

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

BADJI MOKHTAR-ANNABA UNIVERSITY
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR-ANNABA



جامعة باجي مختار – عنابة

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de
DOCTEUR ES SCIENCE
En Biologie et Physiologie Animale

Présentée par

Lakbar Chanez

***EFFET DU METHYLE PARATHION SUR LES REPNSES
HORMONALES, ADAPTATIVES ET METABOLIQUES CHEZ LE RAT
MALE WISTAR***

Soutenue publiquement

Devant le Jury

Président	Soltani N.	Professeur	Université Badji-Mokhtar -Annaba
Examineurs	Guetarni D.	Professeur	Université Blida
	Siaud P.	C.R	CNRS – France-
	Ouakid M.	MC	Université Badji-Mokhtar -Annaba
	Ouali K.	MC	Université Badji-Mokhtar –Annaba
Directeur de thèse	Bairi A M.	MC	Université Badji-Mokhtar -Annaba

2009/2010

RESUME

Les composés organophosphorés (COP) constituent une importante classe de substances chimiques organiques, ils ont en commun une certaine liposolubilité et leur mode d'action sur le système nerveux en tant qu'inhibiteurs irréversibles de l'acétylcholinestérase, ce qui les rend très toxiques. Malgré les interdictions ou les restrictions d'usages et la faible rémanence de ces COP, ils sont détectés dans les sols, les eaux de surface et au sein des organismes vivants dans tous les pays du monde. Parmi les organophosphorés, nous nous sommes intéressés au méthyle parathion « insecticide organophosphorés » qui est très étudié pour ses propriétés neurotoxiques chez les mammifères et les poissons.

Ce travail consiste à mettre en évidence d'une part, l'effet inhibiteur des organophosphorés (méthyle parathion) sur l'activité de l'acétylcholinestérase, ces répercussions sur les modifications de l'axe corticotrope et la possibilité d'interférer avec l'induction des perturbations psychologiques. D'autre part élucider l'implication du méthyle parathion comme déclencheur d'un stress oxydant.

Le MPT semble emprunter les mêmes voies que lors d'un stress systémique où l'hypothalamus reçoit des stimulations directes du système limbique et des innervations noradrénergiques et répond à ces stimulations par la sécrétion dans le sang de nombreuses hormones (ACTH, PRL, TSH, catécholamine) en perturbant le métabolisme général.

Les résultats obtenus montrent que l'insecticide organophosphoré appliqué par gavage induit une diminution de la corticostérone et de l'activité acétylcholinestérasique, des modifications des teneurs du glutathion hépatiques GSH et de l'activité enzymatique GST. Une perturbation du métabolisme glucidique et lipidique, un changement des teneurs des hormones : insuline, TSH et T4, une réduction du taux de croissance, une augmentation du poids des glandes surrénales, sont aussi constaté. De la même manière le stress de contention incite le système de détoxification et les paramètres métaboliques.

Le traitement des rats gavés (MPT) par la taurine et la vitamine E rétablit les valeurs basales. La yohimbine (α bloquant adrénergique) appliqué en combinaison avec le MPT ou le stress de contention restitue les valeurs basales des biomarqueurs du stress oxydant. En revanche, elle perturbe les paramètres métaboliques.

SUMMARY

The organophosphorus compounds (COP) constitute an important organic chemical substance class; they in common have a certain liposolubility and their mode of action on the nervous system as irreversible inhibitors of the acetylcholinesterase, which makes them very toxic. In spite of prohibitions or the restrictions of uses and weak remanence of this COP, they are detected in the grounds, water surface and the living organisms in all the countries of the world. Among organophosphorus, we were interested in insecticidal methyl parathion the "organophosphorus" which is very studied for its neurotoxic properties in the mammals and fish.

This work consists in highlighting on the one hand, the inhibiting effect of organophosphorus (methyl parathion) on the activity of the acetyl cholinesterase, these repercussions on the modifications of the axis corticotrope and the possibility of interfering with the induction of the psychological disturbances. In addition to elucidate the implication of methyl parathion likes release of an oxidizing stress

The MPT seems to borrow the same ways as at the time of a systemic stress where the hypothalamus receives direct stimulations of the limbic system and noradrenergic innervations and answers these stimulations by secretion in the blood of many hormones (ACTH, PRL, TSH and catecholamine) by disturbing the general metabolism.

The results obtained show that the organophosphorus insecticide applied by cramming induces a reduction in the corticosterone and acetylcholinesterasic activity, modifications of the contents of glutathione hepatic GSH and enzymatic activity GST. A disturbance of the glucidic and lipidic metabolism, a change of the contents of the hormones: insulin, TSH and T4, a reduction of growth rate, an increase in the weight of the glands suprarenal, are also noted. Same manner the stress of application encourages the system of detoxification and the parameters metabolic.

Treatment of the rats (MPT) by the taurine and the vitamin E restored basal values. The yohimbine (α blocking adrenergic) applied in combination with the MPT or the stress of application restores the basal values of the biomarqueurs of the oxidizing stress. On the other hand, it disturbs the metabolic parameters.

موجز

المركبات الفوسفورية العضوية (COP) هي فئة هامة من المواد الكيميائية العضوية ، وأنها تتشاطر بعض الذوبان في الدهون وطريقة عملها على الجهاز العصبي باعتبارها مثبطات الكولين لا رجعة فيه ، مما يجعلها شديدة السمية. وعلى الرغم من الحظر أو القيود المفروضة على استخدامات واستمرار تدني هذه مؤتمرات الأطراف ، واكتشفت في التربة والمياه السطحية والمياه في جميع الكائنات الحية في العالم. ومن بين المركبات العضوية الفوسفاتية ، ونحن مهتمون في باراثيون الميثيل "الحشرات الفوسفات العضوي" التي تدرس على نطاق واسع لخواصه السمية العصبية في الثدييات والأسماك.

هذا العمل هو تسليط الضوء على ناحية واحدة ، وأثر مثبط من المركبات العضوية الفوسفاتية (باراثيون الميثيل) عن نشاط الكولين ، وأثر على التغيرات في محور هيمان وإمكانية التدخل في التعريفي من الاضطرابات النفسية. من جهة أخرى توضيح مشاركة باراثيون الميثيل ومشغل الإجهاد الناتج عن الأكسدة. ويبدو أن MPT التالية من نفس الطريق كما هو الحال في الضغط المنهجية التي الهايبوتلاموس يتلقى مباشرة لتحفيز الجهاز الحوفي والغدد العرقية noradrenergic واستجابة لهذه المحفزات من إفراز في العديد من الهرمونات في الدم (ACTH ، PRL ، [تش] ، الكاتيكولامينات) عن طريق تعطيل عملية التمثيل الغذائي.

وأظهرت النتائج أن المبيدات الحشرية الفوسفات العضوي تطبيق بالتزقيم يسببها بإنخفاض قدره كورتيزون والنشاط الكولين ، والتغيرات في مستويات الجلوتاثيون والجلوتاثيون كبدى نشاط انزيم ضربية السلع والخدمات. زيادة اضطراب في الدهون والكربوهيدرات الابيض ، تغييرا في مستويات الهورمونات : الانسولين ، تش] و 4T ، مما يمثل انخفاضا في معدل النمو والوزن من الغدد الكظرية ، وتوجد أيضا. وبالمثل من وطأة نظام ضبط النفس يشجع إزالة السموم والمعلومات التمثيل الغذائي

استعادة معاملة الفئران التي تتغذى على القوة (MPT) وفيتامين (هـ) تورايين القيم الأساسية. يوهمين (α) - الأدرينالية عرقلة الوكيل) المطبقة في تركيبة مع MPT أو ضبط النفس يعيد التأكيد على المستويات القاعدية من المؤشرات الحيوية من الأكسدة. ومع ذلك ، فإنه يعطل المعلومات التمثيل الغذائي.

*A mes parents et mes frères,
pour l'amour qu'ils m'apportent
et leur soutien*

*A Tous mes amis toujours disponibles
avec une mention particulière
à Radia et Mourad*

Remerciements

Les recherches qui font l'objet de cette thèse ont été réalisées au sein de deux laboratoires : Le laboratoire de biologie animale appliquée sous la direction du défunt Professeur ***Guellati Mohamed***. Je lui suis reconnaissante de m'avoir accueilli au sein de son unité de recherche. Il a toujours fait preuve d'une profonde humanité envers tout le monde, plein de qualités humaines et scientifiques, rigoureux dans son travail scientifique et pédagogique. Que ce travail soit un hommage à ses qualités. Que son âme repose en paix.

Le laboratoire de physiopathologie et action thérapeutique des gaz sous pression, Faculté de Médecine Nord. Université Marseille dirigé par le Professeur ***Rostin***. Mes sincères remerciements pour son accueil, et ses encouragements.

J'exprime mes remerciements au Docteur ***Bairi Abdelmadjid*** qui a accepté de diriger et de finaliser cette thèse, ainsi que pour ces conseils et sa disponibilité.

Je voudrais témoigner également ma gratitude au Docteur ***Maurel Daniel*** pour avoir co-dirigé une partie de cette thèse. Je le remercie particulièrement pour sa rigueur scientifique, son exigence, en me faisant partager son expérience et ses connaissances scientifiques.

J'exprime ensuite mon estime et mes remerciements aux membres de mon jury :

Le Professeur ***Soltani Noureddine*** de me faire l'honneur de présider le jury de ma thèse. Je le remercie également pour ses conseils et son soutien.

Docteur ***Siaud Philippe*** pour sa collaboration efficace à ce travail, sa disponibilité, son expérience dont il n'a pas manqué de me faire profiter et sa participation à mon jury de thèse.

Le Professeur ***Guetarni Djamel*** et le Docteur ***Ouakid Mohamed***, d'avoir pris de leur temps pour examiner ce travail.

Le Docteur ***Ouali kheireddine*** pour avoir suivi de très près ce travail depuis les expérimentations jusqu'aux corrections.

Je souhaite également remercier très chaleureusement :

Le Professeur ***Bensouileh Mourad*** pour tous les efforts fournis à fin de finaliser ce travail. Je lui exprime ma plus profonde gratitude pour le temps qu'il m'a consacré.

Le Professeur ***Tahraoui Abdelkrim***, Madame ***Retem Chahira*** et tous mes ***collègues*** du ***Centre Universitaire d'El Tarf*** et de ***l'Université d'Annaba***.

Liste des tableaux

Numéro	Titre des tableaux	Pages
1	Axe corticotrope et stress	05
2	Réactifs utilisés dans le dosage de l'insuline par le test ECLIA et leurs concentrations.	64
3	Les réactifs utilisés dans le dosage de la corticostérone par Radio-Immuno-Assay (RIA)	67
4	Protocole utilisé pour le dosage de protéines totales	71
5	Protocole utilisé pour le dosage de l'activité GST	73
6	Variation des teneurs de la Corticostérone plasmatique (ng/ml) chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (MPT1 : une session de gavage, MPT2 : deux sessions de gavage) (n=8)	79
7	Variation des teneurs en acétylcholinestérase ($\mu\text{mol}/\text{mn mg de prt}$) chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (n=8).	81
8	Variation des poids corporel (g) chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (n=8).	82
9	Variation des poids des glandes surrénales (mg) chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (MPT1 : une session de gavage, MPT2 : deux sessions de gavage). (n=8).	83
10	Variation des teneurs en acétylcholinestérase en TSH et en T4 chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (n=8).	84
11	Variation des teneurs en GSH et de l'activité GST chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (n=8).	86
12	Variation des taux du glucose et d'insuline chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (n=8).	88
13	Variation des teneurs en triglycérides et cholestérol sanguins chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (n=8).	89
14	Variation de la teneur en GSH et de l'activité GST chez les rats mâles témoins et stressés (n=8).	90

15	Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les rats mâles témoins et stressés (n=8).	92
16	Variation de la teneur en GSH et l'activité de GST chez les rats mâles témoins, traités au MPT, MPT + Taurine et MPT + vitamine E (n=8).	93
17	Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les rats mâles témoins, traités au MPT, MPT + Taurine et MPT+vit E (n=8).	95
18	Variation de la teneur en GSH et de l'activité de GST chez les rats mâles témoins, traité au MPT et au MPT+ Yohimbine (n=8).	98
19	Variation de la teneur en GSH et de l'activité GST chez les rats mâles témoins, stressés et traités à la Yohimbine (n=8).	99
20	Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les rats mâles témoins, traités au MPT et au MPT+ Yohimbine (n=8).	102
21	Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les rats mâles témoins, stressés et traités à la Yohimbine (n=8).	103

Liste des figures

Numéro	Titre des figures	Pages
1	Réactions du cerveau suite au stress (Nassé, 2006)	02
2	Les différentes fonctions du cerveau lors d'un stress psychosocial (Nassé, 2006)	04
3	Hypothèse de stress de dépression	10
4	Représentation du système limbique : cortex limbique et structures sous-corticales (amygdale, bulbe olfactif, hippocampe, septum, corps mamillaire...)	17
5	Représentation du système hypothalamo-hypophysaire (Copyright, 1999)	18
6	Circuit hormonal en réponse au stress (Nassé, 2006)	22
7		
8	Axe de la noradrénaline en présence de stress (Nassé, 2006)	24
8	Effets des stressseurs sur les axes accessoires du stress dans le corps et le cerveau (Nassé, 2006)	26
9		
10	Productions des radicaux libres oxygénés (ROS) et azotés (RNS) et autres espèces réactives dans les cellules des mammifères	33
11	Production de ROS dans la cellule	34
12	La peroxydation lipidique non enzymatique	36
13	Structure du glutathion	42
14	Cycle du glutathion. / Métabolisme du glutathion. Élimination des radicaux libres oxygénés et azotés et autres espèces réactives dans les cellules de mammifères	44
15	Structure du méthyle parathion	49
16	Voie de synthèse de la taurine (C) A : La cystéine et B : Acide cystique (Hansen, 2001).	49
17	Structure chimique de la vitamine E	51

18	Structure chimique de la yohimbine	52
19	Protocole expérimentale du stress de contention chez les rats témoins et gavés au MPT	55
	1 ^{ère} partie, 1 ^{er} Protocole : Traitement au méthyle parathion suivie d'un stress de contention.	56
20	2 ^{ème} partie, 1 ^{er} protocole : Traitement au méthyle parathion	58
21	2 ^{ème} partie, 2 ^{ème} protocole: Traitement à la taurine et à la vitamine E	60
	2 ^{ème} partie, 3 ^{ème} protocole : Traitement à la yohimbine	62
22	Dosage Immuno-Enzymatique Par Electro-chimio luminescence ECLIA.	62
23	Variation des teneurs de la corticostérone plasmatique (ng/ml) chez les animaux témoins (T) et gavés au MPT (MPT1 : une session de gavage, MPT2 : deux sessions de gavage) (n=8)	65
24	Variation des teneurs en acétylcholinestérase ($\mu\text{mol}/\text{mn}$ mg de prt) chez les animaux témoins (T) et gavés au MPT.	80
25	Variation des teneurs en acétylcholinestérase en UI/L (A) et en TSH en ng/ml(B) et en T4 en pmol/l (C) chez les animaux témoins (T) et gavés au MPT.	81
26	Variation de la teneur en GSH en nmol/mg de protéine (A), et l'activité GST en nmol /min/mg de protéine (B) chez les rats mâles témoins (T) et gavés au MPT.	85
27	Variation des taux du glucose en mg/dl (A) et de l'insuline en $\mu\text{U}/\text{ml}$ plasmatiques (B) chez des animaux témoins (T) et gavés au MPT.	87
28	Variation des teneurs en triglycérides et cholestérol sanguins en mg/dl chez des animaux témoins (T) et gavés au MPT.	89
29	Variation de la teneur en GSH en nmol/mg de protéine et de l'activité de GST en nmol/min/mg de protéine chez les animaux témoins et stressés	90
30	Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les animaux témoins(T) et stressés (Sc)	91
31	Variation de la teneur en GSH en nmol/mg de protéine(A) et l'activité de GST en nmol/min/mg de protéine (B) chez les animaux témoins, traités au MPT, MPT + Taurine et MPT+ vitE.	92

33	Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins en mg/dl chez les animaux témoins, traités au MPT, au MPT + Ta et MPT +VitE.	96
34	Variation de la teneur en GSH en nmol/mg de protéine (A) et de l'activité de GST en nmol/min/mg de protéine (B) chez les animaux témoins, traités au MPT et MPT+ Yohimbine.	99
35	Variation de la teneur en GSH en nmol/mg de protéine et de l'activité de GST en nmol/min/mg de protéine chez les animaux témoins, stressés et traités au Stress +Yohimbine.	100
36	Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les animaux témoins, traités au MPT et MPT+ Yohimbine.	102
37	Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les animaux témoins, stressés et traités à la Yohimbine.	103

LISTE DES ABBREVIATIONS

AC: Anticorps	MPT: Méthyle parathion
ACh : Acétylcholine	MSH: Alpha-Melanocyte Stimulating -Hormone
AChE: Acétylcholinestérase	n: nombre
ACTH: Adreno-corticotropine-hormone	NADP: nicotinamide adénine dinucléotide phospho.
ADR: adrénaline	NADPH : nicotinamide adénine
AMPc: Adenosine monophosphate cyclic	dinucléotidephospha
ATP: Adenosine triphosphate	NADR : noradrénaline
AVP : Arginine vasopressine	NO: monoxide d'azote
Ca ²⁺ : ion calcium	NO ₂ : Radical nitrite
CAT : Catalase	NPV : noyaux paraventriculaire
COP : Composés organophosphorés	ns: non significatif
CRF: Corticotrophin Releasing Factor	O ₂ ⁻ : anion superoxyde
CRH: Corticotropine-releasing-hormone	O ₃ : Ozone
Cu ²⁺ : ion cuivre	OH: Radical hydroxyl
DO: Densité optique	ONOO: Peroxynitrite
e ⁻ : électron	POMC: Pro-opiomélanocortine
ECLIA: Electro-chimiluminescence	PTSD: Post-Traumatique Stress Disorder
EDTA: Acide Ethylène Diamino Tétracétique	r: coefficient de corrélation
Fe ²⁺ : ion ferreux	RO: Alkoxyde
FSH: folliculo-stimulant-hormone	ROO: Peroxyde
GABA: acid gamma aminobutyrique	ROS: reactive oxygen species
GH: Growth Hormone	Ru (bpy): Ruthenium
GPx: Glutathion peroxydase	SGA : syndrome général d'adaptation
GR: récepteurs aux glucocorticoïdes	SI : Système Immunitaire
GSH: Glutathion réduit	SL : système limbique
GST: Glutathion S-transférase	SNA : système nerveux autonome
H ₂ O ₂ : Peroxyde d'hydrogène	SNC : Système Nerveux Central
HHS: hypothalamo-hypophysio-surrénalien	SNE : Système Neuro Endocrinien
HOO: Hydroperoxyde	SOD: Superoxyde dismutase
LC: Locus coeruleus	SSPT: Syndrome post traumatique
LDL: Low density lipoprotein	T3 : Triiodothyronine
LH: Lutenising hormone	T4: Thyroxine
LOO ^o : Radicaux peroxyde	TRH: Thyreo-releasing-hormone
LPO : Peroxydation lipidique	TSH: Thyreotrophin Stimulating Hormone
LPS: lipopolisaccharide	vs: versus
MDA : Dialdéhyde malonique	

TABLE DE MATIERES

I- INTRODUCTION	01
II- RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	11
1. Le STRESS.....	11
1.1. Définition.....	11
1.2. Facteurs de stress.....	11
1.3. Stress aigu et stress chronique.....	11
1.4. Stress biologique et psychique.....	12
1.5. Etat de stress.....	13
2. SYNDROMES D'ADAPTATION.....	13
2.1. Syndrome général d'adaptation (SGA).....	13
3. REPONSE NEUROENDOCRINE.....	16
3.1. Axe hypothalamo-hypophysaire.....	16
3.1.1. Le système limbique.....	16
3.1.2. L'hypothalamus.....	16
3.1.3. L'hypophyse antérieure.....	18
3.2. Fonctions cibles.....	19
3.2.1. Fonction corticotrope.....	19
3.2.2. Fonction somatotrope et prolactine.....	21
3.2.3. Fonction gonadotrope.....	21
3.3. Système sympathique.....	22
3.4. Fonction thyroïdienne.....	24
3.5. Conséquences cliniques.....	25
4. MALADIES DE STRESS.....	26
4.1. Stress et pathologies psychiatriques.....	27
4.1.1. Stress et Anxiété.....	27
4.1.2. Stress et dépression.....	27
4.1.3. L'état de stress post-traumatique.....	28
5. STRESS ET XENOBIOTIQUES.....	29
5.1. Métabolisme des xénobiotiques.....	30
5.2. Isoformes du cytochrome P450 (CYP).....	31
5.3. Pharmacogénétique et toxicologie de l'environnement.....	31
6. LE STRESS OXYDANT.....	32
6.1. Les dérivés actifs de l'oxygène.....	32
6.1.1. Définition.....	32
6.1.2. Formation des dérivés actifs de l'oxygène.....	34
6.2. Les cibles des dérivés actifs de l'oxygène.....	35
6.2.1. Les cibles lipidiques.....	35

6.2.2. Les cibles non lipidiques.....	37
6.3. Les systèmes de protection.....	38
6.3.1. Les antioxydants enzymatiques.....	38
6.3.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	40
6.4. Le glutathion.....	42
6.4.1. Généralités.....	42
6.4.2. Métabolisme du GSH.....	43
6.4.3. Les fonctions du GSH.....	45
III- MATERIEL ET METHODES.....	48
1. ELEVAGE.....	48
2. L'APPROCHE EXPERIMENTALE.....	48
2.1. Traitements.....	48
2.1.1. Traitement au méthyle parathion.....	48
2.1.2. Traitement à la taurine.....	49
2.1.3. Traitement à la vitamine E.....	50
2.1.4. Traitement à la yohimbine :.....	51
2.1.5. Le stress de contention.....	52
2.1.6. Canulation carotidienne.....	53
2.1.7. Prélèvements sanguins :.....	53
2.1.8. Prélèvements des organes.....	53
2.1.9. Analyse statistique des résultats :.....	
PROTOCOLES DE TRAVAIL	
1^{ère} PARTIE	
1 ^{ère} Protocole : Traitement au méthyle parathion suivie d'un stress de contention...	54
2^{ème} PARTIE	
1 ^{ère} Protocole : Traitement au le méthyle parathion.....	
2 ^{ème} Protocole : Traitement à la taurine et la vitamine E.....	57
3 ^{ème} Protocole : Traitement à la yohimbine.....	59
	61
3. LES DOSAGES DES PARAMETRES HORMONAUX, ENZYMATIQUES ET BIOCHIMIQUES	
3.1. Dosage des hormones par Electro-chimio-luminescence (ECLIA).....	
3.1.1. Dosage de la TSH, T4.....	63
3.1.2. Dosage de l'insuline.....	63
	64
3.2. Dosage de la corticostérone par Radio-Immuno-Assay (RIA).....	66
	66
3.3. Les dosages enzymatiques et biochimiques.....	67

3.3.1 Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) au niveau hépatique.....	67
3.3.2 Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) au niveau cérébrale.....	69
3.4. Préparation de l'homogénat.....	70
3.5. Dosage des protéines totales	70
3.6. Dosage du glutathion hépatique.....	71
3.7. Dosage de l'activité des GSTs	72
3.8. Dosages enzymo-colorimétriques.....	74
3.8.1. Le glucose plasmatique	75
3.8.2. Les triglycérides plasmatiques.....	76
3.8.3. Le cholestérol plasmatique	

VI- RESULTATS

1^{ER} PARTIE

1- Effet du méthyle parathion sur les teneurs de la corticostérone plasmatique.....	78
2- Effet du méthyle parathion sur les teneurs de l'acétylcholinestérase au niveau du cerveau.....	81
3- Effets du méthyle parathion sur le poids corporel et les glandes surrénales.....	82

2^{ème} PARTIE

I/1- Effet du méthyle parathion sur les teneurs de l'acétylcholinestérase au niveau du foie	83
2-Effet du méthyle parathion sur les teneurs en TSH et en T4.....	83
3- Effet du méthyle parathion sur les bio marqueurs du stress oxydatif.....	86
4- Effet du méthyle parathion sur le métabolisme glucidique et lipidique	87
5- Effet du stress de contention sur le système de détoxification	90
6- Effet du stress de contention sur le métabolisme glucidique et lipidique.....	92
II/ 1- Effet de supplément en taurine et en vitamine E sur le système de détoxification chez les animaux traités au MPT.....	93
2- Effet de supplément en taurine et en vitamine E sur le métabolisme glucidique et lipidique chez les animaux traités au MPT.....	95
III/ 1- Effet d'un bloquant α 2-adrénergique « la yohimbine » durant un stress oxydatif (MPT et stress de contention) sur le système de détoxification	97
2- Effet d'un bloquant α 2-adrénergique « la yohimbine » durant un stress oxydatif (MPT et stress de contention) sur le métabolisme glucidique et lipidique	101

V-DISCUSSION

1. Effet du méthyle parathion sur les variations de l'acétylcholinestérase et la

corticostérone.....	104
1.1. Effet du méthyle parathion sur les concentrations de l'acétylcholinestérase.....	104
1.2. Effet du méthyle parathion sur les variations de la corticostérone.....	106
2. Méthyle parathion et génération d'un stress oxydant.....	
2.1. Effet du méthyle parathion sur les biomarqueurs du stress oxydant	109
2.2. Réponse de l'axe thyroïdienne au méthyle parathion	111
2.3. Effet du méthyle parathion sur le métabolisme glucidique et lipidique	113
3. Effet de la taurine et de la vitamine E sur le stress oxydant provoqué par le méthyle parathion.....	116
4. Effet d'un $\alpha 2$ bloquant adrénergique « la yohimbine » lors d'un état de stress.....	118
VI- CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	121
VII- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	123

Introduction

I- INTRODUCTION

La charte de l'environnement indique dans sa première proposition que "*chacun a le droit de vivre dans un environnement équilibré et respectueux de la santé*". Cette phrase est parfaitement éloquente. Nous comprenons, d'une part, qu'il existe des dangers pour l'environnement et d'autre part, que l'environnement peut nuire à la santé. Pour garder son bien-être, l'organisme vivant doit conserver constamment un état d'équilibre interne, malgré un environnement variable. De nombreuses études se sont intéressées aux différentes perturbations qui peuvent menacer l'organisme et il a été démontré que les réponses aux agressions sont très variables d'un individu à un autre et dépendent du type, de l'intensité et de la nature de l'agent stressant (De Boer *et al.*, 1990).

Le concept de stress a évolué et changé de signification au cours des années, de causes déclenchantes de Cannon, il devient effet consécutif avec Selye (Selye H, 1946). Ensuite on a assisté à un élargissement progressif du concept et du champ d'application.

Les travaux de recherche se sont multipliés et ont suivi schématiquement deux axes de recherche. Le premier s'est focalisé sur les aspects neurobiologiques du stress et le second sur les dimensions psychologiques selon trois approches : psychosociale, cognitive, et psychobiologique (Boudarene *et al.*, 1997). Les études neurobiologiques ont permis de préciser la nature et le rôle des systèmes hormonaux et neuronaux qui sont impliqués dans la mise en œuvre et la régulation du stress. Tandis que les travaux psychologiques se sont intéressés aux aspects relationnels entre la réaction et l'agression. Ainsi, le concept du stress s'est élargi aux agressions psychologiques et sociales. Certains auteurs remarquent l'influence de l'environnement social comme étant le facteur déterminant les caractéristiques des réactions de stress. La réaction du stress n'est donc plus considérée comme une simple réponse limitée dans le temps mais devient une réponse adaptative, dynamique et qui est à la fois biologique et comportementale par la mise en jeu de l'axe hypothalamo–hypophyso-corticosurrénalien appelé axe corticotrope (Mildred *et al.*, 1994 ; Kasdallah *et al.*, 2005).

Le Stress n'est pas le fruit du hasard. L'absence ou la diminution du stress et de la fatigue est l'une des clefs essentielles de l'épanouissement. Le stress : le meilleur et le pire. Maladie, trouble symptôme de la société, il peut être considéré comme l'interaction entre agression et réaction de l'organisme face à cette agression. Le stress est devenu psycho-émotionnel. Si les agressions peuvent être multiples et diverses, corps et cerveau réagissent biologiquement toujours de la même façon. Pour la médecine classique, le stress est en effet constitué de réactions neurophysiologiques et psychiques déclenchées par des événements ressentis

comme menaçants. Pour nous, le stress est une réponse naturelle à un stimulus extérieur ou intérieur qui agresse notre cerveau et notre corps (Nassé, 2000, 2003).

Pour comprendre comment notre cerveau réagit (Fig. 1), il faut savoir que le système endocrinien possède l'originalité propre de ne rien créer dans l'organisme, mais de moduler à l'aide d'hormones, pratiquement toutes les réactions normales de notre organisme. C'est donc un système permettant à l'organisme de s'adapter à toutes les variations qui lui sont imposées aussi bien de l'extérieur que de l'intérieur. Le stress permanent dont la fatigue est une résultante, éloigne plus ou moins bien le spectre de la dépression. La dépression, qu'elles que soient les formes que peut revêtir cette grave maladie, masque et cache avec soin la fatigue physique et psychique (Nassé, 2006).

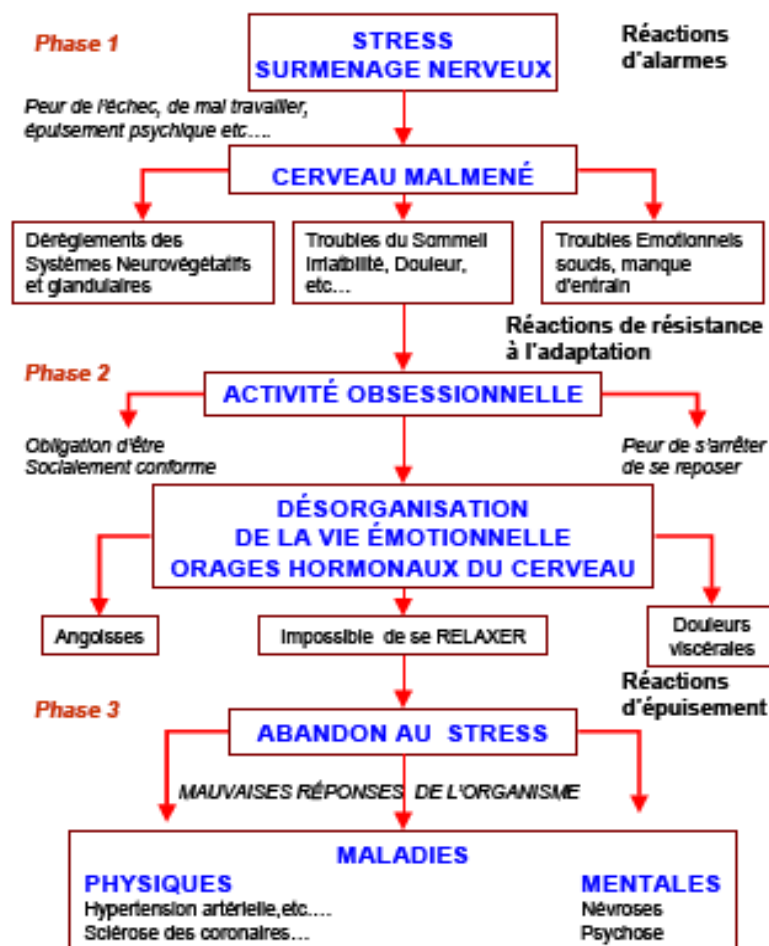


Figure1 : réactions du cerveau suite au stress (Nassé, 2006)

C'est Henri Laborit (1974) - médecin, chirurgien, biologiste, inventeur des neuroleptiques et Professeur de neurophysiologie du système nerveux à l'hôpital Boucicaut Paris 15^{ème} qui a proposé le modèle le plus complet du stress, dont les données sont source de références encore jusqu'à maintenant. Le Pr Laborit distingue deux types de Stress : un premier purement physiologique et un second psychosocial.

1-Le stress purement physiologique qu'il nomme « choc » est un état d'alarme de l'organisme face à une agression physique de l'environnement. C'est une réaction physiologique aspécifique qui est toujours la même quelle que soit l'agression (le stresser) ; c'est cette réaction qui a été décrite remarquablement par SELYE. L'agresseur peut être un agent infectieux, un choc physique (traumatisme crânien lors d'un AVP, ou un bruit insupportable lors d'une explosion...). La réaction physiologique sera toujours la même, c'est pourquoi elle est dite aspécifique. Il y a une perturbation de l'équilibre du milieu intérieur, une perturbation de l'homéostasie liée à l'irruption de l'agent stresser. Alors se met en route rapidement la réaction d'alarme. Cette réaction met en route deux systèmes neuroendocriniens. Le système réagissant en premier dans les toutes premières secondes est le système adrénosympathique. Le système qui réagit en second dans les premières minutes est le système neuroendocrinien, c'est-à-dire le système hypothalamo-hypophyso-surrénalien.

2 - Le stress psychosocial (Fig. 2): Ce mécanisme est, beaucoup plus complexe. Ce n'est plus une simple réaction physiologique, ni un mécanisme instinctif (un comportement stéréotypé) à une agression extérieure, mais un phénomène interactif. Le stress psychosocial fait intervenir la mémoire, l'apprentissage, donc le cerveau affectif et limbique. Dans la Nouvelle Grille mais très ancienne, il expose les différentes fonctions du cerveau qui interviennent lors du stress psychosocial (Nassé, 2006).

Le stress exerce des effets dérivatives sur plusieurs fonctions cellulaires, en endommageant le potentiel de défense d'antioxydant qui induit des dégâts oxydatifs déclencheur de beaucoup de maladies (Torres *et al.*, 2006). Il a été suggérés que les atteintes radicalaires induites par les ROS jouent un rôle critique dans la physiopathologie des maladies neuro- dégénératives, des désordres neuropsychiatriques et la dépression induite par le stress (Jenner, 1991 ; Sapolsky, 2000 ; Bilici *et al.*, 2001). Bien que la dépression clinique, les symptômes dépressifs et le stress physiologique doivent être distingués, ils sont étroitement rapprochés entre eux (Tsuboi *et al.*, 2006) et jouent un rôle important dans le développement des désordres affectifs (Post,

1992). Le stress chronique répété (Fig. 2) a été associé au développement et à la manifestation de la dépression (Checkley, 1996).

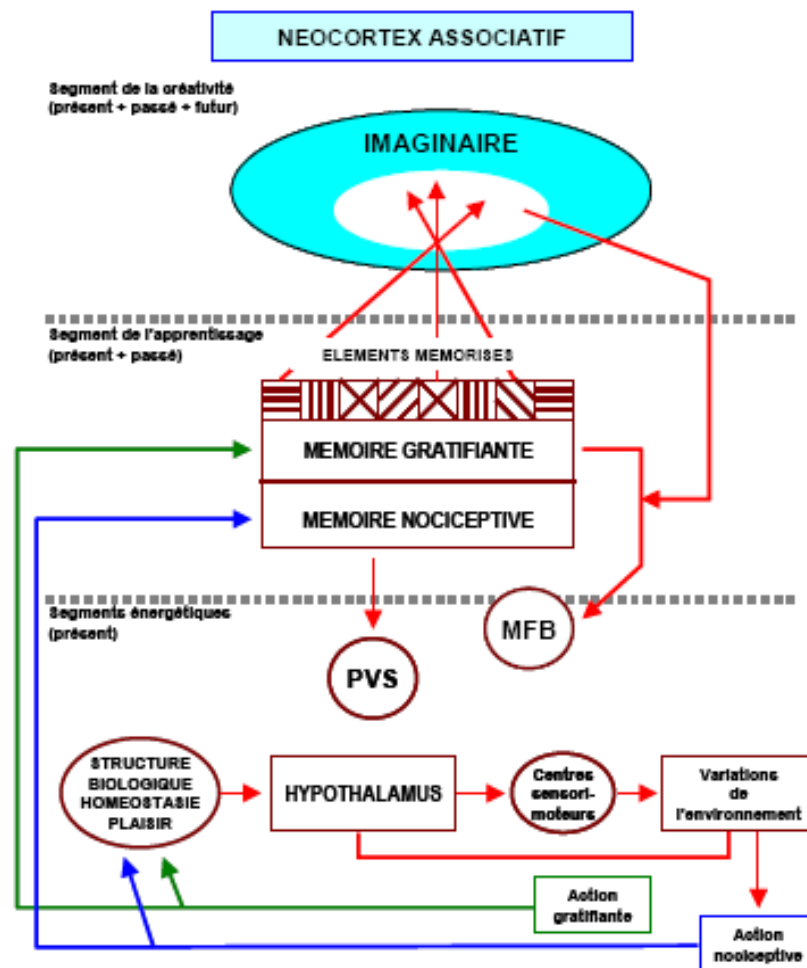


Figure2 : Les différentes fonctions du cerveau lors d'un stress psychosocial (Nassé, 2006)

Les recherches neurobiologiques de la dernière décennie offrent une image plus cohérente, notamment sur deux questions cliniques : le stress, son impact sur l'axe corticotrope et le développement de Syndromes Post-Traumatiques (SSPT). Parmi les troubles anxieux, le syndrome anxieux (de stress) post-traumatique (SSPT) est associé à un tableau physiopathologique dont la neuroendocrinologie et la neuroradiologie fonctionnelle donnent une image plus claire (Czeh *et al.*, 2001 ; Bremner *et al.*, 2003 ; Guilé, 2006). Les réactions de l'axe corticotrope au stress sont résumées dans le Tableau 1 :

Tableau 1: Axe corticotrope et stress

	Réaction normale au stress	Dépression	Syndrome anxieux traumatique
			Post
Facteur corticotrope(CRF)	↑	↑	↑
Cortisol	↑	↑↑	↓
Sensibilité des récepteurs aux glucocorticoïdes	↓	↓	↑
Freinage à la dexaméthasone	↓	↓	↑ ^a

a : Test à la Dexaméthasone : dans le syndrome anxieux post-traumatique, l'inhibition de la sécrétion de Cortisol, secondairement à la prise de Dexaméthasone, un analogue corticoïde, est augmentée. Cela n'est toutefois détectable qu'avec 0,5 mg de Dexaméthasone, soit la demi-dose habituelle du test de dexaméthasone (Yehuda, 2004).

L'état de stress post-traumatique (ESPT) est un trouble fréquent, invalidant et souvent chronique qui est associé à un coût social et personnel important. Diverses approches thérapeutiques ont fait l'objet d'études témoins et randomisées : les approches médicamenteuses, psychothérapeutiques (essentiellement cognitivo-comportementales) et combinant médicaments et psychothérapie. Les données actuelles basées sur les résultats des études témoins randomisées en double insu suggèrent que les traitements médicamenteux de première ligne en monothérapie dans l'ESPT sont les inhibiteurs sélectifs de la recapture de sérotonine. D'autres options potentielles incluent des monothérapies avec les inhibiteurs de la recapture de la noradrénaline et de la sérotonine, les inhibiteurs sélectifs des récepteurs alpha-2 sérotoninergiques, les antidépresseurs tricycliques, les inhibiteurs de la monoamine-oxydase, ainsi que l'ajout d'autres traitements médicamenteux dans les cas des ESPT résistants (Carlier et Pull, 2008).

De nombreux xénobiotiques, tels que les pesticides, peuvent causer un stress oxydatif conduisant à la génération de ROS et l'altération des antioxydants ou les piègeurs des radicaux d'oxygène libres dans les systèmes enzymatiques des organismes. Les ROS, comme les radicaux des ions superoxyde ($O_2 \cdot^-$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le très réactif radical hydroxyle ($OH \cdot$) peuvent réagir avec les macromolécules biologiques sensibles et produisent la peroxydation des lipides (LPO), des dommages de l'ADN et l'oxydation des

protéines, d'où le stress oxydatif (Livingstone, 2001 ; Nordberg et Arnér, 2001 ; Shi *et al.*, 2005).

Les composés organophosphorés (COP) constituent une importante classe de substances chimiques organiques et environ 200 COP sont vendus sur le marché sous forme de milliers de produits différents à multiples usages : rodenticides, nématocides, herbicides, additifs dans l'industrie plastique et pétrolière. Ils restent principalement utilisés comme insecticides sur les plantes, les animaux et les hommes (Maroni *et al.*, 2000 ; Videira *et al.*, 2001 ; Donaldson *et al.*, 2002 ; Aguiar *et al.*, 2004). Utilisés durant la seconde guerre mondiale pour la fabrication de gaz de combat et commercialisés la première fois en 1944, l'essor des organophosphorés en tant qu'insecticides ou acaricides date du début des années 1970, favorisé par l'interdiction d'utilisation des composés organochlorés (Li et Zhang, 2001 ; Padron Sanz *et al.*, 2004). Moins rémanents que ces derniers, les organophosphorés bénéficient d'une très grande efficacité mais posent un problème de toxicité aiguë.

Les différents COP ont en commun une certaine liposolubilité et leur mode d'action sur le système nerveux en tant qu'inhibiteurs irréversibles de l'acétylcholinestérase, ce qui les rend très toxiques. Ils bloquent l'acétylcholinestérase dont le rôle est de dégrader l'acétylcholine (Ach), entraînant une accumulation de ce neuromédiateur au niveau synaptique ce qui conduit à une stimulation excessive des récepteurs muscariniques et nicotiniques au niveau des systèmes nerveux central et autonome et de la jonction neuromusculaire (Toxnet, 1988 ; Donaldson *et al.*, 2002).

Malgré les interdictions ou les restrictions d'usages (Convention de Rotterdam, 1998) et la faible rémanence de ces COP, ils sont détectés dans les sols, les eaux de surface et au sein des organismes vivants dans tous les pays du monde. L'origine de telles pollutions est liée aux activités agricoles (Arapoglou *et al.*, 2003) ou aquacoles (Silva *et al.*, 1993), à la lutte culicidienne en régions méditerranéennes et tropicales (Soumis *et al.*, 2003) et à la protection des lieux de stockage agricole. La faible rémanence des COP dans l'environnement présente des avantages, mais implique que l'insecticide soit épandu fréquemment, ce qui accroît le danger d'exposition pour la faune. Des concentrations importantes de COP ont été aussi mesurées en milieu urbain dans les effluents de stations d'épuration. Ces sources urbaines de COP sont plus difficiles à identifier, résultant souvent d'utilisations domestiques difficilement contrôlables et évaluables (traitements antiparasitaires : humains et animaux de compagnie et phytosanitaires : plantes d'intérieur et jardins) ou de dépôts, légaux ou non, dans des lieux de stockage inadaptés et perméables (Pesticide Action Network Africa, 2006) ce qui contribue à la persistance de ces molécules (eaux, sols et environnement).

Cette persistance planétaire, durable et menaçante est à l'origine de contaminations par voies respiratoire, orale ou cutanée. Toutes les formes vivantes contaminées présentent des altérations du système nerveux dues à la neurotoxicité de ces molécules liée à l'inhibition de l'acétylcholinestérase (Ecobichon, 1996).

Chez les vertébrés, les mammifères contaminés par les COP présentent d'autres symptômes dont la gravité dépend de la dose mais surtout de la durée d'exposition. Des effets cytotoxiques et génotoxiques sont observés chez le rat après une seule exposition aux COP avec une augmentation de la fréquence des aberrations chromosomiques et du nombre de micronuclei dans les cellules de la moelle épinière (Vijayaraghavan et Nagarajan, 1994), des dégâts sur la molécule d'ADN (Bartoli *et al.*, 1991) et des pathologies hépatiques irréversibles. Les COP peuvent induire chez le rat ou la souris une baisse de fertilité (diminution du nombre de spermatozoïdes, augmentation du nombre de spermatozoïdes anormaux) et une réduction du taux d'hémoglobine (Mathew *et al.*, 1992 ; De Silva *et al.*, 2006). Chez l'Homme, l'exposition répétée entraîne un risque plus élevé de leucémie et de sarcome des tissus mous. L'organisme des mammifères est cependant beaucoup plus efficace que celui des oiseaux en ce qui concerne la détoxification des COP. Ainsi, les oiseaux sont 100 fois plus sensibles que les mammifères au Diazinon, un insecticide commun (Environnement Canada, 1999). Les oiseaux qui ne meurent pas directement peuvent subir divers effets physiologiques. Affaiblis, ils sont plus sujets à l'hypothermie et à la prédation et peuvent se révéler incapables d'attirer un partenaire sexuel, de défendre leur territoire ou d'élever leurs couvées. Les poissons sont particulièrement exposés aux COP. Une étude comparative montre que la présence d'organophosphorés dans l'eau entraîne une diminution de 34,2% du nombre de Carpe commune (*Cyprinus carpio*) par rapport à un lac non pollué (Gruber et Munn, 1998). De plus, toujours chez la Carpe, les COP modifient l'activité des enzymes digestives (Simon *et al.*, 1999).

Par ailleurs, des effets non cholinergiques ont été observés chez l'homme et les animaux de laboratoire ; en effet, les COP, comme d'autres xénobiotiques, génèrent des espèces réactives oxygénées qui induisent un stress oxydatif créant des dommages au niveau cellulaire et tissulaire lorsque les capacités protectrices endogènes de l'organisme sont dépassées (Hai *et al.*, 1997 ; revue in Mohammad *et al.*, 2004). Les effets des stress oxydatifs induits par les COP ont été étudiés *in vivo* chez le rat (Ibrahim et El-Gamal, 2003 ; Buyukokuroglu *et al.*, 2008 ; Lukaszewicz-Hussain, 2008) et *in vitro* sur des cultures d'érythrocytes et hépatocytes de rats (Gultekin *et al.*, 2000 ; John *et al.*, 2001 ; Tuzmen *et al.*, 2008). Ils montrent des changements significatifs de l'activité des enzymes antioxydantes et suggèrent que les

radicaux libres et/ou les espèces réactives oxygénées sont impliquées dans la toxicité des COP.

Parmi les organophosphorés, le méthyle parathion (MPT) a été très étudié pour ses propriétés neurotoxiques chez les mammifères et les poissons (Boone et Chambers, 1996 ; Hai *et al.*, 1997 ; Aguiar *et al.*, 2004) mais également pour son induction de stress oxydatif. De récents travaux montrent que l'exposition au MPT génère un fort stress oxydatif chez un poisson d'Amérique (*Brycon cephalus*) et chez le rat avec induction de radicaux libres, changements drastiques au niveau des systèmes enzymatiques antioxydants et augmentation de la peroxydation des lipides (Monteiro *et al.*, 2006, 2009 ; Celik et Suzek, 2008). Selon Coral *et al.*, (2009), le MPT peut avoir un potentiel cancérigène.

Le MPT est bio activé par le foie en son analogue oxygéné le paraoxon, inhibiteur beaucoup plus puissant de l'enzyme que la molécule mère. Le parathion et le paraxone sont métabolisés et excrétés sous forme de p-nitrophénol et d'esters éthyliques et diéthyliques de l'acide phosphorique thiosphorique (Abu-Quare *et al.*, 2001 ; Garcia *et al.*, 2003).

Les intoxications par neurotoxiques organophosphorés surviennent en général lors de tentatives d'autolyse ou par contact accidentel avec un insecticide. L'intoxication se traduit par une inhibition des cholinestérases qui aboutit à une véritable intoxication par l'acétylcholine endogène. Les principaux éléments cliniques et thérapeutiques des intoxications par neurotoxiques organophosphorés, soit intoxication individuelle par insecticide, soit intoxication collective par agent neurotoxique de guerre. Une menace d'intoxication collective existe lors d'attentats terroristes par les neurotoxiques de guerre dérivés des organophosphorés. Ce sont des agents létaux caractérisés par un délai d'action beaucoup plus rapide et une atteinte neurologique sévère. Les problèmes posés sont davantage d'ordre logistique : identification rapide du toxique, prévention des contaminations secondaires en particulier du personnel soignant, possibilité de disposer de moyens de ventilation mais également des traitements spécifiques indispensables (Rousseau, 2000).

Les menaces d'utilisation d'armes chimiques et biologiques surviennent de plus en plus fréquemment dans diverses régions du monde. La Convention des Nations Unies sur les armes chimiques propose cette définition : "Toute substance chimique qui, à cause de ses effets sur les organismes vivants, peut entraîner la mort, une perte temporaire de performance, ou, une lésion permanente aux humains ou aux animaux".

Parmi les armes chimiques, on a les Agents innervants : Il s'agit d'une classe de substances dérivées des insecticides organophosphorés. Ce sont donc des inhibiteurs des cholinestérases.

Les principaux produits de cette classe sont : le sarin, le tabun, le soman, le gaz V et le gaz VX. Ils peuvent donc être absorbés par inhalation ou par voie cutanée. Le traitement requiert d'abord le maintien des fonctions vitales, une décontamination rapide et efficace et l'administration précoce d'antidotes (Nantel, 1998). Ce n'est pas exclusivement aux ennemis et opposants qu'est destinée l'application sécuritaire des neurosciences. En Irak, les Etats-Unis et leurs alliés utilisent des drogues permettant d'améliorer la vigilance de leurs soldats. Dans un avenir proche, nous verrons des troupes partir au combat chargées de médicaments accroissant leur agressivité, ainsi que leur résistance à la peur, à la douleur et à la fatigue (Wheelis et Dando, 2005). La suppression des souvenirs est un des objectifs à portée de main de la pharmacologie ; ce n'est plus de la science-fiction que d'envisager, sur le champ de bataille, un personnel militaire au sentiment de culpabilité supprimé par des drogues, et protégé du stress post-traumatique par un effacement sélectif de la mémoire (Hayes, 2006 ; Investigation unfinished , 2006 ; Wright, 2007).

L'objectif de ce travail de thèse est de répondre à certaines questions suspendu dans le domaine du stress en général. Le but est de confirmer les hypothèses :

1/ l'effet inhibiteur des organophosphorés (méthyle parathion) sur l'activité de l'acétylcholinestérase, ces répercussions sur les modifications de l'axe corticotrope et la possibilité d'interférer avec l'induction des perturbations psychologiques.

2/ Peut-on considérer le méthyle parathion comme déclencheur d'un stress oxydant ?

