

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THÈSE

En vue de l'obtention
du diplôme de DOCTORAT
En Biologie Animale Environnementale
Option : Ecologie Animale

**Etude des effets protecteurs de la supplementation en
curcumine et en vitamine E sur la cytotoxicité induite
par le diazinon chez le rat de la souche wistar :
impacts biochimique et histopathologique**

Présentée par : M^{me} AMAMRA Wahiba

Directeur de thèse : M. Messarah Mahfoud

Professeur, Université d'Annaba

Membres de Jury:

Président : M. Boulakoud Mohamed Salah

Professeur, Université d'Annaba

Examineurs : M. Khelili Kamel

Professeur, Université d'Annaba

M. Lalaoui Korichi

Professeur, Université de Constantine -1

Année universitaire : 2014 - 2015

Remerciements

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Je tiens particulièrement à remercier mon promoteur, Pr Messarah Mahfoud., Professeur à l'université de Badji Mokhtar –Annaba d' avoir accepté la charge d'être rapporteur de ce mémoire, je le remercie pour sa disponibilité, ses pertinents conseils et pour les efforts qu'il a consenti durant la réalisation de cette thèse. Ce travail témoigne de sa confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles. Il trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de mon respect.

Mes remerciements vont également au Prof. BOULAKOUD Med Salah, notre directeur de laboratoire d'écophysiologie, pour la gentillesse et la patience qu'il a manifesté a mon égard durant cette thèse, pour tous les conseils que j'ai reçus de sa part, et aussi parce qu'il a m'honoré de présider le jury de soutenance.

A cette même occasion je tiens à remercier Professeur KHELILI Kamel, Professeur à l'Université Badji Mokhtar-Annaba., Professeur KORRICHI Lalaoui, Professeur à l'Université de Constantine 01, d'avoir accepté d'évaluer ce travail en dépit de leurs nombreuses autres obligations.

Je tiens à remercier l'ensemble du personnel de laboratoire Ecophysiologie animale, en particulier : Tahar, Rym pour leur disponibilité et les nombreux services qu'il m'ont rendus durant la réalisation de ce travail. Sans oublier mes collègues et surtout Zhour, Alkhansa et Radia.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à l'ensemble du personnel du laboratoire d'anatomie pathologique « Niha » Annaba.

Je voudrais remercier Dr. BOUMENDJEL Amel, je ne saurais jamais la remercier assez pour son aide, sa disponibilité, son soutien morale, sa tendresse et sa sympathie.

J'adresse, enfin et surtout, ma plus profonde gratitude et tout mon amour à ma mère, mon père, mon mari (Imed), mon fils (Abdelmoeiz), ma sœur (Wafa) et mes frères Mohamed et Rafik sans oublier sa femme Naima, qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances, ainsi qu'à tous mes proches amis qui m'ont toujours soutenu et encouragé même dans les périodes les plus difficiles.

À ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans mon travail, je les remercie du fond du cœur.

Résumé :

Le présent travail consiste à analyser d'une part les effets cytotoxiques de diazinon, administré à une dose de 10 mg/kg de poids corporel par voie orale pendant 3 semaines, sur la variation des paramètres hématologiques, biochimiques et sur certains tissus mous notamment le foie, les reins, et le cerveau et d'autre part de tester l'effet protecteur de la supplémentation en vitamine E et/ou en curcumine sur l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induites par le diazinon.

Notre étude expérimentale a été réalisée sur 35 rats mâles répartis en deux groupes : **groupe A** (21 rats) témoin, **groupe B** (14 rats) traité par la curcumine (50 mg/kg dans l'aliment) . Après 30 jours de prétraitement, le groupe (A) est subdivisé en trois sous-groupes de sept rats chacun: sous-groupe (A1 :T) témoin, sous-groupe (A2 : DZN) traité par le diazinon (10 mg/kg de poids corporel), sous-groupe (A3 : DZN + Vit E) traité par le diazinon et la vitamine E (200 mg/kg de poids corporel, par gavage). Le groupe (B) est subdivisé en deux sous-groupes de sept rats, le sous-groupe (B1 : DZN+ Cur) traité par le diazinon plus la curcumine, sous-groupe (B2 : DZN+Cur+Vit E) traité par le diazinon, la curcumine plus la vitamine E. Le traitement est poursuivi pendant trois semaines.

Les résultats obtenus, après l'administration de diazinon montrent que le diazinon a provoqué ; un effet hématotoxique (anémie), néphrotoxique (augmentation de la créatinine sériques), hépatotoxique (augmentation de l'activité enzymatique des transaminases TGO, TGP et de la phosphatase alcaline PAL , une diminution de bilirubine sériques), de plus le diazinon a un effet globalement pro-oxydant, ceci est révélé par la diminution; du taux de glutathion réduit GSH et de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase GPx dans les organes étudiés; foie, reins et cerveau d'une part, et d'autres part, par l'augmentation de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase GST et du taux de MDA (indice de la peroxydation lipidique).

Nos résultats montrent aussi, que la supplémentation en vitamine E et/ou en curcumine aux rats traités par le diazinon a améliorée les perturbations des paramètres étudiés, le statut antioxydant et par conséquent atténuer l'intensité du stress oxydatif induit par le diazinon.

Mots clés : Diazinon ; Stress oxydant ; Antioxydant; Vitamine E ; Curcumine.

Abstract:

The present work is to analyze on the one hand the cytotoxic effects of diazinon, orally administered at a dose of 10 mg/kg of body weight for 03 weeks, on variation in hematological parameters, biochemical and on some soft tissues including the liver, kidney, and brain, and on the other hand, to test the protective effect of vitamin E and/or curcumin supplementation on hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by diazinon.

Our experimental study was conducted on 35 male rats divided into two groups:

Group A (21 rats) witness, **Group B** (14 rats) treated with curcumin (50 mg / kg in the food). After 30 days of pretreatment, the group (A) is subdivided into three subgroups of seven rats each: subgroup (A1 : W) witness, subgroup (A2 : DZN) treated with diazinon (10 mg/kg of body weight), subgroup (A3 : DZN + Vit E) treated with diazinon and vitamin E (200 mg/kg of body weight, by gavage). The group (B) is subdivided into two subgroups of seven rats each, the subgroup (B1 : DZN+ Cur) treated with diazinon plus curcumin, subgroup (B2 : DZN + Cur + Vit E) treated with diazinon, curcumin plus Vitamin E. The treatment is continued for three weeks.

The results obtained after administration of diazinon indicate that diazinon caused; a hematotoxic effect (anemia), nephrotoxicity (increased serum creatinine), hepatotoxicity (increased enzyme activity of transaminases GOT, GPT and alkaline phosphatase PAL, decreased serum bilirubine). Moreover, diazinon has an effect broadly pro-oxidant, this is revealed by the decrease; of glutathione reduced GSH and enzyme activity of glutathione peroxidase GPx in the studied organs (liver, kidney and brain) of a hand, and on the other hand, by the increase; of the enzymatic activity of the glutathione S-transferase GST and MDA level (index of lipid peroxidation).

Our results also show that the supplementation of vitamin E and/or curcumin on rats treated with diazinon improved the disturbances of the parameters studied, the antioxidant status and consequently reduce the intensity of oxidative stress induced by diazinon.

Keywords: Diazinon; Oxidative stress; Antioxidant; Vitamin E; Curcumin.

المخلص:

ترتكز هذه الدراسة من جهة حول تحليل التأثيرات السامة للخلايا عن طريق الدياتينون، المستهلك عن طريق الفم لمدة 03 أسابيع بجرعة قدرها 10 ملغ لكل 1 كغ من وزن الجسم، على تغيرات البيانات الدموية، البيوكيميائية وعلى بعض الأنسجة الرخوة خصوصا الكبد، الكليتين والمخ. ومن جهة أخرى حول اختبار التأثير الوقائي للمكملات الغذائية من فيتامين E و/أو كركم على تسمم الكبد والكليتين الناتج عن استهلاك الدياتينون.

أجريت هذه الدراسة التجريبية على 35 فأر من الذكور موزعة على مجموعتين: المجموعة أ (21 فأر) شاهد، المجموعة ب (14 فأر) معالج بالكركم (50 ملغ/كغ مع الغذاء). بعد 30 يوم من العلاج الأولي، تم تقسيم المجموعة أ إلى 03 مجموعات صغيرة مكونة من 07 فئران لكل مجموعة: المجموعة (أ1 : ش) شاهد، المجموعة (أ2 : ديازينون) معالجة بالدياتينون (10 ملغ لكل 1 كغ من وزن الجسم)، المجموعة (أ3 : ديازينون + فيتامين E) معالجة بالدياتينون والفيتامين E (200 ملغ لكل 1 كغ من وزن الجسم، عن طريق التلقيح). المجموعة ب قسمت إلى مجموعتين صغيرتين مكونة من 07 فئران لكل مجموعة، المجموعة (ب1 : ديازينون + كركم) معالجة بالدياتينون والكركم، المجموعة (ب2 : ديازينون + كركم + فيتامين E) معالجة بالدياتينون، الكركم والفيتامين E. العلاج استمر لمدة 03 أسابيع.

النتائج المحصل عليها بعد استهلاك الدياتينون تبين أن هذا الأخير نتج عنه تسمم في كل من الدم (فقر الدم)، في الكليتين (زيادة نسبة الكرياتينين في مصل الدم)، في الكبد (زيادة النشاط الإنزيمي للمحفزات الأمينية TGO، المحفزات الأمينية TGP وهدامة الفوسفات القلوي PAL، وانخفاض نسبة البيليروبين في مصل الدم). زيادة على هذا، للدياتينون تأثير مؤكسد وهو ناتج عن انخفاض نسبة الجلوتاثيون GSH وانخفاض النشاط الإنزيمي للجلوتاثيون بيروكسيداز GPx داخل الأعضاء التي تمت دراستها من جهة (الكبد، الكليتين والمخ)، ومن جهة أخرى هو ناتج عن زيادة النشاط الإنزيمي للجلوتاثيون أس-ترانسفيراز GST وزيادة نسبة الـ MDA (معامل أكسدة الدهون غير المشبعة).

تبين النتائج كذلك أن المكملات الغذائية من الفيتامين E و/أو الكركم الموزعة على الفئران المعالجة بالدياتينون أدت إلى تحسين الاختلالات في العوامل المدروسة، الوضع الضاد للأكسدة وبالتالي الحد من شدة الإجهاد التأكسدي الناتج عن الدياتينون.

الكلمات المفتاحية: ديازينون، إجهاد تأكسدي، مضاد أكسدة، فيتامين E، كركم.

Liste des abréviations :

ACh	:	Acétylcholine
AChE	:	Acétylcholinestérase
AGPI	:	Acide gras polyinsaturé
ATP	:	Adénosine triphosphate
CAT	:	Catalase
Cur	:	Curcumin
DZN	:	Diazinon
DEM	:	Maléate de diéthyle
ERA	:	Espèces réactives d'azote
ERO	:	Espèces Réactives d'oxygène
GPx	:	Glutathion peroxydase
GSH	:	Glutathion réduit
GSSG	:	Disulfure de glutathion (Glutathion oxydé)
GST	:	Glutathion S-transférase
H₂O₂	:	Peroxyde d'hydrogène
LOO[•]	:	Radical peroxyde
LPO	:	Peroxydation lipidique
MDA	:	Malonedialdéhyde
NADPH	:	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NO	:	Oxyde nitrique ou monoxyde d'azote

$O_2^{\cdot-}$:	Anion superoxyde
1O_2	:	Oxygène singulet
O_3	:	Ozone
$\cdot OH$:	Radical hydroxyle
$ONOO$:	Peroxynitrite
$R\cdot$:	Radical d'acide gras
RO	:	Alcoxyle
ROO	:	Peroxyle
$ROO\cdot$:	Radical peroxyde
$ROOH$:	Hydroperoxyde
SOD	:	Superoxyde dismutase

Liste des tableaux.

Tab. 01: Variation de poids corporel PC (g) chez les rats témoins et les rats traités par diazinon, diazinon+vitamine E, diazinon+ curcumine et à la combinaison (diazinon+ vit E+la curcumine) après 3 semaines de traitement	66
Tab.02: Effets de DZN, Vit E et Cur sur la consommation quotidienne d'aliment et la quantité de DZN digérée au cours 3 semaines de traitement	67
Tab.03: Variation de quelques paramètres hématologiques chez les rats témoins et les rats traités par le DZN, Vit E et la Cur et à la combinaison (diazinon, vitamine E, curcumine après 3 semaines de traitement	69
Tab. 04 : Variation de poids relatif (PR) (g/100g de PC) du foie chez les rats témoins et les rats traités par le DZN et par la combinaison DZN / Cur ou/ et Vit E après 3 semaines de traitement.....	72
Tab.05 : Variation de quelques biomarqueurs sanguins de la fonction hépatique chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	73
Tab.06 : Variation de poids relatif (PR) (g/100g de PC) des reins chez les rats témoins et les rats traités par le DZN et par la combinaison DZN / Vit E et/ou Cur après 3 semaines de traitement.....	87
Tab.07 : Variation de quelques bio marqueurs sanguins de la fonction rénale chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	88
Tab.08: Variation de l'MDA (nmol/mg prot.) et du glutathion réduit (nmol/mg prot.) dans les organes (Foie, reins et cerveau) et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement	94
Tab.10: Activité enzymatique de la GPx (nmol GSH/mg prot), la CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de prot) et la GST (nmol C-DNB/min/mg prot) dans les organes (Foie, reins et cerveau) et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	102

Tab. 11: Variation de poids relatif (PR) (g/100g de PC) du cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....120

Tab.12: Variation de l'activité de l'ACHE au niveau plasmatique chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement..... 121

Liste des figures :

Fig. 1: L'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.....	02
Fig. 2: Voie métabolique de l'oxygène et des ERO.....	02
Fig. 3 : Sources cellulaires de radicaux libres.....	06
Fig. 4 : Systèmes biologiques de défenses anti-oxydantes. Les cellules contiennent un spectre d'anti-oxydants chimique et enzymatique qui travaille de concert pour minimiser les réactions oxydatives dans la cellule.....	11
Fig. 5: Peroxydation des acides gras polyinsaturés. Nature de quelques modifications des chaînes latérales, d'acides aminés des Protéines après attaque radicalaire.....	14
Fig. 6: Principales classes de dommages de l'ADN.....	14
Fig. 7 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire.....	16
Fig. 8: Structure chimique de diazinon.....	18
Fig.9: Métabolisme du diazinon au niveau du foie.....	20
Fig.10 : Mode d'action du diazinon sur les cholinestérases.....	22
Fig. 11 : Structure chimique de la vitamine E.....	24
Fig. 12 : Absorption, transport et distribution de la vitamine E.....	27
Fig. 13 : Régénération de la vitamine E.....	27
Fig. 14 : Mode d'action de la vitamine E.....	29
Fig.15 : Fleure et la racine de la curcumine.....	31
Fig. 16 : Structure chimique de la curcumine.....	31
Fig. 17 : Effets potentiels de la curcumine sur de nombreuses affections.....	33
Fig. 18: les différentes étapes du protocole expérimental utilisé.....	38
Fig.19 : Réaction entre deux molécules d'acide thiobarbiturique et le MDA.....	58

Fig. 20: Réaction d'Ellman.....	58
Fig. 21 : Variation du poids corporel final en (g) des rats témoins et les rats traités après 03 semaines de traitement.....	67
Fig. 22 : Variation du poids absolu du foie en (g) chez les rats témoins et les rats traités après 03 semaines de traitement.....	71
Fig. 23: Variation de la concentration plasmatique en glucose (g/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	77
Fig. 24: Variation de la concentration plasmatique en bilirubine directe (mg/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	77
Fig. 25: Variation de la concentration plasmatique en cholestérol (m mol/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	78
Fig. 26: Variation de la concentration plasmatique en triglycérides (m mol/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	78
Fig. 27: Variation de la concentration plasmatique en protéines totales (g/dl) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	79
Fig. 28: Variation de l'activité enzymatique de l'AST (UI/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	79
Fig. 29 : Variation de l'activité enzymatique de l'ALAT (UI/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	79
Fig. 30 : Variation de l'activité enzymatique du PAL (UI/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	80
Fig. 31: Variation de l'activité enzymatique de l' LDH (UI/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	80
Fig. 32 : Histopathologie du foie chez les rats témoins et les rats traités après 03 semaines de traitement.....	82
Fig. 33 : Variation du poids absolu des reins en (g) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	87
Fig.34 : Variation de la concentration plasmatique en urée (mg/dl) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	90
Fig. 35 : Variation de la concentration plasmatique en acide urique (mg/dl) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	90

