

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ BAJI-MOKHTAR
ANNABA**



**جامعة باجي مختار
- عنابة -**

***Faculté des Sciences
Département de Biologie***

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magistère

Option :

Ecophysiologie Animale

Effets de l'arsenic de sodium sur la reproduction du rat de la souche

Wistar : Impact biochimiques et Études phytothérapeutique.

**Présenté par :
KADECHE LILIA**

Membres de Jury :

Président : BOULAKOUD M.S.	Professeur	Université de Annaba
Examineur : KHELILI K.	Professeur	Université de Annaba
Examineur : ABEDNNOUR C.	Professeur	Université de Annaba
Promoteur : MESSARAH M.	Maître de conférences	Université de Annaba

Année universitaire : 2009/2010

REMERCIEMENT

*J'*exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à monsieur Messarah Mahfoud ; Maître de conférence à l'université d'Annaba pour m'avoir accepté de diriger et de réaliser ce travail. Je le remercie aussi pour toute sa confiance, son soutien et sa disponibilité. Vos qualités morales, intellectuelles et surtout votre intérêt pour la science forcent le respect et l'admiration.

*J'*exprime également mes vifs remerciements à monsieur Boulakoud Mohamed Salah ; Professeur à l'université d'Annaba d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de ma thèse malgré vos nombreuses occupations et de m'avoir permis de travailler au sein de son laboratoire. Votre simplicité et votre modestie sont à la dimension de votre envergure scientifique.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à monsieur Khelili Kamel ; Professeur à l'université d'Annaba et à monsieur Abdennour Cherif ; Professeur à l'université d'Annaba d'avoir accepté pour juger ce travail.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail :

Personnel du service de laboratoire du centre de santé Boumahra A. et l'Hôpital IBN ZAHRE Guelma et en particulier leurs chefs de services Aissani S. et Chaikha A., pour la réalisation des analyses biochimiques.

Docteur Maizi et le chef de service Feninekh et en particulier mon cousin Kadeche A. de l'Hôpital de Skikda, pour leurs efforts.

Toutes les personnes qui nous ont soutenus de pré ou de loin à la réalisation de ce travail.

Je remercie mes collègues et mes amies pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble.

Enfin, une pensée pour tous les rats utilisés au cours des différents protocoles : sans eux, rien n'aurait été possible !

DEDICACE

Au nom de Dieu le très miséricordieux et le tout miséricordieux que Dieu bénisse le prophète MOUHAMED, imam des bienheureux et sauvegarde des purifiés ainsi que sa noble famille et ses satisfaisants compagnons. Amin.

Je rends grâce à Allah le tout puissant de m'avoir donné la santé, le courage et la force de mener ce travail à bout.

Je dédie ce travail à mes parents, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études et que Dieu leurs accorde une longue vie et à mon tour je puisse leurs témoigner ma gratitude. Amin.

Enfin, pour leur patience et leur compréhension, je dédie ce travail aussi à mes sœurs et mes frères.

Résumé

Le présent travail consiste à étudier l'effet protecteur du thé vert à raison de 66g/l sur la cytotoxicité induite par le traitement avec l'arsénite de sodium à 5,55mg/kg de poids corporel par injection intrapéritonéale.

Nos résultats ont montré que l'arsenic est à l'origine de plusieurs effets se traduisant par; un effet négatif sur la croissance corporelle, un effet hématotoxique (anémie), néphrotoxique (augmentation de l'urée et la créatinine sériques) et hépatotoxique (l'augmentation de la concentration sérique en bilirubine et en cholestérol). Nous avons noté que le traitement par l'arsenic est à l'origine aussi d'une augmentation de la peroxydation lipidique, signalé suite à une détermination des concentrations de malondialdéhyde hépatiques, rénales et testiculaires.

Cependant, la consommation de thé vert par les rats traités par l'arsenic, a atténué certains effets nocifs et peroxydatifs de l'arsenic. Ceci met nettement en évidence le rôle protecteur de thé vert vis-à-vis du stress oxydant généré au cours du traitement par l'arsenic.

L'ensemble de ces résultats montre bien que les perturbations enregistrées avec l'arsénite de sodium sont atténuées en présence de thé vert, ce qui pourrait résulter de la richesse en antioxydants du thé (polyphénols) pour diminuer le stress oxydatif induit par l'arsenic.

Mots clé : Stress oxydant, Antioxydants, Polyphénols, Thé vert, *Camellia sinensis*, Plantes médicinales, Arsenic, Rats.

Abstract

The present study investigated the protective effect of green tea (66 g/l) against sodium arsenite (5,55 mg/kg b.w., by intraperitoneal injection) induced cytotoxicity in rats.

Our results showed that arsenic was provoked a perturbation in the body growth, haematotoxicity effect (anemia), nephrotoxicity (increase concentration of urea and creatinine in serum), hepatotoxicity (increase of serum bilirubin and cholesterol). On the other hand, we noted an increase of lipid peroxidation (malondialdehyde level) in liver, kidney and testicle.

However, consumption of green tea on arsenic exposure, exhibited significant recovery in lipid peroxidation and other blood biochemical variabls. This effects demonstrated that the green tea has a significant role in protecting animals from arsenic induced oxidative stress.

Moreover, green tea has been shown to decrease oxidative damage induced by arsenic treatment could be due to green tea contains a large amounts of polyphenols.

Key words: Oxidative stress, Antioxidants, Polyphenols, Green Tea, *Camellia sinensis*, Medicinal Plants, Arsenic, Rats.

المخلص

يشمل هذا العمل على دراسة الفعل الوقائي للشاي الاخضر بجرعة (66 غ/ل) على التسمم الخلوي الناجم من معاملة الفئران بمعدن الزرنيخ بتركيز 5,55 مغ/كغ وزن حي و ذلك عن طريق الحقن تحت الصفاق.

بينت النتائج المتحصل عليها بان المعاملة بالزرنيخ ادت الى حدوث العديد من التاثيرات و التي تتمثل في تاثير سلبي على النمو (انخفاض في الوزن الحي عند فئران التجربة) ، تسمم دموي (انيميا) ، تسمم كلوي (زيادة تركيز كل من اليوريا و الكرياتينين في المصل) و تسمم كبدي (زيادة مستوى كل من البيليروبين و الكولسترول). كما سجلنا بان معاملة الفئران بواسطة الزرنيخ ادت الى زيادة مستوى فوق الاكسدة الليبديية و ذلك من خلال تحديد تركيز MDA في الكبد، الكلية و الخصيتين .

في حين ادى استهلاك الشاي الاخضر من طرف الفئران المعاملة بالزرنيخ الى التخفيف من بعض مؤثراته الضارة و المؤكسدة. مما يدل بوضوح الدور الوقائي الذي يقوم به الشاي الاخضر ضد الاجهاد التاكسدي الناتج من المعاملة بالزرنيخ .

بينت مجمل هذه النتائج على ان الاضطرابات الضارة و المسجلة نتيجة المعاملة بمعدن الزرنيخ انخفضت بوجود الشاي الاخضر، و التي يمكن ان ترجع نتيجة لاحتواء الشاي الاخضر على مضادات الاكسدة (البوليفينول) و التي تعمل على التقليل من الاجهاد التاكسدي.

الكلمات الدالة: الاجهاد التاكسدي ، مضادات الاكسدة ، البوليفينول ، الشاي الاخضر، *Camellia sinensis*، النباتات الطبية ، الزرنيخ ، الفئران .

ABREVIATIONS

ALAD	: δ -Aminolévulinique déhydratase
As	: Arsenic
As III	: Arsenic inorganique trivalent (arsénite)
As V	: Arsenic inorganique pentavalent (arséniate)
BHT	: Butyl hydroxy toluène
Bi	: Bismuth
BSA	: Sérum albumine bovine
CAT	: Catalase
CCMH	: Concentration corpusculaire moyen en hémoglobine
Cu	: Cuivre
Cu/Zn-SOD	: Superoxyde dismutase aux ions cuivre et zinc
DTNB	: Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman
ECG	: Epicatéchine gallate
EDTA	: Ethylène diamine tétra-acétique
EGC	: Epigallocatechine
EGCG	: Epigallocatechine gallate
Fe	: Fer
G6PDH	: Glucose-6-phosphate déshydrogénase
GB	: Globules Blancs
GPX	: Glutathion peroxydase
GR	: Globules Rouges
GR	: Glutathion réductase
GSH	: Glutathion réduit
GSSG	: Glutathion oxydé
GST	: Glutathion S-transférase
H₂O₂	: Peroxyde d'hydrogène
Hb	: Hémoglobine
4-HNE	: 4-hydroxy-2-nonéal
LOOH	: Hydroxyde lipidique
LPO	: Peroxydes lipidiques
MDA	: Malondialdehyde
Mn	: Manganèse
Mn-SOD	: Superoxyde dismutase à manganèse
N	: Azote
NADPH	: Nicotinamide dinucleotide phosphate
Ni	: Nickel
^oOH	: Radical hydroxyle
8-OHdG	: 8-hydroxy-2-déoxyguanosine
ONOOH	: Nitroperoxyde
¹O₂	: Oxygène singulet
O₂^{o-}	: Radical superoxyde (anion superoxyde)
P	: Phosphore
ROS	: Reactive oxygen species ou Espèces activées de l'oxygène
Sb	: Antimoine
Se	: Sélénium

SOD	: Superoxyde dismutase
TBA	: L'acide thiobarbiturique
TCA	: Trichloroacétique
TGMH	: Teneur globulaire moyenne en hémoglobine
U	: Unité enzymatique
VGM	: Volume globulaire moyen des hématies
Zn	: Zinc

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Propriétés physico-chimiques de l'arsenic.....	15
Tableau2 : Principales utilisations des composés arséniés.....	15
Tableau 3 : Les principales sous- classes de la famille de flavonoïdes.....	24
Tableau 4 : Composition de l'alimentation pour 1 kilogramme d'aliment.....	27
Tableau 5 : Variation du poids corporel en (g) des rats témoins et traités par le thé vert après 6 semaines de traitement.....	38
Tableau 6 : Variation de quelques paramètres hématologiques chez les rats témoins et traités ; par le thé vert, l'arsénite de sodium et par la combinaison (arsénite de sodium/ thé vert) après 21 jours de traitement.....	45
Tableau 7 : Variation de quelques paramètres biochimiques chez les rats témoins et traités ; par le thé vert, l'arsénite de sodium et par la combinaison (arsénite de sodium/thé vert) après 21 jours de traitement.....	49
Tableau 8 : Variation du taux de MDA (nmol/mg prot.) dans les organes (foie, reins et testicules) chez les rats témoins et traités ; par le thé vert, l'arsénite de sodium et par la combinaison (arsénite de sodium/thé vert) après 21 jours de traitement.....	57

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : mécanismes de production des différentes substances réactives de l'oxygène	4
Figure 2 : Systèmes biologiques de défenses anti-oxydantes.....	8
Figure 3 : Principales espèces arséniées détectées dans l'environnement.....	16
Figure 4 : Le métabolisme de l'arsenic.....	19
Figure 5 : Structure de la flavone.....	24
Figure 6 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	29
Figure 7 : la gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines.....	36
Figure 8 : Variation du poids corporels en (g) des rats témoins et traités après 6 semaines de traitement.....	38
Figure 9 : Variation du poids corporel en (g) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement	40
Figure 10 : Evolution du poids relatif du foie (g/100g Pc) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	40
Figure 11 : Evolution du poids relatif des reins (g/100g Pc) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	41
Figure 12 : Evolution du poids relatif des testicules (g/100g Pc) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	41
Figure 13 : Variation des globules rouges ($10^6/\mu\text{l}$) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	45
Figure 14 : Variation d'hémoglobine (g/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	46
Figure 15 : Variation d'hématocrite en (%) chez les rats témoins et traités après 21 jours traitement.....	46
Figure 16 : Variation de la concentration sérique en glucose (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	50
Figure 17 : Variation de la concentration sérique en bilirubine totale (mg/l) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	50
Figure 18 : Variation de la concentration sérique en urée (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	51

Figure 19 : Variation de la concentration sérique en créatinine (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	51
Figure 20 : Variation de la concentration sérique en cholestérol (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	52
Figure 21 : Variation du malondialdehyde (nmol/mg prot.) dans le foie chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	57
Figure 22 : Variation du malondialdehyde (nmol/mg prot.) dans les organes (reins et testicules) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	58

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	3
CHAPITRE I : Le stress oxydant	
1. Définition.....	3
2. Les radicaux Libres.....	3
3. Espèces oxygénées réactives (ROS).....	3
3.1. Origine des ROS.....	5
4. Les défenses antioxydantes.....	6
4.1. Les systèmes enzymatiques.....	6
4.1.1. Superoxyde dismutase (SOD).....	6
4.1.2. Catalase	6
4.1.3. Glutathions peroxydases.....	7
4.2. Les systèmes non enzymatiques.....	9
4.2.1. La vitamine E.....	9
4.2.2. La vitamine C.....	9
4.2.3. Glutathion	9
4.3. Oligoéléments.....	10
5. Les Conséquences du stress oxydant.....	10
5.1. Peroxydation Lipidique.....	10
5.2. Oxydation des protéines	11
5.3. Oxydation de l'ADN.....	11
6. Les maladies Liées au stress oxydant.....	12
CHAPITRE II : L'ARSENIC	
1. Généralité sur l'arsenic.....	13
2. Propriétés physico-chimiques.....	13
3. Les principales sources de l'arsenic	14
3.1. Sources naturelles	14
3.2. Sources anthropiques.....	14
4. Métabolisme de l'arsenic.....	17
4.1. Absorption	17
4.2. Distribution.....	17
4.3. Transformation métabolique.....	17
4.4. Elimination.....	18
5. Toxicité de l'arsenic	20
6. L'arsenic et le stress oxydatif	21

CHAPITRE III : LE THE VERT

1. Présentation de <i>Camellia sinensis</i>	22
1.1. Historique.....	22
1.2. Les variétés du thé.....	22
2. Composition des feuilles de thé	23
3. Propriétés biologiques de thé vert	25
3.1. Activités anti-oxydantes.....	25
3.2. Activités anti- cancéreuses.....	25
3.3. Autres rôles biologiques.....	26

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Matériel biologique et conditions d'élevage	27
2. Traitement des rats.....	27
3. Sacrifices et prélèvements des organes.....	28
3.1. Prélèvement sanguin.....	28
3.2. Prélèvement des organes.....	28
4. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques	30
4.1. Dosage du glucose.....	30
4.2. Dosage de la bilirubine totale.....	31
4.3. Dosage de l'urée.....	32
4.4. Dosage de la créatinine.....	33
4.5. Dosage du cholestérol.....	34
5. Evaluation de la peroxydation lipidique	35
5.1. Préparation de l'homogénat.....	35
5.2. Dosage des protéines.....	35
5.3. Dosage de malondialdehyde (MDA).....	36
6. Traitement statistique des résultats.....	37

CHAPITRE II : RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Paramètres de croissance.....	38
1.1. Action sur la croissance corporelle.....	38
1.2. Action sur le poids relatif de certains organes.....	39
2. Effets sur la fonction hématologique.....	44
3. Effets sur les paramètres biochimiques.....	48
3.1. Glucose.....	48
3.2. Bilirubine totale.....	48
3.3. Urée et créatinine.....	48
3.4. Cholestérol.....	48
4. Effets sur la peroxydation lipidique.....	56
4.1. Variations du taux de peroxydation hépatique.....	56
4.2. Variations du taux de peroxydation rénale.....	56
4.3. Variations du taux de peroxydation testiculaire	56

CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	61
----------------------------------------	-----------

BIBLIOGRAPHIE.....	62
---------------------------	-----------

INTRODUCTION

Introduction

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par la pollution chimique des individus par les produits toxiques. Les pollutions chimiques les plus répandues et les plus importantes par leur gravité sont les intoxications chroniques aux métaux lourds (plomb, mercure, cadmium,... etc.). Cette catégorie de métaux contient également des métalloïdes comme l'arsenic (As) dont la toxicité est responsable de la plus grande partie des maladies.

Le mécanisme essentiel qui sous-tend les effets de l'arsenic au niveau de l'organisme est lié à une surproduction de dérivés réactifs de l'oxygène (Reactive oxygen species, ROS) qui provoquerait un déséquilibre entre la production de ROS endogène et leur élimination. Ce déséquilibre conduirait à l'apparition d'un stress oxydant dont les effets pourraient être délétères pour les cellules.

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui regroupe l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène, mais également les composés non radicalaires, conduits donc à une oxydation accrue des composants cellulaires telles que l'ADN, les protéines et les lipides. La lutte contre ses effets délétères est assurée par des systèmes de défense variés, chargés de capturer et de neutraliser les ROS mais aussi d'éliminer et de remplacer les molécules endommagées.

De ce fait, de nombreuses enquêtes épidémiologiques (Sies et Stahl, 1995 ; Goussard, 1999 ; Favier, 2003 ; Cheng, 2005) ont montré l'importance d'augmenter le pouvoir antioxydant de l'organisme avec les antioxydants exogènes, principalement apportés par les produits végétaux comme les vitamines, les caroténoïdes, les oligoéléments et les minéraux. Les végétaux comprennent aussi une très grande diversité des constituants susceptibles d'être absorbés, et d'exercer des effets biologiques divers, les principaux sont les polyphénols (Rock, 2003).

Les polyphénols sont largement représentés dans la quasi-totalité des plantes, le thé vert (*Camelia sinensis* O. Kuntze, Theaceae) est l'exemple le plus cité (Iserin et al., 2001). Les polyphénols de thé vert suscitent depuis une dizaine d'année un intérêt croissant en phytothérapie. Une des raisons principales est la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes et aussi leur implication probable dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant (Rock, 2003).

INTRODUCTION GÉNÉRALE

C'est ainsi que nous nous sommes intéressés à entreprendre ce travail qui est subdivisé en deux parties essentielles, initiés par une synthèse bibliographique dans laquelle nous apportons un premier chapitre qui traite les effets du stress oxydatif sur les macromolécules (lipides, protéines et acides nucléiques) et ainsi que le mécanisme de défense contre ce stress, un second chapitre qui consiste à étudier des généralités sur l'arsenic et leur toxicité et un troisième chapitre qui est consacré à l'étude du thé vert.

La partie pratique consiste à déterminer les effets protecteurs du thé vert sur la cytotoxicité induite par l'arsénite de sodium chez le rat Wistar en évaluant:

- ✓ L'étude de la variation du poids corporel et du poids relatif de certains organes;
- ✓ Les paramètres hématologiques;
- ✓ Les paramètres biochimiques;
- ✓ La variation du taux de la peroxydation lipidique

Et enfin, nous discuterons les résultats obtenus dans cette étude.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

LE STRESS OXYDANT

I. LE STRESS OXYDANT

1. Définition

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des ROS et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd et al., 2003). Ce déséquilibre peut avoir, une origine endogène, telles la surproduction d'agents pro-oxydant d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants. Ou une origine exogène ; une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants comme le tabac, alcool, rayons et les métaux lourds (Favier, 1997).

2. Les radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés (Vancant, 2004). Cette caractéristique lui confère une réactivité importante vis-à-vis d'autres molécules plus stables, pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade (Halliwell et Gutteridge, 2000 ; Bonnefont - Rousselot et al., 2003).

3. Espèces oxygénées réactives (ROS)

Dans certaines conditions métaboliques, la réduction de l'oxygène est incomplète et aboutit à la formation de radicaux libres (fig.1).

Actuellement on utilise le terme d'espèces oxygénées réactives ou substances réactives de l'oxygène (ROS) pour désigner un ensemble plus large de molécules :

a- Des radicaux libres oxygénés : on distingue deux grandes classes :

- Les radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde $O_2^{\circ-}$, et le radical hydroxyle OH° , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO° .
- les radicaux secondaires, se forme par réaction des radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Pryor, 1986).

b- Des dérivés de l'oxygène non radicalaire comme l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH), sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux libres.

Toutes ces espèces oxygénées sont produites par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (Favier, 2003).

Figure 1 : mécanismes de production des différentes substances
réactives de l'oxygène (Amara, 2007)

La réaction de fenton est catalysée par des cations métalliques libres comme le cuivre et le fer qui génèrent des radicaux hydroxyles, très réactifs, à partir de l'espèce peu réactive H_2O_2 (Favier, 2003).

3.1. Origine des ROS

Les origines cellulaires des ROS sont essentiellement enzymatiques et découlent de plusieurs sources, mais il existe deux sources majeures des ROS :

- La première résulte d'imperfections de la chaîne respiratoire mitochondriale qui produit par réduction mono électronique des ROS.
- La deuxième source est constituée par la NADPH oxydase, essentiellement liée à la membrane plasmatique. Elle a été initialement décrite dans les cellules phagocytaires, où elle joue un rôle fondamental dans la réponse immunitaire dans la lutte contre les microorganismes (Babior, 1999).