Dans la première partie, le programme de cette étude vise à élaborer un modèle animal PTSD, et ceci sera confirmé par les niveaux cinétiques homéostatiques de certaines hormones révélatrices telles que la corticostérone et l'acétylcholinestérase au niveau du cerveau.

Dans la deuxième partie, des travaux récents ont montré que certains COP provoquent un stress oxydant, notre objectif est : 1- de tester l'effet du MPT sur la capacité du système de détoxification glutathion, certaines hormones (TSH, T4, insuline), la peroxydation lipidique, 2- évaluer le rôle préventif de certaines suppléments (vitamine E, Taurine, Yohimbine).

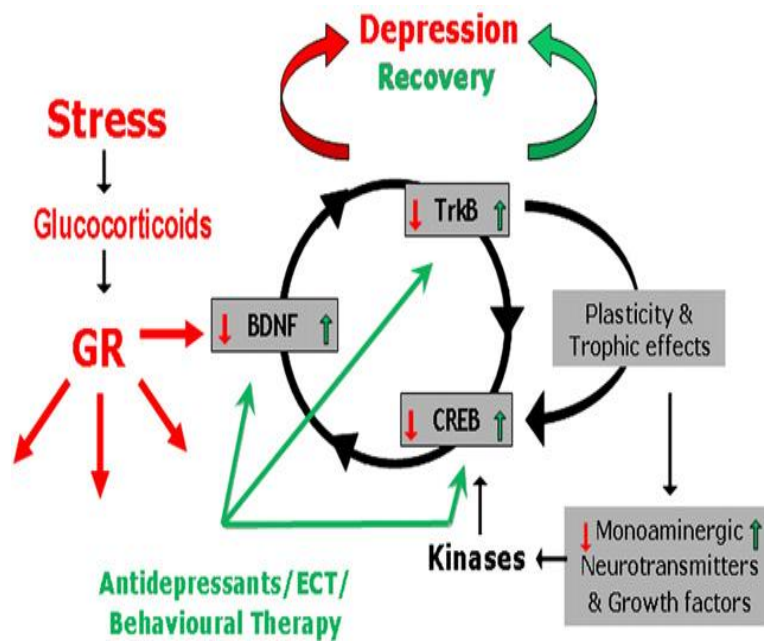


Figure3 : hypothèse de stress de dépression

Rappels bibliographiques

1. LE STRESS

1.1. Définition

Selon la définition de H. Selye (1946), le stress est un état qui se manifeste par un ensemble de réactions de l'organisme à l'action non spécifique des agents stressants physiques, chimiques ou biologiques (Laborit, 1988 ; Cnockaert et Mouzé-Amady, 1993). Depuis, le stress est considéré comme un processus interactif global comprenant la totalité des facteurs intervenants : le stimulus, la réponse au stimulus, le processus de perception et d'évaluation de la situation par le sujet (Routier, 1991). C'est une réaction psychophysiologique d'adaptabilité entre une personne, ses caractéristiques, et un environnement particulier (Lhuilier *et al.*, 1991). Il apparaît lorsque l'homme ne se sent pas capable de faire face à une situation, soit par manque de moyens matériels ou temporels, soit par manque de ressources physiques ou psychiques (Keravel, 1992). Il se manifeste par des réponses neurovégétatives, hormonales et immunologiques déclenchées par la mise en jeu de l'axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien. Il témoigne de l'effort d'adaptation de l'organisme aux agressions.

1.2. Facteurs de stress

Nous retrouvons dans la littérature plusieurs dénominations pour qualifier ce terme : agents stressants, stressants ou stressors selon le terme anglo-saxon. (Bensabat, 1980 ; Boudarene *et al.*, 1997). Les facteurs de stress tels qu'on les définit dans la terminologie francophone, représentent l'ensemble des situations qui peuvent constituer des agressions ou qui sont vécues comme telles. Ils sont multiples et de différentes origines.

1.3. Stress aigu et stress chronique

Le stress aigu correspond à une agression le plus souvent violente, physique ou psycho-émotionnelle, et limitée dans le temps. Par exemple, une intervention chirurgicale, un grand traumatisme... La réponse de l'organisme est, elle aussi, immédiate, violente et intense. C'est une réponse de survie.

Le stress chronique correspond à des agressions violentes ou modérées, mais répétées et rapprochées dans le temps.

La répétition de phénomènes de stress exige une adaptation fréquente et constitue à la longue une dose totale excessive dépassant le seuil de résistance de l'individu.

Dans les deux cas, la réponse de l'organisme se fait aux niveaux physique, psychologique et biologique. Elle est responsable de perturbations des différents métabolismes et de l'équilibre biochimique.

Le stress aigu peut entraîner, dans certains cas, des troubles psychosomatiques, des pathologies digestives aiguës, des accidents cardiovasculaires. Le stress chronique entraîne un épuisement psychologique et glandulaire progressif responsable des maladies dites d'adaptation (Bensabat, 1980).

1.4. Stress biologique et psychique

Le *stress biologique* implique l'intervention d'agents physiques induisant une réponse non spécifique du système hypothalamo-hypophyso-surrénalien.

Le *stress psychique* est défini comme l'état dans lequel se trouve l'organisme placé dans des situations qui menacent le bien-être, l'intégrité physique ou psychique de l'individu.

Le stress psychique présente les aspects suivants :

-Il est déclenché par l'anticipation d'un danger, par le sentiment de frustration, par un état conflictuel.

-Les agents stresseurs agissent au niveau des structures nerveuses centrales capables de déchiffrer la signification menaçante de la situation.

-Le stress psychique n'est déclenché que si la situation est perçue par l'individu comme étant menaçante, frustrante ou conflictuelle. C'est donc l'évaluation cognitive de la situation qui donne une signification stressante aux stimuli de l'environnement. Les modifications comportementales et physiologiques qui en découlent caractérisent l'état de stress.

-A la différence du stress biologique qui est déclenché par l'action non spécifique des stresseurs, le stress psychique est initié par leur action spécifique.

Le stress psychique survient lorsque la personne évalue la relation avec son environnement comme contraignante ou dépassant ses ressources. Il résulte d'un déséquilibre entre les sollicitations de l'environnement et les capacités de l'organisme à y faire face.

La différence entre stress biologique et stress psychique concerne surtout les facteurs intervenant dans le déclenchement du stress. L'état de stress qu'il soit biologique ou psychique, implique ensuite une réponse de l'organisme dans sa globalité (Troxler et Schwertner, 1985).

1.5. Etat de stress

L'état de stress recouvre le syndrome d'adaptation au stress, les réactions de stress. Elles sont considérées comme les conséquences d'une réaction de défense de l'individu face à une situation nouvelle qui vient perturber ou rompre la stabilité et l'équilibre intérieur

(physiologique et/ou psychologique). Les réactions de stress regroupent un ensemble de manifestations biologiques, physiologiques et comportementales mises en œuvre dans des circonstances bien particulières. Elles visent au maintien actif et au rétablissement de cet équilibre (Boudarene *et al.*, 1997).

2. SYNDROMES D'ADAPTATION

2.1. Syndrome général d'adaptation (SGA)

En 1946, H. Selye décrit le syndrome général d'adaptation. Celui-ci représente toutes les modifications non spécifiques, c'est à dire indépendantes du type de stressor, qui se développent dans l'organisme et dans le temps au cours de l'exposition continue à un stressor. Le SGA touche l'organisme tout entier : il correspond au syndrome de stress. C'est la réponse apportée au facteur de stress. Elle se traduit par un ensemble de modifications biologiques responsables des différentes manifestations symptomatiques fonctionnelles et organiques.

Le SGA se déroule dans sa forme typique en trois phases :

- une phase d'alarme,
- une phase de résistance,
- une phase d'épuisement.

Il n'est pas nécessaire que ces trois phases interviennent pour que l'on puisse parler de SGA.

Seul un stress très grave peut aboutir à l'épuisement et à la mort.

Nous présentons, ci-après, les trois phases citées précédemment. Elles s'expriment par une répercussion au niveau neurobiologique et somatique, et au niveau comportemental et psychologique (Bensabat, 1980 ; Selye, 1946).

2.1.1. La phase d'alarme

✓ *Au niveau neurobiologique et somatique*

Elle s'exprime d'une part par des manifestations neurovégétatives intenses et stéréotypées comme en témoignent l'accélération du rythme cardiaque, l'hypertension artérielle, l'hyperhidration, et d'autre part par une hyperactivité des systèmes catécholaminergiques et de l'axe hypothalamo-hypophysaire-cortico-surrénalien (HHCS). Cette phase ne dure pas longtemps, de quelques minutes à quelques heures tout au plus. C'est **la réaction de stress** proprement dite, identique quel que soit l'agent agresseur. Elle s'exprime de la même façon chez tous les individus. Seule son intensité varie. L'hyper activation des systèmes sympathique et corticotrope a pour seul but la mobilisation énergétique pour assurer l'effort

adaptatif. Elle met à disposition les réserves de glucose par glycolyse d'abord et par lipolyse ensuite. Une oxygénation optimale est assurée par l'accélération du rythme respiratoire et de la fréquence cardiaque responsable d'une augmentation du débit sanguin. Cette énergie est principalement orientée vers les organes qui interviennent dans l'effort adaptatif (tissu cérébral et muscles). Parallèlement à cette hyper activation, les fonctions qui n'ont aucun rôle dans la réponse de stress sont mises au repos. Les hormones sexuelles et thyroïdiennes sont ainsi inhibées.

✓ *Au niveau comportemental et psychologique*

Les situations de stress engendrent une série de comportements le plus souvent désordonnés et associés à une exacerbation de la vigilance et de l'état émotionnel. Il peut s'agir d'une accélération des activités automatiques avec engagement irréfléchi dans des gestes et mouvements exécutés en vitesse mais sans but et sans précision. Ailleurs, une suspension voire une inhibition des activités avec vide de la pensée, trous de mémoire, impression de paralysie et d'incapacité seront observées. D'autres fois, les modifications émotionnelles réaliseront un état d'anxiété et d'effolement important ou un état de panique amenant à des activités stéréotypées et inefficaces. L'expression verbale peut être accélérée avec un discours plus ou moins cohérent qui peut se rapporter à l'événement en cause et à la signification qu'il prend dans la vie du sujet. L'intérêt attribué aux propos tenus par le sujet peut, plus tard aider à comprendre le sens de la réponse de stress et être intégré dans la prise en charge thérapeutique. D'autre fois, le sujet est peu bavard, voire muet. Cette éventualité est souvent associée à un état d'inhibition motrice. Dans tous les cas, le sujet ressent ces phénomènes comme une rupture d'ordre psychologique (Boudarene *et al.*, 1997).

2.1.2. La phase de résistance

✓ *Au niveau neurobiologique et somatique*

Elle accentue l'activité des systèmes noradrénergique et corticotrope. Elle met en jeu l'ensemble des systèmes hormonaux selon des modalités propres à chaque individu. C'est **l'état de stress**. Il correspond à une intensification de la mobilisation énergétique de l'organisme qui doit soutenir l'effort pour s'adapter à la situation nouvelle. Le niveau de fonctionnement y est plus élevé. C'est « l'hétérostasie », terme employé par H. Selye pour quantifier cet état par opposition avec le concept d'homéostasie. Des troubles psychiques et psychosomatiques apparaissent durant cette phase. Le stade de résistance varie en intensité, en modalité d'expression et en durée selon les situations et les individus.

✓ *Au niveau comportemental et psychologique*

Pendant cette phase, des maladies somatiques et psychosomatiques peuvent se manifester avec plus ou moins de gravité. Les affections cardio-vasculaires accompagnent le plus souvent les sujets « sur engagés » dans la lutte (troubles du rythme et infarctus sont les affections les plus fréquentes). Ces troubles sont habituellement rapportés à un dysfonctionnement du système catécholaminergique. Les affections digestives (ulcère, colite, dyspepsies et troubles fonctionnels), les affections dermatologiques et immunitaires, notamment les déficiences, se rencontrent chez les sujets qui ont un comportement de « vaincus ». Le stress serait également impliqué dans les syndromes de fatigue chronique (SFC). Il faciliterait la synthèse et la libération des cytokines par les cellules impliquées dans le processus immunitaire et serait responsable des troubles comportementaux et psychiques observés : retrait social avec indifférence, fatigue importante et baisse de l'intérêt pour l'alimentation.

L'hyper activation des processus immunitaires serait due principalement à une altération de l'axe corticotrope dont le rétrocontrôle négatif sur le système immunitaire ne se ferait plus. Le résultat serait le syndrome de fatigue chronique.

Le syndrome de stress post-traumatique est un autre cas particulier. Son incidence augmente proportionnellement à la multiplication des fléaux sociaux : agressions physiques, viols, prises d'otages, hold-up, accidents. Il survient aussi à la suite de catastrophes naturelles ou de guerres. Il est l'exemple d'une situation aiguë, grave d'emblée, qui risque d'évoluer pour son propre compte et de réaliser une situation chronique. Sur le plan clinique, son expression est variable mais toujours grave. Son évolution chronique peut être à l'origine d'une désinsertion sociale et professionnelle du sujet (Boudarene *et al.*, 1997).

2.1.3. La phase d'épuisement

Elle marque la fin de la période de résistance avec épuisement des ressources et abandon de l'effort. Dans les situations les plus graves le risque vital est présent (Boudarene *et al.*, 1997).

3. REPONSE NEUROENDOCRINE

Quel que soit la forme de stress, il existe une réponse neuroendocrinienne de l'organisme. Elle participe à l'adaptation de l'organisme aux diverses modifications de l'homéostasie et aux facteurs de stress.

3.1. Axe hypothalamo-hypophysaire

3.1.1 Le système limbique (Fig. 4)

Le système limbique comprend des structures corticales et sous-corticales. Il contrôle le comportement, les émotions, la motivation. Il intervient également dans la régulation de conditions internes de l'organisme telles que la température corporelle, la sensation de faim et de soif, l'équilibre osmotique, le contrôle du poids... Ces fonctions végétatives sont en relation étroite avec le comportement (Hazard et Perlemuter, 1990 ; Cambier *et al.*, 1995 ; Mignée, 1991).

Le cortex limbique reçoit et analyse les informations de régions corticales et sous-corticales multiples. Il est en connexion neuronale étroite avec un groupe de noyaux sous-corticaux dont font partie l'amygdale et l'hippocampe. D'autre part, le système limbique dispose de voies de communication avec l'hypothalamus (Fontaine, 1996).

L'amygdale est considérée comme une zone de perception du comportement à un niveau semi conscient. Elle projette dans le système limbique la situation présente, confrontée à l'environnement et aux pensées pour permettre une réponse comportementale adaptée à chaque condition. Elle joue par exemple un rôle dans la réponse aux stimuli provoquant la peur et l'anxiété.

L'hippocampe est une structure à travers laquelle un signal sensoriel peut conduire à une réaction comportementale appropriée. Il paraît jouer un rôle important dans les voies de récompense et de punition et dans les phénomènes d'apprentissage et de mémoire.

3.1.2. L'hypothalamus (Fig. 5)

L'hypothalamus se trouve régulé par le système limbique. Il joue un rôle primordial dans les fonctions végétatives et endocrines de l'organisme, ainsi que dans les comportements émotionnels. Il intervient dans le maintien de l'homéostasie hormonale et dans les réponses adaptatives du système endocrine face aux situations stressantes de tous ordres (Conte-Devolx *et al.*, 1993). Sous l'effet d'un stress, l'hypothalamus est stimulé au niveau des noyaux para

ventriculaires dont les neurones disposent de propriétés neurosécrétoires. Certains sont en connexion avec les centres du système nerveux autonome au niveau bulbaire et spinal. D'autres sont en relation avec l'éminence médiane de l'hypothalamus. Le corticotropin-releasing factor (CRF) est libéré au niveau de l'éminence médiane. Le CRF s'accompagne de la sécrétion d'un autre neuropeptide hypothalamique : arginine vasopressine (AVP), principal cofacteur qui a une action synergique du CRF. L'ocytocine est également sécrétée à ce niveau, elle a une action inhibitrice. Ces deux substances permettent une action modulatrice de la sécrétion d'ACTH et de cortisol (Fontaine, 1996).

La libération de CRF est stimulée par certains neurotransmetteurs dont l'acétylcholine, la sérotonine, les catécholamines. La GABA intervient en tant qu'inhibiteur (Szafarczyk *et al.*, 1993). La sécrétion de l'AVP est stimulée par les récepteurs bêta-adrénergiques et cholinergiques, elle est freinée par les récepteurs alpha1-adrénergiques (Olivier *et al.*, 1997).

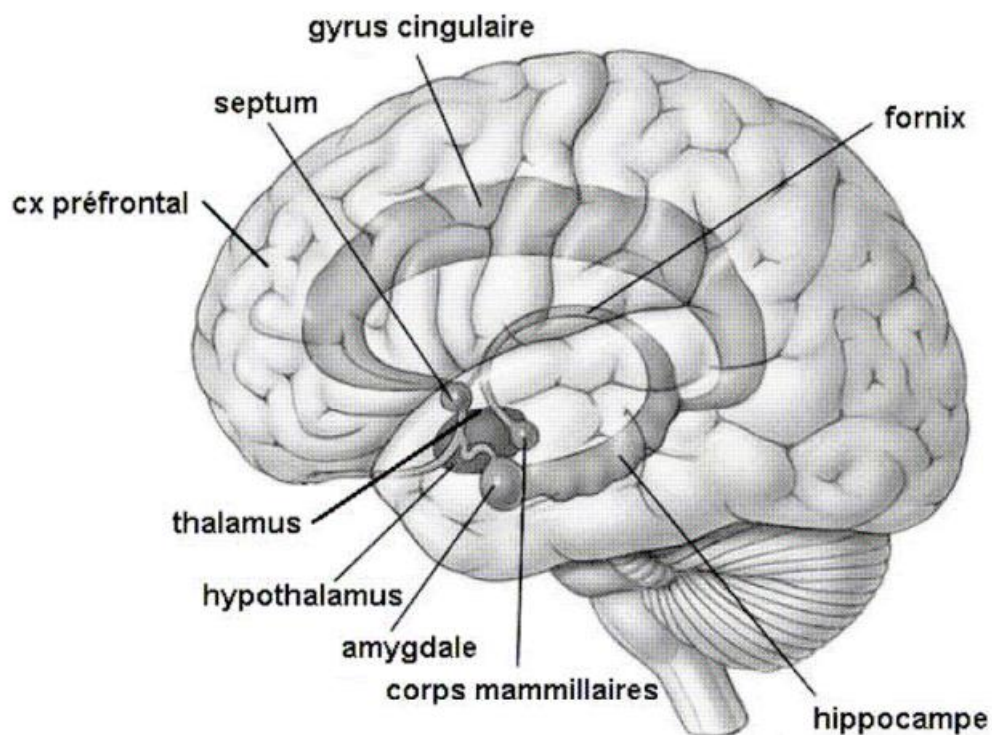


Figure 4 : Représentation du système limbique : cortex limbique et structures sous-corticales (amygdale, bulbe olfactif, hippocampe, septum, corps mamillaire...)

3.1.3. L'hypophyse antérieure

Elle constitue le troisième niveau d'action du stress. Le CRF stimule la sécrétion d'ACTH au niveau antéhypophysaire par le biais du système porte hypothalamo-

hypophysaire. En effet, il active à ce niveau la production d'une prohormone : la proopiomélanocorticotropine (POMC), qui se clive ensuite en ACTH et en hormone mélanostimulante (MSH). Elles sont co-sécrétées et la MSH paraît avoir un rôle potentialisateur de l'effet de l'ACTH sur le cortex surrénalien. L'ACTH agit au niveau du cortex surrénalien en stimulant la production et la sécrétion de cortisol.

La libération de cortisol exerce un rétro-contrôle négatif aux trois niveaux cérébraux (Fig. 5): limbique, hypothalamique et hypophysaire (Fontaine *et al.*, 1996).

A côté du CRF et de l'AVP, d'autres peptides peuvent stimuler la sécrétion de l'ACTH : l'ocytocine, l'angiotensine II, l'adrénaline. L'atrial natriuretic factor (ANF) intervient comme inhibiteur (Paulmyer-Lacroix *et al.*, 1995 ; Szafarczyk *et al.*, 1993).

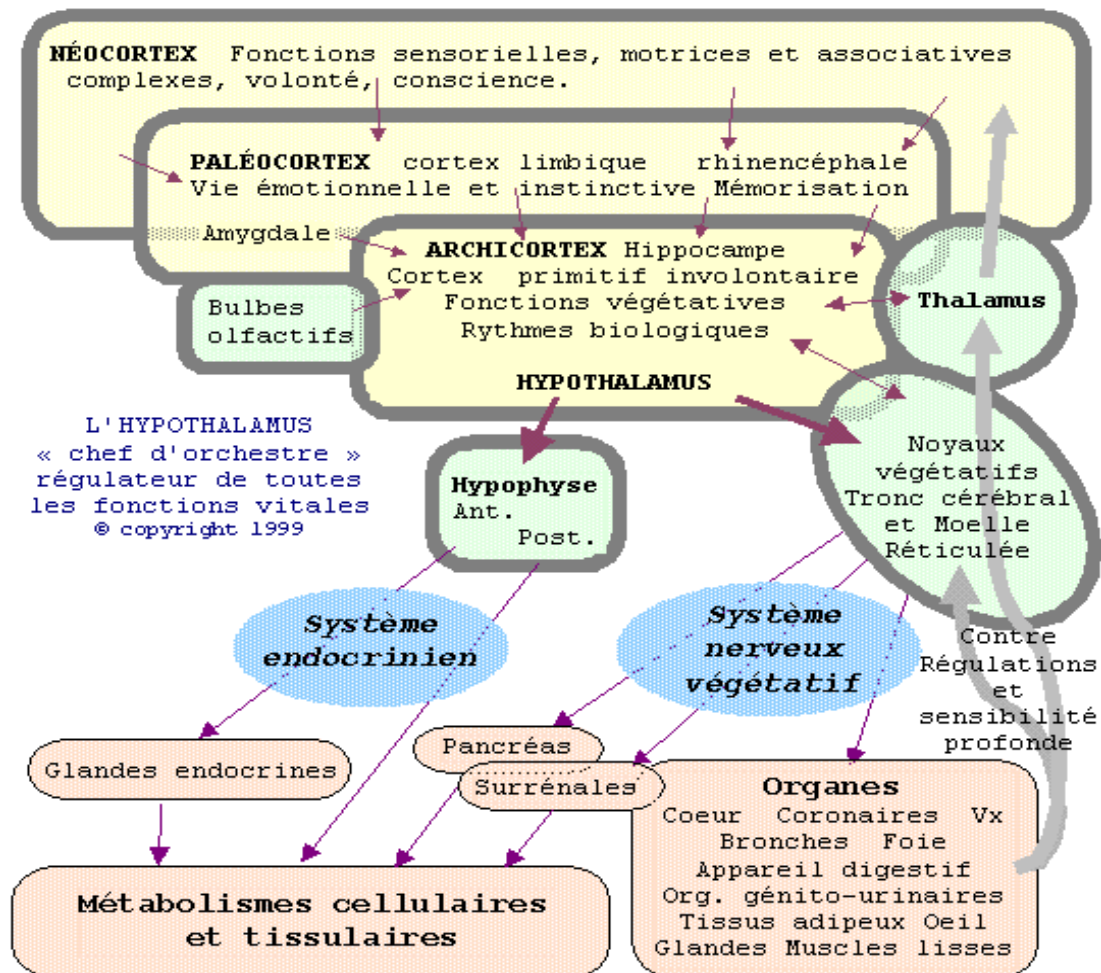


Figure 5: Représentation du système hypothalamo-hypophysaire (Copyright, 1999)

3.2. Fonctions cibles (Fig. 6)

3.2.1. Fonction corticotrope

L'activation de l'axe hypothalamo-hypophysaire stimule la production de cortisol par le cortex surrénalien. Les effets du cortisol sont variés. Il intervient sur le métabolisme des glucides, des protéides et des lipides, ainsi que sur la réaction inflammatoire et sur l'immunité.

A- Généralités

L'augmentation du taux circulant des glucocorticoïdes possède à la fois des effets immédiats pour corriger les troubles biologiques induits par le stress, et des effets à plus long terme pour inhiber les réponses de l'organisme qui pourraient avoir des conséquences délétères.

Ainsi, la sécrétion de glucocorticoïdes permet l'adaptation de l'organisme face à une situation qui perturbe l'homéostasie du milieu intérieur. Elle augmente de façon proportionnelle à l'intensité et à la durée du stress. (Conte-Devolx *et al.*, 1993 ; Paulmyer-Lacroix *et al.*, 1995). Deux mécanismes d'action ont été proposés pour expliquer cette adaptation (Olivier *et al.*, 1997) :

- un effet facilitateur des glucocorticoïdes pour l'action d'autres substances, dont les catécholamines, l'angiotensine II. Cette action améliore le tonus cardiovasculaire en redistribuant les flux sanguins vers les muscles, le cœur et le cerveau, et mobilise les réserves énergétiques. Les facultés cognitives sont améliorées, alors que d'autres fonctions (reproduction, réactions inflammatoires, croissance) sont mises au repos et différées.

Cet effet est observé pour des concentrations normales ou modérément augmentées de glucocorticoïdes.

- un effet protecteur, ils réduisent certaines des réactions de l'organisme au stress : la diminution de la production des cytokines lors d'un stress infectieux, la reconstitution du stock de glycogène hépatique post-hypoglycémique, le freinage de la sécrétion d'AVP après un stress hémorragique.

Celui-ci est observé pour des concentrations très élevées de glucocorticoïdes.

Mais les effets délétères d'un excès de production de cortisol ont été observés dans des situations de stress intenses et prolongés. Les animaux soumis à un stress prolongé présentent une altération de l'état général, un dysfonctionnement du système immunitaire, des plaques athéromateuses vasculaires, ainsi qu'une baisse des taux d'HDL cholestérol et des hormones sexuelles.

En clinique, l'excès de glucocorticoïdes peut avoir des effets néfastes sur un terrain prédisposé. Chez un patient diabétique, l'hyperglycémie peut être beaucoup plus marquée lors d'un stress et entraîner un déséquilibre du diabète. L'action minéralocorticoïde du cortisol sur le système vasculaire peut décompenser l'équilibre de la pression artérielle chez un patient hypertendu (Olivier *et al.*, 1997).

B- Action sur le métabolisme glucidique

Il entraîne une stimulation de la néoglucogenèse hépatique avec augmentation des enzymes de conversion des acides aminés en glucose. Les acides aminés extra-hépatiques sont mobilisés et le foie augmente la synthèse de glycogène. L'utilisation périphérique de glucose est réduite et une élévation de la glycémie peut exister (Hazard et Perlemuter, 1990 ; Fontaine *et al.*, 1996).

C- Action sur le métabolisme protidique

Le cortisol a un effet catabolique. Il réduit la synthèse protéique de tous les tissus, sauf au niveau du foie. Les acides aminés circulants sont augmentés par diminution de leur utilisation et de leur transport vers les cellules extra-hépatiques. Par contre, le transport intra-hépatique est accru permettant la néoglucogenèse (Hazard et Perlemuter, 1990 ; Fontaine *et al.*, 1996).

D- Action sur le métabolisme lipidique

Il existe une lipolyse avec mobilisation et oxydation des acides gras qui épargne certaines régions corporelles expliquant l'obésité cortisonique ou cushingoïde (face, dos) (Hazard et Perlemuter, 1990 ; Fontaine *et al.*, 1996)

E- Action anti-inflammatoire

Les propriétés anti-inflammatoires du cortisol s'expliquent par un effet de stabilisation des membranes lysosomales qui limite la libération d'enzymes protéolytiques intervenants dans le processus de mort cellulaire. Il réduit aussi la perméabilité capillaire et diminue la migration leucocytaire et la phagocytose (Hazard et Perlemuter, 1990 ; Fontaine *et al.*, 1996). Il atténue également les phénomènes fébriles en réduisant la libération d'interleukine 1 leucocytaire, susceptible d'influencer les centres hypothalamiques de la thermorégulation.

F- Action immunitaire

Le cortisol est responsable d'une dépression du système immunitaire. Il existe une diminution des éosinophiles et des lymphocytes, une production réduite d'anticorps et de lymphocytes T et une atrophie des tissus lymphoïdes (Hazard et Perlemuter, 1990 ; Szafarczyk *et al.*, 1993 ; Fontaine *et al.*, 1996).

3.2.2. Fonction somatotrope et prolactine

La sécrétion de l'hormone de croissance GH et à un moindre degré de la prolactine, s'effectue selon un rythme nyctéméral (pics de sécrétion plus fréquents et plus amples au cours du sommeil). La sécrétion de la GH est sous la double dépendance de deux neurohormones hypothalamiques : la somatocrine GRF, stimulatrice, et la somatostatine SRIF, inhibitrice. Elle est stimulée par les agents catécholaminergiques et cholinergiques d'origine hypothalamiques. L'augmentation de la GH observée au cours de stress est toujours présente en cas de stress physique, elle peut être absente en cas de stress psychologique. Il est actuellement difficile de dire si cette augmentation est liée à l'augmentation du GRF et/ou à la diminution du SRIF. Le stress entraîne les mêmes effets sur la sécrétion de prolactine. Elle est régulée par l'activité inhibitrice exercée par la dopamine hypothalamique (prolactin inhibiting factor) (Conte-Devolx *et al.*, 1993).

3.2.3. Fonction gonadotrope

La gamétogenèse et la stéroïdogénèse gonadiques sont sous le contrôle des gonadotrophines hypophysaires : folliculostimuline FSH, et lutéotrophine LH. La sécrétion pulsatile de LH est sous la dépendance de la sécrétion de gonadolibérine LHRH hypothalamique. Toute altération de la sécrétion pulsatile des neurones LHRH entraîne une abolition de la pulsatilité de la sécrétion de LH et de FSH. Les stress de tous ordres, suffisamment prolongés sont responsables d'une diminution de la pulsatilité de LH contemporaine d'une altération de la pulsatilité de LHRH. Les conséquences cliniques peuvent être des anomalies du cycle menstruel jusqu'à l'aménorrhée, des hypogonadismes hypo-gonadotropes supra-hypophysaires chez l'homme. De la même façon, l'augmentation du CRF par l'intermédiaire de l'ACTH et des autres peptides dérivés de la POMC, induit une inhibition de la fonction gonadotrope (diminution de la fréquence de pulsatilité de LH et LHRH) (Conte-Devolx *et al.*, 1993).

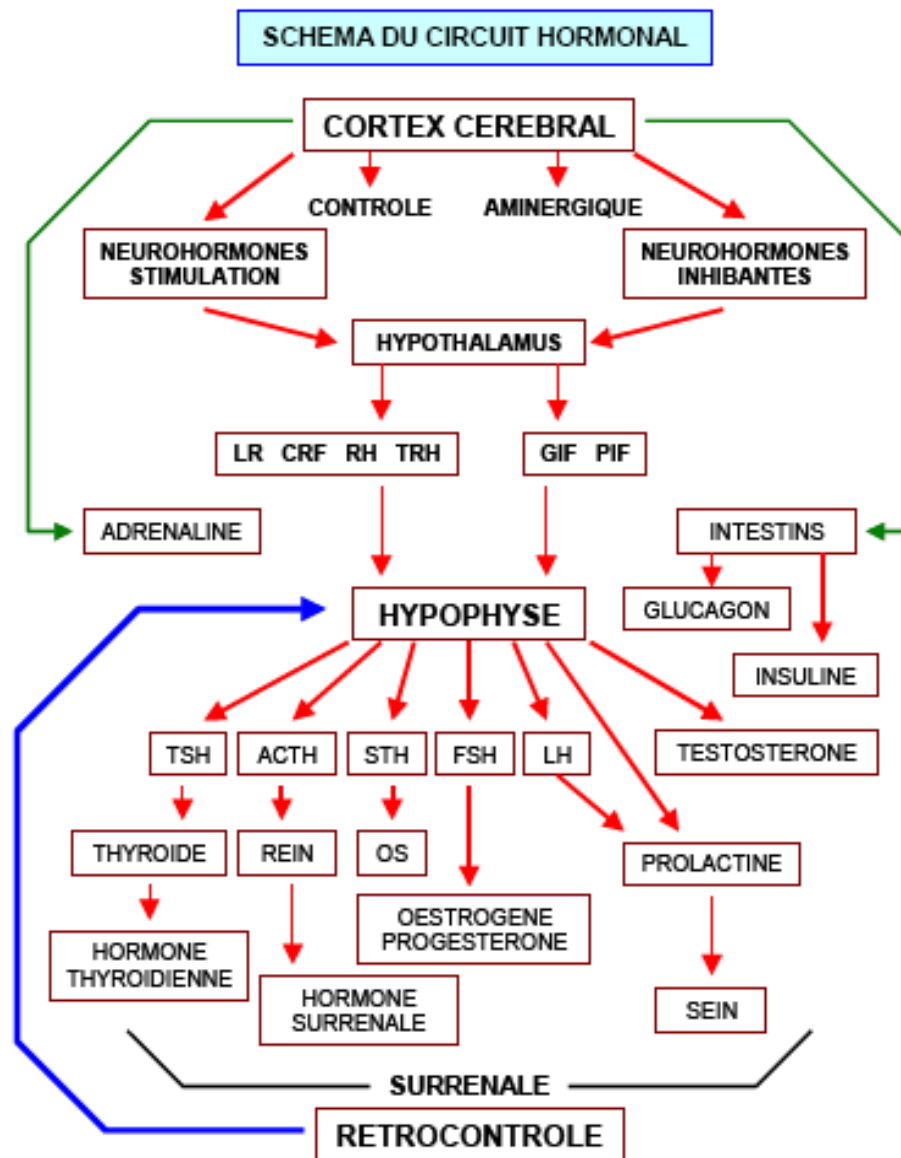


Figure 6: circuit hormonal en réponse au stress (Nassé, 2006)

3.3. Système sympathique

Le stress stimule également la sécrétion des catécholamines. Il s'agit de la réponse immédiate à un stimulus bref mais aussi de la phase initiale d'une exposition prolongée à un stresser. La réponse catécholaminergique fait intervenir la noradrénaline, l'adrénaline, et la dopamine (Borghini *et al.*, 1991, Klimaschewski *et al.*, 1996).

La noradrénaline est libérée par la fibre post-ganglionnaire sympathique. Elle agit ensuite sur l'effecteur. La synthèse de la noradrénaline se fait à partir de la tyrosine, sous la dépendance

de la tyrosine-hydroxylase. La noradrénaline peut inhiber l'activité de cette enzyme en réalisant un rétro-contrôle négatif. La noradrénaline est également présente dans la médullosurrénale. A ce niveau, la transformation de la noradrénaline en adrénaline s'effectue grâce à la méthyl-transférase. L'adrénaline est ensuite libérée. A l'état basal, il existe une sécrétion physiologique en dehors de toute excitation nerveuse. Elle est surtout d'origine surrénalienne. Certaines molécules endogènes : glucocorticoïdes, insuline, glucagon, agissent sur l'activité de la méthyl-transférase pour ajuster le rapport adrénaline / noradrénaline.

L'action de ces catécholamines, sur les effecteurs, s'exerce par l'intermédiaire de récepteurs cellulaires α et β adrénergiques. La noradrénaline a plutôt une action α -stimulante prédominante alors que l'adrénaline présente une action mixte en partie α -stimulante et en partie β -stimulante.

La dopamine, autre catécholamine qui intervient dans le stress, a des effets périphériques connus. Elle agit par l'intermédiaire des récepteurs dopaminergiques. Ils sont mis en évidence dans les territoires rénaux, mésentériques et cérébraux. La dopamine provoque, à ce niveau pour de faibles concentrations, une vasodilatation. Les récepteurs sont particulièrement nombreux au niveau du système nerveux central. Les voies métaboliques sont analogues à celles des autres catécholamines. L'effet global des catécholamines est une mobilisation de l'énergie qui prépare l'organisme à la lutte ou à la fuite lors d'une réponse à un stimulus bref. Elles facilitent la transmission de l'influx nerveux et la contraction musculaire. L'hypersécrétion de catécholamines se traduit par une vasoconstriction avec hypertension artérielle, tachycardie, tremblements, contractions musculaires, horripilation, mydriase, hyperglycémie. Il existe une augmentation des catécholamines circulantes et des métabolites urinaires dont l'acide vanylmandélique. La mise en jeu des catécholamines est différente en fonction du stress.

La mise en jeu de l'adrénaline serait plus en rapport avec l'anxiété, avec l'intensité de l'émotion, et serait plus sollicitée dans les états de peurs, de dépression, d'incertitude et d'attente.

La noradrénaline interviendrait dans des états d'engagement dans l'action, dans des états de colère ou d'agression, mais aussi dans des situations où attention et vigilance sont requises. Dans l'exposition prolongée au stress, la dopamine (Fig. 7) pourrait augmenter plus que les autres catécholamines, mais l'augmentation semble globalement fonction inverse de la capacité du sujet à faire face (Harrison, 1985 ; Mignée, 1991).

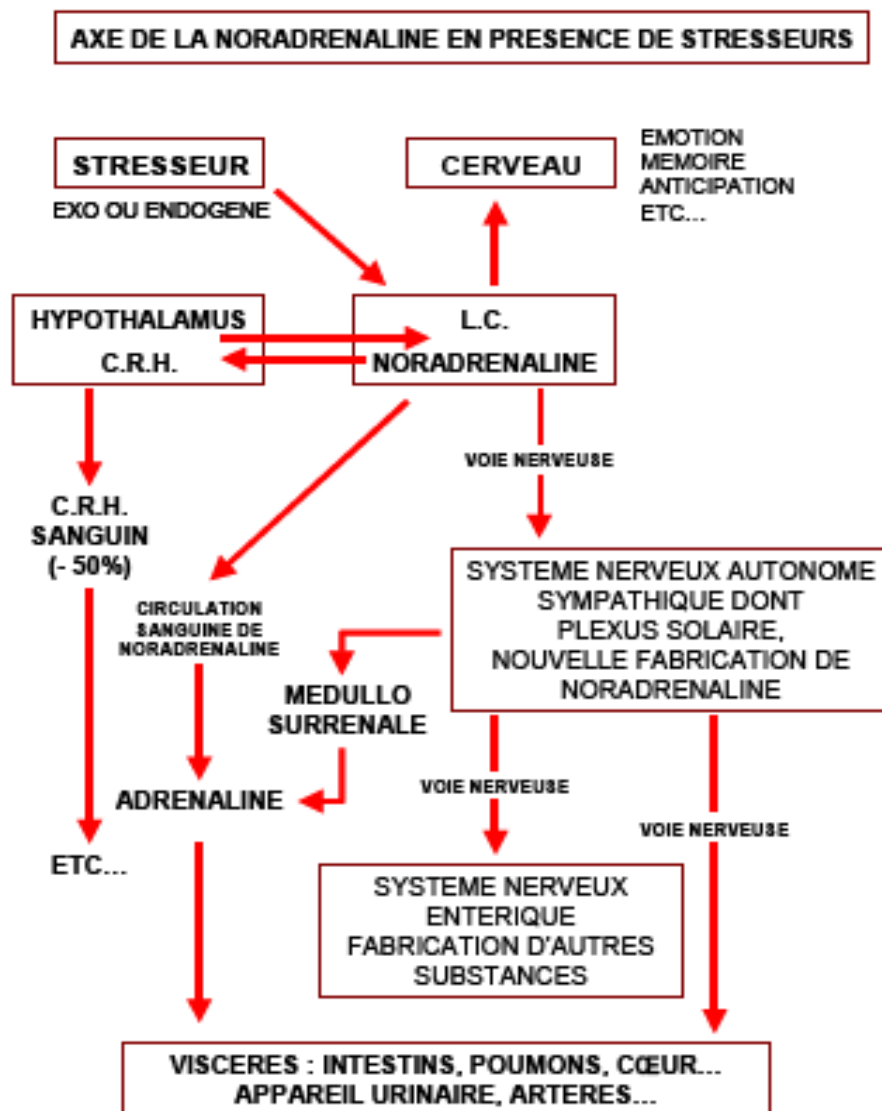


Figure 7 : Axe de la noradrénaline en présence de stressseurs (Nassé, 2006)

3.4. Fonction thyroïdrotrope

Le principal système de régulation est représenté par l'axe thyroïdrotrope. Il est complété par un système d'autorégulation thyroïdienne. Par ailleurs, le statut nutritionnel influence également la fonction thyroïdienne et en particulier le catabolisme des hormones.

Parmi les effets des hormones thyroïdiennes :

- Elles augmentent la thermogenèse obligatoire et la VO₂. Ainsi, l'hypothyroïdie peut s'accompagner de frilosité tandis que l'hyperthyroïdie est caractérisée par une thermophobie.

- Elles sont hyperglycémiantes (elles majorent l'absorption intestinale de glucides et favorisent la production hépatique de glucose).
- Les effets des hormones thyroïdiennes sur le métabolisme lipidique sont complexes avec une augmentation de la synthèse de cholestérol mais également de sa dégradation hépatique, une plus grande expression des récepteurs pour le LDL cholestérol, une augmentation de la lipogenèse et de l'oxydation des acides gras libres.
- Au final, elles exercent un effet hypocholestérolémiant. Aussi, devant toute hypercholestérolémie, il convient de rechercher des signes d'hypothyroïdie.
- Les hormones thyroïdiennes augmentent la synthèse protéique mais ont également un effet catabolisant, qui devient prépondérant à doses supra-physiologiques.

3.5. Conséquences cliniques

L'élévation combinée des glucocorticoïdes et des catécholamines circulantes permet d'augmenter le rythme cardiaque et la distribution d'oxygène aux tissus musculaires et au cerveau. Elle mobilise les ressources métaboliques vers des substances directement catabolisables en énergie (augmentation de la glycolyse, lipolyse et protéolyse, résistance temporaire à l'insuline...). Parallèlement, les fonctions non essentielles sont mises au repos et différées telles que la reproduction, la croissance et le système immunitaire.

L'existence d'un rétrocontrôle négatif empêche une activation prolongée et inutile du système hypothalamo-hypophyso-surrénalien. Il permet de retrouver une situation d'homéostasie. Mais dans les situations de stress prolongé ou répété, il existe un déséquilibre dans la régulation des systèmes neuroendocriniens. On observe chez les individus soumis à un stress chronique : des élévations chroniques du taux de glucocorticoïdes, des réponses hormonales (ACTH, cortisol) exagérées en amplitude et en durée. Il existe également une diminution du rétrocontrôle négatif des glucocorticoïdes sur les centres nerveux et périphériques (Fig. 8).

Ces modifications peuvent alors participer au développement de nombreuses affections. L'augmentation chronique de la pression artérielle et l'augmentation du cholestérol sont des facteurs de risque de l'hypertension artérielle. L'augmentation chronique des glucocorticoïdes ont un effet supprimeur sur les systèmes immunitaires et sont un état prédisposant dans le développement de l'obésité et du diabète (Walker et al., 1997).

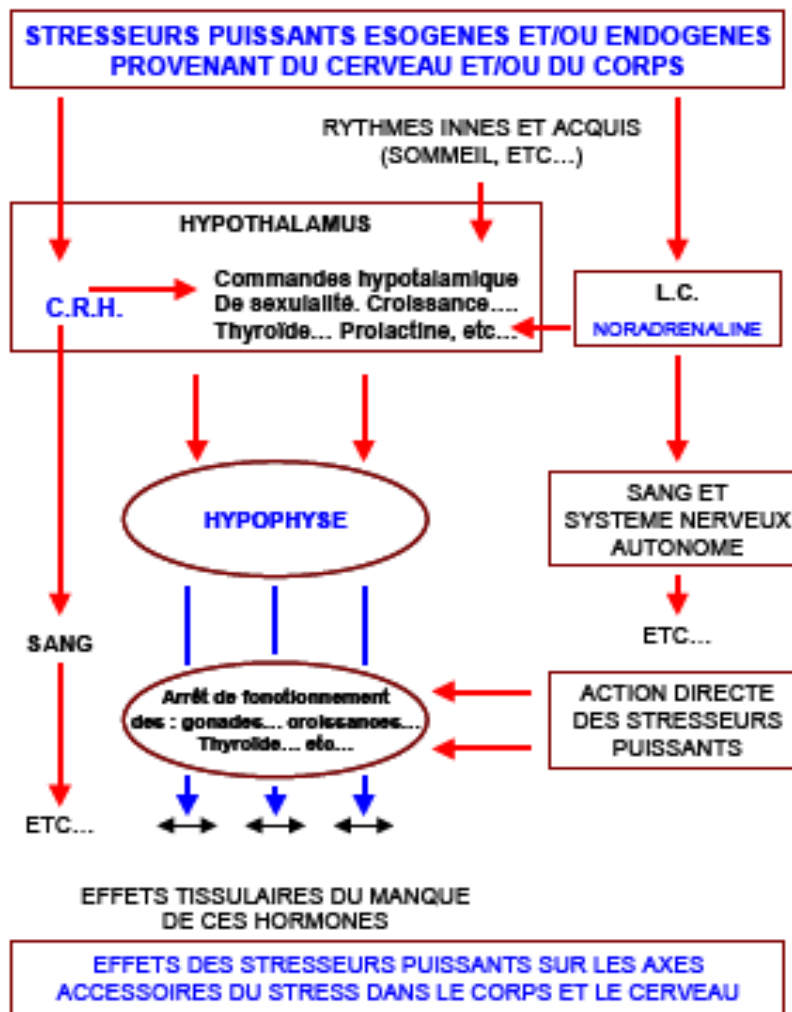


Figure 8 : Effets des stresseurs sur les axes accessoires du stress dans le corps et le cerveau
(Nassé, 2006)

4. MALADIES DE STRESS

On les a appelé les *maladies de l'adaptation*. Ce sont des maladies psychosomatiques qui supposent l'apparition de lésions d'organes. Elles peuvent toucher tous les systèmes de l'organisme humain. Elles font suite à la mise en jeu de l'axe neuro-endocrino-immunitaire : système d'interaction entre système nerveux avec ses neuromédiateurs, système endocrinien et système immunitaire.

Nous citerons les plus fréquemment décrites : cardiovasculaires, digestives, psychologiques.

4.1. Stress et pathologies psychiatriques

Les facteurs de stress psychosociaux peuvent contribuer au déclenchement ou à l'aggravation d'un trouble mental. Dans l'évaluation diagnostique du patient présentant un trouble psychique, nous retrouvons sur l'axe IV du DSM-IV les entités suivantes : problèmes avec le réseau de soutien principal (famille, couple..), problèmes liés à l'environnement social, problèmes scolaires, professionnels, domestiques, financiers, difficultés d'accéder aux soins de santé, problèmes légaux et judiciaires, autres problèmes psychosociaux et environnementaux (catastrophes naturelles, guerre...) (Fontaine *et al.*, 1996).

4.1.1. Stress et Anxiété

L'anxiété ou l'angoisse est une émotion normale survenant dans des situations nouvelles surtout lorsqu'elles sont étrangères, inattendues ou hostiles. Elle permet à l'individu de s'adapter en modifiant son comportement ou son environnement. Le seuil de tolérance à cette émotion varie d'un individu à l'autre. Elle devient pathologique lorsqu'elle est trop intense, empêchante, désorganisatrice ou lorsqu'elle se chronicise. Elle paralyse l'individu dans ses capacités à faire face ou coping. Lorsque le sujet est dépassé dans ses mécanismes d'adaptation face à une demande de l'environnement, il apparaît rapidement un état de crise. Certaines crises aboutiront à une maturation de l'être humain, d'autres ne permettront pas de réponse adaptative adéquate. Les dernières seront susceptibles de provoquer des états psychopathologiques tels que les troubles anxieux, les troubles dépressifs ou psychosomatiques (Bourgeois, 1993). Les critères diagnostiques du DSM-IV classent les troubles anxieux en onze catégories : trouble panique avec ou sans agoraphobie, agoraphobie sans antécédent de trouble panique, phobie spécifique, phobie sociale, trouble obsessionnel-compulsif, état de stress post-traumatique, état de stress aigu, anxiété généralisée, anxiété due à un trouble somatique, trouble anxieux non spécifié. Quant à elle, la réaction aux facteurs de stress psychosociaux est décrite sous forme de trouble de l'adaptation dont le caractère inadapté peut se traduire par les manifestations suivantes dans les trois mois qui suivent la confrontation aux agents stressants : humeur dépressive, humeur anxieuse, caractéristiques émotionnelles mixtes (anxio-dépressives), perturbation des conduites, perturbation mixte des émotions et des conduites, autres troubles non spécifiés.

Le trouble panique est un trouble émotionnel qui se caractérise par l'apparition inopinée et la répétition d'épisodes d'attaques de panique. L'attaque de panique se traduit par l'apparition soudaine de palpitations, sensations d'étouffement, tremblements, sueurs, nausées, malaise digestif.. accompagnés de l'impression de mourir, de perdre le contrôle de soi-même, ou de

devenir fou. Le trouble panique sera défini par la récurrence de ces attaques de panique. Le sujet développera souvent une peur importante de la récurrence : anxiété d'anticipation.

La première attaque de panique survient classiquement de manière soudaine et inopinée. Elle correspond parfois à des circonstances particulières : accident, maladie, deuil, séparation, prise de drogue... Pour de nombreux auteurs, deuils et séparations seraient des facteurs précipitants fréquemment retrouvés (Galinowski, 1993). Certains modèles expliquent que les patients anxieux posséderaient des schémas latents en rapport avec une vulnérabilité personnelle. Ces schémas pourraient être activés dans certains contextes comme les situations stressantes (Thomas-Antérion et Truche, 1998 ; Bergeret et Decourt, 1993).

Au niveau neuroendocrinien, des travaux ont rapporté une augmentation de l'activité de l'axe HHS chez des patients anxieux. Mais la répétition des attaques de panique entraînerait une diminution de cette activation. Au bout d'un certain temps d'évolution d'un trouble panique, l'axe HHS pourrait alors répondre différemment lors d'une exposition à une situation stressante (Servant et Parquet, 1995).

4.1.2. Stress et dépression

La cotation des stress psychosociaux sur l'axe IV témoigne de l'influence de ces facteurs dans la maladie dépressive.