Fig. 36 : Variation de la concentration plasmatique en créatinine (mg/dl) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	90
Fig. 37: Histopathologie des reins chez les rats témoins et les rats traités après 03 semaines de traitement.....	92
Fig. 38: Variation du taux du malondialdéhyde dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.....	98
Fig. 39 : Variation du taux du malondialdéhyde dans le cerveau et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.....	99
Fig.40 : Variation de la teneur cellulaire en glutathion dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.....	100
Fig.41 : Variation de la teneur cellulaire en glutathion dans le cerveau et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.....	101
Fig.42 : Variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.....	107
Fig.43: Variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase dans le cerveau et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.....	108
Fig.44 : Variation de l'activité enzymatique de la catalase dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.....	109
Fig.45 : Variation de l'activité enzymatique de la catalase dans le cerveau et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.....	110
Fig.46 : Variation de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.....	111
Fig.47: Variation de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase dans le cerveau et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.....	112
Fig. 48 : Variation du poids absolu du cerveau en (g) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.....	120

Fig.49 : Variation de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase dans le plasma chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.....	122
Fig.50 : Histopathologie du cerveau chez les rats témoins et les rats traités.....	124

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE

PARTIE I : Revue bibliographique

<i>Chapitre I : Le stress oxydatif</i>	01
1 – RADICAUX LIBRES	01
1.1. <i>Définition</i>	01
1.2. <i>Origine des ERO</i>	02
1.3. <i>Nature et sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène</i>	03
1.3.1. <i>Anion superoxyde (O₂⁻)</i>	03
1.3.2. <i>Peroxyde d'hydrogène H₂O₂</i>	04
1.3.3. <i>Radical hydroxyle HO•</i>	04
1.3.4. <i>Oxygène singulet (1O₂)</i>	05
1.4. <i>Principaux antioxydants et leurs fonctions</i>	07
1.4. 1. <i>Superoxyde dismutase</i>	07
1.4. 2. <i>Le système du glutathion</i>	07
1.4. 3. <i>Catalase</i>	09
1.4. 4. <i>Antioxydants exogènes</i>	10
2- LE STRESS OXYDANT	12
2.1. <i>L'oxydation des lipides</i>	12
2.2. <i>L'oxydation de l'ADN</i>	15
2.3. <i>L'oxydation des protéines</i>	15
<i>Chapitre II: Le diazinon (DZN)</i>	17
1 - <i>Définition et structure</i>	17
2- <i>Propriétés chimiques</i>	17
3- <i>Exposition</i>	19
4- <i>Elimination</i>	21
5- <i>Mécanisme d'action</i>	21

<i>Chapitre III : La vitamine E</i>	23
1- Définition	23
2- Propriétés de la vitamine E.....	23
3-Synthèse.....	25
4- Absorption, distribution et excrétion de la vitamine E	25
5- Mode d'action et rôle dans la cellule	28
 <i>Chapitre IV : La curcumine</i>	 30
1- Définition.....	30
2- Propriétés et structure de la curcumine	32
3- Effets potentiels de la curcumine	32
3-1-Activité anti inflammatoire	34
3-2-Activité anti oxydantes.....	34
3-3-Activité anti tumorales	34

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE

<i>MATÉRIELS ET MÉTHODES :</i>	36
 I. TRAITEMENT DES RATS	 36
<i>I-1- Matériel biologique et conditions d'élevage</i>	36
<i>I-2-Traitement des rats</i>	36
 II. PRELEVEMENTS DES ECHANTILLONS	 37
<i>II.1. Prélèvement sanguin</i>	37
<i>II.2. Prélèvement des organes</i>	37
 III. TECHNIQUES DE DOSAGE	 39
III.1. Exploration de la fonction hépatique	39
<i>III.1.1. Dosage du glucose sanguin</i>	39
<i>III.1.2. Dosage de la bilirubine directe plasmatique</i>	40
<i>III.1.3. Dosage du cholestérol plasmatique</i>	41
<i>III.1.4. Dosage des triglycérides plasmatiques</i>	43
<i>III.1.5. Dosage des transaminases plasmatiques</i>	44
<i>III.1.5.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)</i>	44

<i>III.1.5.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)</i>	45
<i>III.1.6. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL) plasmatique</i>	47
<i>III.1.7. Dosage de la lactate déshydrogénase (LDH) plasmatique</i>	48
<i>III.1.8. Dosage des protéines totales plasmatiques</i>	49
III.2. Exploration de la fonction rénale	50
<i>III.2.1. Dosage de l'urée plasmatique</i>	50
<i>III.2.2. Dosage de l'acide urique plasmatique</i>	52
<i>III.2.3. Dosage de la créatinine plasmatique</i>	53
III.4. Exploration du stress oxydant	54
<i>III.4.1. Préparation de l'homogénat</i>	54
<i>III.4.2. Détermination de la peroxydation lipidique (LPO) par le taux du malondialdéhyde (MDA) au niveau tissulaire</i>	54
<i>III.4.3. Détermination du taux de glutathion réduit (GSH) au niveau tissulaire</i>	56
<i>III.4.4. Détermination de l'activité de quelques enzymes antioxydantes au niveau tissulaire</i>	59
<i>III.4.4.1. Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)</i>	59
<i>III.4.4.2. Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST)</i>	60
<i>III.4.4.3. Dosage de l'activité de la catalase (CAT)</i>	61
<i>III.4.5. Dosage des protéines totales au niveau tissulaire</i>	62
<i>III.5. Dosage de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)</i>	62
IV- TECHNIQUE HISTOLOGIQUE	64
V- PRESENTATION DES RESULTATS ET ANALYSES STATISTIQUES	65
<i>Résultats et discussion</i>	66
Chapitre I : Impact de diazinon sur la variation de quelques paramètres physiologiques et hématologiques : Effet protecteur de la supplémentation en vitamine E /et ou en curcumine	66
1. <i>Action sur la croissance corporelle</i>	66
2. <i>Action sur la consommation alimentaire et de l'eau de boisson</i>	67
3. <i>Action sur quelques paramètres sanguins des rats témoins et rats traités après 03 semaines de traiteme</i>	68

Chapitre II : Hépatotoxicité induite par le diazinon: Effet protecteur en vitamine E et la curcumine	71
1. Action sur le poids relatif du foie.....	71
2. Action sur certains biomarqueurs sanguins de la fonction hépatique.....	72
2.1. Concentration plasmatique en glucose	74
2.2. Concentration plasmatique en bilirubine directe.....	74
2.3. Concentration plasmatique en cholestérol.....	74
2.4. Concentration plasmatique en triglycérides.....	74
2.5. Concentration plasmatique en protéines totales.....	75
2.6. Activité des transaminases.....	75
2.7. Activité de la phosphatase alcaline (PAL).....	75
2.8. Activité du lactate déshydrogénase (LDH).....	76
3. Impact sur l'histoarchitecture du foie.....	81
 Chapitre III : Néphrotoxicité induite par le diazinon : Effet protecteur de la vitamine E et la curcumine	87
1. Action sur les poids absolu et relatif des reins.....	87
2. Action sur certains biomarqueurs sanguins de la fonction rénale	88
2.1. Concentration plasmatique en urée et acide urique	88
2.2. Concentration plasmatique en créatinine.....	89
3. Impact sur l'histoarchitecture des reins.....	91
 Chapitre IV : Stress oxydant induit par le diazinon : Effet protecteur de la vitamine E et la curcumine	94
1. Effet sur les taux de MDA et de GSH tissulaires	94
1.1. Malondialdéhyde (MDA)	95
a) Dans le foie.....	95
b) Dans les reins.....	95
c) Dans le cerveau.....	95
d) Dans les érythrocytes.....	96
1.2. Glutathion réduit (GSH)	96
a) Dans le foie.....	96
b) Dans les reins.....	97
c) Dans le cerveau.....	97
d) Dans les érythrocytes.....	97

2. Effet sur l'activité de quelques enzymes antioxydantes tissulaires	102
2.1. Activité de la glutathion peroxydase (GPx)	103
a) Dans le foie.....	103
b) Dans les reins.....	103
c) Dans le cerveau.....	103
d) Dans les érythrocytes.....	104
2.2. Activité de la catalase (CAT)	104
a) Dans le foie.....	104
b) Dans les reins.....	104
c) Dans le cerveau.....	105
d) Dans les érythrocytes.....	105
2.3. Activité de la glutathion S-transférase (GST)	105
a) Dans le foie.....	105
b) Dans les reins.....	106
c) Dans le cerveau.....	106
d) Dans les érythrocytes.....	106
Chapitre V : Impact du Diazinon sur l'activité de l'ACHE : Effet protecteur de la vitamine E et la curcumine.	120
1. Action sur les poids absolu et relatif du cerveau	120
2. Effet sur l'activité de l'ACHE au niveau plasmatique	121
2.1. Activité de l'acétylcholinestérase (AChE)	121
a) Dans le plasma.....	121
3. Impact sur l'histoarchitecture du cerveau	123
Conclusion et perspectives	127
Références bibliographiques	129
Annexe	



Introduction générale

Introduction générale:

Les pesticides, encore appelés produits phytosanitaires, sont des substances chimiques utilisées pour la croissance, la protection et la conservation des végétaux. Avant l'utilisation des produits phytosanitaires, les systèmes de culture étaient conçus pour assurer le meilleur compromis entre le risque phytosanitaire et le potentiel de production de la culture. Cependant, les pertes en rendement des productions agricoles dues aux maladies, aux ravageurs et aux adventices (ou mauvaises herbes) pouvaient atteindre des proportions importantes (Fest et Schmidt, 1973).

Après la seconde guerre mondiale, les pesticides ont permis le développement de l'agriculture et ont contribué à l'augmentation des rendements et à la régulation de la production agricole (International Workshop on Crop Protection Chemistry, 2005).

L'utilisation des produits phytosanitaires a également limitée ou éradiquée un certain nombre de maladies parasitaires très meurtrières. Cependant, aujourd'hui, les pesticides sont soupçonnés de présenter un risque pour la santé de l'homme et pour son environnement. Ils sont en effet fréquemment mis en cause dans la dégradation de la qualité des eaux douces souterraines et des eaux côtières, dans la réduction de la biodiversité terrestre constatée dans les zones agricoles et dans les milieux "naturels". Par ailleurs, de nombreuses études épidémiologiques suggèrent une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies dans les populations concernées. Des effets cancérigènes, neurotoxiques ou de type perturbation endocrinienne des pesticides ont été mis en évidence chez l'animal.

Parmi les pesticides usuels, les insecticides sont largement utilisés en agriculture (Nathalie et Frédéric, 2004). Le ***diazinon*** (DZN) est un insecticide organophosphoré utilisé partout dans le monde sur toutes sortes de cultures. Il sert notamment à protéger les fruits, les vignes, le houblon, les légumes, les céréales.....etc (Harper et al., 2009). Pendant ces deux décennies, la recherche toxicologique s'est concentrée sur l'induction du stress oxydant (SO) après l'exposition aux pesticides comme mécanisme possible de la toxicité. Suite à plusieurs études, les pesticides notamment les insecticides, avec de telles propriétés, ont été montrés pour causer la surproduction d'espèces réactives oxygénées (ERO) dans les espaces intra et extracellulaires, ayant pour résultat la perturbation d'équilibre peroxydant/antioxydant cellulaires induisant de ce fait un état de stress

oxydant. Quand la formation de ces ERO surpasse la capacité de balayage par les défenses antioxydantes, les radicaux libres nocifs accumulent et augmentent la probabilité des dommages oxydants aux biomolécules critiques tels que les enzymes, les protéines, les lipides membranaires et l'ADN.

La toxicité des insecticides est principalement due à l'inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) (Raymond., 2006), enzyme impliquée dans la régulation de la neuro-transmission, par hydrolyse du neurotransmetteur l'acétylcholine (ACh). Toutefois, des études récentes ont montré que le stress oxydant pourrait être impliqué dans le mécanisme de toxicité des insecticides. En effet, ces composés peuvent induire un stress oxydant entraînant la génération des radicaux libres et l'altération du statut antioxydant (Kalender et *al.*, 2005). D'autres organes pourraient être affectés par l'intoxication aux insecticides à savoir le cerveau, les reins (Kalender et *al.*, 2007) et le foie (Kalender et *al.*, 2005) et d'autres systèmes.

Les antioxydants vitaminiques peuvent empêcher la formation non contrôlée des radicaux libres ou leur réaction aux sites biologiques et également leur destruction pour prévenir l'oxydation des antioxydants endogènes principalement par le balayage et la réduction de ces molécules. La vitamine E, en tant d'antioxydant hydrosoluble majeur, est rapporté à neutraliser les ERO et réduire les dommages oxydants.

La curcumine (curcumin en anglais) est extraite des rhizomes du curcuma et est généralement considérée comme son composé le plus actif, Elle est à l'origine, avec les autres curcuminoïdes, de la couleur jaune du curcuma et du curry dont elle entre dans la composition. Elle est utilisée dans la médecine traditionnelle indienne pour accélérer la cicatrisation des plaies, pour résoudre des désordres biliaires et hépatiques mais aussi pour la toux, les rhumatismes, les sinusites, l'anorexie et les cancers (Chattopadhyay *et al.*, 2004 ; Sanders, 2003).

Nous avons choisi pour notre étude deux antioxydants, la vitamine E et la curcumine, à cause de leur large répartition dans les pays d'Afrique du nord et leur grande utilisation en médecine populaire.

C'est ainsi que nous nous sommes intéressés à entreprendre ce travail qui a pour objectif d'étudier le stress oxydant induit par un insecticide organophosphoré, le diazinon

chez le rat et de tester les effets modulateurs de deux antioxydants, la vitamine E et la curcumine.

Cette étude est subdivisée en deux parties essentielles, la première partie présente une synthèse bibliographique dans laquelle nous apportons un premier chapitre qui traite les effets du stress oxydant sur les macromolécules (lipides, protéines, polysaccharides et acides nucléiques) et ainsi que le mécanisme de défense contre ce stress, un second chapitre qui consiste à étudier des généralités sur le diazinon et leur toxicité. Le troisième et le quatrième chapitre, sont consacrés à l'étude de la vitamine E et la curcumine, respectivement.

La deuxième partie expérimentale, réparti en cinq chapitres dans ce mémoire, consiste à analyser les effets modulateurs de la supplémentation en vitamine E et/ou en curcumine sur le stress oxydant induit par le diazinon au niveau de certains organes mous notamment le cerveau, les reins et le foie. L'influence des différents traitements ont été analysés par :

- ✓ L'évaluation de certains facteurs de croissance chez les rats wistar.
- ✓ L'évaluation de certains paramètres sanguins chez les rats wistar.
- ✓ L'évaluation de certains paramètres biochimiques et métaboliques.
- ✓ L'exploration du profil du stress oxydant hépatique, rénal et cérébral.
- ✓ L'étude histopathologique au niveau de certains organes et les érythrocytes.

Et enfin, nous discuterons l'ensemble de résultats obtenus dans ce manuscrit, et on suggère quelques perspectives à ce travail de recherche.



Revue Bibliographique

Partie I : Revue bibliographique

Chapitre I : Le stress oxydatif

1 - Radicaux libres :

1.1. Définition :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (non apparié) sur leur couche externe et capables d'existence indépendante (Halliwell et Gutteridge, 1989). Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives d'azote ERA). La présence d'un électron libre confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices. De part sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner en stabilité (Delattre et *al.*, 2005).

