

N° Figure	Titre de figure	N° Page
01	Exemples des insecticides appartenant aux types I et II des pyréthrinoïdes.	07
02	Structure chimique de la lambda-cyhalothrine.	08
03	Métabolisme de la lambda-cyhalothrine chez les mammifères.	11
04	Structure de la lambda-cyhalothrine et ses métabolites.	12
05	Anatomie du foie de rat.	15
06	Segmentation hépatique.	16
07	La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.	20
08	Les effets de l'anion superoxyde.	22
09	Mécanisme de peroxydation des lipides.	23
10	Structure chimique du malondialdéhyde.	24
11	Structure du 8-hydroxy-2' déoxyguanosine.	25
12	Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défenses antioxydantes.	26
13	Schéma des systèmes enzymatique et non-enzymatique de détoxification des ROS.	27
14	Systèmes antioxydants enzymatiques.	28
15	Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la peroxydation lipidique.	31
16	Antioxydants d'origine alimentaire : α -tocophérol (vitamine E), acide ascorbique (vitamine C), β -carotène (famille des caroténoïdes).	32
17	Conséquences pathogènes du stress oxydant.	33

18	Rat Wistar.	36
19	Mesure du poids des rats.	37
20	Traitement des rats par voie oral.	38
21	Extraction du foie.	39
22	Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	40
23	Variation de taux des Lipides ($\mu\text{g} / \text{mg}$) chez les rats témoins et traités après 3mois de traitement.	48
24	Variation de taux des protéines (mg/g) chez les rats témoins et traités après 3 mois de traitement.	49
25	Variation du Taux de GSH ($\mu\text{mol/mg}$ protéine) chez les rats témoins et traités par lambda-cyhalothrine après 3 mois de traitement.	50
26	Variation de l'activité de GST ($\mu\text{mol/min/mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traités après 3mois de traitement.	50
27	Variation du l'activité de GPx hépatique ($\mu\text{mol/min/mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traités après 3 mois de traitement.	51
28	Variation de l'activité enzymatique de catalase ($\mu\text{mol/min/mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traité après 3 mois de traitement.	52
29	Variation du taux de MDA ($\mu\text{mol/min/mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traité après 3 mois de traitement.	53
30	Variation des Poids relatifs du foie des rats témoins et traité par lambda-cyhalothrine après 3 mois de traitement.	54
31	Courbe d'étalonnage pour dosage des lipides (annexes).	69
32	Courbe d'étalonnage pour dosage des protéines (annexes).	70

Liste des tableaux

N° Tableaux	Titre de Tableaux	N° Page
01	Synthèse des caractéristiques physico-chimiques de la lambda - cyhalothrine.	09
02	Principales espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant.	21
03	Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées.	30
04	Variation du taux des Lipides hépatiques chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).	47
05	Variation du taux des protéines hépatiques chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).	48
06	Variation de l'activité de GSH chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).	50
07	Activités de l'activité GST chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).	50
08	Variation de l'activité GPx chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).	51
09	Variation de l'activité enzymatique de CAT chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).	52
10	Variation du taux de MDA hépatique chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).	53
11	Variation des poids relatifs du foie dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).	54
12	Réalisation de la courbe d'étalonnage pour dosage des lipides (annexes).	69
13	Réalisation de la courbe d'étalonnage pour dosage des protéines (annexes).	70

TABLE DES MATIERES

المخلص	
Abstract	
Résumé	
Remerciements	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Table des matières	
Introduction.....	01
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Lambda-cyhalothrine	
1. Généralité.....	05
2. Classification.....	06
3. Utilisation et application.....	07
4. Propriété physico-chimique.....	08
5. Toxicocénitique.....	09
5.1. Absorption.....	09
5.2. Distribution.....	10
5.3. Métabolisme.....	10
5.4. Elimination.....	11
6. Toxicodynamique.....	12
7. Toxicité.....	12
7.1. Neurotoxicité.....	13
7.2. Immunotoxicité.....	13
7.3. Hématotoxicité.....	13
7.4. Néphrotoxicité.....	13
Chapitre II : Foie en toxicologie	
1. Anatomie et physiologie du foie.....	15
2. Les cellules hépatiques.....	17
3. Fonction.....	17
4. Hépatotoxicité.....	18
Chapitre III: stress oxydant	
1. Définition.....	20
2. Action de stress oxydant.....	22

2.1. Action non délétère (rôle biologique).....	22
2.2. Actions délétères	22
2.2.1. Dommages oxydatifs des lipides.....	22
2.2.2. Dommages oxydatifs des protéines	24
2.2.3. Dommages oxydatifs de l'AND.....	25
3. Systèmes de défense antioxydants.....	26
3.1. Systèmes antioxydant enzymatiques.....	27
3.1.1. Superoxyde dismutase (SOD).....	28
3.1.2. Catalase (CAT).....	29
3.1.3. Glutathion peroxydase (GPx).....	29
3.2. Systèmes antioxydant non enzymatiques.....	29
3.2.1. Glutathion (GSH).....	30
3.2.2. Vitamine E (α -tocophérol).....	31
3.2.3. Vitamine C (acide ascorbique).....	31
3.2.4. Vitamine A (β -carotène).....	32
4. Liaison entre le stress oxydatif et les maladies hépatiques.....	32
PARTIE PRATIQUE	
I. Matériel et Méthodes.....	36
1. Matériel.....	36
1.1. Produits chimiques.....	36
1.2. Animaux de laboratoire	37
2. Méthodes.....	37
2.1. Entretien des animaux.....	37
2.2. Mesure de poids.....	37
2.3. Lotissement et traitement.....	37
2.4. Sacrifice et prélèvement du foie.....	38
2.5. Estimation du poids relatif du foie.....	39
2.6. Préparation des échantillons cytosoliques.....	39
3. Méthode de dosage.....	41
3.1. Paramètres métaboliques (biochimiques).....	41
3.1.1. Dosage des lipides.....	41
3.1.2. Dosages des protéines.....	41
3.2. Paramètres du stress oxydant.....	41
3.2.1. Dosage de l'activité du Glutathion (GSH).....	42
3.2.2. Dosage de l'activité du Glutathion S-Transférase (GST).....	42
3.2.3. Dosage de l'activité du Glutathion peroxydase (GPx).....	43
3.2.4. Dosage de l'activité enzymatique du Catalase (CAT).....	44
3.2.5. Dosage du Malondialdéhyde MDA.....	45
4. Étude statistique	45
II. Résultat et Discussion.....	47

1. Résultat	47
1.1. Effet du lambda-cyhalothrine sur les paramètres métaboliques (biochimiques) chez les rats Wistar	47
1.1.1. Effet du lambda-cyhalothrine sur le taux des lipides	47
1.1.2. Effet du lambda-cyhalothrine sur le taux des protéines	48
1.2. Effet du lambda-cyhalothrine sur les paramètres enzymatiques chez les rats Wistar ...	48
1.2.1. Effet du lambda-cyhalothrine sur l'activité du Glutathion réduit GSH	48
1.2.2. Effet du lambda-cyhalothrine sur l'activité du Glutathion-S-transférase GST	49
1.2.3. Effet du lambda-cyhalothrine sur l'activité du Glutathion peroxidase GPx	50
1.2.4. Effet du lambda-cyhalothrine sur l'activité de Catalase CAT	51
1.2.5. Effet du lambda-cyhalothrine sur le taux de Malondialdéhyde MDA	52
1.3. Effet du lambda-cyhalothrine sur le Poids relatif du foie chez les rats	53
2. Discussion	55
Conclusion	60
Référence bibliographique	62

Annexes

Introduction



Introduction

La toxicologie est une branche distincte de la science et a sa propre importance. Elle traite de la toxicité de tout produit chimique ou composé par intension ou exposition accidentelle à des organismes vivants. L'excès de tout composé sera dangereux pour la vie et sera pris en compte dans les études de toxicité. À l'ère moderne, l'utilisation de produits chimiques et de composés qui s'accumulent ou sont quotidiennement exposés à l'homme est nocive à bien des égards. Les pesticides sont utilisés pour le bien-être des êtres humains, mais ils nous mettront au défi en leur montrant leur toxicité. Ils peuvent être directement exposés à nous ou indirectement par le biais de la chaîne alimentaire **(Paliwal et al., 2009)**.

La toxicité chez l'homme est une vérité menaçante et bien plus que toute maladie causée par un organisme car les substances toxiques sont omniprésentes dans l'air, dans l'eau et dans les aliments. Il existe des composés qui ne sont pas directement utilisés par les humains mais indirectement, ils pénètrent dans le corps humain et provoquent des blessures. Les pesticides sont très courants dans ces catégories. Ils sont utilisés contre divers parasites pour le bien-être humain, mais ils nous sont également nocifs via la chaîne alimentaire. Le foie est le site principal de toute substance toxique et a souffert en premier. De plus, le foie joue un rôle très important dans le métabolisme des mammifères **(Paliwal et al., 2009)**.

Les pesticides aussi sont des composés toxiques pour tous les organismes vivants. Toutefois, les effets varient d'une espèce à l'autre. Mais l'utilisation excessive de ces pesticides pose de nombreux problèmes à chacun d'entre nous. De nos jours, les pesticides chimiques synthétiques sont en pratique en raison de leurs résultats actifs et optimaux **(Paliwal et al., 2009)**.

Parmi ces pesticides on rappelle les Pyréthriinoïdes de synthèse ;ils ont fait l'objet d'étude de plusieurs chercheurs dont certains ont peut découvrir qu'ils sont de puissants insecticides à large spectre, respectueux de l'environnement, compatible en raison de leur persistance modérée, de leur faible volatilité et leur mobilité aqueuse pauvre dans le sol **(Zoumenou et al., 2015)**.

L'exposition au ces pesticides, engendre des maladies telles que les troubles de la reproduction, cancer, troubles neurologiques, allergies, troubles mentaux pourraient être connecté. De plus, les pesticides (les insecticides) sont des produits chimiques potentiellement perturbateurs du système endocrinien. Ils ont démontré qu'il avait un impact négatif sur le système reproducteur, immunitaire et les systèmes hormonaux des humains et des animaux **(Al-Amoudi, 2018)**.

De nos jours, les pyréthriinoïdes synthétique de type II de nouvelle génération, est largement utilisée en agriculture la lutte antiparasitaire à domicile et la protection des denrées alimentaires. (**Yousef Ali, 2012**).

La lambda-cyhalothrine (LTC) est un pyréthriinoïde synthétique doté d'un large spectre d'activités insecticides et acaricides utilisé pour lutter contre un large éventail d'insectes nuisibles dans diverses applications (**Fetoui et al., 2015**).

Comme pour la plupart des insecticides utilisés en agriculture, l'utilisation de lambda-cyhalothrine dans l'agriculture pourrait avoir des effets sur la santé humaine. C'est ainsi que **Sarunya et al. (2012)** ont noté la présence de l'acide 3 phénoxybenzoïque (3 PBA) dans le plasma humain des producteurs et consommateurs. Or l'acide 3 phénoxybenzoïque est présent chez presque tous les Pyréthriinoïdes (la lambda-cyhalothrine, la cyperméthrine, la deltaméthrine, etc.). Selon ces auteurs, la présence du 3 PBA chez les consommateurs est due à la présence des résidus dans les fruits et légumes (**Zoumenou et al., 2015**).

La lambda-cyhalothrine a été pris en compte pour cette étude toxicologique car il représente leur groupe et leur catégorie actuelle. Ce composé a été sélectionné car il est très couramment utilisé pour la protection des légumineuses, des légumes et des aliments contre divers organismes nuisibles (**Paliwal et al., 2009**).

Notre travail de recherche a pour objectif d'évaluer l'impact de lambda-cyhalothrine sur les cellules hépatiques *in vivo* des rats Wistar.

Pour cela on a fixé quelques buts à atteindre:

1. Mise en évidence d'une éventuelle la toxicité de pesticide sur les paramètres biochimiques chez les rats de la race Wistar.
2. Estimation de l'activité enzymatique suite à une intoxication orale par lambda-cyhalothrine plus spécifiquement au niveau du foie.
3. Voir les effets sur l'être humain après extrapolation de nos résultats.

Partie

bibliographique



Chapitre I:

Lambda-cyhalothrine



1. Généralité

Le terme pesticide est un mot récent emprunté à la langue anglaise (**Madjour et Ouizem, 2012**). Il est composé de « Pest », désigne tout organisme vivant (virus, bactéries, champignons, herbes, vers, mollusques, insectes, rongeurs) susceptible d'être nuisible à l'homme et/ou à son environnement. Et de " cide", du latin caedere « frapper, abattre, tuer » (**Saadane, 2018**). Assi le mot « pesticide » est un terme générique qui englobe les produits phytopharmaceutiques et les produits biocides, sont donc toutes les substances chimiques naturelles ou synthétisées utilisées en agriculture pour neutraliser ou détruire les différentes sortes des nuisibles (**Madjour et Ouizem, 2012 ; Saadane, 2018**).

Les pesticides sont divisés selon leur cible en herbicides désignés pour tuer les mauvaises herbes ; en insecticides pour combattre les insectes ; en fongicides qui luttent contre les champignons ; en acaricides pour tuer les acariens ; en hélicides ou molluscicides pour éradiquer les nématocères ; en rodenticides ou raticides pour combattre les rongeurs vertébrés (**Gasmi, 2018**).

Ces composés jouent un rôle non seulement en agriculture, mais aussi dans le domaine de la santé publique pour lutter contre les vecteurs des maladies infectieuses (éradication du paludisme par exemple) ils se présentent sous la forme de poudres (pour poudrages, mouillables, solubles), de granulés, d'émulsions, de préparations microencapsulées, de solutions dans divers solvants (kérosène, xylène, fractions de pétrole, huiles minérales, alcools, glycols, cétones). Parfois plus toxiques que la matière active elle-même, ils sont utilisés seuls ou en association avec d'autres pesticides ou synergistes (**Alain et Alain, 2005**). Parmi les premiers pesticides les utilisés et les plus utilisés en Algérie on distingue les insecticides, ils sont destinés à détruire les insectes nuisibles (**Ayad-mokhtari, 2012**).

Un insecticide est une substance ou préparation utilisés pour la lutte contre les vecteurs des maladies doit avoir les propriétés suivantes :

- Une grande efficacité sur les vecteurs cibles.
- Une efficacité à faible dose, sans provoquer de résistance.
- Une grande activité sur les autres insectes nuisibles.
- Une faible toxicité sur l'homme et les autres mammifères.
- Des effets minimes sur l'environnement.
- Une stabilité dans le milieu extérieur, mais se dégradant dans la nature quand son activité disparaît (**Harouna et Soumare, 2010**).

On distingue essentiellement dans ce groupe:

- Des composés organochlorés.
- Des composés organophosphorés.
- Des carbamates.
- Des produits d'origines végétales (nicotine, roténone, pyréthrine) ou des analogues de synthèse (pyréthrinoides).
- Des fumigants.
- Et diverses autres substances (**Alain et Alain, 2005**).

2. Classification

La lambda-cyhalothrine (LCT) est un nouvel insecticide à base de pyréthrinoides qui sont des insecticides largement utilisés dans la production agricole partout dans le monde. Ces insecticides lipophiles sont appliqués en remplaçant des organophosphorés, en raison de leur plus faible volatilité et leur inactivation métabolique rapide (**Celik et al., 2005; Khemiri, 2017**).

Les insecticides pyréthrinoides sont des analogues de pyréthrine naturelles qui sont des composés insecticides naturels produits dans les fleurs de chrysanthèmes (**Celik et al., 2005 ; Li-Ming He et al., 2008**).

Ces insecticides sont classés en deux grands groupes (fig. 1): Les pyréthrinoides de type I (alléthrine, tétraméthrine, perméthrine et resmethrine) ne contiennent pas de groupe alpha-cyanogène alors que les pyréthrinoides de type II (fénvelarate de deltaméthrine, cyperméthrine et cyhalothrine) contiennent un groupe alpha-cyanogène (**Ahmed Khan et al, 2014 ; Al-Amoudi, 2018**). Les pyréthrinoides de type I provoquent une hyperexcitation, ataxie, convulsions, paralysie, et des tirs nerveux, alors que les pyréthrinoides de type II est caractérisé par une hypersensibilisation profuse, choréoathétose, tremblement et paralysie mais pas de tirs nerveux répétitifs dans les nerfs sensoriels (**Anadon et al, 2006**).

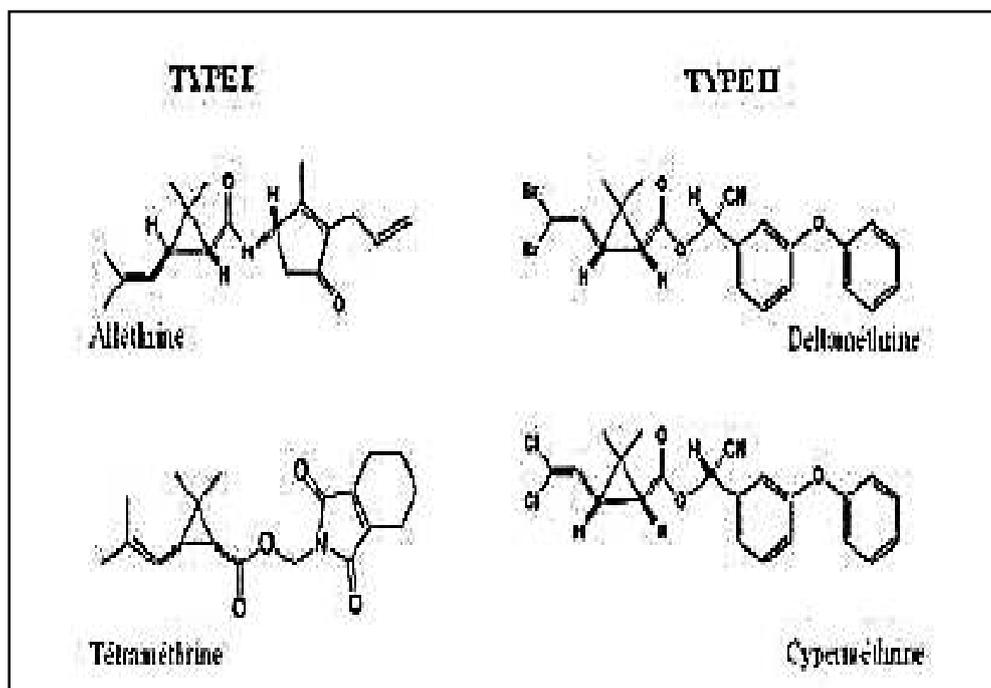


Figure 1. Exemples des insecticides appartenant aux types I et II des pyréthrinoïdes (Gasmi, 2018).

Les pyréthrinoïdes également sont des neurotoxiques à la fois pour les mammifères et les insectes, provoquent un effet fortement excitant sur le système nerveux chez les mammifères et les insectes (Anadon *et al.*, 2006). Ces insecticides sont considérés comme le groupe le plus sûr en raison de leurs effets de neutralisation rapide des insectes à une dose minimale et de leur faible toxicité pour les mammifères (Ahmed Khan *et al.*, 2014).

3. Utilisation et application

La lambda-cyhalothrine (LCT) est un pyréthrinoïde de synthèse fabriqué qui est utilisé dans la lutte antiparasitaire à domicile, l'agriculture, la protection des aliments, production, le contrôle des maladies et lutte contre les vecteurs pathogènes. LCT a été largement utilisé pour lutter contre les insectes, y compris les pucerons, les doryphores et les lépidoptères larves (Fetoui *et al.*, 2010 ; Al-Amoudi, 2018).