D'autres sources importantes de ROS sont les réactions de détoxification mettant en jeu les cytochromes P450. Dans ces circonstances physiologiques, la production des ROS est donc normale, mais lorsque leur production augmente et /ou les défenses antioxydantes ne sont plus suffisantes face à cette production, les ROS peuvent attaquer différentes cibles cellulaires (lipides, protéines, ADN.....) causant des dommages multiples et pouvant entraîner la mort de la cellule (Reichel, 2004).

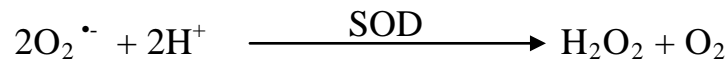
4. Les défenses antioxydantes

4.1. Les systèmes enzymatiques

Plusieurs enzymes sont impliquées dans la défense anti-oxydante. Les trois enzymes antioxydantes majeurs sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) (De moffarts et al., 2005).

4.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Enzyme capable d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation. Son rôle est de transformer, les radicaux superoxydes en peroxydes d'hydrogènes selon la réaction suivante (Moumen et al., 1997) :

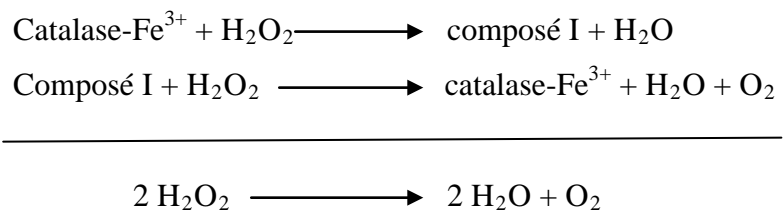


Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer les superoxydes dismutases à manganèse (MnSOD) protégeant la mitochondrie, des superoxydes dismutases à cuivre –zinc protégeant le cytosol (cCu-Zn SOD), la face externe de la membrane des cellules endothéliales (eCu/Zn-SOD) ou le plasma sanguin (pCu/Zn-SOD) (Favier, 2003).

4.1.2. Catalase

Les catalases se trouvent dans la plupart des cellules aérobies et sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges. Elle catabolise les peroxydes d'hydrogènes en molécule d'eau pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles (Maté et al., 1999).

La réaction se fait en deux étapes :



4.1.3. Glutathions peroxydases

Les glutathions peroxydases sont le principal système de protection car elles détruisent non seulement le peroxyde d'hydrogène, mais aussi les peroxydes organiques toxiques formés par oxydation des acides gras ou du cholestérol (Favier, 2003). Ces enzymes ont en commun une structure tétramérique, chaque tétramère possédant un atome de sélénium dans son site actif. L'activité est donc très dépendante de l'apport nutritionnel en sélénium. Des glutathions peroxydases existent dans le cytosol (cGPx), dans le plasma (pGPx), au niveau de la membrane cellulaire (mGPx).

Le fonctionnement de ces enzymes nécessite un flux de glutathion recyclé par la coopération de plusieurs enzymes dont la glutathion réductase (GR) qui réduit le glutathion oxydé en consommant du NADPH, lui – même régénéré grâce à la glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PDH) alimentée par la voie des pentoses phosphatases (Matés et al., 1999 ; Favier, 2003).

La figure 2 montre les systèmes de défenses anti-oxydantes.

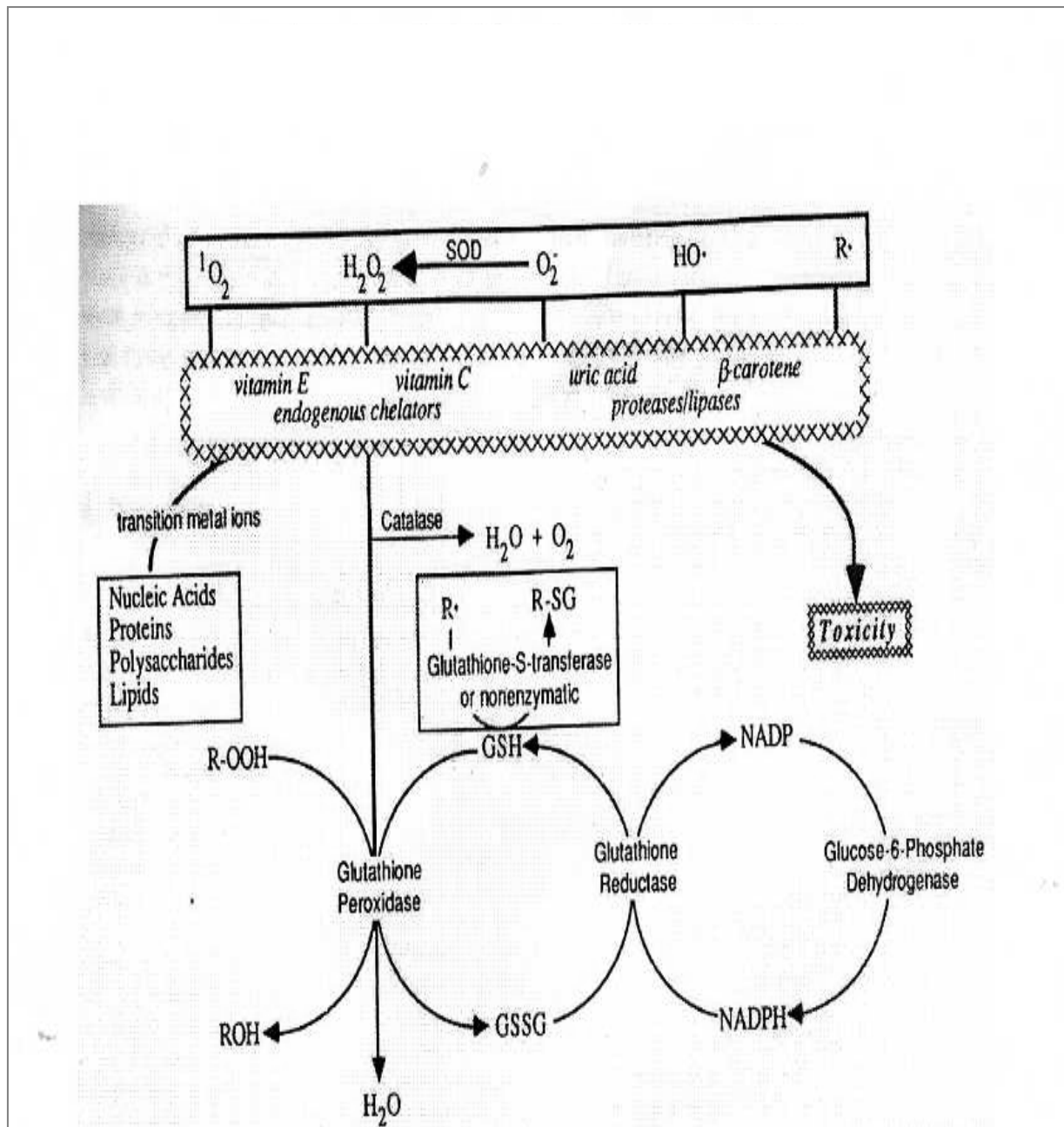


Figure 2. Systèmes biologiques de défenses anti-oxydantes (Kehrer, 1993).

4.2. Les systèmes non enzymatiques

4.2.1. La vitamine E

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identique à celles de la famille des tocophérols. Sa forme naturelle inclut quatre tocophérols isomère α , β , γ et δ avec une activité antioxydante variable. L'alpha tocophérol (α - TocH) est la forme la plus active de la classe des tocophérols (Carr et al., 2000). Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines, où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant. De plus, elle présente la particularité de pouvoir être régénérée après son oxydation (Khalil, 2002).

4.2.2. La vitamine C

La vitamine C (acide ascorbique) est le principal antioxydant hydrosoluble. C'est un excellent piègeur des ROS (surtout les radicaux superoxydes et hydroxyles) qui peut protéger divers substrats biologiques (protéines, acides gras, ADN) de l'oxydation et joue également un rôle important dans la régénération de la vitamine E (Sies et Stahl, 1995).

4.2.3. Le glutathion

Le glutathion, sous sa forme réduite, est un tripeptide (γ - glutamyl- cystéinyl-glycine) naturel synthétisé par les cellules et doté d'un groupement réducteur représenté par la fonction thiol de sa cystéine (Vamecq et al., 2004). Le glutathion joue un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydant, il intervient comme agent de détoxification et participe à la neutralisation de certains radicaux libres, notamment comme cofacteur de l'enzyme glutathion peroxydase. Par ailleurs, il participe à la synthèse d'ADN, des protéines et intervient dans des processus de transport cellulaires (Goussard, 1999).

Le rapport entre glutathion réduit et glutathion oxydé (GSH/GSSG) dépend de la concentration en espèces oxydantes, il diminue dans les états de stress oxydatif et peut dès lors servir de marqueur du stress oxydatif (Vamecq et al., 2004).

Ils existent également toute une série de composés naturellement apportés par l'alimentation, comme par exemple les polyphénols et les différents thiols. Ils peuvent être aussi d'origine endogène comme la mélatonine, le coenzyme Q ou l'acide urique (Vamecq et al., 2004).

4.3. Oligoéléments

Des métaux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn) et dans certains micro-organismes le nickel (Ni), jouent un rôle important en tant que catalyseur de la SOD. De la même façon le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont respectivement les éléments catalyseurs de la GPx et la catalase (De moffarts et al., 2005).

5. Les conséquences du stress oxydant

5.1. Peroxydation Lipidique

Les premières cibles privilégiées de l'attaque radicalaire sont les lipides et principalement leur acides gras polyinsaturés, qui sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation (Hulbertl, 2005 ; Pamplona et al., 2000).

La peroxydation lipidique se déroule en trois phases :

- **L'initiation**, qui consiste en la rupture homolytique, occasionnée par un initiateur radicalaire (tel que le radical hydroxyle °OH), d'une liaison C-H de la chaîne d'un acide gras, ce qui en fait un composé radicalaire (diène conjugué) très réactif vis-à-vis de l'oxygène et qui va donc se transformer en radical peroxyde ($L00^\circ$).

- **La propagation**, au cours de laquelle le radical peroxyde va arracher un hydrogène à un autre acide gras, créant un nouveau radical et entretenant ainsi une réaction en chaîne, pour se transformer en hydroperoxyde .

- **La terminaison**, les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution, être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase et la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidiques des membranes (Luc et al., 1991 ; Halliwell, 1996 ; Favier, 2003). Ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en produits secondaires c'est-à-dire en aldéhydes très réactifs, pouvant être considérés comme des messages secondaires toxiques qui augmentent les dommages initiaux dus aux radicaux libres.

Parmi ces aldéhydes formés : l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE), sont très étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique. Les deux derniers produits (MDA, 4HNE) réagissent avec les protéines et l'ADN, une fois fixé à la molécule d'ADN, le MDA semble être le produit le plus mutagène, alors que le 4-HNE est le plus toxique pour la cellule (Marnett, 1999).

5.2. Oxydation des protéines

Tout comme les lipides, les protéines peuvent également être la cible des réactions radicalaires ou oxydatives et subir des modifications (Levine, 2002). Les protéines les plus sensibles sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH), c'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi oxydées et inactivées (Favier, 2003). Les modifications oxydatives par les ROS provoquent l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine. Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Cu^{2+} et le Fe^{2+} . Nous pouvons classer les réactions d'oxydations des protéines en deux catégories : d'une part celle qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part les modifications des peptides par additions de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE. De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines (Levine, 2002).

5.3. Oxydation de l'ADN

Les modifications induites par des processus oxydatifs dans le matériel génétique appartiennent à quatre catégories : modifications des bases, cassures simples et doubles de la chaîne d'ADN, site abasiques et pontage avec les protéines (Hochberg et al., 2006).

Les ROS ont une grande affinité de réaction avec certaines bases constitutives de l'ADN particulièrement la guanine. Celle-ci est facilement transformée en 8-hydroxy-2-déoxyguanosine (8-OHdG), qui est normalement éliminée par des enzymes de réparation de l'ADN. Si ces enzymes sont défectueux, la (8-OHdG) s'accumulera au sein de l'ADN causant ainsi des mutations (Borek, 1997).

Les aldéhydes réactifs issus de la peroxydation lipidique dont le MDA et le 4-HNE peuvent s'ajouter au groupe amine des bases de l'ADN et constituer ainsi une autre catégorie de dégâts oxydatifs de l'ADN (Marnett, 1999 ; Nair et al., 1999).

La formation de pontages covalents entre l'ADN et les protéines peut modifier l'expression des gènes et avoir ainsi de lourdes conséquences biologiques pour la cellule (Hochberg et al., 2006).

6. Les maladies Liées au stress oxydant

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution (Favier, 2003). La multiplicité des conséquences médicales de ce stress oxydant vient du fait que de nombreux organes ou tissus peuvent devenir la cible d'un stress oxydant (Bonnetfont –Rousselot et al., 2001 ; sohal et al., 2002 ; Delattre et al., 2005).

De nombreuses pathologies, à savoir les maladies neurologiques, les cancers, les processus inflammatoires ou encor le vieillissement accéléré, sont associées au stress oxydant. Ce dernier est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaire (Zhang et Jope, 1999 ; Favier, 2003).

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. L'augmentation de l'apport nutritionnel en antioxydant visera donc essentiellement à prévenir ces maladies, de même, une consommation régulière en anti- oxydant pourrait avoir un effet bénéfique, mais essentiellement préventif (Favier, 2003).

CHAPITRE II

L'ARSENIC

II. L'ARSENIC

1. Généralité sur l'arsenic

L'arsenic est un élément naturel de symbole « As » largement répandu dans la nature, on le trouve en général à l'état de traces dans les roches, le sol, l'air et les eaux souterraines (Mandal et Suzuki, 2002).

L'arsenic est un métalloïde dont les propriétés chimiques sont intermédiaires entre celles des métaux et celles de non métaux, tandis que son comportement en solution (formation d'anion) le rapproche des non métaux (Laperche et al., 2003).

Il existe à l'état naturel, et en fonction des environnements dans lequel il se trouve, sous quatre états d'oxydation différents ; -III (arsine), 0 (arsenic natif), +III (arsénites ou arsenic trivalent) et +V (arséniates ou arsenic pentavalent) (Schiferl et Barrett, 1969).

L'arsenic peut se combiner à d'autres métaux et non métaux pour former des composés organiques et inorganiques (essentiellement l'arsenic trivalent et pentavalent) (Gorby, 1994), la présence d'arsenic inorganique dans les eaux destinées à la consommation humaine a été identifiée comme le risque principal pour la santé (NAS, 1999).

Il est considéré comme agent cancérigène pour l'homme par l'Agence Internationale de Recherche contre le Cancer (IARC) depuis 1987. Néanmoins, cette classification s'applique à l'élément As en général mais pas nécessairement à chaque espèce arséniée (IARC, 1987).

Plusieurs études montrent que l'arsenic, à certaines concentrations, pourrait avoir des propriétés thérapeutiques dans le traitement de certains cancers (Bode et Dong, 2000 et 2002 ; Oketani et al., 2002 ; Kanzawa et al., 2003).

2. Propriétés physico-chimiques

Selon la classification périodique des éléments de Mendeleïev, l'arsenic de symbole « As » et de numéro atomique 33 est le troisième élément de la colonne 15, qui regroupe également l'azote (N), le phosphore (P), l'antimoine (Sb) et le bismuth (Bi).

L'électronégativité de cet élément est trop élevée pour lui conférer un caractère métallique : il appartient au groupe des métalloïdes (Matera, 2001). Quelques propriétés physico-chimiques de ce métalloïde sont récapitulées dans le tableau 1

3. Les principales sources de l'arsenic

3.1. Sources naturelles

L'arsenic est un élément naturel ubiquitaire, qui est présent à la fois dans l'atmosphère, la pédosphère et la biosphère. (Mandal et al., 2004) (Fig.3).

Les sources naturelles les plus communes de cet élément sont les éruptions et les roches volcaniques, les roches sédimentaires marines, les eaux souterraines et les combustibles fossiles (charbon, pétrole) (Mandal et Suzuki, 2002; Smedley et Kinniburgh, 2002 ; Wang et Mulligan, 2006).

L'arsenic est également présent dans plus de deux cents minéraux, le plus souvent associé à des composés sulfurés ou à certains métaux tel que l'Or , l'argent, le plomb, le Zinc ou le cuivre (Mandal et Suzuki, 2002 ; Smedley et Kinniburgh, 2002 ; Kim et al., 2002).

Dans les sols, la distribution de l'arsenic varie avec le type de sol en relation avec la nature de la roche mère (quantité supérieure dans les roches sédimentaires, par rapport aux roches ignées et métamorphiques) (Smith et al., 2002 ; Smedley et Kinniburgh, 2002).

La dissolution de l'arsenic dans l'eau peut être attribuée à des processus géochimiques naturels, incluant l'oxydation des minéraux sulfurés, la désorption de l'arsenic à partir d'oxyhydroxydes de fer, de manganèse et d'aluminium, des remontes de sources thermales le long des failles. (Jain et Ali, 2000 ; Mandal et Suzuki, 2002 ; Smedley et Kinniburgh, 2002 ; Wang et Mulligan, 2006).

La présence d'arsenic dans l'atmosphère est généralement liée à l'activité volcanique, aux feux de forêts et à la volatilisation via des microorganismes (Molénat et al., 2000).

3.2. Sources anthropiques

Les activités humaines qui ont contribué aux apports d'arsenic dans les sols et l'environnement sont issues des industries du secteur primaire et du secteur secondaire (Smith et al., 1998).

L'arsenic est ainsi utilisé dans l'agriculture et de nombreuses industries telles que l'industrie du bois, du verre, la fabrication de produits pharmaceutiques, ou métallurgie. Les principales utilisations des composés arséniés sont rappelées dans le tableau 2 (Azcue et Nriagu, 1994).

Tableau 1 : propriétés physico-chimiques de l'arsenic (Schiferl et Barrett, 1969).

Numéro atomique : 33	Rayon atomique : 125 pm
Symbole atomique : As	Point de fusion : ~817°C
Masse atomique : 74,9216	Point d'ébullition : 603 °c (sublimation)
Configuration électrique : [Ar] 4S ² 3d ¹⁰ 4p ³	Etats d'oxydation : 5,3, -3

Tableau2 : Principales utilisations des composés arséniés (Nriagu et Azcue, 1990)

Secteur	Utilisations
Agriculture	Pesticides, insecticides, herbicides, raticides, traitement du bois.
Bétail	Compléments alimentaires, prévention de maladie (dysenterie,.....)
Médecine	Traitement de syphilis, de l'amibiase, de perturbation du sommeil
Electronique	Composition des semi-conducteurs, cellules solaires, montres digitales.
Industrie	Fabrication du verre, céramique, synthèse de produits pharmaceutiques.
Métallurgie	Alliages non ferreux (agents durcisseurs du cuivre et du plomb), piles et batteries...