1.2. Origine des espèces réactives de l'oxygène ERO :

La molécule de dioxygène est en réalité bi-radicalaire. Elle possède, en effet, deux électrons célibataires sur des orbitaux différents. Le dioxygène est susceptible de récupérer quatre électrons, mais ses capacités oxydantes sont limitées par une barrière cinétique importante. En présence de rayonnements, de métaux ou d'enzymes, il est capable de capter un électron pour donner le radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) qui est un radical modérément réactif (Ji, 1998). Ce radical est le substrat d'enzymes essentielles le superoxyde dismutases (SOD), qui le transforment en eau oxygénée H_2O_2 .

L'eau oxygénée peut avoir plusieurs destinées. En présence de métaux, en particulier de fer (Fe^{+2}), elle est transformée en radical hydroxyl ($\bullet OH$) par la réaction de Fenton.

Ce dernier est extrêmement réactif et va oxyder très rapidement les molécules voisines, formant parfois d'autres radicaux libres (Morel et Barouki, 1999 ; Vergely et *al.*, 2003)

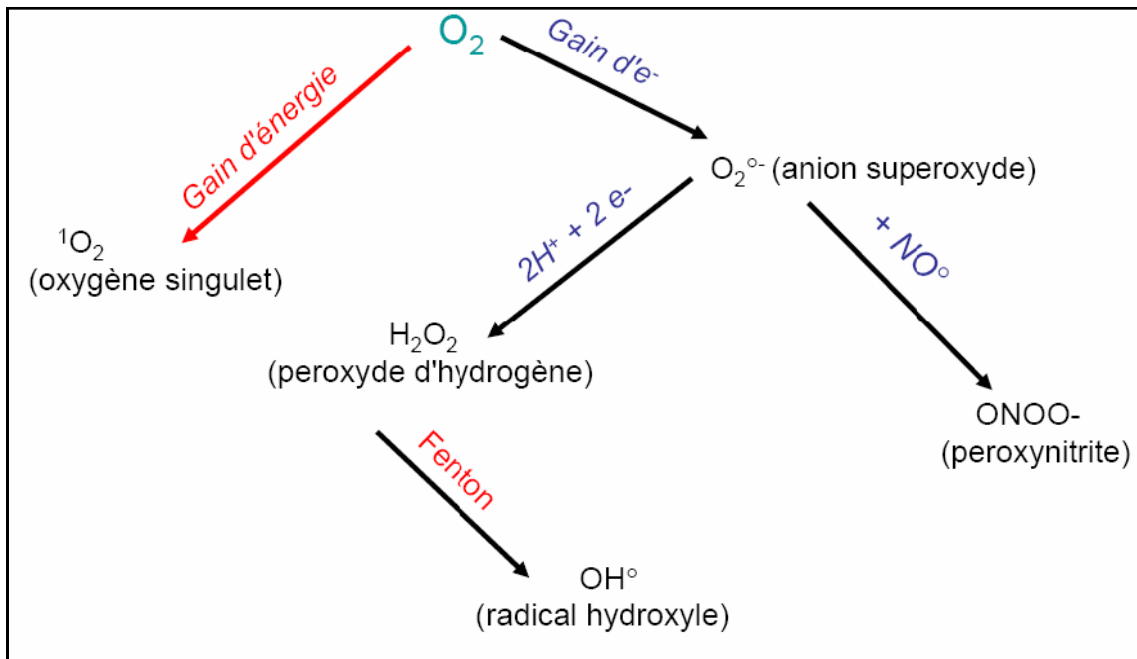


Fig. 1: L'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Amara, 2007).

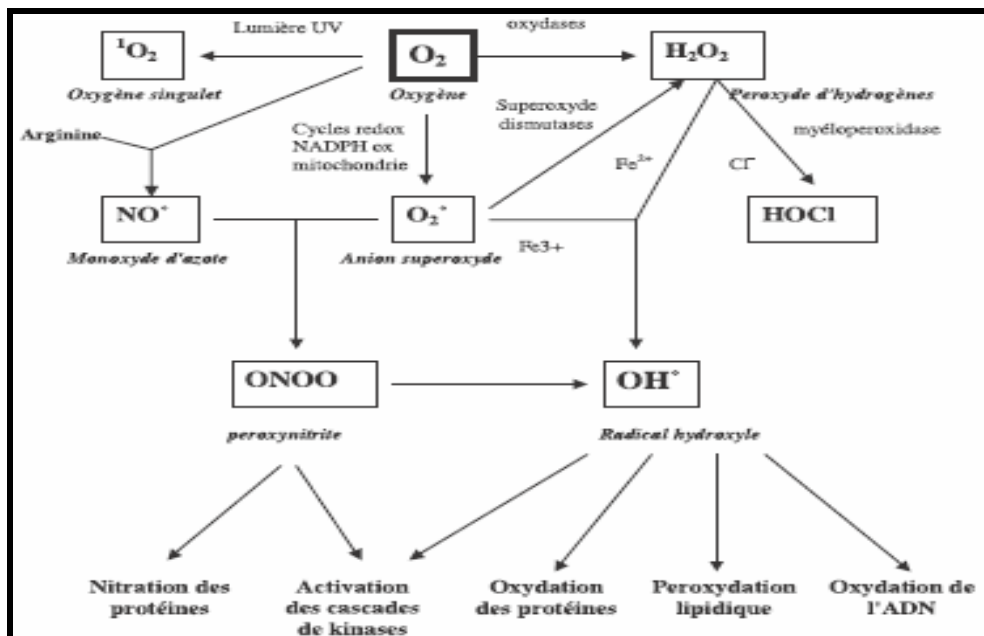


Fig. 2: Voie métabolique de l'oxygène et des ERO (Favier, 2003)

Les ERO peuvent être produites par des agents physiques comme les rayonnements, des réactions chimiques et surtout enzymatiques. En effet, toute réaction impliquant de l'O₂ et un système réducteur de transfert d'électrons est susceptible de libérer des ERO. C'est ainsi que la chaîne respiratoire provoque une libération importante d'ERO, mais dont l'intensité demeure controversée. D'autres activités enzymatiques fournissent aussi des ERO, notamment les NADPH oxydases au cours de l'inflammation et les cytochromes P450 au cours de la détoxification des xénobiotiques. Ainsi, la mitochondrie, la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération d'ERO (Barouki et Morel, 2001).

Il existe, dans la cellule, d'autres oxydants très puissants, qu'ils soient des radicaux libres ou non. Par exemple, des oxydants chlorés (HOCl) sont libérés par les macrophages et ont une activité bactéricide importante. Par ailleurs, le monoxyde d'azote (NO) est un radical libre qui est surtout réputé pour ses propriétés physiologiques. Or, le NO interagit avec l'anion superoxyde pour donner le peroxyde d'azote, composé extrêmement réactif et toxique. NO et peroxyde d'azote interagissent avec des protéines et peuvent altérer leurs propriétés. D'autres molécules comme les hydroquinones se retrouvent sous forme de radicaux libres après leur réaction avec le radical •OH. Elles sont ainsi susceptibles de diffuser dans la cellule et d'oxyder d'autres molécules à distance, propageant ainsi une chaîne de réactions radicalaires (Beaudeau et Vasson, 2001).

1.3. Nature et sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène :

1.3.1. Anion superoxyde (O₂^{•-}) :

Espèce la plus couramment générée par la cellule, par réduction d'une molécule d'O₂. Cette réaction semble surtout catalysée par des NADPH oxydases membranaires (Wolin, 1996). L'O₂^{•-} 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 (Wolin, 1996), et les mitochondries où 2% à 5% d'oxygène consommé est transformé en radicaux superoxydes (Favier, 2003).

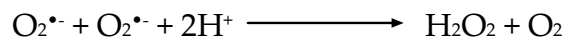
L'O₂^{•-} est relativement stable, peu toxique pour l'organisme. Cette faible réactivité permet d'ailleurs son utilisation par l'organisme comme médiateur régulant des fonctions biologiques (Favier, 2003). Mais il est à l'origine de cascades de réactions conduisant à la

production de molécules très nocives. Il est régulé par des enzymes, les superoxydes dismutases qui catalysent sa dismutation (Halliwell, 1989).

1.3.2. Peroxyde d'hydrogène H₂O₂ :

Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ est une molécule stable, mais diffusable et avec une durée de vie compatible avec une action à distance de son lieu de production (Mc Cord, 1993). Il est généré dans le peroxysome, les microsomes et les mitochondries (Nohl et al., 2004) par une réaction de dismutation (Ramirez et al., 2008).

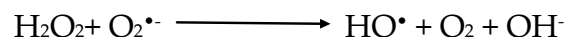
Réaction de dismutation :



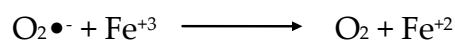
La dismutation de O₂^{•-} spontanée ou catalysée par les superoxydes dismutases est la source majeure de l' H₂O₂. L' H₂O₂ n'est pas un radical libre mais a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs. En présence de métaux de transition (fer et cuivre), l' H₂O₂ donne naissance via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle HO[•] hautement réactif (Wardman et Candeias, 1996). Contrairement à l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène est capable de traverser les membranes des cellules et des organites cellulaires pour engendrer des dommages loin de son site de production (Halliwell et Gutteridge, 1996).

1.3.3. Radical hydroxyle HO[•] :

Le radical hydroxyle peut être induit par la réduction de l' H₂O₂ selon la réaction d'Haber-Weiss engendrant alors un ion OH⁻ inoffensif et un radical hydroxyle HO[•] (Comhair et Erzurum, 2002).



Cette réaction est lente et probablement inopérante dans les tissus vivants. Mais en revanche, en présence de métaux de transition (fer, cuivre), l' H₂O₂ donne naissance in vivo via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle HO[•] hautement réactif (Goldstein et al., 1993).



Le radical hydroxyle $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{+2} \longrightarrow \text{OH}^- + \text{HO}^{\bullet} + \text{Fe}^{+3}$ capacité à diffuser

restreint, il est capable de réagir très rapidement avec la plupart des molécules biologiques

comme l'ADN, les protéines, les sucres et les lipides membranaires. Le radical hydroxyle intervient soit par l'arrachement d'un hydrogène soit par une réaction d'addition (Delattre et *al.*, 2005). Parmi les ERO le radical hydroxyle est de loin le plus réactif. Le radical $O_2^{\bullet-}$ a une demi vie plus longue et bien qu'il soit moins réactif il est aussi délétère que le radical HO^{\bullet} (Delattre et *al.*, 2005).

1.3.4. Oxygène singulet (1O_2) :

Forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité (Delattre et *al.*, 2005). Le radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et le radical hydroxyle HO^{\bullet} sont encore appelés espèce réactive de l'oxygène (ERO) car ces espèces sont beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance. Toutefois, il existe d'autres ERO tels que les radicaux peroxydes ROO^{\bullet} , hydroperoxydes RO_2H ainsi que les radicaux alkoxydes RO^{\bullet} , et des espèces réactives d'azote (ERN) tels que le $\bullet NO$, produit par le NO synthétase, qui est un vasodilatateur physiologique et le peroxynitrite $ONOO^-$ issu de la réaction entre $O_2^{\bullet-}$ et le $\bullet NO$, et qui est très néfaste pour les protéines et les gènes (Delattre et *al.*, 2005).

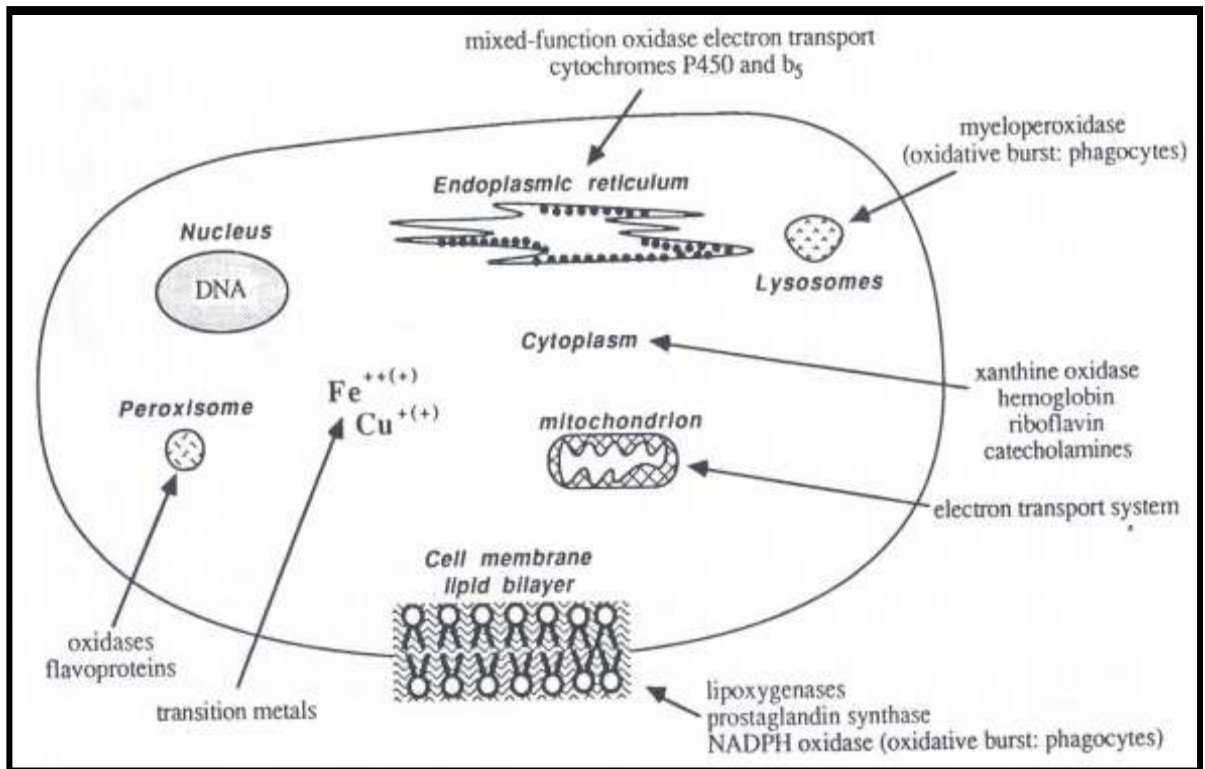


Fig. 3 : Sources cellulaires de radicaux libres (d'après Kehrer, 1993).

1.4. Principaux antioxydants et leurs fonctions :

Afin de contrôler les niveaux d'oxydants cellulaires, divers antioxydants enzymatiques et non enzymatiques existent. Ceux-ci aident à neutraliser les radicaux libres et les divers peroxydes, modulant ainsi les effets de ces oxydants sur les fonctions cellulaires et la peroxydation des macromolécules. Les antioxydants enzymatiques et les thiols, tels que le glutathion, se retrouvent dans divers tissus, principalement au niveau du foie, sang, cerveau, et muscle (Vincent et Taylor, 2006).

1.4. 1. Superoxyde dismutase :

C'est l'enzyme permettant de dismuter plus facilement deux ions ($O_2^{\bullet-}$) en (H_2O_2) et ainsi prévenir la formation de ($ONOO^-$) suite à la combinaison de ($O_2^{\bullet-}$) avec le ($\bullet NO$). Il existe trois formes de superoxyde dismutase (SOD), soient la forme mitochondriale nécessitant le manganèse comme cofacteur (Mn-SOD), ainsi que la forme cytosolique (CuZn-SOD) et extracellulaire (EC-SOD) nécessitant le cuivre et le zinc comme cofacteurs. C'est toutefois le cuivre qui participe à la réaction d'oxydoréduction pour la (CuZn-SOD) et (EC-SOD.) Chez l'humain, l'EC-SOD est davantage exprimée dans le coeur, le placenta, le pancréas et les poumons, suivi des reins, du muscle squelettique et du foie (Folz et Crapo, 1994).