Ainsi elle est utilisée pour contrôler une large gamme de ravageurs à savoir les lépidoptères, les hémiptères, les diptères, et les coléoptères. Elle est un important outil utilisé en santé pour contrôler les cafards, les moustiques, et les mouches, qui peuvent agir comme des vecteurs de maladies (Zoumenouet *et al.*, 2015).

4. Propriété physico-chimique

La lambda-cyhalothrine ou le (R1S), 3a(Z)]-(±)-cyano(phenoxyphenyl)methyl 3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyl)-2,2 dimethylcyclopropanecarboxylate (Fig.2) est un solide incolore de poids moléculaire 449 g/mol. Les études montrent que la lambda-cyhalothrine

n'est facilement pas volatilisable dans l'atmosphère à cause de sa faible pression de vapeur mais se dissipe rapidement dans l'eau à cause de son adsorption sur les particules et les organismes aquatiques. De plus, son coefficient de partage octanol-eau élevé (K_{ow}) montre qu'elle a un potentiel de bioconcentration élevé. Elle est peu soluble dans l'eau. Ses paramètres physico-chimiques sont résumés dans le Tableau 01 (Li-Ming He *et al.*, 2008; Zoumenou *et al.*, 2015).

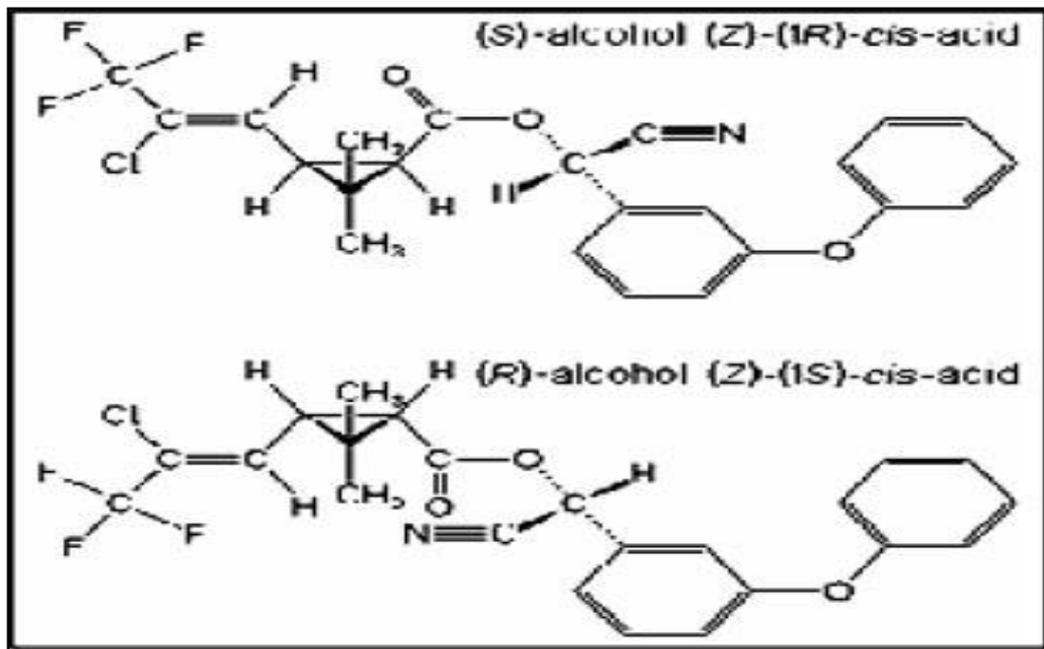


Figure2. Structure chimique de la lambda-cyhalothrine (Rambabu et Kaiser, 2005).

Tableau 1. Synthèse des caractéristiques physico-chimiques de la lambda-cyhalothrine
(Zoumenou *et al.*, 2015).

Paramètres	Propriétés
Nom commun	Lambda-cyhalothrine
Numéro CAS	91465-08-6
Bioconcentration	4600 à 5000
Code de PUS EPA	128897
Formule moléculaire	$C_{23}H_{19}C_1F_3NO_3$ Mm= 449.9
Apparence / état ambiant	Solide incolore
Solubilité dans l'eau (mg/L)	4.10^{-3} à 20°C et pH 5
Constante de dissociation Kd (pKa)	1.970 à 7.610
Log du coefficient de partage octanol –eau (log Kow)	7
Facteur de Bioconcentration (BCF) (poisson)	2240

5. Toxicocénitique

Étant donné les effets toxiques des pyréthrinoïdes, dont la lambda-cyhalothrine, il est important de comprendre le devenir de ces contaminants dans l'organisme humain en fonction du temps, c'est-à-dire la toxicocénitique ou absorption, distribution, biotransformation et excrétion. Bien que la toxicocénitique de divers pyréthrinoïdes à été étudiée chez l'animal et l'être humain, très peu d'informations sont disponibles sur la toxicocénitique de la lambda-cyhalothrine spécifiquement (Khemiri, 2017).

5.1. Absorption

Les principales voies d'absorption des pesticides pyréthrinoïdes sont la voie digestive, pulmonaire et cutanée. Il semble que les pyréthrinoïdes sont rapidement absorbés par inhalation, tel qu'estimé sur la base de l'apparition des métabolites urinaires 30 minutes après l'exposition (Khemiri, 2017).

5.2. Distribution

L'information disponible dans la littérature scientifique sur la distribution des Pyréthriinoïdes chez l'homme est restreinte. **Anadon (2006)** a rapporté que la lambda-cyhalothrine est distribuée dans les tissus. Des demi-vies d'élimination moyennes de l'ordre de 35 et 18 h dans l'hypothalamus comparativement à 13 et 12 h dans le foie ont été rapportées après une exposition par voie orale et intraveineuse, respectivement. Compte tenu de cette distribution, il a été déterminé que la concentration la plus élevée de la lambda-cyhalothrine a été enregistrée au niveau de l'hypothalamus. De plus, la concentration maximale détectée dans les tissus était plus importante que celle observée dans le plasma (**Khemiri, 2017**).

5.3. Métabolisme

La biotransformation ou métabolisme réfère aux transformations chimiques et biochimiques des xénobiotiques. Il s'agit d'un processus de défense par lequel l'organisme évite l'accumulation des substances étrangères, en particulier les substances lipophiles, pouvant altérer le fonctionnement biologique naturel.

Les réactions métaboliques des insecticides pyréthriinoïdes décrites dans les études sont principalement des réactions d'oxydation des fractions alcool et acide, des réactions d'hydrolyse du lien ester et des réactions de conjugaisons. Les pyréthriinoïdes se dégradent rapidement en acides carboxyliques et métabolites hydrolysables qui vont être par la suite excrétés dans l'urine (**Khemiri, 2017**).

Dans le cas de lambda-cyhalothrine, cette molécule se scinde pour produire trois principaux métabolites, l'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA), acide 3-(4hydroxy)-phénoxybenzoïque (4OH-3PBA) et l'acide 3-(2-chloro-3,3,3-trifluoropropenyl)-2, 2-diméthylcyclopropane carboxylique acid (CFMP) (fig. 3) les métabolites générés ainsi sont alors conjugués et excrétés principalement dans l'urine au bout de quelques heures (**Anonyme**).

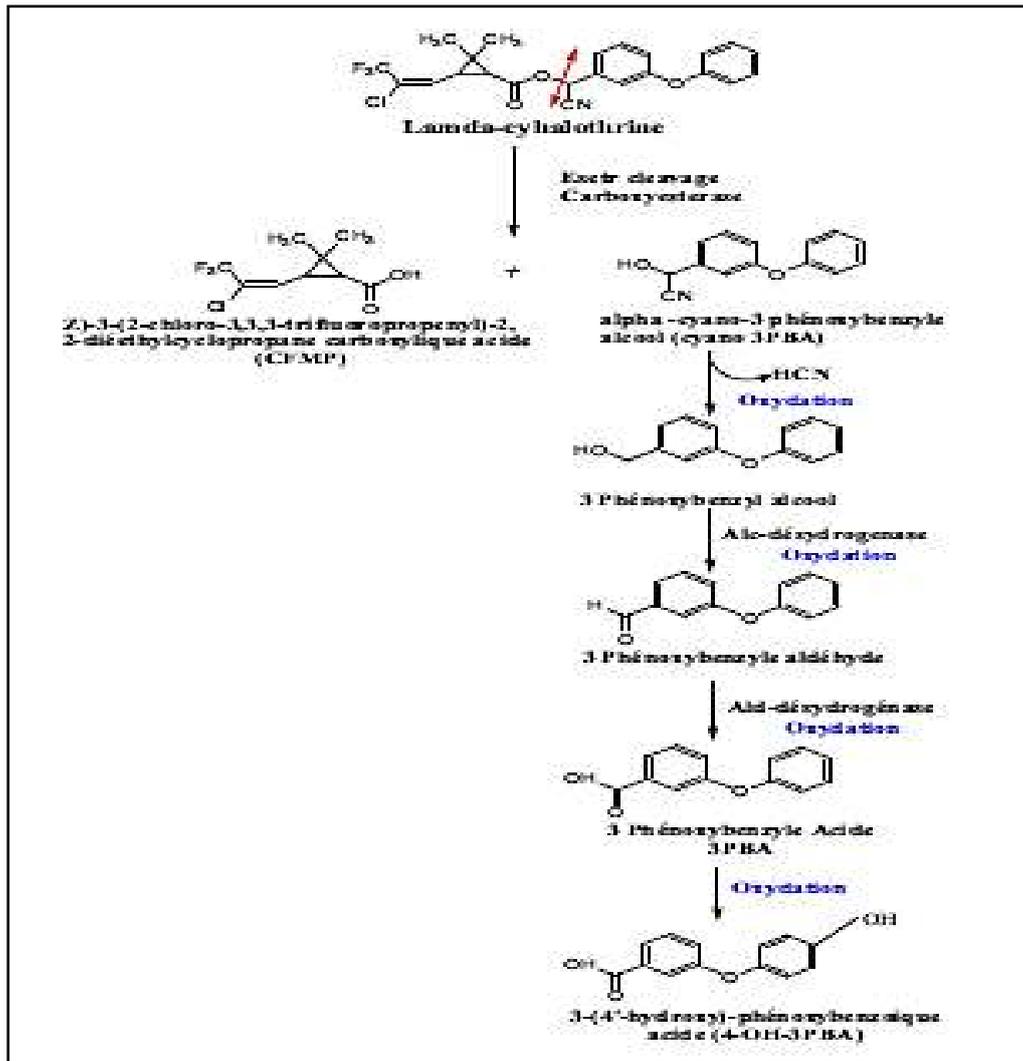


Figure 3. Métabolisme de la lambda-cyhalothrine chez les mammifères (**Anonyme**).

5.4. Elimination

La majorité des pyréthrinoïdes ont une demi-vie d'élimination rapide, les études animales disponibles montrant qu'une fois absorbé, ils sont rapidement éliminés par les reins (**Khemiri, 2017**).

Les métabolites urinaires de la lambda-cyhalothrine déjà identifiés et pouvant servir aux fins de suivi biologique de l'exposition sont l'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA), l'acide cis-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2 diméthylcyclopropane carboxylique (CFMP) (Fig.4) (**Khemiri, 2017**).

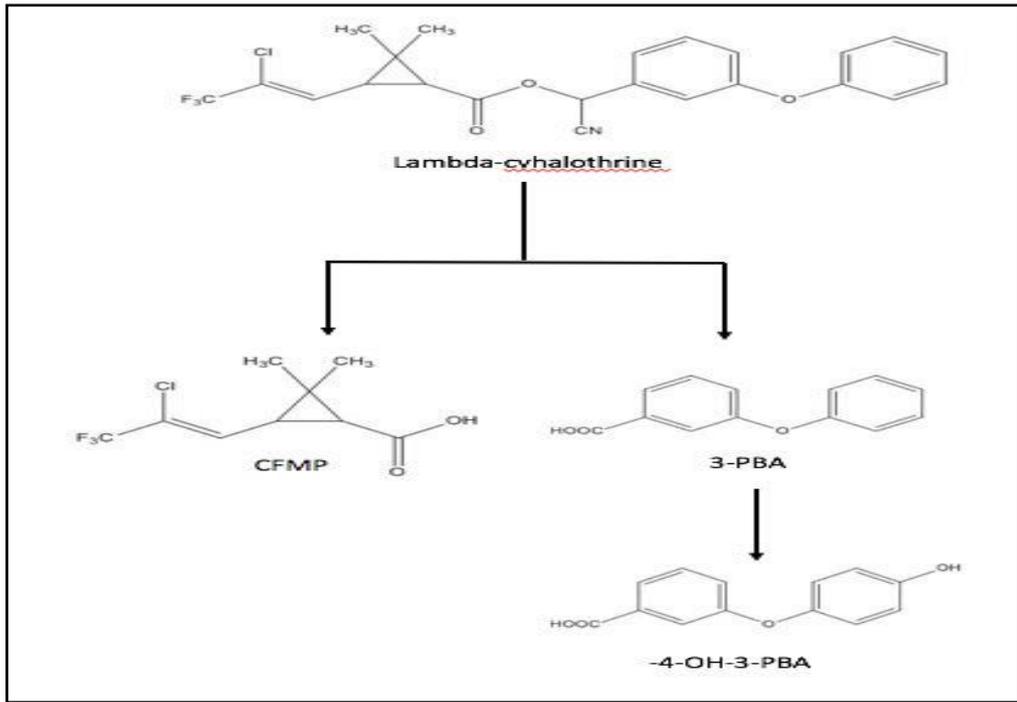


Figure 4. Structure de la lambda-cyhalothrine et ses métabolites (Khemiri, 2017).

6. Toxicodynamique

La lambda-cyhalothrine agit comme un poison axonique sur le système nerveux périphérique et central de l'insecte (Li-Ming He et al, 2008). En effet, le canal sodique voltage dépendant de la membrane des cellules nerveuses est le principal site d'action des Pyréthriinoïdes (Li-Ming He et al, 2008). Plus particulièrement la lambda-cyhalothrine inhibe la fermeture des canaux sodiques et donc perturbe le fonctionnement normal du système nerveux. Elle pénètre plus précisément la cuticule de l'insecte, perturbe la conduction nerveuse dans les minutes qui suivent; ce qui conduit à la cessation de l'alimentation, la perte de contrôle musculaire, la paralysie et la mort éventuelle (Zoumenou et al., 2015).

7. Toxicité

Comme les autres pyréthriinoïdes, la lambda-cyhalothrine est une molécule à potentiel neurotoxique non seulement pour les insectes, mais aussi pour les mammifères. Cependant, cette substance active est plus toxique chez les insectes que chez les humains, étant donné la différence inter-espèces dans la sensibilité des canaux sodiques et des différences de masse et température corporelle (Khemiri, 2017).

7.1. Neurotoxicité

Les signes de neurotoxicité après l'exposition à la lambda-cyhalothrine sont compatibles avec les signes de toxicité généralement associés aux Pyréthriinoïdes de type II. En outre, l'excitation de comportement a été observée chez certains humains qui ont été exposés à la lambda-cyhalothrine. Chez les individus gravement empoisonnés (animaux ou humains), un plus large éventail d'effets peut se développer, les plus caractéristiques semblent être la diarrhée, des nausées, et des vomissements. On note également chez les rats, les souris et lapins, des effets neurotoxiques de la lambda-cyhalothrine (**Zoumenou et al., 2015**).

7.2. Immunotoxicité

L'effet de la lambda-cyhalothrine sur la réponse immunitaire a été étudié chez le lapin exposé à l'insecticide (lambda-cyhalothrine) via les aliments. La réponse immunitaire a été évaluée par la réaction d'hypersensibilité de type retardé à la tuberculine. Les protéines sériques totales, albumine, globuline (spécialement gamma globuline) le rapport albumine / globuline et le rapport poids corporel / organe pour la rate et le thymus ont diminué de manière significative avec l'augmentation de la dose d'insecticide. De plus, différents des altérations pathologiques du foie ont également été observés. La Lambda-cyhalothrine a inhibé les réponses immunitaires humorales et à médiation cellulaire chez les animaux exposés aux concentrations testées en fonction de la dose (**Morgan et Osman, 2007**).

7.3. Hématotoxicité

Des modifications des paramètres hématologiques ont été observées chez les rats exposés à la lambda-cyhalothrine. Il a été rapporté que la lambda-cyhalothrine peut induire une diminution du nombre de globules rouges et blancs et de la concentration d'hémoglobine et de lymphocytes (**Asghar et al., 2014**).

7.4. Néphrotoxicité

Les dommages oxydatifs aux reins qui se manifestent par la formation d'espèces radicalaires superoxyde azotées, telles que le peroxydite, le monoxyde d'azote et le radical hydroxyle (OH), et sont générés par les produits de dégradation de la lambda-cyhalothrine. Ces radicaux attaquent la membrane cellulaire et la déstabilisent à la suite de la peroxydation lipidique, ce qui indique une atteinte rénale (**Khemiri, 2017**).

Chapitre I.I:

Foie en toxicologie

A decorative horizontal line with ornate, symmetrical flourishes at both ends, resembling stylized leaves or scrolls.

1. Anatomie et physiologie du foie

Le foie est un organe central très richement vascularisé qui joue un rôle important dans les métabolismes glucidique, protidique, lipidique (Alain et Alain, 2005). Il est de couleur rouge-brun, homogène. Sa surface, recouverte en grande partie de péritoine et d'une capsule fibreuse, est lisse. Il est de consistance ferme, discrètement élastique (CDU-HGE, 2014). Le foie pèse entre 1400 et 1600 g et mesure une dizaine de centimètres dans sa plus grande hauteur environ 2% du poids corporel (en moyenne 1.5 kg) (Deugnier, 2005; CDU-HGE, 2014). Il est situé dans l'hypocondre droit. Il se situe dans la loge sous-phrénique droite pour atteindre la partie supérieure du creux épigastrique ou parfois déborder dans l'hypocondre gauche (De Bari et al., 2010).

Le foie peut être divisé fonctionnellement en deux entités : le foie droit, vascularisé par la branche porte droite et le foie gauche, vascularisé par la branche porte gauche. L'anatomie de surface du foie divise le foie en deux lobes, le lobe droit (LD) est à droite du ligament falciforme et le lobe gauche (LG) à sa gauche (Lafortune et al., 2007). Le lobe droit (environ 75 % du volume) et le lobe gauche (environ 25% du volume) (CDU-HGE, 2014).

Le foie du rat est composé de cinq lobes (fig.5). La veine porte donne d'abord des branches à droite pour le lobe latéral droit ventral et le lobe latéral droit dorsal, et à gauche pour le lobe caudé puis se poursuit en une volumineuse branche gauche (BPG) pour le lobe médian et le lobe latéral gauche. Chez le rat normal la masse de ces deux lobes gauches représente environ 70 % de la masse hépatique totale (Lorand et al., 2000).

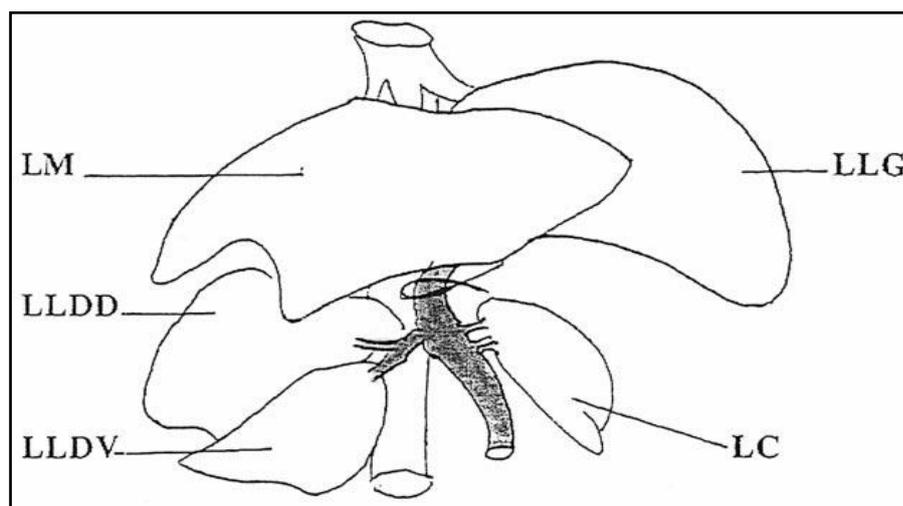


Figure 5. Anatomie du foie de rat. LM: lobe médian; LLG : lobe latéral gauche; LLDD: lobe latéral droit dorsal; LLDV: lobe latéral droit ventral; LC: lobe caudé (Lorand et al., 2000).