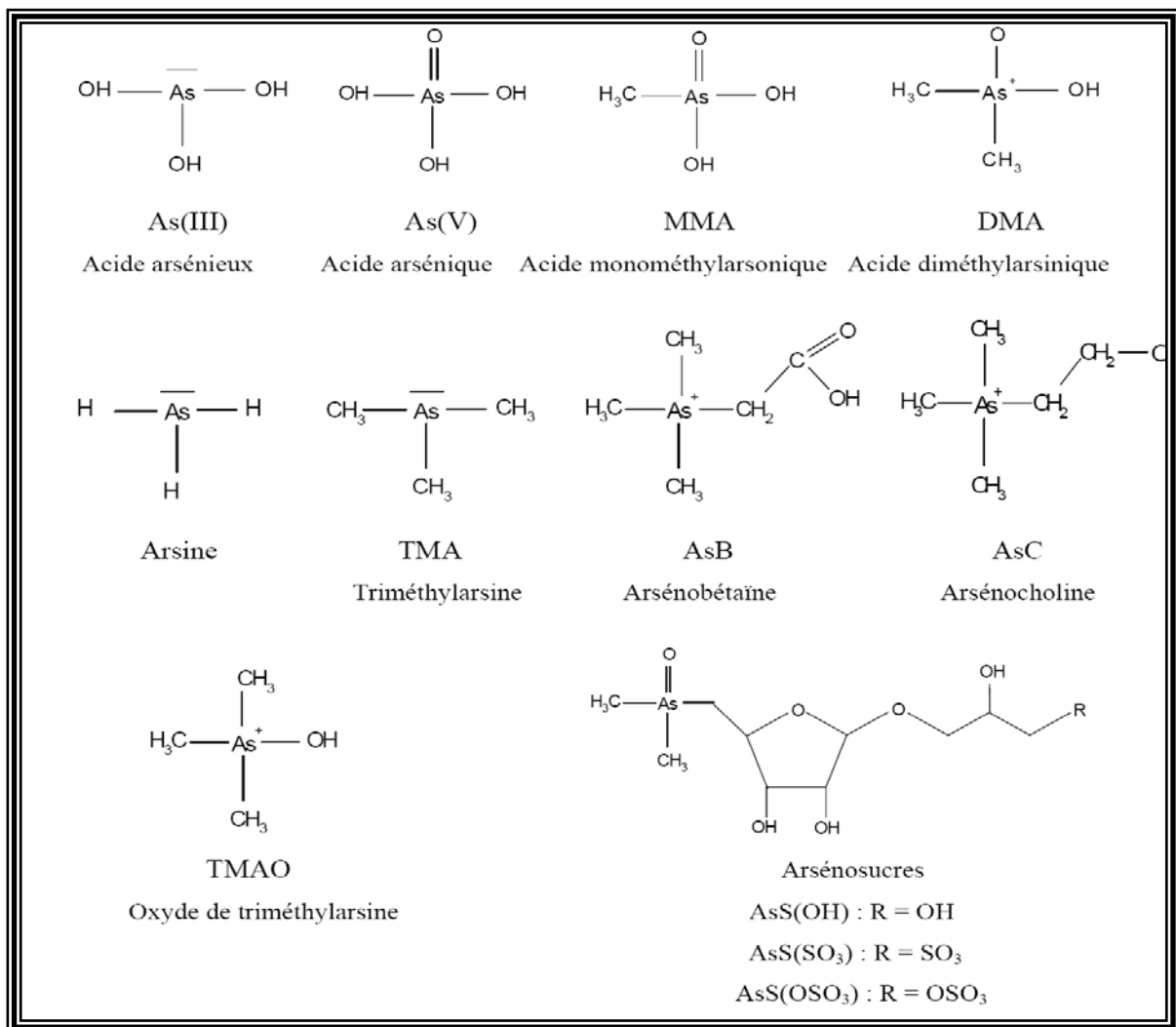


Figure 3: Principales espèces arséniées détectées dans l'environnement (Simeonova, 2004)

4. Métabolisme de l'arsenic

Les modes d'ingestion de l'arsenic chez les organismes supérieurs peuvent être la respiration de fumées toxiques (essentiellement lors d'accidents dans les industries sidérurgiques), la prise orale d'aliments (rare) et de boissons contaminés (cas de contamination chronique le plus courant), ou le contact dermique direct avec l'élément (diffusion à travers la peau) (Mandal et Suzuki, 2002).

4.1. Absorption

L'arsenic élémentaire ingéré est mal absorbé et demeure en grande partie inchangé lorsqu'il est éliminé. Les oxydes d'arsenic sont facilement absorbés (>80%) par voie gastro-intestinale (Fowler et al., 1979), et dans une moindre mesure, par les poumons et la peau (Wickström, 1972).

4.2. Distribution

Après absorption, l'arsenic inorganique se retrouve rapidement dans la circulation sanguine, où il se fixe principalement aux protéines plasmatiques et à l'hémoglobine grâce à sa forte affinité avec les groupes sulfhydryles (Axelson, 1980). Dans les 24 heures qui suivent, il se retrouve principalement dans le foie, les reins, les poumons, la rate et la peau (Wickström, 1972). Il s'accumule surtout dans la peau, les os et les muscles.

As III a tendance à s'accumuler dans les tissus, mais As (V) et l'arsenic organique sont rapidement éliminés au niveau des reins (Bertolero et al., 1987).

4.3. Transformation métabolique

La méthylation de l'arsenic inorganique (se fait principalement au niveau hépatique) se produit après réduction de l'arsenic pentavalent en arsenic trivalent et que la méthylation de cette forme trivalente de l'arsenic découle ensuite de l'addition oxydante d'un groupe méthyle provenant de la S- adénosylméthionine par la méthyltransférase pour former l'acide méthyle arsénique qui est ensuite réduit par le glutathion avant une seconde méthylation qui est conduite à l'acide diméthyl arsénique (Lowell et Farmer, 1985).

4.4. Elimination

L'arsenic sous forme inchangée et ces métabolites méthylés sont éliminés dans les urines par le rein après filtration glomérulaire, sécrétion tubulaire et réabsorption active (Cornul et Gillet, 2006). L'élimination des composés méthylés commence environ cinq heures après l'ingestion, mais elle atteint son niveau maximal deux ou trois jours plus tard.

Dans les urines, on retrouve l'As organique principalement sous forme de DMA (55-75%) et sous forme de MMA (10-20%) et d'As inorganique (10-30%). Prés de 90% de la totalité de l'arsenic excrété par voie urinaire (Lowell et Farmer, 1985). Chez l'homme, la demi vie de l'arsenic inorganique se situe entre deux et quatre jours (Pomroy et al., 1980).

Le métabolisme des dérivés de l'arsenic est schématisé dans la figure 4.

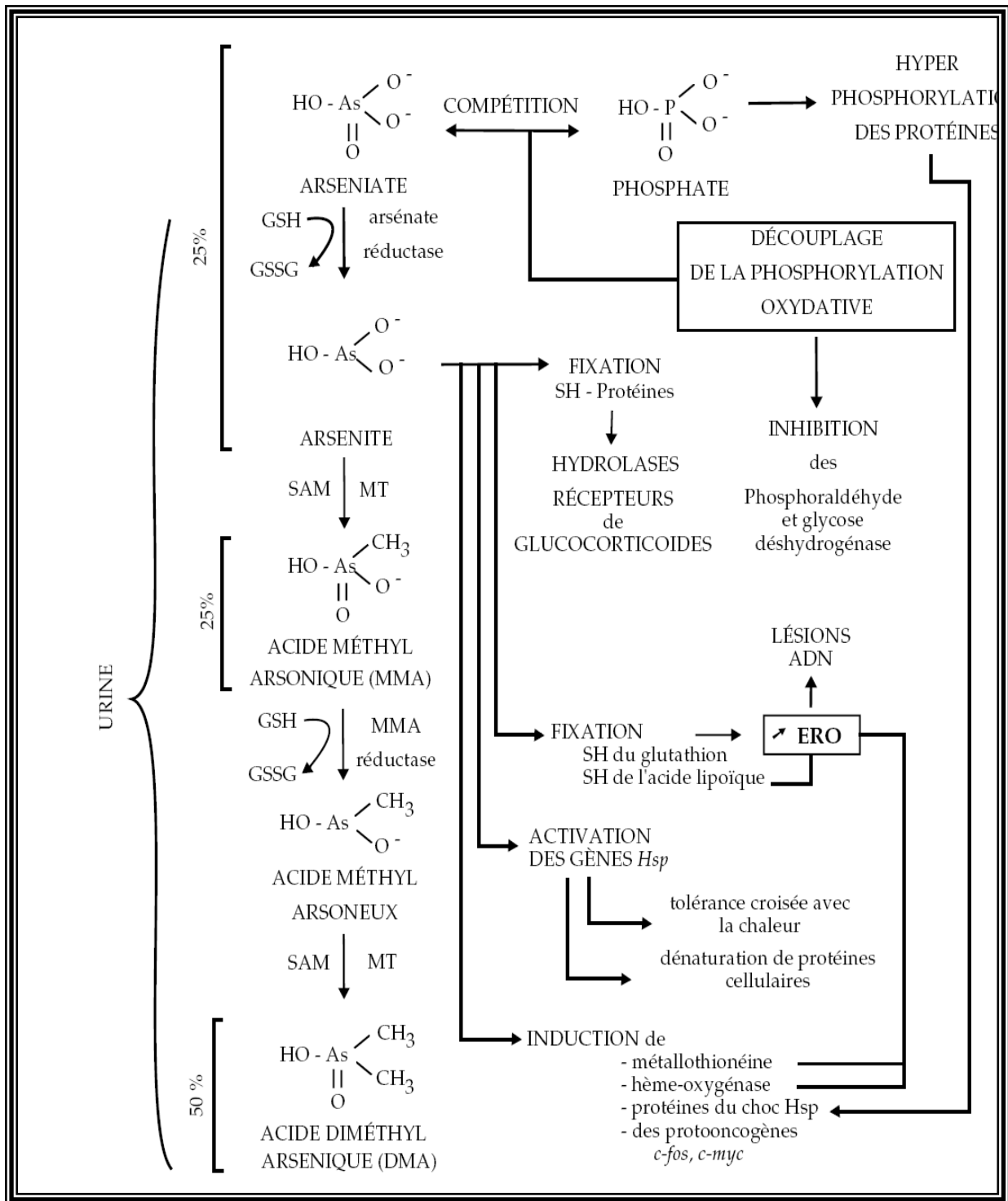


Figure 4 : Le métabolisme de l'arsenic (Aposhian, 1997)

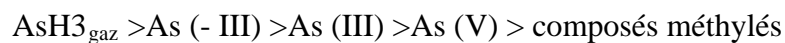
5. Toxicité de l'arsenic

Le degré de toxicité de l'arsenic est lié à la forme chimique et surtout à l'état d'oxydation sous lequel il se trouve (Mandal et Suzuki, 2002).

La toxicité dépend donc des composés arséniés entrant en jeu dans l'exposition. Néanmoins, les effets sanitaires de l'ingestion d'arsenic sont liés à la modalité mais également à la durée et à la concentration reçue (Pichard et al., 2005).

Parmi les formes inorganiques, l'arsenic trivalent (III) est considéré comme 10 à 60 fois plus toxique que l'arsenic pentavalent (Jain et Ali, 2000). Ces formes inorganiques sont elles-mêmes considérées comme étant plus toxiques que les formes méthylées (Petrick et al., 2000).

La toxicité de l'arsenic varierait comme suit :



Cependant des études récentes tendent à contre dire cet ordre de toxicité, car des espèces méthylées d'arsenic trivalent principalement MMA et DMA au degré d'oxydation (+III), sont cytotoxiques, génotoxiques, et ont un potentiel inhibiteur plus important sur l'activité enzymatique que l'As (III) inorganique (Rossman, 2003). Mais la forme la plus toxique de l'arsenic reste le gaz (AsH_3) dont l'inhalation à une teneur supérieure à 250 mg.m^{-3} d'air est mortelle quasi –instantanément (Laperche et al., 2003).

Les principaux symptômes et pathologies observés chez l'homme suite à une intoxication par l'arsenic peuvent survenir dans les minutes ou les heures suivant l'ingestion (Pichard et al., 2005). Ainsi, une exposition aiguë se manifeste essentiellement par des vomissements, des diarrhées voire des crampes musculaires (Mandal et Suzuki, 2002 ; Bissen et Frimmel, 2003).

Une exposition chronique à long terme peut entraîner une hyperpigmentation et une kératose sur la paume des mains et la plante de pieds. Ces symptômes s'accompagnent également de problèmes nerveux (encéphalopathie), cardiovasculaire (gangrène du pied ou maladie du « Black foot », acrocyanose), hépatique (hépatomégalie, cirrhose), endocriniens (diabète), hématologiques (aplasie médullaire, anémie), rénaux mais aussi de conjonctivites et de rhinites (Piamphongsant, 1999 ; Hughes, 2002 ; Ng et al., 2003 ; Rodriguez et al., 2003). De même, de nombreux effets, sur la fonction de reproducteur aussi bien chez l'homme que chez l'animal (boisson, 2002).

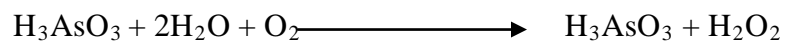
L'ingestion d'arsenic peut également être génotoxiques et induire une altération de l'ADN par stress oxydatif (Kaltreider et Hamilton, 2001 ; Rossman et al., 2004 ; Schoen et al., 2004 ; Yamauchi et al., 2004 ; Snow et al., 2005).

6. L'arsenic et le stress oxydatif

De nombreuses études mettent en évidence que la présence d'arsenic dans la cellule génère la production de ROS : peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Barchowsky et al., 1996 ; Wang et al., 1996 ; Chen et al., 1998), radicaux hydroxylés (HO°) (Wang et al., 1996), oxyde nitrique (NO°) (Gurr et al., 1998), anions superoxydes (O_2^-) (Lynn et al., 2000), peroxydim thylarsinique ($[(CH_3)_2AsOO^\circ]$) et radicaux de diméthylarsinique ($[(CH_3)_2As^\circ]$) (Yamanaka et al., 1997).

D'autres expériences montrent que l'arsenic induit la peroxydation des lipides membranaires, conduisant à la formation de peroxyde lipidiques, ce qui contribue à augmenter le stress oxydant intracellulaire et amplifie les dommages oxydatifs.

Les mécanismes de production des ROS sont encore mal compris. Une hypothèse propose que les ROS soient produits lors de l'oxydation de l'As III, qui en condition physiologique, produirait du H_2O_2 :



Il est important de noter que la méthylation de l'arsenic comporte une succession d'oxydations de l'As III en MMAsV puis du MMAs III en DMAs V. (Aposhian, 1997 ; Nesnow et al., 2002) suggèrent que les ROS soient produits lors de l'oxydation du DMA (III) en DMA (V) c'est-à-dire la réduction intracellulaire de la forme pentavalente As (V) en une forme trivalente As (III) conduit à la formation de radicaux libres (ROS) toxiques pour la cellule (Del Razo et al., 2001).

Les arsénites ont une forte activité pour les groupements thiols des protéines (surtout les hydrolases), du glutathion et de l'acide lipoique (Bencko, 1986). La déplétion en glutathion et en acide lipoique qui sont deux antioxydants peut conduire à l'augmentation des espèces réactives de l'oxygènes (ROS) (Albores et al., 1992).

Ces ROS seraient responsables du stress et de la toxicité liée à l'arsenic.

CHAPITRE III

LE THE VERT

III. Le thé vert

- Nom botanique : *Camellia sinensis*, famille des Théacées.
- Nom(s) commun(s) : Thé, thé vert, thé noir, thé blanc, thé oolong.
- Nom(s) anglais: Tea, green tea, black tea, white tea, oolong tea.
- Partie(s) utilisée(s) : Les feuilles auxquelles on ajoute parfois les bourgeons.
- Habitat et origine : Originaire d'Asie, le thé est maintenant aussi cultivé en Afrique et en Amérique du Sud.

1. Présentation de *Camellia sinensis*

1.1. Historique

L'histoire du thé, boisson obtenue par infusion des feuilles du *Camellia sinensis*, littéralement « *Camellia Chinois* » remonterait au III^{ème} millénaire avant Jésus-Christ, selon la légende chinoise. Par contre, elle n'est apparue en Europe qu'au XVII^{ème} siècle, d'abord en Hollande puis en France et en enfin en Angleterre (Mariage Frères, 2003).

A cette époque, les émigrants anglais et hollandais emportent avec eux le thé vers le nouveau monde soit par la voie de la soie terrestre soit par la voie maritime. Au milieu du XIX^{ème} siècle, pour faire face à une demande occidentale croissante, les Anglais développent des plantations en Inde puis dans l'île de Ceylan (Sri Lanka). A la fin du XIX^{ème} siècle, le thé est implanté dans de nombreux pays d'Asie, dans les pays d'Afrique Noire anglophones tel que le Kenya puis en Amérique du Sud (Mariage Frère, 2003).

1.2. Les variétés du thé

Tous les thés, qu'il s'agisse de thé vert, noir, oolong ou blanc, sont élaborés à partir des feuilles de la plante *Camellia sinensis* (Delmas et Minet, 2007). La variété de thé produit dépend du temps d'oxydation des feuilles de thé. Par exemple, le thé vert est produit en soumettant les feuilles de thé à la vapeur dès leur récolte afin de bloquer l'oxydation, alors que le thé noir résulte d'une plus longue oxydation qui lui donne une teinte plus foncée (Haslam, 2003).

2. Composition des feuilles de thé

Les feuilles de thé fraîche contiennent en règle générale 36% de composés polyphénoliques, 25 % de glucides, 15% d'acides organiques, 0,5% de chlorophylles et de caroténoïdes et enfin moins de 0,1% de substances volatiles (Luczaj et Skrzydlewska, 2005). Ainsi que des éléments minéraux environ 3% (dont la manganèse, le zinc, le fluor, aluminium, sodium, potassium, nickel, magnésium, le fer et le cuivre (Selverdran et Perera, 1971).

a- Les polyphénols

Les feuilles de thé contiennent différentes familles de composés organiques dont les principaux sont les polyphénols. Ceux-ci sont définis comme ayant « tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles » (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Ils sont divisés en deux catégories :

- Les acides phénoliques comprenant les acides hydroxybenzoïques (C_6-C_1) et les acides hydroxycinnamiques (C_6-C_3).
- Les flavonoïdes ayant en commun la structure de la flavone qui comportent : deux noyaux aromatiques (cycle A et cycle B) de 7 carbones chacun interconnectés par un autre cycle (cycle C) de 3 carbones (Fig.5).

Les principaux sous classes des flavonoïdes sont présentés dans le tableau3. Les composés y diffèrent par la présence de groupements hydroxyles. Dans le thé, les principaux flavonoïdes sont les flavan-3-ols (Arce et al., 1998).

b - Les flavan -3- Ols

Les catéchines appartenant au groupe des flavan -3- Ols représentent environ 30% de la matière sèche des feuilles fraîchement cueillies, 10 à 25 % des feuilles de thé vert et 8 à 21 % des feuilles de thé noir (Zhu et al., 1997).

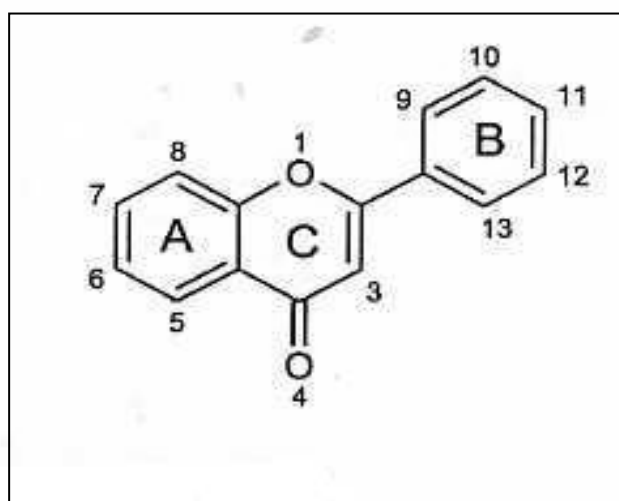


Figure 5 : Structure de la flavone (Goodwin, 1965).

Tableau 3 : Les principales sous-classes de la famille des flavonoïdes (Goodwin, 1965).

N°	Nom	Structure	Exemples de composés et position des groupements hydroxyles
1	Flavone		Apigonine : 5, 7, 11 Lutéoline : 5, 7, 10, 11
2	Flavan-3-ols		Catéchine : 5, 7, 10, 11 Gallocatechine : 5, 7, 10, 11, 12
3	Flavan-3,4-diols		Leucocyanidine : 5, 7, 10, 11 Leucodelphinidine : 5, 7, 10, 11, 12
4	Flavonols		Kaempferol : 5, 7, 11 Quercétine : 5, 7, 10, 11 Myricétine : 5, 7, 10, 11, 12

Parmi les catéchines, l'épigallocatechine gallate (EGCG), l'épigallocatechine (EGC) et l'épicatéchine gallate (ECG) sont considérées comme les principales molécules anticancéreuses présentes dans le thé (Arce et al., 1998). Ces composés, comme tous les polyphénols, possèdent des propriétés acides du fait de la présence d'une fonction -OH sur le cycle benzénique (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

3. Propriétés biologiques de thé vert

Le thé vert a un effet bénéfique, en réduisant le développement ou l'amélioration du stress oxydatif et, par conséquent, protégeant les individus des maladies liées au stress oxydant (Coimbra et al., 2006).

3.1. Activités anti-oxydantes

Le thé vert est connu pour sa richesse en polyphénols flavonoïdes, qui possèdent des propriétés anti-oxydantes dues à leurs fonctions de piégeage des radicaux libres et de chélation des métaux (Soussi et al., 2006). Des études en laboratoire présentées à une réunion de l'American chemical Society en septembre 1997 ont démontré que l'épigallocatechine gallate (EGCG) était 100 fois plus efficace que la vitamine C et 25 fois plus efficace que la vitamine E pour neutraliser les radicaux libres. La recherche semble indiquer que cette puissance anti-oxydante pourrait jouer un rôle dans le maintien de l'immunité humaine (Hegarty, 2000).

Les polyphénols sont également capable de jouer indirectement leurs rôles anti-oxydants par l'induction d'enzymes anti-oxydantes, de plus la réduction de la peroxydation lipidique induite par les radicaux libres (Coimbra et al., 2006).