Les deux autres SOD seraient exprimées dans la plupart des tissus. La Mn-SOD serait très importante physiologiquement puisqu'elle est la première ligne de défense contre le stress oxydant ($O_2^{\bullet-}$ mitochondriale). De plus, la Mn-SOD serait grandement impliquée dans le rhéostat du potentiel redox de la cellule en influençant les concentrations de ($O_2^{\bullet-}$) et de H_2O_2 cellulaires (Buettner et *al.*, 2006). Elle serait davantage exprimée lors d'un stress oxydant, mais son activité serait affectée par la présence de ($ONOO^\bullet$) (Macmillan-Crow, 2001).

1.4. 2. Le système du glutathion :

Le glutathion (GSH) est un antioxydant non enzymatique synthétisé à partir de la cystéine, du glutamate et de la glycine et nécessite de l'ATP (Lu, 1999). Elle se fait en deux étapes où la première est l'étape limitante catalysée par la γ -glutamylcystéine synthétase. Le GSH exerce une rétro-inhibition sur la γ -glutamylcystéine synthétase (Huang et *al.*, 1988) et l'activité de cette dernière va aussi dépendre de la disponibilité de la cystéine (Lu, 1999).

La deuxième étape de la synthèse du GSH est catalysée par la GSH synthétase et n'est pas rétro-inhibée par le GSH. Le taux de synthèse hépatique en GSH dépend du taux de GSH exporté via divers systèmes de transport, soit dans le plasma, la bile et la mitochondrie (Ookhtens et Kaplowitz, 1998). Il s'est avéré, sur des hépatocytes de rat cultivés *in vitro*, que l'expression de la γ -glutamylcystéine synthétase peut être augmentée en présence d'un stress oxydant induit par le DEM (maléate de diéthyle; se conjugue au GSH) et le TBH (tert-butylhydroperoxyde; favorise la formation de GSSG par la GSH-Px) (Cai *et al.*, 1997) et ainsi permettrait d'augmenter la synthèse de GSH.

On peut retrouver le glutathion sous deux formes, soit la forme thiol-réduite (GSH) ou bien sous la forme oxydée où une molécule de GSH peut se fixer à un thiol d'une autre molécule (R-SSG) ou d'un autre GSH (GSSG). Cette dernière forme oxydée se retrouve sous forme disulfure suite à la réduction du H₂O₂ et d'autres peroxydes en eau (ROOH ou H₂O₂ + 2GSH → 2 H₂O + GSSG) et ce, aux niveaux cytosolique et mitochondrial (Lu, 1999 ; Fernandez-Checa et Kaplowitz, 2005 ; Gallogly et Mielal, 2007).

La glutathion peroxydase (GSH-Px), une sélénoprotéine, catalyse cette dernière réaction qui s'effectue en diverses étapes :

- le sélénate actif (Se⁻) du GSH-Px devient oxydé en acide sélénique (SeOH) par le peroxyde,
- il forme ensuite un adduit avec un GSH (SeSG) et revient sous sa forme d'origine en ajoutant un second GSH pour former le GSSG (Nordberg et Arner, 2001).

Le GSSG peut être réduit en GSH via la glutathion réductase (GSSG-R), une flavoprotéine, et ce, à l'aide du NADPH comme cofacteur : la flavine (sous forme de flavine adénine dinucléotide; FAD) de l'enzyme est réduite par deux électrons provenant du NADPH, ce qui permet de réduire l'enzyme au niveau de son disulfure juxtaposé au FAD et de transférer ceux-ci à une molécule de GSSG afin de la réduire en deux molécules de GSH (Pai et Schulz, 1983). Ainsi, le système de glutathion permet de maintenir les réserves de GSH à des niveaux normaux afin qu'il puisse exercer pleinement ses fonctions (Lu, 1999).

En période de stress oxydant, où divers peroxydes peuvent être formés, les concentrations de GSSG augmentent et créent une hausse du statut redox de la cellule (statut plus oxydé) (Schafer et Buettner, 2001). Cette condition a elle-même des conséquences puisque le GSSG peut se lier avec des groupements thiols de diverses protéines (protéine-SSG; glutathionylation) et modifier leur activité (Lu, 1999; Schafer et Buettner, 2001).

Il est aussi possible d'exporter le GSSG vers le milieu extracellulaire afin de rétablir le statut redox de la cellule, et ce, seulement si la cellule parvient à synthétiser du GSH afin de pallier la baisse des réserves en glutathion total (GSH et GSSG) (Lu, 1999). Toutefois, il semblerait que la glutathionylation avec le GSSG arrive peu dans les conditions *in vivo* puisque les niveaux de GSSG doivent être plus élevés que dans les conditions physiologiques (Gallogly et Mieyal, 2007). En contrepartie, la glutathionylation des protéines survient davantage à la suite de l'atteinte des thiols des protéines par des ROS/RNS et qui nécessiteront ensuite le GSH pour les glutathionyler. La glutathionylation est réversible en présence de GSH et elle est catalysée principalement par la glutaredoxin (protéine-SSG + GSH → protéine-SH + GSSG), ce qui rétablit les fonctions normales de la protéine (Lu, 1999; Gallogly et Mieyal, 2007 ; Thomas, 2006).

Le GSH possède plusieurs autres fonctions, dont la détoxification des xénobiotiques et de leurs métabolites via la glutathion S-transférase. Il est aussi utile pour stocker la cystéine au foie et d'être relâché dans la circulation, et ce, afin de fournir la cystéine aux autres tissus via la γ -glutamyltransférase (libère la cystéine du GSH) qui est située à la membrane externe des cellules (Lu, 1999; Tateishi et *al.*, 1977).

1.4. 3. Catalase :

Cette enzyme permet de transformer le H_2O_2 en eau et oxygène ($H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$). La catalase possède des groupements hèmes où le fer permet de catalyser la réaction. Tout comme le système du glutathion, la catalase prévient l'accumulation de H_2O_2 pour former le $(OH\bullet)$. Cette enzyme est surtout présente dans les peroxysomes, là où le H_2O_2 est formé en grande quantité lors de l'oxydation des acides gras (Bonfont-Rousselot et *al.*, 2003).

1.4. 4. Antioxydants exogènes :

Une bonne partie des antioxydants non enzymatiques est obtenue par les aliments (exogènes), notamment par la consommation de fruits et de légumes de même qu'en suppléments nutritionnels. Ils permettent de renforcer les défenses antioxydantes endogènes (glutathion et enzymes).

La vitamine C est un antioxydant hydrosoluble qui réduit les superoxydes (O_2^{\bullet}), les radicaux hydroxyles ($\bullet OH$) et les peroxydes (ROO^{\bullet}). Elle devient donc oxydée à son tour et est ensuite réduite par le système du glutathion. Elle se retrouve en grande concentration dans le foie, le cerveau, la rate, le pancréas et les glandes hypophysaires et surrénales (Vincent et Taylor, 2006).

La vitamine E est un puissant antioxydant liposoluble et, bien qu'elle existe sous diverses formes dans les aliments (α -, β -, γ -, δ -tocophérols et -tocotriénols), c'est la forme α - tocophérol qui est la plus répandue in vivo puisque la protéine de transfert du tocophérol (α -TTP) hépatique, permettant de véhiculer le tocophérol vers le plasma, a plus d'affinité avec l' α -tocophérol qu'avec les autres formes de vitamine E (Traber et *al.*, 2006). Cette vitamine réduit les radicaux peroxydes et hydroxydes en leur livrant un électron, ce qui permet d'empêcher et d'arrêter le processus de peroxydation des lipides et d'autres molécules. La vitamine E devient donc oxydée et sera réduite à l'aide de la vitamine C afin de retrouver son pouvoir antioxydant. Elle se retrouve dans les lipoprotéines, les membranes cellulaires et les fluides extracorporels (Vincent et Taylor, 2006).

Les carotènes sont la seule forme de vitamine A possédant un pouvoir antioxydant et d'origine végétale seulement. Ils sont liposolubles et se retrouvent dans les membranes cellulaires des tissus et les lipoprotéines (Stahl et Sies, 2003). La forme la plus connue est le β -carotène, sans parler des autres de plus en plus étudiées lycopène, lutéine et zéaxanthine. Le β - carotène réagit davantage avec l'oxygène singulet (1O_2 : oxygène excité), un autre type de ROS, ainsi que les radicaux peroxydes (Stahl et Sies, 2003). Évidemment, bien d'autres antioxydants se retrouvent dans les aliments, notamment les polyphénols et les diverses formes de caroténoïdes.

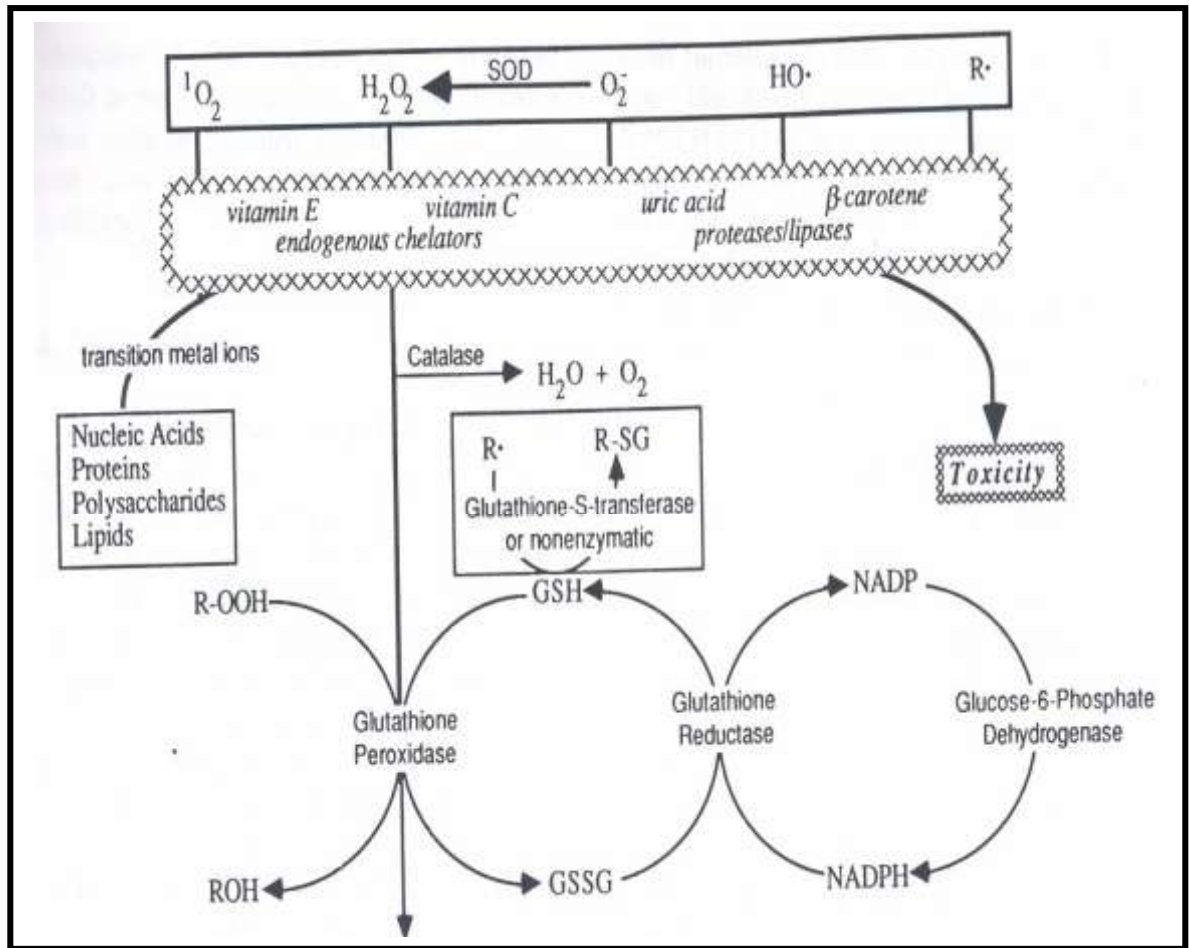


Fig. 4 : Systèmes biologiques de défenses anti-oxydantes.

Les cellules contiennent un spectre d'anti-oxydants chimique et enzymatique qui travaille de concert pour minimiser les réactions oxydatives dans la cellule.

(D'après Kehrer, 1993).

2- LE STRESS OXYDANT :

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production des ERO, en faveur de ces dernières. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, tels que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (Favier, 1997). Ce déséquilibre entre les systèmes de défense et de production des radicaux libres entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organisme du fait de leurs conséquences sur le plan moléculaire, telles que les altérations au niveau des protéines, l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique. (Favier, 1997).

2.1. L'oxydation des lipides :

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des ERO 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. 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^\bullet) à partir d'un acide gras (RH) par soustraction d'un atome d'hydrogène provenant d'un groupement méthylène $-CH_2-$ bis allylique. Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que le $\bullet OH$ et le HOO^\bullet .

Le radical lipidique R^\bullet subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical avec une structure de diène conjugué, plus stable, qui peut réagir avec une molécule d' O_2 et former un radical peroxyde (ROO^\bullet) (Esterbauer et al., 1997). Ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un hydrogène à un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction. Il est généralement admis que chaque radical R^\bullet peut être à l'origine d'une centaine de molécules d'hydroperoxyde avant que survienne la phase de terminaison. L'hydroperoxyde lipidique ($ROOH$) formé peut être oxydé en présence de métaux de transition divalents de Fe^{2+} ou Cu^{2+} et entraîner la formation d'alcalanes et d'aldéhydes toxiques dont le malonyldialdéhyde (MDA) ou le 4-hydroxynonanal (4-HNE).

La réaction en chaîne peut être 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 (Delattre et *al.*, 2005).

La peroxydation de lipides fournit ainsi une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malonyldialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE) ont été étudiés comme marqueur de la peroxydation lipidique (Delattre et *al.*, 2005).

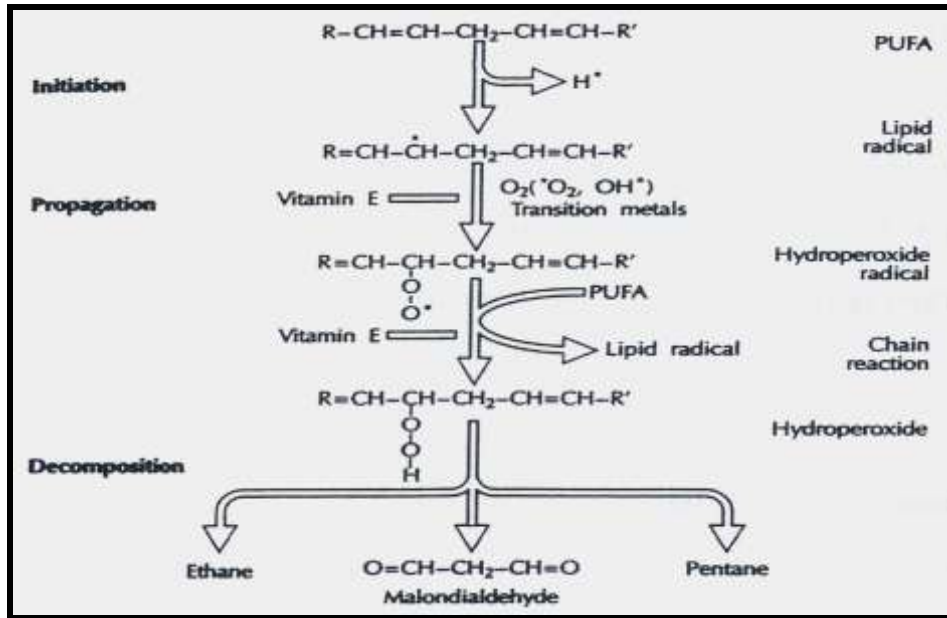


Fig. 5: Peroxydation des acides gras polyinsaturés.