L'apport sanguin hépatique est double :

- Par la veine porte qui draine le territoire splanchnique (veine splénique, veine mésentérique supérieure et veine mésentérique inférieure) et apporte les 2/3 du volume sanguin hépatique.
- Par l'artère hépatique issue du tronc coélique.

L'ensemble veine porte - artère hépatique constitue, avec le canal cholédoque, le pédicule hépatique. La ramification de ce pédicule permet d'isoler 8 segments (Fig.6).

Le sang quitte le foie par trois veines sus-hépatiques principales (droite, médiane et gauche) et des veines accessoires qui drainent le segment 1 (ou lobe de Spiegel), Les veines sus-hépatiques principales délimitent 4 secteurs composés chacun de 1 à 2 segments: latéral gauche (segments 2 et 3), paramédian gauche (segment 4), paramédian droit (segments 5 et 8) et latéral (ou postérieur) droit (segments 6 et 7). Elles se jettent dans la veine cave inférieure (Deugnier, 2005).

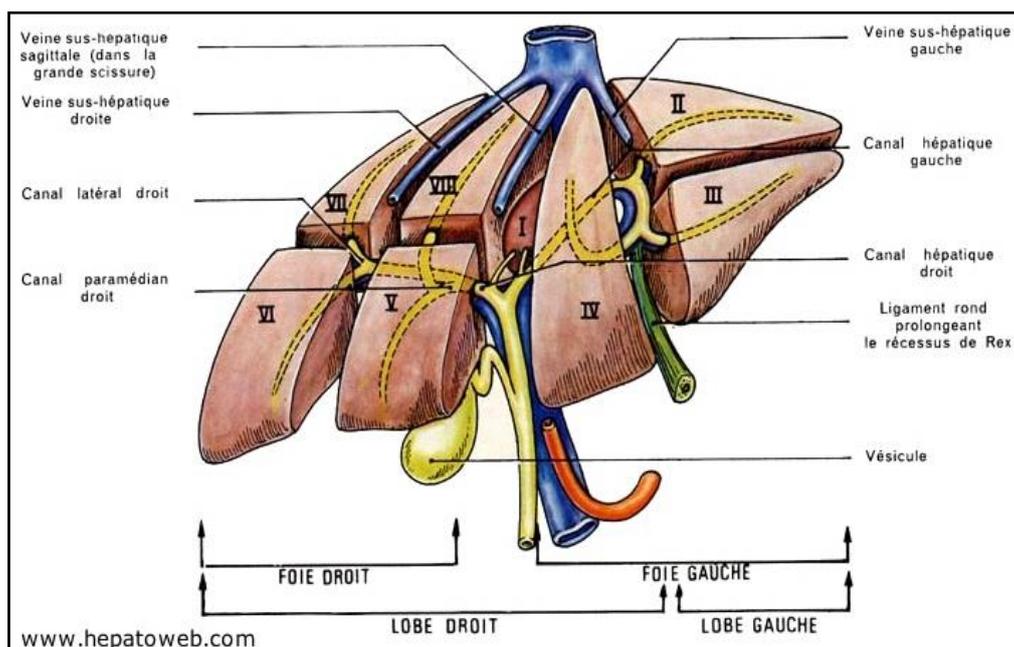


Figure 6. Segmentation hépatique [site 01].

- Le segment 1 correspond au lobe de Spiegel et à la partie du foie en avant de la veine cave.
- Le segment 2 correspond au secteur postérieur gauche.
- Les segments 3 et 4 correspondent au secteur antérieur gauche.
- Le segment 5 correspond à la partie inférieure et le segment 8 à la partie supérieure du secteur antérieur droit.
- Le segment 6 correspond à la partie inférieure et le segment 7 à la partie supérieure du secteur postérieur droit.

segment postérieur droit (**De Bari et al., 2010**).

2. Les cellules hépatiques

Le foie est constitué de cellules hépatiques (hépatocytes) organisées en travées autour des sinusoides. L'unité fonctionnelle du foie est le lobule hépatique. Ses échanges avec le reste du corps se font pour la plupart à travers sa double irrigation sanguine (veine porte et artère hépatique), qui se termine par une multitude de capillaires jusqu'à l'intérieur du foie (**De Bari et al, 2010**).

Environ 80 % des cellules hépatiques sont des hépatocytes mais il existe d'autres types cellulaires:

- ✓ **Cellule endothéliale:** La cellule endothéliale limite la sinusoides et empêche le sang de s'immiscer dans l'espace de Dix tout en autorisant, par son système de pores, les échanges entre le plasma et l'hépatocyte.
- ✓ **Cellule de Kupffer:** Il s'agit d'un macrophage résident qui situé à l'intérieur du la sinusoides, a pour fonctions d' « épurer » le sang sinusoidal des impuretés non arrêtées par la barrière intestinale (endotoxines bactériennes, particules minérales ou virales...).
- ✓ **Cellule étoilée du foie:** (CET également dénommée cellule de Ito ou cellule périsinusoidale). Située dans l'espace de Dix, la CET a pour fonctions (1) le stockage de la vitamine A et (2) la synthèse de la matrice extracellulaire hépatique (**Deugnier, 2005**).

3. Fonction

Le foie est un organe assure des fonctions essentielles à l'homéostasie de l'organisme (**CDU-HGE, 2014**). Il s'agit de:

- **Fonction nutritionnelle:** Dont le métabolisme des glucides : par formation de glucose à partir d'acides aminés ou à partir de glycogène, il est le seul organe à passer de producteur à stockeur de glucose. Aussi plus important dans le métabolisme des lipides : synthèse et dégradation du cholestérol, production de triglycérides, synthèse de lipoprotéines.
- **Fonction sanguine:** Dont le métabolisme des protéines : le foie est responsable de la production des facteurs de la coagulation (fibrinogène par exemple), destruction des hématies et leucocytes vieilliss, ainsi que de certaines bactéries présentes dans le sang, transformation de la bilirubine libre (toxique) en bilirubine conjuguée (non toxique).
- **Fonction de détoxification:** destruction des toxines et des pesticides (clairance hépatique), conversion de l'ammoniac en urée.

- **Fonction martiale:** le foie est le site de stockage d'une multitude de substances, dont la vitamine B₁₂, le fer, le cuivre et le glucose. Celles-ci sont stockées lors de la destruction des hématies (**De Bari et al., 2010**).

4. Hépatotoxicité

L'hépatotoxicité est définie comme le pouvoir qu'une substance (comme les pesticides en particulier la lambda-cyhalothrine) de provoquer des dommages au niveau du foie (**Therrien, 2009**). La lambda-cyhalothrine (LCT) a été rapporté que l'exposition de rats a conduit à une hépatotoxicité due à sa toxicité chez le rat (**Al-Amoudi, 2018**).

Le foie est considéré comme un site majeur de stockage, de biotransformation et excrétion de pesticides. chez les sujets exposés à la lambda-cyhalothrine étaient caractérisées par une hypertrophie des hépatocytes, une dégénérescence, des troubles hépatiques, une congestion, une caryolyse caryohexis, dilatation des sinusoides et nécrose focale (**Velmurugan et al., 2007**).

Au niveau du foie les pesticides est susceptible aussi d'entraîner diverses lésions telles que la stéatose, la nécrose, l'hépatite aiguë, la fibrose ou la cirrhose. Néanmoins, la fréquence de ces maladies est liée à la dose consommée et à la durée de l'exposition.

La toxicité du foie se manifeste sous forme d'inflammation (on parlera d'hépatite) ou encore de nécrose (mort des cellules du foie), dans les cas plus sévères. La stéatose hépatique survient lorsqu'il y a accumulation de gras dans le foie (**Therrien, 2009**).

Plusieurs études ont montré la relation entre l'exposition à des insecticides pyréthrinoïdes et les dommages au niveau du foie, étant donné que ce dernier est le site de métabolisme de tous les pesticides (**Khemiri, 2017**).

Chapitre I.I.I.

Stress Oxydant



L'oxygène, molécule indispensable pour la vie, peut provoquer des dégâts cellulaires importants par formation d'espèces oxygénées activées (EOA) (Pincemail et al., 2002 ; Gardès-Albert et al., 2003). La différence entre le potentiel délétère de l'oxygène et les mécanismes de défenses antioxydantes de l'organisme constitue le stress oxydant. (Pincemail et al., 2009). La présente étude a été conçue évaluer les dommages oxydatifs induite par la lambda-cyhalothrine sur les cellules hépatiques chez le rat.

En situation physiologique, les EOA sont présentes dans la cellule à des doses raisonnables: leur concentration est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants. (Migdal et Serres, 2011).

1. Définition

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre les espèces pro-oxydantes et antioxydantes (fig.7) (Durand et al., 2013). Donc, il y'a un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires antioxydantes. (Migdalet Serres, 2011). Ce déséquilibre conduit potentiellement à des dégâts structuraux et fonctionnels (Bensakhria, 2018).

Il est aussi une circonstance anormale que résulte d'une augmentation de la production des ERO comme la consommation élevée d'O₂ au cours d'une activité sportive intense consommatrice d'énergie, d'autres réduisent les capacités antioxydantes tels que le déficit enzymatique (Favier, 2006; Bensakhria, 2018). Également une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera à l'apparition d'un stress oxydant. (Pincemail et al., 2002).

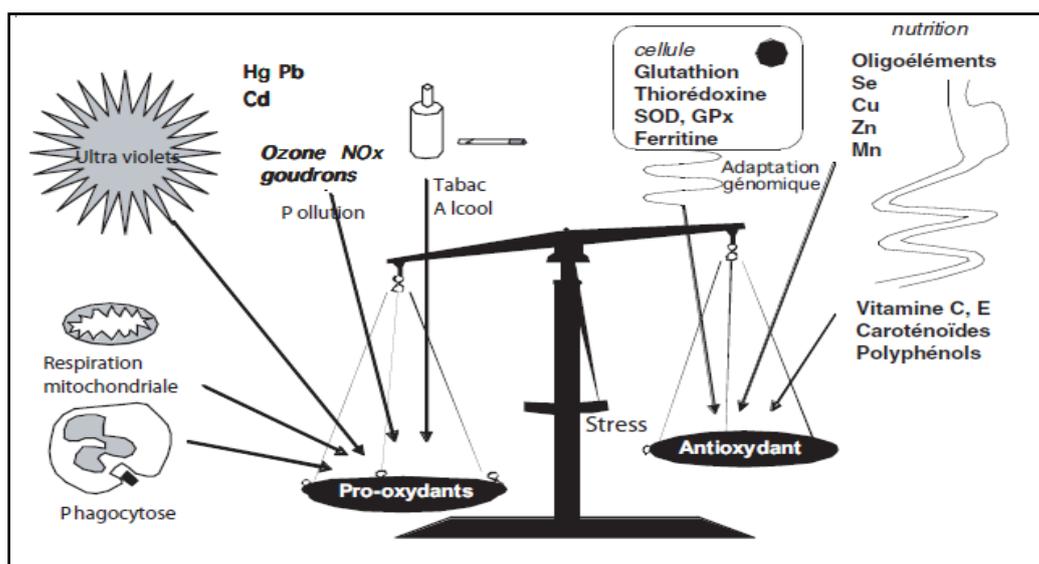


Figure 7. La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006).

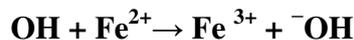
Les ERO ou les radicaux libres (R°) sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés (célibataire) sur leur couche externe (**Tessier et Marconnet, 1995; Gardès-Albert et al., 2003**). Ce sont des espèces chimiques instables, très réactives, et possèdent un temps de demi-vie extrêmement court (10^{-9} - 10^{-6} S) (**Tessier et Marconnet, 1995**). Lorsque cet électron célibataire est situé sur un atome d'oxygène, on parle alors « d'espèces réactives de l'oxygène » (ERO) ou « reactive oxygen species » (ROS). Les principales espèces radicalaires centrées sur l'oxygène sont rapportées dans le Tableau 02 (**Durand et al., 2013**).

Tableau 02. Principales espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant (**Durand et al., 2013**).

$O_2^{\bullet -}$	Radical superoxyde
HO_2^\bullet	Radical perhydroxyle
$\bullet OH$	Radical hydroxyle
ROO^\bullet	Radical peroxyde
RO^\bullet	Radical alcoxyle

Les ERO aussi peuvent oxyder un substrat selon trois modes d'action:

- arrachement d'un électron, ex. :



- arrachement d'un atome d'hydrogène sur un substrat organique RH, ex.:



- addition sur un double liaison, ex.:



Les principales espèces réactives de l'oxygène sont l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) (fig.8). Le radical hydroxyle (OH^\bullet), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'oxygène singulet (1O_2), Le monoxyde d'azote radicalaire ou NO^\bullet les métaux de transition, comme le Fe^{2+} et le Cu^{2+} , agissent comme catalyseurs dans la formation du radical hydroxyle (**Haleng et al., 2007**). Les ERO ont longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène et impliquées dans de nombreuses pathologies (**Migdal et Serres, 2011**).

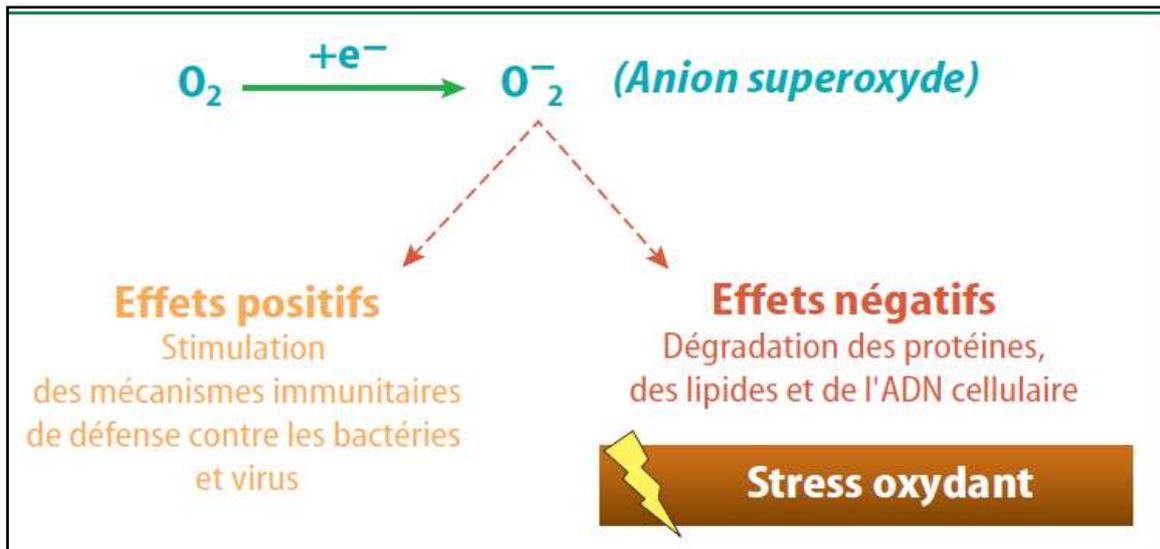


Figure 8. Les effets de l'anion superoxyde (Menvielle-Bourg, 2005).

2. Action de stress oxydant

2.1. Action non délétère (rôle biologique)

Les ERO jouent le rôle de seconds messagers, régulant plusieurs processus physiologiques moléculaires cellulaires et tissulaires. Elles participent dans la défense antibactérienne au cours des réactions de cytotoxicité face aux agents pathogènes, la destruction par apoptose des cellules tumorales, la transduction de signaux cellulaires, la régulation des gènes par un phénomène appelé contrôle redox des gènes, la modulation du métabolisme cellulaire par interaction ligand – récepteur, le développement embryonnaire, la croissance, la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire (Bensakhria, 2018).

2.2. Actions délétères

2.2.1. Dommages oxydatifs des lipides

Les acides gras polyinsaturés (RH) comme les acides linoléiques ou arachidonique sont les cibles privilégiées des EOA et plus particulièrement, des radicaux libres, ces dernières vont créer des dommages cellulaires et notamment des destructions membranaires, appelées peroxydation des lipides ou lipoperoxydation (Pincemail et al., 2009; Gismondi, 2012). Un insecticide pyréthrinoïdes tel que la lambda-cyhalothrine a été trouvé et s'accumuler dans les membranes biologiques entraînant des dommages oxydatifs. Il a été suggéré que certains effets directement liés aux pesticides, la toxicité pourrait être due à des modifications de la fluidité membranaire des lipides et inhibition des activités enzymatiques (Abbassy et al., 2014).

La peroxydation lipidique: c'est l'ensemble des phénomènes d'oxydation non enzymatique (dégradation) non spécifiques des lipides. Ce mécanisme cible les constituants membranaires,

principalement les acides gras polyinsaturés (-CH=CH-CH₂-CH=CH-), les lipides circulants (lipoprotéines), et le cholestérol non estérifié (libre) (Bensakhria, 2018).

La peroxydation lipidique qui se produit en 3 étapes (Fig.9): initiation, propagation et terminaison.

L'étape d'initiation correspond à l'attaque d'un atome d'hydrogène d'un acide gras, par un ROS, aboutissant à la formation d'un radical lipidique qui subit alors un réarrangement moléculaire afin d'être plus stable.

La seconde étape est une propagation du phénomène de lipoperoxydation, par une réaction entre le radical lipidique et l'oxygène, formant un radical peroxy lipidique très réactif avec les lipides membranaires adjacents. En effet, ce radical va à son tour arracher un atome d'hydrogène à un lipide voisin, provoquant une réaction en chaîne conduisant à la production de radicaux lipidiques et d'hydroperoxydes.

La phase terminale de la lipoperoxydation consiste en la formation de composés stables à partir de deux radicaux lipidiques. Cette phase reste cependant tardive du fait que la probabilité de rencontre entre deux radicaux lipidiques est plus faible que la probabilité de rencontre entre un radical lipidique et un ROS (Gismondi, 2012).