3.2. Activités anti- cancéreuses

Les polyphénols du thé vert sont actifs à tous les stades du cancer : l'initiation, promotion et progression. Ils ont montré des effets protecteurs vis-à-vis des cancers du poumon, du tube digestif (Œsophage, estomac, intestin grêle, colon, rectum), du pancréas, du foie, de la peau, de la prostate et du sein (Robin et Rouchy, 2001). Les effets inhibiteurs du thé vert dans la causalité et le développement du cancer sont le résultat de plusieurs mécanismes pouvant fonctionner individuellement ou en synergie :

- Le thé vert inhibe la formation de carcinogènes réactifs en bloquant certaines réactions d'oxydation produisant un ADN anormal. Il inhibe notamment la formation d'un

produit stable, le 8 -hydroxy -désoxyguanosine (8- OHDG), un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN (Lagarde, 2001).

Une étude (Mizoi et al., 2005) a montré très clairement que l'EGCG du thé vert est capable de diminuer le niveau de (8- OHDG) sur la peau et les poumon lors d'un stress oxydant induit par le diméthyl arsénique trivalent et pentavalent.

• Le thé vert ralenti la multiplication cellulaire, surtout celle des cellules anormales que l'on trouve généralement en début de maladie, indiquant ainsi que la croissance des cancers sera inhibée. L'EGCG inhibe la libération du TNF (Tumor Necrosis Factor) et réduit l'activité de l'ornithine décarboxylase, des bio marqueurs des cancers de l'estomac et du côlon. Il fragmente l'ADN de la cellule cancéreuse, provoquant son apoptose (mort cellulaire programmée) (Robin et Rouchy, 2001).

3.3. Autres rôles biologiques

D'après les études récentes, le thé vert semble réduire le taux de cholestérol et du glucose, soigner les problèmes d'hypertension, empêcher la formation de caries dentaires, posséder des propriétés anti- microbiennes et protéger contre les maladies cardio-vasculaires et neuro-dégénératives (Huang et al., 1992 ; Trevisanato et Kim, 2000 ; Zuo et al., 2002).

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I

MATERIELS ET METHODES

I. Matériels et méthodes

1. Matériel biologique et conditions d'élevage

Nous avons utilisé 24 rats mâles *Rattus rattus* de la souche Wistar, d'environ 100g de poids corporel, provenant de l'institut pasteur d'Alger. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche. Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation d'un mois environ, aux conditions de l'animalerie; à une température de 25° C et une photopériode naturelle.

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ils ont été nourris avec un concentré énergétiquement équilibré, dont la composition est détaillée dans le tableau 4.

Tableau 4 : Composition de l'alimentation pour 1 kilogramme d'aliment (ONAB).

Matière alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	Pourcentage (%)
Mais	620	62
Soja	260	26
Phosphate	16	1.6
Calcaire	9	0.9
Cellulose	10	1.0
Minéraux	10	1.0
Vitamines	10	1.0

2. Traitement des rats

Le traitement des rats a été réalisé en deux étapes :

a- La 1^{ère} étape :

Les rats mâles ont été répartis en deux groupes de 12 rats chacun, il s'agit de :

■ **Groupe 1** : rats buvant de l'eau du robinet (rats témoins T),

■ **Groupe 2** : rats buvant une décoction de thé vert (rats Tv) préparée en faisant bouillir 66 g de thé dans un litre d'eau à 100 °C pendant 5 minutes (Soussi et al., 2006).

Ce traitement a été poursuivi selon les lots pendant 6 semaines.

b- La 2^{ème} étape :

Après 6 semaines de traitement, chacun des groupes 1 et 2 a été séparé en deux sous groupes de 6 rats chacun, il s'agit de :

- **Groupe 1 :** rats témoins ont reçu de l'eau physiologique (NaCl 0,9%) par injection intra- péritonéale.
- **Groupe 2 :** rats continuent à boire de thé vert et ont reçu chaque jour une injection intra- péritonéale de l'eau physiologique.
- **Groupe 3 :** rats traités par l'arsénite de sodium NaAsO_2 (As) dissout dans l'eau physiologique. L'arsénite de sodium est administré aux rats par injection intrapéritonéale à raison de 5,55 mg/kg de poids corporel chaque jour (Pal et Chatterjee, 2004).
- **Groupe 4 :** rats continuent à boire de thé vert avec une supplémentation quotidienne par injection intra péritonéale en arsénite de sodium (Tv + As).

Ce traitement a été poursuivi pendant 21 jours.

3. Sacrifices et prélèvements des organes**3.1. Prélèvement sanguin**

Après 21 jours de traitement les rats de chaque groupe sont sacrifiés (par décapitation), le sang est immédiatement recueilli dans deux tubes polyéthylènes étiquetés. L'un contient l'anticoagulant EDTA et l'autre étant sec, ce dernier est centrifugé à 5000 tours/min pendant 15 minutes, le sérum obtenu a été stocké au congélateur à -20°C pour doser les paramètres biochimiques (glucose, créatinine, urée, bilirubine totale et cholestérol). Alors que les tubes à EDTA sont immédiatement utilisés pour déterminer la formule de numération sanguine (FNS).

3.2. Prélèvement des organes

Les animaux sacrifiés ont été pesés puis ouverts ventralement pour le prélèvement de certains organes :

Le foie, les reins et les testicules ont été pesés puis stockés au congélateur pour évaluer le niveau de peroxydation lipidique.

La figure 6 schématise les différentes étapes du protocole expérimental utilisé.

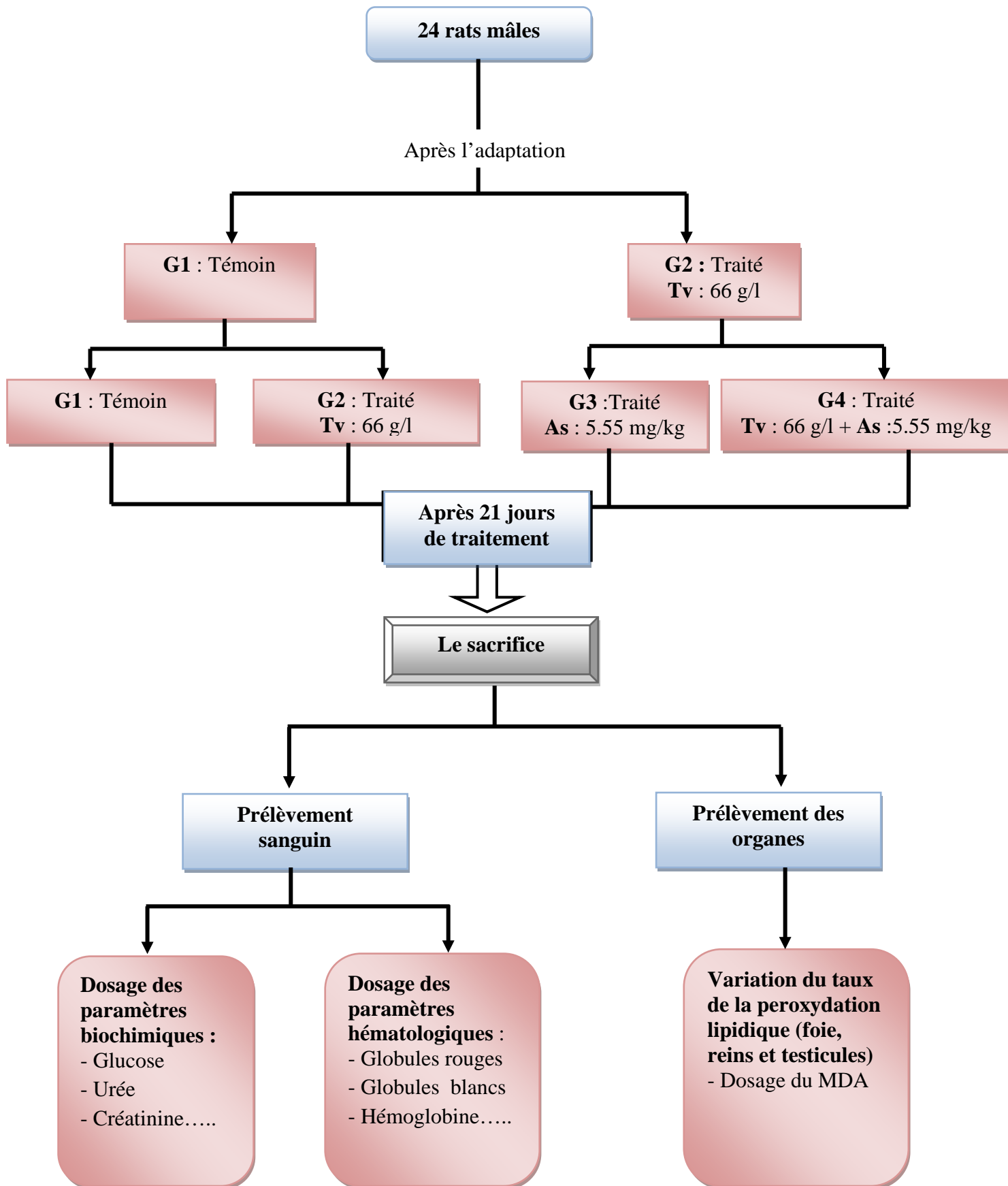


Figure6 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

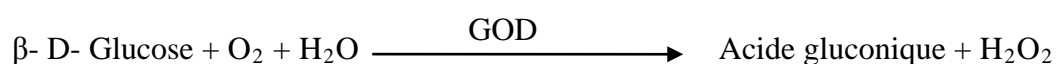
4. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques

4.1. Dosage du glucose

La détermination de la glycémie a été réalisée par la méthode enzymatique au glucose oxydase selon la fiche technique (Spinreact).

4.1.1. Principe

Le glucose est transformé par le glucose oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier, en présence de peroxydase (POD), oxyde le chromogène incolore (4-aminophénazone) en un composé coloré en rouge-violet (quinoneimine) (Kaplan, 1984 ; Trinder, 1996), selon les réactions suivantes :



4.1.2. Réactifs

Réactif 1 : tampon	Tris pH 7.4 Phénol	92mmol/l. 0.3 mmol/l.
Réactif 2 : Enzymes	Glucose oxydase (GOD) Peroxydase (POD) 4-Aminophenazone (4-AP)	15000 U/L. 1000 U/L. 2.6 mmol/l.
Glucose calibrant	Glucose aqueous (standard)	100 mg/dl.

Réactif de travail: dissoudre le contenu de réactif 2 dans le flacon de réactif 1 et mélanger légèrement.

4.1.3. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	-	10	-
Echantillon (µl)	-	-	10

Mélanger, incuber pendant 10 min à 37° C, ou 15-20 min à une température ambiante. Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 505 nm. La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

4.1.4. Calcul de la concentration

La concentration du glucose est calculée par la formule suivante :

$$\text{Glucose (mg/dl)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO étalon}} \times \text{concentration de l'étalon (100 mg/dl)}$$

4.2. Dosage de la bilirubine totale

La détermination de la bilirubine a été réalisée par la méthode colorimétrique (selon la fiche technique Spinreact).

4.2.1. Principe

La bilirubine réagit avec l'acide sulfanilique diazoté à pH acide pour produire l'azobilirubine. Cette réaction est instantanée avec la bilirubine directe (la bilirubine conjuguée), par contre avec la bilirubine totale (bilirubine non conjuguée) elle est indirecte nécessite la solubilisation par le diméthylsulfoxyde (DMSO). (En absence de DMSO, seule la bilirubine directe réagit). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de la bilirubine dans l'échantillon (Malloy et al., 1937 ; Kaplan, 1984).

4.2.2. Réactifs

Réactif 1 :	Acide sulfanilique	30 mmol/l.
Bilirubine totale	Acide chlorhydrique	50 mmol/l.
	Diméthylsulfoxyde (DMSO)	7 mmol/l.
Réactif 2	Nitrite de sodium	29 mmol/l.
Calibrant	Il est sous la référence :	1002250

4.2.3. Mode opératoire

	Blanc	BL totale
Réactif 1 : BL totale (ml)	1.5	1.5
Réactif 2 : (µl)	-	50

Echantillon/calibrant (μl)	100	100
-----------------------------------------	-----	-----

Mélanger et lire la densité optique après 5 minutes d'incubation à une longueur d'onde 555 nm.

4.2.4. Calcul de la concentration

La concentration de la bilirubine est calculée par la formule suivante :

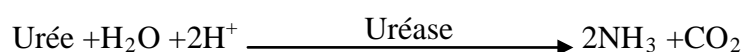
$$\text{Bilirubine totale} = \frac{\text{Do échantillon} - \text{Do blanc échant}}{\text{Do calibrant} - \text{Do blanc calibrant}} \times \text{concentration de calibrant}$$

4.3. Dosage de l'urée

Le dosage de l'urée a été réalisé par la méthode cinétique enzymatique à l'uréase (Spinréact).

4.3.1. Principe

L'uréase hydrolyse l'urée en ammoniacque (NH_3) et le dioxyde de carbone (CO_2). L'ion ammonium réagit avec l'alpha-cétoglutarate en présence de la glutamate déshydrogénase et du système NADH/NAD⁺ servant l'indicateur, où la diminution de l'absorbance à 340 nm due à la transformation du NADH en NAD⁺, cette diminution est directement proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon (Kaplan, 1984), selon les réactions ci-dessous :



4.3.2. Réactifs

Réactif1:	Tris pH 7.8	80 mmol/l.
Tampon	α -cétoglutarate	6 mmol/l.
Réactif2:	Uréase	3750 U/L.
Enzymes	Glutamate déshydrogénase (GLDH)	6000 U/L.
	NADH	0,32 mmol/l.

Urée calibrant	Urée aqueous (standard)	50 mg/dl.
----------------	-------------------------	-----------

Réactif de travail: dissoudre le réactif 2 dans le réactif 1 et mélanger légèrement.

4.3.3. Mode opératoire

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	-	10	-
Echantillon (µl)	-	-	10

Mélanger, Lire les densités optiques de l'échantillon et de l'étalon après 30 secondes (DO1) et après 90 secondes (DO2) à 340 nm.

4.3.4. Calcul de la concentration

La concentration de l'urée est calculée par la formule suivante :

$$\text{Urée (mg/dl)} = \frac{\Delta \text{DO}_{\text{échantillon}}}{\Delta \text{DO}_{\text{étalon}}} \times \text{concentration de l'étalon (50 mg/dl)}$$

$$\Delta \text{DO} = (\text{DO2} - \text{DO1})$$

4.4. Dosage de la créatinine

La détermination de la créatinine a été réalisée par la méthode cinétique colorimétrique selon la fiche technique (Spinréact).

4.4.1. Principe

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

4.4.2. Réactifs

Réactif 1 :	Acide picrique	17.5 mmol/l
-------------	----------------	-------------

Réactif 2 :	Hydroxyde de sodium	0.29 mol/l.
créatinine calibrant	créatinine aqueous (standard)	2 mg/dl.

Réactif de travail: mélanger un volume de réactif 1 avec un volume de réactif 2.

4.4.3. Mode opératoire

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	-	100	-
Echantillon (µl)	-	-	100

Mélanger, déclencher le chronomètre. Lire à 492 nm la densité optique (DO1) après 30 secondes et la densité optique (DO2) après 90 secondes.

4.4.4. Calcul de la concentration

La concentration de la créatinine est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Créatinine (mg/dl)} = \frac{\Delta\text{DO}_{\text{échantillon}} - \Delta\text{DO}_{\text{blanc}}}{\Delta\text{DO}_{\text{étalon}} - \Delta\text{DO}_{\text{blanc}}} \times \text{concentration de l'étalon (2mg/dl)}$$

$$\Delta\text{DO} = (\text{DO2} - \text{DO1})$$

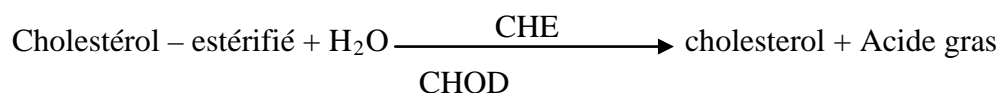
4.5. Dosage du cholestérol

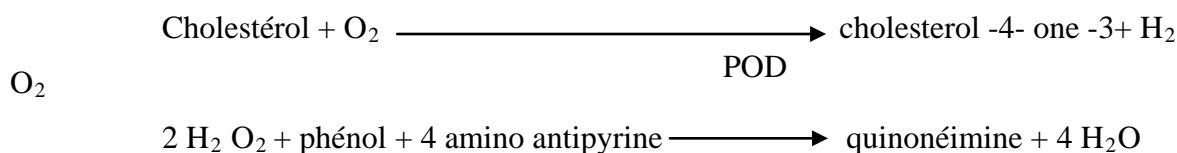
Le dosage du cholestérol a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique (Spinreact).

4.5.1. Principe

Le cholestérol et ses esters sont libérés à partir des lipoprotéines. La cholestérol – estérase (CHE) hydrolyse les esters, et l'H₂O₂ est formé au cours de la réaction d'oxydation enzymatique du cholestérol sous l'action du cholestérol – oxydase (CHOD) (Naito, 1984).

La détermination enzymatique du cholestérol est basée sur les réactions suivantes :





4.5.2. Réactifs

Réactif 1 :	PIPES pH 6.9	90 mmol/l.
Tampon	Phénol	26 mmol/l.
Réactif 2	Cholestérol estérase (CHE)	300 µ/L.
Enzymes	Cholestérol oxydase (CHOD)	300 µ/L.
	Peroxydase (POD)	1250 mmol/l.
	4-Aminophenazone	0,4mmol/l.
Cholestérol Calibrant	Cholestérol aqueux primaire (standard)	200mg/dl.

Réactif de travail : dessoudre le contenu de réactif 2 dans le flacon de réactif 1 et mélanger légèrement jusqu'à la dissolution complète.

4.5.3. Mode opératoire

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	-	10	-
Echantillon (µl)	-	-	10

Mélanger, incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à une température de 25 C°, lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc à 546nm. La couleur est stable après 60min.

5. Evaluation de la peroxydation lipidique

5.1. Préparation de l'homogénat

Un gramme de foie, rein ou de testicule de rats des différents groupes étudiés, a été utilisé. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150mM, pH 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (9000 tours/min, 4°C, 15 min), puis le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorfs puis conservés à -20°C en attendant d'effectuer l'évaluation de la peroxydation lipidique.

5.2. Dosage des protéines

La concentration de protéines est déterminée selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines ($-NH_2$) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- ✓ Prélever 0.1 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 5 ml du bleu de Coomassie.
- ✓ Agiter et laisser reposer 5 minutes.
- ✓ Lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc.

La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1mg/ml) préalablement réalisée dans les mêmes conditions (Fig.7)

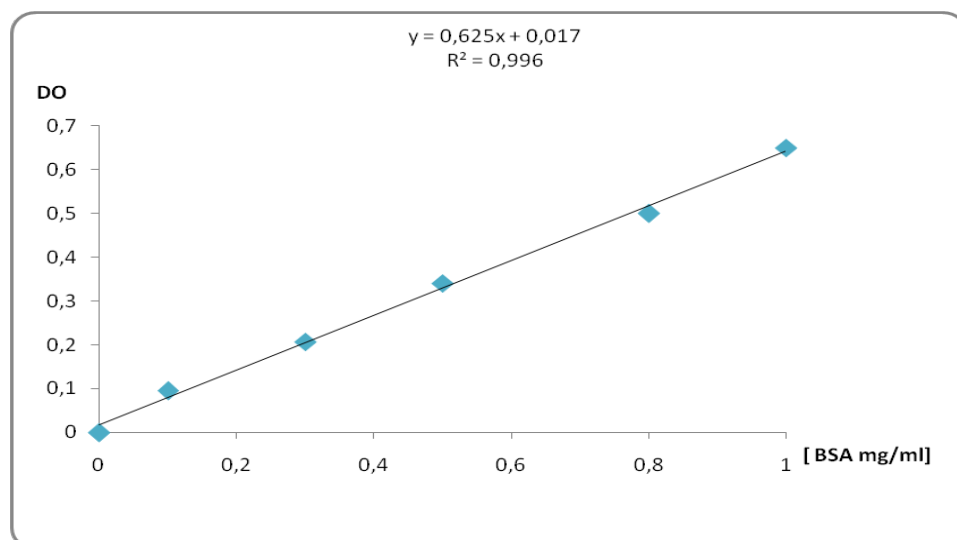


Figure 7 : la gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines.

5.3. Dosage de malondialdéhyde (MDA)

Le MDA peut être détecté par une réaction colorimétrique à l'acide thiobarbiturique (TBA). La détection du MDA issue de la dégradation des acides gras polyinsaturés à 3 ou 4 doubles liaisons peroxydées, constitue une méthode très sensible pour déterminer une lipopéroxydation in vitro. 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). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm.