Nature de quelques modifications des chaînes latérales, d'acides aminés des Protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

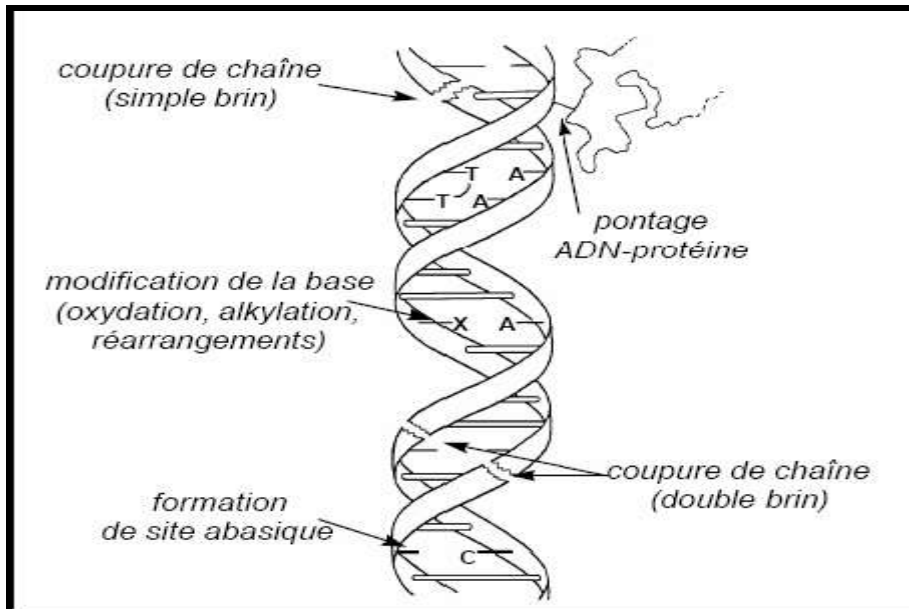


Fig. 6: Principales classes de dommages de l'ADN (Favier, 2003)

2.2. L'oxydation de l'ADN :

Les ADN nucléaires et mitochondriaux constituent une cible cellulaire importante. Cinq classes principales de dommages oxydatifs de l'ADN médiés par OH[•] peuvent être générées. Parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténaux, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines (Cadet et *al.*, 2002). Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation. L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées. Mais le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin.

Des dommages indirects peuvent résulter de l'attaque des lipides dont la peroxydation génère des aldéhydes mutagènes, formant des adduits sur les bases de l'ADN de type MDA-guanine ou éthénodérivés.

2.3. L'oxydation des protéines :

Les modifications oxydatives des protéines par les ERO provoquent l'introduction d'un groupement carbonyle dans la protéine (Levine, 2002). Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Fe²⁺ ou le Cu²⁺. Les réactions d'oxydation de protéines peuvent être classées en deux catégories d'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE. De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées (Levine, 2002) et 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 GSH ou de certaines protéines. Le rôle des protéines dans la cellule est tel que leur dysfonctionnement peut bouleverser le fonctionnement cellulaire (enzymes, protéines structurales) (Delattre et *al.*, 2005).

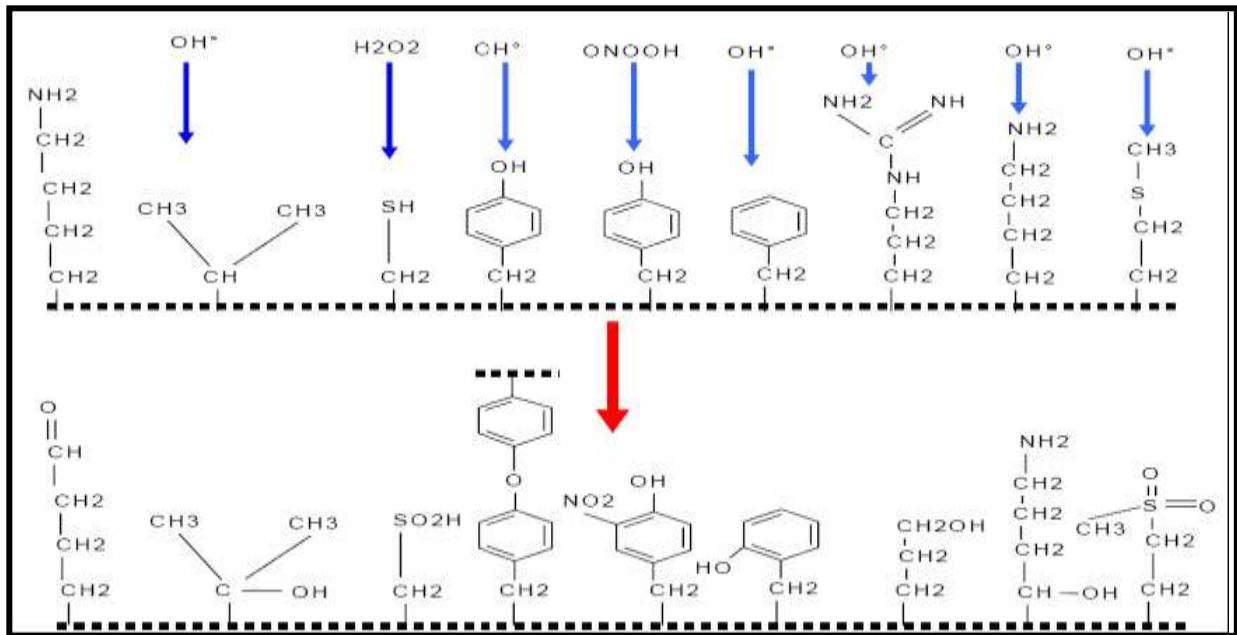


Fig. 7 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire. (Favier, 2003)

Chapitre II: Le diazinon (DZN)

1 -Définition et structure :

Le diazinon est un insecticide organophosphoré et acaricide, développé dans le début des années 1950 par Novartis (Uner et *al.*, 2005). Le diazinon ($C_{12}H_{21}N_2O_3PS$) est utilisé pour lutter contre les insectes nuisibles dans le sol et la maison (Suw Young, 2008; Archana et *al.*, 2011; Who, 1998; Sylvain, 2006), ainsi que les insectes suceurs et broyeurs et les acariens dans une grande variété de cultures. Il est aussi utilisé comme ectoparasiticide (Harper et *al.*, 2009).

La structure chimique est constituée d'un dérivé hétérocyclique, dont son composition en atomes de soufre et d'azotes (Bloomquist in Bourg, 2006; Schmiatt, 2005).

2- Propriétés chimiques :

Le diazinon se présente sous la forme d'un liquide d'une couleur tene à brun, pale avec une légère odeur caractéristique, il est généralement peu volatile, très peu hydrosoluble mais très liposolubles, surtout dans la majorité des solvants organiques (Schmiatt, 2005; Testud et *al.*, 2001). Le diazinon nommé aussi phosphothioate (*O,O*-diéthyl-*O*-(2-isopropyl-6-Méthyl-4-Pyriminyl) (FAO/OMS, 1970) c'est la structure la moins toxique.

Le diazinon n'est pas très persistant dans le sol où sa dégradation chimique et biologique est rapide (NAS, 1977). La demi-vie du diazinon dans le sol varie de 21 à 80 jours, selon le type de sol, sa teneur en eau, l'activité des microorganismes et la concentration du pesticide (FAO/OMS, 1970). On ne considère pas que le diazinon soit une substance ayant beaucoup tendance à la lixiviation. Le diazinon est hydrolysé lentement dans l'eau en isopropyl-2 méthyl-6 hydroxy-4 pyrimidine, une substance moins toxique (USA et EPA, 1985; FAO/OMS, 1970).

La demi-vie du diazinon est de 185 jours dans des eaux neutres (pH 7,4), de 5 jours à un pH de 3,14 et de six jours à un pH de 10,9 (NAS, 1977).

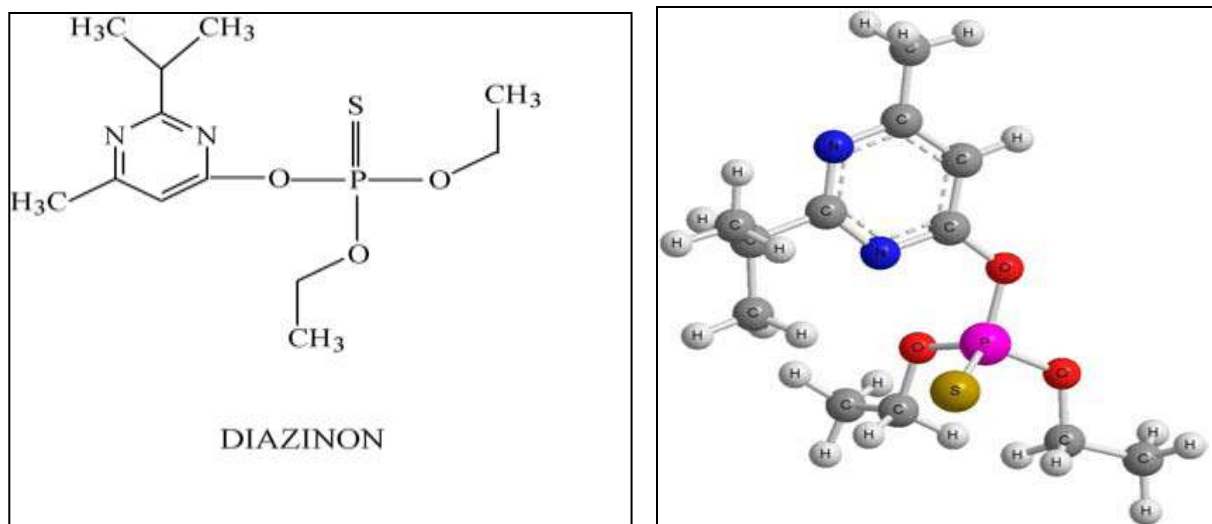


Fig. 8: Structure chimique de diazinon

(Bloomquist in Bourg., 2006; Harper et al., 2009).

3- Exposition :

Le diazinon est absorbé facilement par le tube digestif et il est métabolisé rapidement en quelques heures (FAO/OMS, 1970), Après absorption, le diazinon et grâce à son caractère liposoluble, qui lui permet de traverser la barrière hémato méningée, se concentre dans tous les tissus, surtout dans le foie, les reins, le tissu adipeux et le cerveau (Testud et *al.*, 2001). Il est essentiellement transformé dans le foie en présence du cytochrome P450 (Testud et *al.*, 2001), et catalysée par les oxydases microsomiales, en métabolites plus toxique principalement le diazoxon (ou les groupements thiophosphates P=S subissent une activation métabolique en oxons P=O), en hydroxydiazinon (ou le carbone secondaire de la fraction isopropyle est hydroxylé), ou bien en isohydroxydiazinon (ou le méthyle substituant le cycle aromatique est hydroxylé) (Pillière et *al.*, 1995).

Toutefois, le diazinon et le diazoxon sont détoxifiés par la paraoxanase 1-arylestérase (PON1), qui subit d'abord, une hydrolyse en 2 isopropyl-4-méthyl-6-hydroxypyrimidine (IMHP), puis par désulfuration et enfin la désoxygénation en diéthylthiophosphate (DETP) et diéthylphosphate (DEP), respectivement (Hutson et Roberts, 1999).

Quatre systèmes enzymatiques sont principalement responsables de sa métabolisation : des oxydases, des hydrolases ou des phosphatases à fonctions multiples, des glutathions dépendant transférases et des estérases non spécifiques (NAS, 1977).

D'après des études réalisées *in vivo* chez des animaux, les métabolites du diazinon qui peuvent inhiber le cholinestérase sont, entre autres, le diazoxon, l'hydroxydiazinon (où le carbone secondaire de la fraction isopropyle est hydroxylé), l'isohydroxydiazinon (où le méthyle substituant le cycle aromatique est hydroxylé) et le propylènediazinon (Hayes, 1982).

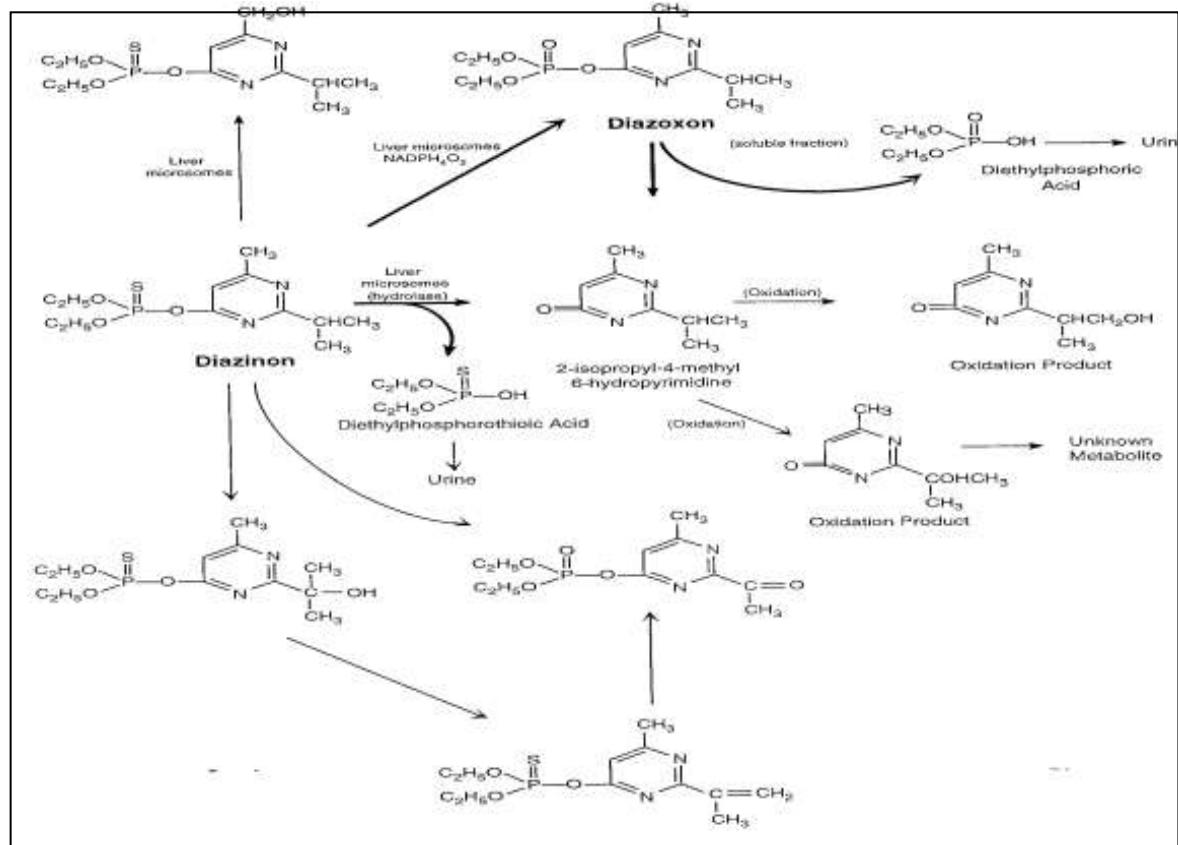


Fig.9: Métabolisme du diazinon au niveau du foie

(Dorsey et Corcoran, 2001).

4- Elimination :

La majorité du diazinon (**80-90%**) est excrétée dans les urines sous forme de produits de scission de l'ester phosphorique; ces produits de scission ne sont pas considérés comme actifs sur le plan toxicologique (Bouvier, 2005; Robert et Hutson, 1999; Testud et *al.*, 2001), par exemple chez le rat, 50 % d'une dose de diazinon administrée par voie orale est excrétée dans quelques heures, et de 95 à 98 % est éliminée dans les sept jours, surtout dans les urines. Moins de 1% d'une dose de 0,02 mg/kg, administrée par voie orale étaient présente dans des tissus de rats le lendemain de l'interruption du traitement, la majeure partie du produit se trouvait dans le tube digestif (FAO/OMS, 1970; Hayes, 1982)

5- Mécanisme d'action :

Le diazinon est un inhibiteur de cholinestérase pour qui la relation dose-réponse semble être fonction de la formulation utilisée, le diazinon et surtout l'un de ses métabolites ; le diazoxon est le principal inhibiteur de cholinestérase, en effet, il provoque l'inhibition directe et irréversible de l'activité acétylcholinestérase (AChE). Cette réaction est localisée principalement dans le tissu nerveux à la jonction neuromusculaire et dans les érythrocytes et il est responsable de l'hydrolyse spécifique de l'acétyle choline (Pillière et *al.*, 1995; Bouvenot et *al.*, 1996).