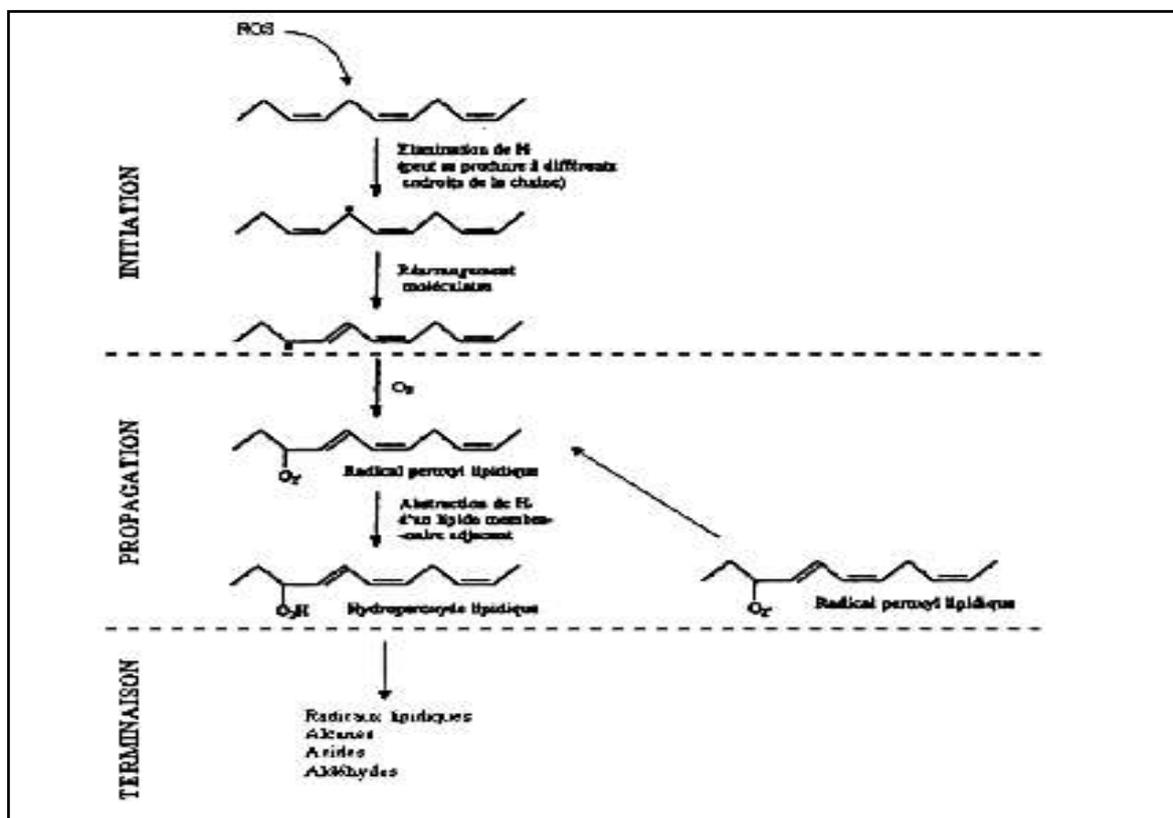


Figure 9. Mécanisme de peroxydation des lipides (Gismondi, 2012).

La lipoperoxydation conduit à la formation de différents hydroperoxydes lipidiques qui sont à l'origine d'aldéhydes, d'acides gras et de traces d'hydrocarbures. Parmi les aldéhydes, on retrouve le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE). Le malondialdéhyde (MDA) est un β -dialdéhyde tricarboné (Fig.10) C'est le composé le plus étudié pour définir l'effet toxique d'un xénobiotique sur l'organisme, c'est pourquoi il est qualifié de biomarqueur d'effets toxiques (Gismondi, 2012).

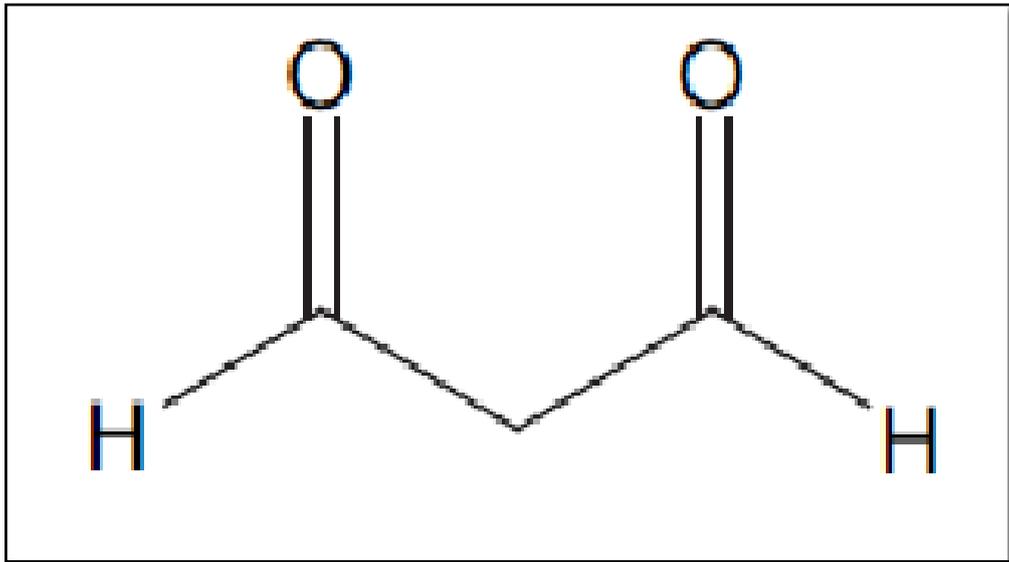


Figure 10. Structure chimique du malondialdéhyde [Site02].

➤ Conséquences

- Une atteinte de l'intégrité des structures membranaires.
- Dysfonctionnements cellulaires.
- Modification de la structure des lipoprotéines.
- Amplification des dommages cellulaires (Bensakhria, 2018).

2.2.2. Dommages oxydatifs des protéines

Les modifications des structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines par les EOA sont à la base de la formation de dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés. Le dinitrophényl hydrazone (DNPH), parmi ces dérivés carbonylés qui peuvent être mis en évidence dans les échantillons biologiques (Pincemil et al., 2009). Les acides aminés les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non- reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (Haleng et al., 2007).

➤ **Conséquences**

- Des inhibitions enzymatiques.
- Perte de spécificité ligand-récepteur.
- Dénaturation des épitopes antigéniques.
- Perturbations métaboliques.
- États pro-inflammatoires.
- Échappement à la dégradation et accumulation tissulaire (**Bensakhria, 2018**).

2.2.3. Dommages oxydatifs de l'AND

La Guanosine, une des quatre bases qui constituent l'ADN, est sensible à l'attaque des EOA et se transforme en 8-hydroxy-2' déoxyguanosine (8-OHdG) (fig.11). Lors de la réplication de l'ADN, la 8-OHdG se couple avec l'adénine, ce qui provoque une mutation génétique dans le brin fille de l'ADN, pouvant conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (**Haleng et al., 2007; Pincemail et al., 2009**).

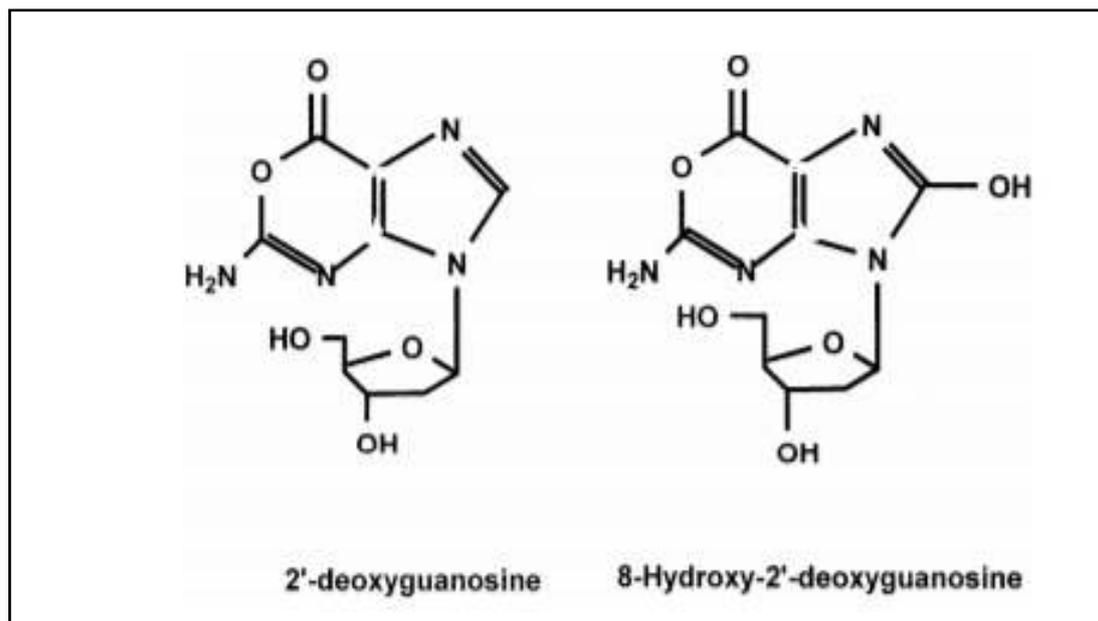


Figure 11. Structure du 8-hydroxy-2' déoxyguanosine (**Abu-Qare et Abou-Donia, 2000**).

➤ **Conséquences**

- Altération de la fonction mitochondriale.
- Formation d'espèces mutagène.
- Activation des systèmes de réparation (**Bensakhria, 2018**).

3. Systèmes de défense antioxydants

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de molécules de défense antioxydante (Fig. 12) (**Kehili et al., 2017**). Dans leur

définition du terme antioxydant, désignent «toutes substances qui présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent la formation des EOA» (Durand *et al.*, 2013).

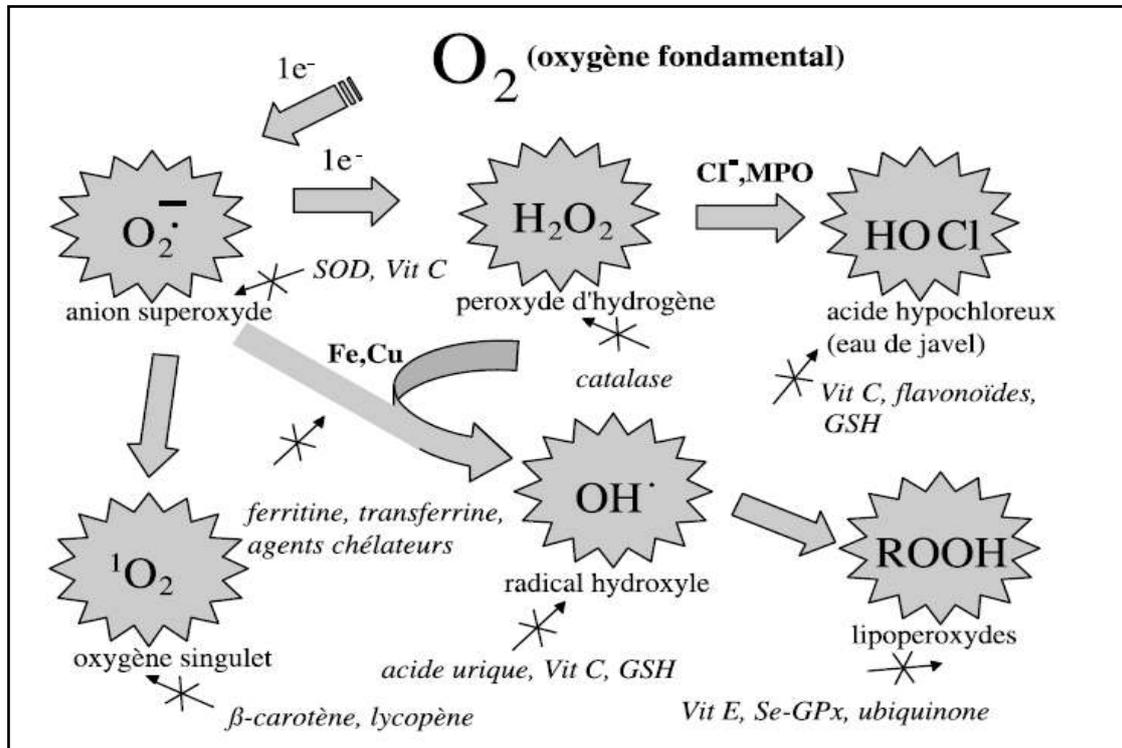


Figure 12. Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défenses antioxydantes (Haleng *et al.*, 2007).

Cette production physiologique d'ERO est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes et également par des systèmes non enzymatiques (Fig.13). Pour cela, les organismes ont développé des systèmes de détoxication leur permettant de se défendre contre la surproduction de ROS (Pincemail *et al.*, 2002; Gismondi, 2012).

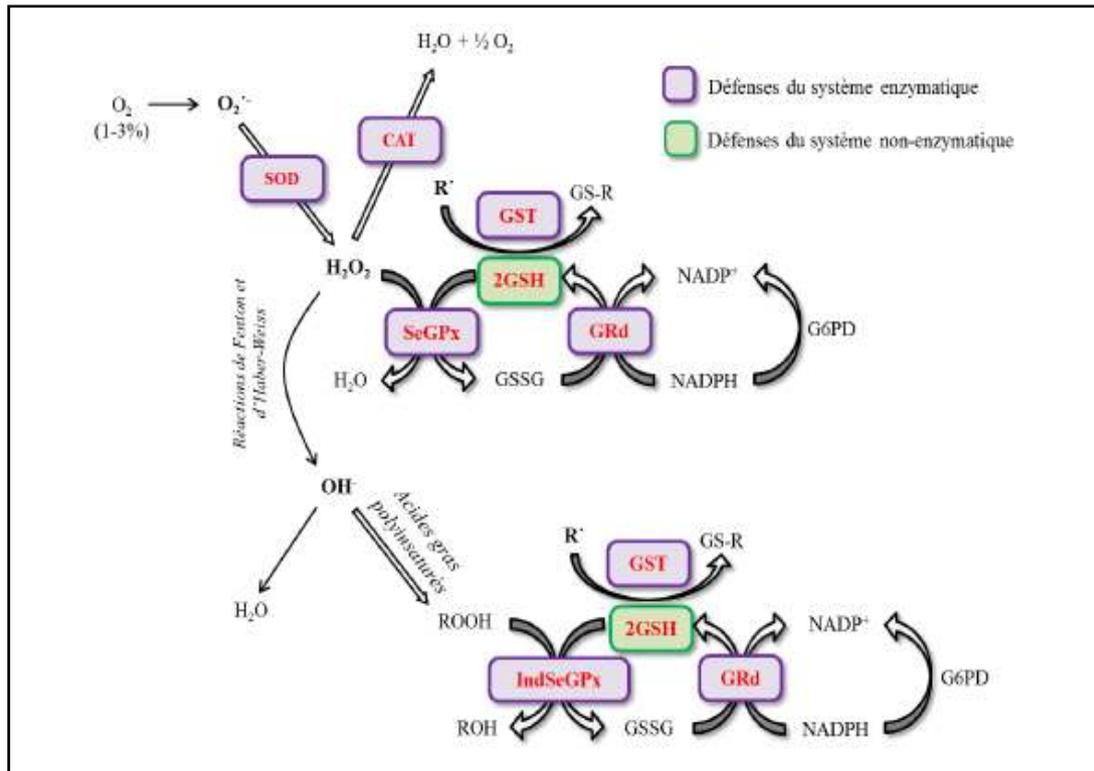


Figure 13. Schéma des systèmes enzymatiques et non-enzymatiques de détoxication des ROS.

SOD: superoxyde dismutase ; CAT: catalase ; SeGPx: glutathion peroxydase-sélénium dépendant ; IndSeGPx: glutathion peroxydase-sélénium indépendant ; GST: glutathion S-transférase; GRd: glutathion réductase ; GSH: glutathion réduit (**Gismondi, 2012**).

3.1. Systèmes antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques (Fig.14) sont considérés comme la 1ère ligne de défense contre les différentes espèces oxydantes. Leur rôle principal est de diminuer la quantité des ROS dans la cellule (élimination des radicaux libres primaires) (**Chiali, 2014; Bensakhria, 2018**). Les trois principaux représentants de l'équipement enzymatique antioxydant sont le superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) et glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes agissent sur les radicaux libres primaires puisqu'elles permettent la transformation de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène en produits non toxiques (**Tessier et Marconnet, 1995**).

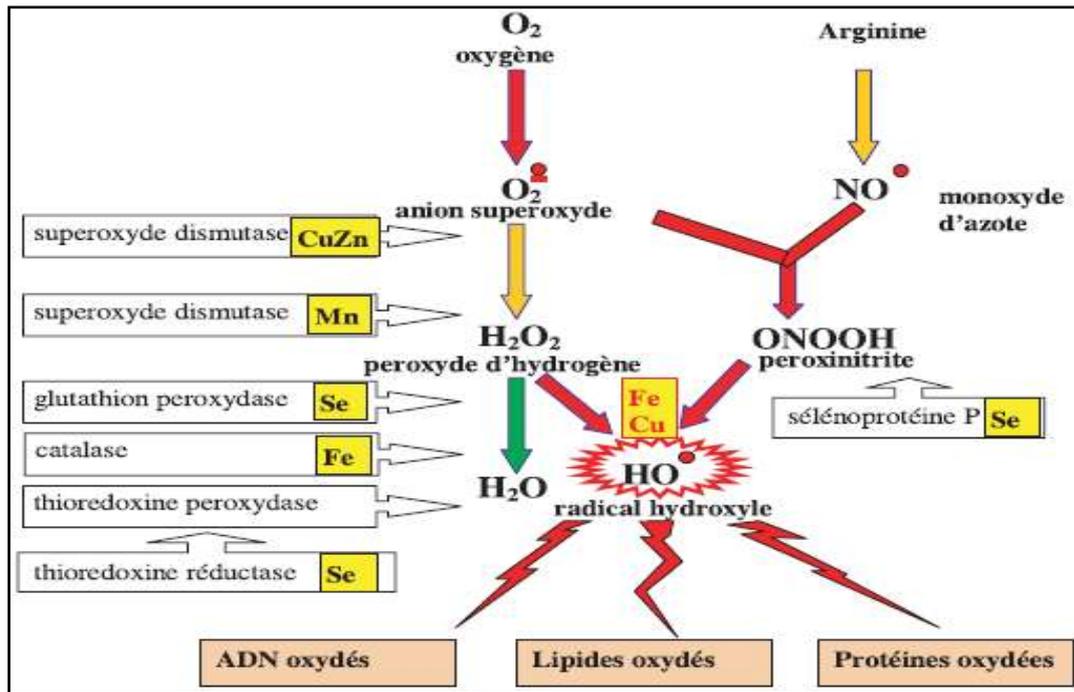


Figure14. Systèmes antioxydants enzymatiques (Favier, 2003).

3.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

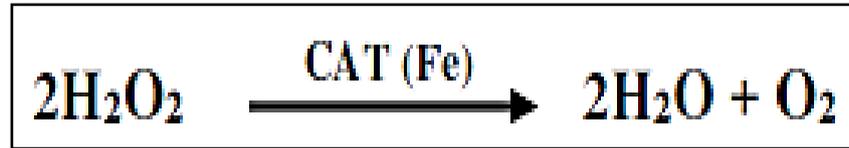
Les superoxydes dismutases (SOD) ont un rôle important dans la prise en charge de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$. Elles constituent une première ligne de défense efficace pour empêcher l'accumulation cellulaire de l'anion super-oxyde. Elles assurent l'élimination de l'anion super-oxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et en oxygène O_2 (Haleng et al., 2007; Gismondi, 2012; Bensakhria, 2018). L'élimination de l'anion superoxyde selon la réaction suivante:



Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes: la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (Haleng et al., 2007).

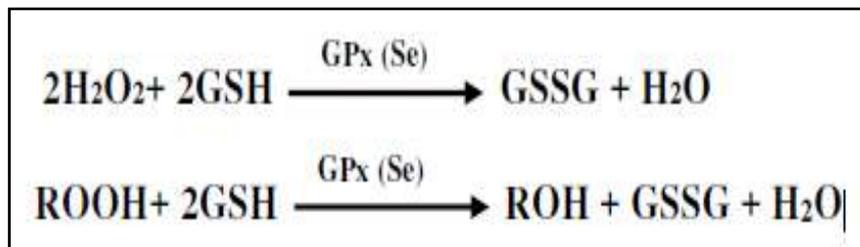
3.1.2. Catalase (CAT)

La catalase, qui est principalement localisée dans les peroxysomes, permet l'élimination du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 formé par exemple lors de la dismutation de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ (voir ci-dessus) en catalysant sa réduction en eau H_2O et oxygène O_2 (Gismondi, 2012).