L'étude du poids des événements vitaux dans l'apparition ou l'entretien d'un épisode dépressif met en évidence deux facteurs :

- ✓ des événements survenus précocement dans l'existence pourraient conditionner plus tard l'apparition de manifestations dépressives. Il s'agit de facteurs favorisants ou prédisposants qui sont souvent regroupés sous le terme de vulnérabilité.
- ✓ les événements de vie stressants ont un rôle dans l'apparition ou l'évolution des états dépressifs. Il s'agit de facteurs précipitants ou déclenchants.

Au niveau neuroendocrinologique, des études ont montré une activation pathologique de l'axe HHS chez certains déprimés avec une diminution de la réponse ACTH au CRF, un test à la dexaméthasone positif, une désorganisation du rythme circadien de la sécrétion du cortisol, une restauration du fonctionnement adéquat du système par les antidépresseurs. (Brochier et Olié, 1993).

4.1.3. L'état de stress post-traumatique

L'état de stress post-traumatique est un trouble anxieux dont la fréquence a augmenté de plus en plus au cours des dix dernières années. Il résulte de l'exposition à un événement

traumatique, dont la personne a été victime ou le témoin, et qui a provoqué chez elle la peur de mourir, d'être sérieusement blessée, ou de voir d'autres sujets atteints. Cette peur est en général accompagnée d'un sentiment d'impuissance ou d'horreur.

Les traumatismes peuvent être liés à des situations de guerre, de catastrophe naturelle, à des agressions, notamment à caractère sexuel, ou encore à des accidents de la circulation ou du travail. L'hospitalisation du sujet ou de l'un de ses proches, peut également être vécue comme traumatisante. Les symptômes sont peu spécifiques : céphalées, troubles du sommeil, irritabilité diffuse, humeur dépressive, manifestations anxieuses, consommation médicamenteuse, alcoolique ou toxicomaniaque, ou difficultés relationnelles ou socioprofessionnelles. L'origine commune à tous ces symptômes est une réaction à un traumatisme psychique plus ou moins récent. Toute personne subissant le choc d'un événement traumatique est apparemment susceptible de développer ensuite un état de stress post-traumatique, en situation aiguë.

En ce qui concerne le développement et l'installation d'un état chronique, quelques facteurs y prédisposent : sujet très jeune ou âgé, des antécédents traumatiques dans l'enfance (maltraitance, abus sexuel), un soutien social et familial déficient, et même des événements heureux ou considérés comme tels (mariage, naissance, promotion professionnelle) qui peuvent poser des problèmes d'adaptation.

De façon générale, tout ce qui affaiblit la résistance psychologique du sujet, ou ses ressources adaptatives, peut contribuer au développement d'un état de stress post-traumatique. Dans son évolution, il peut s'accompagner de trouble panique, phobique, obsessionnel ou dépressif, de somatisation, d'abus et dépendances alcooliques ou aux opiacés (Smaga *et al.*, 1995).

5. STRESS ET XENOBIOTIQUES

Le terme xénobiotique est utilisé pour désigner un composé étranger à l'organisme. Il peut s'agir d'un médicament, d'une drogue ou d'un produit issu de l'environnement. La déficience en butyrylcholinestérase sérique fut la première déficience enzymatique génétique découverte impliquant la réponse à un médicament. Cette enzyme est requise pour l'élimination de la succinylcholine, un relaxant musculaire utilisé en anesthésie. Sa déficience, dont l'incidence est de 1 sur 3500 individus, est caractérisée par une relaxation musculaire prolongée (des heures au lieu de minutes) suite à l'injection de succinylcholine.

Le polymorphisme du gène responsable de l'acétylation de l'isoniazide par la N-acétyltransférase 2 (NAT2) a été démontré en 1950. Il existe en effet des différences interindividuelles importantes dans la vitesse d'élimination de cet anti-inflammatoire qui peuvent s'expliquer par des différences dans la vitesse de son acétylation. En Europe et en Amérique, 40 % à 70 % des sujets caucasiens sont des acétylateurs lents alors que chez les asiatiques, les acétylateurs lents ne représentent que 10 % à 30 % de la population. Les acétylateurs lents sont plus à risque de développer une neuropathie périphérique lors d'un traitement à l'isoniazide ou un lupus érythémateux lors d'un traitement à la procainamide ou à l'hydralazine (Oscarson, 2003). De plus, nous verrons plus loin, qu'ils sont aussi plus à risque de développer un cancer de la vessie suite à l'exposition aux amines aromatiques présentes dans la fumée de cigarette et possiblement dans l'environnement (Thier *et al.*, 2003).

Donc des variations importantes dans le métabolisme des xénobiotiques semblent être à l'origine de plusieurs variations interindividuelles dans la façon dont l'organisme dispose de ces produits. De plus, plusieurs interactions médicamenteuses et plusieurs interactions entre la diète et la prise de médicaments pourraient s'expliquer par des variations génétiques ou phénotypiques dans le métabolisme des xénobiotiques. La pharmacogénétique est donc devenue un point majeur d'intérêt en pharmacologie clinique et en toxicologie environnementale.

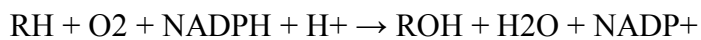
5.1. Métabolisme des xénobiotiques

Le métabolisme des xénobiotiques, comparé au métabolisme intermédiaire, est beaucoup moins spécifique, sa spécificité étant dirigée vers un groupe chimique plutôt que vers un composé chimique. Le métabolisme des xénobiotiques est généralement divisé en deux étapes. La première étape, dite de phase 1, représente des modifications simples à la molécule d'origine, l'hydroxylation étant la transformation la plus fréquente. Des désaminations, déshalogénations, désulfurations, époxydations, peroxygénations et réductions peuvent aussi faire partie de cette première étape. Les métabolites qui en résultent sont souvent nombreux (c'est le cas pour les immunosuppresseurs) et peuvent posséder à divers degrés l'activité de la molécule mère. Pour les substances de l'environnement, cette étape représente souvent la transformation d'une molécule inoffensive en une molécule cancérigène. Les réactions de phase 2 qui suivent les réactions de phase 1 se produisent souvent sur un groupe chimique introduit lors des réactions de phase 1. Ce sont le plus souvent des réactions de conjugaison, c'est-à-dire l'association via un lien covalent de la molécule mère ou d'un de ses métabolites à une autre molécule produisant ainsi un composé plus soluble pouvant s'éliminer plus facilement dans l'urine ou la bile. Les molécules d'association sont l'acide glucuronique, les

sulfates, les acétates, le glutathion et quelques acides aminés. Les réactions de phase 2 peuvent aussi comprendre des hydrolyses et des méthylations.

5.2. Isoformes du cytochrome P450 (CYP)

La réaction de phase 1 la plus étudiée à ce jour est certainement la réaction d'hydroxylation. Elle est catalysée par une classe d'enzymes, les mono-oxygénases ou enzymes du cytochrome P450 (CYP), et peut être décrite par la réaction générale suivante :



Ces enzymes sont des protéines hémiques présentes en grande quantité dans le réticulum endoplasmique lisse des hépatocytes, des entérocytes et des surrénales. Elles ne peuvent utiliser le NADH et les gènes codant pour ces protéines sont connus et présentent un haut degré de polymorphisme.

Les isoformes du CYP issues de ces allèles ne sont pas toutes aussi actives pour métaboliser les xénobiotiques. En plus du polymorphisme génétique, plusieurs autres facteurs influencent l'activité de ces enzymes dont l'âge, le sexe, les espèces, l'origine ethnique et plusieurs autres molécules qui peuvent être des inhibiteurs de leur activité ou des inducteurs de leur synthèse. Le génotypage ou le phénotypage du CYP pourrait permettre d'identifier des métaboliseurs lents ou rapides d'un médicament donné et permettre de prévoir les doses les plus appropriées afin d'éviter des réactions indésirables ou des intoxications.

L'identification de certains allèles prédisposant à une susceptibilité particulière face à certaines formes de cancer induites par des produits chimiques présents dans le milieu de travail ou de façon plus générale dans l'environnement permettrait de limiter les doses d'exposition chez les porteurs de ces allèles. Actuellement, des études ont démontré l'utilité clinique du génotypage des allèles du CYP dans le traitement aux antidépresseurs, aux anticoagulants ou aux antinéoplasiques pour prédire les effets indésirables et les interactions médicamenteuses ainsi que pour prévoir une sensibilité accrue aux produits de la fumée du tabac, aux solvants organiques ou autres polluants de notre environnement (Bernard, 2004).

5.3. Pharmacogénétique et toxicologie de l'environnement

Il existe une théorie selon laquelle la plupart des substances cancérigènes présentes dans l'environnement seraient activées en métabolites toxiques par une réaction du métabolisme (Conney, 2003). Les enzymes de phase 1 du métabolisme des xénobiotiques seraient, selon cette théorie, impliquées dans l'activation de produits toxiques, tandis que les enzymes de phase 2 (époxyde hydrolase, glutathion S-transférases, sulfo-transférases, UDP-glucuronosyl transférases) seraient responsables de l'élimination des xénobiotiques et de leurs métabolites toxiques. Ce serait un changement dans la balance entre ces deux actions

opposées qui déterminerait l'apparition d'une toxicité ou d'une maladie telle que le cancer .Le lien entre certains allèles des gènes associés aux enzymes du métabolisme des xénobiotiques et les cancers environnementaux est très difficile à établir par des études cliniques qui ne confirment pas toujours la théorie.

6. LE STRESS OXYDANT

6.1. Les dérivés actifs de l'oxygène

6.1.1. Définition

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécule possédant un électron non apparié (célibataire) sur l'orbitale externe. Cette caractéristique lui confère une réactivité importante : les radicaux libres réagissent avec des molécules plus stables pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade. Dans certaines conditions métaboliques, la réduction de l'oxygène (O_2) est incomplète et aboutit à la formation de radicaux libres. Actuellement, on emploie le terme de **dérivés actifs de l'oxygène** ou ROS (Fig. 9) pour désigner un ensemble plus large de molécules :

- des radicaux oxygénés caractérisés par un électron non apparié (l'anion superoxyde O_2^- , les radicaux hydroxyles OH^\cdot , peroxyde ROO^\cdot , alkoxyde RO^\cdot)
- des dérivés de l'oxygène non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singulet (1O_2) ou l'ozone (O_3) fortement oxydants et/ou facilement convertis en radicaux.

Toutes ces espèces oxygénées sont formées en faible quantité dans les conditions physiologiques (au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale, lors de réactions inflammatoires) mais elles sont éliminées rapidement par le système antioxydant cellulaire. Lorsque leur production augmente et/ou lorsque les défenses antioxydantes ne sont plus suffisantes face à cette production, les ROS peuvent attaquer différentes cibles cellulaires (lipides, protéines, glucides, ADN...) causant des dommages multiples et pouvant entraîner la mort de la cellule.

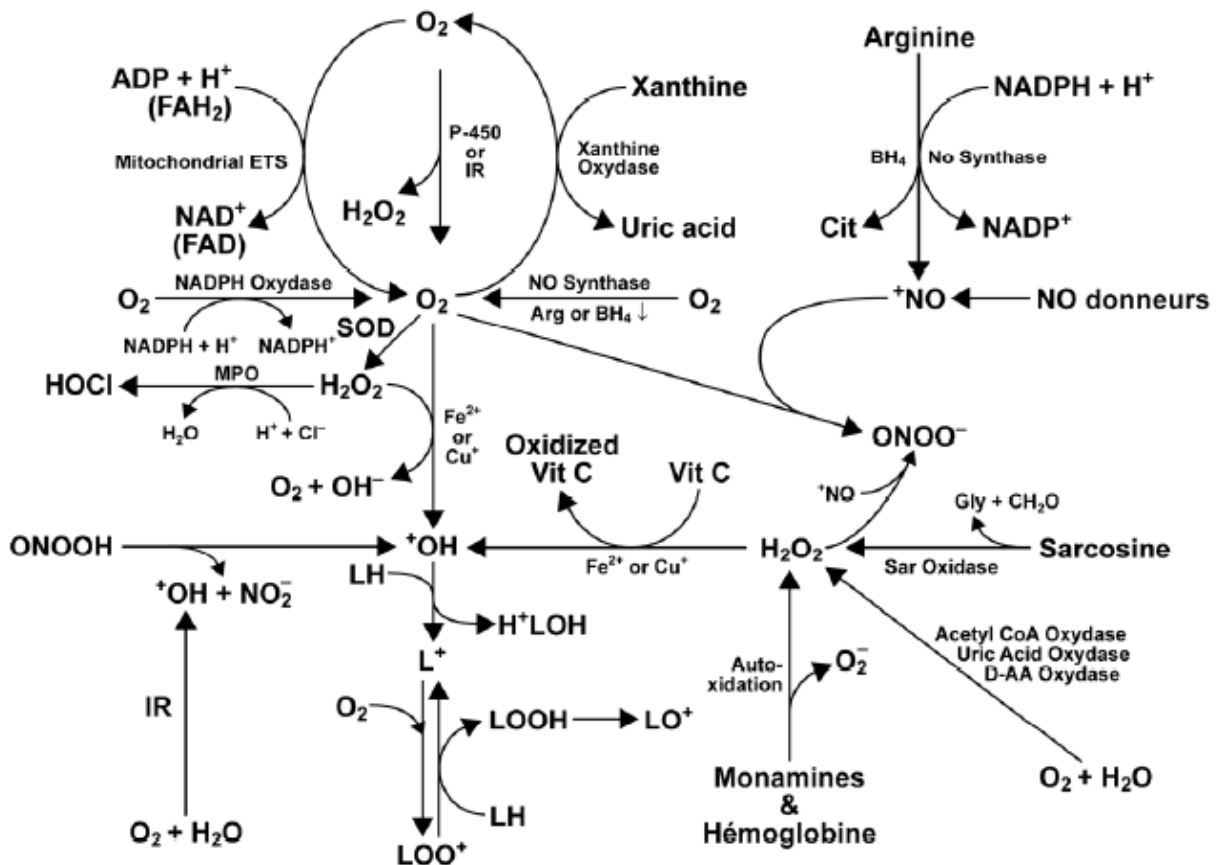


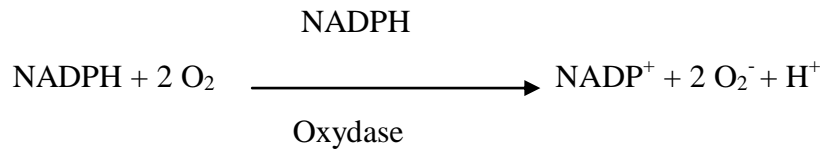
Figure 9 : Productions des radicaux libres oxygénés (ROS) et azotés (RNS) et autres espèces réactives dans les cellules des mammifères.

AA : acides aminés ; Arg : L-arginine ; BH₄ : (6R)-5,6,7,8-tétrahydro-L-bioptérine ; CH₂O : formaldéhyde ; Cit : L-citrulline ; DQ : diquat ; ETS : système de transport d'électrons ; FAD : dinucléotide flavine adénine (oxydé) ; FADH₂ : dinucléotide flavine adénine (réduit) ; Gly : glycine ; H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène ; HOCl : acide hypochloreux ; H[•]LOH : radical lipidique hydroxy ; LOOH : hydroperoxyde lipidique ; MPO : myéloperoxydase ; NAD⁺ : dinucléotide nicotinamide adénine (oxydé) ; NADH : dinucléotide nicotinamide adénine (réduit) ; NADP⁺ : dinucléotide nicotinamide adénine phosphate (oxydé) ; NADPH : dinucléotide nicotinamide adénine phosphate (réduit) ; $\bullet NO$: oxyde nitrique ; O₂⁻ : radical anion superoxyde ; $\bullet OH$: radical hydroxyle ; ONOO⁻ : peroxydinitrite ; P-450 : cytochrome P-450 ; PDG : glutaminase sulfate dépendante ; Sar : sarcosine ; SOD : superoxyde dismutase ; Vit C : vitamine C ; Vit E : vitamine E (α-tocophérol)

6.1.2. Formation des dérivés actifs de l'oxygène

Les ROS peuvent être formés dans la cellule par des voies non enzymatiques ou enzymatiques, la principale source étant la réduction d'une molécule d'O₂ en radical anion superoxyde (O₂⁻). Cette réaction semble surtout catalysée par des NADPH oxydases

membranaires (Wolin, 1996), qui sont généralement des chaînes de transport d'électrons constituées de flavoprotéines, cytochromes et quinones, la réaction globale est la suivante :



L' O_2^- peut également être formé dans certains organites cellulaires tels que les peroxysomes, via la conversion de l'hypoxanthine en xanthine, puis en acide urique, catalysée par la xanthine oxydase, et les mitochondries lors d'un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire (Wolin, 1996). Une fois formé, O_2^- peut être neutralisé par un H^+ et transformé en radical hydroperoxyde ($\text{HOO}\cdot$) ou réagir avec le $\text{NO}\cdot$ (diminuant ainsi la disponibilité de $\text{NO}\cdot$ et donc la vasorelaxation endothélium-dépendante) pour former l'anion peroxynitrite (ONOO^-). Celui-ci peut nitrer des protéines au niveau des résidus tyrosines ou engendrer un radical nitrite $\text{NO}_2\cdot$ et le radical hydroxyle ($\text{HO}\cdot$) (Fig. 10).

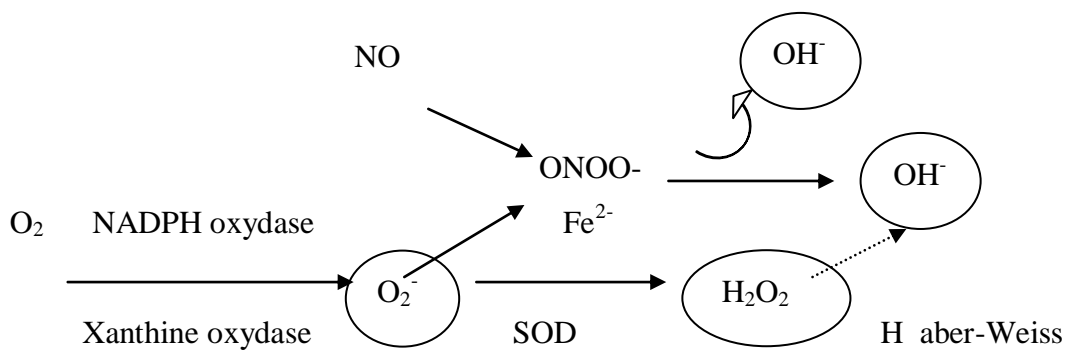
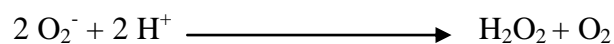


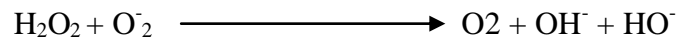
Figure10 : Production de ROS dans la cellule

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est une espèce stable, mais diffusible et avec une durée de vie compatible avec une action à distance de son lieu de production. Le peroxyde d'hydrogène est formé secondairement par la dismutation de l'anion superoxyde :

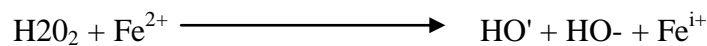


La dismutation de O_2^- spontanée ou catalysée par les superoxydes dismutases est la source majeure de H_2O_2 . De plus, H_2O_2 est aussi produit *in vivo* par différentes oxydases, incluant les aminoacides oxydases et la xanthine oxydase. H_2O_2 n'est pas un radical libre mais a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs. Le H_2O_2 peut être réduit suivant la réaction

d'Haber-Weiss engendrant alors un ion OH⁻ inoffensif et un radical hydroxyle HO' plus agressif :



Cette réaction est lente et probablement inopérante dans les tissus vivants. En revanche, la réaction de Fenton, qui nécessite l'intervention d'ions Fe²⁺, se produit *in vivo*. Elle met en jeu la capacité du peroxyde d'hydrogène à oxyder des composés aromatiques en présence de fer :



Le radical hydroxyle a une demi-vie extrêmement courte et une capacité à diffuser restreinte. Il peut réagir avec un certain nombre de molécules comme les lipides organiques en enlevant ou en ajoutant une molécule d'hydrogène sur les liaisons insaturées.

Parmi les ROS, les radicaux HO' sont de loin les plus réactifs mais leur demi-vie est très courte (10⁻⁹ s). Au contraire, les O₂⁻ ont une demi-vie plus longue (qui dépend surtout de la présence de la SOD) et bien que beaucoup moins réactifs, ils peuvent être aussi destructeurs que les HO'.

6.2. Les cibles des dérivés actifs de l'oxygène

6.2.1. Les cibles lipidiques

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des ROS radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé, c'est à dire dégradé par un processus oxydant non enzymatique.

A- La peroxydation non enzymatique (Fig. 11)

Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires organisées en trois phases successives : l'initiation, la propagation et la terminaison (Halliwell et Gutteridge, 1989). La phase d'initiation consiste en la création d'un radical d'acide gras R' à partir d'un acide gras RH par soustraction d'un atome d'hydrogène (H'). Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que HO' ou HOO'. Le radical lipidique R' subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical avec une structure de diène conjugué, plus stable, qui peut réagir avec une molécule d'O₂ et former un radical peroxyde (ROO'). Ce

radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un R à un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction. L'hydroperoxyde lipidique (ROOH) formé peut être oxydé en présence de Fe^{2+} ou Cu^{1+} et entraîner la formation d'alcanes et d'aldéhydes. La réaction en chaîne peut être heureusement interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante.

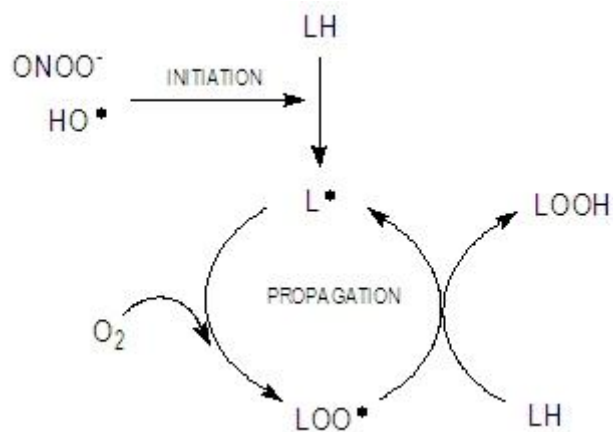


Figure 11 : La peroxydation lipidique non enzymatique

B- Les conséquences de la peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique spontanée s'avère toujours néfaste. Dans les conditions physiologiques normales, elle reflète la toxicité de l'oxygène et a plusieurs conséquences (Halliwell et Gutteridge, 1989 ; Kuhn et Borchert, 2002) :

- la présence d'un groupement peroxyde perturbe les interactions hydrophobes lipides/lipides et lipides/protéines, ceci conduit à des altérations structurales des membranes et des lipoprotéines.
- la fluidité des membranes est diminuée et la perméabilité est augmentée, des enzymes et des récepteurs membranaires sont susceptibles d'être inactivés.
- les hydroperoxydes lipidiques sont à leur tour la source de radicaux libres qui peuvent induire des modifications secondaires des autres membranes et/ou des constituants des lipoprotéines.

Ceci met en péril l'intégrité des organites et/ou de la cellule et peut conduire à une lyse des organites comme de la cellule.

La peroxydation lipidique spontanée exerce par ailleurs une toxicité propre liée aux aldéhydes issus de la dégradation des formes lipoperoxydées instables. Les plus importants quantitativement sont les 4-hydroxyalkénals. Ce sont des agents allant très puissants qui peuvent former des composés d'addition avec les résidus cystéine des protéines et du glutathion, des bases de Schiff avec les groupements aminés des protéines, des PE et des PS (Pré, 1991). Les aldéhydes comme le 4-hydroxy-2,3-nonéanal (4-HNE) ou le dialdéhyde malonique (MDA) peuvent former des adduits avec les protéines au niveau des résidus lysine, histidine ou cystéine, entraînant la formation de bases de Schiff et des pontages intra et inter moléculaires (Requena *et al.*, 1996). Une cyclooxygénation non enzymatique de l'acide arachidonique aboutit à la formation de produits particuliers : les isoprostanes. Le dosage de ces isoprostanes ou du MDA permet généralement d'évaluer la peroxydation lipidique.

La cytotoxicité de la peroxydation lipidique peut être attribuée aux espèces radicalaires qu'elle génère et aux aldéhydes qui en sont issus par des réactions de coupure. Cependant, le processus de peroxydation lipidique, lorsqu'il est contrôlé et restreint à certains compartiments cellulaires, a des effets bénéfiques pour les cellules et l'organisme entier. C'est le cas du processus de peroxydation enzymatique, indispensable à l'organisme, qui conduit à la formation d'eicosanoïdes très divers et biologiquement actifs.

6.2.2. Les cibles non lipidiques

La production excessive de radicaux libres est responsable de lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des glucides), mais aussi de lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des produits libérés, notamment lors de l'oxydation des lipides.

Les **acides aminés** comme la méthionine, la lysine et les acides aminés aromatiques peuvent être oxydés de façon irréversible, ce qui modifie la structure des protéines et peut altérer leur antigénicité ou leur activité. Les protéines modifiées deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées. L'oxydation de la cystéine est réversible mais peut également perturber les fonctions biologiques du glutathion (GSH) ou de certaines protéines (Davies *et al.*, 1999).

Les ADN nucléaire et mitochondrial constituent une cible cellulaire importante. Les attaques radicalaires au niveau des désoxyriboses ou des bases puriques et pyrimidiques peuvent conduire à leur oxydation ainsi qu'à des coupures mono- ou double-brin de l'ADN, responsables éventuellement de mutations pouvant aboutir à la mort cellulaire (Imlay et Linn, 1988 ; Zastawny *et al.*, 1998). De puissants systèmes de réparation (glycosylases, endonucléases) permettent d'assurer dans la plupart des cas la conservation du génome.

Le **glucose** peut s'oxyder dans des conditions physiologiques en présence de traces métalliques en libérant des cétoaldéhydes, H₂O₂ et HO'. Son oxydation entraîne la coupure de protéines et leur glycation par attachement du cétoaldéhyde (Wolff *et al.*, 1989).

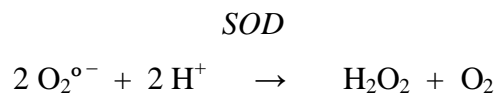
3. Les systèmes de protection

3.1. Les antioxydants enzymatiques

Une part importante des défenses antioxydantes cellulaires est composée des enzymes suivantes : les superoxydes dismutases, la catalase et les glutathion peroxydases.

3.1.1. Les superoxyde dismutases

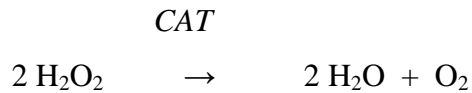
Les superoxydes dismutases ou SOD (EC 1.15.1.1) sont des enzymes ubiquitaires catalysant la dismutation des anions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire selon la réaction suivante :



Ces enzymes accélèrent la vitesse de cette réaction spontanée rendant très rapide la disparition du superoxyde mais en générant le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est un composé oxydant mais peut être ultérieurement catabolisé par la catalase et les glutathion peroxydases. Trois formes ont été décrites chez les mammifères (Fridovich, 1995) : la SOD à cuivre/zinc présente dans le cytoplasme, la SOD à manganèse présente dans les mitochondries et une SOD extracellulaire caractérisée au niveau de la lymphe et du plasma : c'est une SOD à cuivre/zinc. Elles catalysent la même réaction mais diffèrent par leurs masses moléculaires, leurs séquences en acides aminés et leurs localisations. Les plaquettes de sujets sains contiennent environ 5 U de SOD (Blondeau *et al.*, 1987). L'unité enzymatique correspond à la quantité d'enzyme inhibant 50% de la réduction du ferricytochrome c.

3.1.2. La catalase

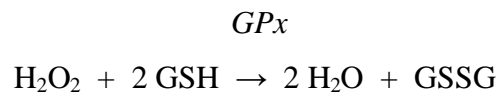
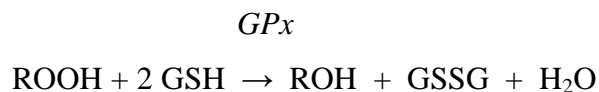
La catalase ou CAT (EC 1.11.1.6) est une protéine hémique qui catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire selon la réaction suivante :



La catalase se trouve dans les hématies et dans les peroxysomes de nombreux tissus et cellules. Cette compartimentation l'empêche d'être un accepteur pour l' H_2O_2 formé dans le cytosol et les mitochondries. L'activité de la catalase plaquettaire est estimée à environ 2 U (Blondeau *et al.*, 1987). L'unité étant définie comme la quantité d'enzyme qui décompose 1 μmole de peroxyde d'hydrogène par minute.

3.1.3. Les glutathion peroxydases

Les glutathion peroxydases présentes dans la plupart des tissus de mammifères, catalysent la réduction par le glutathion du peroxyde d'hydrogène et de divers hydroperoxydes lipidiques produits. Les réactions mises en jeu sont les suivantes :



Plusieurs types de GPx ont été décrits :

Deux GPx intracellulaires, la GPx1 ou cGPx pour l'enzyme cellulaire cytosolique et la GPx4 ou PHGPx « Phospholipid Hydroperoxide Glutathione Peroxidase » spécifique des hydroperoxydes contenus dans les phospholipides, une GPx plasmatique ou GPx3, une forme tissulaire spécifique gastro-intestinale ou GPx2.

A l'activité sélénio-dépendante, il faut ajouter les GSH-S-transférases, protéines sans sélénium. Ces protéines possèdent une activité GPx vis-à-vis de certains substrats mais différent des GPx par leurs séquences protéiques (Prohaska et Ganther, 1976). Enfin, Ghyselinck et al.

(1990) ont décrit la GPx5 ou MEP 24 « Mouse Epididymal Protein » sécrétée dans l'épididyme de la souris ; elle a également été identifiée chez l'Homme (Hall *et al.*, 1998).

6.3.2. Les antioxydants non enzymatiques

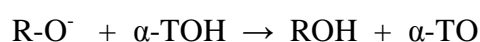
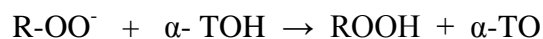
Certaines substances ont la propriété de piéger et de détruire les espèces oxygénées réactives. Il s'agit de composés facilement oxydables présents dans le cytoplasme (glutathion, acide ascorbique) ou dans les membranes cellulaires (a-tocophérol, caroténoïdes).

A- Les antioxydants liposolubles

Situés essentiellement au niveau des membranes cellulaires et des lipoprotéines plasmatiques circulantes, ces antioxydants sont capables grâce à leur structure chimique, de réagir directement avec les ROS et d'inhiber ainsi la peroxydation lipidique. Les principaux antioxydants liposolubles appartiennent à la famille des tocophérols ou des caroténoïdes.

La **vitamine E** désigne sous un terme générique l'ensemble des différents tocophérols (la molécule de tocol constituant la structure de base), et des différents tocotriénols. Elle est constituée d'un noyau 6-chromanol sur lequel est fixée une chaîne phytyle entièrement saturée. Les différents tocophérols se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le cycle phénolique. La chaîne aliphatique confère à la vitamine E sa liposolubilité et permet son incorporation dans les membranes cellulaires. La vitamine E est le principal agent antioxydant des membranes cellulaires en les protégeant contre les dégradations oxydatives (Burton et Ingold, 1986). Elle bloque la chaîne de propagation en captant les radicaux alkoxyles et peroxyles générés lors de la peroxydation.

Les tocophérols α , β , γ et δ détruisent les radicaux peroxyles ROO' et alkoxyles RO' grâce au groupement hydroxyle de leur cycle aromatique en formant des hydroperoxydes lipidiques et le radical tocophéryle. Les réactions peuvent être résumées de la façon suivante :



Le radical tocophéryle est peu réactif et n'induit pas de nouvelles réactions radicalaires. Le tocophérol peut être régénéré par la vitamine C (Stahl et Sies, 1997), le GSH (Chan *et al.*, 1991) et l'ubiquinone (Ernster *et al.*, 1992). L' α -tocophérol est l'isomère le plus abondant et

possède l'activité antioxydante la plus forte (Drevon, 1991) ; d'après Burton et Ingold (1986), l'ordre d'efficacité des tocophérols est la suivante : $\alpha > \beta > \gamma = \delta$.

Quant aux **caroténoïdes**, ils forment une grande famille de polyènes conjugués pigmentaires (famille du carotène) aux capacités antioxydantes similaires à celles des tocophérols. Grâce à leur longue chaîne carbonée, riche en doubles liaisons, ils sont d'excellents piègeurs de radicaux peroxydes et d'oxygène singulet. Une molécule de caroténoïde peut piéger plusieurs espèces radicalaires avant d'être finalement détruite (Stahl et Sies, 1997).

B- Les antioxydants hydrosolubles

Ce sont de petites molécules qui peuvent piéger directement des espèces radicalaires ou limiter leur formation. La vitamine C et le GSH sont les principaux antioxydants hydrosolubles du compartiment intracellulaire.

La **vitamine C** (acide ascorbique), apportée par l'alimentation chez l'Homme, est présente dans la cellule au niveau du cytoplasme et des lysosomes. Elle peut directement réagir avec des espèces oxygénées réactives comme HO^\bullet ou O_2^\bullet et former le radical semi-déshydroascorbate peu réactif, qui est rapidement oxydé en acide déshydroascorbique. La vitamine C inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E. Cependant, à forte dose et en présence de quantité importante de fer, elle peut devenir prooxydante.

Les **groupements thiols** (au sein des résidus cystéines des protéines ou des petits peptides) dans leur forme réduite peuvent également piéger des radicaux libres.

Les **oligo-éléments** (Cu, Zn, Se, Mn, Cr) ont aussi des propriétés antioxydantes. Ils servent notamment de cofacteurs aux enzymes antioxydantes.

6.4. Le glutathion

Le glutathion ou L- γ -glutamyl-L-cystéinyglycine (Fig. 12) est un tripeptide dont les propriétés réductrices et nucléophiles jouent un rôle majeur dans la protection contre les altérations oxydantes des lipides, des protéines et des acides nucléiques. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de cosubstrat des GPx et des GSH-S-transférases. Mais il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydante tels que la vitamine C, la vitamine E et les superoxyde dismutases.

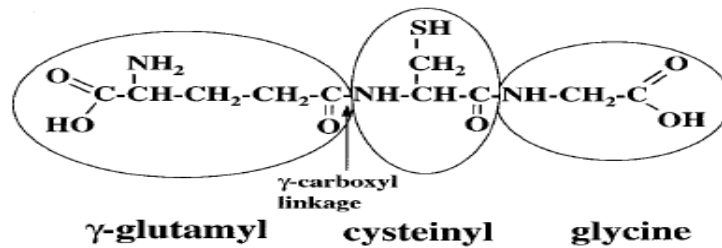


Figure 12 : Structure du glutathion

6.4.1. Généralités

Le glutathion est présent dans les tissus animaux, dans les plantes et les microorganismes. Deux pools de glutathion intracellulaire, de demi-vies différentes, ont été mis en évidence dans le foie : le pool cytosolique est labile tandis que le pool mitochondrial est stable. Dans la plupart des cellules animales, la concentration de glutathion réduit est comprise entre 0,5 et 10 mM alors que sa concentration plasmatique est 1000 fois plus faible (0,5 à 10 μM) (Gérard-Monnier et Chaudière, 1996).

6.4.2. Métabolisme du GSH

Le **cycle du γ -glutamyl** est le cycle de synthèse et de dégradation du GSH (fig. 13). Il implique de nombreuses réactions enzymatiques (Meister et Anderson, 1983 ; Meister, 1988). La synthèse du GSH est intracellulaire et dépendante de l'ATP. Le GSH est synthétisé par l'action séquentielle de la γ -glutamylcystéine synthétase (ou glutamate-cystéine ligase, EC 6.3.2.2) et de la GSH synthétase (EC 6.3.2.3). La γ -glutamylcystéine synthétase est régulée négativement par le GSH, cette enzyme est l'enzyme limitante de la synthèse du GSH.

La **dégradation du GSH** est extracellulaire et est catalysée par la γ -glutamyl transpeptidase (γ -glutamyl transférase, EC 2.3.2.2). Unique enzyme à agir sur la liaison γ -peptidique, elle conduit à la formation de cystéinylglycine (Cys-Gly) ; le clivage en cystéine et glycine peut être réalisé par deux enzymes : une dipeptidase et l'aminopeptidase M (enzymes liées aux surfaces externes des membranes cellulaires).

La γ -glutamyl transpeptidase peut agir sur le GSH, le glutathion oxydé GSSG et les conjugués du GSH. Cette transpeptidation qui a lieu en présence d'acides aminés, conduit à la formation de γ -glutamyl-aminoacide (γ -Glu-aa). La cystine est l'accepteur le plus actif, les acides aminés neutres comme la méthionine et la glutamine sont également des bons accepteurs. Les γ -glutamyl-aminoacides formés sont transportés à l'intérieur des cellules et, à la différence du GSH, sont substrats pour la γ -glutamyl cyclotransférase (EC 2.3.2.4) qui convertit les γ -glutamyl-aminoacides en 5-oxoproline et en acides aminés libres (an). La 5-oxoproline est

convertie en glutamate par la 5-oxoprolinase (EC 3.5.2.9), enzyme consommant de l'ATP. La γ -glutamyl-cystine peut également être réduite, pour former à l'intérieur de la cellule la cystéine et la γ -glutamylcystéine qui sont respectivement substrats de la γ -glutamylcystéine synthétase et de la GSH synthétase.

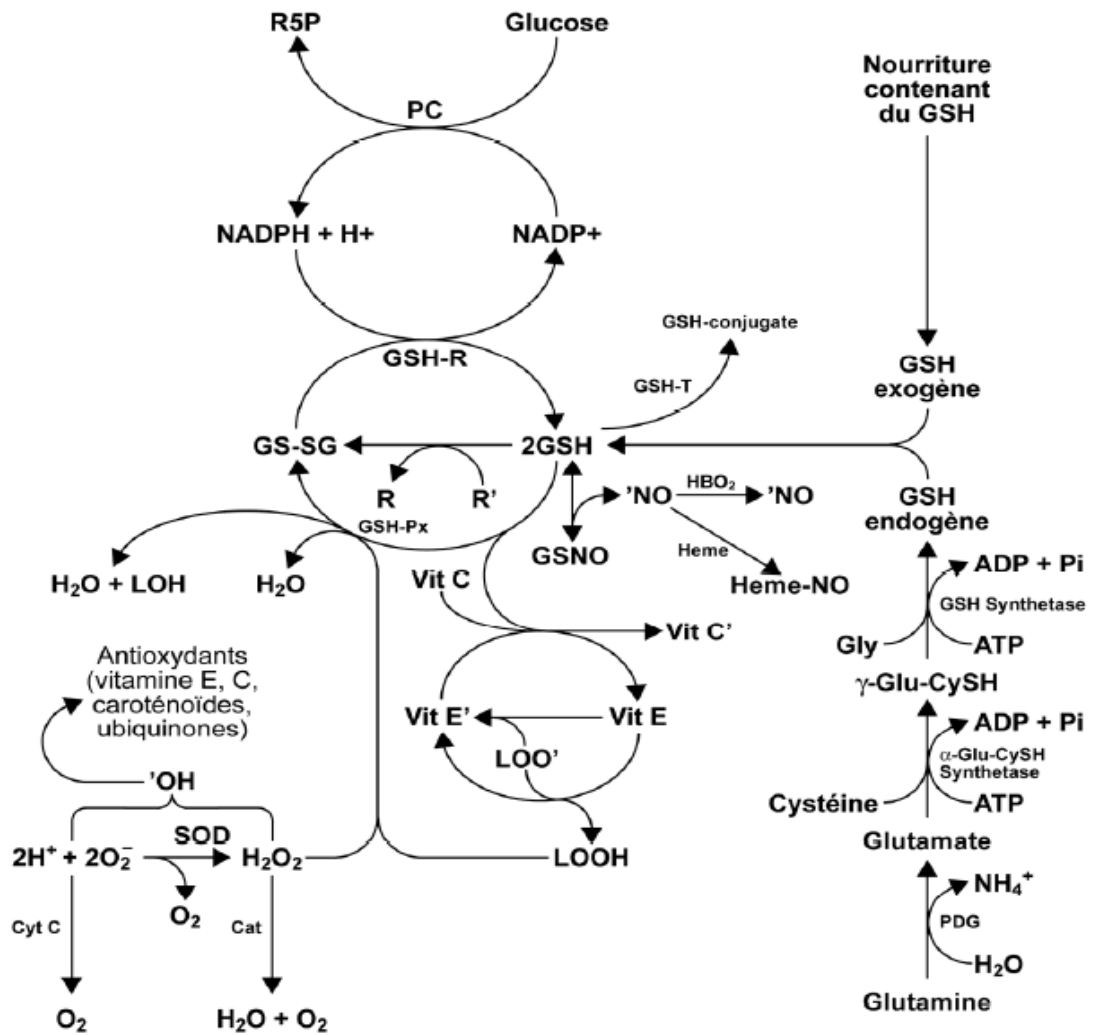


Figure 13: Métabolisme du glutathion. Élimination des radicaux libres oxygénés et azotés et autres espèces réactives dans les cellules de mammifères.

ADP : adénosine triphosphate ; BH₄ : (6R)-5,6,7,8-tétrahydro-L-bioptéine ; Carn : carnosine ; Cat : catalase ; Cit : citrulline ; Cyt C : cytochrome C ; ETS : système de transport des électrons ; Glu : Lglutamate ; Gly : glycine ; γ -Glu-CySH : γ -glutamyl-cystéine ; GS-SG : glutathion oxydé ; GSH : glutathion (réduit) ; GSH-Px : glutathione peroxydase ; GSH-R : glutathione réductase ; GSH-T : glutathione-S-transférase ; GSNO : glutathion nitrosylaté ; HbO₂ : oxyhemoglobine ; Heme-NO : oxyde nitrique dans le groupement hème ; His : histidine ; LOH : alcool lipidique ; LOO^o radical lipidique peroxy ; LOOH : hydroperoxyde lipidique ; ^oNO : oxyde nitrique ; NO₃ - nitrate ; O₂⁻ : anion superoxyde radicalaire ; ONOO⁻ : peroxydinitrite ; PC : cycle pentose ; R^o : radicalaire ; R : non-radicalaire ; R5P : ribulose 5-phosphate ; SOD : superoxyde dismutase ; Tau : taurine ; Vit C : vitamine C ; Vit C^o : vitamine C radicalaire ; Vit E : vitamine E (α -tocophérol) ; Vit E^o : vitamine E radicalaire.

6.4.3. Les fonctions du GSH

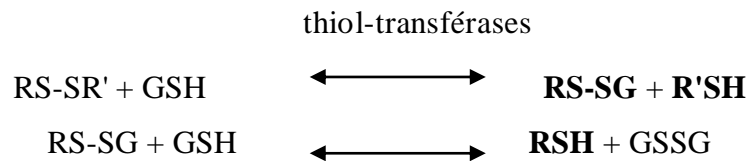
Outre le rôle de réserve et le transport de cystéine, le glutathion est un antioxydant majeur de la cellule, grâce à sa concentration élevée et du fait qu'il est le substrat d'importantes enzymes de défense. Dans les conditions normales, le glutathion sous forme réduite (GSH) représente entre 90 et 98% du glutathion total.

4.3.1. Maintien de l'équilibre thiols/disulfures (Wang et Ballatori, 1998)

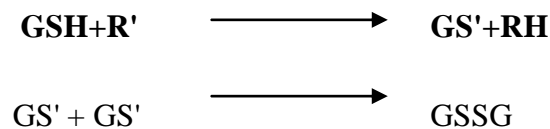
Le GSH est un agent de défense capital contre les ROS, particulièrement dans la mitochondrie qui est un site majeur pour la synthèse de ces espèces toxiques (dont le radical anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$ et le peroxyde d'hydrogène H_2O_2). Le maintien du taux de GSH cellulaire est crucial car les mitochondries ne possèdent pas les enzymes nécessaires à sa synthèse et importent le GSH cytosolique. La catalase n'étant présente que dans les peroxysomes, le GSH mitochondrial et les GPx constituent le principal moyen de défense contre le peroxyde d'hydrogène et les autres espèces toxiques. Les GPx catalysent la réduction d'hydroperoxydes lipidiques (ROOH) en particulier ceux générés au cours du métabolisme de l'acide arachidonique et des hydroperoxydes de phospholipides (PL-OOH) dans le cas de la GPx4. Les hydroperoxydes sont cytotoxiques et leur réduction enzymatique empêche l'initiation de chaînes d'oxydation radicalaires. Ces réactions contribuent à la protection des lipides membranaires et des protéines contre les espèces oxydantes. Au cours de ces réactions, le GSH est oxydé en GSSG qui est, à son tour, rapidement réduit par la GSSG-réductase. Celle-ci consomme du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH). Ces réactions constituent un cycle redox :

Dans des conditions physiologiques normales, la GSSG-réductase assure la conversion du GSSG et le maintien du glutathion sous sa forme réduite. Un stress oxydant ou la diminution de l'activité GSSG-réductase peut conduire à une diminution du rapport $[GSH] / [GSSG]$ dans le cytoplasme. Pour maintenir l'équilibre redox, la cellule peut exporter activement le GSSG (Sies et Akerboom, 1984). L'exportation de GSSG tend à normaliser ce rapport et protège ainsi les cellules du stress oxydant. L'efficacité du système d'exportation du GSSG et des conjugués du GSH pourrait être un facteur modulant la sensibilité des cellules au stress oxydant (Schafer and Buettner, 2001). On peut souligner que, contrairement aux membranes plasmiques, la membrane mitochondriale n'a pas la capacité d'excréter le GSSG en situation de stress oxydant (Olafsdottir *et al.*, 1988).

Le maintien des cystéines à l'état réduit est parfois essentiel pour la conservation de l'activité enzymatique des protéines. Le GSH est susceptible d'assurer cette fonction en réduisant les groupements disulfures formés via les thiol-transférases :



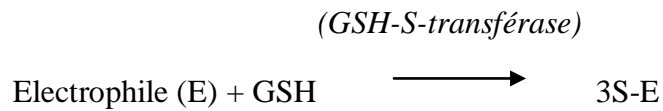
Le GSH interagit avec d'autres partenaires antioxydants tels que la vitamine C, la vitamine E et les superoxyde dismutases. Il est capable de piéger les radicaux libres. En réagissant avec un radical libre, il s'oxyde et forme finalement une molécule de GSSG :



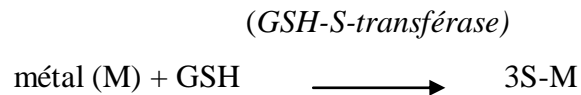
A l'exception des érythrocytes, la plupart des cellules sont munies d'un système d'exportation du GSH. L'exportation du GSH sert de système de transport d'acides aminés et permet la récupération de cystéines susceptibles d'être réutilisées pour la synthèse de GSH. Le GSH représente une forme de transport et de stockage de la cystéine, acide aminé très toxique sous forme libre. Le foie est le seul organe capable d'utiliser le soufre de la méthionine pour synthétiser la cystéine à partir de la sérine. Le GSH hépatique constitue donc une réserve de cystéine. Par conséquent, l'excrétion du GSH hépatique dans le plasma contrôle l'apport de cystéine aux autres organes et ainsi la synthèse de GSH. La régulation du transport hépatique du GSH a une grande importance physiologique. Il existe néanmoins des sources de cystéine plasmatique qui peuvent être utilisées par les tissus extra-hépatiques : en particulier, la cystine (concentration plasmatique 70 μM) et la cystinylglycine (concentration plasmatique 11 μM) sont les plus présentes (Gérard-Monnier et Chaudière, 1996).

4.3.2. Conjugaison à des espèces électrophiles et des métaux

Le GSH peut également réagir avec un grand nombre de composés électrophiles et former des espèces conjuguées. Ces réactions peuvent être spontanées ou catalysées par les GSH-S-transférases. Le devenir de ces composés (métabolisme et transport) varie selon la nature de l'espèce conjuguée au GSH (Jakoby, 1978 ; Wang et Ballatori, 1998) :



Par l'intermédiaire de son groupement thiol, le GSH peut également former des complexes métalliques via des réactions non enzymatiques (Ballatori, 1994). Par conséquent, le GSH peut jouer le rôle de stockage et de transport au travers des membranes cellulaires d'ions métalliques :



Enfin, de nombreux composés endogènes électrophiles peuvent réagir avec le GSH et former des adduits. C'est le cas, par exemple, des leucotriènes C4 (Nicholson *et al.*, 1993), des 4-hydroalkénals (Cadenas *et al.*, 1983). Ces composés peuvent être cytotoxiques mais peuvent aussi conduire à la formation d'intermédiaires biologiques essentiels (Wang et Ballatori, 1998).

Matériel et Méthodes

1. ELEVAGE

Les animaux utilisés dans notre expérimentation sont des rats blancs mâles adultes *Ratus ratus* de la souche Wistar. Ils proviennent de l'institut pasteur d'Alger et pèsent 300 ± 50 g chacun. Dès leur arrivés, les animaux sont élevés dans des cages de polyéthylène faciles à nettoyer ; ces dernières sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois que l'on change tous les 2 jours. En raison de l'extrême susceptibilité de l'animal à toutes sortes d'agressions, nous avons attaché la plus grande importance à l'environnement et aux conditions de manipulations journalières. Elles ont été réalisées par le même expérimentateur pour minimiser l'état de stress (Ader et Friedman, 1964).

L'aliment distribué se présente sous forme de pelletes, il est commercialisé par l'UAB. L'eau de boisson est fournie dans des biberons. La nourriture et l'eau sont fournies *ad libitum*, ceci permet de répondre aux besoins de l'animal.

L'expérimentation a lieu après une période d'acclimatation de 3 mois pendant laquelle les rats sont soumis à une température de 20°C à 22°C et une photopériode (12D -12L).