La procédure expérimentale du dosage, est la suivante :

- ✓ Prélever 375 µl de l'homogénat (surnageant).
- ✓ Ajouter 150 µl de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4).
- ✓ Ajouter 375 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%)
- ✓ Vortexer et Centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min.
- ✓ Prélever 400 µl du surnageant.
- ✓ Ajouter 80 µl du HCl 0.6 M.
- ✓ Ajouter 320 µl de la solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120 mM).
- ✓ Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes.

La densité optique a été enregistrée à $\lambda = 530$ nm. L'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés.

La concentration du MDA est calculée selon la formule suivante :

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

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

6. Traitement statistique des résultats

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus au moins la somme d'erreur moyen (Moy \pm SEM). Les analyses statistiques ont été effectuées pour une probabilité définie selon le test de la variable "t" de Student.

L'analyse statistique des données a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (Version 13.31).

Les différences sont considérées comme :

- Significative comparant au témoin ($p \leq 0,05$).
- Hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,01$).
- Très hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,001$).

p : Seuil de signification.

CHAPITRE II

RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS

1. Paramètres de croissance

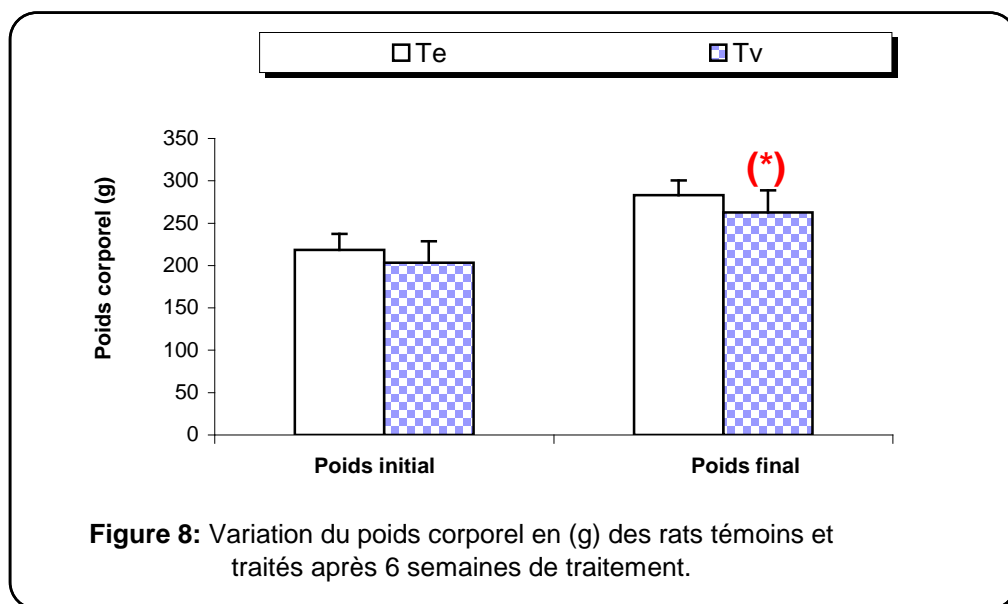
1.1. Action sur la croissance corporelle

a- La 1^{ère} étape

Le traitement des rats par le thé vert pendant 6 semaines montre une diminution significative ($p \leq 0,05$) du poids corporel et une baisse du gain du poids par rapport au groupe témoin (tab.5 ; fig.8).

Tableau 5 : Variation du poids corporel en (g) des rats témoins et traités par le thé vert après 6 semaines de traitement.

Semaines	Lots expérimentaux	
	Témoin	Thé vert
Poids initial (g)	218,54 ± 18,91	203,5 ± 25,19
Poids final (g)	282,94 ± 17,38	262,57 ± 26,05 [*]
%	—	- 7,19 %
Gain du poids (g)	+ 64,4	+ 59,07



(*) : Différence significative comparant au témoin ($p \leq 0,05$).

b- La 2^{ème} étape

L'analyse de la variance révèle l'existence d'une diminution hautement significative ($p \leq 0,01$) du poids corporel des rats entre le lot témoin et le lot traité par l'arsénite de sodium. Nous avons aussi constaté que le poids corporel des rats a diminué significativement ($p \leq 0,05$) chez les lots traités par : le thé vert et par la combinaison (arsénite de sodium / thé vert) comparant toujours au lot témoin (fig.9).

1.2. Action sur le poids relatif de certains organes

Nous avons étudié la variation des poids absolus (PA) et relatifs (PR) des organes suivants : foie, reins et testicules chez les rats témoins et les rats traités par le thé vert, l'arsénite de sodium et par la combinaison (arsénite de sodium / thé vert).

1.2.1. Foie

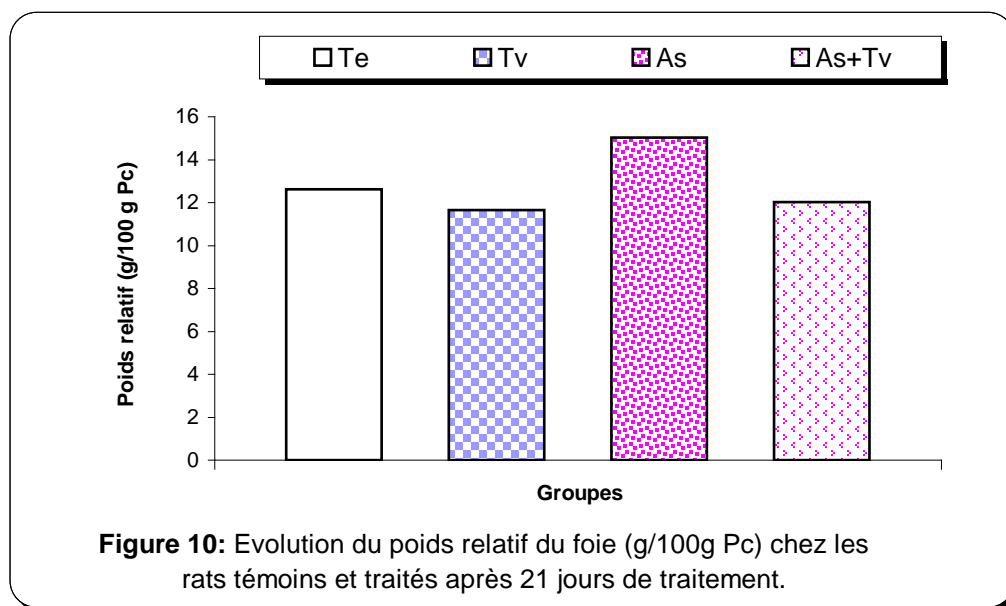
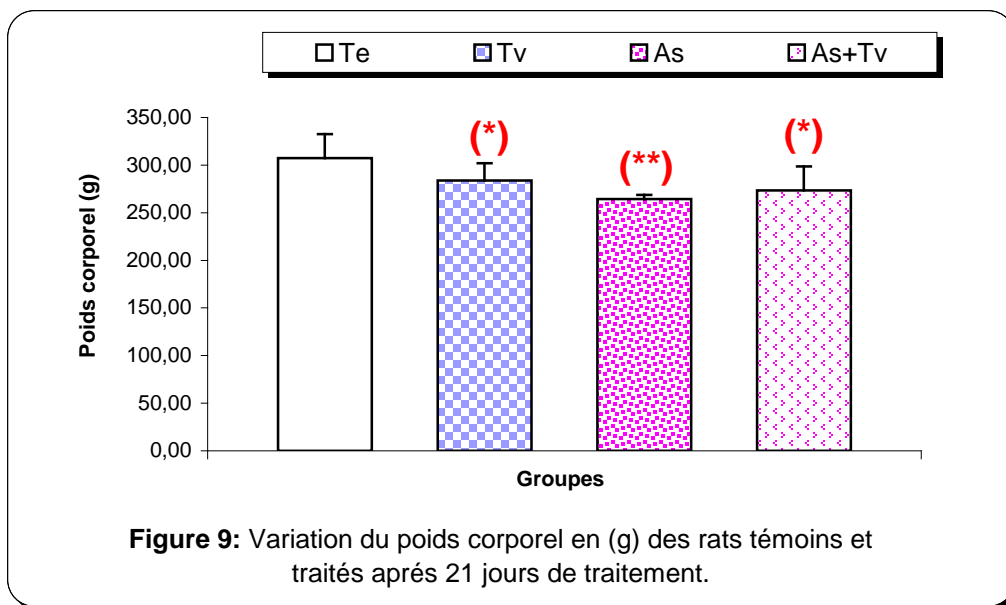
Comme le montre la figure 10, l'arsenic a provoqué une augmentation remarquable du poids relatif du foie comparant au groupe témoin. Par contre, une légère diminution du poids relatif de cet organe est observée chez les groupes traités, par le thé vert et par la combinaison (arsénite de sodium/thé vert) comparant aux groupes témoins.

1.2.2. Reins

Une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du poids relatif des reins est enregistrée chez le groupe traité par l'arsénite de sodium comparant au groupe témoin, mais aucune différence significative n'a été mise en évidence en fin de traitement, chez les rats traités par le thé vert et par la combinaison (arsénite de sodium / thé vert) comparant aux rats témoins (fig.11).

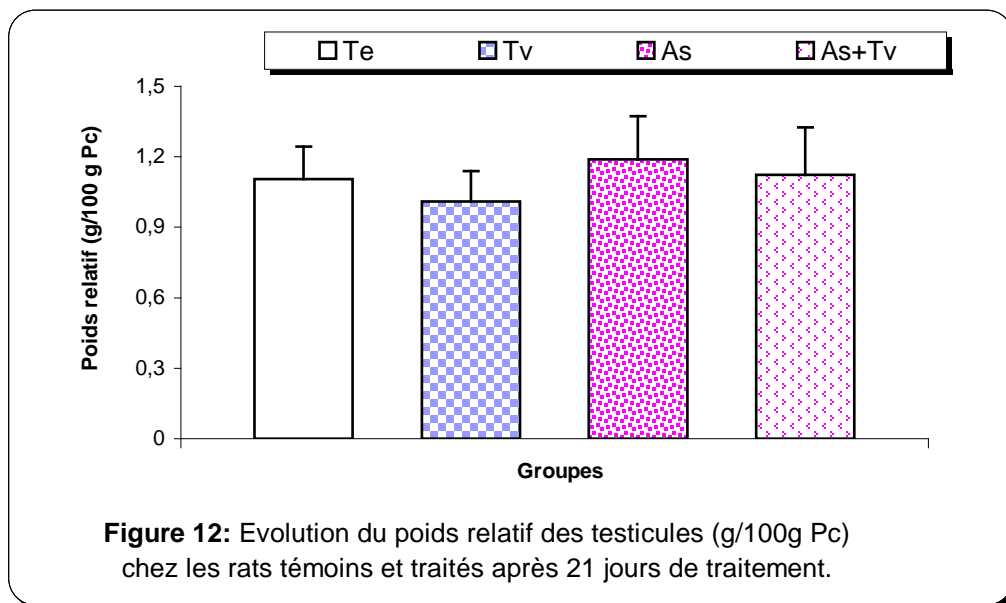
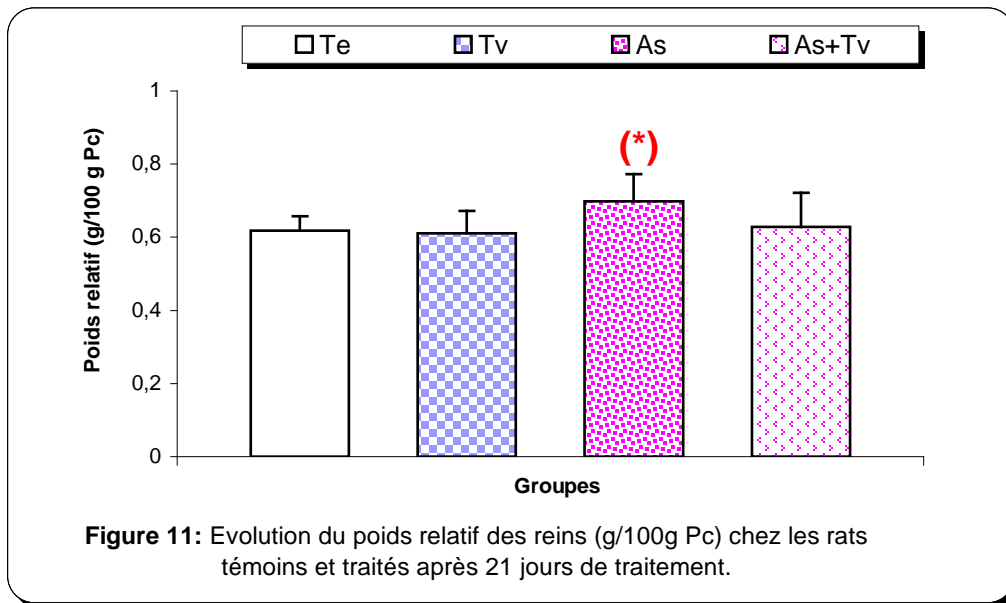
1.2.3. Testicules

Nous constatons une légère augmentation du poids relatif des testicules chez les rats traités par l'arsénite de sodium et une légère diminution chez les rats traités par le thé vert et par la combinaison (arsénite de sodium /thé vert) comparant aux rats témoins, mais les analyses statistiques montrent qu'il n'y a pas eu de variations statistiquement significative du poids de cet organe chez tous les groupes traités comparativement aux témoins (fig.12).



(*) : Différence significative comparant au témoin ($p \leq 0,05$).

(**) : Différence hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,01$).



(*) : Différence significative comparant au témoin ($p \leq 0,05$).

Notre étude est réalisée avec une concentration de 5,55mg d'arsénite de sodium par kilogramme de poids corporel et une décoction de thé vert (66 g/l) en se référant respectivement aux travaux effectués par (Pal et chatterjee, 2004 ; Soussi et al., 2006).

Les résultats de notre expérimentation suggèrent que l'administration de thé vert par voie orale, fait diminuer la croissance corporelle des rats.

Une diminution du poids corporel des rats a été également signalée suite à une consommation de thé vert, par Anees Khan et al. (2007) et Abd El Mgeed et al. (2009) qui ont montré que plus de la capacité antioxydante, le thé vert aurait aussi un effet sur le contrôle du poids en induisant une augmentation de la thermogénèse, avec en plus, une capacité à augmenter l'oxydation (utilisation) de la graisse.

Notre étude montre également que l'administration de l'arsénite de sodium, fait diminuer la croissance corporelle et augmenter le poids relatif des organes (foie, reins et testicules). Cette augmentation du poids relatif peut être due à l'accumulation de l'arsenic dans les organes étudiés; où il peut agir facilement avec les groupements thiols (-SH) des protéines hépatiques, rénales et testiculaires (Aposhian et Aposhian, 1989; Styblo et Thomas, 1997). De plus, l'augmentation remarquable du poids du foie des rats traités par l'arsénite de sodium pourrait être due à l'accumulation de l'arsenic au niveau des hépatocytes en vue d'une détoxification (Li et al., 2007).

La fixation de l'arsenic sur les protéines qui sont des composantes centraux, dans les voies de signalisation et de contrôle cellulaire; conduisent généralement à une perte de leur fonctions catalytique ou structurale et peuvent également influencer la croissance normales des rats (El-Demerdash et al., 2009). Nos résultats confirment ceux de Nandi et al. (2005), qui ont montré que l'administration de l'arsénite de sodium pendant 12 semaines a augmenter le poids relatif des organes (foie, reins) et a diminué la croissance corporelle des rats.

Par ailleurs, le traitement des rats par la combinaison (arsénite de sodium/thé vert) a entraîné une amélioration du poids corporel et du poids relatif des organes (foie, reins et testicules). Cette amélioration est due à l'effet protecteur du thé vert qui joue un rôle bénéfique en présence de l'arsenic. Ceci pourrait être expliquer par l'effet antioxydant du thé vert (l'epigallocatechine gallate) capable de réprimer les effets cytotoxiques de l'arsenic (Mizoi et al., 2005).

Soussi et al. (2003) a également montré que les polyphénols de thé vert induisaient une amélioration de la croissance corporelle et du poids relatif des testicules chez des rats traités par le vanadium.

L'ensemble de ces résultats montre que le thé vert semble protéger le foie, les reins ainsi que les testicules de l'accumulation de l'arsenic.

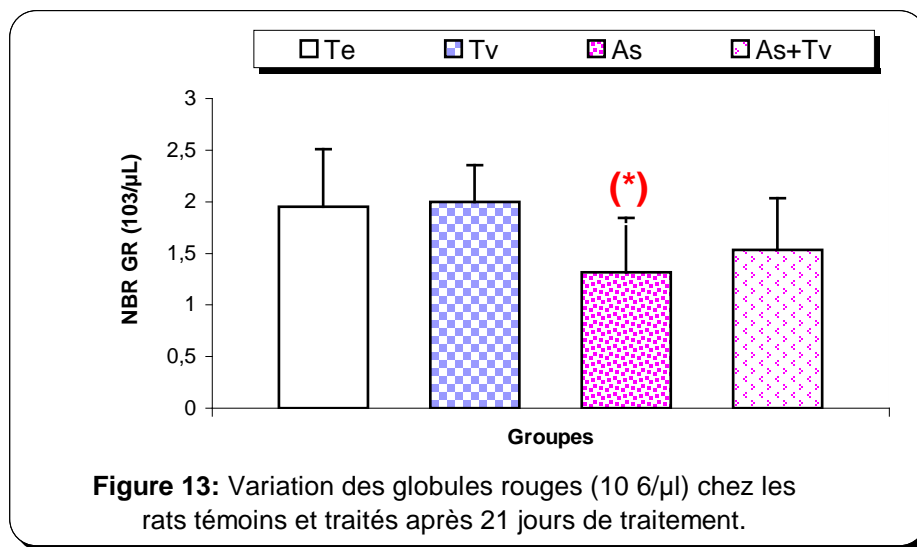
2. Effets sur la fonction hématologique

Les résultats illustrés dans le tableau 6, montrent une diminution significative des globules rouges (- 32,82 %) et d'hémoglobine (- 17,68 %) chez les rats traités par l'arsénite de sodium comparant aux rats témoins . Par ailleurs, on note aucune différence significative chez les groupes traités par le thé vert et par la combinaison (arsénite de sodium/ thé vert) comparant au groupe témoin (tab.6 ; fig.13 et 14).

Par ailleurs, on a enregistré une diminution hautement significative ($p \leq 0,01$) du taux d'hématocrite (-29,39 %) chez le groupe traité par l'arsénite de sodium par rapport au groupe témoin. Alors que le traitement des rats par la combinaison (arsénite de sodium/ thé vert) provoque une diminution significative d'hématocrite (-15,24 %). Par contre, on n'enregistre aucune différence significative d'hématocrite chez les rats traités uniquement par le thé vert comparant aux rats témoins (tab.6 ; fig.15).

Tableau 6 : Variation de quelques paramètres hématologiques chez les rats témoins et traités ; par le thé vert, l'arsénite de sodium et par la combinaison (arsénite de sodium/ thé vert) après 21 jours de traitement.

Paramètres	Les lots expérimentaux			
	Témoin	Thé vert	Arsenic	Arsenic/Thé vert
Globules blancs ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	6,20 \pm 1,65	5,78 \pm 1,40	5,51 \pm 0,84	5,55 \pm 0,99
%	–	- 6,77 %	- 11,12 %	- 10,48 %
Globules rouges ($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	1,95 \pm 0,56	2,00 \pm 0,35	1,31 \pm 0,52 [*]	1,53 \pm 0,50
%	–	2,56 %	- 32,82 %	- 21,53 %
Taux d'hémoglobine (g/dl)	13,40 \pm 1,70	13,53 \pm 1,04	11,03 \pm 1,09 [*]	12,12 \pm 1,12
%	–	- 0,97 %	- 17,68 %	- 9,55 %
Taux d'hématocrites (%)	42,32 \pm 7,07	39,97 \pm 6,17	29,88 \pm 1,72 ^{**}	35,87 \pm 1,52 [*]
%	–	- 5,55 %	- 29,39 %	- 15,24 %
VGM (fl)	50,17 \pm 1,19	50,11 \pm 0,95	49,10 \pm 0,58	49,73 \pm 0,68
TGMH (g/dl)	34,58 \pm 1,31	34,40 \pm 0,88	34,32 \pm 1,39	34,36 \pm 0,71
CCMH (pg)	17,15 \pm 0,78	16,88 \pm 0,49	16,73 \pm 0,48	16,83 \pm 0,25



(*) : Différence significative comparant au témoin ($p \leq 0,05$).

(**) : Différence hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,01$).