3.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

C'est une enzyme qui empêche la formation des radicaux libres chez les mammifères. La GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) présente dans le cytosol et la mitochondrie. Elle peut réduire d'une part l' H_2O_2 en H_2O et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcool (ROH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. Sa synthèse étant rénale et hépatique, d'autres facteurs tels que l'insuffisance rénale ou la cytolyse hépatique peuvent modifier sa concentration (Gasmi, 2018 ; Haleng *et al.*, 2007).



3.2. Systèmes antioxydant non enzymatiques

Les antioxydants non-enzymatiques (Tableau. 3) sont complémentaires des antioxydants enzymatiques dans la prise en charge des ROS. Il existe diverses molécules antioxydantes liposolubles (vitamine E, vitamine A) et hydrosolubles (vitamine C, glutathion) (Gismondi, 2012).

Tableau 03. Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées
(Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Principaux nutriments antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs, noix
β -carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés
Sélénium	Poisson, œufs viandes, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huitres, produits, laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises
Tanis	Lentilles, thé, raisins, vin
Métabolisme de la cystéine, glutathion	Caséine, lactalbumine (petit-lait), produilaitiers, brocoli, chou, œufs, poissons, viandes

3.2.1. Glutathion (GSH)

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine) impliqué dans l'inactivation des espèces oxygénés actives, ainsi que dans la régénération de certains composés aux propriétés antioxydantes, comme la vitamine E. qui est présent sous forme essentiellement réduite (GSH) qui est sa forme active. Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress (Haleng *et al.*, 2007; Gismondi, 2012).

Le glutathion réduit (GSH) est le substrat indispensable aux réactions qui éliminent les peroxydes à partir de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx). Au cours de l'oxydation du glutathion, deux molécules de GSH se lient en formant un pont disulfure (S-S) par l'oxydation du groupement SH de chaque systéines de cette réaction résulte la formation de glutathion oxydé (GSSG) (Tessier et Marconnet, 1995).

3.2.2. Vitamine E (α -tocophérol)

La vitamine E est le principal antioxydant liposoluble chez l'homme, les formes prédominantes sont l' α -tocophérol (la plus active et plus efficace, notamment dans la détoxification des radicaux peroxydes et alkoxydes et donc dans la prévention des réactions en chaîne de la peroxydation lipidique (Goudable et Favier, 1997; Chiali, 2014; Bensakhria, 2018).

3.2.3. Vitamine C (acide ascorbique)

La vitamine C, hydrosoluble, est le cofacteur de plusieurs enzymes est joue le rôle d'agent réducteur. Cette vitamine est capable de réagir directement avec les radicaux superoxydes, hydroxydes et l'oxygène singulet. Paradoxalement, elle peut jouer le rôle d'antioxydant, comme celui de pro-oxydant. Les vitamines E et C agissent en synergie: la première, comme antioxydant majeur, la seconde comme régénératrice de vitamine E (fig. 15) (inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E) (Tessier et Marconnet, 1995).

La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie. Elle est, avant tout, un excellent piègeur des EOA ($\text{HO}\cdot$ ou $\text{O}_2\cdot^-$) (Haleng et al., 2007).

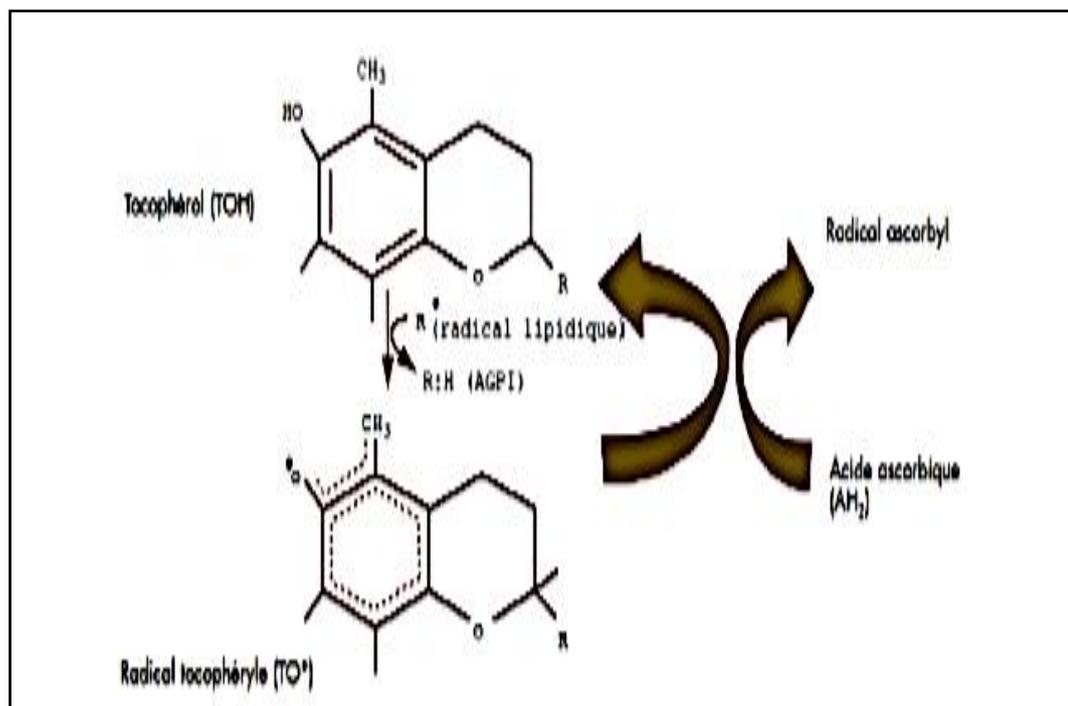


Figure 15. Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la peroxydation lipidique (Redouane Salah et Flih, 2015).

3.2.4. Vitamine A (β -carotène)

Le β -carotène est apporté par l'alimentation. Il est doué de plusieurs capacités: il est précurseur de la vitamine A, il capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation (**Goudable et Favier, 1997**). Le β -carotène agit comme un antioxydant, liposoluble, complétant efficacement le rôle de la vitamine E (**Tessier et Marconnet, 1995**).

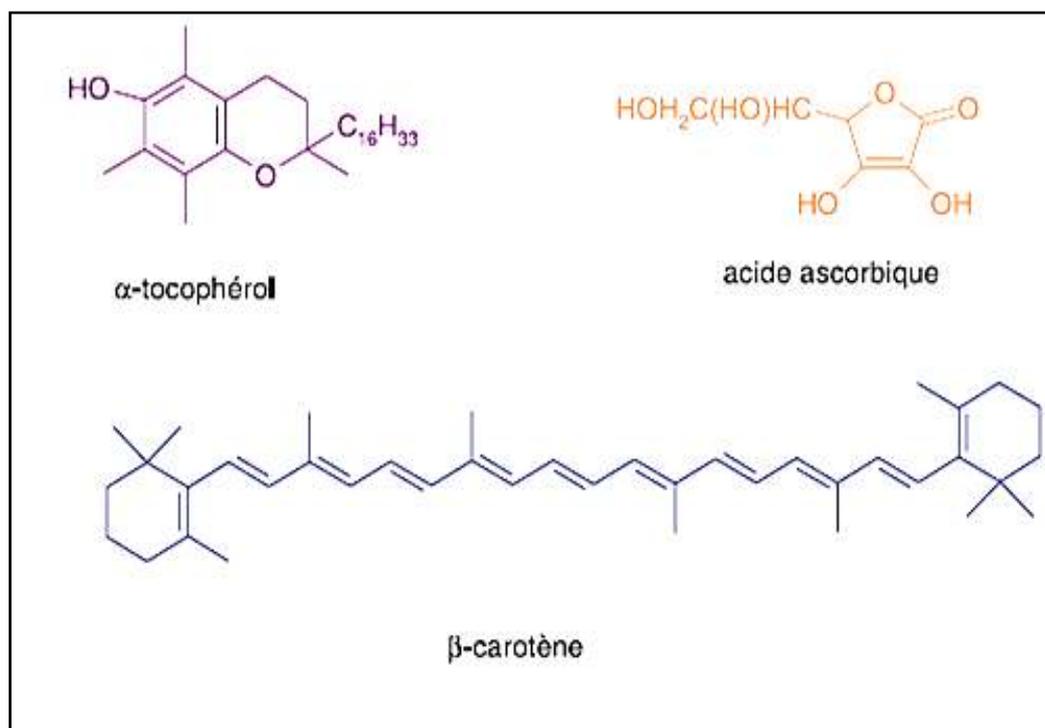


Figure 16. Antioxydants d'origine alimentaire : α -tocophérol (vitamine E), acide ascorbique (vitamine C), β -carotène (famille des caroténoïdes) (**Gardès-Albert et al., 2003**).

Dans cette catégorie, il y a d'autres vitamines qui agissent directement sur les ERO comme la Vitamine P (flavonoïdes), Coenzyme Q10 (**Bensakhria, 2018**).

4. Liaison entre le stress oxydatif et les maladies hépatiques

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies, incluant l'obésité, le diabète, l'athérosclérose, le vieillissement, le cancer, l'Alzheimer, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires et aussi les maladies hépatiques (**Kehili et al., 2017 ; Favier, 2003**). (fig. 17)

Il est impliqué également dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. La multiplicité des conséquences médicales de ce stress n'a rien de surprenant car, selon les maladies, celui-ci se localisera à un tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu.

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (Favier, 2003).

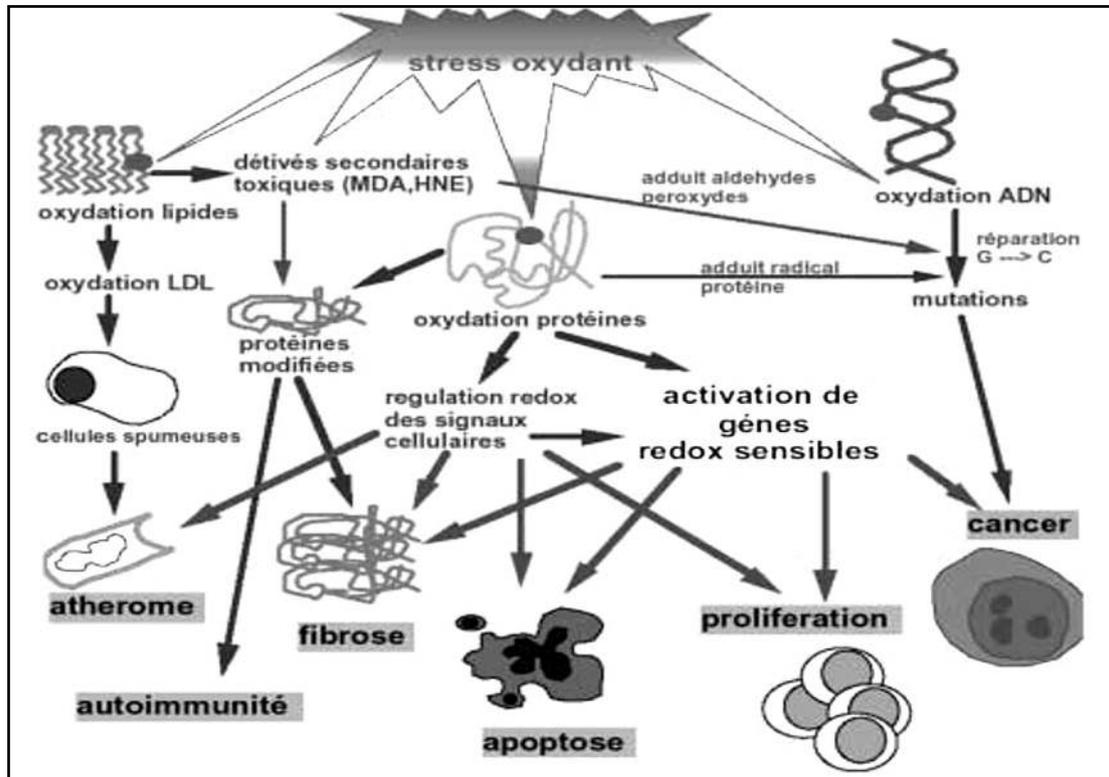


Figure 17. Conséquences pathogènes du stress oxydant (Favier, 2006).

Les causes essentielles de ce stress oxydant sont: soit d'origine nutritionnelle dans les cas de carences en vitamines et oligo-éléments, ou inversement de surcharges en facteurs prooxydants (fer, acides gras), soit d'origine accidentelle (inflammation, exposition à des xénobiotiques prooxydants...), soit d'origine génétique. Le plus souvent, l'association de ces différents facteurs aboutira au mécanisme pathogène (Favier, 2003).

Partie Pratique



Matériel et Méthodes



I. Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Produits chimiques

Lambda-cyhalothrine (LCT), un insecticide synthétique à base de pyréthrianoïde portant le nom commercial "KARATE", nom chimique CAS (R1S)-a-cyano-3- (phénoxyphényl(méthyl-(1S1R)-cis-3-(2-2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-ényl)-2,2-diméthylcyclopropane-le carboxylate, numéro de registre CAS 91465-08-06. Dans cette étude Nous avons choisi deux (02) doses de lambda-cyhalothrine (5mg/kg/j et 10mg/kg/j) administrées chroniquement par voie orale pendant 3 mois. Le choix de ces doses est basé sur des études réalisées sur la toxicité aiguë de la lambda-cyhalothrine chez les rats mâles exposés à 80 mg / kg de poids corporel au moyen de gavage (**Mate et al., 2010**).

1.2. Animaux de laboratoire

Dans cette étude, nous avons utilisé 18 rats mâles de la souche Wistar(fig. 18), provenant de l'institut Pasteur d'Alger, ayant un poids corporel compris entre 180-250g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche.



Figure 18. Rat Wistar (photo personnelle).

2. Méthode

2.1. Entretien des animaux.

Les rats mâles ont été soumis à une période d'adaptation de deux (02) mois, aux conditions de l'animalerie de département de biologie, Faculté des Sciences, Université de Tébéssa et à une température ambiante de 25°C. Ils ont été nourris par un régime alimentaire standard, l'eau est quotidiennement renouvelée. Les rats mâles sont élevés dans des cages en polyéthylène et ont été répartis en trois (03) groupes de six (06) rats chacun. Les cages sont nettoyées et la litière est changée une fois par jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.

2.2. Mesure de poids

La mesure de poids est effectuée sur les rats tous les jours d'une façon régulière pendant la durée d'élevage, soit au cours de l'adaptation (pour l'évaluation des changements possibles par la nourriture ou le lieu (facteurs externes) ou au cours de traitement (pour évalue les effets des pesticides) à l'aide de balance électronique (fig. 19).



Figure 19. Mesure du poids du rat Wistar (photo personnelle).

2.3. Lotissement et traitement

Le traitement des rats a été réalisé pendant trois (03) mois par voie orale (fig. 20) selon leurs poids corporel en administrant une dose de 5mg/kg/j et une dose de 10mg/kg/j du lambda-cyhalothrine. Les rats témoins ont été traités par l'eau uniquement. Vingt-quatre heures après l'arrêt du traitement, le prélèvement de foie a été fait après la décapitation des rats pour servir le dosage des différents paramètres.



Figure 20: Traitement des rats par voie orale (photo personnelle).

Le lotissement et le traitement des animaux dans notre expérimentation sont récapitulés dans la figure 22 et illustrés comme suit :

- **Lot n°01:** contient 06 rats témoins, reçoit l'eau distillée par voie orale pendant 03 mois.
- **Lot n°02:** contient 06 rats traités par une dose de 5mg/kg/j du lambda-cyhalothrine pendant 03 mois.
- **Lot n°03:** contient 06 rats traités par une dose élevée de 10mg/kg/j du lambda-cyhalothrine pendant 03 mois.

2.4. Sacrifice et prélèvement du foie

Après 3 mois du traitement, on a sacrifié les rats. le prélèvement des organes a été fait au niveau de l'animalerie de l'université de Tébéssa, Après une récupération de foie, il a été prélevés et pesés puis stockés dans le congélateur pour le dosage des différents paramètres métaboliques (biochimiques) et enzymatiques (fig. 21).



Figure 21. Extraction du foie (photo personnelle).

2.5. Estimation du poids relatif du foie

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

PF: Poids du foie (g).

PT : Poids total de rat (g).

PRF: Poids relatif de foie (%)

2.6. Préparation des échantillons cytosoliques

Un gramme de tissu hépatiques a été homogénéisé dans 2ml de solution de tampon phosphate salin (PBS; pH 7.4). Ensuite les homogénats ont été centrifugés à 3000t/min pendant 15min à 4°C et le surnageant résultant a été utilisé pour la détermination de taux de MDA, GSH et l'activité enzymatique de GST, GPx, et CAT.



Figure 22. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

3. Méthodes de dosage

3.1. Paramètres métaboliques

3.1.1. Dosage des lipides

Les lipides tissulaires sont évaluée selon la méthode **Goldsworthy et al., (1972)**, on utilise 200µl d'homogénat dans 5ml de l'acide trichloro acétique 20% (TCA), on broyé et ont filtré ce mélange; et directement ont appliqué une centrifugation à 5000t/min pendant 10min. Le culot est gardé dans tube contient 1ml du mélange Ether/Chlorophorme, et après centrifugé ce mélange a 5000t/min pendant 10min, on prélève 100µl du surnageant, auquel on ajoute 1ml de l'acide sulfurique et en met après agitation les tubes dans un bain marie à 100°C pendant 10min.

Après refroidissement, on prélève encore une fois au moyen d'une micropipette 200µl de l'extrait auquel on ajoute 2.5ml du mélange sulfophospho vanillinique à 85% (0.38g vanilline+195ml acide orthophosphorique+55ml H₂O) et laissé ce mélange 30min à l'obscurité, la lecture à une longueur d'onde 530nm.

Le calcul des concentrations réelles se fait à partir de l'équation déduite de la gamme d'étalonnage réalisée à partir d'une solution mère préparée en utilisant de l'huile de tournesol (**Annexes**).

3.1.2. Dosages des protéines

La méthode utilisée pour le dosage des protéines est celle de **Bradford (1976)** qui utilise la BSA (Sérum Albumine Bovine) comme standard, sur le même échantillon utilisé pour doser les lipides, on récupère le culot issu de la deuxième centrifugation auquel on a ajouté 1ml du NaOH (0.1N) et on agite énergétiquement pour la dissolution des protéines. Après, on prélève, au moyen d'une micropipette, un volume de 100µl auquel on ajoute 4ml du réactif BBC (Bleu Brillant de Coumassie) (50mg BBC +50ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 500ml avec l'eau distillée). Ainsi une couleur bleue se développe et on passe directement les échantillons pour lecture à une longueur d'onde 595nm.

Le calcul des concentrations se fait par l'équation déduite de la gamme d'étalonnage réalisé à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (**Annexes**).

3.2. Paramètres du stress oxydant

3.2.1. Dosage de l'activité du glutathion (GSH)

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de **Weckbeker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique, ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5`-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé, l'échantillon

(cytosol/matrice) doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (0.25%) afin de protéger les groupements-SH du glutathion.