2. L'APPROCHE EXPERIMENTALE

L'ensemble des traitements et des protocoles expérimentaux ont été réalisés en conformité avec les principes et recommandations de santé animale. (NIH publication No. 85-23 révisée 1985).

2.1. TRAITEMENTS

2.1.1. Le traitement au méthyle parathion :

Le méthyle parathion ($C_{10}H_{14}NO_5PS$, Sigma-Aldrich, France) (Fig.14) est un insecticide et un acaricide organophosphoré, dont les propriétés ont été mises en évidence par Schrader (1946). La dose utilisée dans notre étude se situe suivant les travaux antérieurs pris comme référence entre 1/6 et 1/15 de la DL50 (DL50 voie orale : 13-30 mg/kg, George *et al.*, 1992 ; IPCS, 1993 ; INRS, 2007). Chez le rat mâle adulte, cette dose classiquement utilisée dans les études de toxicité expérimentale subaiguë et chronique se situe entre la DL 50 et la dose sans effet observable basée sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase qui est de 0,1 mg/kg/j (INRS, 2007). Les doses usuelles utilisées varient selon l'expérimentation de 0.1 à 15 mg /Kg de poids corporelle (Edson *et al.*, 1992 ; Olivier *et al.*, 2001).

La valeur orale utilisée dans notre expérimentation a été estimée par des études dose-réponse (MPT = 4 mg/kg) (Karanth *et al.*, 2004). Le traitement a été réalisé par gavage de l'animal à raison de plusieurs prises de 4mg de MPT/Kg de poids vif (1/3 de la DL50) diluée dans de l'huile d'olive. Les témoins reçoivent le même volume en l'huile d'olive seulement à savoir 0.5ml. Selon la période de gavage par le MPT : 5, 10 et 20jours ; Trois protocoles ont été réalisés.

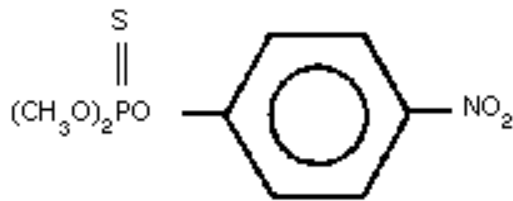


Figure 14 : Structure du méthyle parathion

2.1.2. Traitement à la taurine

La taurine est un produit du catabolisme de la cystéine de formule chimique : $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$ (acide 2-amino-ethane-sulfonique) (Fig.15). Elle est naturellement présente dans l'ensemble des tissus, mais plus particulièrement à concentration élevée dans le cerveau, la rétine et le myocarde, et exceptionnellement dans les leucocytes et les plaquettes. Les concentrations les plus élevées sont trouvées dans les PNN où la taurine peut être métabolisée en N-chlotaaurine, ce dernier selon Hansen (2001) est un agent anti radicalaire vis à vis à des espèces carbonylées.

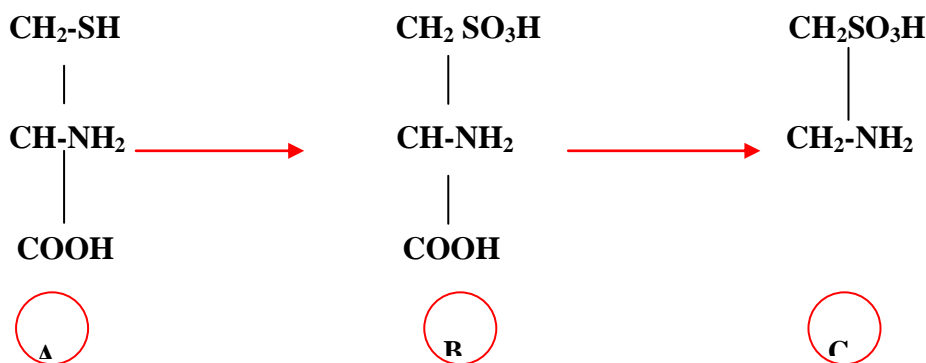


Figure 15: Voie de synthèse de la taurine (C) A : La cystéine et B : Acide cystique (Hansen, 2001).

Propriétés physiologiques de la taurine :

- Formation des acides biliaires.
- Osmorégulation et contrôle du volume cellulaire.
- Transport d'ions (Na⁺, Cl⁻, échange Na⁺ - Ca²⁺).
- Inhibition de la phosphorylation des protéines.
- Systèmes de photo réception (rôle dans la vision).
- Lutte anti-radicalation (via la synthèse de N-chlorotaurine).
- Neutralisation de composés réactifs carbonylés.
- Développement tissulaire périnatal.

Le traitement consiste à administrer quotidiennement la taurine *per os* diluée dans l'eau de boisson à raison de 0.2% (Chang et Kwon, 2000 ; Chang, 2002) pendant 10 jours.

2.1.3. Traitement à la vitamine E

La vitamine E (Fig.16) est une vitamine liposoluble qui existe sous différentes formes chimiques. Le composé le plus actif est l'alpha tocophérol mais il a besoin des autres composés pour agir correctement. Elle se trouve dans tous nos tissus. Cependant l'hypophyse et la surrénale en contiennent deux cent fois plus que les autres organes. Les membranes de nos cellules sont faites d'acides gras polyinsaturés, ceux-ci s'oxydent en présence de radicaux libres. La vitamine E est un antioxydant. Elle protège les tissus contre les dommages de l'oxydation en neutralisant ces radicaux libres. Elle fonctionne de pair avec les autres antioxydants tels que les vitamines C et A et le sélénium. Un excès ou un manque de l'un d'eux peut diminuer les propriétés de l'autre.

La vitamine E aurait démontré ses effets bénéfiques dans la prévention des maladies cardiovasculaires : elle aurait un effet hypocholestérolémiant, antihypertenseur et anti radicalaire (Martin, 2005). Le rôle protecteur de la vitamine E « per se » a été nuancé par la suite par les travaux de divers auteurs (Thomas et Stocker, 2000).

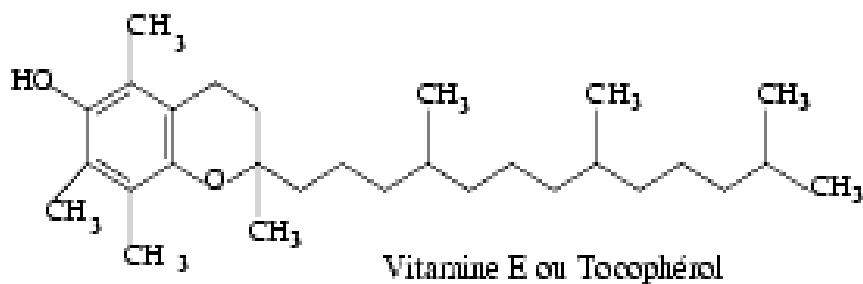


Figure 16 : Structure chimique de la vitamine E

Cette vitamine a des effets multiples :

- Un rôle général d'antioxydant (protection de certains éléments nécessaires au fonctionnement des cellules de l'organisme, contre leur oxydation). Elle protège par exemple les acides gras essentiels, ainsi que la vitamine C et la vitamine A, de l'oxydation.
- Elle agit au niveau des globules rouges en évitant leur fragilité excessive et leur destruction (hémolyse).
- Elle agit au niveau des plaquettes sanguines en évitant leur agrégation excessive (risque de thrombose).
- Elle agit aussi au niveau de divers enzymes.
- A forte dose elle a une action intéressante sur le cholestérol : elle augmente le "bon cholestérol" et diminue le "mauvais cholestérol".
- Elle aurait un effet préventif sur les maladies cardio-vasculaires.

La vitamine E (Sigma Aldrich, France) a été administré quotidiennement pendant 10 jours par injection intra-péritonéale (i.p.) de 0,5 ml à raison de 150 mg de vitamine E/kg de PV, dans une solution d'éthanol 1% diluée dans du liquide physiologique.

2.1.4. Traitement à la yohimbine :

La yohimbine ($C_{21}H_{26}N_2O_3$) (Fig. 17) est un antagoniste α_2 adrénorécepteur central et périphérique (Bannister et Mathias, 1988) ; c'est un alcaloïde extrait de l'écorce du *Pausinystalia Yohimba* utilisé en Afrique Equatoriale, comme stimulant nerveux capable de retarder le sommeil et surtout comme aphrodisiaque. Ce produit naturel est connu sous le nom

de Yohimbine (yohimbine houdé). Ce médicament a les capacités de dilater les vaisseaux et fait partie de la famille des sympatholytiques (alpha bloquant) (Le **Corre** *et al.*, 2004).

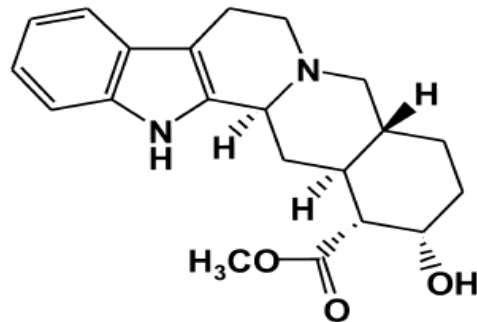


Figure 17 : Structure chimique de la yohimbine

La yohimbine a été administré quotidiennement par voie intra péritonéal à raison de 1.5mg/kg PV dans une solution saline pendant 10jours. Cette dose de yohimbine a été choisi suite aux résultats des travaux de (Pellow *et al.*, 1985 ; Pich et Samanin 1989 ; Park *et al.*, 2001) qui ont montré que cette dose peut déclencher des troubles anxieux chez les animaux témoins.

2.1.5. Le stress de contention

Le stress de contention consiste à immobiliser les rats dans un dispositif de contention sous forme d'une bouteille ouverte des deux cotés qu'on ferme avec un bouchon après avoir introduit l'animal à l'intérieure. Ce dispositif empêche tout mouvement de l'animal pendant une période précise 5 ou 30min.

2.1.6. Canulation carotidienne

Les animaux, après avoir été anesthésiés au Rompun/ imalgène- i.m, subissent une incision d'un centimètre au niveau du cou afin de dégager la carotide qui sera relié à un cathéter, après sa mise en place ce dernier sera traité avec du sérum physiologique hépariné pour empêcher toute formation de caillot sanguin.

2.1.7. Prélèvements sanguins :

Les prélèvements sanguins ont été réalisés en fonction des différents protocoles de travail soit par sacrifice des animaux (Aubert *et al.*, 1980), soit par prélèvement sur les cathéters. Le sang est collecté dans des tubes héparinés sous glace et d'emblée centrifugé à 5000 tours / minute pendant 15 minutes. Le plasma obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorf puis conservé au congélateur à une température de - 20°C pour les dosages de la corticostérone, d'insuline, TSH, thyroxine, glucose, Cholestérol et triglycérides.

2.1.8. Prélèvements des organes

Après sacrifice, l'animal est fixé en décubitus dorsal sur une plaque en liège ; une incision est pratiquée de l'orifice uro-génital jusqu'au cou pour le prélèvement du foie et des glandes surrénales. Tandis que pour le cerveau, l'animal est fixé en position ventral, l'os de la face crânienne est ôté pour pouvoir y accéder.

Les organes sont prélevés à l'aide d'une pince fine sous glace. Ils sont broyés dans du tampon phosphate saccharosé (pH = 7.5) puis centrifugé et le surnageant est conservé à -20°C pour les dosages au niveau du foie du glutathion réduit (GSH), de la glutathion S-transférase (GST), de l'AchE (hépatique et cérébrale).

2.1.9. Analyse statistique des résultats :

Les résultats expérimentaux sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart-type ($m \pm s$). La comparaison entre les moyennes est réalisée à l'aide du test T de Student. La significativité des résultats est estimée par une analyse de variance à un ou deux critères de classification (ANOVA). La différence entre les groupes expérimentaux est considérée comme significative pour $p < 0,05$.

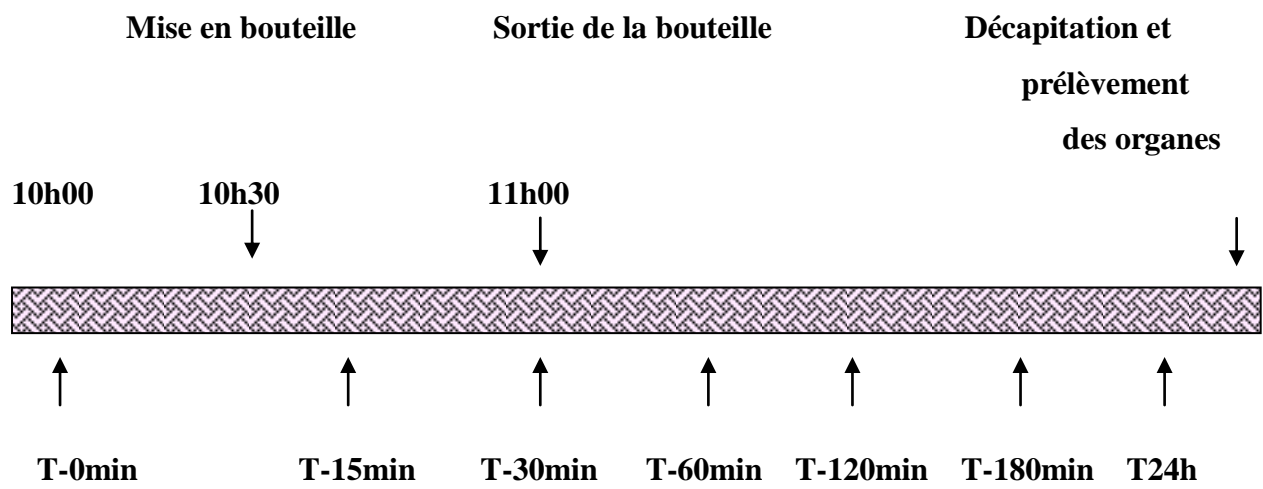
1^{ère} PARTIE

L'objectif visé dans cette première partie est la confirmation de l'hypothèse relative à l'effet inhibiteur des organophosphorés (méthyle parathion) sur l'activité de l'acétylcholinestérase et ses répercussions sur les modifications de l'axe corticotrope, et la possibilité d'interférer avec l'induction des perturbations psychologiques.

Pour cela nous avons utilisé le protocole suivant :

➤ **1^{ère} Protocole** : Traitement au méthyle parathion suivie d'un stress de contention.

- Les animaux sont répartis en trois lots (T , MPT1,MPT2) (n=8), les animaux du lot témoin reçoivent quotidiennement 0.5ml de l'huile d'olive pendant 05jours , ceux du deuxième et troisième lot sont gavés avec 0.5ml de MPT dilué dans de l'huile d'olive à une dose de 4mg/kg de poids vif pendant une session de 5j ou bien pendant deux session avec un intervalle d'une semaine.
- Le sixième jour (18^{ème}), les animaux des deux lots subissent une intervention chirurgicale pour installer un cathéter intra-vasculaire (carotide) afin de pouvoir effectuer des prélèvements sanguins sans stresser l'animal.
- Le septième (19^{ème}) jour deux prélèvements sanguins ont été réalisés, un le matin et l'autre en fin d'après midi.
- Le huitième (20^{ème}) jour, après un prélèvement sanguin à (t0), les animaux subissent un stress de contention (bouteille) pendant 30minutes ; au cours duquel deux prélèvements sanguins sont réalisés à (t15) et (t30minutes).
Ils sont par la suite replacés dans leur cage individuelle dans l'attente de la réalisation d'autres prélèvements à 60, 120, 180 min et 24 heures.



Prélèvements sanguins

Figure 18 : Protocole expérimentale du stress de contention chez les rats témoins et gavés au MPT

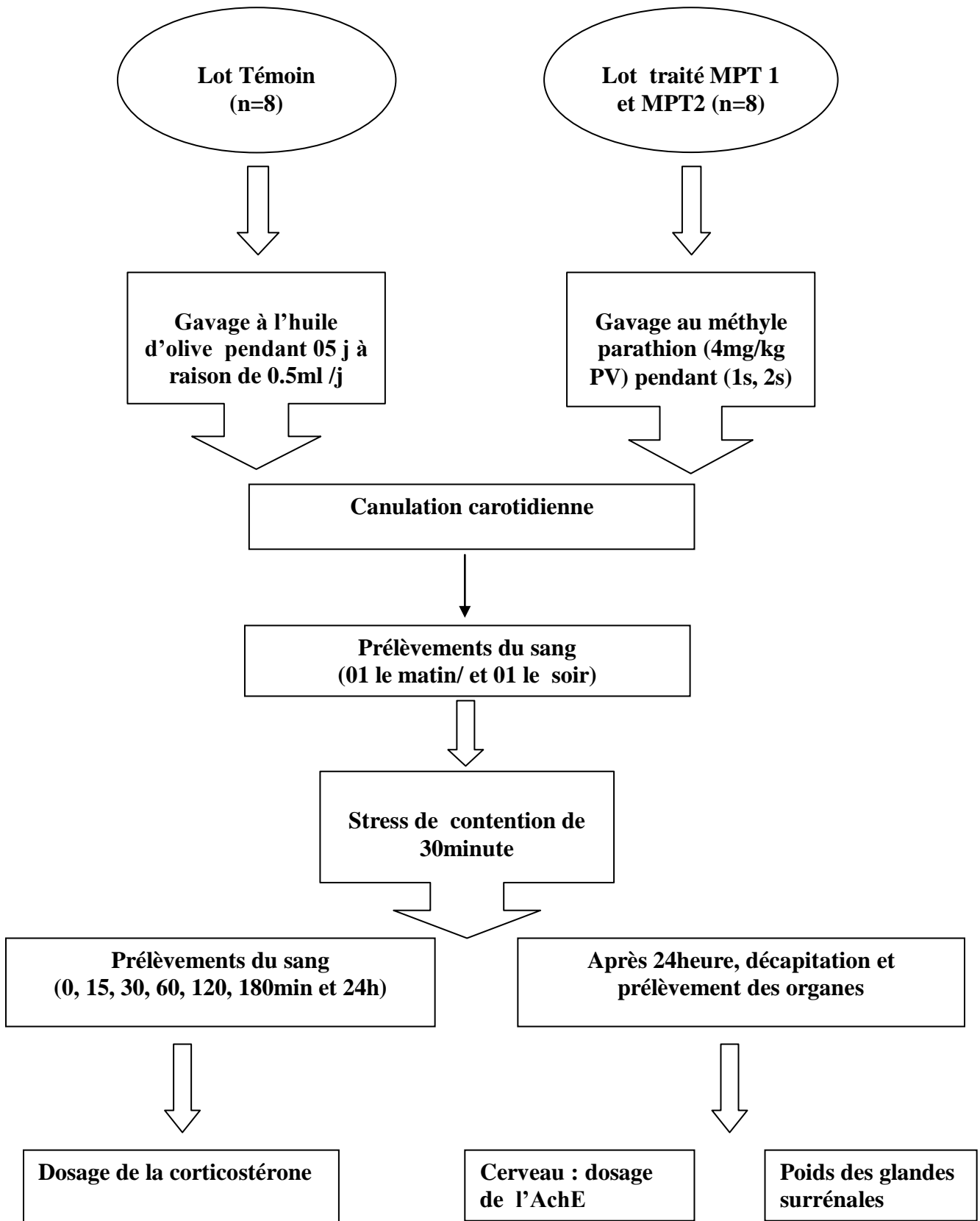


Figure 19 : 1^{er} Protocole : Traitement au méthyle parathion suivie d'un stress de contention.

2^{ème} PARTIE

Dans cette deuxième partie, nous voulons vérifier l'hypothèse suivante : Peut-on considérer le méthyle parathion comme déclencheur d'un stress oxydant ?

Pour cela nous avons appliqué des protocoles expérimentaux qui vont nous permettre de suivre l'impact de ce xénobiotique (MPT) sur certains paramètres homéostasiques : hormonaux (TSH, T4, insuline), enzymatiques (AChE, GST), biochimiques (GSH) et métaboliques (glucose, triglycérides, cholestérol). Les paramètres mesurés seront comparés à quelques paramètres obtenus suite à un stress oxydant provoqué par un autre modèle qui est le stress de contention.

➤ **1^{er} protocole** : Traitement au le méthyle parathion.

Les animaux (rats mâles) sont répartis en trois lots de huit animaux chacun : un lot gavé au MPT à raison de 4mg/kg de poids vif dilué dans l'huile d'olive, un lot stressé qui subit une contention de 5min (un jour sur deux) pendant 10jours et un lot témoin gavé seulement à l'huile d'olive.

Les animaux traités reçoivent 0.5ml de MPT pendant 10jours à raison d'un jour sur deux. Les témoins reçoivent 0.5ml de l'huile d'olive à la même heure et pendant la même période.

Les prélèvements sanguins ont été effectués par sacrifice de l'animal qui sera ensuite disséqué pour prélèvement du foie. Le sang recueilli servira pour le dosage de la TSH, la T4, l'insuline et des paramètres métaboliques, le glucose, les triglycérides et le cholestérol. Le foie, prélevé après dissection, est broyé dans du tampon phosphate et le surnageant servira pour les dosages de GSH, la GST et l'AChE.

- Témoin (T)
- MPT
- Stress de contention (Sc)

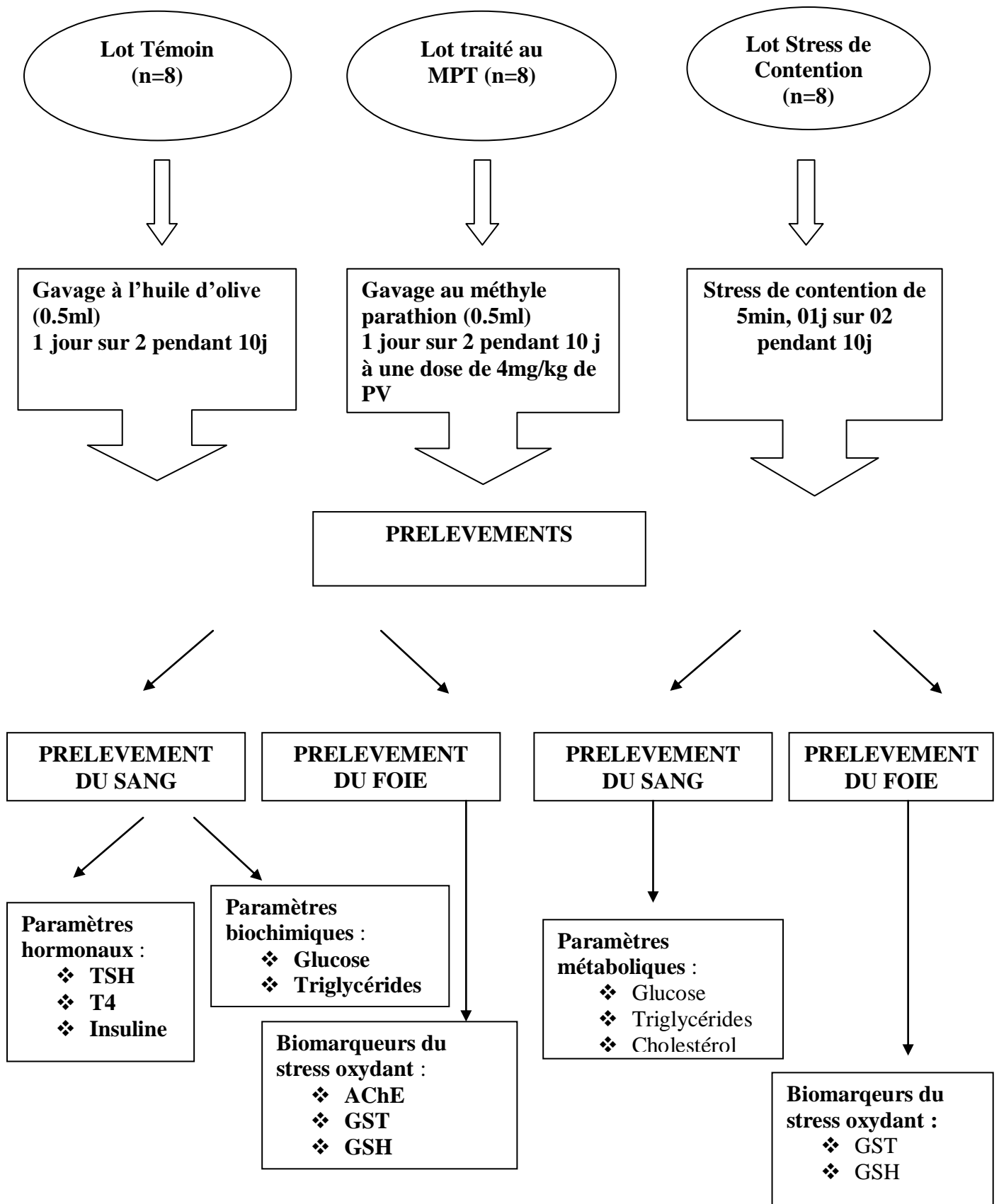


Figure 20 : 1^{er} protocole : Traitement au méthyle parathion

➤ **2^{ème} Protocole :**

L'application de ce 2^{ème} protocole va nous permettre de suivre l'action de la taurine et de la vitamine E au cours d'un état de stress oxydant provoqué par le MPT.

Pour cela, les différents paramètres dosés au cours de cette expérimentation sont : le GSH, la GST, le glucose, les triglycérides et le cholestérol.

- Un lot témoin qui reçoit 0.5ml de l'huile d'olive
- Un lot gavé au MPT (4mg/kg de PV) à qui on administre quotidiennement par voie orale de la taurine *per os* à raison de 2mg/l dans l'eau de boisson pendant 10jours.
- Un lot gavé au MPT (4mg/kg de PV) qui reçoit quotidiennement par voie intra péritonéale de la vitamine E à raison de 150mg/kg PV, diluée dans l'éthanol, pendant 10jours.

Après la période de traitement, les prélèvements sanguins ont été effectués et l'animal est sacrifié, disséqué et son foie prélevé.

Le sang est destiné pour les dosages de glucose, des triglycérides et de cholestérol ; Le foie a servi aux dosages de GSH et la GST.

- Témoin « **T** »

- MPT + taurine «**MPT+ Ta** »

- MPT + yohimbine « **MPT+Vit E** »

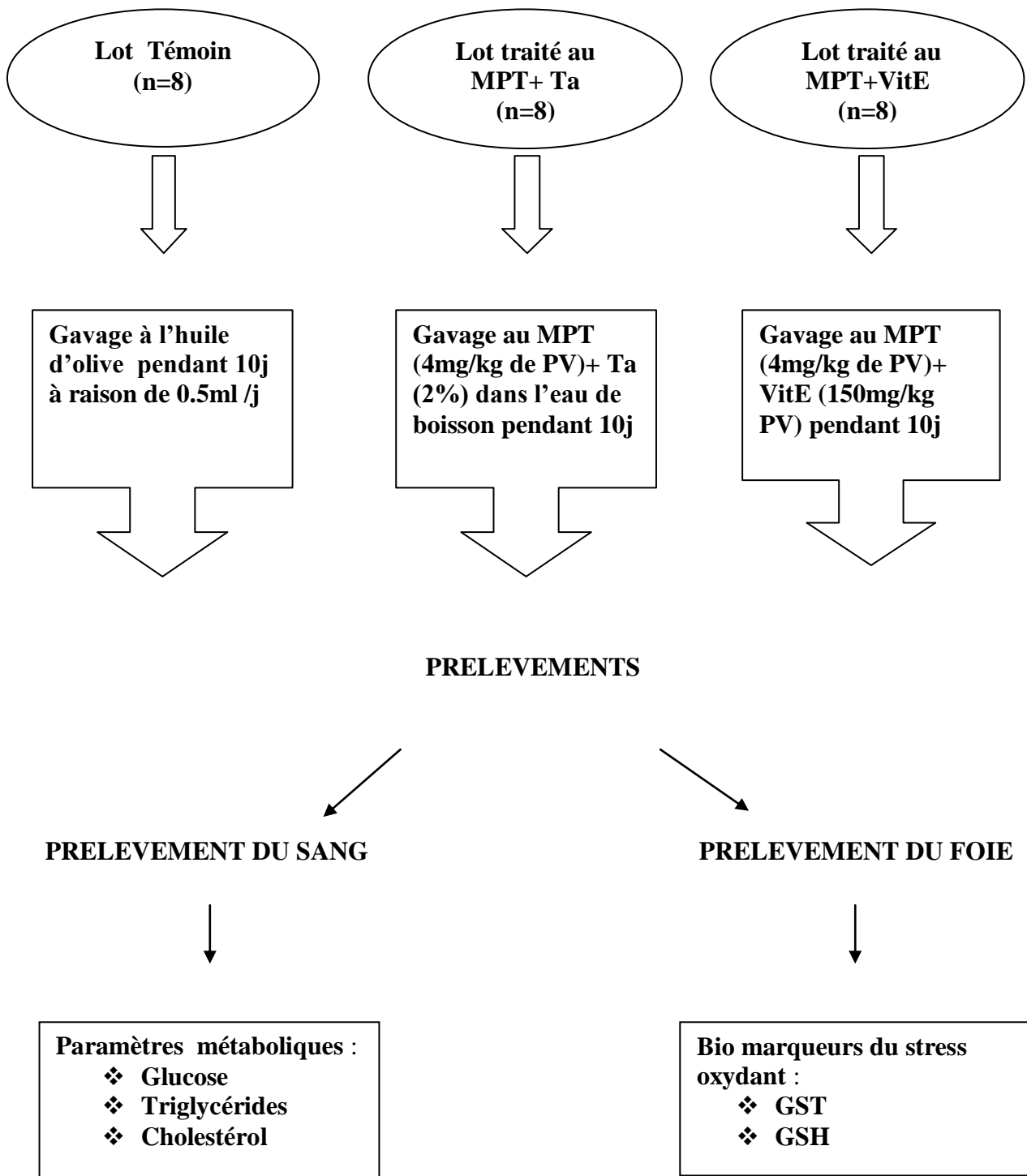


Figure 21 : 2^{ème} protocole: Traitement à la taurine et à la vitamine E

➤ *3^{ème} Protocole:*

Ce 3^{ème} protocole expérimental va nous permettre de suivre l'effet de la yohimbine (antagoniste des récepteurs α 2-adrénergique) lors d'un stress oxydant induit par un xénobiotique (méthyle parathion) ou une contention.

Les différents paramètres dosés au cours de cette expérimentation sont : le GSH, la GST, le glucose, les triglycérides et le cholestérol.

- Un lot témoin.
- Un lot gavé au MPT (4 mg/kg de PV) qui reçoit quotidiennement une injection intra péritonéale à raison de 1.5mg/kg de yohimbine pendant 10jours.
- Un lot stressé (contention) qui reçoit quotidiennement une injection intra péritonéale de 1.5mg/kg de yohimbine pendant 10jours.

Après sacrifices des animaux, le sang est prélevé pour les dosages des paramètres métaboliques, le glucose, les triglycérides, le cholestérol et le foie pour les dosages de la GSH et la GST.

- Témoin « **T** »
- MPT+ yohimbine (**MPT+Yoh**)
- Stress de contention + yohimbine (**Sc +Yoh**)

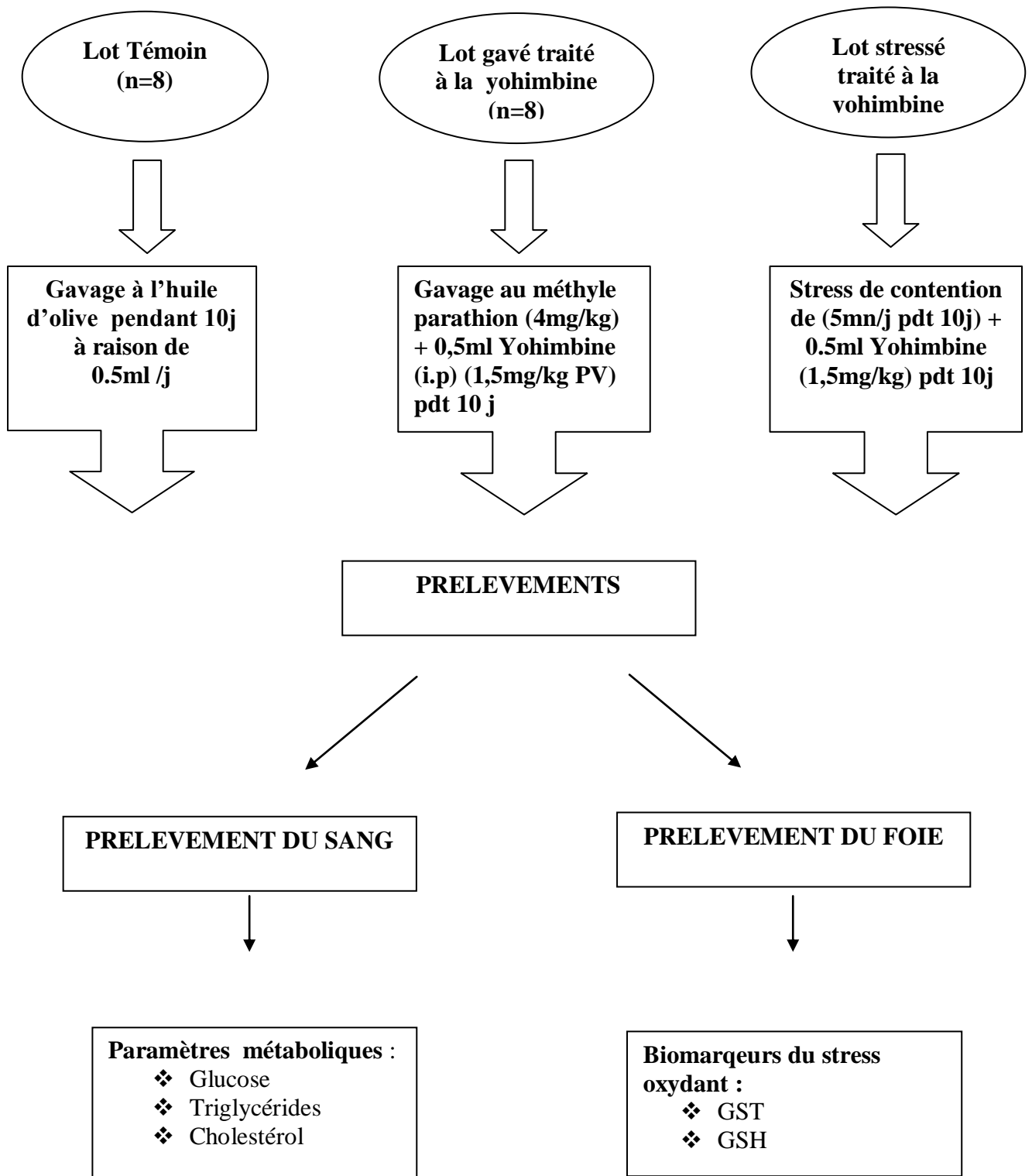


Figure 22 : 3^{ème} protocole : Traitement à la yohimbine

3. LES DOSAGES DES PARAMETRES HORMONAUX, ENZYMATIQUES ET BIOCHIMIQUES

3.1. Dosage des hormones par Electro-chimio-luminescence (ECLIA)

3.1.1. Dosage de la TSH, T4

La thyroïdostimuline (TSH) et la thyroxine ont été quantifiées par électro-chimio-luminescence. Il s'agit d'un test automatisé sur le système ELECSYS permettant la mesure quantitative des hormones dans le sérum ou le plasma. Le principe du dosage associe la méthode immunologique (Sandwich) à une détection en luminescence qui repose sur l'utilisation de deux anticorps monoclonaux, un anticorps de capture conjugué à la biotine et un anticorps traceur lié au ruthénium un marqueur luminescent (Fig. 23).

Etapes du dosage

1^{ère} incubation : une prise d'essai de 10 µl est mise en présence de l'anticorps antihormone (TSH, T4) marqué à la biotine et de l'anticorps marqué au ruthénium. Il se forme un "Sandwich" entre l'hormone et les deux anticorps.

2^{ème} incubation : les microparticules tapissées de straptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison straptavidine-biotine.

Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage dans une solution de lavage.

Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.

Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de référence mémorisée. Le réajustement de la courbe par l'appareil est effectué à l'aide de deux solutions de calibration CalSet.

3.1.2. Dosage de l'insuline

Le dosage de l'insuline a été effectué par la même méthode déjà décrite électro-chimio-luminescence (ECLIA) adapté aux dosages immunologiques sur les analyseurs Elecsys 1010 selon Keffer (1996).

L'ECLIA permet la détermination quantitative in vitro de l'insuline dans le sérum et le plasma en utilisant des réactifs qui sont présentés dans le tableau ci dessous.

Tableau 2 : Réactif utilisés dans le dosage de l'insuline par le test ECLIA et leurs concentrations.

Etiquetage	Nature des réactifs	Présentation
M	Micro particule tapissées de Streptavidine : Micro particule tapissées de Streptavidine 0,71mg/ml, capacité de liaison : 470mg biotine/mg de particule ; Conservateur.	1 flacon 12ml
R1	Anticorps monoclonaux de souris anti-insuline marqué à la biotine 20mg/ml, tampon phosphate 100mmol/l ; pH=7.2 Conservateur.	1 flacon 14ml
R2	Anticorps anti-INS-Ru (bpy) 2/3 Anticorps monoclonaux (souris) anti INS marqué au ruthénium 1,2mg/l ; tampon phosphate 100mmol/l ; pH=7,2 conservateurs.	1 flacon 12ml

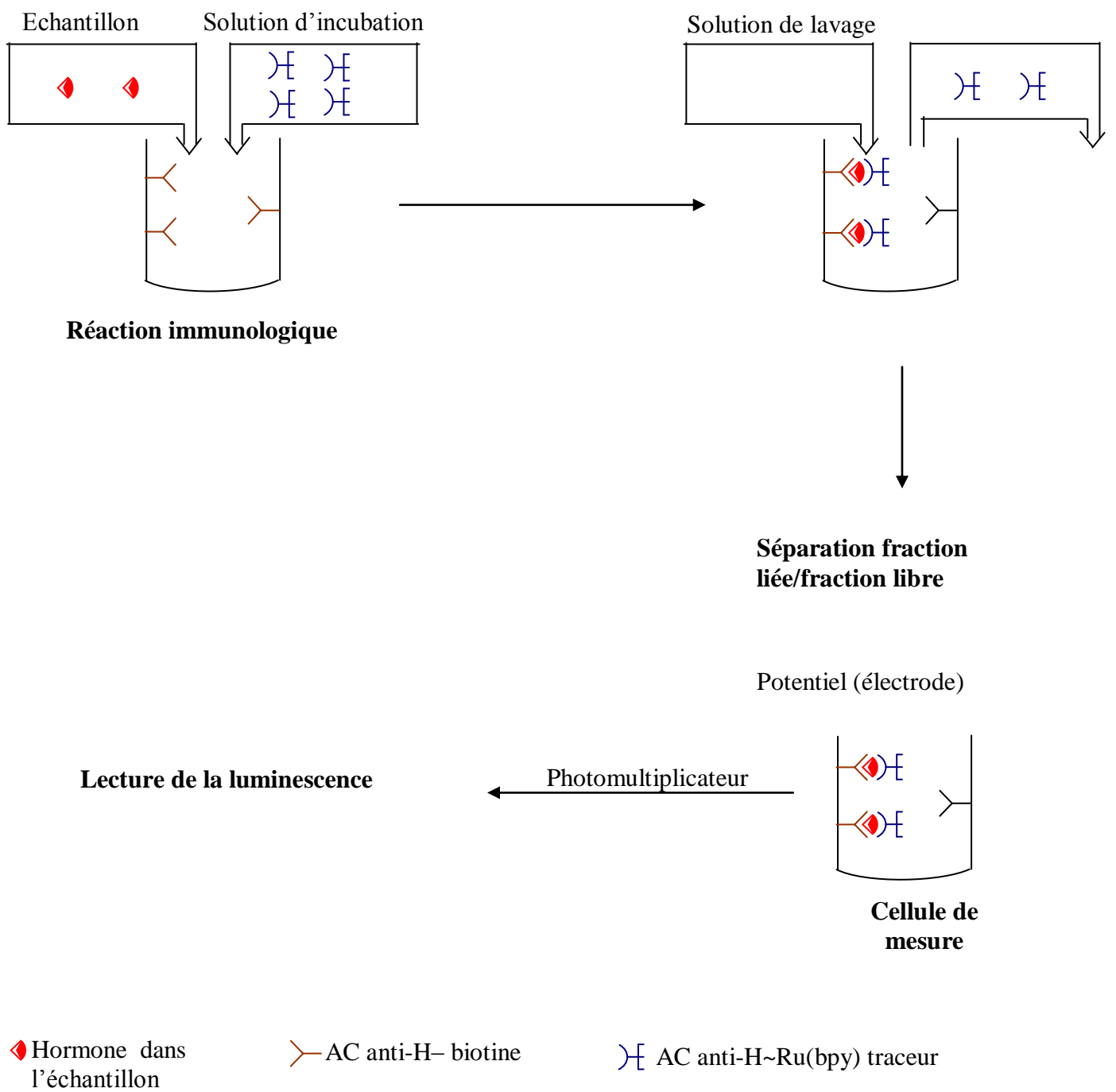


Figure 23 : Dosage Immuno-Enzymatique Par Electro-chimio-luminescence ECLIA.

3.2. Dosage de la corticostérone par Radio-Immuno-Assay (RIA)

La corticostérone est dosée par « radioimmunoassay » avec le kit de dosage Diasorin CA-1529.

Principe :

La trousse Gamma Coat (I125) Cortisol permet le dosage du cortisol par une méthode radio immunologique par compétition. Les étalons et échantillons sont incubés avec le marqueur cortisol dans des tubes revêtus d'anticorps. Les anticorps sont immobilisés sur la paroi interne du fond du tube. Après incubation, le contenu du tube est aspiré ou décanté et le tube est compté.

Une courbe d'étalonnage est réalisée avec 6 étalons sériques dont les concentrations connues varient entre 0 et 60 µg/dl. Les valeurs des échantillons à déterminer sont calculées à partir de la courbe d'étalon.

Réactifs fournis dans la trousse :

Réactifs	Quantité
Marqueur (I^{125})	500ml
Etalon A	1ml
Etalon B 1	1ml
Etalon C	1ml
Etalon D	1ml
Etalon E	1ml
Etalon F	1ml
Tubes revêtus de sérum anti-cortisol de lapin	500
Tampon PBS	500ml

Mode opératoire :

Etape 1

- ✓ Amener tous les réactifs à température ambiante et les mélanger doucement afin d'éviter la formation de mousse.
- ✓ Numéroter et compléter les tubes comme indiqué dans le tableau :

Tableau 3 : Les réactifs utilisés dans le dosage de la corticostérone par Radio-Immuno-Assay (RIA)

Tubes	Réactifs 1(10µl)	Réactif 2(1µl)
T, totaux	Tampon marqueur	Tampon marqueur
A, B0	Blanc sérique cortisol	-
B	Etalon sérique cortisol, 1µg/dl	-
C	Etalon sérique cortisol, 3µg/dl	-
D	Etalon sérique cortisol, 10µg/dl	-
E	Etalon sérique cortisol, 25µg/dl	-
F	Etalon sérique cortisol, 60µg/dl	-
Echantillons	Echantillons	-

- ✓ Agiter les tubes doucement au vortex et incuber 45 minutes au bain marie à 37°C.

Etape 2

- ✓ Eliminer le surnageant par aspiration à l'aide d'une trompe à vide.

Etape 3 :

- ✓ Rincer le culot avec 1 ml de PBS 1X,
- ✓ agiter doucement au vortex,
- ✓ centrifuger pendant 15 min à 2500-3000 tr/min, à température ambiante.
- ✓ Eliminer le surnageant par aspiration avec une trompe à vide

Etape 4

- ✓ Placer les tubes dans la cassette portant le numéro du protocole prédéfini convenable en respectant l'ordre décrit dans le « tube display »
- ✓ Mesurer la radioactivité du culot pendant 2 minutes.

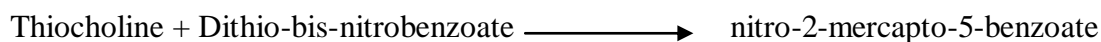
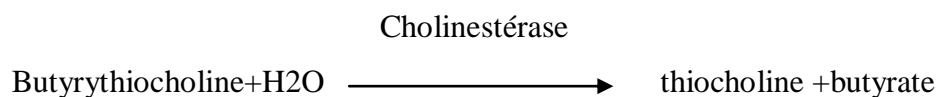
3.3. Les dosages enzymatiques et biochimiques :

3.3.1. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) au niveau hépatique.

Le dosage a été réalisé selon la méthode de Knedel et Böttger (1967).

Principe

Réaction cinétique à 405nm



Mode opératoire

Réactif 1: Phosphate tampon	50mmol/L
Solution tampon :	pH = 7,7
Réactif 2 : 5,5DNTB	0,25mmol/L
Tablettes: Butyrylthiocholine	7mmol/L

-Dissoudre une tablette (R.2) dans une fiole de tampon réactif (R.1)

- La stabilité de réactif fonctionnel est de 2 heures à 2-8°C.

Procédure

Longueur d'onde.....405nm

Température25/30/37°C

Cuvette.....1cm de largeur

Ajustement zéro.....air ou eau distillé

Température	25/30°C	37°C
Réactif fonctionnel	3,0mL	3,0mL
Echantillon	20µL	---
Echantillon dil. 1:2 Avec solution saline	---	20µL

Les DO sont mesurées à 30, 60,90 secondes.

✚ Calcul de la concentration

$$\text{Calcul } \Delta E / 30 \text{sec} = \frac{\text{DO (90)} - \text{DO (60)}}{\text{DO (30)}}$$

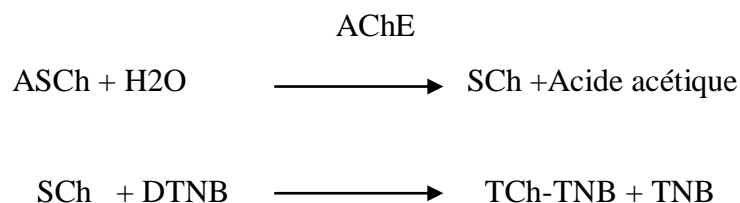
$$\text{A } 25\text{-}30^{\circ}\text{C} \quad \Delta E / 30 \text{ sec} \times 22710 = \text{U/L}$$

$$\text{A } 37^{\circ}\text{C} \quad \Delta E / 30 \text{ sec} \times 45420 = \text{U/L}$$

3.3.2. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) au niveau cérébrale.

✚ Principe

La méthode utilisée est celle décrite par Ellman *et al.*, (1961). C'est une méthode colorimétrique dont le principe est le suivant : l'acétylcholinestérase catalyse l'hydrolyse d'un ester de choline (Acétylthiocholine : ASCh). La thiocholine libérée réagit avec le 5,5'-dithio-bis 2-nitrobenzoate (DTNB) pour former le 5-thio-2-nitrobenzoate (TNB), produit de couleur jaunâtre. L'intensité de coloration est proportionnelle à la quantité d'enzyme présente dans le milieu. La réaction peut se schématiser ainsi :



✚ Mode opératoire

Dans les cuves sont introduits :

- 900µl de tampon TRIS 100Mm, pH 7.5
- 50µl du réactif DTNB (0.008M)
- 50µl du surnageant contenant l'enzyme
- 50µl d'acétylthiocholine 8.25Mm, déclenchant la réaction enzymatique.

Les cuves ont été incubées à 25°C et la densité optique a été suivie à 412nm pendant 25min. Pour mesurer l'hydrolyse spontanée du substrat, l'échantillon a été remplacé par un volume équivalent du tampon afin de mesurer la variation de l'absorbance en absence de l'enzyme.

Calcul de la concentration

L'activité AChE peut être calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité } (\mu\text{mol/mn mg prt}) = \frac{\Delta \text{DO/mn} \times 1000}{\varepsilon \times V \times p}$$

DO/mn: Variation de densité optique par minute.

V : Volume de l'échantillon en ml.

P : mg de protéine/ml.

ε : Coefficient d'extinction molaire de l'acétylcholinestérase égal à 13.6 Mm⁻¹.cm⁻¹.

3.4. Préparation de l'homogénat

Un fragment de tissu (hépatique ou cérébral) (500 mg) est broyé manuellement à l'aide d'un mortier (broyage mécanique se déroulant à basse température). Après broyage, 4ml du tampon phosphate de sodium (pH =6,5 ; M=0,1) sont ajoutés dans le tube de tissu mou. Ce mélange est ensuite broyé par ultrason pendant 2 minutes à une basse température.

Par la suite, l'homogénat obtenu est centrifugé à 5000 tours/minute pendant 15 minutes ; le surnageant est récupéré afin de servir aux dosages des protéines totales, du glutathion, de l'activité de la GST ou de l'acétylcholinestérase.

3.5. Dosage des protéines totales :

Principe

Les ions cuivriques, dans un milieu alcalin, interagissent avec les liaisons peptidiques des protéines formant un complexe coloré (Weichselbaum, 1946 ; Gornall *et al.*, 1949).

Mode opératoire

Tableau 4 : protocole utilisé pour le dosage de protéines totales

	Dosage	Etalon	Blanc
Homogénat	0.02ml	-----	-----
Etalon	-----	0.02ml	-----
Chlorure de sodium	1.0ml	1.0ml	1.0ml
Biuret	1.0ml	1.0ml	1.0ml

Mélangé et incubé pendant 10min à 25°C. Les absorbances sont lues contre le blanc à 550nm

Calcul de la concentration

DO Dosage

$$\text{Protéines g/l} = \frac{\text{DO Dosage}}{\text{DO Etalon}} \times n \text{ (n valeur de l'étalon = 60g/l)}$$

3.6. Dosage du glutathion hépatique

Le glutathion (8-glutamyl-cystéinyl-glycine) est un tripeptide constitué d'acide glutamique, cystéine et de glucine. Le GSH est requis pour l'activité de plusieurs enzymes, dont il participe avec la glutathion réductase à l'établissement de ponts disulfures dans de nombreuses protéines et dans des hormones polypeptidiques et prend part au métabolisme des xénobiotiques. Présent dans la majorité des tissus, le glutathion joue un rôle principal dans la réduction de tout peroxyde organique et non organique, en présence de la glutathion peroxydase (GPX). Ainsi, il intervient dans les réactions de neutralisation des maladies intermédiaires toxiques produites par la méthylation de quelques médicaments, hormones,

électrolytes et des matières étrangères du corps en présence de la glutathion S –transférase (GST) , et par conséquent dans l'élimination de leur toxicité .