Le diazinon agit en compétition avec l'acétylcholine sur les sites actifs des cholinestérases, entraînant ainsi le blocage de son hydrolyse. Cette inhibition conduit donc à l'accumulation de l'acétylcholine, soit :

Au niveau des fibres prostaglandines du système nerveux parasympathique et des fibres pré ganglionnaires du système nerveux autonome, avec pour conséquences d'un syndrome muscarinique et nicotinique.

Au niveau de la jonction neuromusculaire et des synapses inter neuronales du système nerveux central, avec pour conséquences des effets musculaires et neurologique (Raymond, 2006).

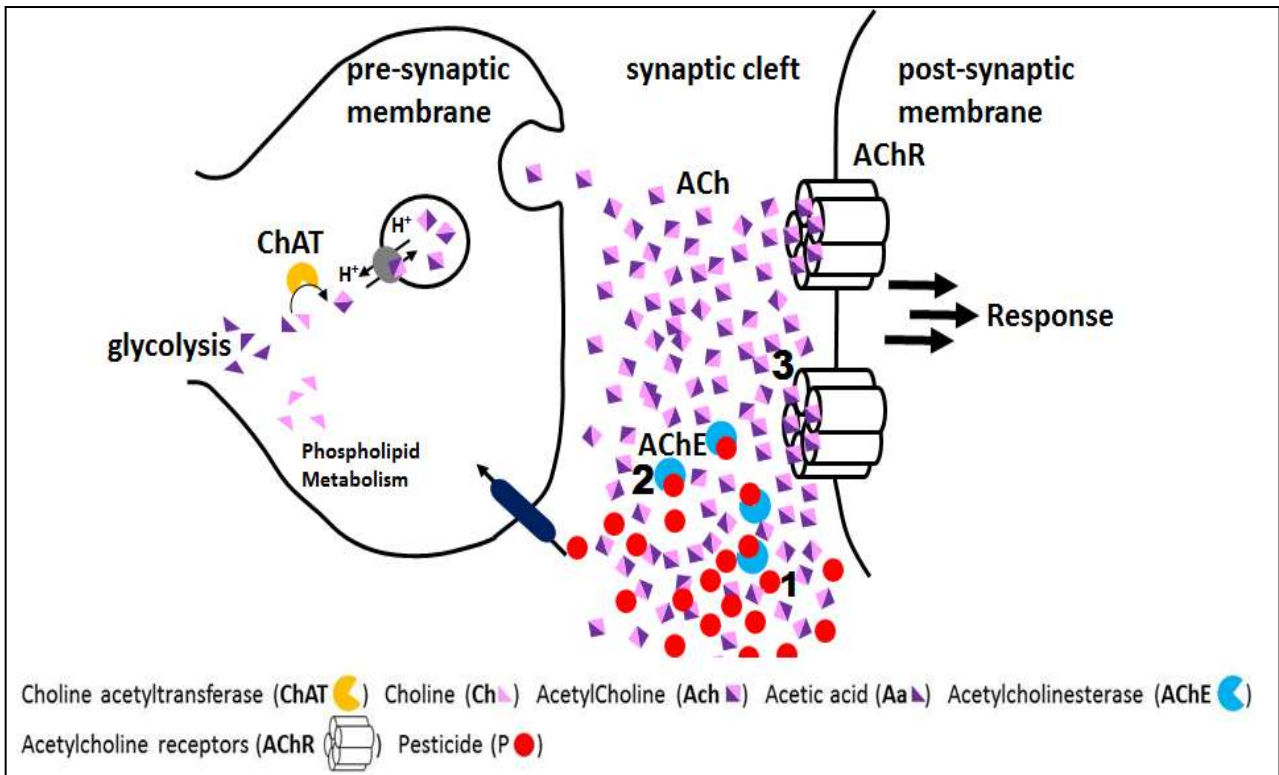


Fig.10 : Mode d'action du diazinon sur les cholinestérases (1).

Chapitre III : La vitamine E

1- Définition :

La Vitamine E (Vit E) fait partie de la famille des tocophérols qui comprend 4 substances, l' α -tocophérol, qui est la Vit E proprement dite, le β -tocophérol, le γ -tocophérol et le δ -tocophérol. La biosynthèse de la Vit E s'effectue dans les plantes, les algues et certaines plantes non photosynthétiques telles que les champignons mais pas chez les animaux (Cuvelier et *al.*, 2003 a).

La Vit E peut exister soit sous forme non estérifiée, soit, plus fréquemment, sous forme estérifiée. Les esters de Vit E s'obtiennent par estérification du groupement hydroxyle en position 6 du cycle chromanol avec de l'acétate, ou encore avec du succinate, du nicotinate ou du phosphate. Ces formes estérifiées ont l'avantage d'être plus stables et moins sensibles à l'oxydation (Rupérez, 2001).

2- Propriétés de la vitamine E :

Les tocophérols sont des liquides huileux jaunes, solubles dans les solvants apolaires. Ils sont tous dextrogyres sauf le γ tocopherol. L'absorption est maximale à 296-298 nm. Ils sont thermolabiles, ils peuvent être dégradés par oxydation ménagée et ils peuvent être estérifiés. Les esters de vitamine E s'obtiennent par estérification du groupement hydroxyle en position 6 du cycle chromanol avec de l'acétate, du succinate, du nicotinate ou du phosphate. Les formes estérifiées sont plus stables et moins sensibles à l'oxydation. Le α tocopherol est l'isomère le plus répandu et le plus actif dans les tissus animaux (Elmadfa, 2008).

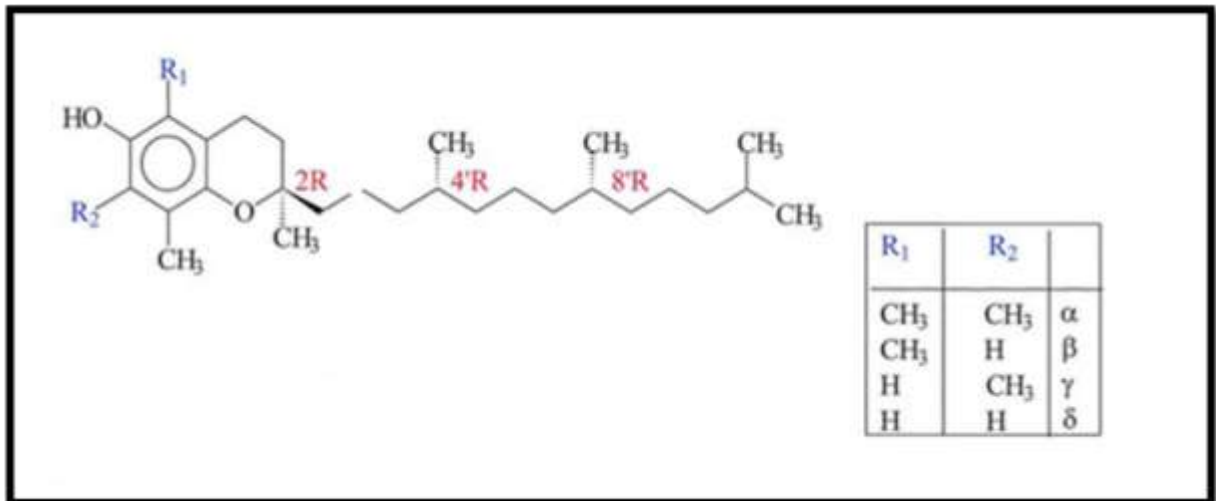


Fig. 11 : Structure chimique de la vitamine E (d'après Azzi et Stocker (2000)).

3-Synthèse :

La biosynthèse de la vitamine E s'effectue dans les plantes, les algues et les champignons. Il existe deux voies de synthèse; celle des tocotriénols et celle des tocophérols. Dans la première, l'acide homogentisique réagit avec une molécule de géranyl-géranyl pyrophosphate pour donner un intermédiaire, le 6-géranyl-géranyltoluquinol, qui donnera naissance à un tocotriénol monométhylé: le γ -tocotriénol. Des méthylations supplémentaires permettent d'obtenir le β -tocotriénol, le γ -tocotriénol et l' α -tocotriénol. La chaîne latérale peut ensuite être saturée pour former de l' α -tocophérol (Cuvelier et *al.*, 2003 a).

Lors de la seconde voie de synthèse, une molécule de phytyl-diphosphate est greffée sur le carbone 6 de l'acide homogentisique simultanément à une réaction de décarboxylation, pour former le 2-méthyle-6-phytylplastoquinol. Une méthylation en position 3 permet la synthèse du 2,3-diméthyle-6-phytylplastoquinol, qui subira une étape de cyclisation pour former le γ -tocophérol. Une deuxième méthylation en position 5 donne l' α -tocophérol (Cuvelier, 2003 a).

4- Absorption, distribution et excrétion de la vitamine E :

La vit E est absorbée depuis la lumière intestinale par un processus de diffusion passive à travers l'entérocyte en même temps que les lipides alimentaires. Au niveau intestinal, les tocophérols sont réassemblés en chylomicrons par l'appareil de Golgi des cellules de la muqueuse, ces chylomicrons sont tocophérol stockés sous forme de granules de sécrétion et finalement excrétés par exocytose dans le compartiment lymphatique, d'où ils atteignent la circulation sanguine par l'intermédiaire du canal thoracique. Ils sont ensuite transformés en chylomicrons (CM) résiduels, par la lipoprotéine lipase (LPL), une enzyme attachée à la surface de l'endothélium capillaire (Azzi et Stocker, 2000).

Le devenir des différentes formes de Vit E est alors très différent : le γ -tocophérol sera excrété dans la bile, alors que le α -tocophérol sera majoritairement incorporé dans les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) naissants. Cet assemblage est assuré par α -tocopherol transfer protein (α -TTP), une protéine cytosolique du foie qui permet l'incorporation du α -tocophérol au sein des VLDL, avant leur relargage dans la circulation sanguine (Cuvelier et *al.*, 2003 a).

La protéine du transfert plasmatique des phospholipides (PLTP), qui est connue pour favoriser l'échange de phospholipides et d'autres composés amphiphiles entre les structures lipidiques, facilite l'échange du α -tocophérol entre les High-density lipoproteins (HDL) et les lipoprotéines de faible densité (LDL) (Desrumaux et al., 1999). Approximativement la moitié du α -tocophérol plasmatique est présente dans les LDL et l'autre moitié est distribuée entre les VLDL et les HDL (Cuvelier et al., 2003b).

L'élimination se fait à 80% par la bile et les fèces sous forme libre ou oxydée (acide tocophéronique, tocophéronolactone, tocophéryl p quinone), 20% est éliminé sous forme de glycuconjugués dans les urines (Cuvelier et al., 2003b).

Après oxydation, elle peut être régénérée par des réactions mettant en jeu la vitamine C et le glutathion. Le tocophérol oxydé réagit avec l'ascorbate pour donner un tocophérol et du déhydroascorbate. Ensuite le déhydroascorbate réagit à son tour avec le glutathion pour donner de l'ascorbate et du GSSG grâce à une enzyme thiol transférase (Desrumaux et al., 1999).

Dans les tissus, on ne détecte que l' α -tocophérol et des traces de γ -tocophérol (Ronéus et al., 1985). Il se pourrait que les tocotriénol de l'alimentation soient réduits en tocophérols dans l'organisme (Hakkarainen et al., 1984).

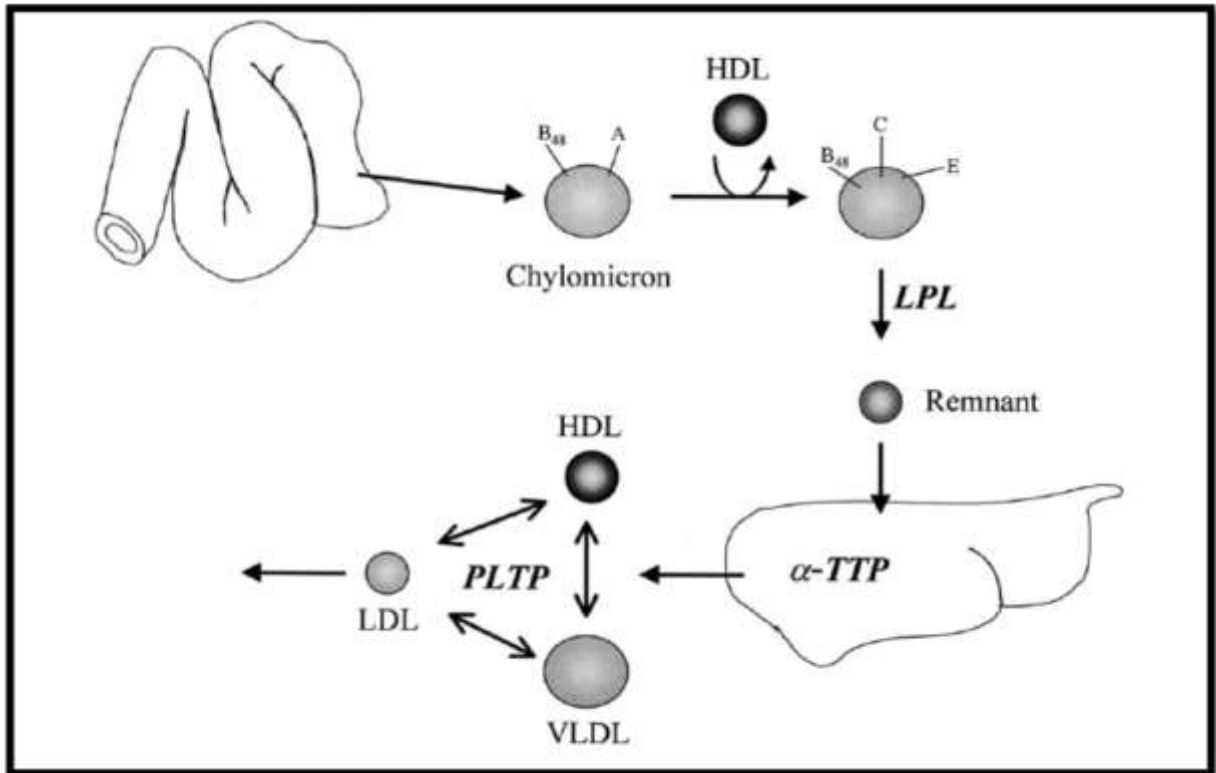


Fig. 12 : Absorption, transport et distribution de la vitamine E (D'après Azzi et Stocker(2000)).

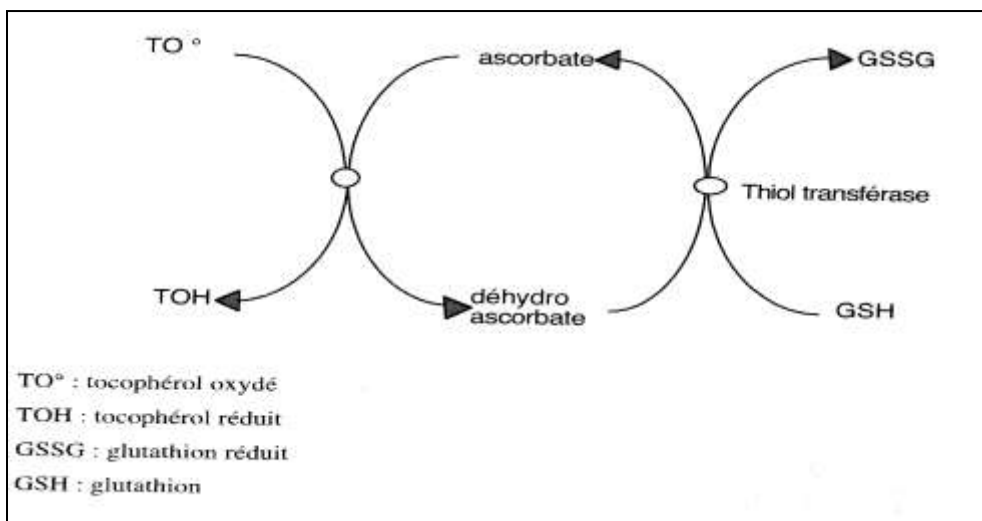


Fig. 13 : Régénération de la vitamine E (Ronéus et al., 1986).