Brièvement; les échantillons (200mg de tissu) sont mis individuellement en présence de 8ml de solution d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 0.2M. Le mélange mis dans des glaçons est broyé à l'aide d'un pilon enporcelaine. L'homogénat est ensuite déprotéinisé en prenant 0.8ml de ce dernier auquel on ajoute 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%. Le mélange est vortexé et laissé pendant 15min dans un bain de glace, et centrifugé ensuite pendant 5min à 1000t/min. 0.5ml du surnageant est prélevé auquel est ajouté 1ml de tampon tris HCL+EDTA(0.02M), pH 9.6. Au mélange est ajouté 0.025ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M dissous dans le méthanol absolu. Le mélange est laissé reposer pendant 5min à température ambiante et l'absorbance (A) est mesurée à 412nm.

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante:

$$\text{GSH (nmol GSH/ mg protéine)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg}}$$

DO: Densité optique

1: Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8 ml homogénat + 0.2 ml de l'acide salicylique).

1.525: Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant + 1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).

13100: Coefficient d'absorbance du groupement -SH à 412 nm.

0.8: Volume de l'homogénat après déprotéinisation trouvé dans 1 ml.

0.5: Volume du surnageant trouvé dans un 1.525 ml.

La concentration de GSH est mesurée par rapport à 1mg de protéine. C'est pour cela ce dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

3.2.2. Dosage de l'activité du glutathion S-Transférase (GST)

La mesure de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de (**Habig et al. 1974**), Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro2,4-dinitrobenzène) en d'un cofacteur le glutathion (GST), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle; 1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST.

La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST.

Les échantillons sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate (0.1M, pH6). L'homogénat est centrifugé à 14000 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes. Le dosage consiste à faire réagir 200µl du surnageant avec 1.2ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM) [20.26mg CDNB, 153.65mg GSH, 1ml éthanol, 100ml tampon phosphate (0.1M, PH 6)].

La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15 secondes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante:

$$\text{GST (nmol GST/min/mg protéine)} = \frac{(\text{DO échant/min} - \text{DO blanc/min})}{9.6 \times \text{mg de protéine}}$$

DO échantillon–DO blanc: moyenne des DO des échantillons par minute – moyenne des DO des Blancs par minute.

ε: Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB, εC-DNB = 9.6 mM-1.cm-1

3.2.3. Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de **Flohe et Gunzler 1984**, en utilisant H₂O₂ comme substrat. Un volume de 0.2ml de cytosol/matrice est récupéré dans un tube contenant 0.4ml de GSH 0.1mM et 0.2ml de tampon phosphate 0.067M, pH 7.8. Le mélange est incubé au bain marie à 25°C pendant 05min. 0.2ml d'H₂O₂ 1.3mM est ajouté pour initier la réaction. Après 10min 1ml de TCA 1% (acide tri chloro-acétique) est rajouté dans le but d'arrêter la réaction et le mélange est mis dans la glace pendant 30min et centrifugé durant 10min à 3000t/mn. Un volume de 0.48 ml de surnageant est placé dans une cuve auquel on ajoute 2.2ml de Na₂HPO₄ 0.32M avec 0.32ml de DNTB 1mM. Ce mélange forme un composé coloré et sa densité optique est mesurée à 412nm chaque 30seconde pendant 05min.

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

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

Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue) = DO_e-DO_b

X = (DO_e–DO_b) × 0.04/DO_b = quantité de GSH réduit disparue (oxydée) dans 0.2 extrait dans 1ml.

L'activité de la GPx = la quantité de GSH réduit oxydée disparue X 5/[protéine].

3.2.4. Dosage de l'activité enzymatique de Catalase (CAT)

Le dosage spectrophotométrique de l'activité catalase (CAT) est réalisé suivant la méthode de (**Cakmak et Horst 1991**). La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant trois minutes par un spectrophotomètre pour une longueur d'onde de 240nm et un coefficient d'extinction linéique molaire $\epsilon=39400 \mu\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}.$ L pour un volume final de 3ml, le mélange réactionnel contient: 100 μl de l'extrait enzymatique brut, 50 μl de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 à 0.3% et 2850 μl de tampon phosphate (50mM, pH 7,2). L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique. La réaction est déclenchée par l'addition d'eau oxygénée.

L'activité de catalase est calculée selon la loi suivant:

$$\text{Act} = \frac{\Delta A.Vt}{\epsilon.\Delta t.L.Ve.p}$$

Act: Activité enzymatique en $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de Protéines.

ϵ : Coefficient d'extinction linéique molaire en. $\mu\text{M}^{-1} . \text{cm}^{-1}$

ΔA : Pente de la droite de régression (variation de la densité optique en fonction du temps).

Vt: Volume total du mélange réactionnel en ml.

Ve: Volume de l'extrait enzymatique en ml.

L: Largeur de la cuve de mesure en cm.

P: Teneur en protéines en mg.

T: Temps de lecture en min.

Est due à la longueur d'onde 520 nm.

3.2.5. Dosage du Malondialdéhyde MDA

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode d'**Esterbauer et al 1992**. Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment rose. Une quantité de 375 μl de surnageant est prélevée dans un tube sec, auquel est ajouté un volume de 150 μl de la solution TBS (tris 50mM, NaCl (150mM ; pH7.4) et 375 μl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%), le mélange est Vortexé et centrifugé à 1000t/min pendant 10min. Un volume de 400 μl est prélevé du surnageant auquel on ajoute 80 μl du HCL 0.6M et 320 μl de la solution tris-TBA (tris 26mM, TBA120mM). En fin, le mélange est vortexé et est ensuite incubé au bain marie à

80°C pendant 10 minutes. La lecture de la densité optique des échantillons est mesurée par spectrophotométrie à 530 nm.

La concentration de MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert (DO = E.C.L):

$$[C] \text{ (nmol/mg protéine)} = \frac{DO \cdot 10^6}{\epsilon \cdot L \cdot X \cdot Fd}$$

C: Concentration en nmol/mg de protéines

DO: Densité optique lue à 530 nm.

ϵ : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56105 M^{-1} cm^{-1}$.

L: Longueur du trajet optique = 0.779 cm.

X: Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml).

Fd: Facteur de dilution : **Fd** = 0.2083.

4. Études statistiques

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne de six répétitions (moyen \pm écarttype), et pour mieux visualiser en utilisant l'office Excel 2010 pour représentés ces résultats sous forme des histogrammes. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Minitab® 17.1. La signification de différence entre le lot témoin et les lots traités est vérifiée en utilisant le test de *Dunette* et le test t «*tukey*», et le résultat de comparaison comme suivant:

- $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative.
- (*) $0,05 > P > 0,01$ = la différence est significative.
- (**) $0,01 > P > 0,001$ = la différence est hautement significative.
- (***) $P < 0,001$ = la différence est très hautement significative.

Résultat et Discussion



1. Résultat

1.1. Effet du lambda-cyhalothrine sur les paramètres biochimiques chez les rats

1.1.1. Effet du lambda-cyhalothrine sur le taux des lipides

La figure 23 et le tableau 04 représentent le taux des lipides hépatiques. On observe une diminution significative ($P \leq 0.05$) de taux de lipide chez le lot traité par lambda-cyhalothrine à une dose de (5mg/kg/j) par rapport au lot témoin, et une diminution très hautement significative ($p \leq 0.001$) chez le lot traité par la dose de (10mg/kg/j).

Tableau 04: Variation du taux des Lipides hépatiques chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par 5mg/kg/j	Traité par 10mg/kg/j
Lipide ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	453.936 \pm 1.378	* 450.245 \pm 1.988	*** 441.588 \pm 0.780

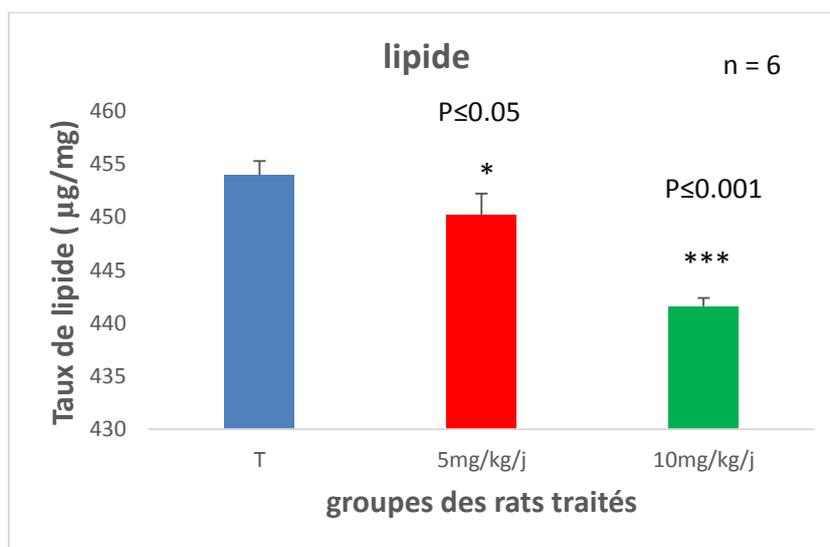


Figure 23: Variation de taux des Lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les rats témoins et traités après 3 mois de traitement.

1.1.2. Effet du lambda-cyhalothrine sur le taux des protéines

La figure 24 et le tableau 05 montrent le taux des protéines. Nous constatons une augmentation significative ($P \leq 0.05$), de taux de protéine hépatique chez le lot traité par la dose de (10mg/kg/j) par rapport au lot témoin.

Tableau 05: Variation du taux des protéines hépatiques chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par 5mg/kg/j	Traité par 10mg/kg/j
Protéine (mg/g)	0.548 ± 0.003	0.550 ± 0.003	* 0.563 ± 0.002

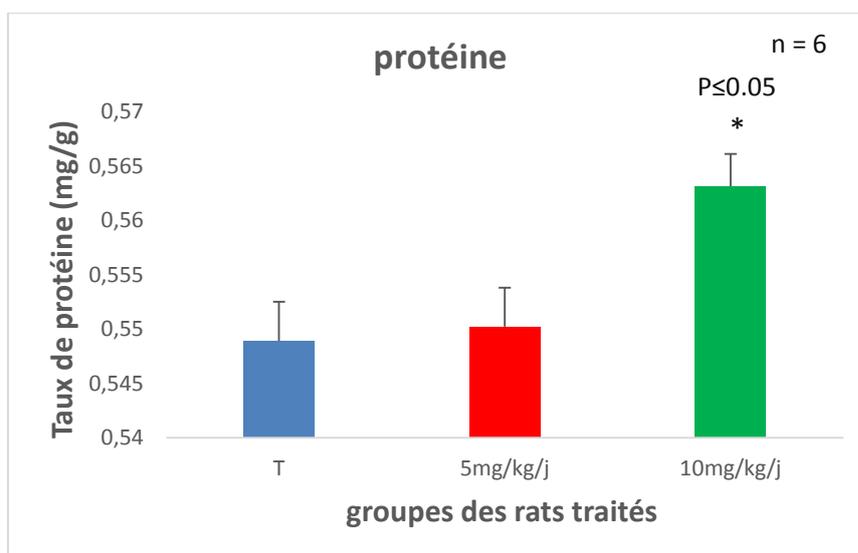


Figure 24: Variation de taux des protéines (mg/g) chez les rats témoins et traités après 3 mois de traitement.

1.2. Effet du lambda-cyhalothrine sur les paramètres enzymatiques chez les rats Wistar

1.2.1. Effet du lambda-cyhalothrine sur l'activité du Glutathion réduit GSH

La figure 25 et le tableau 06 représentent le taux de GSH hépatique. On remarquera une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) de la teneur cellulaire en glutathion réduit (GSH) au niveau du lot traité par lambda-cyhalothrine à une dose de (5mg/kg/j) pendant 3 mois comparant au lot témoin et une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) au niveau du lot traité par (10mg/kg/j) du lambda-cyhalothrine.

Tableau 06: Variation de l'activité du GSH chez les rats dans les différents lots expérimentaux (m±δ).

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par 5mg/kg/j	Traité par 10mg/kg/j
GSH (µmol/min/mg)	180.553 ± 1.676	150.04 ± 4.156 **	131.683 ± 1.160 ***

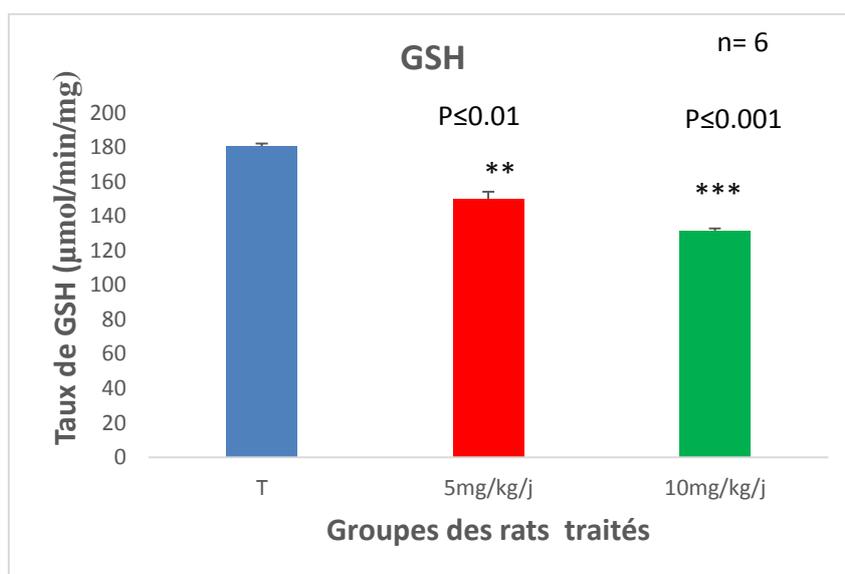


Figure 25: Variation de l'activité du GSH (µmol/min/mg protéine) chez les rats témoins et traités par lambda-cyhalothrine après 3 mois de traitement.

1.2.2. Effet du lambda-cyhalothrine sur l'activité du Glutathion-S-transférase GST

La figure 26 et le tableau 07 montrent que l'administration du lambda-cyhalothrine à des doses différents (5 et 10mg/kg/j) pendant 3 mois chez les rats Wistar induit une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) de l'activité de GST chez les rats traités par 5mg/kg/j par contre le lot traité par la dose (10mg/kg/j) présente une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) par rapport au témoin.

Tableau 07: Activités du l'activité du GST chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par 5mg/kg/j	Traité par 10mg/kg/j
GST ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$)	1.872 ± 0.003	1.937 ± 0.013 **	1.982 ± 0.014 ***

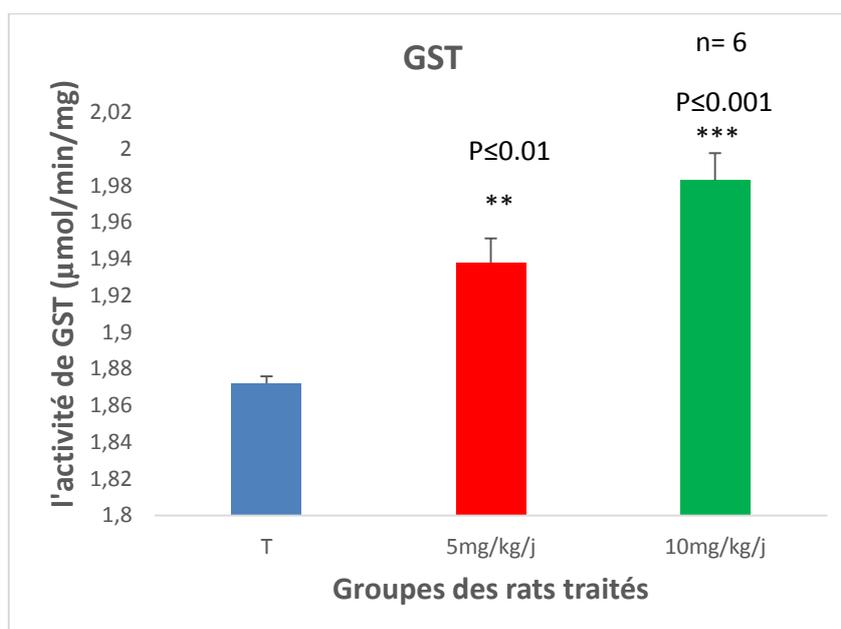


Figure 26: Variation de l'activité du GST ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traités après 3mois de traitement.

1.2.3. Effet du lambda-cyhalothrine sur l'activité du Glutathion peroxydase GPx

La figure 27 et le tableau 08 montrent que le traitement des rats Wistar par lambda-cyhalothrine pendant 3 mois induit une diminution de l'activité de GPx, cette diminution est très hautement significative ($P \leq 0.001$) par rapport au témoin chez les rats traités par 10mg/kg/j et hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les rats traités par 5mg/kg/j.

Tableau 08: Variation de l'activité du GPx chez les rats dans les différents lots expérimentaux (m±δ).

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par LCT 5mg/kg/j	Traité par LCT 10mg/kg/j
GPx (µmol/min/mg)	0.892 ± 0.015	0.837 ± 0.012 **	0.787 ± 0.013 ***

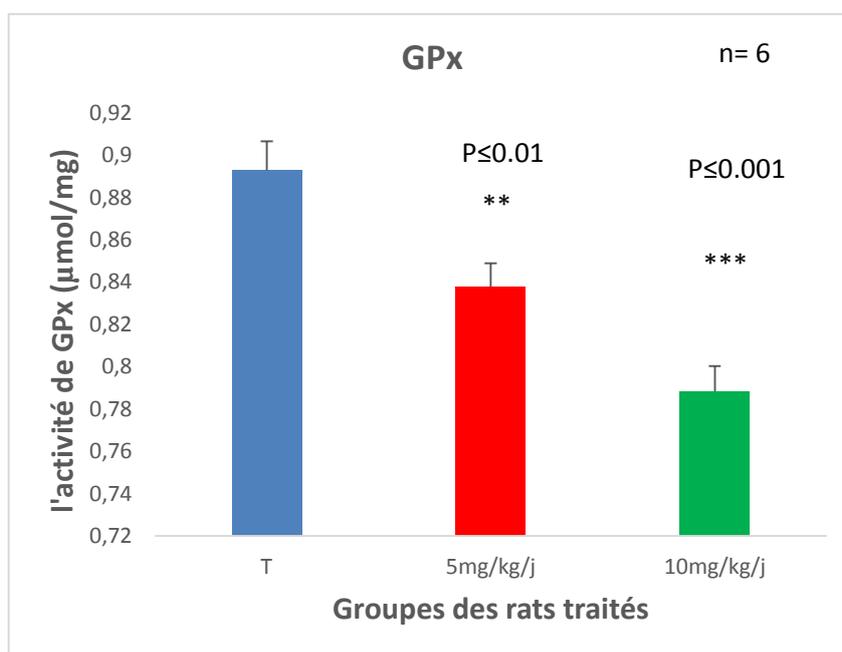


Figure 27: Variation de l'activité du GPx hépatique (µmol/min/mg de protéine) chez les rats témoins et traités après 3 mois de traitement.

1.2.4. Effet du lambda-cyhalothrine sur l'activité du Catalase CAT

La figure 28 et le tableau 09 montrent que l'activité de catalase CAT est diminuée au niveau du lot traité par 5mg/kg/j cette diminution est hautement significative et très hautement significative chez les rats traités par 10mg/kg/j.