Principe :

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro5-mercapturique, ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman) par les groupements (-SH) du glutathion. Le glutathion hépatique est dosé selon la méthode de Weckbeker et Coy, (1988) en utilisant le spectrophotomètre.

Mode opératoire :

200 mg de foie congelé sont broyés dans une solution d'EDTA à 0.02M, le mélange obtenu est ensuite précipité en prélevant 0,8ml de ce dernier auquel on ajoute 0,2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique à 0,25% (SAA). Le mélange obtenu est mis 15 mn au congélateur puis centrifugé pendant 5mn à 1000tr/mn. Le surnageant récolté est utilisé pour doser le GSH. Le dosage se fait comme suit : 1ml de Tampon tris Hcl à 0.4 M et 0.025ml de DNTB (Acide 5-5 dithio bis 2 nitrobenzoïque) à 0.01M sont ajoutés à 0.5ml du surnageant et le tout est laissé pendant 5min pour la stabilisation de la couleur. La mesure de l'absorbance est obtenue à une longueur d'onde de 412nm. La concentration est calculée par la formule

$$\text{GSH} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5 \text{ mg protéines}} = \text{nmol GSH /mg de protéines}$$

3.7. Dosage de l'activité des GSTs :

Les glutathion S-transférases représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliquées dans diverses opérations de transports de biosynthèses intracellulaires (Poonkuzhali *et al.*, 2001). Les GSTs représentent une importante famille enzymatique dont la fonction est de conjuguer le glutathion réduit (GSH) à des composés électrophiles par formation d'un pont thioéther. Les produits sont ensuite métabolisés en acides mer-capturiques puis excrétés dans les déchets liquides (bile, urine). La fonction des GSTs, la plus étudiée en ce qui concerne la prévention de la pollution dans

l'environnement, demeure leur propriété de catalyser des réactions de conjugaison entre un peptide, le glutathion, et des macromolécules comme les acides nucléiques (ARN, ADN). De ce fait, la conjugaison du glutathion avec certains substrats représente une étape dans la formation de composés moins toxiques et plus hydrosolubles que les molécules de départ (Chatterjee *et al.*, 1984).

Principe :

La mesure de l'activité des GSTs consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général du chlorodinitrobenzène (CDNB), qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et du glutathion. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde. Il est possible de quantifier cette absorption au moyen d'un spectrophotomètre et la valeur de la densité optique mesurée à 340 nm est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formée, elle même liée à l'intensité de l'activité GST (Habig *et al.*, 1984) . Les mesures de l'activité GST globale ont été réalisées en utilisant le CDNB (1-Chloro, 2,4-Dinitro Benzène) qui est un substrat des différentes iso enzymes de la GST , ce qui permet la mesure globale des activités GSTs (Stein *et al.*, 1998).

Mode opératoire GSTs :

La méthode utilisée dans cette étude pour doser les GSTs est celle de Habig *et al.*, (1984) ; celle-ci consiste à faire agir les GSTs contenues dans le cytosol sur un mélange GSH+ CDNB à 37 °C et à pH 6,5. La variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée pendant 1mn à 340 nm.

Tableau 5: Protocole utilisé pour le dosage de l'activité GST

Réactifs	Blanc (µL)	Essai (µL)
Tampon phosphate pH = 6,5	850	830
CDNB (20 mM)	50	50
GSH (100mM)	100	100
Homogénat	0	20

Le protocole du dosage se réalise dans des cuves en quartz. Ces cuves ont été incubées à 37°C durant la manipulation. La valeur de la densité optique correspondant au blanc (conjugaison spontanée du substrat) a été ensuite retranchée à la valeur de chaque essai afin de mesurer la variation due uniquement à l'activité de l'enzyme. Sachant que le coefficient d'extinction du GSH-CDNB, ϵ est de $9.6 \text{ Mm}^{-1} \cdot \text{Cm}^{-1}$.

$$\text{Activité GST } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = \frac{\text{DO}/\text{mn} - \text{DO}/\text{mn Blanc}}{9.6 \text{ X mg de protéines}}$$

3.8. Dosages enzymo-colorimétriques

3.8.1. Le glucose plasmatique

Le dosage du glucose plasmatique a été effectué par la méthode de glucose oxydase selon Trinder (1969). Le glucose est oxydé en acide gluconique et l'eau oxygénée libérée, réagit sous l'action d'une peroxydase avec le phénol et l' amino-4-phénasone, pour former le quinonéimine qui est un complexe coloré en rose, l'intensité de la coloration étant proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon.

Mode opératoire :

Dans des tubes à essai ; pipeter :

	Dosage	Etalon	Blanc
plasma	10µl	-----	-----
Etalon	-----	10µl	-----
Réactif enzymatique	1.0ml	1.0ml	1.0ml

On mélange à l'aide d'un agitateur et on laisse incuber pendant 10 minutes à 37°. La lecture de la densité optique (DO) se fait à 505 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant 30 minutes à l'abri de la lumière.

Calcul de la concentration :

La concentration du glucose plasmatique est calculée par la formule suivante :

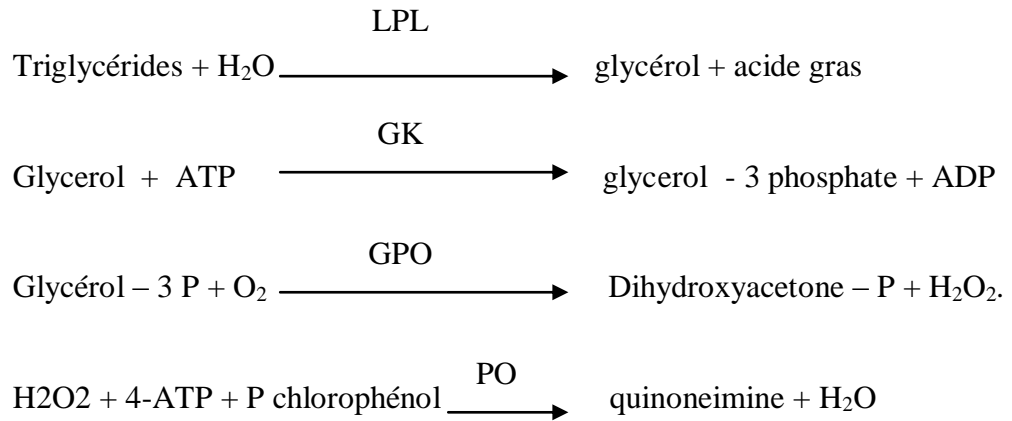
Do dosage

$$[\text{Glucose}] \text{ g / l} = \text{-----} \times n \text{ (n: valeur de l'étalon = 1g/l)}$$

Do étalon

3.8.2. Les triglycérides plasmatiques

Les triglycérides sont enzymatiquement hydrolysés en glycérol et en acides gras libres par la lipoprotéine-lipase. Le glycérol sous l'effet de la glycérol kinase forme le glycérol – 3-phosphate qui est oxydé en H₂O₂ selon les quatre réactions suivantes (Young et Pestaner, 1975) :



✚ **Mode opératoire** (dans des tubes à essai ; pipeter) :

	Dosage	Etalon	Blanc
Plasma	10µl	-----	-----
Etalon	-----	10µl	-----
Réactif enzymatique	1.0ml	1.0m	1.0ml

On mélange à l'aide d'un agitateur et on laisse incuber 10 minutes à 37°. La lecture de la densité optique « DO » est effectuée à 546 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant 60 minutes à l'abri de la lumière.

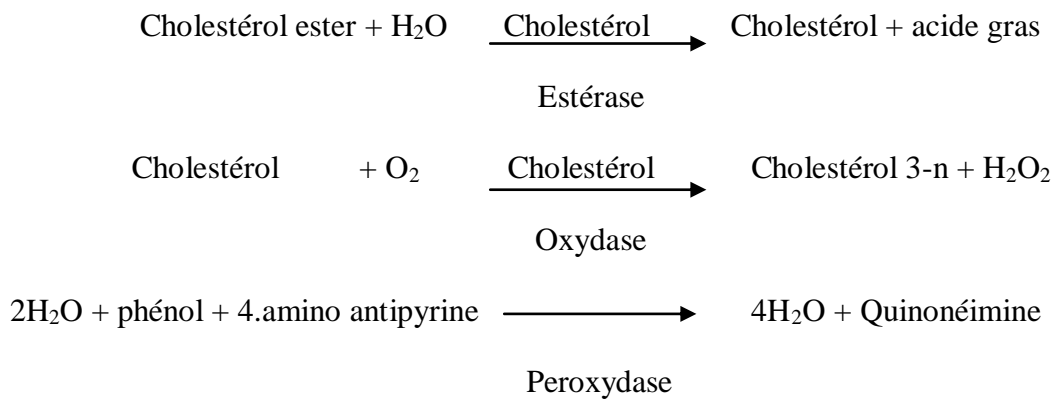
✚ **Calcul de la concentration**

La concentration des triglycérides plasmatiques est calculée de la manière suivante :

$$\text{TG mg / dl} = \frac{\text{DO dosage}}{\text{DO étalon}} \times n \quad (n = \text{valeur de l'étalon } 200 \text{ mg / dl})$$

3.8.3. Le cholestérol plasmatique

Le cholestérol et ses esters sont libérés à partir des lipoprotéines par les détergents. La cholestérol estérase hydrolyse les esters et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est formé dans la réaction d'oxydation enzymatique du cholestérol sous l'action de la cholestérol oxydase, ce dernier réagit avec le phénol pour produire le quinonéimine selon les réactions ci-dessous (Thomas et Labor, 1992).



Mode opératoire

	Blanc réactif	Etalon	Dosage
Etalon	-	10µl	-
Echantillon	-	-	10µl
Réactif	1ml	1ml	1ml

On mélange à l'aide d'un vortex et on laisse incuber pendant dix minutes à 37°. On lit la densité optique DO à 546 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant trente minutes à l'abri de la lumière.

Calcul de la concentration

La concentration du cholestérol plasmatique est obtenue par la formule suivante :

Do dosage

$$[\text{Cholestérol}]_{\text{mg/dl}} = \frac{\text{Do dosage}}{\text{Do étalon}} \times n \text{ (n: valeur de l'étalon = 200 mg/ dl)}$$

Do étalon

Résultats

1^{ère} PARTIE

1- Effet du méthyle parathion sur les teneurs de la corticostérone plasmatique :

A la fin des deux modes expérimentaux (une session (5j) et deux sessions (20j) de gavage des rats à l'insecticide organophosphoré le méthyle parathion) et avant le stress de contention, les résultats montrent que le rythme circadien de cette hormone est très net chez les témoins avec une valeur basale normale (t0) avant le stress de contention qui augmente significativement après la contention de 30min (t1, $p < 0,001$; t2, $p = 0,0006$). Il persiste jusqu'à la 60^{ème} minute (t3), puis perd son amplitude (t4, $p = 0,006$) jusqu'au retour aux valeurs normales après une journée (t6, $p = 0,0012$) (Tab. 6, Fig. 24).

Cette réactivité de l'axe corticotrope vis-à-vis du stress MPT apparaît considérablement modifiée chez les animaux traités. Les animaux ayant subi une session de gavage (MPT1), présentent déjà une réponse élevée (t0, MPT vs T, $p = 0,0028$), cette réponse est encore plus accentuée pendant la contention jusqu'à la 15^{ème} minutes sans toutefois atteindre les pics notés chez les témoins (t2, T vs MPT, $p = 0,045$), (t3, T vs MPT, $p = 0,015$). Cette valeur persistera sans changement significative à la fin de la contention et jusqu'à la 120^{ème} minute (t4) (c.à.d 02 heures après) puis elle chute (t5, $p = 0,0007$) pour revenir à la valeur initial après une journée (t6, $p = 0,0006$).

Concernant les rats gavés en deux session de MPT(MPT2), les valeurs initiales sont basse, comparées à celles des témoins (t0, T vs MPT2, $p = 3,688$ (t')) et au MPT1 (t0, MPT2 vs MPT1, $p < 0,0001$). Elles évoluent pendant la contention jusqu'à la 30^{ème} minute (t2, $p = 0,035$)(t2, T vs MPT2, $p = 0,005$), ou elles commencent à perdre significativement leur importance à partir de la 60^{ème} minute(t3, T vs MPT2, $p = 0,002$) par rapport aux deux autres groupes(t4, T vs MPT2, $p = 0,013$) (t4, MPT1 vs MPT2, $p = 0,0003$)(t5, $p = 0,0007$)(t5, T vs MPT2, $p = 0,0005$)(t5, MPT1 vs MPT2, $p = 0,014$) jusqu'à atteindre les valeurs initiales (t6, $p = 0,0006$)(t6, T vs MPT2, $p = 3,054$ (t')) (t6, MPT1 vs MPT2, $p = 0,0013$).

Donc on remarque une diminution significative des valeurs de corticostérone en conséquence de la conjugaison des deux types de stress (Tab. 6, Fig. 24).

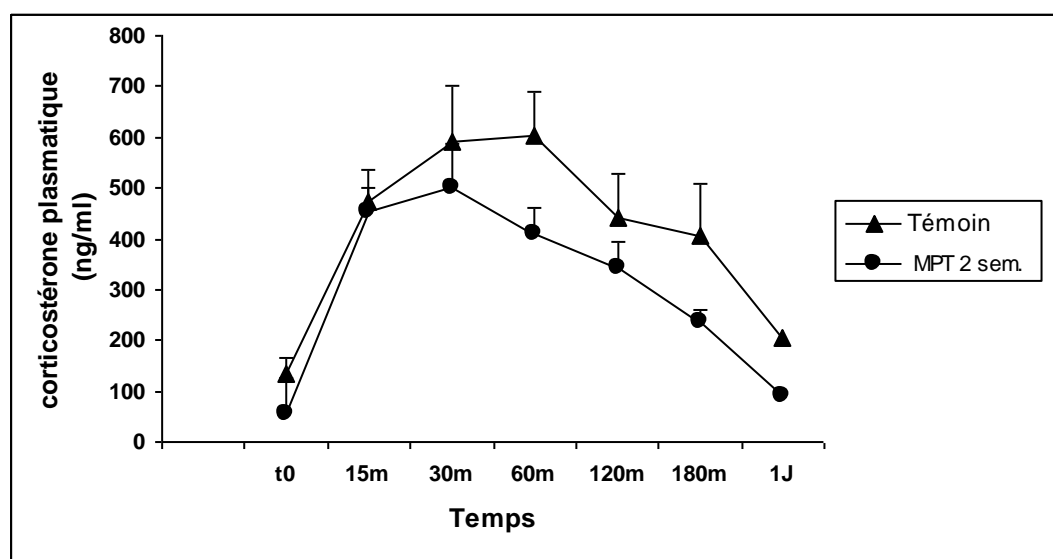
Tableau 6 : Variation des teneurs de la Corticostérone plasmatique (ng/ml) chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (MPT1 : une session de gavage, MPT2 : deux session de gavage) (n=8)

Temps	Témoin	MPT 1	MPT 2
0m (t0)	135,00 ± 56,00	218,00 ± 31,00 **	57,00 ± 21,00 ** b
15m (t1)	474,00 ± 32,00 (d)	493,00 ± 67,00 (d)	454,00 ± 68,00 (d)
30m (t2)	590,00 ± 63,00 (d)	510,00 ± 83,00 *	499,00 ± 46,00 **
60m (t3)	604,00 ± 113,00	479,00 ± 62,00 *	409,00 ± 90,00 ** (c)
120m (t4)	442,00 ± 85,00 (d)	477,00 ± 51,00	343,00 ± 51,00 * b
180m (t5)	404,00 ± 86,00	326,00 ± 78,00 (d)	235,00 ± 50,00 ** a (d)
1J (t6)	206,00 ± 103,00 (d)	174,00 ± 50,00 (d)	91,00 ± 27,00 ** b (d)

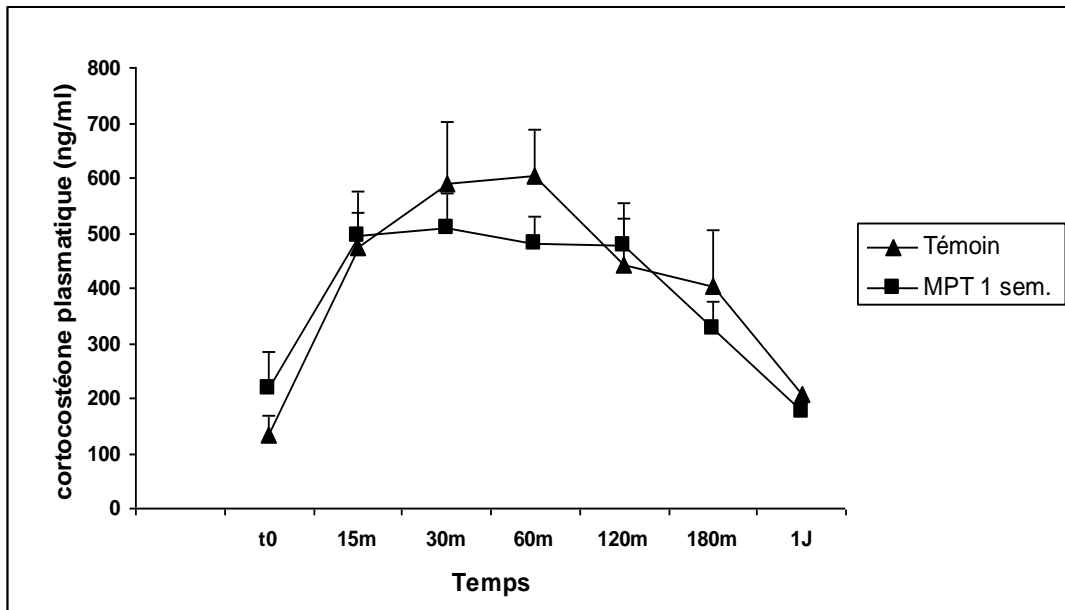
* : T vs MPT : $p < 0,05$; ** : T vs MPT : $p < 0,001$

a: MPT1 vs MPT2 : $p < 0,05$; b: MPT1 vs MPT2: $p < 0,001$

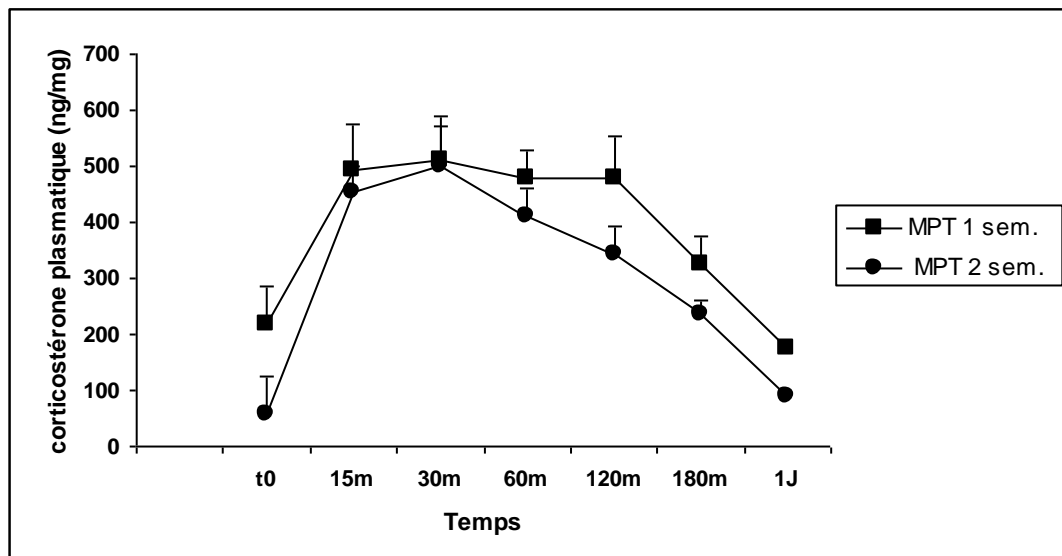
(c) : $p < 0,05$; (d): $p < 0,001$ (cinétique par groupe)



(A)



(B)



(C)

Figure 24 : Variation des teneurs de la corticostérone plasmatique (ng/ml) chez les animaux témoins (T) et gavés au MPT (MPT1 : une session de gavage, MPT2 : deux session de gavage).

2- Effet du méthyle parathion sur les teneurs de l'acétylcholinestérase au niveau du cerveau

Les rats gavés au méthyle parathion pendant une période de 5 jours et ayant ensuite subi un stress de contention, présente une diminution de la teneur de l'acétylcholinestérase au niveau du cerveau (Tab. 7, Fig. 25).

L'analyse statistique a montré que cette différence est significative par rapport aux témoins stressés (T Vs MPT, $p=5,694 \ll t' \gg$).

Tableau 7 : Variation des teneurs en acétylcholinestérase ($\mu\text{mol}/\text{mn mg de prt}$) chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (n=8).

Lots	Témoin	MPT
Acétylcholinestérase ($\mu\text{mol}/\text{mn mg de prt}$)	$17,611 \pm 3,651$	$09,595 \pm 01,589^{**}$

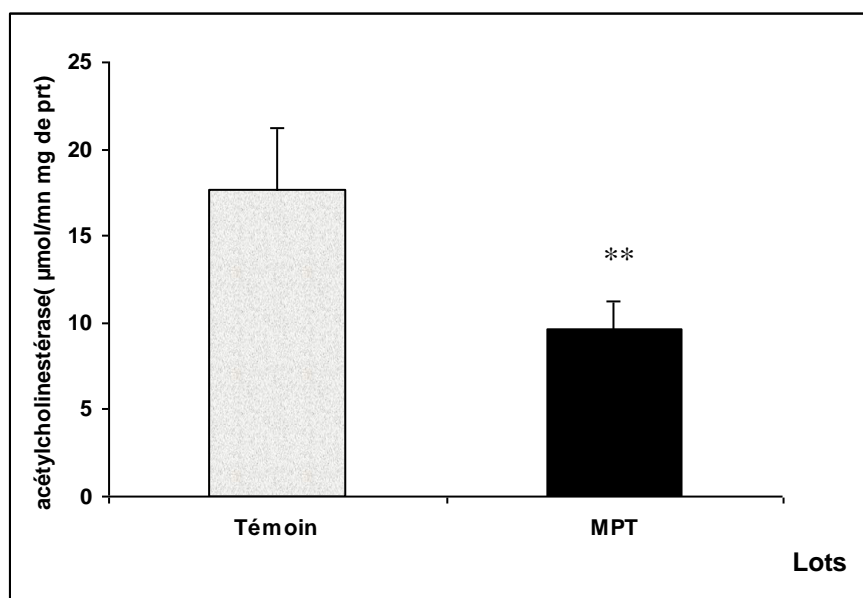


Figure 25 : Variation des teneurs en acétylcholinestérase ($\mu\text{mol}/\text{mn mg de prt}$) chez les animaux témoins (T) et gavés au MPT.

3- Effets du méthyle parathion sur le poids corporel et les glandes surrénales

Les animaux gavés au MPT montrent une diminution de la croissance qui se manifeste par l'absence de prise de poids comparés aux témoins (Tab. 8).

Une comparaison par paire (test de Student-Neuman-Keuls) a fait apparaître des différences significatives (T.can Vs MPT.can ; T.arr Vs T.can ; T.can Vs T.fin ; $p < 0,001$) (T.fin Vs MPT.fin, $p = 0,005$). Ceci montre une croissance significative des sujets témoins qui n'est pas enregistrés chez les sujets MPT.

Tableau 8 : Variation des poids corporel (g) chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (n=8).

Poids	Arrivée	Cannulation	Fin
Témoin	240,000 ± 4,655	280,000 ± 3,651	253,500 ± 7,108
MPT	237,500 ± 3,407	239,375 ± 3,053	227,625 ± 5,940

L'analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA) a montré une différence significative entre les différents groupes ($F = 13,923$, $P < 0,001$).

L'analyse de la variance à deux critères de classification a montré un effet groupe et un effet temps et une interaction groupe/temps significative ($p < 0,001$)

	F	P
Effet groupe	21,041	<0,001
Effet temps	16,970	<0,001
Effets groupe x temps	11,651	<0,001

Nous avons constaté aussi que les rats soumis au MPT présentent une augmentation du poids des glandes surrénales (Tab. 9). L'analyse statistique montre que cette augmentation est significative entre le groupe témoin et les deux groupes traités (T Vs MPT1, $p=3,917(t')$; T Vs MPT2, $p=0,0013$). La différence est aussi significatives entre les deux groupes traités à des périodes différentes (MPT1 Vs MPT2, $p=0,0013$).

Tableau 9 : Variation des poids des glandes surrénales (mg) chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (MPT1 : une session de gavage, MPT2 : deux session de gavage). (n=8).

Poids	Témoin	MPT 1	MPT 2
Poids des glandes surrénales (mg)	31,800 ± 0,990	36,175 ± 3,000*	41,205 ± 1,689*a

* : T vs MPT : $p < 0,05$

a : MPT1 vs MPT2 : $p < 0,05$

2^{ème} PARTIE

I/ 1- Effet du méthyle parathion sur les teneurs de l'acétylcholinestérase au niveau du foie :

Les résultats obtenus montrent que l'insecticide organophosphoré le méthyle parathion appliqué par gavage pendant une période de 10 jours induit une diminution de la teneur en acétylcholinestérase (Tab.10, Fig. 26). L'analyse statistique a montré que cette diminution est significative par rapport aux témoins (T vs MPT, $p < 0.001$).

2-Effet du méthyle parathion sur les teneurs en TSH et en T4:

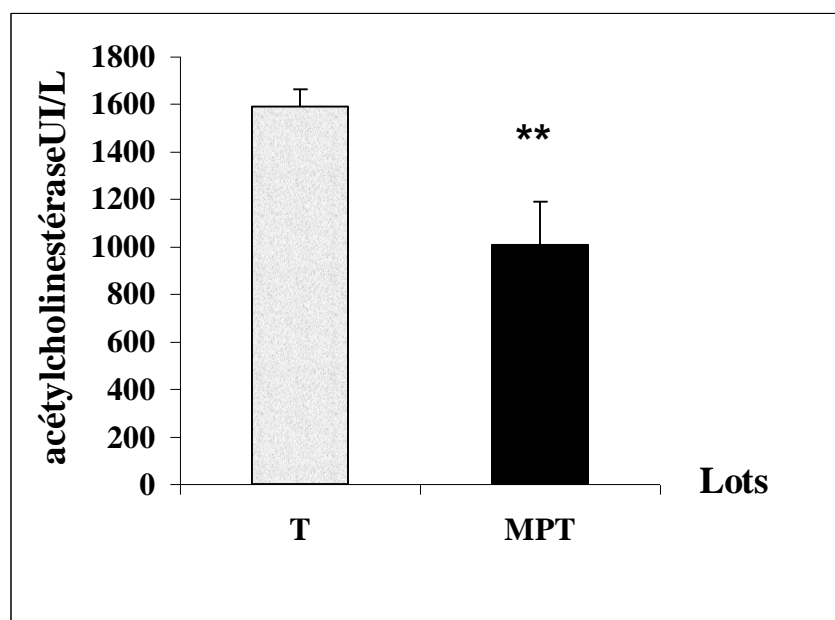
Chez les rats gavés au MPT, les concentrations en TSH et en T4 montrent une augmentation significative (Tab.10, Fig. 26) par rapport aux teneurs relevés chez les témoins (T vs MPT, $p=0.017$) (T vs MPT, $p=0$).

Tableau 10: Variation des teneurs en acétylcholinestérase en TSH et en T4 chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (n=8).

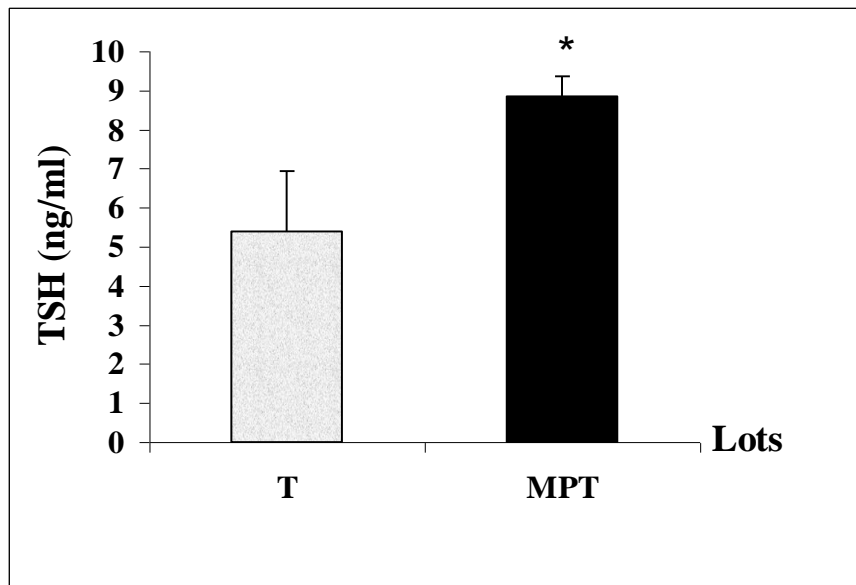
Lots	TSH (ng/ml)	T4 (pmol/l)	Acétylcholinestérase UI/L
<i>Témoin (T)</i>	05.40 ± 01.54	13.22 ± 02.10	1590.46 ± 71.92
MPT	08.84 ± 00.52*	15.21 ± 00.01**	1007.40 ± 182.61**

** : T vs MPT (p < 0.001) ;

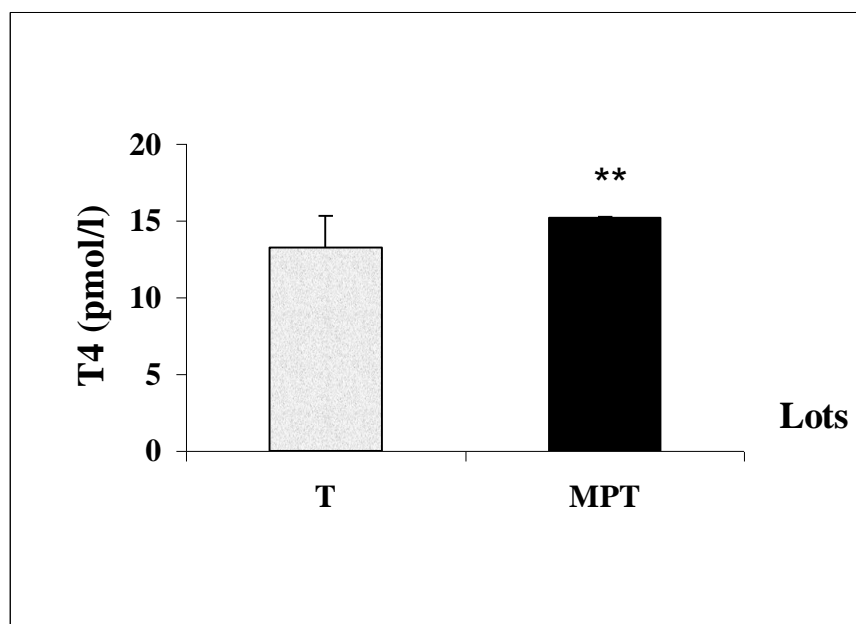
*: T vs MPT (p < 0.05)



(A)



(B)



(C)

Figure 26: Variation des teneurs en acétylcholinestérase en UI/L (A), en TSH en ng/ml(B) et en T4 en pmol/l (C) chez les animaux témoins (T) et gavés au MPT.

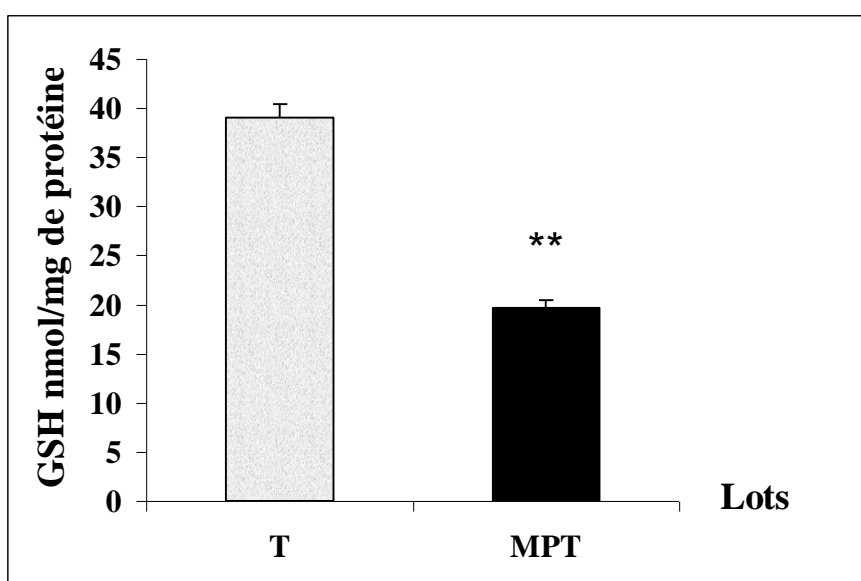
3- Effet du méthyle parathion sur les bio marqueurs du stress oxydatif :

Les teneurs du glutathion hépatique GSH et de l'activité enzymatique de la GST sont constatées après la période du traitement au MPT (Tab.11, Fig. 27). En effet après analyse statistique, Il apparaît que par rapport aux rats témoins, les rats gavés au MPT présentent une diminution significative des taux de GSH (T vs MPT, $p < 0.001$) associée à une augmentation significative de l'activité de la GST (T vs MPT, $p=0.047$).

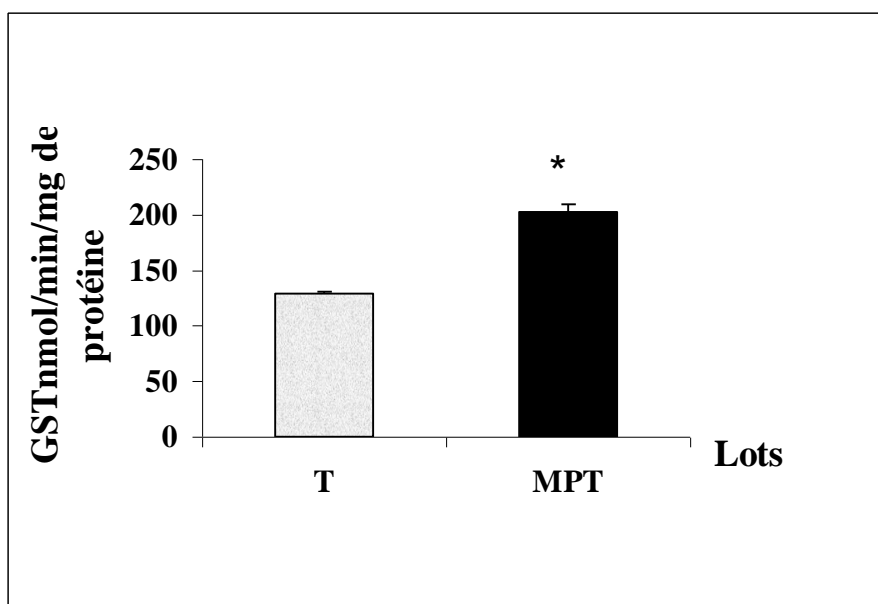
Tableau 11: Variation des teneurs en GSH et de l'activité de la GST chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (n=8).

Lots	GSH nmol/mg de protéine	GST nmol/min/mg de protéine
Témoin (T)	39.04 ± 01.36	128.61 ± 1.69
MPT	$19.70 \pm 00.78^{**}$	$202.51 \pm 7.13^*$

** : T vs MPT ($p < 0.001$) ; * : T vs MPT ($p < 0.05$)



(A)



(B)

Figure 27: Variation de la teneur en GSH en nmol/mg de protéine (A), et de l'activité de la GST en nmol /min/mg de protéine (B) chez les rats mâles témoins (T) et gavés au MPT.

4- Effet du méthyle parathion sur le métabolisme glucidique et lipidique :

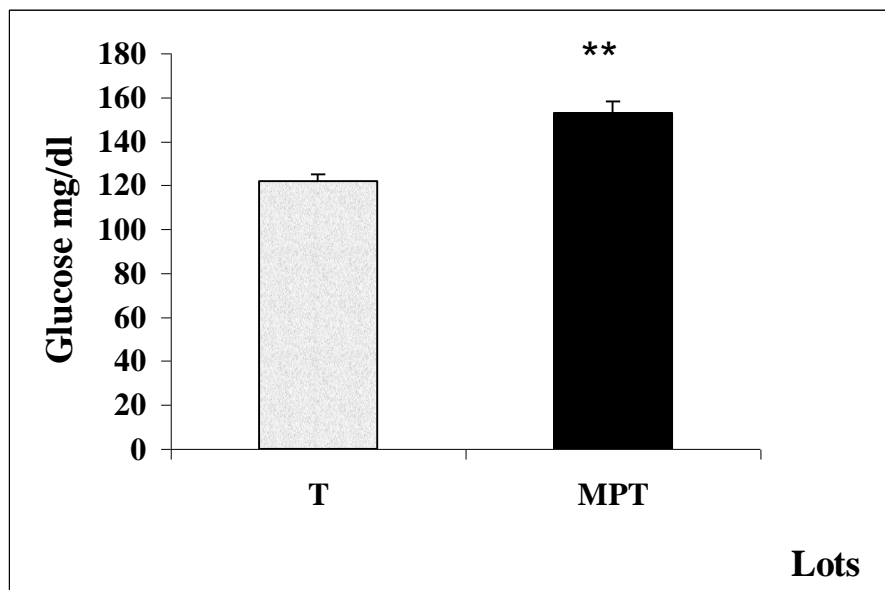
Le métabolisme glucidique est perturbé chez les animaux gavés au MPT (Tab.12, Fig. 28) et ceci est reflété par une augmentation significative de la concentration en glucose dans le sang (T vs MPT, $p < 0.001$) associée d'une diminution significative de la concentration en insuline dans le sang (T vs MPT, $p < 0.001$).

En ce qui concerne le métabolisme lipidique (Tab.13, Fig. 29), il se caractérise chez les rats traités au MPT par une augmentation significative de la concentration en cholestérol (T vs MPT, $p = 0.0333$) et en triglycérides (T vs MPT, $p = 0.002$) par rapport aux témoins.

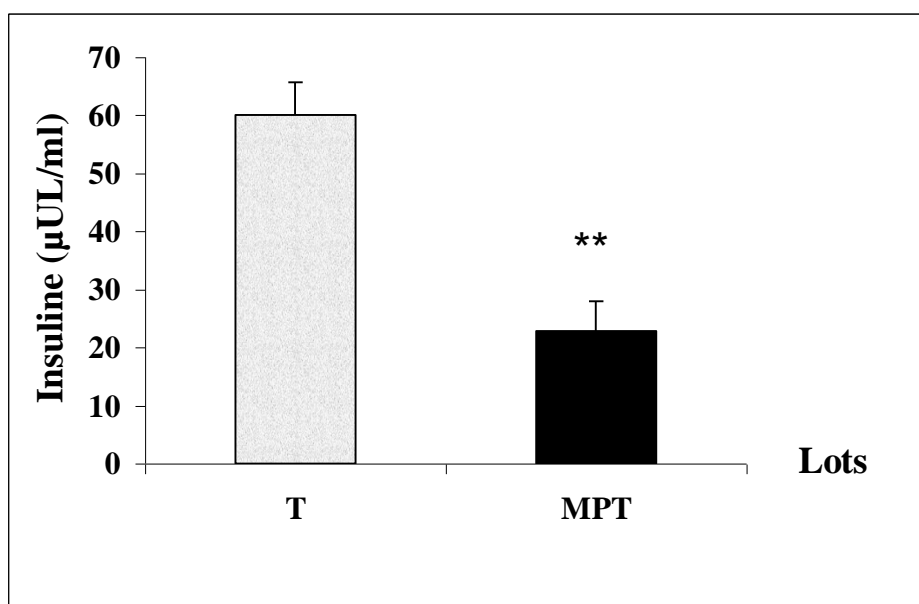
Tableau 12 : Variation des taux du glucose et de l'insuline chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (n=8).

Lots	Glucose (mg/dl)	Insuline (μUL/ml)
Témoin (T)	122.00 \pm 03.00	60.00 \pm 05.70
MPT	153.00 \pm 05.00**	22.80 \pm 05.20**

** : T vs MPT (p<0.001)



(A)



(B)

Figure 28 : Variation des taux du glucose en mg/dl (A) et de l'insuline en μ U/ml plasmatiques (B) chez des animaux témoins (T) et gavés au MPT.

Tableau 13: Variation des teneurs en triglycérides et en cholestérol sanguins chez les rats mâles témoins et gavés au MPT (n=8).

Lots	Triglycérides (mg/dl)	Cholestérol (mg/dl)
Témoin (T)	125 ± 05	77 ± 08
MPT	152 ± 09**	89 ± 09*

** : T vs MPT (p < 0.001)

*: T vs MPT (p < 0.05)

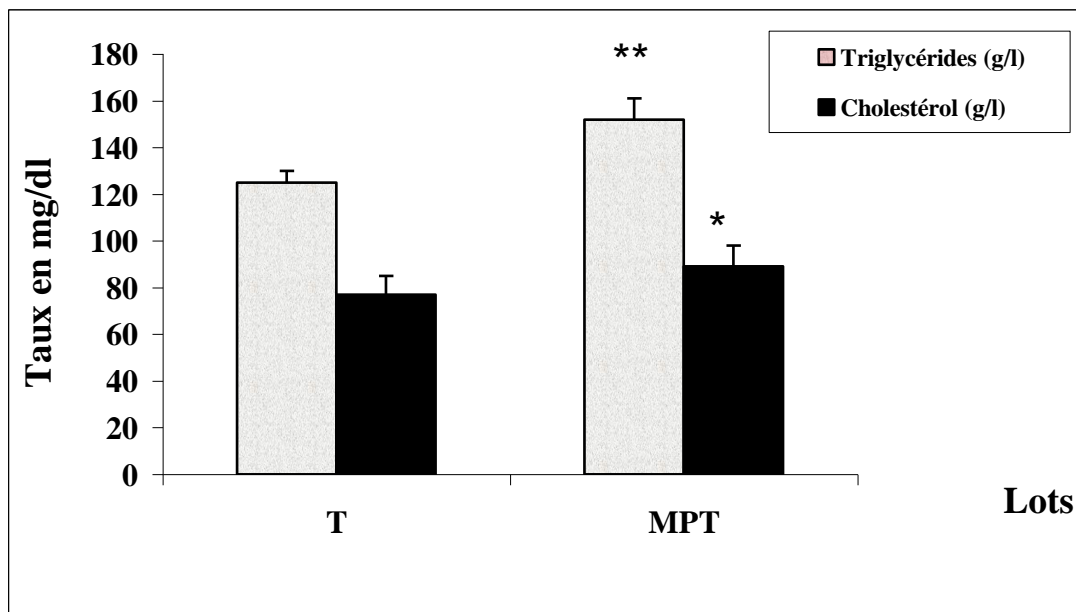


Figure 29: Variation des teneurs en triglycérides et en cholestérol sanguins en mg/dl chez des animaux témoins (T) et gavés au MPT.

5- Effet du stress de contention sur le système de détoxification :

Chez les rats ayant subi un stress de contention, la teneur en GSH est plus basse que celle relevée chez les témoins (Tab.14, Fig. 30).

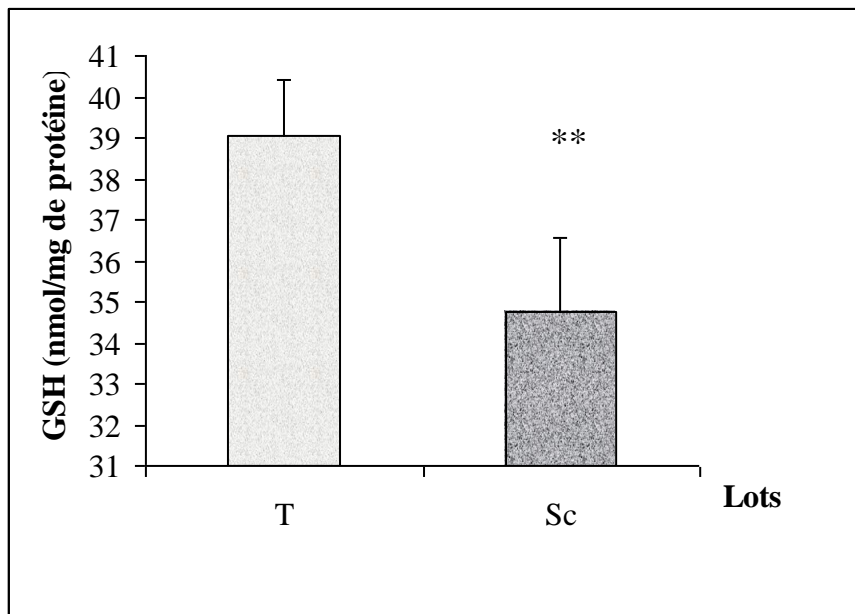
L'analyse statistique révèle l'existence de différence très significative entre les teneurs en GSH des rats soumis au stress de contention et celles des rats témoins (T vs Sc, $p < 0.001$).

En ce qui concerne l'activité GST, elle est élevée chez les rats stressés par rapport à celle des rats témoins (T vs Sc, $p = 0.0077$).

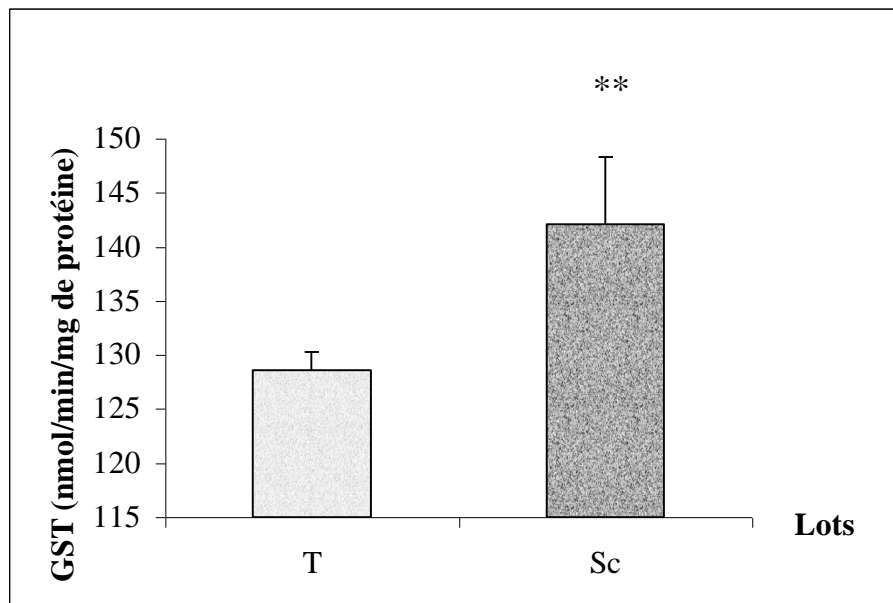
Tableau 14 : Variation de la teneur en GSH et de l'activité de la GST chez les rats mâles témoins et stressés (n=8).

Lots	GSH nmol/mg de protéine	GST Nmol/min/mg de protéine
Témoin (T)	39.04 ± 01.36	128.61 ± 1.69
Stress de contention	34.77 ± 01.81**	142.08 ± 06.22**

** : Sc vs T (p<0.001)



(A)



(B)

Figure 30: Variation de la teneur en GSH en nmol/mg de protéine et de l'activité de la GST en nmol/min/mg de protéine chez les animaux témoins et stressés

6- Effet du stress de contention sur le métabolisme glucidique et lipidique :

Chez les rats soumis au stress de contention, les concentrations de glucose et des triglycérides ne montrent pas de différence significative par rapport à celui des témoins (Tab.15, Fig. 31).

Quant au cholestérol, les concentrations relevées montrent des différences significatives entre les rats témoins et les rats stressés par contention (T vs Sc, $p=0.0062$).

Tableau 15 : Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les rats mâles témoins et stressés (n=8).

Lots	Glucose (mg/dl)	Triglycérides (mg/dl)	Cholestérol (mg/dl)
Témoin (T)	122 ± 03	125 ± 05	77 ± 08
Stress de contention	124 ± 05	118 ± 06	93 ± 08**

** : Sc vs T (p<0.001)

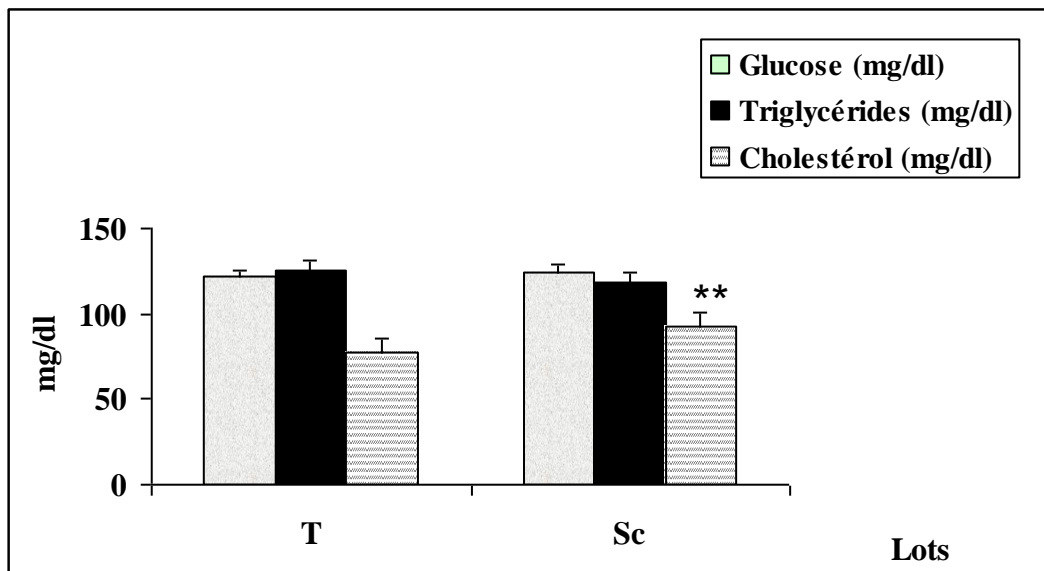


Figure 31 : Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les animaux témoins(T) et stressés (Sc)

II/ 1- Effet de supplément en taurine et en vitamine E sur le système de détoxification chez les animaux traités au MPT :

Le MPT induit une diminution significative de la teneur en GSH et une augmentation de l'activité GST par rapport aux témoins. En revanche, le traitement des rats gavés au MPT par la taurine à raison de 0.2% pendant toute la période du gavage a rétablie la teneur en GSH et l'activité de la GST (Tab.16, Fig. 32).