5- Mode d'action et rôle dans la cellule :

La vitamine E fait partie des systèmes de défense non enzymatiques, qui protègent les phospholipides membranaires contre les réactions en chaîne de peroxydation. Elle inactive les formes réactives de l'oxygène par captation de l'électron non apparié (Traber *et al.*, 2006).

La vitamine E est un donneur d'hydrogène par l'intermédiaire notamment du radical OH en position 6 du noyau chromane. L' α -tocophérol réagit avec les peroxydes lipidiques pour former des hydroperoxydes et se transformer alors en quinone. L' α -tocophérol agit en synergie avec d'autres systèmes antioxydants comme le glutathion pour décomposer les hydroperoxydes (Vincent et Taylor, 2006).

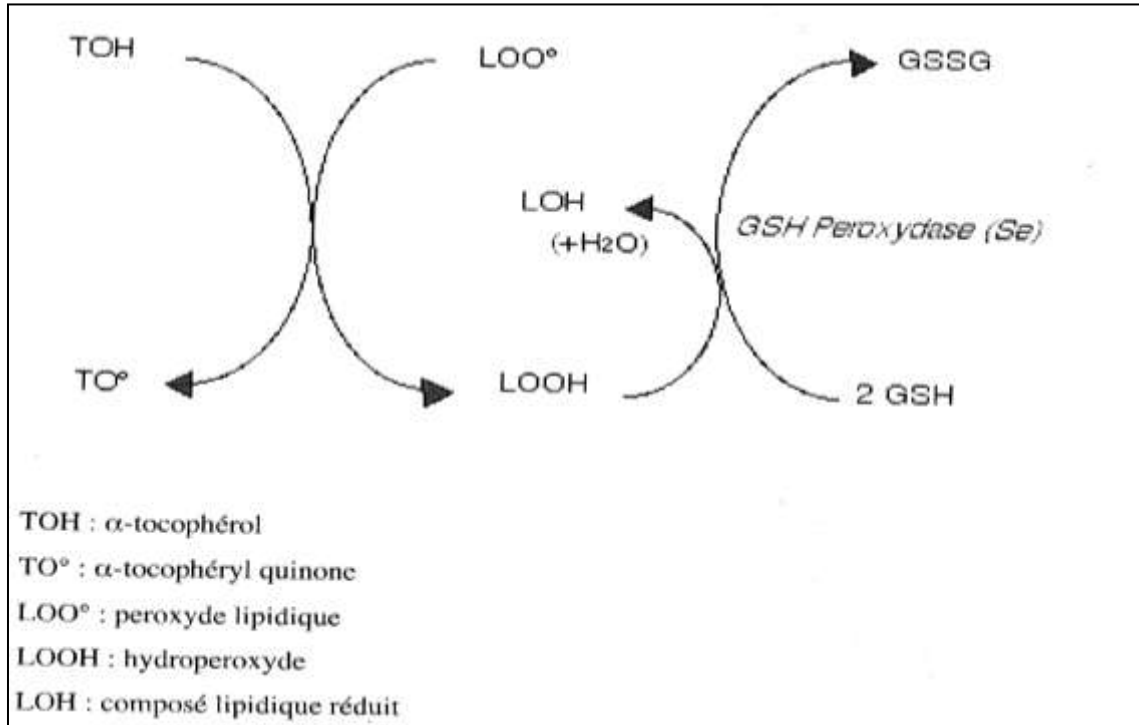


Fig. 14 : Mode d'action de la vitamine E (Scherak et al., 1990).

Chapitre IV : La curcumine

1- Définition:

La curcumine encore appelée turmeric par les anglo-saxons, est une plante tropicale de la famille des Zingibéracées originaire du sud-est asiatique est connue depuis des millénaires, comme source d'épices et d'agents appréciés de la médecine traditionnelle (Bharat et *al.*, 2006).

La curcumine (curcumin en anglais) est extraite des rhizomes du curcuma et est généralement considérée comme son composé le plus actif (Chattopadhyay *et al.*, 2004), Elle est à l'origine, avec les autres curcuminoïdes, de la couleur jaune du curcuma et du curry dont elle entre dans la composition (Chattopadhyay *et al.*, 2004 ; Sanders, 2003). Elle est utilisée dans la médecine traditionnelle indienne pour accélérer la cicatrisation des plaies, pour résoudre des désordres biliaires et hépatiques mais aussi pour la toux, les rhumatismes, les sinusites, l'anorexie et les cancers (Sanders, 2003).



Fig.15 : Fleure et la racine de la curcumine (Jean loup, 2009).

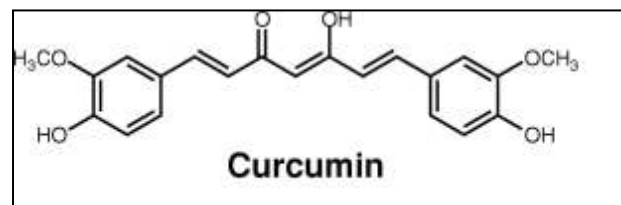


Fig. 16 : Structure chimique de la curcumine (Cédéric, 2007).

2- Propriétés et structure de la curcumine :

La curcumine est une molécule polyphénolique dénommée par la nomenclature chimique comme un *17-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione* ou de manière plus concise *diferuloylmethane*, (Kuntal et al., 2006). A pH neutre et acide, la curcumine se comporte comme un donneur de proton et à pH basique comme un donneur d'électron à l'origine de ses propriétés anti-oxydantes.

La curcumine est insoluble dans l'eau, instable à pH basique, présente un poids moléculaire de **368,37 Da** et un point de fusion de **183°C** (Sharma et al., 2005).

Le curcuma est une plante de sol riche, léger, bien amendé et humide. Elle se développe rapidement pendant la saison chaude afin d'accumuler suffisamment de réserves dans les rhizomes pour survivre en souche dormante pendant l'hiver (Mitchell, 2009).

3- Effets potentiels de la curcumine :

Grâce à son pouvoir antioxydant, la curcumine aide à piéger les radicaux libres avec une des meilleures efficacités jamais décrites. La curcumine participerait également à la défense de l'organisme (Marc et Maryvonne, 2005).

Des études récentes tendent à prouver son intérêt pour contribuer à promouvoir des mécanismes de défense internes. La curcumine contribuerait au maintien des performances intellectuelles. Par ailleurs, ses propriétés apaisantes ont été démontrées en cas de manifestations douloureuses ressenties au niveau des articulations (Ringman et al., 2005).

La curcumine agit d'autre part en stimulant la production et la qualité du mucus gastrique. Celui-ci va alors tapisser la paroi intestinale et participer à combattre les irritations, favorisant également une bonne rééducation du transit intestinal et participant ainsi à atténuer les douleurs abdominales (Ringman et al., 2005 ; Aggarwal et al., 2004).

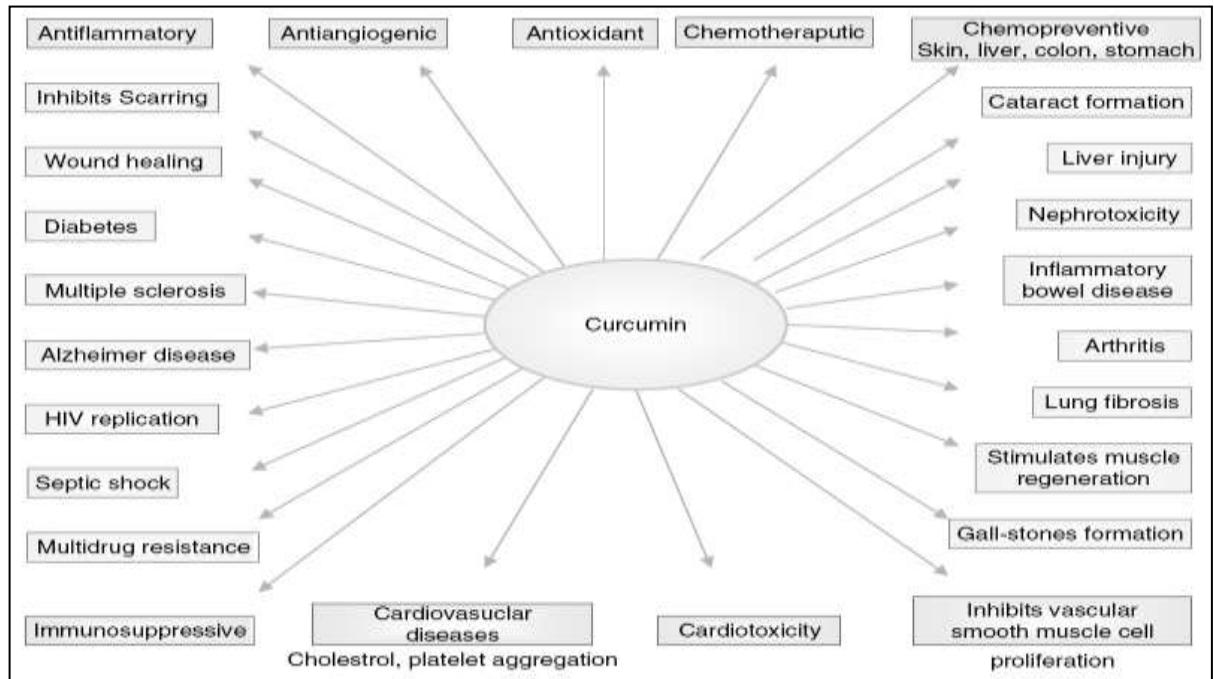


Fig. 17 : Effets potentiels de la curcumine sur de nombreuses affections

(Aggarwal et al ., 2004).

3-1-Activité anti inflammatoire :

La curcumine inhibe les processus inflammatoires aussi bien dans les modèles d'inflammation aigue que dans les protocoles d'inflammations chroniques (Punithavathi et al., 2000), et cette activité anti-inflammatoire semble être due à la conjugaison de plusieurs propriétés.

La curcumine inhibe la migration et la prolifération des cellules pro-inflammatoires (Araujo et Leon, 2001) et inhibe la lipoxycgénés et la cyclooxygénase, deux enzymes impliquées dans la dégradation de l'acide arachidonique en médiateurs d'inflammation tels les leucotriènes et les prostaglandines, elle empêche l'activation des macrophages et donc la relargage de substances cytotoxiques ou des médiateurs d'inflammation tels O_2^- , le monoxyde d'azote...etc (Aggarwal, 2003).

3-2-Activité anti oxydantes :

La curcumine est décrit comme un piègeur de RLO, en effet, elle capture l' O_2^- et les radicaux peroxydes . La curcumine définit comme une molécule anti oxydante car également présenter des propriétés pro-oxydants (Tian et al ., 2008 ; Araujo et Leon , 2001).

3-3-Activité anti tumorales :

Les recherches sur les propriétés anti-cancéreuses du curcuma viendrait du fait que la curcumine inhibe la production de cytokines (molécules qui déclenchent les processus inflammatoires au niveau cellulaire), ces recherches démontrent qu'une réaction inflammatoire est souvent à l'origine de la formation et de la croissance d'une tumeur cancéreuse (Luc, 2002 ; Vittoria, 2009). Dans la lutte et la prévention du cancer par la méthode nutritionnelle, le curcuma est indiqué principalement pour les cancers suivants (Luc, 2002) :

- Cancer du côlon très liés aux processus inflammatoires, le curcuma inhibe la cyclooxygénase 2 et la 5-lipo-oxygénase, deux enzymes qui interviennent dans les processus inflammatoires.
- Cancer de la peau (mélanome malin), en bloquant un signal du facteur de croissance épidermique.

- Cancer de l'estomac causé par la présence de la bactérie *helicobacter pylori*, responsable d'ulcères gastriques en bloquant le NF-kappa B induit par l'augmentation des cytokines.

L'ensemble des études cliniques faites sur la curcumine extraite du *curcuma longa*, démontre qu'elle peut inhiber le cancer à toutes les étapes de son développement : initiation, promotion et progression (Luc, 2002 ; Vittoria, 2009). Du fait de ces propriétés anti-inflammatoires, la curcumine est recommandée pour les personnes qui souffrent des rhumatismes (Araujo et Leon, 2001).



Etude Experimentale

Partie II : Etude expérimentale

MATÉRIEL ET MÉTHODES :

I. TRAITEMENT DES RATS :

I-1- Matériel biologique et conditions d'élevage :

Dans cette expérience nous avons utilisé 35 rats blancs mâles *Rattus rattus* de la souche **Wistar**, provenant de l'Institut Pasteur d'Alger. Agés de 8-9 semaines, d'un poids vif moyen de 200 ± 20 g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche.

Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation d'un mois environ, aux conditions de l'animalerie; à une température de $(25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ})$ et une photopériode naturelle.

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ils ont été nourris avec un concentré équilibré (ONAB, ANNABA) en protéines, glucides, lipides, vitamines et sels minéraux.

I-2-Traitement des rats :

Notre traitement est passé par 2 étapes, La première étape les rats sont divisés en 2 groupes:

- ❖ **Groupe I:** rats consommant le concentré standard le nombre $n=21$.
- ❖ **Groupe II:** rats consommant la curcumine 50 mg/ kg poids corporel pendant 30 jours, le nombre $n=14$.

La deuxième étape en divise le groupe (I) en 3 sous groupe 7 rats dans chaque un comme suite:

- ❖ **Sous- groupe 1 :** témoins.
- ❖ **Sous- groupe 2 :** rats traités par le diazinon dans l'eau de boisson à raison de 10 mg/kg de poids corporel chaque jour (Kalender et al., 2005). Les rats ont été pesés quotidiennement pendant toute la période de traitement.

- ❖ **Sous- groupe 3** : rats traités par 10 mg/ Kg de poids corporel de diazinon dans l'eau de boisson plus la vitamine E qui est administré aux rats par voie orale (gavage) à l'aide d'une seringue à raison de 200 mg/kg de poids corporels (Kalender *et al.*, 2005) chaque jour pendant 21 jours.

Et divisé le groupe II en deux sous groupes comme suite:

- ❖ **Sous- groupe 4** : rats traités par **10 mg/ Kg** de poids corporel de diazinon dans l'eau de boisson plus la curcumine **50 mg/ Kg** poids corporel (Retta *et al.*, 2009) chaque jour pendant **21 jours**.
- ❖ **Sous- groupe 5** : rats traités par **10 mg/ Kg** de poids corporel de diazinon dans l'eau de boisson plus la vitamine E qui est administré aux rats par gavage de **200 mg/kg** de poids corporels et la curcumine **50 mg/ Kg** d'aliment chaque jour pendant **21 jours**.

Note : Nous avons mesurés les consommations quotidiennes en aliments et en boisson chez les rats. Ce traitement s'est poursuivi pendant 21 jours.

II. PRELEVEMENTS DES ECHANTILLONS

Après 21 jours de traitement les rats des 5 groupes de rats sont sacrifiés (par décapitation).

II.1. Prélèvement sanguin

Le sang est immédiatement recueilli dans des tubes polyéthylènes étiquetés contenant l'anticoagulant EDTA. Ces tubes vont subir une centrifugation 3000 tours/min pendant 15 min, puis on récupère le plasma résultant. Les échantillons obtenus ont été stockés au congélateur, à (-20°C) pour le dosage ultérieur des paramètres biochimiques (glucose, urée, créatinine, bilirubine, cholestérol, triglycérides, transaminases et phosphatase alcaline,...).