Tableau 09: Variation de l'activité enzymatique du CAT chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par 5mg/kg/j	Traité par 10mg/kg/j
CAT ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$)	31.453 ± 0.130	25.641 ± 0.089 **	23.795 ± 1.514 ***

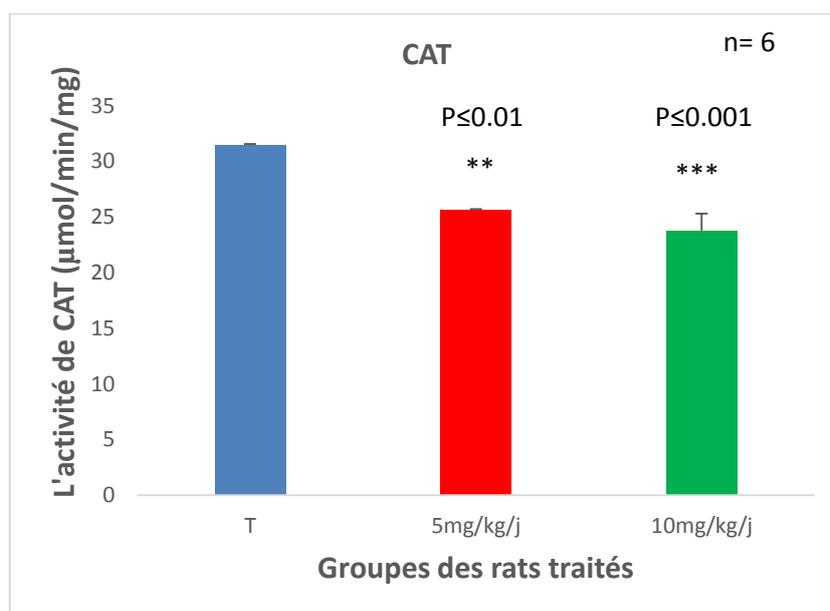


Figure 28: Variation de l'activité enzymatique du Catalase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traité après 3mois de traitement.

1.2.4. Effet du lambda-cyhalothrine sur le taux de malondialdéhyde (MDA)

La figure 29 et le tableau 10 représentent le traitement des rats Wistar par lambda-cyhalothrine à des doses différentes (5 et 10 mg/kg/jour) pendant 3mois. Nous notons une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) de la teneur en malondialdéhyde (MDA) hépatique, dans les deux lots, par rapport au lot témoin.

Tableau 10: Variation du Taux de MDA hépatique chez les rats dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par 5mg/kg/j	Traité par 10mg/kg/j
MDA ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$)	0.661 \pm 0.000	0.808 \pm 0.013 ***	0.850 \pm 0.002 ***

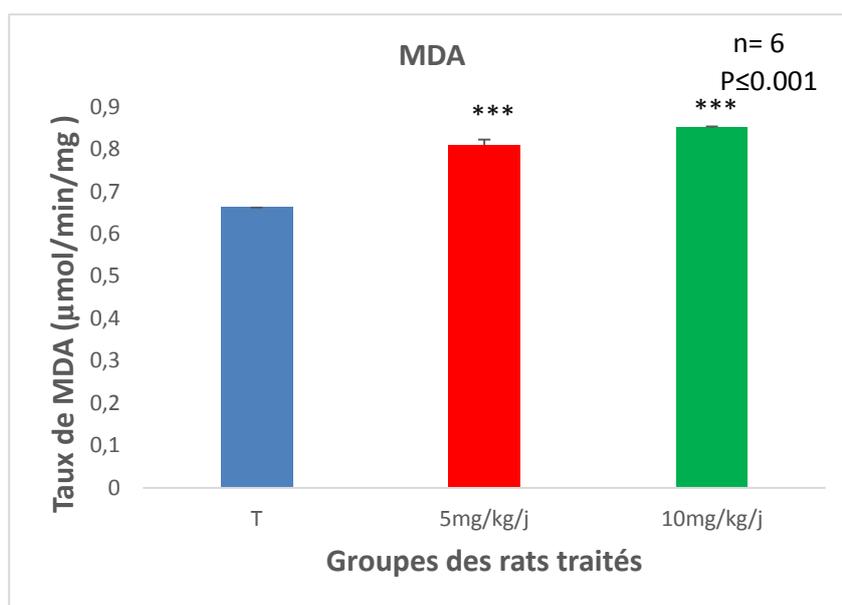


Figure 29: Variation du taux de MDA ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traité après 3 mois de traitement

1.3. Effet du lambda-cyhalothrine sur le Poids relatif du foie chez les rats wistar

La figure 30 et le tableau 11 montrent qu'il y'a une diminution significative ($P \leq 0.05$) du poids de foie chez le lot traité par lambda-cyhalothrine à la dose de 10mg/kg/j selon le poids corporel par rapport au lot témoin.

Tableau 11: Variation des Poids relatifs du foie dans les différents lots expérimentaux ($m \pm \delta$).

Lots expérimentaux	Témoin	Traité par LCT 5mg/kg/j	Traité par LCT 10mg/kg/j
Poids relatifs du foie (%)	2.477 ± 0.225	2.255 ± 0.200	* 2.692 ± 0.239

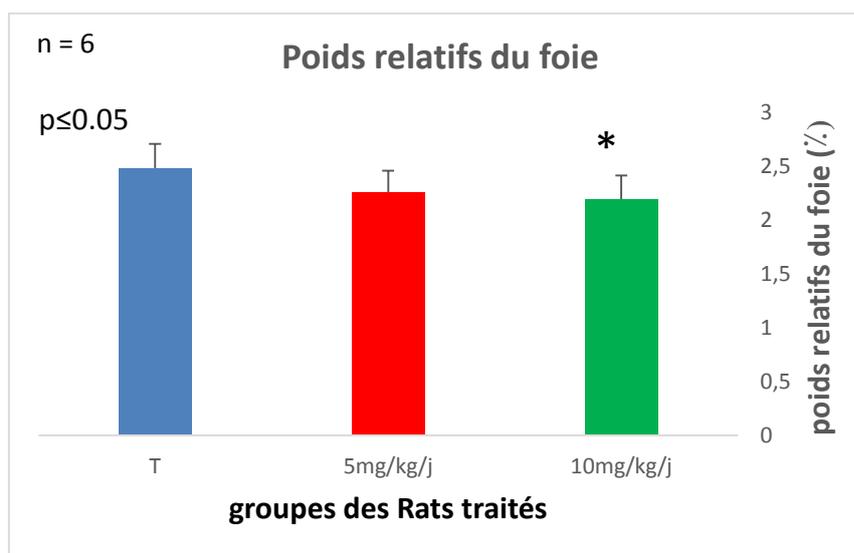


Figure 30: Variation des Poids relatifs du foie (μg) des rats témoins et traité par lambda-cyhalothrine après 3 mois de traitement.

2. Discussion

Les pesticides pyréthrinoïdes sont utilisés dans le monde entier comme insecticides pour les ravageurs contrôle en perturbant le fonctionnement normal des canaux sodiques (Al-Amoudi, 2018).

Nous avons deux classifications des pesticides pyréthrinoïdes, à savoir: type I et type II. Les Pyréthrinoïdes de type I ont été rapportés pour influencer les canaux de sodium dans les membranes nerveuses provoquant ainsi une décharge neuronale continue et conduisant à un potentiel postérieur de manière négative prolongée. Les Pyréthrinoïdes de type II entraînent un retard plus long du sodium inactivation du canal et inhiber l'activité dépendante du canal sodique de neurones corticaux de rat *in vitro* (Al-Amoudi, 2018).

Les insecticides pyréthrinoïdes sont des produits chimiques fabriqués qui sont très similaires dans leur structure aux pyréthrines, mais plus toxiques aux insectes et aux mammifères. La lambda-cyhalothrine (LTC) est un insecticide synthétique à base de pyréthrinoïde (Mohi El-Din et al., 2014).

Les lipides membranaires, particulièrement riches en acides gras poly-insaturés (AGPI) représentent une cible privilégiée pour l'agression radicalaire. Plus l'acide gras est riche en doubles liaisons, plus il est peroxydable, c'est-à-dire dégradé par un processus oxydant néfaste pour la cellule. Les lipides également sont le siège de la peroxydation lipidique. Leur oxydation conduit à une désorganisation membranaire avec des modifications de la fluidité et de la perméabilité (Hiltenbrand, 1999; Durand et al., 2013).

Le traitement par lambda-cyhalothrine a différentes doses (5 et 10 mg/kg/J) pendant 3 mois chez les rats est induit des altérations métaboliques hépatiques importantes par diminution très hautement significative du contenu lipidique total en comparaison avec le témoin, cette diminution peut être stimulée par les radicaux libres en cas de stress oxydatif généré par la lambda-cyhalothrine, notre résultat est confirmé par le taux de l'MDA dans le foie (augmentation très hautement significative) et par d'autres chercheurs (Shaurub et Abd El-Aziz, 2015 ; Medjdoub, 2013).

Le MDA est le principal composé provenant de la formation de divers aldéhydes toxiques pour l'organisme suite à la dégradation oxydative des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires (Maiza et al., 2011).

Dans cette étude le traitement par les différentes doses de lambda-cyhalothrine chez les rats Wistar pendant cette période résulte une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) du taux de MDA hépatique dans les deux lots expérimentaux par rapport au témoin.

Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **Fetoui et al., 2008, 2010; Al-Amoudi, 2018**, qui ont mis en évidence une augmentation significative du taux de MDA sous l'effet de l'exposition de lambda-cyhalothrine au cours de traitement dans les rats.

Cette augmentation a été confirmée également par les recherches de **Lukaszewicz, 2001; Sutcu et al., 2006, Jafari et al., 2012**. Les résultats de ces études montrent que les doses élevées de pesticide ont augmenté le niveau de MDA chez le même modèle biologique (les rats).

Cette augmentation en jointure une diminution de poids relatifs du foie. En explique cette diminution par la dégradation des cellules hépatique et par la diminution de la teneur lipidique sous l'effet de pesticide au niveau de cet organe. Ce résultat est confirmé par (**Gasmi, 2018**) qui est trouvé que l'administration de deux pesticides (Acetamipride et Deltaméthrine) a diminué les poids relatif du cerveau et a diminué la croissance corporelle des rats Wistar.

Dans notre travail, nous avons mis en évidence que le taux des protéines dans cette expérience à augmenter d'une manière significative en comparaison aux témoins dans la présence de ce pesticide (lambda-cyhalothrine), ces résultats vont dans le même sens que (**Ouahiani, 2014**) qui ont attribué cette augmentation chez les rats après le gavage par cet insecticide à la dose DL50/25.

Cette augmentation a été également observée dans le foie chez les poissons d'eau Selon (**Parveza et Raisuddin, 2005**) à une exposition unique de 48 h à divers pesticides (la deltaméthrine (0,75 µg / L)). Une augmentation significative de la teneur en protéines totales ont été évaluées avec ceux de plusieurs auteurs (**Chebab, et al.2009, Zouaoui et Soltani, 2018**).

On explique ce résultat par l'induction de la synthèse des protéines de stress en relation avec le phénomène de bioactivation/biotransformation montré par la peroxydation lipidique générée par les ROS.

Un nombre croissant d'études ont montré que le stress oxydatif joue un rôle critique dans diverses toxicités associées aux insecticides pyréthrinoïdes (**Al-Amoudi, 2018**).

Pour limiter les effets de ce stress dans l'organisme, il existe des systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques. Parmi eux, nous mentionnons le glutathion qui possède un rôle important dans la détoxification des composés toxiques électrochimiques et les xénobiotiques par des réactions de conjugaison catalysées par la glutathion S-transférase avec la formation d'acides mercapturiques (**Saka et al., 2011**).

Au cours de notre travail nous avons enregistré une diminution très hautement significative de taux de GSH chez les rats traités par la lambda-cyhalothrine par rapport au témoin surtout

chez les rats traités par 10mg/kg/j. la diminution du taux de glutathion réduit GSH résultant de leur action avec les radicaux libres générés avec les insecticides. Ce résultat est confirmé par les études de **Fetoui et al., 2010**; qui présent la propension de la lambda-cyhalothrine (LTC) à induire un stress oxydatif, des modifications des paramètres biochimiques et activités enzymatiques. a observé également après 6 semaines de traitement, une diminution de la GSH a été rapportée par **Abbassy et al., 2014** chez les rats mâles après administration orale de LCT à la dose de 2,6 mg / kg (Ce qui représente 1/10 de DL50) avec 3 doses par semaine.

La diminution du taux de GSH a été également signalée chez Les rats mâle (225–250 g) traitées par deux pesticides: endosulfan et de chlorpyrifos Selon (**Bebe et Panemangalore, 2011**) Les résultats obtenus une diminution significative dans le taux de GSH hépatique, chez les animaux traités.

Lorsque le glutathion réduit GSH joue un rôle antioxydant en synergie avec la glutathion peroxydase GPx par l'élimination des peroxydes à partir de l'activité enzymatique de ce dernier. En explique cette diminution par une modification structurale de glutathion réduit GSH ou en le convertissant en forme oxydée GSSG par les radicaux libres déclenchés par les pesticides. Nous confirmons ainsi ces observations par les résultats de la glutathion peroxydase GPx. Une diminution du taux de GPx très hautement significative chez les rats traités par 10mg/kg/j ($P \leq 0,001$) après une exposition de 3 mois de lambda-cyhalothrine. Cette enzyme qui catalyse la dismutation d' H_2O_2 en eau H_2O et en oxygène moléculaire O_2 . Leur rôle principal est d'assurer la réduction du peroxyde d'hydrogène ou des peroxydes lipidiques formés suite à l'effet du stress oxydant, sur les acides gras polyinsaturés en les couplant avec l'oxydation du glutathion (**Poisson-Moreau, 2014**). La diminution de GPx a été également signalée chez plusieurs espèces animales traitées par divers pesticides, chez les souris exposés (**Khan et al., 2005**) qui est trouvé que le taux de glutathion peroxydase augmenté significativement dans le tissu hépatique.

Le foie de rat contient une grande quantité de glutathion S-transférase cytosolique et microsomale activité, et les deux ont été isolés et caractérisés. La glutathion S-transférase microsomale est comprise entre 3 et 1% de la protéine microsomale totale chez le rat Contrairement au glutathion S-transférases cytosolique (**Aniya et Anders, 1989**). La fonction des enzymes GST a traditionnellement été considérée comme la détoxification des électrophiles par conjugaison au glutathion (**Strange et al., 2001**).

Les résultats biochimiques du groupe traité par lambda-cyhalothrine ont révélé une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,01$) de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST). Cette suggestion été appuyé par les résultats de **Yousef, 2010** qui ont

attribué ces augmentation dans les activités de GST chez les lapins males traités par la lambda-cyhalothrine.

Autre étude de **Bansalet *al.*, 2005** qui explique cette résultat: Les activités des enzymes antioxydantes telles que le glutathion-S-transférase (GST) ont été augmentées sous l'effet de la N-nitrosodiéthylamine dans le foie de rat.

Et aussi ces résultats sont ont accord avec les données bibliographiques de **El-Shenawy, 2010; Fetoui *et al.*, 2008; Abbassy *et al.*, 2014**, qui ont déclaré L'augmentation de cette enzyme chez le rat.

L'étude de **Pradeep *et al.*, 2007** montrent que le diéthylnitrosamine chez les rats provoque des effets oxydatifs, biochimiques et hépatotoxiques se manifestent par altération du système antioxydant cellulaire caractérisé par une action directe sur l'activité enzymatique du GST.

La catalase joue un rôle majeur dans la protection des tissus contre les effets toxiques de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , elle catalyse la décomposition du ce dernier en oxygène moléculaire O_2 et en eau H_2O pour se transformer en composés moins dangereux. Les résultats biochimiques du groupe traité par lambda-cyhalothrine (LCT) ont révélé une diminution très hautement significative de l'activité des enzymes antioxydant tels que la catalase CAT dans les cellules hépatiques chez les rats traités par 10 mg/kg/j en comparaison au témoin. En explique Cette diminution par l'utilisation de cette enzyme pour l'élimination du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Cette résultat ont accord avec **Milošević *et al.*, 2017** a montré une diminution de l'activité de CAT chez les rats après la contamination par (20 mg / kg poids corporel/ jour) de fénitrothion pendant 30 jours.

Et aussi ce résultat sont ont accord avec les travaux de **Chebab *et al.*, 2009** qui ont déclaré la diminution de l'activité de CAT dans le foie chez les rats Wistar après administration de deux pesticides : l'endosulfan et le chlorpyriphos. **Yousef Ali, 2012** ont également révélé cette diminution qu'une exposition quotidienne de lambda-cyhalothrine à une dose de 4,2 ou 8,4 mg / kg pendant 4 semaines chez le rat mâle, **Anilakumar *et al.*, 2009** qui résulte l'administration de l'hexachlorocyclohexane entraîne une diminution du taux hépatique de catalase chez les rats traités par 300 mg / kg de poids corporel pendant 12 semaines.

Conclusion



Conclusion

Ce travail nous a permis de mettre en évidence l'impact de lambda-cyhalothrine sur les cellules hépatiques chez les rats Wistar.

L'administration de lambda-cyhalothrine à des doses différentes (5 et 10mg/kg/j) de poids corporel, par voie orale chez les rats mâles adultes a induit des perturbations des paramètres biochimiques, de stress, système antioxydant et paramètres de croissance exprimée notamment par:

- Une diminution très hautement significative du taux des lipides hépatiques.
- Une augmentation significative du taux de protéine hépatique.
- Une inhibition de l'activité cellulaire du glutathion réduit (GSH).
- Une augmentation très hautement significative de l'activité enzymatique du glutathion -S-transférase (GST).
- Une diminution très hautement significative de l'activité du glutathion peroxydase (GPx) dans le foie.
- Une augmentation très hautement significative du taux de MDA dans le foie.
- Une diminution de l'activité enzymatique de catalase (CAT).
- Une perturbation relative du poids des rats durant la période de trois mois de traitement.

En perspectives, il faut améliorer cette recherche par autre études:

- De réaliser une étude histopathologique du foie.
- L'étude de la génotoxicité.
- De doser d'autres paramètres de la défense antioxydant : SOD, le rapport GSH/GSSG.
- De doser des paramètres de : ASAT, ALAT.

Références

Bibliographiques

A decorative horizontal line with ornate, leaf-like flourishes at both ends, positioned below the word 'Bibliographiques'.

Références bibliographiques

A

- **Abbassy A., Marzouk M., Mansour S., Shaldam H., et Mossa A.** 2014. Impact of Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Induced by Lambda-cyhalothrin P450 in Male Rats: The Ameliorating Effect of Zinc. *J. Environ. Anal. Toxicol.*4:4.
- **Abu-Qare A., et Abou-Donia M.**, 2000. Increased 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a biomarker of oxidative DNA damage in rat urine following a single dermal dose of DEET (N,N-diethyl-m-toluamide), and permethrin, alone and in combination. *Toxicology Letters.* 117 . 151–160.
- **Ahmad Khan M. K., Zafar M., Perveen M., Andleeb S., Ara C., Shahzad K., Asmatullah.** 2014. Developmental defects induced by lambda cyhalothrin in mice. *Punjab Univ. J. Zool.* 29 (2): 85-90.
- **Alain V., et Alain B.** toxicologie. 2005. 2^{ème} édition. 2^{ème} tirage 2007. p 987-989.
- **Al-Amoudi WM.,** 2018. Toxic effects of Lambda-cyhalothrin. On the rat thyroid: Involvement of oxidative stress and ameliorative effect of ginger extract. *Toxicology Reports.* 728–736.
- **Anadon A., Martinez M., Martinez M., A.** 2006. Toxicokinetics of lambda-cyhalothrin in rats. *Toxicology Letters.* 165, 47–56.
- **Anilakumar K.R. Saritha V., Farhath Khanum. et Bawa A.S.** 2009. Ameliorative effect of ajwain extract on hexachlorocyclohexane-induced lipid peroxidation in rat liver. *Food and Chemical Toxicology.* 47, 279–282.
- **Aniya Y., Anders M.** 1989. Activation of rat liver microsomal glutathione S transférase by reduced oxygen species. *Journal of Biological chemistry.* 264:1998-2002.
- **Asghar A., Junaid A. K., Tanweer K., Ijaz J., Faqir M., Bilal A. et Muhammad Z. K.** 2014. Hemato-Biochemical Disruptions by Lambda-Cyhalothrin in Rats. *Pak Vet J.* 34(1): 54-57.
- **Ayad-mokhtari N.** 2012. Identification et dosage des pesticides dans l'Agriculture et les problèmes d'Environnement liés. Thèse pour l'obtention de diplôme de Magister. *Université d'Oran.* 87p.