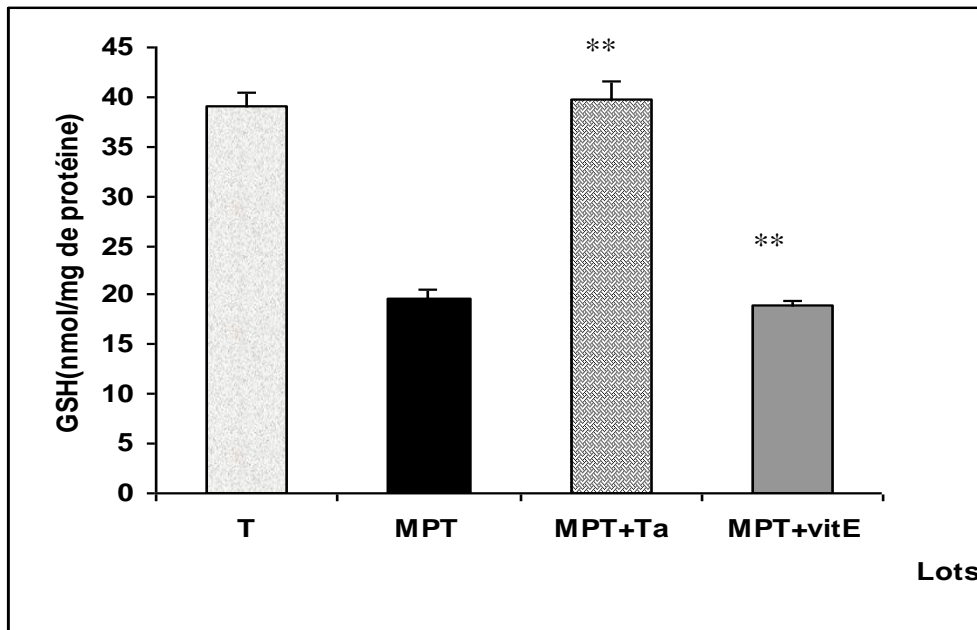
L'analyse statistique montre que la teneur en GSH chez les animaux gavés au MPT et traités à la taurine s'accroît significativement par rapport à celle relevée chez les rats gavés seulement au MPT (MPT+Ta vs MPT, $p < 0.0001$). L'analyse statistique montre l'absence de différence significative entre témoins et traités MPT+taurine. En ce qui concerne le traitement à l'aide de vitamine E, les résultats montrent une diminution de la teneur en GSH des animaux traités comparativement aux témoins ($p < 0.0001$).

Quant à l'activité de la GST chez animaux gavés au MPT et traités à la taurine, cette dernière baisse significativement par rapport à celles notée chez les rats gavés seulement au MPT (MPT+Ta vs MPT, $p < 0.0001$). L'activité de la GST ne montre pas de différence significative entre le lot témoins et celui gavé au MPT et traité à la taurine (Tab.16, Fig. 32). En revanche, cette diminution est significative pour les animaux traités à la vitamine E comparativement même aux témoins ($p = 0.0067$).

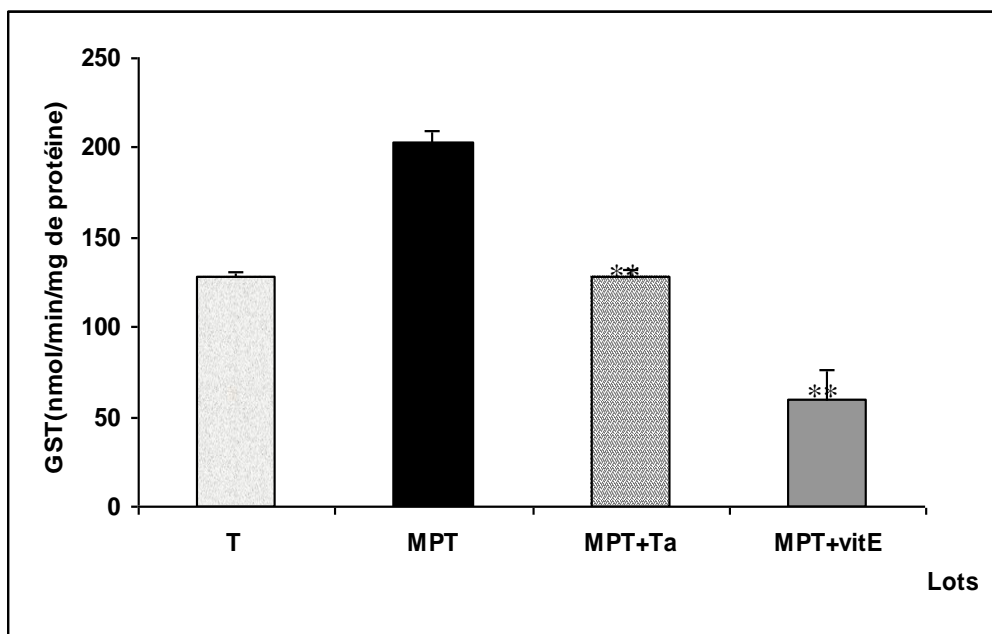
Tableau 16: Variation de la teneur en GSH et l'activité de la GST chez les rats mâles témoins, traités au MPT, au MPT + Taurine et au MPT + vitamine E (n=8).

Lots	GSH nmol/mg de protéine	GST nmol/min/mg de protéine
Témoin (T)	39.04 ± 01.36	128.61 ± 01.69
MPT	19.70 ± 00.78	202.51 ± 07.13
MPT+Ta	39.67 ± 01.81**	128.09 ± 04.48**
MPT+VitE	18.96 ± 00.45**	59.94 ± 15.71**

** : MPT vs MPT+Ta ($p < 0.001$); ** : MPT vs MPT+VitE ($p < 0.001$)



(A)



(B)

Figure 32 : Variation de la teneur en GSH en nmol/mg de protéine(A) et l'activité de la GST en nmol/min/mg de protéine (B) chez les animaux témoins, traités MPT , au MPT + Taurine et MPT+vitE.

2- Effet de supplément en taurine et en vitamine E sur le métabolisme glucidique et lipidique chez les animaux traités au MPT :

Chez les rats traités au MPT, il est relevé une augmentation dans le sang des teneurs en glucose, en triglycéride et en cholestérol. Mais en revanche, l'administration de la taurine ou de la vitamine E à des rats gavés au MPT est à l'origine de la baisse des teneurs en glucose, triglycéride et cholestérol.

L'analyse statistique montre une différence significative entre les teneurs en glucose, triglycérides et cholestérol chez les rats gavés au MPT et ceux gavés au MPT et traités à la taurine (MPT vs MPT+Ta, les « p » sont respectivement : $p < 0.0001$, $p = 0.0007$, $p = 0.0168$).

Nous notons toutefois que ces trois paramètres ne montrent pas de différences significative entre les rats témoins et ceux gavés au MPT et traités à la taurine. Par contre cette différence est significative (Tab.17, Fig. 33) chez les rats traités à la vitamine E, en ce qui concerne les deux paramètres glucose et triglycérides (T vs MPT+VitE. les p sont respectivement : $p = 0.0084$, $p = 0.067$).

Tableau 17 : Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les rats mâles témoins, traités au MPT, au MPT + Taurine et au MPT+vit E (n=8).

Lots	Glucose (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)	Cholestérol (mg/dl)
Témoin (T)	122,00 ± 03,00	125,00 ± 05,00	77,00 ± 08,00
MPT	153,00 ± 05,00	152,00 ± 09,00	89,00 ± 09,00
MPT+Ta	119,00 ± 08,00**	128,00 ± 07,00**	76,00 ± 03,00*
MPT+VitE	98.90 ± 16.00**	98.00 ± 15.70*	83.60 ± 09.10

** : MPT vs MPT+Ta ($p < 0.001$), * : MPT vs MPT+Ta ($p < 0.05$)

** : MPT vs MPT+VitE ($p < 0.001$), * : MPT vs MPT+VitE ($p < 0.05$)

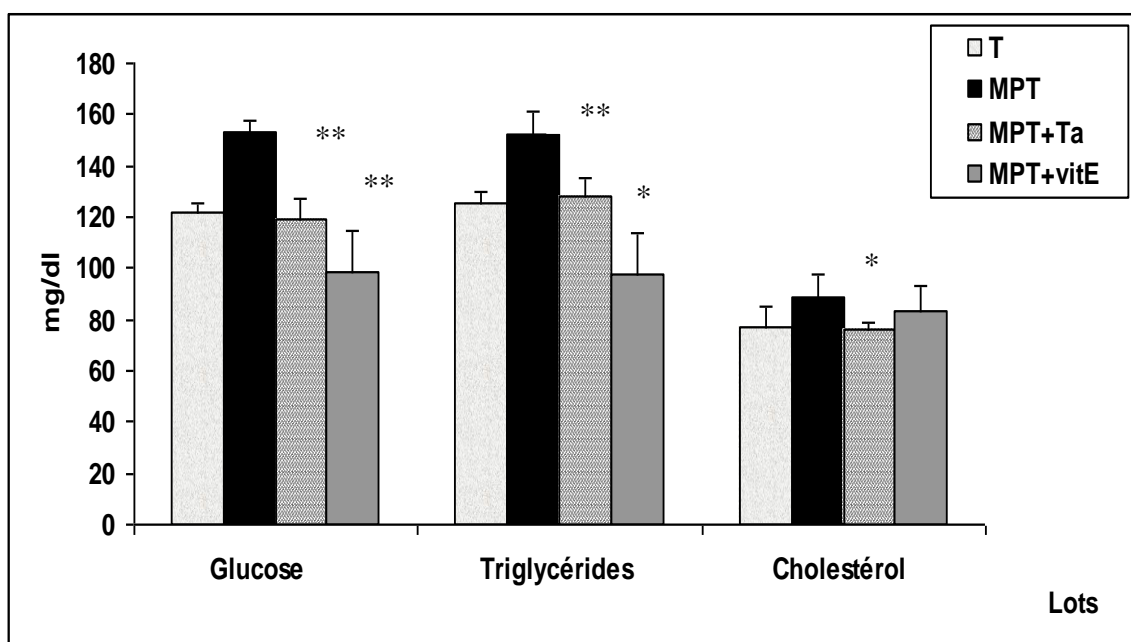


Figure 33: Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins en mg/dl chez les animaux témoins, traités au MPT, MPT + Ta et MPT +VitE.

Une comparaison entre les différents groupes (T, MPT, S, MPT+Ta, MPT+VitE) par une analyse de la variance ANOVA à un critère de classification montre une différence significative entre les différents paramètres ($p < 0,001$) :

	F	P
Glucose	70,005	<0,001
Cholestérol	9,137	<0,001
Triglycérides	26,044	<0,001
GST	157,984	<0,001
GSH	231,224	<0,001

III/ 1- Effet d'un bloquant α 2-adrénergique « la yohimbine » durant un stress oxydatif (MPT et stress de contention) sur le système de détoxification :

Chez les rats gavés au MPT et traités à la yohimbine, nous relevons des teneurs en GSH nettement plus élevées que celles relevées chez les rats témoins et les rats traités au MPT.

L'analyse statistique (Tab.18, Fig. 34) révèle l'existence de différences significatives des teneurs en GSH respectivement chez les rats traités au MPT (MPT+Yoh vs MPT, $p < 0.0001$) et chez les rats témoins (MPT+Yoh vs T, $p < 0.0001$).

Chez les rats ayant subi un stress de contention, nous notons par ailleurs, que l'administration de yohimbine fait augmenter la teneur en GSH par rapport à celles relevées chez les rats soumis au stress de contention.

L'analyse statistique (Tab.19, Fig. 35) révèle que les teneurs en GSH montrent des différences significatives entre les rats stressés et traités à la yohimbine et les rats témoins (Sc+Yoh vs T, $p = 0.0198$) et même avec ceux seulement soumis au stress de contention (Sc+Yoh vs Sc, $p = 0.0297$).

En ce qui concerne l'activité de la GST (Tab.18, Fig. 34) des rats gavés au MPT et traités à la yohimbine, elle est augmentée par rapport à celle relevée chez les témoins (MPT+Yoh vs T, $p = 0.0154$) ; mais elle reste cependant inférieure à celle enregistrée chez les rats traités au MPT (MPT+Yoh vs MPT, $p < 0.0001$).

L'analyse statistique fait apparaître des différences significatives entre l'activité de la GST des rats traités au MPT +yohimbine et celle des rats traités par seulement le MPT.

Par ailleurs, l'administration de la yohimbine à des rats stressés par contention fait baisser l'activité de la GST significativement (Tab.19, Fig.35) par rapport aux rats témoins (Sc+Yoh vs T, $p = 0.0057$) et traités (Sc+Yoh vs Sc, $p < 0.0001$).

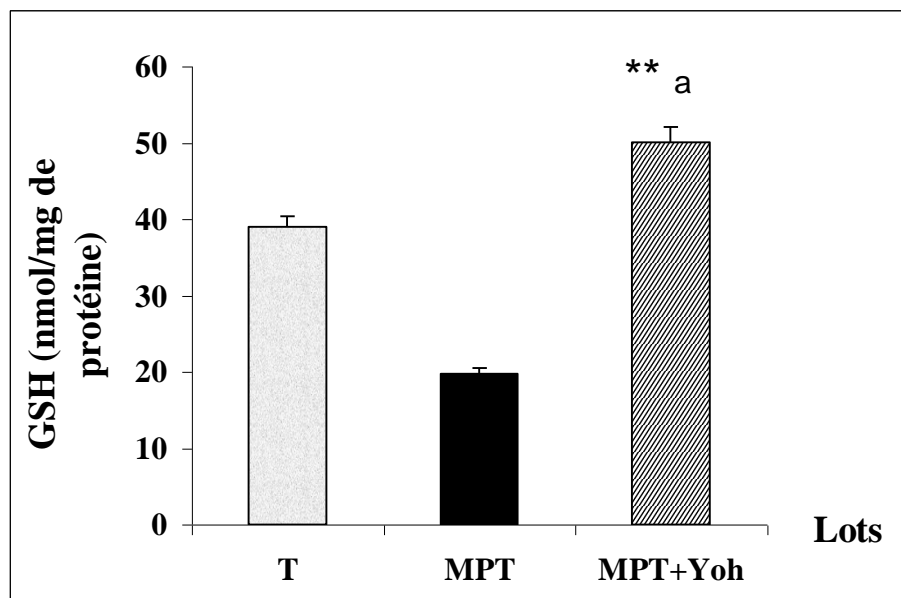
Tableau 18 : Variation de la teneur en GSH et de l'activité de la GST chez les rats mâles témoins, traité au MPT et au MPT+ Yohimbine (n=8).

Lots	GSH nmol/mg de protéine	GST nmol/min/mg de protéine
Témoin (T)	39.04 ± 01.36	128.61 ± 01.69
MPT	19.70 ± 00.78	202.51 ± 07.13
MPT+Yoh	50.06 ± 2.01**a	151.8 ± 05.19**b

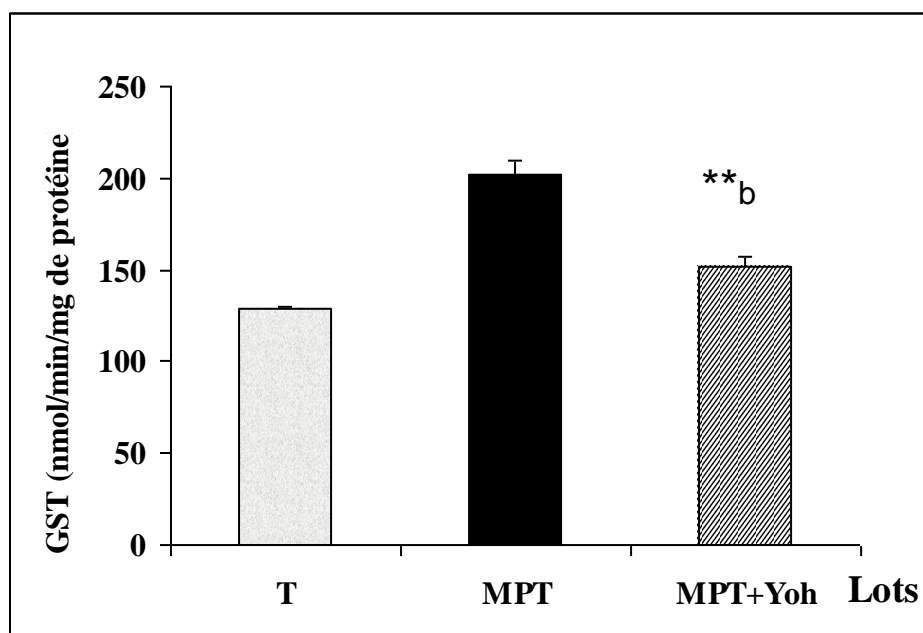
** : MPT vs MPT+Yoh (p<0.001),

a : MPT+Yoh vs T, (p<0.001),

b : MPT+Yoh vs T, (p<0.01)



(A)



(B)

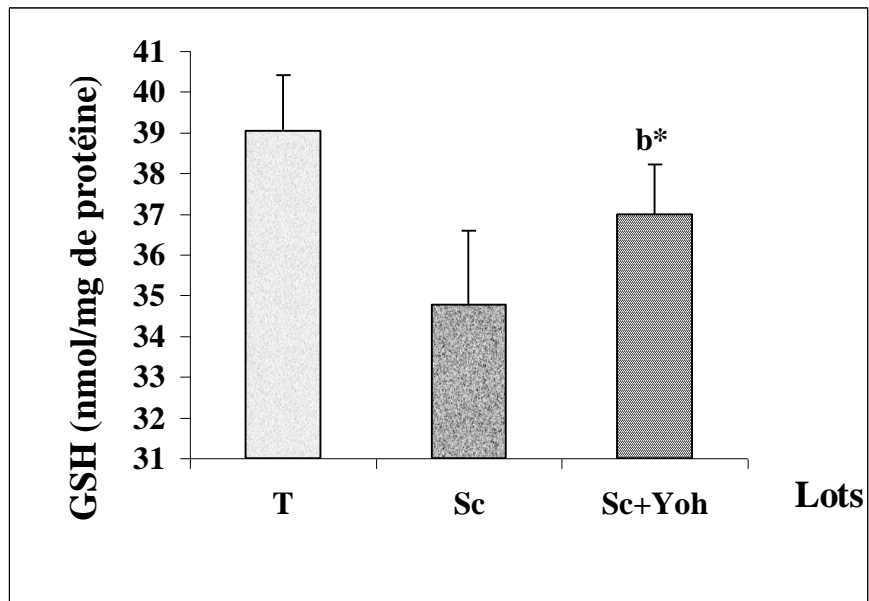
Figure 34 : Variation de la teneur en GSH en nmol/mg de protéine (A) et de l'activité de la GST en nmol/min/mg de protéine (B) chez les animaux témoins, traités au MPT et au MPT+ Yohimbine.

Tableau 19 : Variation de la teneur en GSH et de l'activité de la GST chez les rats mâles témoins, stressés et traités à la Yohimbine (n=8).

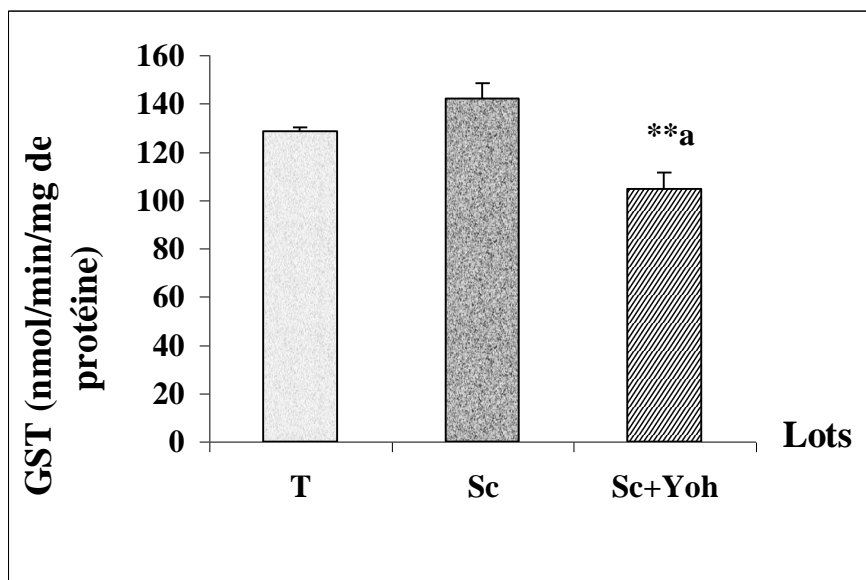
Lots	GSH nmol/mg de protéine	GST nmol/min/mg de protéine
Témoin (T)	39.04 ± 01.36	128.61 ± 1.69
Stress de contention	34.77 ± 01.81	142.08 ± 06.22
Stress + yohimbine	37.00 ± 01.21 * ^b	104.68 ± 06.75 ** ^a

** : Sc+Yoh vs T (p<0.001), * : Sc+Yoh vs T (p<0.05),

a: Sc+Yoh vs Sc (p<0.001), b: Sc+Yoh vs Sc (p<0.05)



(A)



(B)

Figure 35 : Variation de la teneur en GSH en nmol/mg de protéine et de l'activité de la GST en nmol/min/mg de protéine chez les animaux témoins, stressés et traités à la Yohimbine.

2- Effet d'un bloquant α 2-adrénergique « la yohimbine » durant un stress oxydatif (MPT et stress de contention) sur le métabolisme glucidique et lipidique :

Chez les rats gavés au MPT et traités à la yohimbine, la concentration en glucose, triglycérides et cholestérol montrent une nette augmentation par rapport à celles relevées chez les rats traités au MPT et les rats témoins.

En ce qui concerne les concentrations en glucose l'analyse statistique (Tab. 20, Fig. 36) montre l'existence de différences significatives entre les rats traités et les rats témoins. (MPT+Yoh vs T, $p < 0.0001$; MPT+Yoh vs MPT, $p = 0.0001$).

Quant aux teneurs en triglycérides, l'analyse statistique (Tab. 20, Fig. 36) montre l'existence de différences significatives entre les rats traités et les rats témoins. (MPT+Yoh vs T, $p < 0.0001$; MPT+Yoh vs MPT, $p = 0.0371$).

Les teneurs en cholestérol relevées, (Tab. 20, Fig. 36) montrent une différence significative entre celles chez les rats gavés au MPT et traités à la yohimbine et celles des rats témoins. (MPT+Yoh vs T, $p = 0.0466$).

Chez les rats soumis au stress de contention et traités à la yohimbine, les concentrations en glucose (Tab. 21, Fig. 37) montrent des différences significatives par rapport à celles des rats stressés (Sc+Yoh vs Sc, $p = 0.008$) et témoins (Sc+Yoh vs T, $p = 0.002$).

Les concentrations en triglycérides (Tab. 21, Fig. 37) chez les rats stressés et traités à la yohimbine montrent une différence significative par rapport à celles des rats stressés par contention (Sc+Yoh vs Sc, $p = 0.0156$).

Quant au cholestérol, les concentrations relevées (Tab. 21, Fig. 37) montrent une différence significative entre les rats stressés et traités à la yohimbine et ceux stressés par contention (Sc+Yoh vs Sc, $p = 0.0014$).

Tableau 20 : Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les rats mâles témoins, traité au MPT et au MPT+ Yohimbine (n=8).

Lots	Glucose (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)
Témoin (T)	122 ± 03	125 ± 05	77 ± 08
MPT	153 ± 05	152 ± 09	89 ± 09
MPT+Yoh	183 ± 08 ^{***a}	162 ± 05 ^{*b}	91 ± 11 ^b

** : MPT+Yoh vs MPT (p<0.001), a : MPT+Yoh vs T, (p<0.001)

* : MPT+Yoh vs MPT (p<0.05), b : MPT+Yoh vs T, (p<0.05)

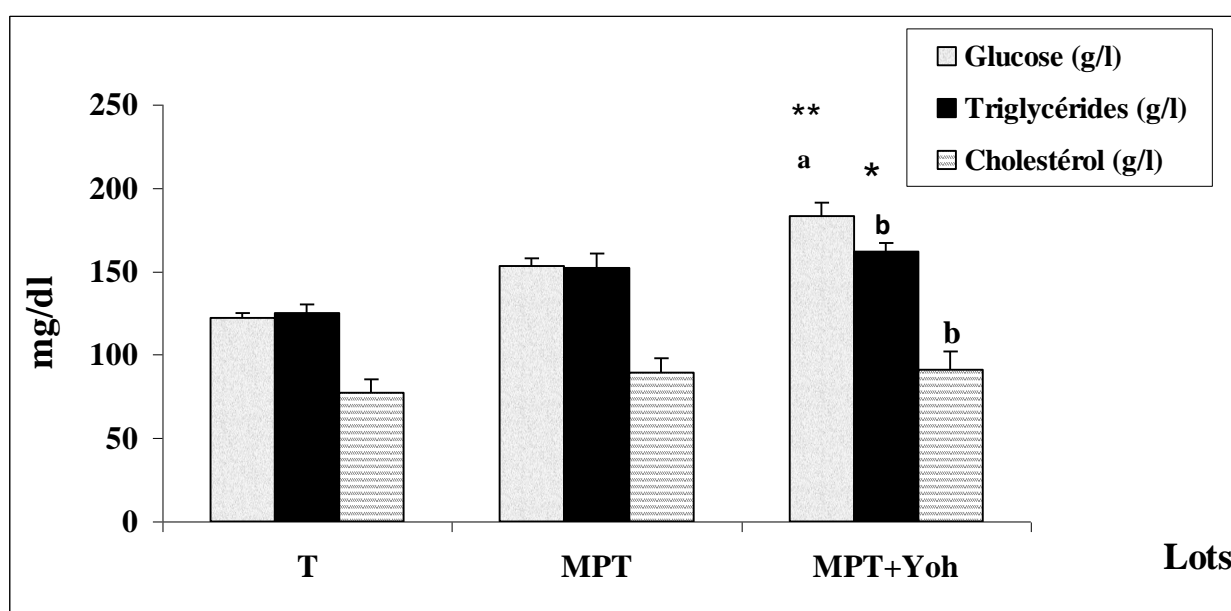


Figure 36: Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les animaux témoins, traités au MPT et au MPT+ Yohimbine.

Tableau 21: Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les rats mâles témoins, stressés et traités à la Yohimbine (n=8).

Lots	Glucose (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)
Témoin (T)	122 ± 03	125 ± 05	77 ± 08
Stress de contention	124 ± 05	118 ± 06	93 ± 08
Stress.C + yohimbine	140 ± 06 ^{***a}	128 ± 06 ^b	72 ± 08 ^a

***: Sc+Yoh vs T (p<0.001),

a : Sc+Yoh vs Sc (p<0.001), b: Sc+Yoh vs Sc (p<0.05)

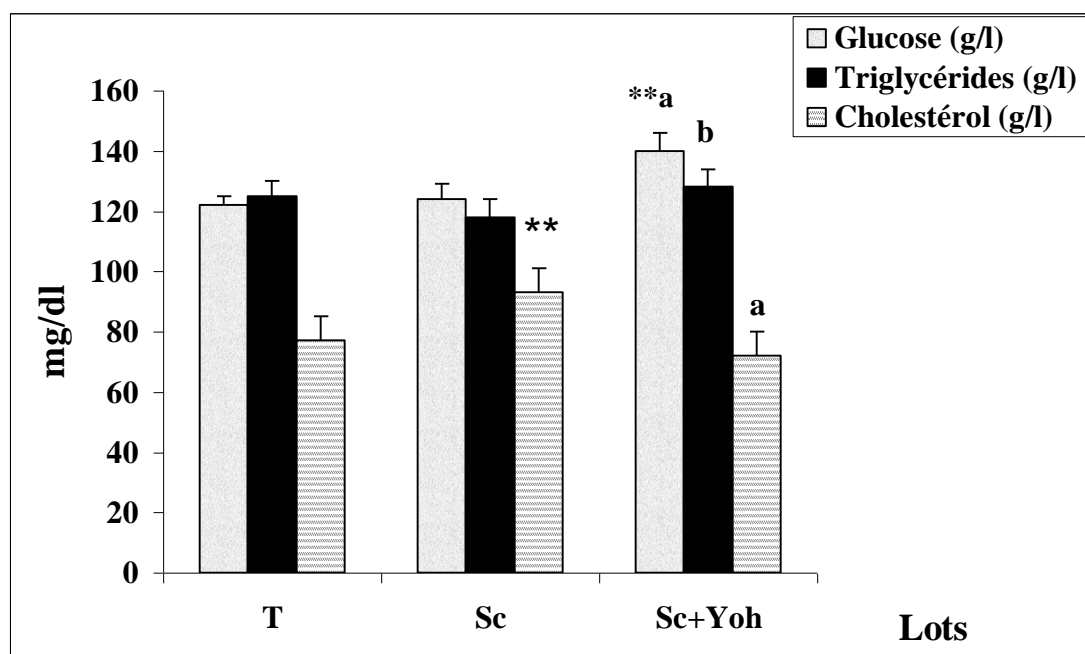


Figure 37 : Variation des concentrations en glucose, triglycérides et cholestérol sanguins chez les animaux témoins, stressés et traités à la Yohimbine.

Discussion

1- Effet du méthyle parathion sur les variations de l'acétylcholinestérase et la corticostérone :

La plus récente littérature étudiée tend à lier les expositions environnementales induisant le stress oxydant avec les maladies neurodégénératives et le vieillissement. Un mécanisme d'action commun est trouvé avec les métaux, mais en incluant d'autres facteurs de risque environnementales pour les maladies dégénératives relatives à l'âge, telles que des pesticides, implique la production du ROS. L'exposition aux agents environnementaux peut mener aux concentrations significatives de ces composés dans le cerveau nécessaire pour produire une attaque oxydante. (Migliorea et Coppedè, 2009) Quelques tissus, particulièrement le cerveau, sont beaucoup plus vulnérable au stress oxydant en raison de leur consommation accrue de l'oxygène et la génération consécutive des grands nombres de ROS. D'ailleurs, les atteintes oxydantes sont fortement appropriées dans le cerveau parce que, comparé à d'autres tissus ils contiennent une activité inférieure des enzymes antioxydantes telles que le glutathion peroxydase et la catalase, et sont riches en acides gras polyinsaturés qui sont fortement susceptibles de la peroxydation lipidique. Le cerveau est également riche en métaux, tels que le fer qui peut agir en tant que catalyseur efficace pour la formation de ROS (Mariani *et al.*, 2005).

Des recherches précédentes ont étudiées les effets du stress, associé à des perturbations endocrines, métaboliques et immunitaires avec le système nerveux central (CNS), l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HHS) et le système nerveux autonome. (Chrousos et Gold, 1992 ; Stratakis et Chrousos, 1995). Les perturbations résultantes peuvent varier en raison du type, de l'intensité et de la durée d'un stress particulier, la différence de Sex Ratio du sujet d'expérience, aussi bien que la période de la mesure d'un paramètre particulier (Ayensu *et al.*, 1995; Dhabhar *et al.*, 1997; Kusnekov et Rabin, 1994; Muscat et Willner, 1992; Willner *et al.*, 1987).

1.1. Effet du méthyle parathion sur les concentrations de l'acétylcholinestérase

Nos résultats obtenus montrent que l'insecticide organophosphoré méthyle parathion induit une diminution de l'acétylcholinestérase dans le cerveau et le foie. Des résultats similaires ont été enregistrés dans le cadre des travaux précédents. L'interaction des deux insecticides organophosphorés le chlorpyrifos et le méthyle parathion chez des rats adultes provoque une inhibition de l'acétylcholinestérase (Karanth *et al.*, 2004). De plus les travaux de Bajgar *et al.* (2007) ont mis en évidence une non uniformité de l'inhibition de l'AChE dans

les différentes structures du cerveau (amygdale, thalamus, hypothalamus, hippocampe et le septum dorsal) suite à une neurotoxicité au soman chez les rats. Ceci suggère que certaines structures du cerveau sont plus sensibles aux xénobiotiques que d'autres. Sunanda *et al.*, (2000) ont montré que le stress de contention induit une altération des amines biogènes associée à une inhibition de l'activité AChE au niveau de l'hippocampe. D'après les résultats obtenus, le stress cognitif (contention) et non cognitif (MPT) agissent de la même manière sur l'activité de l'AChE en l'inhibant mais pas avec la même intensité.

La similitude dans les symptômes a suggéré que des mécanismes communs puissent être impliqués dans le PTSD et les réponses d'anti- AChE. Un choix fortement variable de symptômes neuropsychiatriques et physiques est caractéristique de ce qui a été défini chez l'homme en tant que désordre de stress post-traumatique (PTSD) (Sapolsky, 1997). Ce syndrome inclut la détérioration cognitive retardée, la dépression, l'irritabilité, les déficits persistants dans la mémoire à court terme et même la réduction du volume d'hippocampe (McEwen, 1997). La contrainte psychologique aiguë de la nage forcée perturbe la barrière hémato-méningée chez les souris, qui conduit à la pénétration efficace des anti- AChEs dans le cerveau. L'inhibition consécutive du AChE facilite une élévation des niveaux d'ACh et induit une cascade de réponses transcriptionnelles de c-Fos qui dépendent de l'accumulation intracellulaire de Ca^{2+} (Kaufner *et al.*, 1998 ; Friedman *et al.*, 1996). Ces réponses impliquent en plus « le locus cholinergique » (Erickson *et al.*, 1994), où d'autres gènes sont localisés responsables de la synthèse et l'emballage d'ACh dans des vésicules. L'expression de ces gènes est réprimée en même temps que l'expression de l'AChE est augmentée. Tous ces événements induisent la diminution des niveaux d'ACh. La diminution d'ACh, observée *in vivo* et dans des tranches de cerveau, supprime ainsi la neurotransmission cholinergique. Ceci est accompagné des changements énergiques des propriétés neurophysiologiques et neuroanatomiques considérées être associées à la mémoire.

Dans de nombreuses études sur des animaux, la suppression de la potentialisation à long terme, le perfectionnement de la dépression à long terme, et les changements de la morphologie de dendrite sont tous observés après une exposition aux anti- cholinestérases (Magarinos *et al.*, 1996).

1.2. Effet du méthyle parathion sur les variations de la corticostérone

Des rats mâles adultes ont été soumis au stress conjugué incluant de composant chroniques (gavage au MPT) suivie de composant aigu (stress de contention). Le composant

chronique consiste à une session de 5 jours (MPT1) ou bien deux sessions avec un intervalle d'une semaine (MPT2) où les rats étaient gavés quotidiennement à une dose de 4mg/kg de poids vif de méthyle parathion. Le composant aigu est une 1 session de 30 minute de stress de contention (immobilisation). Nous avons constaté que les rats témoins soumis à un stress aigu, présente une augmentation de l'activité de la corticostérone et ceci est du au stress de contention, les MPT1 montre une réponse élevé à t0, même si elle n'est pas significative, peut être du au temps ou à la dose administré. Après le stress de contention, on enregistre des élévations à t2 sans toutefois atteindre les mêmes valeurs des témoins, et ceci persistera pendant 2heures pour commencer à baisser et retourner aux valeurs initiales. Pour les MPT2, les valeurs t0 sont significativement inférieur, ce qui montre l'effet prolongé (20j) du traitement au MPT comparativement à seulement 5j de gavage et aux témoins. Pendant la contention les valeurs augmentent de la même amplitude que les MPT1, mais une fois le stress aigu achevé, une chute significative est enregistrée comparativement aux deux autres groupes. Parallèlement, le traitement au MPT réduit le taux de croissance, augmente le poids des glandes surrénales.

Les facteurs de force éthologique appropriés, tels que l'exposition au prédateur, produisent des augmentations des comportements liés au stress et de la corticostérone plasmatique. Il a été aussi démontré que l'accoutumance se produit moins avec l'exposition répétée à un prédateur qu'avec l'exposition répétée à d'autres facteurs de stress tels que la contention (Plata-Salaman *et al.*, 2000). Les niveaux de Corticostérone étaient sensiblement élevés juste après les 10 minutes d'exposition au furet et ont atteint un maximum aux 15 minutes après arrêt d'exposition de furet. À la 120^{ème} minute, les valeurs de corticostérone n'étaient pas sensiblement différentes des niveaux des témoins (Roseboom *et al.*, 2007). Il a été démontré que l'exposition à l'odeur d'un furet augmentent les niveaux de la corticostérone de rat (Masini *et al.*, 2005, 2006).

Un stress chronique imprévisible d'une période de 14 jours (Chappell *et al.*, 1986; Katz, 1981) a montré une augmentation permanentes de corticostérone (Lopez *et al.*, 1998). Cependant, l'exposition à un autre modèle chronique de stress n'a indiqué aucun changement des niveaux basiques d'ACTH ou de corticostérone quand ceux-ci ont été évalués 16 h après la dernière session de stress (Paskitti *et al.*, 2000). Le stress de contention, induit une augmentation des niveaux d'ACTH, qui ont également duré pendant une heure après l'exposition à la session de stress (Paskitti *et al.*, 2000). Il pourrait suggérer que

l'augmentation des niveaux d'ACTH soit principalement liée aux effets aigus dérivés de la dernière session de stress. L'altitude passagère des ACTH est généralement interprétée comme une réponse au stress suivi par l'épuisement provisoire des ACTH et/ou par l'activation du mécanisme de rétrocontrôle négatif, exercé du a une hypersécrétion de corticostérone (Dhabhar *et al.*, 1997; Fukuhara *et al.*, 1996; Rivier et Vale, 1987). Il a été montré aussi que la privation hydrique, la privation alimentaire ainsi que leur combinaison durant trois jours entraînent une augmentation significative des taux de la corticostérone plasmatique (Kasdallah *et al.*, 2005).

Une réponse affaiblie de cortisol au stress aigu est un phénomène bien documenté qui se produit dans plusieurs espèces de poissons, suivant des expositions prolongées au xénobiotique (Hontela *et al.*, 1997 ; Girard *et al.* , 1998 ; Norris *et al.*, 1999 ; Dorval *et al.*, 2005). Cependant, des données au sujet de la réponse diminuée de cortisol suite à une exposition aiguë sont limitées (Pacheco et Santos, 2001 ; Gravel et Vijayan, 2007 ; Hori *et al.*, 2008). Un mécanisme physiologique possible derrière cette réponse bloquée de cortisol semble être lié à la réponse diminuée du tissu inter-rénal à l'hormone adrénocorticotrope (ACTH), comme vérifié par Benguira *et al.*, (2002). Les poissons intensément exposés au méthyle parathion à toutes les concentrations examinées montrent un affaiblissement total pour élever le cortisol en réponse au stress aigu (Lappivaara, 2001 ; Cericato *et al.*, 2008). Le méthyle parathion ou son métabolite le plus toxique, le méthyl-paroxon est lentement inactivé chez les poissons que chez les mammifères (Areechon et Plumb, 1990), pourrait exercer une adrenotoxicité, provoquant l'affaiblissement de la réponse de cortisol. Ceci a pu expliquer le bloc de la réponse de cortisol. Ces hypothèses ont été également postulé par Hori *et al.*, (2008) pour expliquer le blocage de l'axe HPI chez *Brycon amazonicus* après l'exposition aiguë (96 h) à de basses concentrations du phénol.

La majorité de la littérature traitant du PTSD a indiqué que les patients atteints PTSD ont les niveaux anormalement bas du cortisol basal, nous avons comparé les niveaux du corticostérone basal dans le groupe stressé MPT1 et le groupes stressé MPT2. Cette comparaison a indiqué que la différence dans les niveaux de corticostérone basal entre ces deux groupes était éventuellement significative, indiquant que le groupe avec un stress (une période de gavage plus longue 20j) tend à avoir un taux de corticostérone inférieur que le groupe avec un stress (période plus courte, 5j) avant et après la contention aiguë.

La question qui se pose maintenant, après ces résultats, peut-on considérer que la disposition prolongée au méthyle parathion peut provoquer un déséquilibre psychologique tel que le PTSD ?

D'abord, le PTSD se développe chez certains seulement après qu'ils ont répété des expériences traumatiques (Resnick *et al.*, 1995 ; Taylor et Cahill 2002) et l'exposition prolongée au trauma augmente la probabilité de développer des symptômes de PTSD (Gurvits *et al.*, 1996). En second lieu, les gens qui développent un PTSD en réponse seulement à une simple expérience aux épisodes puissantes de trauma de l'anxiété et de panique en raison de la répétition des traumas revécus par l'intrusif, et les mémoires flashback (Reynolds et Brewin 1999). D'une manière semblable, la deuxième session de gavage des rats au MPT les a forcés à revivre l'expérience originale du stress.

Il a été constaté que les rats soumis à un stress psychosocial avaient réduit le taux de croissance, réduit le poids de thymus, augmenté le poids de glande surrénale, une anxiété accrue, une réponse exagérée d'effrayement, les affaiblissements cognitifs, une grande réactivité cardio-vasculaire et de corticostérone à un stress aigu et une réponse intensifiée à la yohimbine. Ce travail démontre l'efficacité indéniable des épisodes aigus d'exposition au prédateur administrés en même temps que l'instabilité sociale quotidienne comme modèle animal de PTSD (Zoladz *et al.*, 2008).

D'autres résultats ont montré que l'exposition aux insecticides d'organophosphorés induit les changements comportementaux indésirables des humains, y compris l'anxiété et l'irritabilité, la dépression, les perturbations cognitives et les désordres de sommeil. Peu d'information existe actuellement au sujet des mécanismes nerveux étant à la base de tels changements comportementaux. Le locus coeruleus (LC) pourrait être un médiateur des insecticides organophosphorés induisant des toxicités comportementales puisqu'il contient des niveaux élevés d'acétylcholinestérase et il est impliqué dans la régulation du cycle sommeil-réveil, l'attention, l'éveil, la mémoire, et les processus pathologiques, y compris l'anxiété et la dépression. L'administration systémique d'une dose unique du méthyle parathion (1 mg/kg, i.v.) a augmenté l'activité des neurones de LC de 240% mais n'a pas changé les rapports temporels parmi les activités des neurones multiples de LC. Cette dose de méthyle parathion a induit une diminution de 50% d'activité d'acétylcholinestérase de sang et une diminution de 48% d'activité d'acétylcholinestérase de LC. L'excitation des neurones de LC induite par le méthyle parathion a été contrebalancée par l'administration du sulfate d'atropine

(un antagoniste de récepteur muscarinique), montre l'implication des récepteurs muscariniques. L'augmentation de l'activité neuronale de LC induite par le méthyle parathion est revenue à la normale à moins de 30 minutes tandis que l'activité d'acétylcholinestérase de sang demeurait inhibée pour plus de 1 H. Ces données indiquent que le traitement au méthyle parathion peut induire l'excitation des neurones de LC. Une telle excitation a pu contribuer à la base neuronale des changements comportementaux de l'humain induits par les insecticides organophosphorés (Zhu *et al.*, 2004).

2. Méthyle parathion et génération d'un stress oxydant

2.1. Effet du méthyle parathion sur les biomarqueurs du stress oxydant :

L'effet principal du MPT et de tout autre COP sur les organismes invertébrés et vertébrés, y compris des humains, est l'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE). Cependant, les effets des COP ne sont pas limités à l'inhibition de l'AChE, on a signalé que les COP induisent également le stress oxydant (Hai *et al.*, 1997 ; Yarsan *et al.*, 1999 ; Peña-Llopis *et al.*, 2003 ; Mohammad *et al.*, 2004 ; López *et al.*, 2007, Drechsel et Patel 2008). Les données récentes de plusieurs rapports indiquent que des radicaux libres sont impliqués dans les mécanismes biochimiques étant à la base des désordres neuropsychiatriques chez l'humain (Kuloglu *et al.*, 2002 ; Tezcan *et al.*, 2003 ; Zhang *et al.*, 2006).

La toxicité de MPT résulte de la conversion métabolique traitée dans le reticulum endoplasmique des hépatocytes, affectant directement la morphologie de ces cellules (Rodrigues et Fanta, 1998 ; Machado et Fanta, 2003) et contribuant, à un certain point, à la diminution de HIS observé chez le groupe MPT. La diminution de HIS peut également refléter un épuisement des réservations énergétiques stockées comme le glycogène hépatique lié à la réponse au stress (Wendelaar-Bonga, 1997). Cette supposition est soutenue par la diminution de glycogène hépatique à environ 80% observé par Aguiar *et al.*, (2004) chez matrinxã exposé à 2 ppm par minute de Folidol 600®.

L'activité GST est impliquée dans la détoxification des xénobiotiques et leur excrétion avec leurs métabolites, y compris le MPT (Jokanovic, 2001). Il joue un rôle important dans la protection des tissus du stress oxydant (Fournier *et al.*, 1992 ; Banerjee *et al.*, 1999). L'activité accrue de GST dans les tissus peut indiquer le développement d'un mécanisme défensif pour

contrecarrer les effets du MPT et peut refléter la possibilité d'une protection plus efficace contre la toxicité du pesticide.

L'activité accrue de GST dans le foie observé dans la présente étude, après exposition au MPT et au stress de contention, suggère que les procédés de détoxification aient été augmentés et corroborent ces derniers établis. La GST a été rapporté comme un bio marqueur pour évaluer les impacts environnementaux du xénobiotique organique engendrant le stress oxydant (Livingstone, 1993 ; Rodríguez-Ariza *et al.*, 1991). GST est plus en activité dans le tissu hépatique que dans le muscle blanc, ce qui indique le rôle efficace du foie dans la détoxification des xénobiotiques (Basha et Rani, 2003 ; Monteiro *et al.*, 2006). Nos résultats ont montrés que l'activité accrue de GST était simultanée aux diminutions du contenu de GSH dans le foie. La GSH joue un rôle important dans la détoxification des électrophiles et la prévention du stress oxydant cellulaire (Hasspieler *et al.*, 1994 ; Sies, 1999). Le déclin considérable dans le contenu de tissu de GSH pendant l'exposition au MPT peut être due à une plus grande utilisation de GSH, qui peut être converti en glutathion oxydé et une régénération inefficace de GSH. Pendant un stress oxydant modéré, les niveaux de GSH peuvent augmenter comme mécanisme adaptatif au moyen d'une synthèse accrue. Cependant, un stress oxydant aigu peut supprimer des niveaux de GSH dus à l'affaiblissement des mécanismes adaptatifs (Zhang *et al.*, 2004). Selon Elia *et al.*, (2003), l'épuisement de la GSH peut réduire la capacité cellulaire d'éliminer les radicaux libres soulevant le potentiel oxydant général dans les cellules. **Jiang N** *et al.*, (2010) a montré que la GSH a pu atténuer les dommages hépatiques induits par le méthyle parathion.

La corrélation entre les changements de l'activité de GST et les niveaux de GSH pourrait impliquer, dans une certaine mesure, une restriction d'activité de GST par les niveaux disponibles de GSH. Cependant, la question est de savoir dans quelle mesure les réductions de ces niveaux de GSH, sont elles responsable des augmentations de l'activité GST. D'ailleurs, les niveaux diminués de GSH ont été accompagnés des diminutions d'activité de GPx. Utilisant la GSH comme agent réducteur, les enzymes de GPx catalysent la réduction de H₂O₂ et des peroxydes organiques en eau et leurs alcools stables correspondants. L'activité de GPx dépend de la présence de GSH, qui est oxydé dans ce processus. Ainsi, l'activité de GPx est susceptible d'être influencée par des niveaux de GSH. L'activité diminuée de GPx peut également être liée à la disponibilité diminuée du GSH requis pour réduire l'impact de ROS (Cheung *et al.*, 2004, Monteiro *et al.*, 2006).

Hai *et al.*, (1997) a constaté une diminution des niveaux de GSH dans le foie et le muscle de carpe après 24 h d'expositions de 1 et 5 mg/l de dichlorvos, un insecticide d'organophosphoré connu pour induire des dommages oxydants. Le cadmium peut entraîner une diminution de la quantité d'antioxydants (glutathion) ou de l'activité d'enzymes permettant de lutter contre le stress oxydant (superoxyde-dismutase, glutathion-peroxydase, catalase) (Leonard *et al.*, 2004). Une augmentation de la synthèse de GSH (Chin et Templeton, 1993 ; Eneman *et al.*, 2000), une augmentation de l'activité enzymatique de la superoxyde-dismutase (SOD) et la catalase de cellules en culture ou d'animaux (Kostic *et al.*, 1993 ; Salovsky *et al.*, 1992 ; Company *et al.*, 2004 ; Ikediobi *et al.*, 2004). Chez la moule *Perna viridis* une exposition au cadmium s'accompagne d'une augmentation de l'activité d'enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase dans le manteau (Prakash et Rao, 1995). A l'inverse, chez la moule des sources hydrothermales (*Bathymodiolus azoricus*), il provoque une diminution de l'activité de la catalase et de la glutathion peroxydase et d'autre part une augmentation de la peroxydation lipidique dans les branchies (Company *et al.*, 2004). Une inhibition de la glutathion peroxydase est observée dans les branchies de la palourde *Ruditapes decussatus* (Geret *et al.*, 2002). Le dichlorvos a également diminué des niveaux de glutathion et a inhibé des activités de AChE et de GPx dans plusieurs tissus de rat (Julka *et al.*, 1992). Dans des cas humains d'empoisonnement, le lindane (organochloré) et le malathion (organophosphoré) ont également diminué le contenu du sang de GSH (Banerjee *et al.*, 1999). L'arsénique induit des dommages dans le système antioxydant, une réduction de vitamine et de GSH et des changements de l'activité antioxydante en affectant leur structure (oxydation/réduction de groupes thiol et déplacement de métaux essentiels) (De Vizcaya-Ruiz *et al.*, 2009, Han *et al.*, 2008).