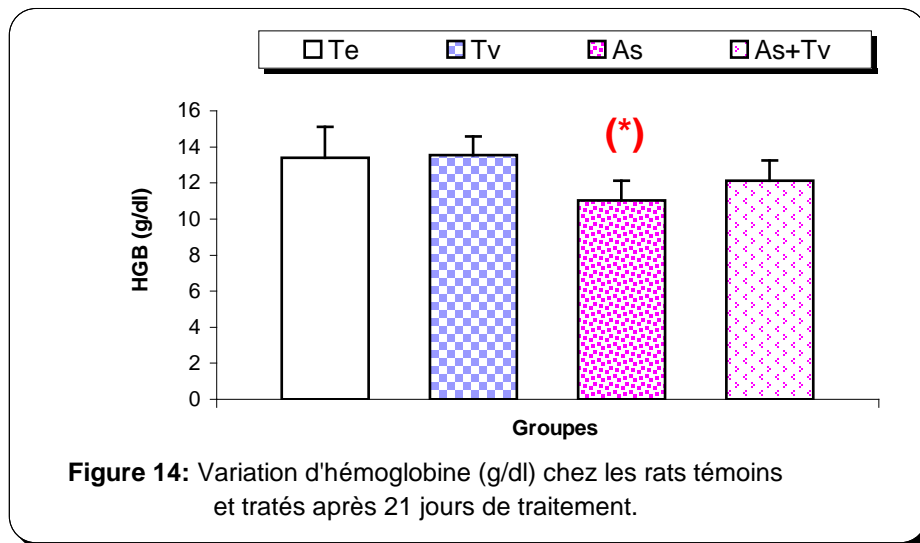


Figure 14: Variation d'hémoglobine (g/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

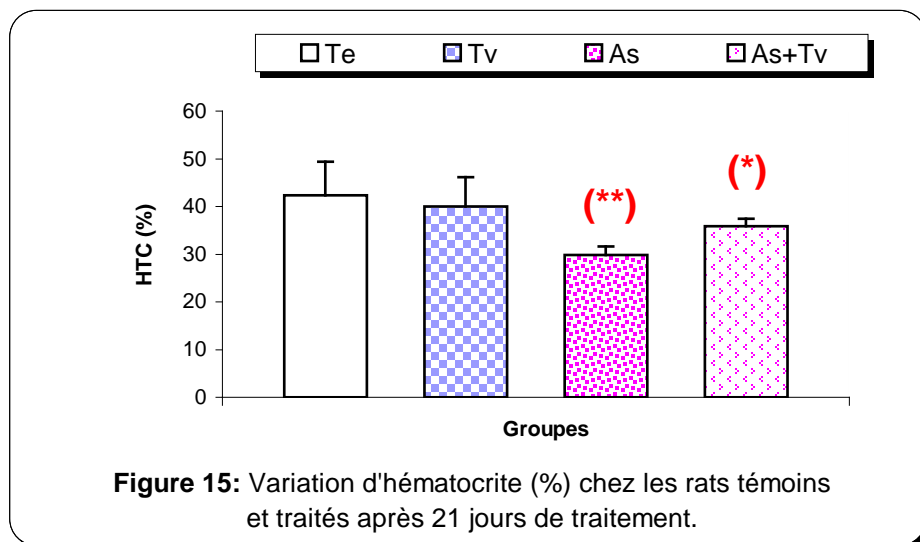


Figure 15: Variation d'hématocrite (%) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

(*) : Différence significative comparant au témoin ($p \leq 0,05$).

(**) : Différence hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,01$).

Le traitement par l'arsenic, a provoqué d'après les résultats obtenus une anémie; qui se caractérise par une chute des globules rouges, d'hémoglobine, et d'hématocrite. Cette anémie est probablement due à l'inhibition de la production de l'hème et de l'hémoglobine par l'arsenic. En effet, la grande affinité de l'arsenic aux groupements sulfhydriles, des protéines permet d'inhiber l'activité d'une enzyme impliqué dans la biosynthèse de l'hème qui est l'ALAD (l'acide δ -aminolévulinique déshydratase) (Mittal et Flora, 2006). Cette enzyme (ALAD) est la cible privilégiée de l'arsenic dans l'érythrocyte, la réduction de son activité touche plus spécifiquement le système hématopoïétique (Sharmila Banu et al., 2009).

L'induction de la production des radicaux libres avec peroxydation des lipides membranaire des globules rouges, et l'oxydation directe d'hémoglobine ; représente également un des mécanismes de la toxicité cellulaire de l'arsenic particulièrement évoqué à propos des troubles hématologiques (Cohen et al., 2007 ; Modi et al., 2006).

Cependant, l'anémie provoqué par l'arsenic est corrigée chez le groupe traité par la combinaison (arsénite de sodium/ thé vert) après 21 jours de traitement. Il semble donc que le thé vert agit comme un antioxydant grâce à la présence de polyphénols flavonoïdes qui permettent de lutter efficacement contre les radicaux libres qui sont les principaux responsables, des différentes maladies et par conséquent, diminuer l'effet toxique de l'arsenic (Mizoi et al., 2005 ; Li Shen et al., 2009).

3. Effets sur les paramètres biochimiques

3.1. Glucose

D'après les résultats obtenus on constate une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) de la concentration plasmatique en glucose chez le groupe traité par l'arsenic (+46,83%) comparant au groupe témoin. En revanche, on note une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) chez les rats traités par l'arsénite de sodium/thé vert par rapport aux rats témoins et aucune différence significative chez les rats traités par le thé vert toujours par rapport aux rats témoins (tab.7 ; fig.16).

3.2. Bilirubine totale

Le traitement des rats par l'arsénite de sodium pendant 21 jours, entraîne une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) de la concentration plasmatique en bilirubine totale (+51,37%) par rapport aux témoins. En revanche, chez les rats traités par la combinaison (arsénite de sodium/thé vert) on enregistre une diminution hautement significative ($p \leq 0,01$) de la concentration plasmatique en bilirubine totale (-37,58%), et aucune différence significative chez les rats traités par le thé vert comparant aux rats témoins (tab.7 ; fig.17).

3.3. Urée et créatinine

L'analyse statistique révèle qu'il existe une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) du taux sériques en urée (+40,66%) et en créatinine (+141,69%) chez les rats traités par l'arsénite de sodium par rapport aux rats témoins. Par contre, on n'enregistre aucune différence significative chez les rats traités seulement par le thé vert et par la combinaison (arsénite de sodium/thé vert) comparant aux rats témoins (tab.7; fig.18 et 19).

3.4. Cholestérol

Nos résultats montrent une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du taux sérique du cholestérol (+14,37%) chez les rats traités par l'arsénite de sodium par rapport aux rats témoins. On note aussi une diminution hautement significative ($p \leq 0,01$) de la concentration sérique en cholestérol chez les rats traités ; par l'arsénite de sodium/thé vert (-23,09%) et par le thé vert (-25,94%) par rapport toujours aux rats témoins (tab.7 ; fig.20).

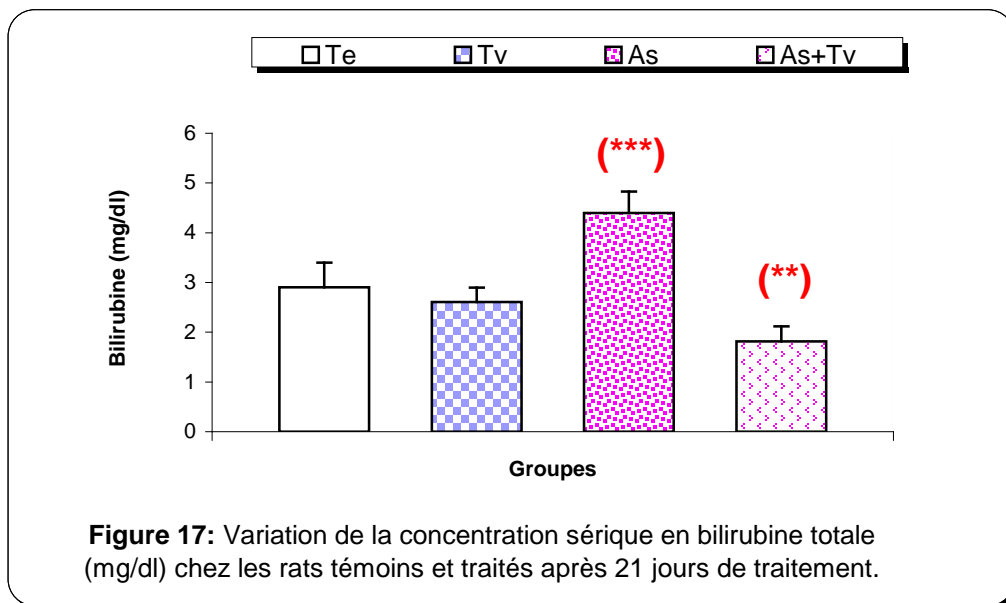
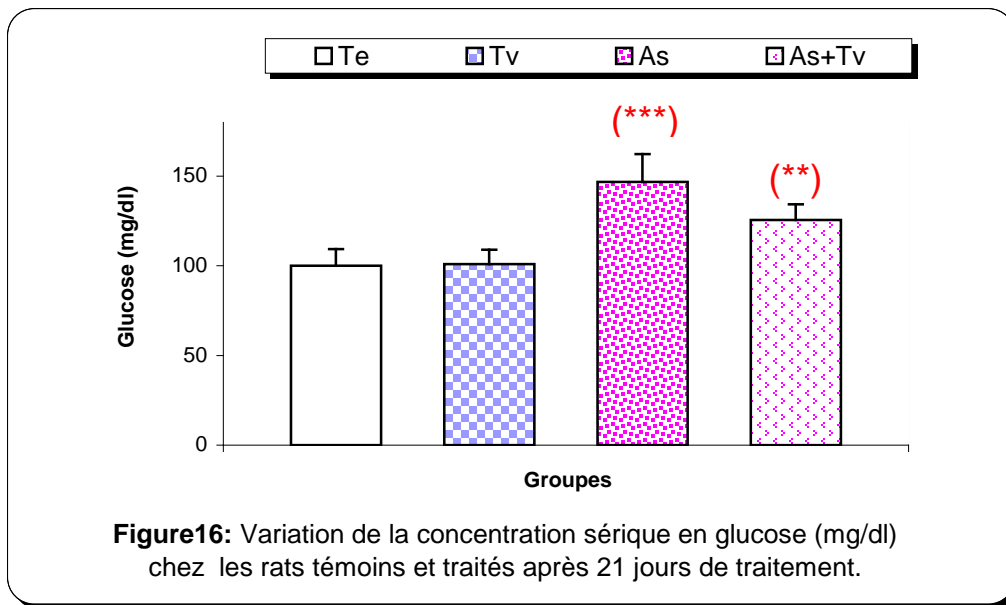
Tableau 7 : Variation de quelques paramètres biochimiques chez les rats témoins et traités ; par le thé vert, l'arsénite de sodium et par la combinaison (arsénite de sodium/thé vert) après 21 jours de traitement.

Paramètres	Les lots expérimentaux			
	Témoin	Thé vert	Arsenic	Arsenic/Thé vert
Glucose (mg/dl)	100 ± 9,33	101 ± 7,92	146,83 ± 15,33^{***}	125,66 ± 8,68^{**}
%	–	+ 1 %	+ 46,83 %	+ 25,66 %
Bilirubine totale (mg/dl)	2,90 ± 0,49	2,60 ± 0,29	4,39 ± 0,43^{***}	1,81 ± 0,30^{**}
%	–	- 10,34 %	+ 51,37 %	+ 37,58 %
Urée (mg/dl)	26,66 ± 2,35	26 ± 2,58	37,5 ± 3,81^{***}	29,5 ± 3,09
%	–	- 2,47 %	+ 40,66 %	- 10,65 %
Créatinine (mg/dl)	7,10 ± 0,34	6,77 ± 0,46	17,16 ± 0,90^{***}	7,09 ± 0,97
%	–	- 4,64%	+ 141,69 %	- 0,14 %
Cholestérol (mg/dl)	76,50 ± 8,67	57 ± 8,66	87,50 ± 7,96[*]	58,83 ± 6,96^{**}
%	–	- 25,49 %	+ 14,37 %	- 23,09 %

(*) : Différence significative comparant au témoin ($p \leq 0,05$).

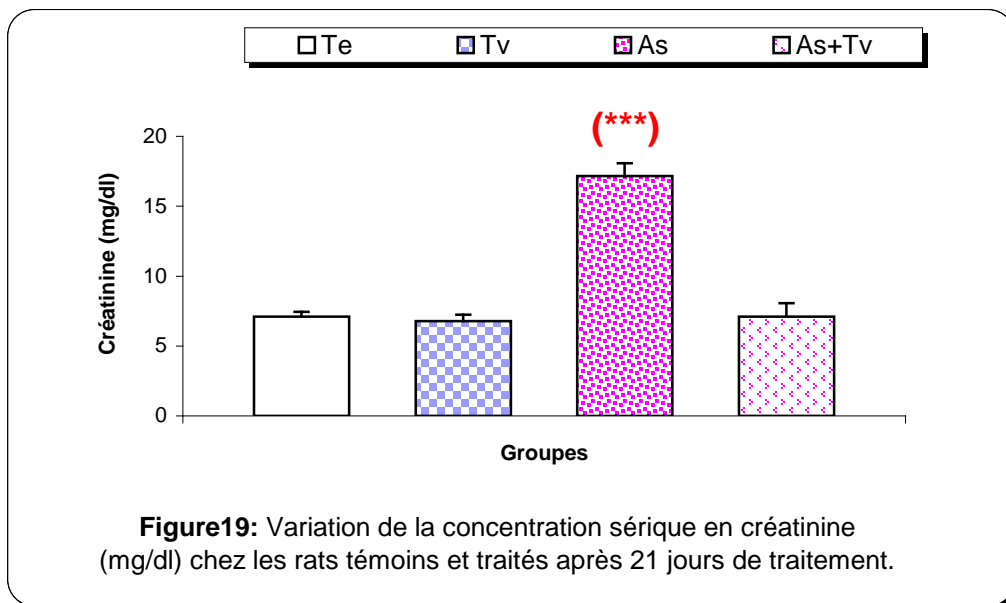
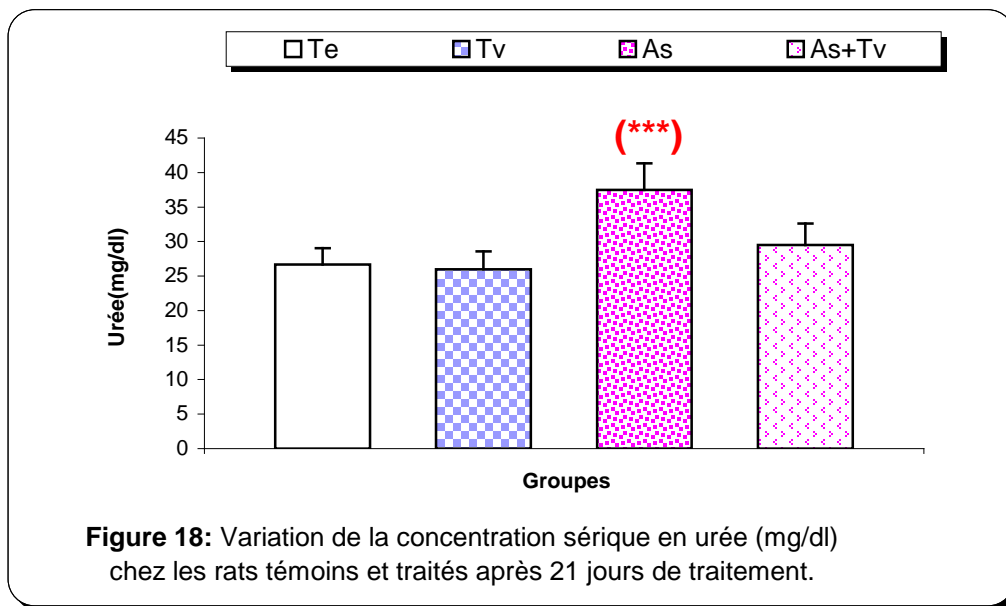
(**) : Différence hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,01$).

(***) : Différence très hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,001$).

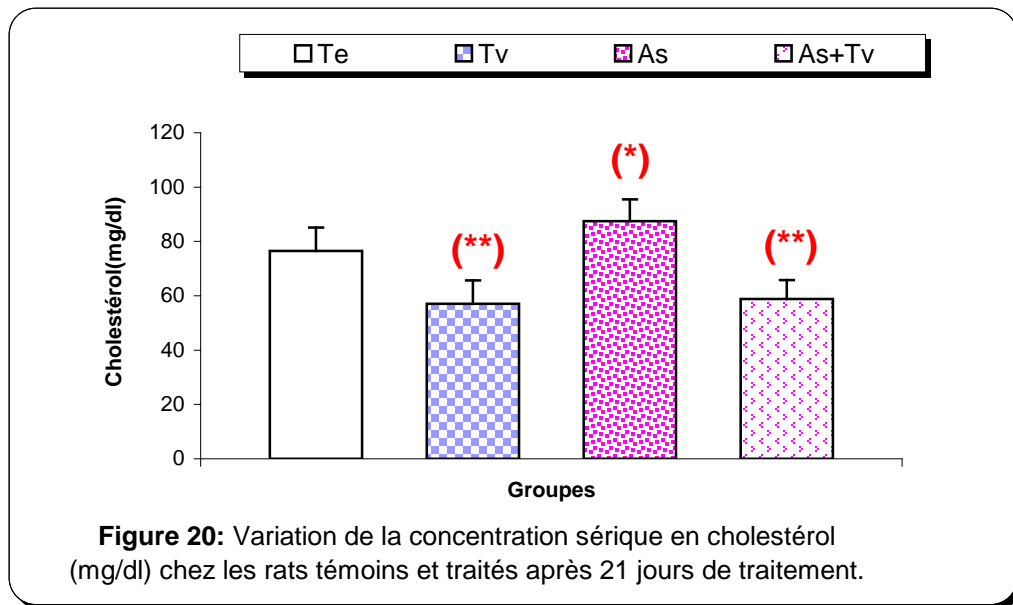


(**) : Différence hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,01$).

(***) : Différence très hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,001$).



(***) : Différence très hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,001$).



(*) : Différence significative comparant au témoin ($p \leq 0,05$).

(**) : Différence hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,01$).

(***) : Différence très hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,001$).

L'administration de l'arsénite de sodium à 5,55mg/kg de poids corporel, pendant 21 jours pour les rats, a entraîné une perturbation au niveau des paramètres biochimiques (Rin et al., 1995).

L'analyse des résultats a montré une augmentation très hautement significative de la concentration plasmatique en glucose chez les rats traités par l'arsenic. Cette hyperglycémie est probablement due aux effets du stress oxydant induit par l'arsenic. En effet, le stress oxydatif est responsable, d'une multitude de dysfonctions métaboliques qui est un facteur clé caractéristique de la résistance à l'insuline (Izquierdo-Vega et al., 2006). L'insulinorésistance est caractérisée par une réponse biologique à l'insuline diminuée ou défectueuse in vivo. Elle est caractéristique du diabète non insulino-dépendant et concerne la majorité des tissus cibles, ce qui se traduit par une élévation des taux circulants d'insuline et une diminution de la stimulation du captage du glucose par l'insuline (Walton et al., 2004).

Tandis que, le traitement des rats par la combinaison (arsénite de sodium/thé vert) a atténué partiellement les effets cytotoxiques de l'arsenic sur le taux du glucose. Ceci suggère que le thé vert a un effet hypoglycémiant.

Anees Khan et al. (2007) ont montré également que le traitement des rats par le thé vert restaure le taux du glucose. Cet effet est dû aux polyphénols du thé vert qui peut entraîner une augmentation importante de l'activité de certaines enzymes impliqués dans la dégradation du glucose dans le foie, l'intestin et les reins; et inhiber la production hépatique du glucose dans le sang.

Nos résultats montrent aussi une augmentation importante en bilirubine chez les rats traités par l'arsenic. Cette augmentation est liée à l'effet hépatotoxique de l'arsenic (Li et al., 2007). La fonction biliaire est une fonction hépato spécifique dont le rôle est d'assurer l'élimination des xénobiotiques et de certains endobiotiques potentiellement toxiques comme la bilirubine. Le transport de l'hépatocyte vers la bile est assurée par plusieurs transporteurs, parmi ces transporteurs le Mrp2 (multidrug résistance-associated protein2) est responsable du transport de la bilirubine et du glutathion (Rosmorduc et Poupou, 2004). En raison de la localisation de la protéine Mrp2 sur la membrane hépatocytaire baso-latéral, l'arsenic peut endommager cette membrane et affecter le fonctionnement normal des Mrp2, aboutissant à la réduction de son niveau, ce qui entraîne une hyperbilirubinémie (Li et al., 2007).

Nous avons mis en évidence une diminution hautement significative des taux sériques de la bilirubine chez les rats traités par la combinaison (arsénite de sodium/thé vert). Cette diminution est due à l'effet protecteur des polyphénols du thé vert, qui induit une diminution des dommages oxydatifs des membranes (Soussi et al., 2006).