B

- **Babu V., Mariadoss S., ElifIpe Erhan U.** 2007. Histopathology of lambda-cyhalothrin on tissues (gill, kidney, liver and intestine) of *Cirrhinus mrigala*. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 24 286–291.
- **Bansal A, Bansal M, Soni G, Bhatnagar D.** 2005. Protective role of Vitamin E pre-treatment on N-nitrosodiethylamine induced oxidative stress in rat liver. *Chemico-Biological Interactions.* 156 101–111.
- **Bebe F., N, Panemangalore M.** 2003. Exposure to low doses of endosulfan and chlorpyrifos modifies endogenous antioxidants in tissues of rats. *Journal of Environmental Science and Health. Part B.* 38(3). 349-363.

- **Bensakhria A.** 2018. Toxicologie Générale - Le Stress Oxydatif. Chapter IX. July.

C

- **CDU-HGE.** 2014. Chapitre 6 Foie-Voies biliaires. Les Fondamentaux De La Pathologie Digestive. Editions Elsevier-Masson – Octobre.

- **Çelika A., Mazmancia B., Çamlıca Y., Aşkina A., Çömelekoçglu U.** 2003. Cytogenetic effects of lambda-cyhalothrin on Wistar rat bone marrow. *Mutation Research*. 539. 91–97.

- **Chebab S., Belli N., Leghouchi E., Lahouel M.** 2009. Stress oxydatif induit par deux pesticides: l'endosulfan et le chlorpyrifos, Environnement. *Risques & Santé*. 8(5). 425-432.

- **Chiali FZ.** 2014. Effets métaboliques d'un régime à base de purée de pomme de terre contaminée par les pesticides chez le. Thèse Doctorat En Physiologie et Biochimie de la Nutrition. *Université de Tlemcen*. 205p.

D

- **Durand D., Damon M., Gobert M.** 2013. Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux. Oxidative stress in farmanimals: General aspects. *Cahiers de nutrition et de diététique*. 48. 218-224.

E

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

F

- **Favier A.** 2003. Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique* - novembre-décembre .

- **Favier A.** 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Elsevier Masson SAS*. 64: 390-396.

- **Fetoui H., Feki A., Ben Salah G., Kamoun H., Fakhfakh F., Gdoura R.** 2015. Exposure to lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid. Increases reactive oxygen species production and induces genotoxicity in rat peripheral blood. *Toxicology and Industrial Health*. Vol. 31(5) 433–441.

- **Fetoui H., Garouia E., Makni-ayadib F., Zeghal N.** 2008. Oxidative stress induced by lambda-cyhalothrin (LTC) in rat erythrocytes and brain: Attenuation by vitamin C. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 26. 225–231.

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

G

- **Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D.** 2003. Espèces réactives de

l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *l'actualité chimique* - novembre-décembre.

- **Gasmi S.** 2018. Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat. Thèse Doctorat. *Université de Tébessa*. 217p.
- **De Baria B., Pointreaub Y., Rioc E., Mirabeld X., Mornexa F.** 2010. Dose de tolérance à l'irradiation des tissus sains: le foie, Normal tissue tolerance to external beam radiation therapy: Liver. *Cancer/Radiothérapie*. 14. 344–349.
- **Deugnier Y.** 2005. Anatomie-Physiologie Du Foie. *Univ-Rennes1-Poycopié Médecine M2-Sémiologie du Foie et des Voies Biliaires*. Version Septembre.
- **Gismondi E.** 2012. Étude des systèmes de défenses antitoxiques chez l'amphipode "Gammarus roeseli": effets du parasitisme et d'une exposition au cadmium. Thèse Pour l'obtention du grade de Docteur En Écotoxicologie et Biodiversité. *Université de Lorraine. Français*. 311p.
- **Goudable J., Favier A.,** 1997. radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Métabol*; 11: 115-20.

H

- **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier O., Chapelle J.P.** 2007. Le stress oxydant. *Rev Med Liege*; 62: 10 : 628-638.
- **Harouna M., Soumare M.** 2010. Evaluation de l'efficacité de la lambda-cyhalothrine en pulvérisation intra-domiciliaire dans les cercles de koulikoro et de Bla au Mali. thèse Pour l'obtenir le Grade de Docteur en Pharmacie. *Université de Bamako*. 88p.
- **Hiltenbrand V.** 1999. Place de la peroxydation lipidique dans les effets délétères des UV-A: mise en évidence des haptènes amino-imino-propène: intérêts potentiels des antioxydants lipophiles en cosmétologie. thèse pour l'obtention de diplôme de Doctorat en pharmacie. *Université de JOSEPH FOURIER*. 122p.

J

- **Jafari M., Salehi M., Ahmadi S., Asgari A., Abasnezhad M. et Hajjigholamali M.** 2012. The role of oxidative stress in diazinon-induced tissues toxicity in Wistar and Norway rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 22(8): 638–647.

K

- **Kehili N., Saka S., Aouacheri O.** 2017. L'effet phytoprotecteur de la nigelle (*Nigella sativa*) contre la toxicité induite par le cadmium chez les rats. *Phytothérapie*. 1-10.
- **Khan S.M., Sobti R.C., Kataria L.** 2005. Pesticide-induced alteration in mice hepato-oxidative status and protective effects of black tea extract. *Clinica Chimica Acta*. 358(1-2). 131-138.

- **Khemiri R.**, 2017. La lambda-cyhalothrine comme pesticide privilégié en milieu agricole: Étude la toxicocinétique des biomarqueurs pour le suivi de l'exposition chez des volontaires. Mémoire pour l'obtention du grade de maîtrise (M. SC.) en santé environnementale et santé au travail option recherché. 87 p.
- **Koechlin-Ramonatxo C.**, 2006. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. 20 : 165–177.

L

- **Lafortune M., Denys A., Sauvanet A., Schmidt S.** 2007. Anatomie du foie: ce qu'il faut savoir, Éditions Françaises de Radiologie. *Édité par Elsevier Masson SAS. J Radiol*; 88:1020-35.
- **Li-Ming H, John T, Albert W, Kean G.** 2008. Environmental Chemistry. Ecotoxicity and Fate of Lambda-Cyhalothrin. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 71- 91.
- **Lorand L., Loux N., Allain J.E., Di Rico V., Weber A., Franco D., Capron F., Vons C.** 2000. Effet de la ligature portale partielle sur la régénération hépatique chez le rat. *Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS*. 125 : 144–8.
- **Lukaszewicz H.** 2001. Organophosphate Insecticide Chlorfenvinphos Affects Superoxide Dismutase, Catalase and Malondialdehyde in Rat Liver. *Polish Journal of Environmental Studies Vol. 10. No. 4*. 279-282.

M

- **Madjour H, Ouizem L.** 2012. Impact des pesticides sur la santé des agriculteurs dans la wilaya de Tizi Ouzou. Thèse pour l'obtention du diplôme Master. *Université de Bejaia*. 69p.
- **Maiza A., Kilani-Morakchi S., Rehamnia F., Bensbaa F. et Aribi N.** Activité d'un Biopesticide. Le Spinosad. Chez *Blatiella Germanica*: Effets Sur Divers Biomarqueurs (LDH, GSH, MDA). *Bull. Soc. zool. Fr.* 136(1-4): 189-204.
- **Mate M.S., Ghosh R.C., Mondal S., Karmakar D.B.** 2010. Effect of lambda cyhalothrin on rats: an acute toxicity study. *J Indian Soc Toxicol.* 6. 25-28.
- **Medjdoub A.** 2013. Evaluation des effets métaboliques d'un gavage par les pesticides (Mancozèbe, Métribuzine) chez le rat Wistar. thèse Doctorat. *université de Tlemcen*. 196 p.
- **Menvielle-Bourg FJ.** 2005. Le superoxyde dismutase. puissant antioxydant naturel. Désormais disponible par voie orale. *Phytothérapie Numéro 3*: 118-121.
- **Migdal C., Serres M.** 2011. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*. 27 : 405-12.
- **Mohi El-Din M., Mostafa A., Abd-Elkader A.** 2014. Experimental studies on the effect of (Lambda-

Cyhalothrin) insecticide on lungs and the ameliorating effect of plant extracts (Ginseng (Panax Ginseng) and garlic (Allium sativum L.) on asthma development in albino rats. *BMC Research Notes*. 7:243.

- **Morgan A.M., Osman A.H.** 2007. Immunotoxic Effect of Lambda-Cyhalothr in Rabbits. *J. Egypt. Soc. Toxicol. Vol. 36*: 23-33.

O

- **Ouahiani M.** 2014. Effet d'un régime enrichi en chlorpyrifosur quelques marqueurs du statut oxydant/antioxydant chez le rat wistar. thèse Pour l'obtention du Diplôme de master. *université de Tlemcen*. 56 p.

P

- **Paliwal A., Gurjar RK., Sharma HN.** 2009. Analysis of liver enzymes in albino rat under stress of lambda-cyhalothrin and nuvan toxicity. *Biology and Medicine*. 1 (2): 70-73.
- **Parveza S., Raisuddin S.** 2005. Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata*(Bloch). *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 20 .112–117.
- **Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne JO.** 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidantdefences. *Nutrition clinique et métabolisme*. 16. 233–239.
- **Pincemail J., Le Goff C., Charlier C., Gillion P., Cheramy-Bien JP., Van Honacker E., Chapelle JP. et Defraigne JO.** 2009. Evaluation biologique du stress oxydant Application en routine Clinique, *Nutrition et Endocrinologie*. Décembre.
- **Poisson-Moreau C.** 2014. Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de Doctorat. *Université de Paris*. 417 p.
- **Pradeep K., Raj Mohan C.V., Gobianand K. et Karthikeyan S.** 2007. Silymarin modulates the oxidant–antioxidant imbalance during diethylnitrosamine induced oxidative stress in rats. *European Journal of Pharmacology*. 560.110–116.
- **Pretto A., Lovo V., Baldisserotto B., pavanato M., Moraes B.S. et Menezes C.** 2011. Effet of Water Cadmuim Concentration on Bioaccumulation and Various Oxidative Stress Parametrs in *Rhamdiaquelen*. *ArchENVIRON Contam. Toxicol.* 60: 309-318.

R

- **Rambabu N., Kaiser J.** 2005. Evaluation of Cytogenetic Effects of Lambda-Cyhalothrin on Human Lymphocytes, *J Biochim Molecular Toxicology Volume 19. Number 5*.
- **Redouane Salah Y., Flih R.** 2015. La relation entre l'hépatotoxicité et le stress oxydant. Thèse pour

l'obtention du Diplôme de Master. *Université de Constantine*. 85 p.

S

- **Saadane O.** 2018. L'Impact des pesticides sur l'environnement et la santé humaine et méthodes alternatives. Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en pharmacie. *Université de RABAT*. 163p.
- **Saka S., Bahi A., Aouacheri W.** 2011. L'effet du stress oxydant induit par l'acétate de plomb sur le système enzymatique du glutathion chez les rats. *Ann Toxicol Anal.* 23(3): 139-145.
- **Shaurub EH., Abd El-Aziz NM.** 2015. Biochemical effects of lambda-cyhalothrin and lufenuron on *Culex pipiens* L, (Diptera: Culicidae). *International Journal of Mosquito Research.* 2 (3): 122-126.
- **Strange R., Spiteri M., Ramachandran S., Fryer A.** 2001. Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutation Research.* 482 . 21–26.
- **Sutcu R., Altuntas I., Yildirim B., Karahan N., Demirin H. et Delibas N.** 2006. The effects of subchronic methidathion toxicity on rat liver: role of antioxidant vitamins C and E. *Cell biology and toxicology.* 22(3). 221-227.

T

- **Tessier F., Marconnet P.** 1995. Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Laboratoire de biomécanique et biologie de l'exercice. Faculté des sciences du sport. université de Nice France. *Science & Sports.* 10.1-13. *Elsevier Paris.*
- **Therrien R.,** 2009. Hépatotoxicité. Unité Hospitalière de recherche et d'enseignement VIH/sida Centre Hospitalier de l'Université de Montréal. PRCE090197F-a Tous les noms commerciaux sont des marques de commerce de leurs fabricants respectifs.

Y

- **Yousef Ali Z.** 2012. Neurotoxic Effect of Lambda-Cyhalothrin. A Synthetic Pyrethroid Pesticide: Involvement of Oxidative Stress And Protective Role of Antioxidant Mixture. *New York Science Journal.* 5(9).
- **Yousef M.** 2010. Vitamin E modulates reproductive toxicity of pyrethroid lambda-cyhalothrin in male rabbits. *Food and Chemical Toxicology.* 48 1152–1159.

Z

- **Zoumenou B., Aina M.P., Agbohessi P., Imoroutoko I., Scippo M.L.** 2015. Effets toxicologiques et méthodes d'analyse de la lambda-cyhalothrine et de l'acétamipride utilisés dans la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9(4): 2184-2199.

Webographie

- **[Site01]:** <http://www.hepatoweb.com>.
- **[Site02]:** https://www.curezone.org/upload/_C_Forums/Candida/malondialdehyde.png

Annexes



1. Courbe d'étalonnage pour dosage des lipides

Tableau12. Réalisation de la courbe d'étalonnage pour dosage des lipides

Solutions	Tubes					
	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipide (μ l)	0	20	40	60	80	100
Solvant éther/chloroforme (μ l)	100	80	60	40	20	0
RéactifSPV(ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

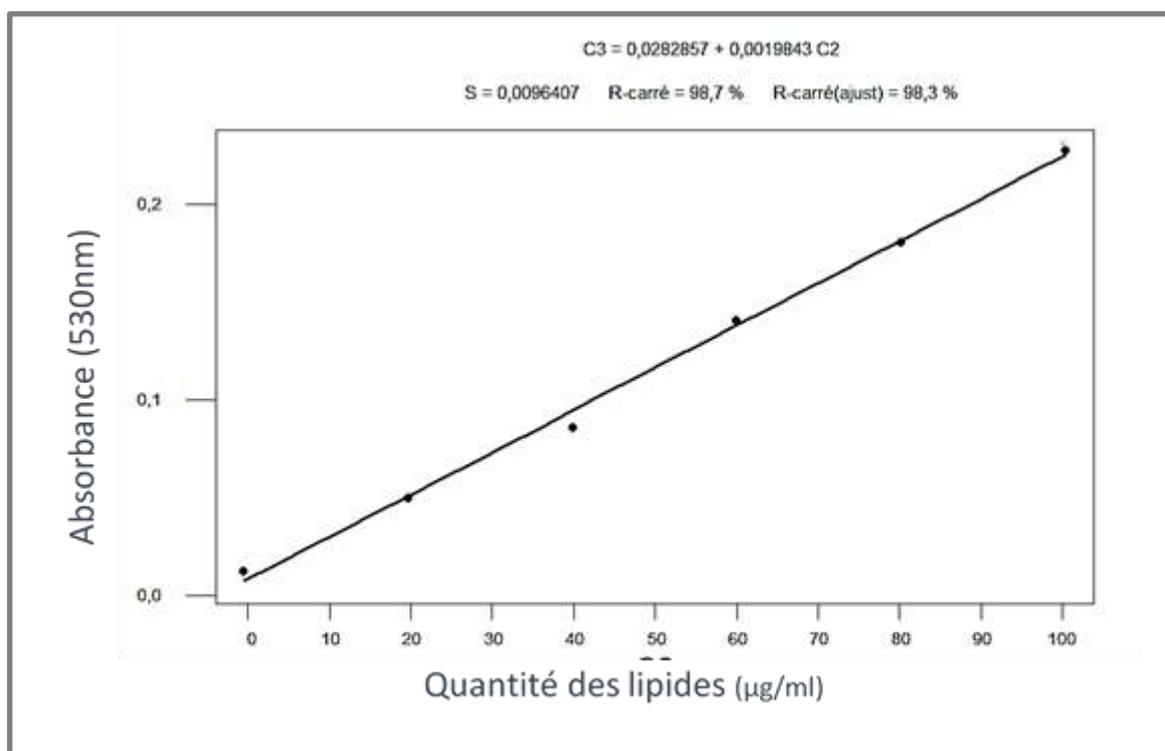


Figure31. Courbe d'étalonnage pour dosage des lipides.

2. Courbe d'étalonnage pour dosage des protéines

Tableau 13. Réalisation de la courbe d'étalonnage pour dosage des protéines

Solutions	Tubes					
	1	2	3	4	5	6
Solution mère de l'Albumine (μl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillé (μl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

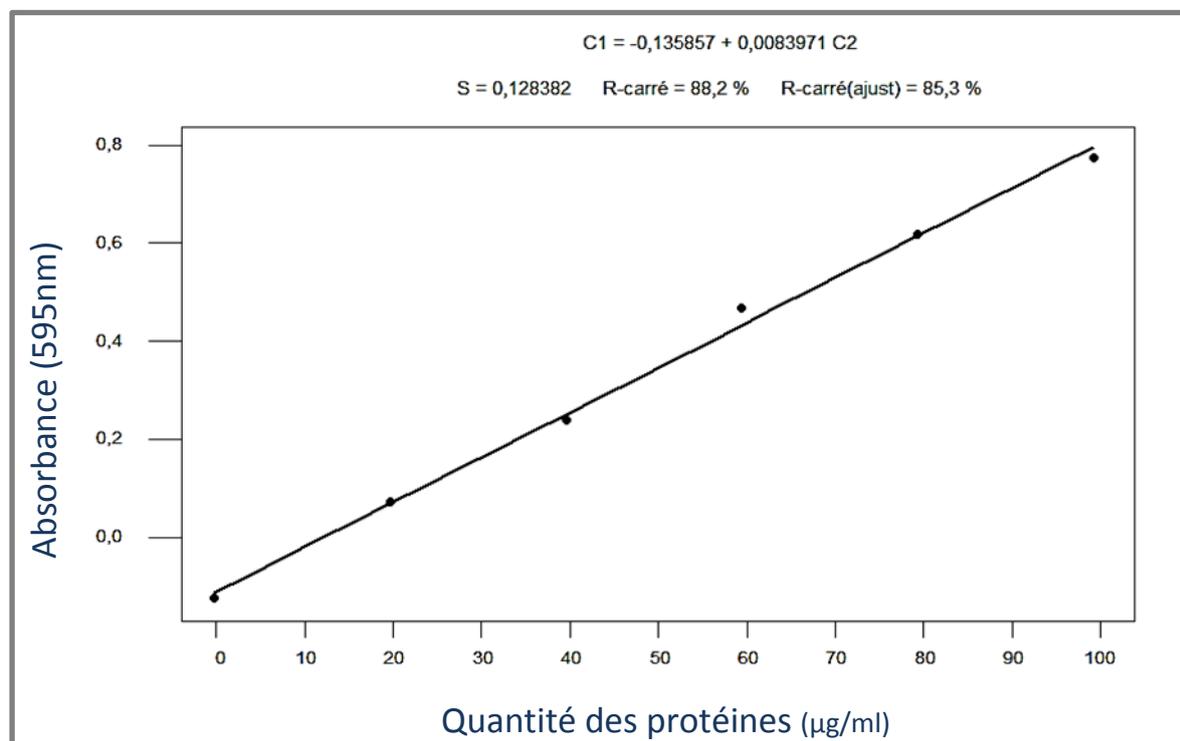


Figure 32. Courbe d'étalonnage pour dosage des protéines.