2.2. Réponse de l'axe thyroïdienne au méthyle parathion :

Les hormones thyroïdiennes ont un rôle crucial dans la régulation des métabolismes glucidique, protéidique, lipidique et phosphocalcique (Léger, 1991), dans la croissance (Zhang et Lazar, 2000), l'implication de la vasopressine (AVP) et dans la régulation de l'axe corticotrope (Aguilera *et al.*, 1994 ; Kjaer *et al.*, 1992) . Parmi les rôles les plus importants de la glande thyroïde sur les divers tissus des mammifères, nous distinguons sa capacité d'augmenter le taux métabolique basal, particulièrement celui des mitochondries. Elles sont connues par les sites principaux de production de radicaux libres d'oxygène (ROS) dans des tissus sains à cause de leur fuite de la chaîne respiratoire mitochondrial. Ces (ROS) conduirait

aux dommages oxydatifs aux macromolécules biologiques, y compris des lipides, des protéines et l'ADN (Das et Chainy, 2001 ; Fernandez *et al.*, 1989, 2006).

Nos résultats montrent que chez les rats gavés au méthyle parathion, les concentrations en TSH et en T4 montrent une augmentation significative par rapport aux teneurs relevés chez les témoins. Dans une étude précédente il a été proposé que des changements d'hormone thyroïdienne T3/T4 pourraient être liés au modèle de CMS (un modèle imitant de dépression) (Kioukia *et al.*, 2000). Dans le stress doux chronique (CMS), un modèle animal de dépression, des niveaux accrus de T3 et T4 sériques ont été trouvés dans deux contraintes différentes de rat, sans l'augmentation parallèle du niveau de TSH (Kioukia *et al.*, 2000). En outre, la physiopathologie de la dépression et le traitement de drogue antidépressives ont été associés à l'axe thyroïdien (Baumgartner *et al.*, 1988; Joffe et Singer, 1990 ; Kioukia *et al.*, 2002) ; par contre la privation hydrique, la privation alimentaire ainsi que leur combinaison durant trois jours entraînent une augmentation significative des taux de la corticostérone plasmatique, les taux de la FT4 sérique diminuent. Paradoxalement, les taux de la TSH sérique subissent une chute significative (Kasdallah *et al.*, 2005).

Une hypothyroïdie provoquée par administration du benzylthiouracile (BTU) (0,05%) et d'une hyperthyroïdie provoquée par administration de l'hormone L-thyroxinate de sodium (0,0012%) dans l'eau de boisson, sur une durée de cinq semaines. Aucune incidence significative sur les taux de la peroxydation lipidique et de la vitamine E n'est observée au niveau des tissus hépatiques et cardiaques chez les rats souffrant d'une hypothyroïdie par rapport aux témoins, contrairement au lot hyperthyroïdien, qui a exprimé une augmentation. L'activité glutathion peroxydase, augmentée chez le lot hyperthyroïdien par rapport au témoin, s'accompagne d'une diminution du niveau du glutathion réduit dans l'homogénat des tissus et d'une augmentation hautement significative de l'activité de la glutathion réductase. Une augmentation de l'activité du superoxyde dismutase et de la catalase chez le lot hyperthyroïdien est aussi observée. Ces résultats expliquent la variation de l'activité thyroïdienne en relation avec la peroxydation lipidique et le contenu tissulaire en anti-oxydants enzymatiques et non enzymatiques. En conclusion, cette étude montre l'installation d'un état de stress oxydant en relation avec l'hyperactivité thyroïdienne. (Messarah *et al.*, 2007).

2.3. Effet du méthyle parathion sur le métabolisme glucidique et lipidique :

Les résultats obtenus montrent que le métabolisme glucidique est perturbé chez les animaux gavés au MPT et ceci est reflété par une augmentation significative de la

concentration en glucose dans le sang associée d'une diminution significative de la concentration en insuline dans le sang. Comparativement, chez les rats soumis au stress de contention, les concentrations de glucose ne montrent pas de différence significative par rapport à celui des témoins. En ce qui concerne le métabolisme lipidique, il se caractérise chez les rats traités au MPT par une augmentation significative de la concentration en cholestérol et en triglycérides par rapport aux témoins. Par contre les rats soumis au stress de contention, les triglycérides ne montrent pas de différence significative par rapport à celui des témoins. Quant au cholestérol, les concentrations relevées montrent des différences significatives entre les rats témoins et les rats stressés par contention.

Selon Surwit (1992), Le stress augmente la production hépatique de glucose et diminue sa clairance périphérique. L'implication de l'hypothalamus dans le contrôle du métabolisme énergétique hépatique, repose sur un certain nombre d'arguments expérimentaux. En effet, il a été démontré que la stimulation électrique de l'hypothalamus ventromédian entraîne une hyperglycémie avec diminution des réserves hépatiques en glycogène (Shimazu *et al.*, 1966), une hyperglucagonémie (Frohman, 1971) et une augmentation de l'activité de la phosphorylase a, la forme active de cette enzyme (Shimazu *et al.*, 1978). Nonogaki (1997) a montré que ces modifications métaboliques sont liées à l'activation du système nerveux sympathique (libération de la noradrénaline par les terminaisons nerveuses, et l'adrénaline par la médullosurrénale). En effet, l'activation du système nerveux sympathique dans diverses conditions de stress ou au cours d'un exercice physique intense provoque une inhibition de l'insulinosécrétion, une stimulation de la sécrétion de glucagon et l'apparition d'une hyperglycémie (Porte et Robertson 1973). Yamada *et al.*, (1993) en travaillant sur des rats intacts et d'autres dépourvus de médullosurrénale, ont constaté que lors de l'application d'un stress de contention, l'augmentation de la concentration plasmatique de glucose est nettement moins importante chez le dernier groupe de rats. Ceci démontre l'importance de la présence de l'adrénaline dans le développement de l'hyperglycémie et la sécrétion des hormones pancréatiques.

Dans quelques procédures de stress, telles que l'effort chirurgical ou de contrainte, l'augmentation de glucose est particulièrement connexe aux taux des corticostéroïdes en raison de l'activation de l'axe HHS et de la réaction de système nerveux sympathique au stress (Armario *et al.*, 1996 ; Mason, 1968; Reis *et al.*, 1996 ;Vallee *et al.*, 1996). Le stress est également connu pour l'augmentation relative du sucre sanguin dû au sécrétions des corticostéroïdes (Mason, 1968, Kioukia *et al.*, 2002). Par conséquent, des niveaux accrus de

glucose ont été enregistrés peu de temps après le stress, pareillement aux niveaux de l'ACTH (Reis *et al.*, 1996; Vallee *et al.*, 1996; Dal-Zotto *et al.*, 2000).

Les lipides jouent un rôle essentiel et une modification des taux lipidiques dans le sang ou les tissus peuvent se révéler extrêmement dommageable pour l'organisme. Ainsi les taux de deux constituants lipidiques plasmatiques, le cholestérol total (CT) et les triglycérides (TG) ont été mesurés dans nos conditions expérimentales. Nos résultats montrent une augmentation significative de la cholestérolémie après traitement par le méthyle parathion et le stress de contention. Ceci est en accord avec des résultats antérieurs obtenus avec d'autres insecticides tels qu'un organophosphoré, le Ronnel (Rumsey *et al.*, 1983), un organochloré, le Dieldrin (Shakoori *et al.*, 1984) et des carbamates, le Furadan (Gupta *et al.*, 1986) et le Méthomyl (Antal *et al.*, 1979). Cependant, d'autres travaux montrent une hypocholestérolémie après traitement avec des insecticides variés incluant des molécules organophosphorés telles que l'Acéphate (Choudhari et Chakrabarti, 1984) et le Dichlorvos (Ryhanen *et al.*, 1984) et une molécule pyréthroïde de synthèse, la Cyperméthrine (Shakoori *et al.*, 1988). La réduction des taux sériques de CT qui a été enregistrée chez les rats traités à l'Acéphate est attribuée à une modification du taux de HDL circulant (Choudhari et Chakrabarti, 1984). Il a même été suggéré que les composés organophosphorés pourraient phosphoryler et inhiber l'hydroxyméthyl glutaryl CoA réductase, l'enzyme clé de la production de cholestérol (Ryhanen *et al.*, 1984).

Concernant les triglycérides, le MPT provoque une importante augmentation de leurs taux plasmatiques. Ces résultats confirment les travaux antérieurs qui montraient une augmentation des taux de TG plasmatiques chez des animaux traités avec différents insecticides dont un organophosphoré, le Dichlorvos (Ryhanen *et al.*, 1984) et un carbamate, le Furadan qui est également un insecticide neurotoxique qui agit en inhibant l'acétylcholinestérase (Gupta *et al.*, 1986). Cette élévation des TG sériques ou plasmatiques pourrait être attribuée à l'inhibition d'enzymes du type lipase intervenant dans le métabolisme des TG hépatiques et des lipoprotéines plasmatiques (Musliner *et al.*, 1979 ; Goldberg *et al.*, 1982). D'autres études, cependant, ont rapporté chez le rat après traitement avec des insecticide organophosphorés soit aucun effet sur les taux de TG plasmatiques avec le Diazinon (Ibrahim et El-Gamal, 2003) soit une diminution de ces taux avec l'Acéphate (Choudhari et Chakrabarti, 1984). Cette diminution pourrait être le résultat de la réduction induite par l'Acéphate de toutes les classes de lipoprotéines de la fraction lipidique plasmatique et plus particulièrement les plus légères d'entre elles. Il n'est pas surprenant que les effets soient si différents d'une molécule à l'autre car l'on sait qu' au sein d'une classe d'insecticide comme celle des organophosphorés,

il existe des molécules très variées se comportant différemment à l'intérieur des organismes vivants.

Le traitement au MPT reste sans effets significatifs sur le contenu hépatique de la peroxydation lipidique LPO indiquant que cet organe résiste au stress oxydant au moyen de mécanismes antioxydants (Monteiro *et al.*, 2006). Différent de la majorité des espèces de poissons de bassin d'Amazone, le contenu élevé de la vitamine E a été trouvé dans le foie du cephalus de B (Wilhelm-Filho et Marcon, 1996). Ces niveaux élevés de vitamine E dans le foie du matrinxã ont probablement fourni un effet protecteur additionnel contre le LPO, et, par conséquent, ont empêché des augmentations aux niveaux hépatiques de LPO (Aguilar *et al.*, 2004). Le malondialdéhyde (MDA) est un marqueur du LPO membranaire résultant de l'interaction des ROS et de la membrane cellulaire (Aslan *et al.*, 1997). L'administration sub-chronique du MPT provoque une induction de la LPO en augmentant la MDA, ceci suggère que les ROS peuvent être associées aux effets toxiques du MPT conduisant aux dommages histopathologiques et immuno-histochimiques de l'endomètre (Güney *et al.*, 2007).

Les niveaux de cholestérol peuvent changer sous des situations de stress émotionnel. Une augmentation significative de cholestérol a été observée sous de telles situations, y compris lors des examens chez les étudiants en médecine et les formations chez les stagiaires de marine, ou associée à l'anxiété (Dreyfuss et Czaczkes, 1959 ; Kasl *et al.*, 1968 ; Rahe *et al.*, 1968 ; Melamed *et al.*, 1997). En revanche, le cholestérol peut être diminué, lié à l'humeur dépressive, à la tentative suicidaire ou à l'agression (Partonen *et al.*, 1999 ; Trevisan *et al.*, 1997).

Plusieurs études, sur les troubles liés à l'anxiété et à la panique, une cholestérolémie (particulièrement le cholestérol LDL) est observé (Bajwa *et al.*, 1992 ; Solter *et al.*, 2002 ; Karlovic *et al.*, 2004 ; Tochigi, 2005). Chez le sujet PTSD, une incidence élevée de maladie cardio-vasculaire a été remarqué (Falger *et al.*, 1992 ; McFarlane *et al.*, 1994), qui suggère une augmentation de cholestérol chez les sujets PTSD. Cependant, Kagan *et al.*, (1999) a observé un niveau de cholestérol élevé chez les vétérans PTSD de la Guerre de Vietnam.

En plus de cholestérol, la cholinestérase est un autre centre d'intérêt. La cholinestérase, qui pourrait être impliquée dans le métabolisme des lipides, peut changer, tout en restant corrélé avec tous changements lipidiques. La cholinestérase élevée a été rapportée chez les sujets avec des niveaux élevés de cholestérol (Brown *et al.*, 1991), bien que la relation ne pourrait pas être trouvée chez les sujets avec une taux normale de cholestérol (Crook *et al.*, 1994). En outre, des changements du métabolisme de choline ont été suggérés sous le stress psychologique (Kaufer *et al.*, 1998). On a observé une altitude de cholinestérase dans la

dépression avec une anxiété notable (Rose *et al.*, 1965), tandis qu'un niveau diminué a été indiqué pour être un index de prédisposition à la dépression (Mathew *et al.*, 1982). Ainsi, un changement de cholinestérase, probablement corrélé avec le cholestérol, est prévu dans l'anxiété chronique (Rose *et al.*, 1965 ; Brown *et al.*, 1991).

3. Effet de la taurine et de la vitamine E sur le stress oxydant provoqué par le méthyle parathion :

Des antioxydants non enzymatiques tels que la Vitamine E et C peuvent contrecarrer l'effet du stress oxydatif. Quelques études ont montré qu'une combinaison de Vitamines E et C réduit la LPO induite par des substances toxiques (Altuntas *et al.*, 2002a ; Appenroth *et al.*, 1997; Gultekin *et al.*, 2001 ; Yavuz *et al.*, 2004). L'activité anti apoptotique de Vitamines E et C a été démontré par plusieurs auteurs (Mobio *et al.*, 2000; Serbecic et Beutelspacher, 2005; Ramanathan *et al.*, 2005). Ces vitamines antioxydant inhibent les radicaux libres provoquant l'apoptose en les éliminant directement. Les Vitamines antioxydants E et C maintiennent la protéine Bcl-2 en sa forme fonctionnelle par leur action stabilisante sur la membrane plasmique en inhibant la sortie de cytochrome C des mitochondries (Serbecic et Beutelspacher, 2005).

Le traitement avec une combinaison de Vitamines E et C après l'administration de MPT a diminué les lésions endométriales et l'apoptose induit par le MPT et a dirigé la voie vers la mise en œuvre thérapeutique de ces médicaments aux femmes exposées au MPT (Güney *et al.*, 2007). Nos résultats ont montrés que le MPT induit une diminution significative de GSH et une augmentation de GST par rapport aux témoins. La supplémentation en vitamine E, montrent une diminution significative de la teneur en GSH et l'activité de GST comparativement même aux témoins. Le même traitement a relevé une augmentation dans le sang des teneurs en glucose, en triglycéride et en cholestérol. Mais en revanche, l'administration de la vitamine E est à l'origine de la baisse significative des teneurs en glucose, triglycéride et cholestérol comparativement aux rats gavés et même aux témoins pour les deux paramètres glucose et triglycérides. Ces résultats suggèrent que les effets du méthyle parathion sur les bio marqueurs du stress (GST) et les constituants glucidique, lipidiques plasmatiques sont bien la conséquence d'un stress oxydatif puisque que la vitamine E est capable de reverser les augmentations de GST, glucose, cholestérol et de TG induites. Ces résultats sont en parfaite adéquation avec les travaux de John *et al.*,(2001) qui montrent

également sur un modèle in vitro d'érythrocytes de rat que la vitamine E a un effet protecteur contre le stress oxydatif induit par deux insecticides organophosphorés, le Diméthoate et le Malathion. En plus, des données comparables ont été trouvées par Maliakel *et al.*, (2008) chez les souris après administration de cisplatine. Ils ont constaté des dommages rénaux clairs, une augmentation de la peroxydation lipidique et une diminution de la défense antioxydante comprenant le contenu de GSH et l'activité de GPx, de la SOD et de la CAT. L'administration de l'acide ascorbique monogluco-side et de l'alpha-tocophérol monogluco-side a un effet protecteur contre la néphrotoxicité induite par le cisplatine (Maliakel *et al.*, 2008).

La taurine avec des propriétés antioxydantes (Das *et al.*, 2008), elle montre habituellement une action de défense in vitro à diverses concentrations selon la nature de la toxicité et les cellules utilisées dans l'étude (Camargo et Ferreira, 2002 ; Lam *et al.*, 2006). Bien que l'occurrence biologique de la taurine ait été rapportée il y a 100 ans, la recherche s'est concentrée sur sa signification biologique et le rôle physiologique n'a été conduit que durant environ quelques décennies seulement (Huxtable, 1989). Il a été montré que la taurine peut être impliquée dans beaucoup de fonctions importantes comprenant : le neuro- développement (Chen *et al.*, 1998), la stabilisation de la membrane, la régulation de la prolifération et la mort cellulaire (Green *et al.*, 1998 ; Wu *et al.*, 1999 ; Schuller-Levis et parc, 2004 ; Emerson *et al.*, 2005 ; Rosado *et al.*, 2007 ; Son *et al.*, 2007 ; Yu *et al.*, 2007 ; Huang et al., 2008). Elle a aussi un effet sur la détoxification (Hasal *et al.*, 1998 ; Schuller-Levis et Park, 2004 ; Bouckenooghe *et al.*, 2006 ; Rosado *et al.*, 2007 ; Pappa *et al.*, 2007), l'action anti-arythmique (Chazov *et al.*, 1974), la régulation de l'homéostasie de calcium (Lazarewich *et al.*, 1985), l'anti-convulsion (Izumi *et al.*, 1973), la phosphorylation protéique (Li et Lombardini, 1991) et l'antioxydation (Huxtable, 1992). Étant un antioxydant, elle a également la capacité d'éliminer les espèces réactives de l'oxygène, atténue la production de MDA, un produit final de peroxydation lipidique (Wu *et al.*, 1999).

Le traitement des rats gavés au MPT par la taurine à raison de 0.2% pendant toute la période du gavage a rétablie la teneur en GSH et l'activité de la GST. La teneur en GSH s'accroît significativement. Parallèlement, l'activité de GST baisse significativement par rapport à celles prélevées chez les rats gavés seulement au MPT. Les rats gavés au MPT et supplémentés de taurine montrent une baisse significative des teneurs en glucose, triglycéride et cholestérol. De tels résultats ont été enregistrés avec d'autres composants chimiques tels

que : le fluorure (Das *et al.*, 2008), le cisplatine (Sato *et al.*, 2002), le méthiocarbe (Ozden *et al.*, 2007), l'arsénique (Nandi *et al.*, 2005 ; Flora, 1999; Garcia-Chavez *et al.*, 2006), le cadmium (Manna *et al.*, 2008), le Cyclosporine A (Hagar *et al.*, 2006), l'acétaminophène (Das *et al.*, 2010a, 2010 b) et les drogues (Oliveira *et al.*, 2010). Il a été montré aussi que la taurine présente un effet anxiolytique (Chen *et al.*, 2004 ; Kong *et al.*, 2006).

Plusieurs évidences suggèrent que la taurine puisse fonctionner comme un efficace neuromodulateur inhibiteur qui régule l'activité neuronale dans beaucoup de secteurs cérébraux (Haas et Hosli, 1973 ; Hussy *et al.*, 1997 ; Huxtable, 1989 ; Jiang *et al.*, 2004). Une forte évidence soutient l'existence des interactions fonctionnelles entre le GABA et la taurine (EL Idrissi et Trenkner, 2004 ; Kuriyama et Hashimoto, 1998). Il a été montré que la taurine augmente la conductibilité de chlorure de membrane plasmique en affectant les canaux sensibles bicuculline de chlorure (Del Olmo *et al.*, 2000 ; Mellor *et al.*, 2000 ; Wang *et al.*, 1998). Elle agit également en tant qu'agoniste partiel des récepteurs de GABA_A dans des membranes synaptiques (Quinn et Harris, 1995), en activant l'afflux de chlorure par des récepteurs de GABA_A dans les cellules granuleuses cérébelleuses *in vitro* (EL Idrissi et Trenkner, 2004 ; EL Idrissi et L'Amoreaux, 2008).

4. Effet d'un $\alpha 2$ bloquant adrénergique « la yohimbine » lors d'un état de stress

Nos résultats ont démontrés que la yohimbine supplémentée aux rats gavés au MPT et stressés (stress de contention) entraîne des teneurs en GSH nettement plus élevés que celles enregistrées chez les rats témoins, les rats traités au MPT et au stress de contention. Par contre on a enregistré des diminutions significatives de l'activité de la GST chez les rats traités (gavés au MPT et stressés) additionnés de yohimbine par rapport à celle relevé chez les rats traités et témoins. Les mêmes résultats ont été approuvés par Roberts *et al.*, 1987, l'administration intrapéritonéale de 100mg/kg de la morphine chez les souris a eu comme conséquence une diminution approximative de 25% de GSH hépatique. Le prétraitement des animaux avec de la yohimbine (5 mg/kg, i.p.) ou le prazosin (5 mg/kg, i.p.) a eu comme conséquence un blocus partiel de changement des concentrations hépatiques de glutathion. Les études précédentes ont démontré que des diminutions de GSH en réponse à des administrations systémiques l'adrénaline sont régulées sélectivement par les $\alpha 2$ -récepteurs (James *et al.*, 1983).

Concernant les paramètres glucidiques et lipidiques, on a constaté que la yohimbine engendre des augmentations significatives des concentrations du glucose, triglycérides et cholestérol par rapport à celles relevées chez les rats traités au MPT et les rats témoins. Chez les rats soumis au stress de contention et traités à la yohimbine, les concentrations en glucose et des

triglycérides montrent des augmentations significatives par rapport à celles des rats stressés. En outre, on enregistre une diminution significative des concentrations relevées du cholestérol comparativement aux stressés.

La mobilisation de lipide est accélérée pendant la partie précédente de restriction d'énergie ou de jeûne. L'insuline est une hormone antilipolytique efficace (Cahill *et al.*, 1966). La réduction en hormone thyroïdienne plasmatique (Suda *et al.*, 1978) et une diminution d'activité sympathique (Landsberg et Young, 1978) ont également des actions antilipolytiques. Il s'est avéré que les agonistes de béta2-AR ont des activités lipolytiques en stimulant directement les béta-ARs des adipocytes (Ricks *et al.*, 1984). La YOH, étant un antagoniste d'alpha2-AR, peut augmenter intensément la mobilisation lipidique avec des augmentations en acide gras non estérifié (NEFA) chez les sujets humains normaux à jeun (Galitzky *et al.*, 1988, 1990) et les femmes obèses (Berlan *et al.*, 1991) par le blocus de l'alpha2-ARs antilipolytique sur les membranes des adipocytes (Arner et Ostman, 1976). L'action aiguë de mobilisation lipidique de YOH chez les hommes, renforcée pendant l'exercice physique, a été complètement supprimée après un repas, et partiellement bloqué par le propranolol (Galitzky *et al.*, 1988).

La yohimbine induit des réponses d'anxiété et de stress (Holmberg et Gershon, 1961 ; Davis *et al.*, 1979 ; Johnston et File, 1989 ; Grunhaus *et al.*, 1989 ; McDougale *et al.*, 1995 ; Gurguis *et al.*, 1997 ; Myers *et al.*, 2005 ; Vythilingam *et al.*, 2000). En activant les systèmes neurotransmetteur de la réponse au stress, y compris la noradrénaline, la sérotonine, et la dopamine (Millan *et al.*, 2000 ; Kupferschmidt *et al.*, 2009), aussi bien que l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (Charney *et al.*, 1983, 1989). Ils ont également constaté que les rats soumis à un stress psychosociale traités avec la yohimbine ont montré de grandes augmentations de niveau de corticostérone suite à la contention aiguë en comparaison avec des rats témoins traités avec la yohimbine, qui est compatible à l'évidence bien documentée de grandes augmentations d'activité physiologique chez les patients PTSD induite par la yohimbine (Southwick *et al.*, 1993). Le prazosin (antagoniste de $\alpha 1$ -récepteur adrénergique) et la yohimbine (antagoniste de récepteur $\alpha 2$ -adrénergique) pouvaient renverser l'effet de l'antidépresseur-like ebsselen (Posser *et al.*, 2009). De façon générale, ces résultats, en même temps que des études sur des personnes PTSD, indiquent que la sensibilité de la yohimbine peut servir de diagnostique des anomalies comportementales et physiologiques produites par le stress traumatique.

Conclusion et perspectives

Conclusion et Perspectives

L'objectif de ce travail de thèse est de répondre à certaines questions encore en suspens dans le domaine du stress en général.

Dans la première partie, le programme de cette étude vise à élaborer un modèle animal PTSD, et ceci sera confirmé par les niveaux cinétiques homéostatiques de certaines hormones révélatrices (la corticostérone et l'acétylcholinestérase au niveau du cerveau).

Nos résultats montrent que le méthyle parathion induit une diminution de l'acétylcholinestérase dans le cerveau et le foie, facteur important de sa toxicité. Cette diminution supprime ainsi la neurotransmission cholinergique. Ceci est accompagné des changements énergiques des propriétés neurophysiologiques et neuroanatomique considérées être associées à la mémoire, et qui agirait sur le système limbique.

Les rats témoins soumis à un stress aigu (contention), présente une augmentation de l'activité de la corticostérone. Une comparaison entre les niveaux de corticostérone basal montre que le groupe avec un stress (une période de gavage plus longue 20j) tend à avoir un taux de corticostérone inférieur que le groupe avec un stress (période plus courte 5j) avant et après la contention aiguë. Ceci est adéquat avec la majorité de la littérature de PTSD qui indique que les patients de PTSD ont les niveaux anormalement bas du cortisol basal. Parallèlement, le traitement au MPT réduit le taux de croissance, augmente le poids des glandes surrénales. Ce sont des résultats qui appuient l'hypothèse de modèle PTSD, étant donné que ceci a été enregistré chez un modèle habilité (des épisodes de stress aigu « exposition au prédateur » appliqués en même temps que l'instabilité sociale quotidienne) (Zoladz et al., 2008).

Dans la deuxième partie, des travaux récents ont montré que certains COP provoquent un stress oxydant, notre objectif est de tester l'effet du MPT. Nos résultats montrent que le traitement au MPT présente une activité accrue de GST simultanée aux diminutions du contenu de GSH dans le foie. La GSH joue un rôle important dans la détoxification des électrophiles et la prévention du stress oxydant cellulaire. La corrélation entre les changements de l'activité de GST et les niveaux de GSH est impliquée. Des réactions de stress ont été également associées à la fonction thyroïdienne, les concentrations en TSH et en T4 montrent une augmentation significative. Le MPT induit une augmentation significative de la concentration en glucose, triglycérides et cholestérol dans le sang associée d'une diminution significative de la concentration en insuline. Il a été montré que ces modifications

métaboliques sont liées à l'activation du système nerveux sympathique (libération de la noradrénaline par les terminaisons nerveuses, et l'adrénaline par la médullosurrénale)

Le traitement des rats gavés au (MPT) par la vitamine E rétablit les valeurs basales des bio marqueurs du stress et des paramètres métaboliques. Ces résultats suggèrent que les effets du méthyle parathion sont bien la conséquence d'un stress oxydatif puisque que la vitamine E est capable de les reverser. Etant donnée que de similaires résultats ont été enregistrés avec la taurine ceci insuffle un effet antioxydant de la taurine.

La yohimbine supplémentée aux rats gavés au MPT et stressés (stress de contention) induit une augmentation des teneurs de GSH, des concentrations du glucose, triglycérides et cholestérol et une diminution de l'activité de la GST par rapport à celles relevées chez les rats traités au MPT et les rats témoins. En revanche une diminution des concentrations du cholestérol est relevées comparativement aux stressés. De façon générale, ces résultats de même que d'autres études sur des personnes PTSD, indiquent que la sensibilité de la yohimbine peut servir de diagnostique des anomalies comportementales et physiologiques produites par le stress traumatique.

Perspectives

- Approfondir cette recherche par des tests comportementaux, afin de valider ce modèle de PTSD.
- L'exploration d'autres biomarqueurs sensibles aux états du stress oxydatif au niveau organique (cerveau, foie) tel que la SOD, MDA et LPO.
- Explorer l'effet antioxydant (taurine) sur les répercussions hormonales et les perturbations psychologiques.
- Explorer, enfin l'impact sur le système dopaminergique et par ce biais le circuit de récompense.

Références bibliographiques

Abu-Quare A.W, Abdel rahman A.A, Kishk A.M, Abou Dounia M, Ahmed A. Absorption, distribution, metabolism and excretion of daily oral doses of (14C) methyl parathion in hens. *Toxicol lett.* (2001) 125(1-3):1-10.

Ader R, Friedman S.B. Social factors affecting emotionality and resistance to disease in animal. V. Early separation from the mother and response to a transplanted tumor in the rat. *Psychosom. Med.* (1965)27:119-122.

Aguiar L.H, Moraes G, Avilez I.M, Altran A.E, Correa C.F. Metabolical effects of Folidol 600 on the neotropical freshwater fish matrinxã, *Brycon cephalus*. *Environ. Res.*(2004) 95(2):224–230.

Aguilera G, Pham Q, Rabadan-Diehl C. Regulation of the pituitary vasopressin receptors during chronic stress. Relationship to corticotroph responsiveness. *J. Neuroendocrinol.* (1994) 6(3):299-304.

Altuntas I, Delibas N, Demirci M, Kilinc I, Tamer N. The effects of methidathion on lipid peroxidation and some liver enzymes: role of Vitamins E and C. *Arch. Toxicol.* (2002a) 76(8): 470-3.

Antal M, Bedö M, Constantinovits G, Nagy K, Szépvölgyi J.. Studies on the interaction of methomyl and ethanol in rats. *Food Cosmet Toxicol.* (1979)17(4): 333-338.

Appenroth D, Frob S, Kertsen L, Splinter K, Winnefeld K. Protective effect of Vitamins E and C on cisplatin nephrotoxicity in developing rats. *Arch. Toxicol.* (1997) 7(11): 677-83.

Arapoglou D, Vlyssides A, Israilides C, Zorpas A, Karlis P. Detoxification of methyl parathion pesticide in aqueous solutions by electrochemical oxidation. *J. Hazard. Mater.* (2003) 98(1-3):191–199.

Areechon N, Plumb J.A. Sublethal effects of malathion on channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Environ. Contam. Toxicol.* (1990) 31: 155–159.

Armario A, Marti O, Molina T, de Pablo J, Valdes M. Acute stress markers in humans: response of plasma glucose, cortisol and prolactin to two examinations differing in the anxiety they provoke. *Psychoneuroendocrinology.* (1996) 21(1):17– 24.

Arner P, Ostman J. Changes in the adrenergic control and the rate of lipolysis of isolated human adipose tissue during fasting and re-feeding. *Acta Med Scand.* (1976) 200(4):273–279.

Aslan R, Sekeroglu M.R., Tarakcioglu M, Koylu H. Investigation of malondialdehyde formation and antioxidant enzyme activity in stored blood. *Haematologia (Budap).* (1997)28: 233–237.

Aubert Ch, Janiaud P, Lecalvez J. Effect of pinealectomy and melatonin on mammary tumor growth in sprague-dawley rats under different condition of lighting. *J. Neural transmission.* (1980) 47:121-130.

Ayensu W.K, Pucilowski O, Mason G.A, Overstreet D.H, Rezvani A.H, Janowski D.S. Effects of chronic mild stress on serum complement activity, saccharin preference, and corticosterone levels in Flinders lines of rats. *Physiol. Behav.* (1995) 57(1): 165–169.

Bajgar J, Hajek P, Karasova J, Slizova D, Krs O, Kuca K. Jun, D.; Bartosova L. Inhibition of Acetylcholinesterase in Different Structures of the Rat Brain Following Soman Intoxication Pretreated with Huperzine A *Int. J. Mol. Sci.* (2007) 8:1165-1176.

Bajwa W.K, Asnis G.M, Sanderson W.C, Irfan A, van Praag, H.M. High cholesterol levels in patients with panic disorder. *Am. J. Psychiatry.* (1992)149(3):376-378.

Banerjee B.D, Seth V, Bhattacharya A, Pasha S.T, Chakraborty A.K. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and freeradical scavengers. *Toxicol. Lett.* (1999)107 (1-3):33–47.

Bannister R et Mathias CJ, Effects of yohimbine on plasma catecholamine levels in orthostatic hypotension related. *Clin. Pharmacol. Ther.* (1988) 44: 670–674.

Bartoli S, Bonora B, Colacci A, Niero A, Grilli S. DNA damaging activity of methyl parathion. *Res. Commun; Chem. Pathol. Pharmacol.* (1991)71(2): 209-218.

Basha P.S, Rani A.U. Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* (2003)56(2) :218–221.

Baumgartner A, Graf K.J, Kerten I, Meinhold H. The hypothalamic– pituitary–thyroid axis in psychiatric patients and healthy subjects: Parts 1– 4. *Psychiatry Res.* (1988) 24(3): 271– 332.

Benguira S, Leblond V, Weber J.P, Hontela A. Loss of capacity to elevate plasma cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) treated with a single injection of o. p'-Dichlorodiphenyldichloroethane. *Environ. Toxicol. Chem.* (2002) 21:1753–1756.

Bensabat S avec la collaboration de Selye H. Le stress, De grands spécialistes répondent. Ed. Hachette. (1980) : 350.

Bergeret J, Decourt P. Stress et panique. Aspects psychanalytiques. *L'Encéphale.* (1993) 19(1): 153-156.

Berlan M, Galitzky J, Riviere D, Foureau M, Tran M.A, Flores R, Louvet J.P, Houin G, Lafontan M. Plasma catecholamine levels and lipid mobilization induced by yohimbine in obese and non obese women. *Int J Obes.* (1991)15(5): 305–315.

Bernard V. Métabolisme des xénobiotiques, pharmacogénétique, Pharmacogénomique, où en sommes-nous ? *Ann Biol Clinique* (2004) 41(2-3) :39-43.

Bilici M, Efe H, Köroğlu MA, Uydu HA, Bekaroğlu M, Değer O. Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: alterations by antidepressant treatments. *J Affect Disord.* (2001) 64(1):43-51.

Blondeau C, Sava P, Toubin G, Belon J.P, Magnin P, Gillet M. Activités des enzymes antioxydantes plaquettaires au cours de l'artériopathie. *Pathol. Biol.* (1987)35(8) : 1115-1118.

Boone J.S, Chambers J.E. Time course of inhibition of cholinesterase and aliesterase activities, and nonprotein sulfhydryl levels following exposure to organophosphorus insecticides in mosquitofish (*Gambusia affinis*). *Fundam. Appl. Toxicol.* (1996) 29(2): 202-207.

Borghini N, Dalmaz Y, Peyrin L. Effect of guanethidine on dopamine in small intensely fluorescent cells of the superior cervical ganglion of the rat. *J Auton Nerv Syst.* (1991) 32(1): 13-19.

Bouckenoghe T, Remacle C, Reusens B. Is taurine a functional nutrient ? *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab.Care.* (2006)9(6): 728–733.

Boudarene M, Timsit-Berthier M, Legros J.J. Qu'est-ce que le stress ? *Rev. Med. Liège.* (1997) 52 (8) : 541-549.

Bourgeois M. Stress, anxiété, panique. L'attaque de panique et le trouble panique. Un nouveau concept psychiatrique. *L'Encéphale.* (1993)19(1): 187-191.

Bremner J.D, Vythilingam M, Vermetten E, Adil J, Khan S, Nazeer A, Afzal N, McGlashan T, Elzinga B, Anderson G.M, Heninger G, Southwick S.M, Charney D.S. Cortisol response to a cognitive stress challenge in posttraumatic stress disorder (PTSD) related to childhood abuse. *Psychoneuroendocrinology.* (2003) 28:733–750.

Brochier T, Olié J.P. Stress et dépression. *L'Encéphale.* (1993)19(1) : 171-178.

Brown M.S, Herz J, Kowal R.C, Goldstein J.L. The low density lipoprotein (LDL) receptor-related protein (LRP): double agent or decoy? *Curr. Opin. Lipidol.* (1991)2:65-72.

Burton G.W, Ingold K.U. Autoxidation of biological molecules. I. The antioxidant activity of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants in vitro. *J. Am. Chem. Soc.* (1986)105:5950-5951.

Buyukokuroglu M.E, Cemek M, Yurumez Y, Yavuz Y, Aslan A. Antioxidative role of melatonin in organophosphate toxicity in rats. *Cell.. Biol. Toxicol.* (2008) 24(2): 151-158.

Cadenas E, Muller A, Brigelius R, Esterbauer H, Sies H. Effects of 4-hydroxynonenal on isolated hepatocytes. Studies on chemiluminescence response, alkane production and glutathione status. *Biochem. J.* (1983)214 (2): 479-487.

Cahill G.F, Herrera M.G, Morgan A.P, Soeldner J.A. Steinke J, Levy P.L, Reichard G.A, Kipnis D.M. Hormone-fuel interrelationship during fasting. *J Clin Invest.* (1966)45(11):1751-1769.

Camargo L.S.A., W.F. Sa, A.M. Ferreira, Taurine on the development of in vitro fertilized bovine embryos, *Arq. Braz. Med. Vet. Zootec.* (2002) 54(4):396–404.

Cambier J, Masson M, Dehen H. *Manuel de Neurologie.* Ed. Masson. 8. (1995): 599.

Carlier P, Pull C. Les antidépresseurs dans le traitement de l'état de stress post-traumatique. *Annales médico-psychologiques.* (2008).

Celik I, Suzek H. Subacute effects of methyl parathion on antioxidant defense systems and lipid peroxidation in rats. *Food. Chem. Toxicol.* (2008)46(8): 2796-2801.

Cericato L, Neto J.G.M, Fagundes M, Kreutz L.C, Quevedo R.M, Finco J, da Rosa J.G.S, Koakoski G, Centenaro L, Pottker E, Anziliero D, Barcellos L.J.G. Cortisol response to acute stress in jundiá *Rhamdia quelen* acutely exposed to sub-lethal concentrations of agrichemicals. *Comparative Biochemistry and Physiology.* (2008) C 148 :281–286.

Chan,A.C, Tran K, Raynor T, Ganz P.R, Chow C.K. Regeneration of vitamin E in human platelets. *J. Biol. Chem.* (1991) 266 (26):17290-17295.

Chang KJ, Kwon W. Immunohistochemical localization of insulin in pancreatic beta-cells of taurine-supplemented or taurine-depleted diabetic rats. *Adv Exp Med Biol.* (2000)483:579-87.

Chang K.J. Effect of Taurine and β -Alanine on Morphological Changes of Pancreas in Streptozotocin-Induced Rats. *Taurine4. Biomedical and Life Sciences.* (2002)483(6):571-577.

Chappell P.B, Smith M.A, Kilts C.D. Alterations in corticotroping- releasing factor-like immunoreactivity in discrete rat brain regions after acute and chronic stress. *J. Neurosci.* (1986) 6(1010): 2908– 2914.

Charney DS, Heninger GR, Redmond DE Jr. Yohimbine induced anxiety and increased noradrenergic function in humans: effects of diazepam and clonidine. *Life Sci.* (1983)33:19-29.

Charney DS, Deutch AY, Krystal JH, Southwick SM, Davis M. Psychobiologic mechanisms of posttraumatic stress disorder. *Arch Gen Psychiatry.* (1993) 50:294 –305.

Chatterjee SK, Bhattacharya M, Barlow JJ. Murine monoclonal antibodies against galactosyltransferase from the ascites of ovarian cancer patients. *Cancer Res.*(1984)12 :5725-32.

Chazov E.I, Malchikova L.S, Lipina N.V, Asafov G.B, Sminov U.N. Taurine and electrochemical activity of the heart, *Circ. Res.* (1974) S III:34–35.

Checkley S. The neuroendocrinology of depression and chronic stress. *British Medical Bulletin.* (1996) 52:597-617.

Chen SW, Kong WX, Zhang YJ, Li YL, Mi XJ, Mu XS. Possible anxiolytic effects of taurine in the mouse elevated plus-maze. *Life Sci.* (2004) 75(12):1503–11.

Chen X.C, Pan Z.L, Liu D.S, Han X.B. Effect of taurine on human fetal neuron cells: proliferation and differentiation, in: S. Schaffer, J.B. Lombardini, R.J. Huxtable (Eds.), *Adv. Exp. Med. Biol. Taurine 3; Cellular and Regulatory Mechanism.* Plenum Press, New York. (1998) 442: 397–403.

Cheung C.C.C. Siu W.H.L, Richardson B.J, De Luca-Abbott S.B, Lam P.K.S. Antioxidant responses to benzo[a]pyrene and Aroclor 1254 exposure in the green-lipped mussel, *Perna viridis*. *Environ. Pollut.* (2004) 128:393–403.

Chin TA, Templeton DM. Protective elevations of glutathione and metallothionein in cadmium-exposed mesangial cells. *Toxicology*. (1993) 77(1-2): 145-156.

Choudhari P.D, Chakrabarti C.H. Effect of Acephate (orthene), an organophosphorus insecticide, on lipid metabolism in albino rats. *Indian J. Exp. Biol.* (1984)22(1): 45-49.

Chrousos G.P, Gold P.W. The concepts of stress and stress system disorders, overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA, J. Am. Med. Assoc.* (1992) 267 (9):1244–1252.

Cnockaert J.C, Mouzé-Amady M. Stress et cortisol salivaire : méthodologie, interprétation et utilisation sur le terrain. *Notes scientifiques et techniques de l'INRS ; NS 098.* (1993) :82.

Company R, Serafim A, Bebianno MJ, Cosson R, Shillito B, Fiala-Medioni A. Effect of cadmium, copper and mercury on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the hydrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus*. *Mar. Environ. Res.* (2004) 58(2-5) : 377-381.

Conney AH. Induction of drug-metabolizing enzymes: a path to the discovery of multiple cytochromes P450. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* (2003) 43 :1-30.

Conte-Devolx B, Guillaume V, Grino M, Boudouresque F, Magnan E, Cataldi M, Oliver C. Stress, Aspects neuroendocriniens. *L'Encéphale.* (1993) 19(1): 143-146.

Coral M.N, Ucman S, Yildiz H, Oztas H, Dalkilic S. Potential neoplastic effects of parathion methyl on rat liver. *J Environ Sci (China).* (2009)21(5):696-9.

Crook M, Haq M, Tutt P. Serum lipids, acute phase proteins and serum cholinesterase in normal subjects. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* (1994)54:601-603.

Czéh B, Michaelis T, Watanabe T, Frahm J, de Biurrun G, van Kampen M, Bartolomucci A, Fuchs E. Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Biological Science. Neurobiologie.* (2001) 98 (22): 12796-12801.

Dal-Zotto S, Marti O, Armario A. Influence of single or repeated experience of rats with forced swimming on behavioural and physiological responses to the stressor. *Behav. Brain Res.* (2000)114(1-2): 175–181.

Das K, Chainy G.B.N. Modulation of liver mitochondrial antioxidant defence system by thyroid hormone, *Biochem. Biophys. Acta* 1573 (2001) 1–13.

Das J, Ghosh J, Manna P, Sil P.C. Taurine provides antioxidant defense against NaF-induced cytotoxicity in murine hepatocytes. *Pathophysiology.* (2008) 15(3): 181–190.

Das J, Ghosh J, Manna P, Sil PC. Taurine protects acetaminophen-induced oxidative damage in mice kidney through APAP urinary excretion and CYP2E1 inactivation. *Toxicology.* (2010a) 269(1):24-34.

Das J, Ghosh J, Manna P, Sil PC. Acetaminophen induced acute liver failure via oxidative stress and JNK activation: protective role of taurine by the suppression of cytochrome P450 2E1. *Free Radic Res.* (2010b) 44(3):340-55.

Davies M.J, Fu S, Wang H, Dean R.T. Stable markers of oxidant damage to protein and their application in the study of human disease. *Free Radic. Biol. Med.* (1999)27 (11/12): 1151-1163.

Davis M, Redmond Jr DE, Baraban JM. Noradrenergic agonists and antagonists: effects on conditioned fear as measured by the potentiated startle paradigm. *Psychopharmacology.* (1979)65:111–118.

De Boer S.F, Koopmans S.J, Slangen J.L, Van der Gugten J. Plasma catecholamine, corticosterone and glucose responses to repeated stress in rats: effect of interstressor interval length. *Physiol. Behav.* (1990) 47(6): 1117–1124.

De Silva H.J, Samarawickrema N.A, Wickremasinghe A.R. Toxicity due to organophosphorus compounds: what about chronic exposure? *Trans. R .Soc. Trop. Med. Hyg.* (2006) 100(9): 803-806.

De Vizcaya-Ruiz A, Barbier O, Ruiz-Ramos R, Cebrian M.E. Biomarkers of oxidative stress and damage in human populations exposed to arsenic. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* (2009) 674(1-2): 85-92.

Del Olmo N, Bustamante J, del Rio RM, Solis JM. Taurine activates GABAA but not GABAB receptors in rat hippocampal CA1 area. *Brain Res.* (2000) 864:298–307.

Dhabhar F.S, McEven B.S, Spencer R.L. Adaptation to prolonged or repeated stress: comparison between rat strains showing intrinsic differences in reactivity to acute stress. *Neuroendocrinology.* (1997) 65 (5): 360–368.

Donaldson D, Kiely T, Grube A. Pesticides Industry Sales and Usage : 1998 and 1999 Market Estimates. U.S.Environmental Protection Agency, Washington, DC. (2002).

Dorval J, Leblond V, Deblois C, Hontela A. Oxidative stress and endocrine endpoints in white sucker (*Catostomus commersoni*) from a river impacted by agricultural chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.* (2005) 24 :1273–1280.

Drechsel D.A, Patel M. Role of reactive oxygen species in the neurotoxicity of environmental agents implicated in Parkinson's disease, *Free Radic. Biol.Med.* (2008) 44:1873–1886.

Drevon C.A. Absorption, transport and metabolism of vitamin E. *Free Radic. Res. Comm.* (1991)14: 229-246.

Dreyfuss F, Czaczkes J.W. Blood cholesterol and uric acid of healthy medical students under the stress of an examination. *Ama. Arch. Intern. Med.* (1959)103(5):708-711.

Ecobichon D.J. Toxic effects of pesticides. *In* : Klaassen C.D. (Ed), Casarett and Doull's Toxicology, sixth ed. McGraw-Hill. (1996): 763-810.

Edson E.F. No effect levels of three organophosphates in the rat pig and man. *Food cosmet toxicol.* (1992) 2: 311-316.

El Idrissi A, Trenkner E. Taurine as a modulator of excitatory and inhibitory neurotransmission. *Neurochem Res.* (2004) 29(1):189–197.

El idrissi A, L'amoreaux w. J. Selective resistance of taurine-fed mice to isoniazide potentiated seizures: *in vivo* functional test for the activity of glutamic acid decarboxylase. *Neuroscience.* (2008) 156(3):693–699.

Elia A.C, Galarini R, Taticchi M.I, Dorr A.J, Mantilacci L. Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* (2003)55:162–167.

Ellman G.L, Courtney K.O, Anders V, Featherstone R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* (1961)7: 88-95.

Emerson D.K, McCormick M.L, Schmidt J.A, Knudson C.M. Taurine monochloramine activates a cell death pathway involving Bax and caspase-9. *J. Biol. Chem.* (2005)280:3233–3241.

Eneman JD, Potts RJ, Oisier M, Shukla G.S, Lee C.H, Chiu J.F, Hart B.A. Suppressed oxidant-induced apoptosis in cadmium adapted alveolar epithelial cells and its potential involvement in cadmium carcinogenesis. *Toxicology.* (2000)147: 215-228.

Environnement Canada, site Web, « Les pesticides et les oiseaux sauvages », Service canadien de la faune, Faune de l'arrière-pays, La Voie verte, novembre (1999).

Erickson J.D, Varoqui H, Schafer M.K, Modi W, Diebler M.F, Weihe E, Rand J, Eiden L.E, Bonner T.I & Usdin T.B. Functional identification of a vesicular acetylcholine transporter and its expression from a 'cholinergic' gene locus. *J. Biol. Chem.* (1994) 269(35):21929-21932.

Ernster L, Forsmark P, Nordenbrand K. The mode of action of lipidsoluble antioxidants in biological membranes: relationship between the effects of ubiquinol and vitamin E as inhibitor of lipid peroxidation in submitochondrial particles. *Biofactors.* (1992) 3: 241-248.

Falger P.R.J, Op den Velde W, Hovens J.E, Schouten E.G.W, De Groen J.H.M, Duijn H.V. Current posttraumatic stress disorder and cardiovascular disease risk factors in Dutch Resistance veterans from World War II. *Psychother. Psychosom.* (1992)57(4):164-171.

Fernandez V, Videla L.A. Thyroid hormone, active oxygen, and lipid peroxidation, in: J. Miquel, A.T. Quintanilha, H. Weber (Eds.), *Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine*, CRC Press Inc., Boca Raton, FL. (1989) 105–115.

Fernandez V, Tapia G, Varela P, Romanque P, Cartier- Ugarte D, Videla L.A. Thyroid hormone-induced oxidative stress in rodents and humans: A comparative view and relation to redox regulation of gene expression, *Comp. Biochem. Physiol., Part C.* (2006) 142(3-4):231-239.

Flora S.J. Arsenic-induced oxidative stress and its reversibility following combined administration of N-acetylcysteine and meso 2,3-dimercaptosuccinic acid in rats, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* (1999) 26(11):865–869.

Fontaine O, Kulbertus H, Etienne A.M. Stress et cardiologie. Collection Médecine et Psychothérapie. Ed. Masson. (1996): 216.