De plus, nos travaux ont également montré une diminution de la peroxydation lipidique dans les tissus hépatiques des rats traités par la combinaison (arsénite de sodium/thé vert), et ceci du fait des capacités de piégeage des radicaux libres par les polyphénols, ce qui plaide en faveur du rôle protecteur du thé vert.

L'augmentation des taux sériques en urée et en créatinine chez les rats traités par l'arsénite de sodium, est considérée comme un marqueur important de la dysfonction rénale. L'augmentation de ces deux bios marqueurs indique la diminution de la capacité des reins à filtrer ces déchets (Yousef et al., 2008).

Madden et Fowler (2000) ont montré que l'arsenic est connu pour provoquer la maladie rénale chronique, ce qui confirme que l'augmentation de l'urée et de la créatinine chez les rats traités par l'arsénite de sodium est due à l'effet néphrotoxique de l'arsenic.

La diminution du taux sériques de l'urée et de la créatinine chez les rats traités par la combinaison (arsénite de sodium/thé vert), peut être due à l'effet préventif des polyphénols du thé vert qui peut maintenir et améliorer le fonctionnement des reins (Augustyniak et al., 2005).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Anees Khan et al. (2007) qui ont également montré que la consommation du thé vert a abouti à une amélioration des fonctions des reins chez des rats ayant une insuffisance rénale.

Dans notre étude, la diminution du taux de MDA au niveau des tissus rénaux des rats traités par la combinaison (arsénite de sodium /thé vert), confirme également que le thé vert peut protéger les cellules des reins contre les conséquences du stress oxydatif provoqué par l'arsenic.

En ce qui concerne le cholestérol, la régulation du métabolisme de ce dernier se fait principalement par des récepteurs nucléaires (Jüngst et Kullak – Ublick, 2007). Parmi ces récepteurs les récepteurs nucléaires LXR_s « Liver x Receptor » (LXR_α et LXR_β) qui sont

des facteurs de transcription, possèdent de multiples capacités d'action sur les gènes cibles impliqués dans la régulation de l'homéostasie du cholestérol cellulaire (Souidi et al., 2004). Le LXR α se manifeste à des taux élevés dans le foie et à un moindre degré, dans l'intestin, le tissu adipeux et les macrophages, alors que le LXR β se manifeste de façon omniprésente (Lunoma, 2009).

L'augmentation du taux du cholestérol chez les rats traités par l'arsénite de sodium, est en accord avec celle de Yousef et al. (2008) qui ont suggéré que cette augmentation est due à l'antagonisme entre l'arsenic et le récepteur nucléaire LXR du foie. La diminution de la signalisation de ce récepteur par l'arsenic pourrait augmenter le taux du cholestérol et conduire à une hypercholestérolémie.

En association avec le thé vert, l'arsenic n'a pas modifié le taux du cholestérol plasmatique des rats. Nos résultats confirment ceux de Bursil et al. (2007) qui ont montré que les polyphénols du thé vert inhibaient la synthèse du cholestérol et de plus augmentaient l'expression du récepteur des LDL qui peuvent aussi contribuer à faire baisser le cholestérol plasmatique.

Ces résultats montrent bien l'effet protecteur du thé vert.

4. Effets sur la peroxydation lipidique

4.1. Variations du taux de peroxydation hépatique

Au niveau du foie, le traitement par l'arsénite de sodium a induit une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) du taux de peroxydation hépatique par rapport aux témoins (tab.8 ; fig.21). En effet, la consommation de thé vert seul n'a pas modifié le taux de base de peroxydation des rats témoins.

De même, chez les rats traités par l'arsénite de sodium et ayant ingéré du thé, aucune variation significative du taux de peroxydation lipidique par rapport aux témoins n'a été observée. Ceci montre bien l'effet protecteur du thé vert contre les effets cytotoxiques peroxydatifs de l'arsenic.

4.2. Variations du taux de peroxydation rénale

Au niveau des reins, l'arsenic a entraîné une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) du taux de malondialdéhyde par rapport aux témoins (tab.8 ; fig.22). Chez les rats buvant du thé vert, aucune variation significative de ce paramètre par rapport aux témoins. Parallèlement, les rats traités par l'arsenic et ayant reçu du thé comme boisson ont un niveau de peroxydation lipidique plus faible que celui des rats ayant ingéré de l'eau.

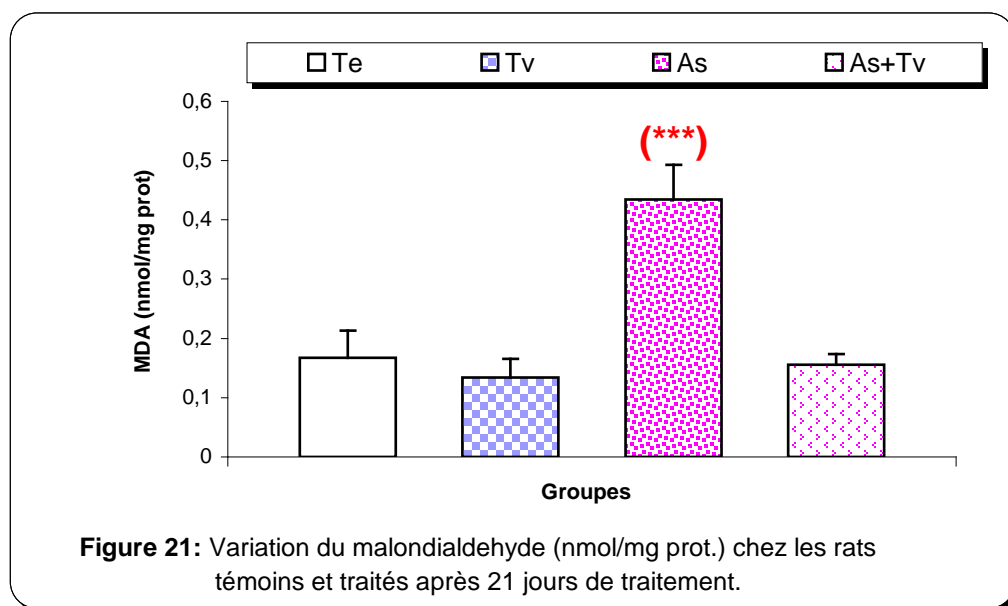
4.3. Variations du taux de peroxydation testiculaire

La figure 22 montre également que l'arsenic induit une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du taux de la peroxydation lipidique au niveau du testicule en comparaison avec le témoin. En association avec le thé vert, qui administré seul n'a aucun effet, l'arsenic a cependant entraîné une augmentation significative du taux de peroxydation lipidique testiculaire, mais de façon moins importante qu'avec l'arsenic seul.

L'ensemble de ces résultats montre donc que la consommation de thé vert est susceptible de limiter le stress oxydant induit par des concentrations d'arsenic de 5,55mg/kg/j injecté par voie intrapéritonéale pendant 21 jours.

Tableau 8: Variation du taux de MDA (nmol/mg prot.) dans les organes (foie, reins et testicules) chez les rats témoins et traités ; par le thé vert, l'arsénite de sodium et par la combinaison (arsénite de sodium/thé vert) après 21 jours de traitement.

Paramètre	Les organes	Les lots expérimentaux			
		Témoin	Thé vert	Arsenic	Arsenic/Thé vert
MDA (nmol/mg prot)	Foie	0,16 ± 0,04	0,13 ± 0,03	0,43 ± 0,05^{***}	0,15 ± 0,01
	%	—	- 18,75 %	+ 168,75%	+ 6,25%
	Reins	0,15 ± 0,04	0,14 ± 0,05	0,27 ± 0,04^{**}	0,15 ± 0,04
	%	—	- 6,66 %	+ 80%	0%
	Testicules	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,06 ± 0,01[*]	0,04 ± 0,01
	%	—	- 25 %	+ 50%	0%



(*) : Différence significative comparant au témoin ($p \leq 0,05$).

(**) : Différence hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,01$).

(***) : Différence très hautement significative comparant au témoin. ($p \leq 0,001$).

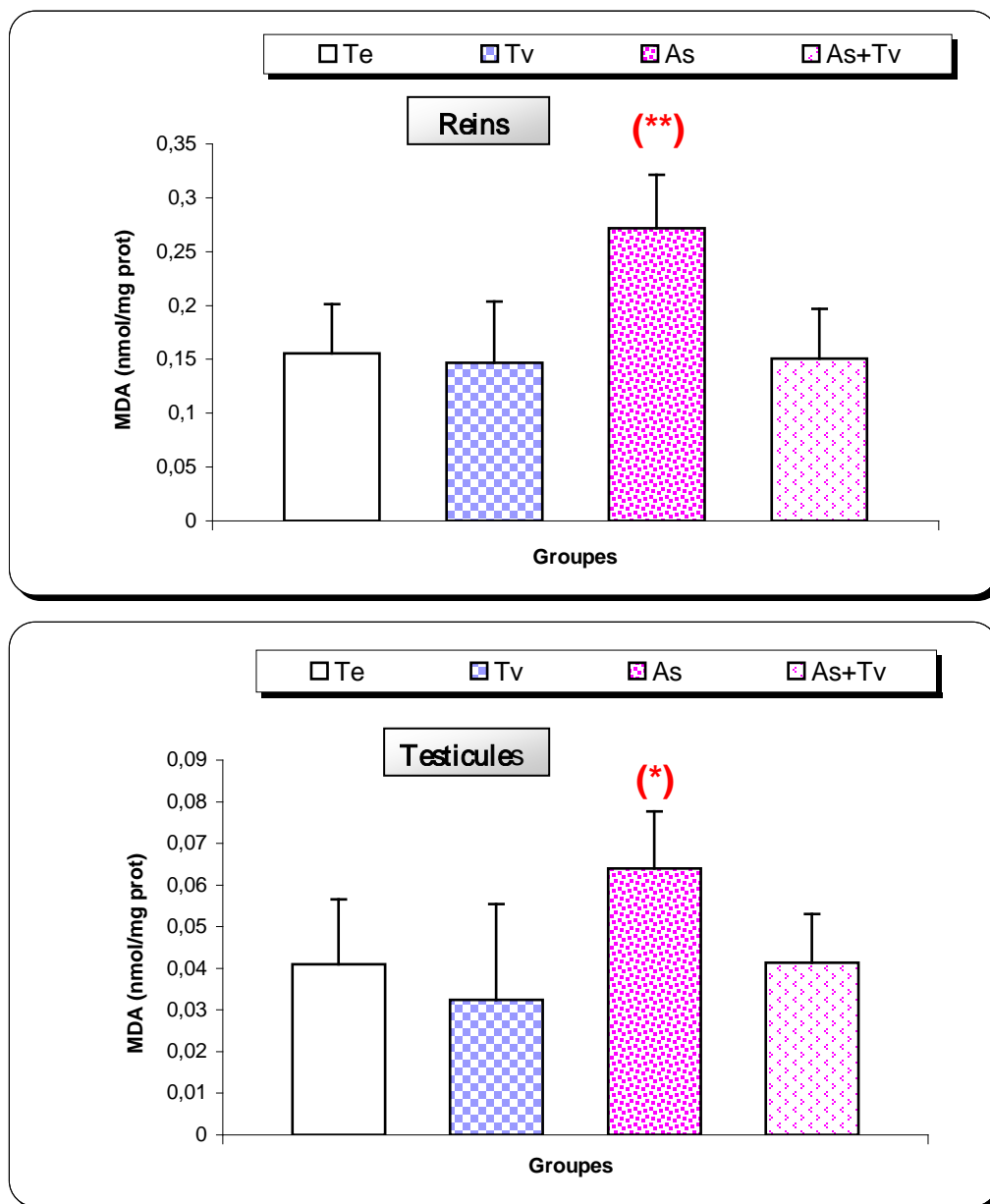


Figure 22 : Variation du malondialdéhyde (nmol/mg prot.) dans les organes (reins et testicules) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

(*) : Différence significative comparant au témoin ($p \leq 0,05$).

(**) : Différence hautement significative comparant au témoin ($p \leq 0,01$).

De nombreuses études mettent en évidence que la présence de l'arsenic dans la cellule génère la production de ROS dont l'anion superoxyde (O_2^-), l'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle (OH^\bullet), oxyde nitrique (NO^\bullet), le peroxy diméthylarsinique ($[(CH_3)_2AsOO^\bullet]$) et aussi le radical de diméthylarsénique ($[(CH_3)_2As]$) (Valko et al., 2006). Parmi ces ROS le radical hydroxyle (OH^\bullet) est extrêmement réactif, et ce avec la plupart des molécules des tissus vivants. En effet, les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle (Favier, 2003).

Notre étude montre que l'injection intrapéritonéale de l'arsénite de sodium avec une concentration de (5.55 mg/kg/j pendant 21 jours), provoque une augmentation significative du taux de peroxydation lipidique au niveau des trois organes : foie, reins et testicules (Pal et Chatterjee, 2004).

Nos résultats confirment ceux de Ramos et al. (1995) qui ont trouvé une altération du statut antioxydant chez des rattes traitées par l'arsenic. Cette altération est accompagnée d'une augmentation de la peroxydation lipidique et d'une diminution du taux de GSH cellulaire.

L'augmentation du taux de MDA qui représente un bio marqueur de la peroxydation lipidique (Aurousseau, 2002), dans les organes étudiés (foie, reins et testicules) est due à l'effet, de l'arsenic qui induit une augmentation significative de la formation du radical hydroxyle, qui à son tour initié la peroxydation lipidique et conduisant à la libération de différentes aldéhydes toxiques comme le malondialdéhyde (MDA) (Valko et al., 2006).

El-Demerdash et al. (2009) ont également montré que l'augmentation de la formation du radical hydroxyle chez des rats traités par l'arsénite de sodium, est accompagnée par une augmentation de la peroxydation lipidique au niveau du foie, des reins et des testicules.

Par ailleurs, le traitement des rats par la combinaison (arsénite de sodium/thé vert) a entraîné une amélioration importante ou le taux de MDA dans les organes (foie, reins et testicules) revient presque à la normal. Ceci est certainement dû à l'effet de thé vert. En effet, le thé vert est connu pour sa richesse en polyphénols, qui possèdent des propriétés antioxydantes dues à leurs fonctions de piégeage des radicaux libres et en particulier le plus réactif le radical hydroxyle, qui peut engager la peroxydation des lipides (Skrzydlewski et al., 2005). De ce fait les polyphénols peuvent diminuer la concentration des radicaux libres au niveau des lipides et mettre fin à l'apparition et la propagation de la peroxydation lipidique.

En outre, la chélation des ions métalliques et en particulier le fer et le cuivre par les polyphénols du thé vert peut également, inhiber la production du radical hydroxyle et la dégradation des lipides. Enfin, les polyphénols peuvent aussi réduire la mobilité des radicaux libres à l'intérieur de la bicouche lipidique (Augustyniak et al., 2005).

Une diminution du taux de MDA au niveau du foie, des reins et des testicules chez des rats traités par le métavanadate d'ammonium et recevant du thé vert a cependant été rapportée par Soussi et al. (2006).

Nous avons de notre part montré que la consommation de thé vert a permis de montrer qu'il limitait le taux de peroxydation lipidique induit par l'arsenic au niveau des tissus, ce qui montre son effet protecteur vis-à-vis de l'effet peroxydatif de l'arsenic.

CONCLUSION

Conclusion générale et perspectives

Ces travaux nous ont permis de définir qu'une administration à raison de 5,55 mg/kg de poids corporel d'arsénite de sodium, pendant 21 jours provoque un stress oxydant chez les rats males de la souche Wistar, et représente donc une administration que nous pouvons qualifier de modérée.

Nous avons confirmé que l'arsenic engendre un stress oxydant qui conduit à plusieurs perturbations qui peuvent comprendre :

- Des perturbations au niveau des paramètres de croissance :
 - Diminution du poids corporel durant la période de traitement.
 - L'augmentation des poids relatifs des organes (foie, reins et testicules).
- Des perturbations de la fonction hématologique :
 - Diminution du nombre des globules rouges (GR).
 - Diminution du taux d'hémoglobines (Hgb).
 - Diminution du taux d'hématocrites (HCT).
- Des perturbations métaboliques : glucose, urée, créatinine, bilirubine ainsi que le cholestérol.

Le foie, les reins et les testicules semblent aussi les sièges d'une peroxydation lipidique observée chez les rats traités par l'arsenic, ce qui montre bien l'effet peroxydatif de ce métal.

Enfin, une supplémentation en thé vert permet de limiter les perturbations provoquées par l'arsenic. La supplémentation semble avoir des effets bénéfiques, par une limitation des phénomènes radicalaires, qui conduit à une diminution du stress oxydant.

A partir des résultats obtenus, il serait intéressant de :

- ✓ Identifier et isoler les composés actifs qui peuvent être à l'origine de l'effet antioxydant.
- ✓ Déterminer la concentration en arsenic dans le sang et les organes de détoxification.
- ✓ Approfondir l'étude sur les capacités de détoxification par le dosage de plusieurs paramètres du stress oxydant (SOD, GPx, GST, Catalase, Vitamines,...).

BIBLIOGRAPHIE

RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abd El Mgeed A., Bstawi M., Mohamed U., Abdel Gabbar M. (2009). Histopathological and biochemical effects of green tea and/or licorice aqueous extracts on thyroid functions in male albino rats intoxicated with dimethylnitrosamine. *Nutrition et Metabolism*. 6 (2) :1-6.

Albores A., Cebrian M.E., Connelly J.C., Bach E.H., Bridge J.W. (1992). Effects of arsenite on hepatic mixed function oxidase activity in rats. *Xenobiotica*. 22, 521-597.

Amara S. (2007). Effets d'une exposition sub-chronique au champ magnétique statistique sur le métabolisme du zinc et la toxicité du cadmium chez le rat: Rôle du stress oxydant. Thèse de doctorat. Université du 7 novembre à Carthage. Tunisie.

Anees Khan S., Priyamvada S., Arivarasu N.A., Khan S., Khan Yusufi A.N. (2007). Influence of green tea on enzymes of carbohydrate metabolism, antioxidant defense, and plasma membrane in rat tissues. *Nutrition*. 23, 687-695.

Aposhian H.V. (1997). Enzymatic methylation of arsenic species and other new approaches to arsenic toxicity. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 37, 397-419.

Aposhian H.V., Aposhian M.M. (1989). Newer developments in arsenic toxicity. *J. Am. Coll. Toxicol.* 8, 1297-1305.

Arce L., Rios A., Valcarcel M. (1998). Determination of anti-carcinogenic polyphenols present in green tea using capillary electrophoresis coupled to a flow injection system. *J. Chromatogr.* 827, 113-120.

Augustyniak A., Waszkiewicz E., Skrzydlewska E. (2005). Preventive action of green tea from changes in the liver antioxidant abilities of different aged rats intoxicated with ethanol. *Nutrition*. 21, 925-932.

Aurousseau B. (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim.* 15 (1) : 67-82.

Axelson O. (1980). Arsenic compounds and cancer. *J. Toxicol. Environ. Health.* 6, 1229.

Azcue J.M., Nriagu J.O. (1994). Arsenic : historical perspectives. In : Nriagu J.O. Arsenic in the environment. New York. 1-6.

RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Babior B.M. (1999). NADPH oxidase: an update. *Blood*. 93, 1464-1476.

Barchowsky A., Dudek E. J., Treadwell M. D., Wetterhahn K.E. (1996). Arsenic induces oxidant stress and NF-kappa B activation in cultured aortic endothelial cells. *Adv. Free. Radic. Biol. Med.* 21, 783-790.

Bencko V. (1986). Arsenic. In : Fishbein L., Furst A., Mehlman M.A. *Genotoxic and carcinogenic metals : Environmental and occupational occurrence and exposure.* Princeton Scientific Publishing. 87-126.

Bertolero F., Pozzi G., Sabbioni E., Saffiotti U. (1987). Cellular uptake and metabolic reduction of pentavalent to trivalent arsenic determinants of cytotoxicity and morphological transformation. *Carcinogenesis*. 8: 803.

Bissen M., Frimmel F.H. (2003). Oxidation of arsenic and its removal in water treatment. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*. 31, 97-107.

Bisson M. (2002). Toxicologie de l'arsenic. In : *Journée technique : Arsenic.* Pau, France : APESA. 11-12.

Bode A.M., Dong Z. (2000). Apoptosis induction by arsenic: mechanisms of action and possible clinical applications for treating therapy-resistant cancers. *Drug Resistance Updates*. 3, 21-29.

Bode A.M., Dong Z. (2002). The paradox of arsenic: molecular mechanisms of cell transformation and chemotherapeutic effects . *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 42,5-24.

Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Beaudoux J.L., Peynet J., Legrand A., Delattre J. (2001). Vieillesse et stress oxydant. Quels marqueurs potentiels ? *Ann. Biol. Clin.* 59 (4) : 453-459.

Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Delattre J. (2003). Radicaux libres et anti-oxydants. In : *Delattre J., Durand G., Jardillier J.C. Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires.* Médecine-sciences Flammarion, Paris. 59-81.

Borek C. (1997). Antioxydants and cancer. *Science et Médecine*. 52, 60.

RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S., McAnalley B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience et Nutrition*. 4 (6) : 7.

Bradford M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteinbinding, *Anal. Biochem.* 72, 248–254.

Bursill C.A., Abbey M., Roach P.D. (2007). A green tea extract lowers plasma cholesterol by inhibiting cholesterol synthesis and upregulating the LDL receptor in the cholesterol-fed rabbit. *Atherosclerosis*. 193, 86-93.

Carr A.C., Zhu B.Z., Frei B. (2000). Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). *Circ Res.* 7 (5) : 349-354.

Chen Y.C., Lin-Shiau S.Y., Lin J. K. (1998). Involvement of reactive oxygen species and caspase 3 activation in arsenite-induced apoptosis. *J. Cell. Physiol.* 177, 324-333.

Cheng T.O. (2005). All teas are not created equal. The chinese green tea and cardiovascular health. *Int.J. Cardiol.* 108, 301-308.

Cohen S.M., Ohnishi T., Arnold L.L., Le X.C. (2007). Arsenic-induced bladder cancer in an animal model. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 222, 258-263.

Coimbra S., Castro E., Rocha-Pereira P., Rebelo I., Rocha S., Santos-Silva A. (2006). The effect of green tea in oxidative stress. *Clinical Nutrition*. 25, 790-796.

Cornul L., Gillet C. (2006). Arsenic et ses dérivés inorganiques. Edition INERIS. 3: 78.

De Moffarts B., Kirschvink N., Pincemail J., Lekeux P. (2005). Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Equine Veterinary Journal*. 149, 1-9.

Delattre J., Théron P., Bonnefont-Rousselot D. (2005). Espèces réactives de l'oxygène, antioxydants et vieillissement. In : Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot D. *Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques*. Lavoisier édition TEC et DOC éditions médicales internationales. Paris. 281-351.

Delmas F.X., Minet M. (2007). Le guide de dégustation de l'amateur de thé. Les éditions du Chêne. Paris. 239.

RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Del Razo L.M., Quintanilla-Vega B., Brambila-Colombres E., Calderon-Aranda E. S., Manno M., Albores A. (2001). Stress proteins induced by arsenic. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 177, 132-148.

El-Demerdash F.M., Yousef M.I., Radwan F.M.E. (2009). Ameliorating effect of curcumin on sodium arsenite-induced oxidative damage and lipid peroxidation in different rat organs. *Food and Chemical Toxicology.* 47, 249-254.

Favier A. (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Biol. Clin.* 55 (1) : 9-16.

Favier A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques. L'actualité Chimique.* 108-115.

Fowler B.A., Ishinishi N., Tsuchiya K., Vahter M. (1979). Arsenic. In : Friberg L., Nordberg F., Vouk V.B. *Handbook on the toxicology of metals.* Elsevier/North-Holland Biomedical Press. Amsterdam. 293.

Goodwin T.W. (1965). *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments.* Academic Press Inc. London. 583.

Gorby M.S. (1994). *Arsenic in human medicine.* Wiley, New York. 1-6.

Goussard J.P. (1999). Les radicaux libres et antioxydants. 2-11.

Gurr J.R., Liu F., Lynn S., Jan K.Y. (1998). Calcium dependent nitric oxide production is involved in arsenite-induced micronuclei. *Mutat. Res.* 416, 137-148.

Halliwell B. (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annu.Rev.Nutr.* 16, 33-50.

Halliwell B., Gutteridge J. (2000). Reactive species as useful biomolecules. *Free Radicals in Biology and Medicine.* 467- 481.

Haslam E. (2003). Thoughts on thearubigins. *Phytochem.* 64 (1): 61-73.

Hegarty V.M. (2000). Tea drinking and bone mineral density in older women. *Am. J.Clin. Nutr.* 71(41) : 3-7.

RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Hochberg M., Kohen R., Enk C.D. (2006). Role of antioxidants in prevention of pyrimidine dimer formation in UVB irradiated human HaCaT keratinocytes. *Biomed. Pharmacother.* 60, 233-237.

Huang M.T., Ho C.T., Lee C.Y. (1992). Phenolic Compounds in Food and their Effects on Health II: Antioxidants and Cancer Prevention in American Chemical Society Symposium Series. Ed. American Chemical Society. Washington. DC. 507, 8-34.

Hughes M.F. (2002). Arsenic toxicity and potential mechanisms of actions. *Toxicology Letters.*133, 1-16.

Hulbertl A. J. (2005). On the importance of fatty acid composition of membranes for aging. *J. Theor. Biol.* 234, 277-288.

IARC - International Agency for Research on Cancer. (1987). Arsenic. In overall evaluations of carcinogenicity; an updating of IARC monographs volumes 1 to 42. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon Suppl. 7, 100-106.

Iserin P., Masson M., Restellini J.P. (2001). Larousse Encyclopédie des plantes médicinales identification, préparation, soins. Edition Vuief. Paris. 335.

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

Jain C.K., Ali I. (2000). Arsenic: occurrence, toxicity and speciation techniques. *Water Research.* 34, 4304-4312.

Jüngst C., Kullak-Ublick G.A. (2007). La cholélithiase – une maladie du foie? *Forum Med. Suisse.* 7, 668-673.

Kaltreider R.C., Hamilton J.W. (2001). Arsenic alters the function of the glucocorticoid receptor as a transcription factor. *Environmental Health Perspectives.* 109, 245-251.

Kanzawa T., Kondo Y., Ito H., Kondo S., Germano I. (2003). Induction of autophagic cell death in malignant glioma cells by arsenic trioxide. *Cancer Research.* 63, 2103-2108.

RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Kaplan A. (1984). Bilirubin. Clin Chem. The C.V. mosby Co. Si louis.Tronto. Princeton ; 1238-1241.

Kaplan A. (1984). Urea. Kaplan A et al .Clin chem. The C.V. mosby Co. Si louis.Tronto. Princeton ; 1257-1260.

Kaplan L.A. (1984). Glucose. Kaplan A et al .Clin chem. The C.V. mosby Co. Si louis.Tronto. Princeton ; 1032-1036.

Kehrer J. P. (1993). Free radicals as mediators of tissue injury and disease. Crit Rev Toxicol. 23, 21-48.

Khalil A. (2002). Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin E against atherosclerosis. Can. J. Physiol. Pharmacol. 80 (7), 662-669.

Kim M.J., Nriagu J., Haack S. (2002). Arsenic species and chemistry in groundwater of southeast michigan. Environmental Pollution. 120, 379-390.

Lagarde P. (2001). Cancer, progrès de la prévention et du traitement.Nutranews.1-15.

Laperche V., Bodénan F., Dictor M.C. (2003). Guide méthodologique de l'arsenic appliqué à la gestion des sites et des sols pollués. Rapport BRGM/pp- 52066-FR, Orléans, France : BRGM Edditions. 91.

Levine R.L. (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation; aging and disease. Free radic. Biol. Med. 32, 790-796.

Li G.X., Pei Q.I., Gao Y., Liu K.M., Nie J.S., Han G., Qiu Y.I., Zhang W.P. (2007). Protective effects of hepatocellular canalicular conjugate export pump (Mrp2) on sodium arsenite-induced hepatic dysfunction in rats. Experimental and Toxicologic Pathology. 58, 447-453.

Li Shen C., Yeh J.K., Cao J.J., Sheng Wang J. (2009). Green tea and bone metabolism. Nutrition Research. 29, 437-456.

Lowell M.A., Farmer J.G. (1985). Arsenic speciation in urine from humans intoxicated by inorganic arsenic compounds. Hum. Toxicol. 4 : 203.

RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Luc G., Lecerf J.M., Bard J.M., Hachulla E., Fruchart J.C., Devulder B. (1991). Cholestérol et athérosclérose. Masson, collection Abrégés, Paris.

Luczaj W., Skrzydlewska E. (2005). Antioxidative properties of black tea. *Prev. Med.* 40 (6): 910-918.

Lunoma P.V. (2009). Cytochrome P450 et activation génétique de la pharmacologie à l'élimination du cholestérol et à la régression de l'athérosclérose. 30, 15-24.

Lynn S., Gurr J.R., Lai H.T., Jan K.Y. (2000). NADH oxidase activation is involved in arsenite induced oxidative DNA damage in human vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* 86, 514-519.

Madden E.F., Fowler B.A. (2000). Mechanisms of nephrotoxicity from metal combinations. *Drug Chem.Toxicol.* 23, 1-12.

Malloy H.T. (1937). The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J. Biol Chem.* 112, (2): 481-491.

Mandal B. K., Ogra Y., Anzai K., Suzuki K. T. (2004). Speciation of arsenic in biological samples. *Toxicol Appl Pharmacol.* 198, 307-318.

Mandal B.K., Suzuki K.T. (2002). Arsenic round the world: a review, *Talanta*, 58, 201-235.

Mariage Frères. (2003). L'art français du thé, M. Frères.104.

Marnett L.J. (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by Malondialdehyde. *Mutat. Res.* 424, 83-95.

Matera V. (2001). Etude de la mobilité et de la spéciation de l'arsenic dans les sols de sites industriels pollués : estimation du risque induit. Université de Pau et des pays d'Adour. Pau, France. 273.

Matés J.M., Perez-Gomez C., Nunez De Castro I. (1999). Antioxidant enzymes and human disease. *Clin Biochem.* 32 (8) : 595-603.

RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mittal M., Flora S.J.S. (2006). Effects of individual and combined exposure to sodium arsenite and sodium fluoride on tissue oxidative stress, arsenic and fluoride levels in male mice. *Chemico-Biological Interactions*. 162, 128-139.

Mizoi M., Takabayashi F., Nakano M., An Y., Sagesaka Y., Kato K., Okada S., Yamanaka K. (2005). The role of trivalent dimethylated arsenic in dimethylarsinic acid-promoted skin and lung tumorigenesis in mice: Tumor-promoting action through the induction of oxidative stress. *Toxicology Letters*. 158, 87-94.

Modi M., Kaul R.K., Gurusamy M., Kannan G.M., Flora S.J.S. (2006). Co-administration of zinc and n-acetylcysteine prevents arsenic-induced tissue oxidative stress in male rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 20, 197-204.

Molénat N., Holeman M., Pinel R. (2000) .L'arsenic, polluant de l'environnement : origines, distribution, biotransformation. *L'actualité Chimique*. 12-23.

Moumen R., Nouvelot A., Duval D., Lechevalier B., Viader F. (1997). Plasma superoxide dismutase and glutathione peroxidase activation in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci*. 151 (1) : 35-39.

Murray R. (1984). Creatinine. Kaplan A et al. *Clin chem*. The C.V. mosby Co. Si louis.Tronto. Princeton; 1261-1266.

Nair J., Barbin A., Velic I., Bartsch H. (1999). Etheno DNA-base adducts from endogenous reactive species. *Mutat*. 424, 59-69.

Naito H.K. (1984). Cholesterol. In : Kaplan et al. *Clin Chem*. The C.V. Si louis. Toronto. Princeton ; 1194-1206.

Nandi D., Patra R.C., Swarup D. (2005). Effect of cysteine, methionine, ascorbic acid and thiamine on arsenic-induced oxidative stress and biochemical alterations in rats. *Toxicology*. 211, 26-35.

National Academy of Sciences. (1999). Arsenic in Drinking Water. National Academies Press. Washington, DC. 240.

RÉFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Nesnow S., Roop B. C., Lambert G., Kadiiska M., Mason R. P., Cullen W. R., Mass M. J. (2002).** DNA damage induced by methylated trivalent arsenicals is mediated by reactive oxygen species. *Chem. Res. Toxicol.* 15, 1627-1634.
- Ng J.C., Wang J., Shraim A. (2003).** A global health problem caused by arsenic from natural sources. *Chemosphere.* 52, 1353-1359.
- Nriagu J.O., Azcue J.M. (1990).** Environmental sources of arsenic in food. *Adv. Environ. Sci Technol.* 23, 103-127.
- Oketani M., Kohara K., Tuvdendorj D., Ishitsuka K., Komorizono Y., Ishibashi K., Arima T. (2002).** Inhibition by arsenic trioxide of human hepatoma cell growth. *Cancer Letters.* 183, 147-153.
- Pal S., Chatterjee A.K. (2004).** Protective effect of methionine supplementation on arsenic-induced alteration of glucose homeostasis. *Food and Chemical Toxicology.* 42, 737-742.
- Pamplona R., Portero-Otin M., Ruiz C., Gredilla R., Herrero A., Barja G. (2000).** Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals. *Mech. Ageing. Dev.* 112, 169-183.
- Petrick J.S., Ayala-Fierro F., Cullen W.R., Carter D.E., Aposhian H.V. (2000).** Monomethylarsonous acid (MMAIII) is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 163, 203-207.
- Piamphongsant T. (1999).** Chronic environmental arsenic poisoning. *International Journal Of Chromatography.* 38, 401-410.
- Pichard A., Bisson M., Houeix N., Hulot C., Lacroix G., Lefevre J.P., Leveque S., Magaud H., Morin A., Cornu L., Gillet C. (2005).** Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques : Arsenic et ses dérivés. Inéris, 2^{ème} version.
- Pomroy C., Charbonneau S.M., McCullough S., Tam G.K.H. (1980).** Human retention studies with ⁷⁴As. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 53: 550.
- Pryor W.A. (1986).** Oxy-radicals and related species : their formation, lifetimes, and reactions. *Annu. Rev. Physiol.* 48, 657-67.

RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ramos O., Carrizales L., Yanez L. (1995). Arsenic increased lipid peroxidation in rat tissues by a mechanism independent of glutathione levels. *Environ. Health Perspect.* 103, 85-88.

Reichel F.X. (2004). Guide pratique de toxicologie. 2^{ème} Edition. 140-143.

Robin J.M., Rouchy A. (2001). La chimioprevention naturelle du cancer. *Nutranews.*7-15.

Rock E. (2003). Stress oxydant, micronutriments et santé. INRA-CRNH, Unité des Maladie Métaboliques et Micronutriments. 37-42.

Rodriguez V.M., Jiménez-Capdeville M.E., Giordano M. (2003). The effects of arsenic exposure on the nervous system. *Toxicology Letters.* 145, 1-18.

Rosmorduc O., Poupou R. (2004). Transporteurs biliaires : de la génétique à la clinique. *Gastroenterol Clin Biol.* 28, 112-120.

Rossman T.G. (2003). Review: Mechanism of arsenic carcinogenesis: an integrated approach. *Mutation Research.* 533, 37-65.

Rossman T.G., Uddin A.N., Burns F.J. (2004). Evidence that arsenite acts as a cocarcinogen in skin cancer. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 198, 394-404.

Sarni-Manchado P., Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 398.

Satoh K., Sakamoto Y., Ogata A., Nagai F., Mikuriya H., Numazawa M., Yamada K., Aoki N. (2002). Inhibition of aromatase activity by green tea extract catechins and their endocrinological effects of oral administration in rats. *Food and Chemical Toxicology.* 40, 925-933.

Schiferl D., Barrett C. S. (1969). The crystal structure of arsenic at 4,2, 78 and 299 degrees. *J. Appl. Cryst.* 2, 30-36.

Schoen A., Beck B., Sharma R., Dubé E. (2004). Arsenic toxicity at low doses: epidemiological and mode of action considerations. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 198, 253-267.

RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Selvendran R. R., Perera B. P. M. (1971). Chemical composition of tea leaf cell-wall. *Chem. Ind.* (21): 577-578.

Sharmila Banu G., Kumar G., Murugesan A.G. (2009). Effects of leaves extract of *Ocimum sanctum* L. on arsenic-induced toxicity in Wistar albino rats. *Food and Chemical Toxicology.* 47, 490-495.

Sies H., Stahl W. (1995). Vitamins E and C, beta-carotene and other carotenoids as antioxidants. *Am. J. Clin. Nutr.* 62, 1315-1321.

Simeonova D.D. (2004). Arsenic oxidation of *Cenibacterium arsenoxidans*: Potential application in bioremediation of arsenic contaminated water. Thèse de doctorat d'Université – Université Louis Pasteur de Strasbourg et Université de Sofia. France.

Skrzydłowska E.B., Augustyniak A., Michalak K., Farbiszewski R. (2005). Green tea supplementation in rats of different ages mitigates ethanol-induced changes in brain antioxidant abilities. *Alcohol.* 37, 89-98.

Smedley P.L., Kinniburgh D.G. (2002). A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry.* 17, 517-569.

Smith E., Naidu R., Alston A.M. (1998). Arsenic in the soil environment : a review. *Adv Agron.* 64, 149-195.

Smith E.J., Davison W., Hamilton-Taylor J. (2002). Methods for preparing synthetic fresh waters, *Water Res.* 36, 1286-1296.

Snow E.T., Sykora P., Durham T.R., Klein C.B. (2005). Arsenic, mode of action at biological plausible doses : What are the implications for low dose cancer risk? *Toxicology and Applied Pharmacology.* 207, 557-564.

Sohal R.S., Mockett R.J., Orr WC. (2002). Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Rad. Biol. Med.* 33 (5): 575-586.

RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Souidi M., Dubrac S., Parquet M., Volle D.H., Lobaccaro J.M.A., Mathé D., Combes O., Scanff P., Lutton C., Aigueperse J. (2004). Les oxystérols : métabolisme, rôles biologiques et pathologies associées. *Gastroenterol Clin Biol.* 28, 279-293.

Soussi A., Croute F., Soleilhavoup J.P., Guerhazi F., Jammoussi K., Makni Ayadi F., El Feki A. (2003). Impact du thé vert *Camellia sinensis* sur les effets du vanadium sur la croissance et l'appareil génital du rat wistar male. 13 (4) : 393-402.

Soussi A., Croute F., Soleilhavoup J.P., Kammoun A., El Feki A. (2006). Impact du thé vert sur l'effet oxydatif du métavanadate d'ammonium chez le rat male pubère. *C. R. Biologies.* 329, 775-784.

Styblo M., Thomas D. (1997). Binding of arsenicals to proteins in an in vitro methylation system. *Toxicology Applied Pharmacology.* 147, 1-8.

Trevisanato S. I., Kim Y. I. (2000). Tea and health. *Nutr. Rev.* 58 (1): 1-10.

Trinder P. (1996). *Ann. Clin. biochem.* 6, 24-33.

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions.* 160, 1-40.

Vamecq J., Vallée L., Storme L., Gelé P., Bordet R. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. Key players in oxidative stress. *La lettre du pharmacologue.* 18, (1) : 16-23.

Vancant. (2004). Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.

Walton F.S., Harmon A.W., Paul D.S., Drobna Z., Patel Y.M., Styblo M. (2004). Inhibition of insulin-dependent glucose uptake by trivalent arsenicals: possible mechanism of arsenic-induced diabetes. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 198, 424- 433.

Wang T.S., Kuo C.F., Jan K.Y., Huang H. (1996). Arsenite induces apoptosis in Chinese hamster ovary cells by generation of reactive oxygen species. *J. Cell. Physiol.* 169, 256-268.

Wang S., Mulligan C.N. (2006). Occurrence of arsenic contamination in Canada: sources, behaviour and distribution. *Science of the Total Environment.* 366, 701-721.

RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Wickström G. (1972). Arsenic in the ecosystem of man. *Work Environ. Health.* 9 : 2.

Yamanaka K., Hayashi H., Kato K., Hasegawa A., Tachikawa M., Oku N., Okada S. (1997). Metabolic methylation is a possible genotoxicity-enhancing process of inorganic arsenics. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 394, 95-101.

Yamauchi H., Aminaka Y., Yoshida K., Sun G., Pi J., Waalkes M.P. (2004). Evaluation of DNA damage in patients with arsenic poisoning: urinary 8-hydroxydeoxyguanine. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 198, 291-296.

Yousef M.I., El-Demerdash F.M., Radwan F.M.E. (2008). Sodium arsenite induced biochemical perturbations in rats: Ameliorating effect of curcumin. *Food and Chemical Toxicology.* 46, 3506-3511.

Zhang L., Jope R. S. (1999). Oxidative stress differentially modulates phosphorylation of ERK, p38 and CREB induced by NGF or EGF in PC12 cells. *Neurobiol. Aging.* 20, 271-278.

Zhu Q. Y., Zhang A., Tsang D., Huang Y., Chen Z. Y. (1997). Stability of Green Tea Catechins. *J. Agric. Food Chem.* 45 (12): 4624-4628.

Zuo Y., Chen H., Deng Y. (2002). Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta,* 57 (2): 307-316.