Fournier D, Bride J.M, Poirie M, Berge J.B, Plapp F.W. Insect glutathione S-transferase. Biochemical characteristics of the major forms of houseflies susceptible and resistant to insecticides. *J. Biol. Chem.* (1992) 267(3):1840–1845.

Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu. Rev. Biochem.* (1995) 64: 97-112.

Friedman A, Kaufer D, Shemer J, Hendler I, Soreq H, Tur- Kaspas I. Pyridostigmine brain penetration under stress enhances neuronal excitability and induces early immediate transcriptional response. *Nat. Med.* (1996) 2:1382-1385.

Frohman L.A, Bernardis L.L. Effect of hypothalamic stimulation on plasma glucose, insulin, and glucagon levels. *Am J Physiol.* (1971) 221: 1596-1603.

Fukuhara K, Kvetnansky R, Cizza G, Pacak K, Ohara H, Goldstein D.S, Kopin I.J. Interrelations between sympathoadrenal system and hypothalamo– pituitary– adrenocortical/thyroid systems in rats exposed in cold stress. *J. Neuroendocrinol.* (1996) 8 (7): 533– 541.

Galinowski A. Stress et panique. Aspects immunologiques. *L'Encéphale.* (1993) XIX : 147-151.

Galitzky J, Taouis M, Berlan M, Riviere D, Garrigues M, Lafontan M. Alpha 2-antagonist compounds and lipid mobilization: evidence for a lipid mobilizing effect of oral yohimbine in healthy male volunteers. *Eur J Clin Invest.* (1988)18(6): 587– 594.

Galitzky J, Riviere D, Tran M.A, Montastruc J.L, Berlan M. Pharmacodynamic effects of chronic yohimbine treatment in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol.* (1990)39(5): 447–451.

Garcia SJ, Abu-Qare AW, Meeker-O'Connell WA, Borton AJ, Abou-Donia MB. Methyl parathion: a review of health effects. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* (2003)6(2):185-210.

Garcia-Chavez E, Jimenez I, Segura B, Del Razo L.M. Lipid oxidative damage and distribution of inorganic arsenic and its metabolites in the rat nervous system after arsenite exposure: influence of alpha tocopherol supplementation. *Neurotoxicology.* (2006) 27:1024-1031.

George J, Andrade C, Joseph T. Delayed effects of acute oral and chronic inhalational exposure to methylparathion on learning and memory in rats. *Indian J Exp Biol.* (1992) 30(9):819-22.

Gerard-Monnier D, Chaudiere J. Metabolism and antioxidant function of glutathione. *Pathol. Biol.* (1996) 44 (1):77-85.

Geret F, Serafim A, Barreira L, Bebianno MJ. Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the clam *Ruditapes decussatus*. *Biomarkers* (2002) 7(3): 242-256.

Ghyselinck N.B, Dufaure J.P. A mouse cDNA sequence for epididymal androgenregulated proteins related to glutathione peroxidase. *Nucleic Acids Res.* (1990)18 (23): 7144-7149.

Girard C, Brodeur J.C, Hontela A. Responsiveness of the interrenal tissue of yellow perch (*Perca flavescens*) from contaminated sites to an ACTH challenge test in vivo. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* (1998) 55: 438–450.

Goldberg I.J, Le N.A, Paterniti J.R. Jr, Ginsberg H.N, Lindgren F.T, Brown W.V. Lipoprotein metabolism during acute inhibition of hepatic triglyceride lipase in the cynomolgus monkey. *J. Clin. Invest.* (1982)70(6): 1184-1192.

Gornall A.C, Bardawill C.J, David M.M.*Biol.Chem.*(1949):177-751.

Gravel A, Vijayan M.M. Salicylate impacts the physiological responses to an acute handling disturbance in rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* (2007)82 (2): 87–95.

Green P, Dawson R, Wallace D.R, Owens J. Treatment of rat brain membrane with taurine increases radioligand binding, in: S. Schaffer, J.B. Lombardini, R.J. Huxtable (Eds.), *Adv. Exp. Med. Biol. Taurine 3, Cellular and Regulatory Mechanism.* Plenum Press, New York. (1998) 442: 397–403.

Gruber S.J, Munn M.D. Organophosphate and carbamate insecticides in agricultural waters and cholinesterase (ChE) inhibition in common carp (*Cyprinus carpio*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* (1998) 35(3): 391- 396.

Grunhaus L, Tiongco D, Zelnik T, Flegel P, Hollingsworth PJ, Smith CB. Intravenous yohimbine: Selective enhancer of norepinephrine and cortisol secretion and systolic blood pressure in humans. *Clin Neuropharmacol.* (1989)12:106–114.

Guilé J.M. Apports de la neurobiologie en psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent. *Annales Médico-psychologiques, revue psychiatrique.* (2006)164(7) :547-556.

Gultekin F, Ozturk M, Akdogan M. The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro). *Arch. Toxicol.* (2000) 74: 533-538.

Gultekin F, Delibas N, Yasar S, Kilinc I. In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of Vitamin C and Vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Arch. Toxicol.* (2001) 75(2): 88-96.

Güney M, Oral B, Demirin H, Özgüner M, Take G, Mungan T, Altuntas I. Evaluation of caspase-dependent apoptosis during methyl parathion-induced endometrial damage in rats: Ameliorating effect of Vitamins E and C. *Envir Toxicol Pharmacol.* (2007) 23 (2): 221-227.

Gupta M, Mukherjee S, Gupta S.D, Dolui A.K, Dey S.N, Roy D.K. Changes of lipid spectrum in different tissues of Furadan-treated mice. *Toxicology.*, (1986)38(1) : 69-79.

Gurguis GN, Vitton BJ, Uhde TW. Behavioural, sympathetic and adrenocortical responses to yohimbine in panic disorder patients and normal controls. *Psychiatry Res.* (1997)71:27–39.

Gurvits T.V, Shenton M.E, Hokama H, Ohta H, Lasko N.B, Gilbertson M.W, Orr S.P, Kikinis R, Jolesz F.A, McCarley R.W, Pitman R.K: Magnetic resonance imaging study of hippocampal volume in chronic combat-related posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* (1996) 40:1091–1099.

Haas HL, Hosli L. The depression of brain stem neurones by taurine and its interaction with strychnine and bicuculline. *Brain Res.* (1973) 52:399–402.

Habig HW, Pabst MJ and Jakoby WB 1984 Glutathione S-Transferases. The First Enzymatic Step in Mercapturic Acid Formation, *J. BioLChem.* (1984) 249: 7130-7139.

Hagar H, El Etter E, Arafa M. Taurine attenuates hypertension and renal dysfunction induced by cyclosporine A in rats. *Clinical and experimental pharmacology and physiology.* (2006) 33(3):189-196.

Hai D.Q, Varga S.I, Matkovics B. Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*). *Comp. Biochem. Physiol.*(1997)117 (1):83–88.

Hall L, Williams K, Perry A.C.F, Frayne J, Jury J.A. The majority of human glutathione peroxidase type 5 (GPx5) transcripts are incorrectly spliced: implications for the role of GPx5 in the male reproductive tract. *Biochem. J.* (1998) 333: 5-9.

Halliwell B, Gutteridge J.M.C. *Free radicals in Biology and Medicine.* 2nd ed. Clarendon Press, Oxford. (1989): 543.

Han Y.H, Kim S.H, Kim S.Z, Park W.H. Apoptosis in arsenic trioxide-treated Calu-6 lung cells is correlated with the depletion of GSH levels rather than the changes of ROS levels. *J. Cell. Biochem.* (2008) 104:862–878.

Hansen.S.H. The role of taurine in diabetes and the development of diabetic complication. *Diabetes. Metab. Res Rev.* (2001) 17(5): 330-246.

Harrison G.A. Stress, catecholamines, and sleep. *Aviat. Space Environ. Med.* (1985) 56 : 651-653.

Hasal S.J, Sun Y, Yan C.C, Brendal K, Huxtable R.J. Effect of taurine in precision cut liver slices exposed to the pyrrolizidine alkaloid, retrosine. *Adv Exp Med Biol.* (1998) 442:79-83.

Hasspieler B.M, Behar J.V, Di Giulio R.T. Glutathione dependent defense in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and brown bullhead (*Ameiurus nebulosus*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* (1994)28:82–90.

Hazard J, Perlemuter L. *Manuel d'Endocrinologie*. Ed. Masson, 3. (1990): 560.

Hayes B. « Arming Big Brother : The EU's security research programme », TNI-Statewatch, Amsterdam. (2006).

Holmberg G, Gershon S. Autonomic and psychic effects of yohimbine hydrochloride. *Psychopharmacologia*. (1961)2:93–106.

Hontela A, Daniel C, Rasmussen J.B. Structural and functional impairment of the hypothalamus–pituitary–interrenal axis in fish exposed to bleached kraft mill effluent in St. Maurice River, Quebec. *Ecotoxicology*. (1997) 6: 1–12.

Hori T.S.F, Avilez I.M, Iwama G.K, Johnson S.C, Moraes G, Afonso L.O.B. Impairment of the stress response in matrinxã juveniles (*Brycon amazonicus*) exposed to low concentrations of phenol. *Comp. Biochem. Physiol.* (2008) C147:416–423.

Huang J-S, Chuang L-Y, Guh J-Y, Yang Y-L, Hsu M-S. Effect of taurine on advanced glycation end products-induced hypertrophy in renal tubular epithelial cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*. (2008) 233(2):220–226.

Hussy N, Deleuze C, Pantaloni A, Desarmenien MG, Moos F. Agonist action of taurine on glycine receptors in rat supraoptic magnocellular neurones: Possible role in osmoregulation. *J Physiol.* (1997) 502:609–621.

Huxtable R.J. Taurine in the central nervous system and the mammalian action of taurine. *Prog. Neurobiol.* (1989) 32:471–533.

Huxtable R.J. The physiological actions of taurine. *Physiol. Rev.* (1992) 72:101–163.

Ibrahim N.A, El-Gamal B.A. Effect of diazinon, an organophosphate insecticide, on plasma lipid constituents in experimental animals. *J Biochem Mol Biol.* (2003) 36(5) : 499-504.

Ikedibi CO, Badisa VL, Ayuk-Takem LT, Latinwo LM, West J. Response of antioxidant enzymes and redox metabolites to cadmium-induced oxidative stress in CRL-1439 normal rat liver cells. *Int. J. Mol. Med.* (2004)14(1): 87-92.

Imlay J.A, Linn S. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science*, (1988)240 (4857): 1302-1309.

Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS). Fiche toxicologique n°83. (2007).

International Programme on Chemical Safety (IPCS). Methyl parathion, Health and safety guide n°75. (1993).

« Investigation unfinished », Regional Public Organization for Support of Victims of Terrorist Attacks, Moscou. (2006).

Izumi K, Donalson J, Minnich J.L, Barbeau A. Ouabain-induced seizures in rats: suppression effects of taurine and g-aminobutyric acid. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* (1973) 51(12):885–889.

Jakoby W.B. The glutathione S-transferases: a group of multifunctional detoxification proteins. *Adv. Enzymol. RAMB.* (1978) 46: 383-414.

James R.C, Roberts S.M, Harbison R.D. The perturbation of hepatic glutathione by alpha2-adrenergic agonists. *Fundam. Appl. Toxicol.* (1983) 3:303-308.

Jenner P. Oxidative stress as a cause of Parkinson's Disease. Acta Neurol Scand Suppl. (1991) 136:6-15.

Jiang Z, Krnjevic K, Wang F, Ye JH. Taurine activates strychnine- sensitive glycine receptors in neurons freshly isolated from nucleus accumbens of young rats. *J. Neurophysiol.* (2004) 91:248–257.

Jiang N, Lu L, Wang T, Zhang L, Xin W, Fu F. Reduced glutathione attenuates liver injury induced by methyl parathion in rats. *Toxicol. Mech. Methods.* (2010)(2):69-74.

Joffe R.T, Singer W. The effect of tricyclic antidepressants on basal thyroid hormone levels in depressed patients. *Pharmacopsychiatry.* (1990) 23(2): 67– 69.

John S, Kale M, Rathore N, Bhatnagar D. Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. *J Nutr Biochem.* (2001) 12(9):500-504.

Johnston AL, File SE. Yohimbine's anxiogenic action: evidence for noradrenergic and dopaminergic sites. *Pharmacol Biochem Behav.* (1989)32:151–156.

Jokanovic M. Biotransformation of organophosphorus compounds. *Toxicology.* (2001)166:139–160.

Julka D, Pal R, Gill K.D. Neurotoxicity of dichorvos: effect of antioxidant defense system in the rat central nervous system. *Exp. Mol. Pathol.* (1992)56(2):144–152.

Kagan B.L, Leskin G, Haas B, Wilkins J, Foy D. Elevated lipid levels in Vietnam veterans with chronic posttraumatic stress disorder. *Biol. Psychiatry.* (1999) 45:374-377.

Karant S, Liu J, Olivier K, Pope C. Interactive toxicity of the organophosphorus insecticides chlorpyrifos and methyl parathion in adult rats. *Toxicology and Applied Pharmacology.* (2004) 196(2):183–190.

Karlovic D, Martinac M, Buljan D, Zoricic Z. Relationship between serum lipid concentrations and posttraumatic stress disorder symptoms in soldiers with combat experiences. *Acta Med. Okayama.* (2004)58:23–27.

Kasdallah A.G, Mornagui B, Gharbi N, Machghoul S, El-Fazaa S. Effets métaboliques et endocriniens de la privation hydrique et/ou alimentaire chez le rat, *C.R. Biologies.* (2005) 328 : 463-470.

Kasl S.V, Cobb S, Brooks G.W. Changes in serum uric acid and cholesterol levels in men undergoing job loss. *J. Am. Med. Assoc.* (1968) 206:1500-1507.

Katz R.J. Animal models and human depressive disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev.* (1981)5(2): 231-46.

Kaufman D, Friedman A, Seidman S & Soreq H. Acute stress facilitates long-lasting changes in cholinergic gene expression. *Nature.* (1998) 393(6683):373-377.

Keffer JH. Preanalytical Considerations in Testing Thyroid Function. *Clinical Chemistry.* (1996)42(1) :125-135.

Keravel F. Facteur humain et sécurité. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Tome 3, 16-792-A10 : 9*

Kioukia N, Bekris S, Antoniou K, Papadopoulou-Daifoti Z, Christofidis I. Effects of CMS on thyroid hormone function in two different rat strains. *Psychoneuroendocrinology.* (2000) 25 (3): 247–257.

Kioukia-Fougia N, Antoniou K, Bekris S, Liapi C, Christofidis I, Papadopoulou-Daifoti Z. The effects of stress exposure on the hypothalamic–pituitary–adrenal axis, thymus, thyroid hormones and glucose levels. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry.* (2002) 26(5):823– 830.

Kjaer A, Knigge U, Vilhardt H, Bach F.W, Warberg J. Histamine and stress- induced secretion of ACTH and beta-endorphine involvement of corticotropin-releasing hormone and vasopressin, *Neuroendocrinology.* (1992) 56(3):419–428.

Klimaschewski L, Kummer W, Heym C. Localization, regulation and fonctions of neurotransmitters and neuromodulators in cervical sympathetic ganglia. *Microsc Res Tech.* (1996) 35(1): 44-68.

Knedel M. et Böttger R. [A kinetic method for determination of the activity of pseudochoolinesterase (acylcholine acyl-hydrolase 3.1.1.8)]. *Klin. Wochenschr.* (1967) 45(6) : 325-327.

Kong W.X , Chen S.W, Li Y.L, Zhang Y.J, Wang R, Min L, Mi X. Effects of taurine on rat behaviors in three anxiety models. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior.* (2006) 83(2):271–276.

Kostić MM, Ognjanović B, Dimitrijević S, Zikić RV, Stajn A, Rosić GL, Zivković RV. Cadmium-induced changes of antioxidant and metabolic status in red blood cells of rats: in vivo effects. *Eur. J. Haematol.* (1993) 51(2): 86-92.

Kuhn H, Borchert A. Regulation of enzymatic lipid peroxidation: the interplay of peroxidizing and peroxide reducing enzymes' *Free Radical Biology and Medicine,* (2002) 33(2):154-172.

Kuloglu M, Atmaca M, Tezcan E, Ustundag B, Bulut S. Antioxidant enzyme and malondialdehyde levels in patients with panic disorder. : *Neuropsychobiology.* (2002) 46(4):186-9.

Kupferschmidt D.A, Tribe E, Erb S. Effects of repeated yohimbine on the extinction and reinstatement of cocaine seeking. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. (2009) 91(3):473-480.

Kuriyama K, Hashimoto T. Interrelationship between taurine and GABA. *Adv Exp Med Biol*. (1998) 442:329–337.

Kusnecov AW, Rabin BS. Stressor-induced alterations of immune function: mechanisms and issues. *Int. Arch. Allergy Immunol*. (1994)105(2):107-21.

Laborit H. « La Nouvelle grille » - Ed. Robert Laffont -1974.

Laborit H. *Encyclopaedia Universalis, Corpus 17, Soutine Tirso*. (1988) 271-272.

Lam N.V, Chen W, Suruga K, Nishimura N, Goda T, Yokogoshi H. Enhancing effect of taurine on CYP7A1 mRNA expression in HepG2 cells, *Amino Acids*. (2006) 30(1):43–48.

Landsberg L, Young J.B. Fasting, feeding and regulation of the sympathetic nervous system. *N Engl J Med*. (1978) 298:1295– 1301.

Lappivaara J. Effects of acute handling stress on whitefish *Coregonus lavaretus* after prolonged exposure to biologically treated and untreated bleached kraft mill effluent. *Arch. Environ. Contam. Toxicol*. (2001) 41: 55–64.

Lazarewich J, Noremborg K, Lehmann A, Hamberger A. Effects of taurine on calcium binding and accumulation in rabbit hippocampal and cortical synaptosomes, *Neurochem. Int*. (1985) 7(3):421–427.

Le Corre P, Parmer RJ, Kailasam MT, Kennedy BP, Skaar TP, Ho H, Leverge R, Smith DW, Ziegler MG, Insel PA, Schork NJ, Flockhart DA, O'connor DT. Human sympathetic activation by alpha2-adrenergic blockade with yohimbine: Bimodal, epistatic influence of cytochrome P450-mediated drug metabolism. *Clin Pharmacol Ther*. (2004)76(2):139-53.

Léger A.F. Structure et physiologie thyroïdienne, *Endocrinologie– Nutrition, Encycl. Med. Chir., Éditions Techniques, Paris*. (1991) 10002 B (10): 12.

Leonard SS, Harris GK, Shi X. Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Rad. Biol. Med*. (2004) 37(12): 1921-1942.

Lhuillier D, Mignée C, Raix A. Approches psychosociales du stress. *Archives des Maladies Professionnelles*. (1991) 52 (4) : 257-261.

Li H, Zhang S. In vitro cytotoxicity of the organophosphorus pesticide parathion to FG-9307 cells. *Toxicol. In Vitro*. (2001)15(6): 643–647.

Li Y.P, Lombardini J.B. Taurine inhibits protein kinase C -catalyzed phosphorylation of specific protein in a rat cortical P2 fraction. *J. Neurochem*. (1991) 56:1747–1753.

Livingstone D.R, Lemaire P, Matthews A, Peters L, Bucke D, Law R.J. Pro-oxidant, antioxidant and 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity responses in liver of dab

(*Limanda limanda*) exposed to sediment contaminated with hydrocarbons and other chemicals. *Mar. Pollut. Bull.* (1993) 26:602–606.

Livingstone D.R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar. Pollut. Bull.* (2001) 42:656–666.

López O, Hernández A.F, Rodrigo L, Gil F, Pena G, Serrano J.L, Parrón T, Villanueva E, Pla A. Changes in antioxidant enzymes in humans with long-term exposure to pesticides. *Toxicol. Lett.* (2007) 171(3):146–153.

Lopez J.F, Chalmers D.T, Little K.Y, Watson S.J. Regulation of serotonin 1A, glucocorticoid, and mineralocorticoid receptor in rat and human hippocampus: implications for the neurobiology of depression. *Biol. Psychiatry.* (1998) 43(8): 547– 573.

Lukaszewicz-Hussain A. Subchronic intoxication with chlorfenvinphos, an organophosphate insecticide, affects rat brain antioxidative enzymes and glutathione level. *Food Chem Toxicol.* (2008) 46(1): 82-86.

Machado M.R, Fanta E. Effects of the organophosphorus methyl parathion on branchial epithelium of freshwater fish *Metynnis roosevelti*. *Braz. Arch. Biol. Technol.* (2003) 46(3): 361–372.

Magarinos A.M, McEwen B.S, Flugge G & Fuchs E. Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *J.Neurosci* (1996)16(10):3534-40.

Maliakel DM, Kagiya TV, Nair CK. Prevention of cisplatin- induced nephrotoxicity by glucosides of ascorbic acid and alpha-tocopherol. *Exp. Toxicol. Pathol.* (2008) 60(6):521–7.

Manna P, Sinha M, Sil P.C. Cadmium induced testicular pathophysiology: Prophylactic role of taurine. *Reproductive Toxicology.* (2008) 26(3-4):282–291.

Mariani E., Polidori M.C, Cherubini A, Mecocci P. Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview, *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* (2005) 827:65–75.

Maroni M, Colosio C, Ferioli A, Fait A. Biological monitoring of pesticide exposure: a review. *Organophosphorus pesticides. Toxicology.* (2000) 143:9 – 37.

Martin L. *Les anti-oxydants – Collection Santé. Naturelle*, éditions Dangles, Saint-Jean de Braye, France. (2005).

Masini C. V, Sauer S, Campeau S. Ferret Odor as a Processive Stress Model in Rats: Neurochemical, Behavioral, and Endocrine Evidence. *Behav Neurosci.* (2005) 119(1): 280–292.

Masini C.V, Sauer S, White J, Day H.E.W, Campeau S. Non-associative defensive responses of rats to ferret odor. *Physiol Behav.* (2006) 87(1): 72–81.

Mason J.W. A review of psychoendocrine research on the pituitary– adrenal cortical system. *Psychosom. Med.* (1968) 30:576– 607.

Mathew R.J, Ho B.J, Khan M.M, Perales C, Weinman M.L, Claghorn J.L. True and pseudo cholinesterases in depression. *Am. J. Psychiatry.* (1982) 139: 125-127.

Mathew G, Vijayalaxmi KK, Abdul Rahiman M. Methyl parathion-induced sperm shape abnormalities in mouse. *Mutat Res.* (1992) 280(3): 169-173.

McDougle C.J, Krystal J.H, Price L.H, Heninger G.R, Charney D.S. Noradrenergic response to acute ethanol administration in healthy subjects: comparison with intravenous yohimbine. *Psychopharmacology.* (1995)118(2): 127–135.

McEwen B. Possible mechanisms for atrophy of the human hippocampus. *Mol. Psychiatry.* (1997) 2:255-262.

McFarlane A.C, Atchison M, Rafalowicz E, Papay P. Physical symptoms in post-traumatic stress disorder. *J. Psychosom. Res.* (1994)38:715-726.

Meister A. Glutathione metabolism and its selective modification. *J. Biol. Chem.* (1988) 263 (33):17205-17208.

Meister A, Anderson M.A. Glutathione. *Ann. Rev. Biochem.* (1983)52:711-760.

Melamed S, Kushnir T, Strauss E, Vigiser D. Negative association between reported life events and cardiovascular disease risk factors in employed men: the CORDIS study. *J. Psychosom. Res.* (1997)43:247-258.

Mellor JR, Gunthorpe MJ, Randall AD. The taurine uptake inhibitor guanidinoethyl sulphate is an agonist at gamma-aminobutyric acid(a) receptors in cultured murine cerebellar granule cells. *Neurosci Lett.* (2000) 286(1):25–28.

Messarah M, Boulakoud M. S, Boumendjel A, Abdennour C, El Feki A. The impact of thyroid activity variations on some oxidizing-stress parameters in rats. *C.R.Biologies.* (2007) 330(2):107-112.

Migliorea L, Coppedè F. Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* (2009)674(1-2): 73-84.

Mignée C. Le stress, Biologie et Physiologie. *Archives de Maladies Professionnelles.* (1991) 52 (4): 255-257.

Mildred S, Seelig M.D, Master A.C.N. Consequences of deficiency on the enhancement of stress reactions; preventive and therapeutic implications. *J. Am. Coll. Nutr.*(1994) 13(5): 429–446.

Millan M J, Newman-Tancredi A, Audinot V , Cussac D, Lejeune F, Nicolas JP, Cogé F, Galizzi JP, Boutin JA, Rivet JM, Dekeyne A, Gobert A. Agonist and antagonist actions of yohimbine as compared to fluparoxan at α_2 -adrenergic receptors (AR)s, serotonin (5-HT)_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D} and dopamine D₂ and D₃ receptors. Significance for the modulation of

frontocortical monoaminergic transmission and depressive states. *Synapse*. (2000) 35 (2) : 79 – 95.

Mobio T.A, Baudrimont I, Sanni A, Shier T.W, Saboureau D, Dano S.D, Ueno Y, Steyn P.S, Creppy E.E. Prevention by Vitamin E of DNA fragmentation and apoptosis induced by fumonisin B1 in C6 glioma cells. *Archiv. Toxicol.* (2000) 74(2): 112-9.

Mohammad A, Ranjbar A, Shahin S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit.* (2004) 10: 141–147.

Monteiro D.A, Almeida J.A, Rantin F.T, Kalinin A.L. Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion). *Comparative Biochemistry and Physiology part C.Toxicol Pharmacol.* (2006) 143 (2):141–149.

Monteiro D.A, Rantin F.T, Kalinin A.L. The effects of selenium on oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish matrinxã, *Brycon cephalus* exposed to organophosphate insecticide Folisuper 600 BR(R) (methyl parathion). *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* (2009) 149(1) : 40-49.

Muscat R, Willner P. Suppression of sucrose drinking by chronic mild unpredictable stress: a methodological analysis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* (1992)16(4): 507–517.

Musliner T.A, Herbert P.N, Kingston M.J. Lipoprotein substrates of lipoprotein lipase and hepatic triacylglycerol lipase from human post-heparin plasma. *Biochim. Biophys. Acta.* (1979)575(2) : 277-288.

Myers EA, Banihashemi L, Rinaman L. The anxiogenic drug yohimbine activates central viscerosensory circuits in rats. *J Comp Neurol.* (2005)492:426–441.

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

Nantel A.J. Toxicologie Et Mesures D'urgence. Guerre Chimique Et Biologique. Bulletin d'information toxicologique. (1998)14(3).

Nassé T.Y. Etude clinique sur le traitement du stress et de la fatigue et de la dépression par la sophrothérapie » - Congrès Mondial de Psychomotricité. Strasbourg. (2000).

Nassé T.Y. Voyage dans le corps imaginaire de la psychothérapie à la recherche scientifique des hormones du stress.Paris. (2003).

Nassé T-Y. Anxiété, angoisse, stress, dépression en hormonologie. SFS. (2006).

Nicholson D.W, Ali A, Vaillancourt J.P, Calaycay J.R, Mumford R.A, Zamboni R.J. Ford-Hutchinson A.W. Purification to homogeneity and the N-terminal sequence of human leukotriene C4 synthase: a homodimeric glutathione S-transferase composed of 18-kDa subunits. *Proc. Natl. Acad. Sei. USA.* (1993) 90: 2015-2019.

Nonogaki K, Iguchi A. Stress, Acute Hyperglycemia, and Hyperlipidemia: Role of the Autonomic Nervous System and Cytokines. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. (1997) 8(5): 192-197.

Nordberg J, Arnér E.S.J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic. Biol. Med.* (2001) 31:1287–1312.

Norris D.O, Donahue S, Dores R.M, Lee J.K, Maldonado T.A, Ruth T, Woodling J.D. Impaired adrenocortical response to stress by brown trout, *Salmo trutta*, living in metal-contaminated waters of the Eagle River, Colorado. *Gen. Comp. Endocrinol.* (1999)113:1–8.

Olafsdottir K, Reed D.J. Retention of oxidized glutathione by isolated rat liver mitochondria during hydroperoxide treatment. *Biochim. Biophys. Acta.* (1988) 964 (3):377-382.

Olivier C, Dadoun F, Darmon P, Velut J.G, Frachebois C. Arginine-vasopressine et fonction corticotrope lors du stress. *La Presse Médicale.* (1997) 26 (34) : 1635-1641.

Olivier K, Liu J, Karanth S, Zhang H, Roane D.S, Pope C.N. Glucose feeding exacerbates parathion induced neurotoxicity. *J.Tox.* (2001) 63 (4): 253-271.

Oliveira MW, Minotto JB, de Oliveira MR, Zanotto-Filho A, Behr GA, Rocha RF, Moreira JC, Klamt F. Scavenging and antioxidant potential of physiological taurine concentrations against different reactive oxygen/nitrogen species. *Pharmacol Rep.* (2010)62(1):185-93.

Oscarson M. Pharmacogenetics of drug metabolising enzymes: importance for personalised medicine. *Clin Chem Lab Med.* (2003) 41:573-80.

Ozden S, Gezginci S, Catalgol BK, Bolkent S, Alpertunga B. Oxidative stress and histological changes in the in the kidney following oral methiocarb administrations in rats: Role of vitamin E and taurine. *J.Tox. Let.* (2007) 171(1):S215-S216.

Pacheco M, Santos M.A. Biotransformation, endocrine, and genetic responses of *Anguilla anguilla* L. to petroleumdistillate products and environmentally contaminated waters. *Ecotox. Environ. Saf.* (2001) 49: 64–75.

Padron Sanz C, Halko R, Sosa Ferrera Z, Santana Rodriguez J.J. Micellar extraction of organophosphorus pesticides and their determination by liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta.* (2004) 524:265– 270.

Pappa A, Franco R, Schoneveld O, Galanis A, Sandaltzopoulos R, Panayiotidis M.I. Sulfur-containing compounds in protecting against oxidant-mediated lung diseases. *Curr. Med. Chem.* (2007)14(24): 2590–2596.

Park C. R, Campbell A. M, Diamond D. M. Chronic psychosocial stress impairs learning and memory and increases sensitivity to yohimbine in adult rats. (2001)50(12) :994-1004.

Partonen T, Haukka J, Virtamo J, Taylor P.R, Lonnqvist J. Association of low serum total cholesterol with major depression and suicide. *Br. J. Psychiatry.* (1999)175:259-262.

Paskitti M.E, McCreary B.J, Herman J.P. Stress regulation of adrenocorticosteroid receptor gene transcription and mRNA expression in rat hippocampus: time-course analysis. *Mol. Brain Res.* (2000) 80(2): 142–152.

Paulmyer-Lacroix O, Guillaume V, Anglade G. Régulation de la fonction corticotrope dans les situations de stress. *Annales d'Endocrinologie.* (1995) 56(4) : 245-251.

Pellow S, Chopin P, File SE. Are the anxiogenic effects of yohimbine mediated by its action at benzodiazepine receptors? *Neurosci Lett.* (1985) 55: 5–9.

Peña-Llopis S, Ferrando M.D, Peña J.B. Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. *Aquat. Toxicol.* (2003) 65(4): 337–360.

Pesticide Action Network (PAN) Africa. Analyse des impacts des stocks de pesticides obsolètes sur les communautés locales et sur l'environnement en Tunisie : Cas du site Menzel Bourguiba. (2006) Rapport n°11.

Pich M.E, Samanin R.A. two-compartment exploratory model to study anxiolytic/anxiogenic effects of drugs in the rat. *Pharmacological research.* (1989) 21(5): 595-602.

Plata-Salaman C.R, Ilyin S.E, Turrin N.P, Gayle D, Flynn M.C, Bedard T, Merali Z, Anisman H. Neither acute nor chronic exposure to a naturalistic (predator) stressor influences the interleukin-1beta system, tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta1, and neuropeptide mRNAs in specific brain regions. *Brain Research Bulletin.* (2000) 51:187–193.

Poonkuzhali B, Shaji RV, Salamun DE, George B, Srivastava A, Chandy M. Cytochrome P4501A1 and glutathione S transferase gene polymorphisms in patients with aplastic anemia in India. *Acta Haematol.* (2001)14(3):127-32.

Porte D Jr, Robertson RP. Control of insulin secretion by catecholamines, stress, and the sympathetic nervous system. (1973)32(7):1792-6.

Posser T, Kaster M.P, Cristiane Baraúna S , Rocha J.B.T , Rodrigues A.L.S, Leal R.B. . Antidepressant-like effect of the organoselenium compound ebselen in mice: Evidence for the involvement of the monoaminergic system. *European Journal of Pharmacology.* (2009) 602(1): 85-91.

Post RM. Transduction of psychosocial stress into the neurobiology of recurrent affect disorder. *Am J Psychiatry.* (1992)149:999 –1010

Prakash NT, Rao KS. Modulations in antioxidant enzymes in different tissues of marine bivalve *Perna viridis* during heavy metal exposure. *Mol. Cell. Biochem.* (1995) 146(2): 107-113.

Pre J. Lipid peroxidation. *Path. Biol.* (1991)39 (7):716-736.

Prohaska J.R, Ganther H.E. Glutathione peroxidase activity of glutathione-transferases purified from rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (1976)76 (2):437-445.

Quinn MR, Harris CL. Taurine allosterically inhibits binding of [35s]-t-butylbicyclophosphorothionate (TBPS) to rat brain synaptic membranes. *Neuropharmacology*. (1995) 34:1607–1613.

Rahe R.H, Rubin R.T, Arthur R.J, Clark B.R. Serum uric acid and cholesterol variability: a comprehensive view of underwater demolition team training. *J. Am. Med. Assoc.* (1968) 206:2875- 2880.

Ramanathan K, Anusuyadevi M, Shila S, Panneerselvan C. Ascorbic acid and alfa-tocopherol as potent modulators of apoptosis on arsenic induced toxicity in rats. *Toxicol. Lett.* (2005)156(2): 297 -306.

Reis F.M, Santos M.A, Reis A.M, Coimbra C.C. Alterations in plasma prolactin and glucose levels induced by surgical stress in hyperprolactinemic female rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* (1996) 29 (6): 811 – 815.

Requena J.R, Fu M.X, Ahmed M.U, Jenkins A.J, Lyons T.J, Thome S.R. Lipoxidation products as biomarkers of oxidative damage to proteins during lipid peroxidation reaction. *Nephrol. Dial. Transplant.* (1996)11 (5): 48-53.

Resnick HS, Yehuda R, Pitman RK, Foy DW. Effect of previous trauma on acute plasma cortisol level following rape. *Am J Psychiatry.* (1995)152(11):1675–1677.

Ricks C.A, Dalrymple R.H, Baker P.K, Ingel D.L. Use of beta agonists to alter fat and muscle deposition in steers. *J Animal Sci.* (1984) 59:1247– 1255.

Rivier C, Vale W. Diminished responsiveness of the hypothalamic – pituitary – adrenal axis of the rat during exposure to prolonged stress: a pituitary-mediated mechanism. *Endocrinology.* (1987)121 (4): 1329–1338.

Roberts S.M, Skoulis N.P, James R.C. A centrally-mediated effect of morphine to diminish hepatocellular glutathione. *Biochemical pharmacology.* (1987)36(18): 3001-3005.

Rodrigues E.L, Fanta E. Liver histopathology of the fish *Brachydanio rerio* after acute exposure to sublethal levels of the organophosphate Dimetoato 500. *Rev. Bras. Zool.* (1998) 15: 441–450.

Rodríguez-Ariza A, Dorado G, Peinado J, Pueyo C, Lopez-Barea J. Biochemical effects of environmental pollution in fishes from Spanish South-Atlantic littoral. *Biochem. Soc. Trans.* (1991) 19(3):301S.

Rosado J.O, Salvador M, Bonatto D. Importance of the trans-sulfuration pathway in cancer prevention and promotion. *Mol. Cell. Biochem.* (2007)301(1-2): 1–12.

Rose L, Davies D.A, Lehmann H. Serum-pseudocholinesterase in depression with notable anxiety. *Lancet.* (1965)2:563-565.

Roseboom P.H, Nanda S.A, Bakshi V.P, Trentani A, Newman S.M, Kalin N.H. Predator threat induces behavioral inhibition, pituitary-adrenal activation and changes in amygdala CRF-binding protein gene expression. *Psychoneuroendocrinology.* (2007)32(1): 44–55.

Rousseau J.M, Rüttimann M ; Brinquin I. Intoxications aiguës par neurotoxiques organophosphorés : insecticides et armes chimiques. *Ann. Fran. Anesth. Réanim.* (2000)19(8) :588-598.

Routier A. Le stress, Rappel du concept. *Archives de Maladies Professionnelles.*(1991) 52 (4)
Rumsey T.S, Bitman J, Tao H. Changes in plasma concentrations of thyroxine, triiodothyronine, cholesterol and total lipid in beef steers fed ronnel. *J Anim Sci.* (1983)56(1): 125-31.

Ryhänen R, Herranen J, Korhonen K, Penttilä I, Polvilampi M, Puhakainen E. Relationship between serum lipids, lipoproteins and pseudocholinesterase during organophosphate poisoning in rabbits. *Int. J. Biochem.* (1984)16(6): 687-690.

Salovsky P, Shopova V, Dancheva V, Marev R. Changes in antioxidant lung protection after single intra-tracheal cadmium acetate instillation in rats. *Hum. Exp. Toxicol.* (1992) 11(3): 217-222.

Sapolsky R. Why stress is bad for your brain. *Science* (1997) 273:749-750.

Sapolsky R.M, Romero L.M, Munck A.U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr. Rev.* (2000) 21(1): 55-89.

Sato S, Yamate J, Saito T, Hosokawa T, Saito S, Kurasaki M. Protective effect of taurine against renal interstitial fibrosis of rats induced by cisplatin. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* (2002) 365:277–83.

Schafer F.Q, Buettner G.R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radie. Biol. Med.* (2001)30 (11):1191-1212.

Schuller-Levis G.B, Park E. Taurine and its chloramine: modulators of immunity. *Neurochem. Res.* (2004)29: 117–126.

Selye H. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *J Clin Endocrinol Metab.* (1946) 6(2): 117-230.

Serbecic N, Beutelspacher S.C. Anti-oxidative vitamins prevent lipidperoxidation and apoptosis in corneal endothelial cells. *Cell. Tissue Res.* (2005) 320:465-475.

Servant D, Parquet Ph. J. Stress, anxiété et pathologies médicales. *Collection Médecine et Psychothérapie*, Ed. Masson. (1995): 170.

Shakoori A.R, Rasul Y.G, Ali S.S. The effect of long term administration of dieldrin on biochemical components in blood serum of albino rats. *Folia Biol.* (1984)32(3): 213-222.

Shakoori A.R, Ali S.S, Saleem M.A. Effects of six months' feeding of cypermethrin on the blood and liver of albino rats. *J. Biochem. Toxicol.* (1988) 3:59-71.

Shi H, Sui Y, Wang X, Luo Y, Ji L. Hydroxyl radical production and oxidative damage induced by cadmium and naphthalene in liver of *Carassius auratus*. *Comp. Biochem. Physiol.* (2005) 140 (1): 115–121.

Sies H, Akerboom T.P. Glutathione disulfide (GSSG) efflux from cells and tissues. *Method. Enzymol.* (1984) 105: 445-451.

Sies H. Glutathione and its role in cellular function. *Free Radic. Biol. Med.* (1999) 27(9-10): 916- 921.

Silva H.C, Medina H.S.G, Fanta E, Bacila M. Sublethal effects of heorganophosphate Folidol 600 (methyl parathion) on *Callichthys callichthys* (Pisces: Teleostei). *Comp. Biochem. Physiol.* (1993)105C:197–201.

Simon L.M, László K, Kotormán M, Vértesi A, Bagi K, Nemcsók J. Effects of synthetic pyrethroids and methidation on activities of some digestive enzymes in carp (*Cyprinus carpio L.*). *J. Environ. Sc. Health B.* (1999) 34 (5): 819-828.

Smaga D, Archinard M, Savary P.A. Les états de stress post-traumatique en médecine. *Méd et Hyg.* (1995) 53(2069) :936-942.

Solter V, Thaller V, Karlovic D, Crnkovic D. Elevated serum lipids in veterans with combat-related chronic posttraumatic stress disorder. *Croat. Med. J.* (2002)43:685–689.

Son H-Y, Kim H, Kwon Y-H. Taurine prevent oxidative damage of high glucose-induced cataractogenesis in isolated rat lensens. *J Ntri Sci Vitaminol.* (2007) 53(4):324-330.

Soumis N, Lucotte M, Sampaio D, Almeida D.C, Giroux D, Morais S, Pichet P. Presence of organophosphate insecticides in fish of the Amazon river. *Acta Amazon.* (2003) 33(2): 325–338.

Southwick SM, Krystal JH, Morgan CA, Johnson D, Nagy LM, Nicolaou A, Heninger GR, Charney DS. Abnormal noradrenergic function in posttraumatic stress disorder. *Arch Gen Psychiatry.* (1993)50:266–274.

Stahl W, Sies H. Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes.* (1997)46 (2): S14-S18.

Stein EA.Prevention of heart disease: is LDL reduction the outcome of choice? Absolutely yes.*Value Health.* (1998)1(2):120-4.

Stratakis C.A, Chrousos G.P. Neuroendocrinology and pathophysiology of the stress system. *Ann. NY Acad. Sci.* (1995) 771: 1 – 18.

Suda A.K, Pittman C.S, Shimizu T, Chambers J.B. The production and metabolism of 3,5,3-triiodothyronine and 3,3,5-triiodothyronine in normal and fasting subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* (1978)47(4): 889 –893.

Sunanda B.S, Shankaranarayana R, Raju T.R. Restraint Stress-Induced Alterations in the Levels of Biogenic Amines, Amino Acids, and AchE Activity in the Hippocampus. *Neurochemical Research*. (2000) 25(12):1547-1552.

Surwit R.S, Schneider M.S, Feinglos M.N. Stress and diabetes mellitus. *Diabetes Care*. (1992)15 (10): 1413-1422.

Szafarczyk A, Ixart G, Gaillet S, *et al.* Stress, Données neurophysiologiques. *L'Encéphale*, (1993) XIX : 137-142.

Taylor F, Cahill L. Propranolol for reemergent posttraumatic stress disorder following an event of traumatization: A case study. *J Trauma Stress*. (2002)15(5):433-437.

Tezcan E, Atmaca M, Kuloglu M, Ustundag B. Free radicals in patients with post-traumatic stress disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*.(2003) 253(2):89-91.

Thier R, Bruning T, Roos PH, Rihs HP, Golka K, Ko Y, Bolt HM. Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology: the role of selected CYP, NAT and GST genes. *Int J Hyg Environ Health*. (2003) 206(3):149-71.

Thomas and Labor. Colorimetric method for biological analysis. *Lab. Diag*. (1992) 4:99-115.

Thomas SR, Stocker R. Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation: implications for atherosclerosis. *Free Rad Biol Med*. (2000) 28(12): 1795-805.

Thomas-Antérion C, Truche A. Stress, anxiété et mémoire. *La Revue de Gériatrie*, Octobre (1998) 23 (8) : 723- 728 ;

Tochigi M, Otani T, Yamasue H, Kasai K, Kato N, Sasaki T, Kato T, Iwanami A. Support for relationship between serum cholinesterase and post-traumatic stress disorder; 5-year follow-ups of victims of the Tokyo subway sarin poisoning. *Neuroscience Research*. (2005) 52(2) :129–131.

Torres M.A, Jones J.D.G, Dangl J. L. Reactive Oxygen Species Signaling in Response to Pathogens. *Plant Physiol*. (2006) 141(2): 373–378.

Toxnet. Toxicology Data Network. US. National library of medicine, Bethesda, MD. (1988)
Trevisan M, O'Leary E, Farinara E, Jossa F, Galasso R, Celentano E, Scottoni A, Fusco G, Panico S. Short and long-term association between uric acid and a natural disaster. *Psychosom. Med*. (1997) 59:109-113.

Trinder P. Determination of glucose in blood using oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. Clin.Biochem*. (1969) 6:24-28.

Troxler R.G, Schwertner H. A. Cholesterol, stress, lifestyle, and coronary heart disease. *Aviat. Space Environ. Med*. (1985)56(7):660-5.

Tsuboi H, Tatsumi A, Yamamoto K, Kobayashi F, Shimoi K, Kinai N. Possible connections among job stress, depressive symptoms, lipid modulation and antioxidants. *Journal of Affective Disorders*. (2006)91(1):63-70.

Tuzmen N, Candan N, Kaya E, Demiryas N. Biochemical effects of chlorpyrifos and deltamethrin on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. *Cell Biochem Funct.* (2008) 26(1): 119-124.

Vallee M, Mayo W, Maccari S, Le Moal M, Simon H. Long term effects of prenatal stress and handling on metabolic parameters: relationship to corticosterone secretion response. *Brain Res.* (1996) 712 (2): 287– 292.

Videira R.A, Antunes-Madeira M.C, Lopes V.I, Madeira V.M. Changes induced by malathion, methyl parathion and parathion on membrane lipid physicochemical properties correlate with their toxicity. *Biochim. Biophys. Acta.* (2001)1511(2): 360-368.

Vijayaraghavan M., Nagarajan B. Mutagenic potential of acute exposure to organophosphorus and organochlorine compounds. *Mutat. Res.* (1994) 321(1-2) : 103-11.

Vythilingam M, Anderson GM, Owens MJ, Halaszynski TM, Bremner JD, Carpenter LL, Heninger GR, Nemeroff CB, Charney DS. Cerebrospinal fluid corticotropin-releasing hormone in healthy humans: Effects of yohimbine and naloxone. *J Clin Endocrinol Metab.* (2000)85(11):4138–4145.

Walker C.D, Bodnar M, Forget M.A, Toufexis D.J, Trottier G. Stress et plasticité neuroendocrinienne. *Médecine et Sciences.* (1997) 13(4):509-518.

Wang W, Ballatori N. Endogenous glutathione conjugates: occurrence and biological functions. *Pharm. Rev.* (1998) 50 (3):335-355.

Weckbecker G, Cory J.G. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutthion depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters.* (1988) 40(3): 257-264.

Weichselbaum TE., Amer J. *Clin. Path.* (1946): 16-40.

Wendelaar-Bonga S.E. The stress response in fish. *Physiol. Rev.* (1997) 77(3): 591–625.

Wheelis M et Dando M. « Neurobiology : A case study of the imminent militarization of biology », *International Review of the Red Cross.* Genève. (2005) 859.

Wilhelm-Filho D, Marcon J.L. Antioxidant defenses in fish of the Amazon. In: Val, A.L., Almeida-Val, V.M.F., Randall, D.J. (Eds.), *Physiology and Biochemistry of the Fishes of the Amazon.* INPA, Manaus, Brazil. (1996) 299–312.

Willner P, Towell A, Sampson D, Sophocleous S, Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic mild stress (CMS) and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology.* (1987) 93 : 358– 364.

Wolff S.P, Bascal Z.A, Hunt J.V. "Autoxidative glycosylation ": free radicals and glycation theory. *Prog. Clin. Biol. Res.* (1989) 304: 259-275.

Wolin M.S. Reactive oxygen species and vascular signal transduction mechanisms. *Microcirculation.* (1996) 3 (1): 1-17.

Wright S. Des neurosciences à l'antiterrorisme. Armes de guerre pharmacologiques. Le monde diplomatique. (2007).

Wu Q.D, Wang J.H, Fennessy F, Redmond H.P, Bonchier-Hayes D. Taurine prevents high glucose-induced human vascular endothelial cell apoptosis, *Am. J. Physiol.* (1999) 277:1229-1238.

Yamada H, Chiba A, Endo T, Kobata A, Anderson L V. B, Hori S, Fukuta-Ohi H, Kanazawa S, Campbell K P, Shirnizu T, Matsumura K. Characterization of Dystroglycan- Laminin Interaction in Peripheral Nerve. *J. Neurochem.* (1996) 66 :1518- 1524.

Yarsan E, Tanyuksel M, Celik S, Aydin A. Effects of aldicarb and malathion on lipid peroxidation. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* (1999) 63(5): 575–581.

Yavuz T, Delibas N, Yildirim B, Altuntas I, Candir O, Cora A, Karahan N, Ibrism E, Kutsal A. Vascular wall damage in rats induced by methidathion and ameliorating effect of Vitamins E and C. *Toxicol. Lett.* (2005)155(1):59-64.

Yehuda R, Golier J.A, Halligan S.L, Meaney M, Bierer L.M. The ACTH Response to Dexamethasone in PTSD. *Am.J.Psychiatry.* (2004)161:1397-1403.

Young D, Pestaner L. *Clin. Chem.* (1975) 21: 5.

Yu X, Chen K, Wei N, Zhang Q, Liu J, Mi M. Dietary taurine reduces retinal damage produced by photochemical stress via antioxidant and anti-apoptotic mechanisms in Sprague–Dawley rats. *British Journal of Nutrition.* (2007)98(4):711 -719.

Zastawny T, Dabrowska M, Jaskolski T, Klimarczyk M, Kulinski L, Koszela A, Sliwinska M, Witkowski P, Olinski R. Comparison of oxidative base damage in mitochondrial and nuclear DNA. *Free Radic. Biol. Med.* (1998) 24 (5): 722-725.

Zhang J, Lazar M.A. The mechanism of action of thyroid hormones. *Annu. Rev. Physiol.* (2000) 62:439–466.

Zhang J, Shen H, Wang X, Wu J, Xue Y. Effects of chronic exposure of 2,4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*. *Chemosphere.* (2004) 55(2): 167–174.

Zhang XY, Tan YL, Cao LY, Wu GY, Xu Q, Shen Y, Zhou DF. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different forms of schizophrenia treated with typical and atypical antipsychotics. *Schizophr Res.*(2006)81(2-3):291-300.

Zhu H, Zhou W, Li X.R, Ma T, Ho I.K, Rockhold R.W. Methyl Parathion Increases Neuronal Activities in the Rat Locus Coeruleus. *J Biomed Sci* (2004) 11(6):732–738.

Zoladz P.R, Conrad C.D, Fleshner M, Diamond D.M. Acute episodes of predator exposure in conjunction with chronic social instability as an animal model of post-traumatic stress disorder. *Stress.* (2008)11(4): 259–28