II.2. Prélèvement des organes

Les animaux ont été pesés puis sacrifiés et ils ont ouverts ventralement pour le prélèvement de certains organes : le foie, les reins et le cerveau ont été pesés puis stockés selon deux méthodes : la moitié au congélateur pour le dosage des paramètres du stress oxydant, et l'autre moitié fixée dans le Bouin alcoolique afin de réaliser des coupes histologiques.

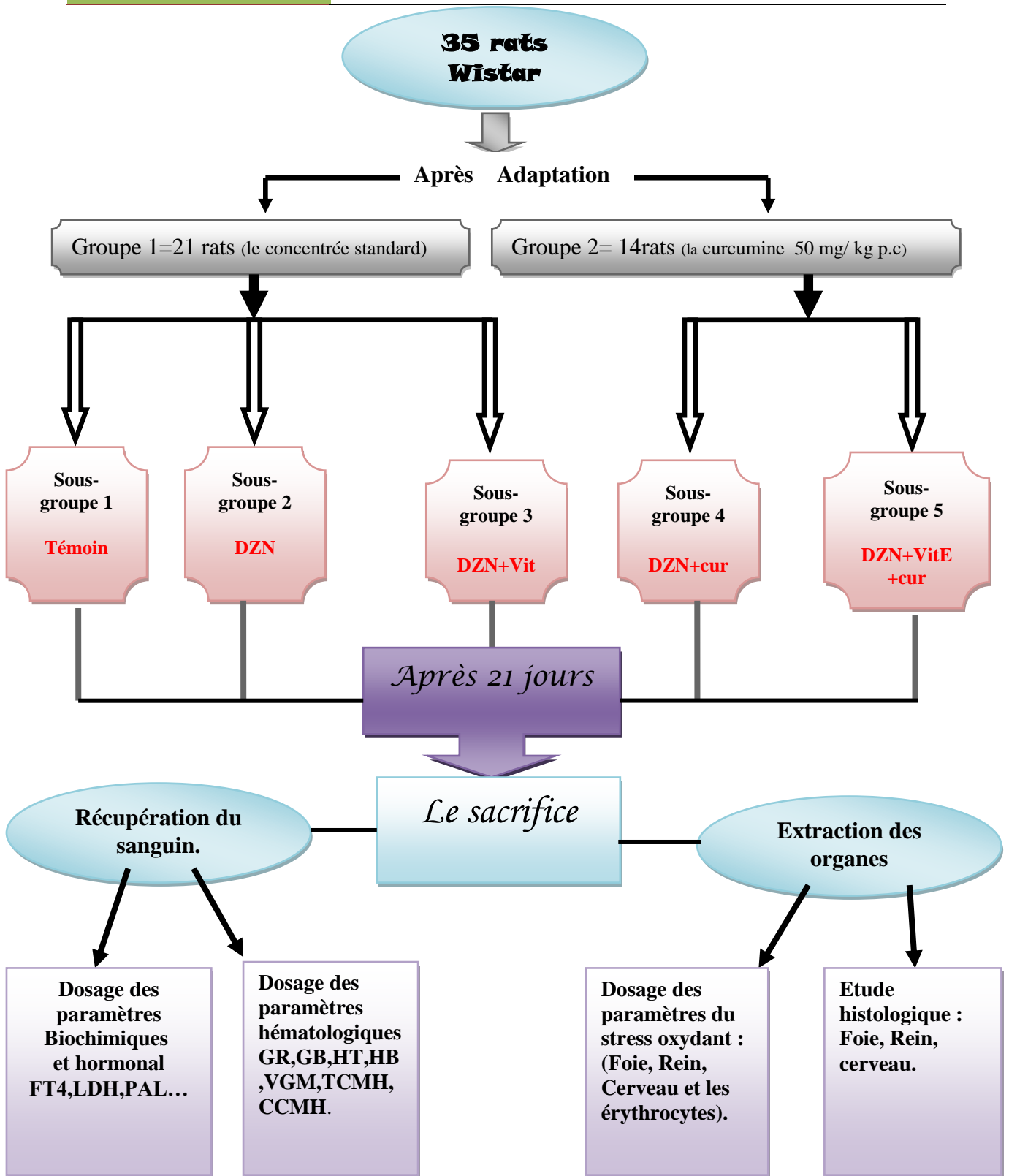


Fig. 18: les différentes étapes du protocole expérimental utilisé.

III. TECHNIQUES DE DOSAGE

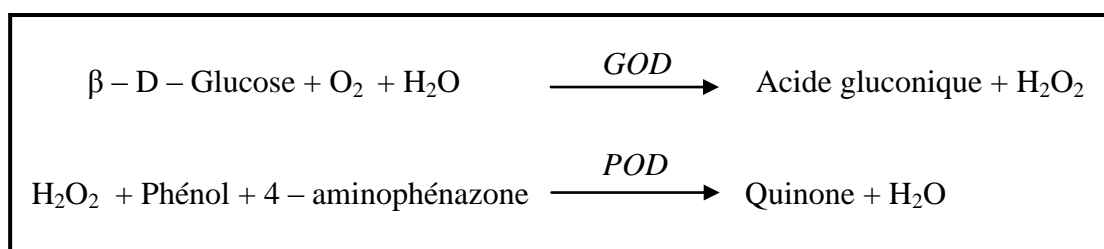
III.1. Exploration de la fonction hépatique

III.1.1. Dosage du glucose sanguin

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

a- Principe

Le glucose est transformé par la glucose oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce dernier, en présence de peroxydase (POD), oxyde le chromogène incolore (4-aminophénazone) en un composé coloré en rouge-violet (quinoneimine) (Kaplan, 1984), selon les réactions suivantes :



b- Réactifs

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

- **Réactif:** Dissoudre le contenu du réactif 2 dans le flacon du réactif 1 et mélanger légèrement.

c- Mode opératoire

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

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

d- Calcul de la concentration

La concentration du glucose est calculée par la formule suivante :

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

III.1.2. Dosage de la bilirubine directe plasmatique

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

a- Principe

La bilirubine réagit avec l'acide sulfanilique diazoté à pH acide pour produire l'azobilirubine. Cette réaction est instantanée avec la bilirubine directe (la bilirubine conjuguée), par contre avec la bilirubine totale (bilirubine non conjuguée) elle est indirecte nécessite la solubilisation par le diméthylsulfoxyde (DMSO) (En absence de DMSO, seule la bilirubine directe réagit).

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de la bilirubine dans l'échantillon (Kaplan et *al.*, 1984).

b- Réactifs

Réactif 1 : Bilirubine directe	Acide sulfanilique	30 mmol/L
	Acide chlorhydrique (HCl)	150 mmol/L
Réactif 2	Nitrite de sodium	29 mmol/L
Calibrant	Il est sous la référence : 1002250	

c- Mode opératoire

	Blanc	BL directe
Réactif 1 : BL directe (ml)	1.5	1.5
Réactif 2 : (µl)	--	50
Echantillon/calibrant (µl)	100	100

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

d- Calcul de la concentration

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

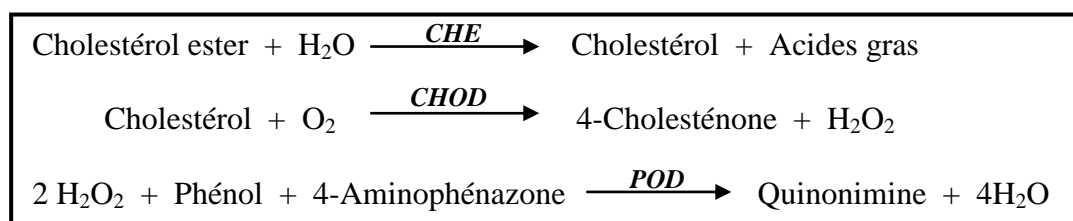
$$\text{Bilirubine directe} = \frac{\text{DO}_{\text{échantillon}} - \text{DO}_{\text{blanc échantillon}}}{\text{DO}_{\text{calibrant}} - \text{DO}_{\text{blanc calibrant}}} \times \text{concentration de calibrant}$$

III.1.3. Dosage du cholestérol plasmatique

Nous avons utilisé des coffrets (Spinreact) pour réaliser ce dosage.

a- Principe

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré (Naito, 1984), selon les réactions ci-dessous :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du chlore dans l'échantillon.

b- Réactifs

Réactif R1 : Tampon	PIPES pH 6.9	90 mmol/L
	Phénol	26 mmol/L
Réactif R2 : Enzymes	Cholestérol estérase (CHE)	300 U/L
	Cholestérol oxydase (CHOD)	300 U/L
	Peroxydase (POD)	1250 U/L
	4-Aminophénazone (4-AP)	0.4 mmol/L
Cholestérol calibrant	Cholestérol aqueux (standard) 200 mg/dL	

- **Réactif:** dissoudre le contenu de réactif 2 (enzymes) dans un flacon de réactif 1 (tampon).

c- Mode opératoire

	Blanc	Tampon	Echantillon
Réactif du travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Tampon (μl)	--	10	--
Echantillon (μl)	--	--	10

- Mélanger et incuber pendant 10 min à la température ambiante.
- Lire l'absorbance de l'échantillon et de l'étalon à 505 nm contre le blanc.

d- Calcul de la concentration

La concentration du cholestérol est calculée par la formule suivante :

$$\text{Cholestérol (mg/dL)} = \frac{\text{DO}_{\text{échantillon}}}{\text{DO}_{\text{étalon}}} \times 200$$

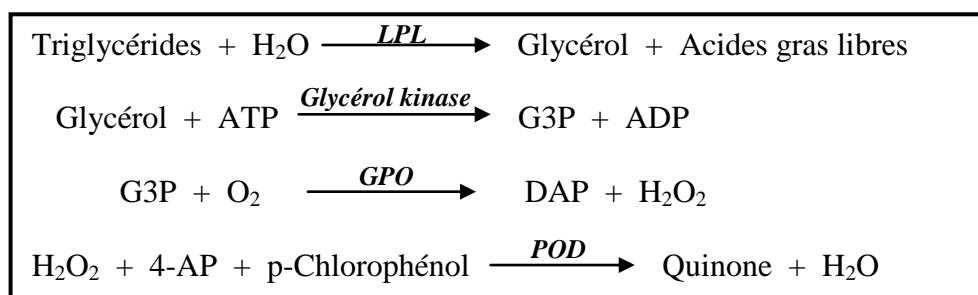
III.1.4. Dosage des triglycérides plasmatiques

Nous avons utilisé des coffrets (Spinreact) pour réaliser ce dosage.

a- Principe

L'incubation des triglycérides de l'échantillon avec la lipoprotéinlipase (LPL) libère le glycérol et des acides gras. Le glycérol est convertit en glycérol-3-phosphate (G3P) et adénosine diphosphate (ADP) par la glycérol kinase et l'ATP. Le glycérol-3-phosphate (3GP) est en suite convertit par la glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Dans la réaction finale, le peroxyde d'hydrogène réagit avec 4-aminphénazone (4-AP) et le p-chlorophénol en présence de peroxydase (POD) pour donner une couleur verte (Kaplan et *al.*, 1984).



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

b- Réactifs

Réactif R1 : Tampon	COOD pH 7.5	50 mmol/L
	p-Chlorophénol	2 mmol/L
Réactif R2 : Enzymes	Lipoprotéine lipase (LPL)	150000 U/L
	Glycérol kinase (GK)	500 U/L
	Glycérol-3-oxydase (GPO)	2500 U/L
	Peroxydase (POD)	440 U/L
	4-Aminophénazone (4-AP)	0.1 mmol/L
	ATP	0.1 mmol/L
Triglycérides calibrant	Triglycérides aqueux (standard) 200 mg/dL	

- **Réactif:** Dissoudre le contenu d'une fiole de réactif 2 (enzymes) dans une bouteille de réactif 1 (tampon).

c- Mode opératoire

	Blanc	Tampon	Echantillon
Réactif du travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Tampon (µl)	--	10	--
Echantillon (µl)	--	--	10

- Mélanger et laisser les tubes une température ambiante pendant 10 min, puis lire l'absorbance de l'échantillon et de l'étalon contre le blanc. La coloration est stable pendant 30 minutes.

d- Calcul de la concentration

La concentration des triglycérides est calculée par la formule suivante :

$$\text{Concentration des triglycérides (mg/dl)} = \frac{\text{DO}_{\text{échantillon}}}{\text{DO}_{\text{étalon}}} \times 200$$

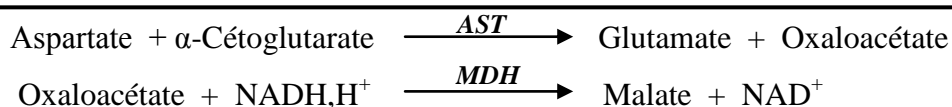
III.1.5. Dosage des transaminases plasmatiques

III.1.5.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

Nous avons utilisé des coffrets (Spinreact) pour réaliser ce dosage.

a- Principe

L'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi L'oxaloacétate de glutamate transaminase (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH,H^+ (Murray, 1984) selon la réaction ci-dessous :



b- Réactifs

Réactif R1 : Tampon	Tris pH 7.8	80 mmol/L
	L- Aspartate	200 mmol/L
Réactif R2 : Substrat	NADH	0.18 mmol/L
	Lactate déshydrogénase (LDH)	800 U/L
	Malate déshydrogénase (MDH)	600 U/L
	α -Cétoglutarate	12 mmol/L

- **Réactif:** Dissoudre un comprimé de R2 dans un flacon de R1. Ce réactif est stable 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à 15-25°C.

c- Mode opératoire :

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon (μl)	100

Mélanger, incuber pendant une minute. Lire à 340 l'absorbance initiale et démarrer le chronomètre simultanément. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes.

d- Calcul de la concentration

La concentration d'aspartate aminotransférase calculée par la formule suivante :

$$\text{ASAT (U/L)} = \Delta\text{DO}/\text{min} \times 1750$$

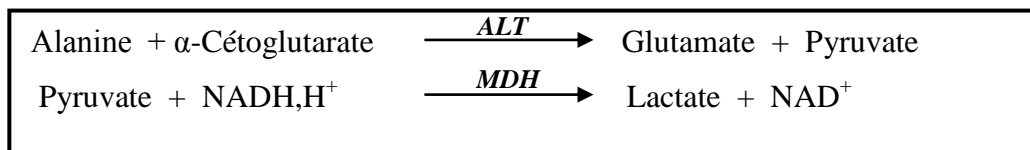
III.1.5.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)

Nous avons utilisé des coffrets (Spinreact) pour réaliser ce dosage.

a- Principe

L'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi le pyruvate de glutamate transaminase (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au α -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (Murray, 1984).

Ce principe est présenté selon la réaction suivante :



La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique d'alanine aminotransférase dans l'échantillon (Reitman, 1957 ; Murray, 1984).

b- Réactifs

Réactif R1 : Tampon	Tris pH 7.8	100 mmol/L
	L- Alanine	500 mmol/L
Réactif R2 : Substrat	NADH	0.18 mmol/L
	Lactate déshydrogénase (LDH)	1200 U/L
	α -Cétoglutarate	15 mmol/L

- **Réactif:** Dissoudre le contenant du R2 dans le flacon de R1. Ce réactif est stable 2 semaines à 2-8°C.

c- Mode opératoire

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon (μl)	100

Mélanger, incuber pendant une minute à température ambiante et lire l'absorbance initiale à 340 nm. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la moyenne des absorbances par minutes (Δ Abs/min) pour l'utiliser dans les calculs.

d- Calcul de la concentration

La concentration d'alanine aminotransférase est calculée par la formule suivante :

$ALAT (U/L) = \Delta DO/min \times 1750$

III.1.6. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL) plasmatique

Pour réaliser ce dosage, nous avons utilisé des coffrets (Spinreact).

a- Principe

La phosphatase alcaline catalyse l'hydrolyse de p-nitrophényl phosphate à pH 10.4 pour donner le p-nitrophénol et le phosphate (Wenger et *al.*, 1984 ; Rosalki et *al.*, 1993), selon la réaction suivante :



La formation de p-nitrophénol est mesurée photométriquement, où elle est proportionnelle à l'activité catalytique de la phosphatase alcaline dans l'échantillon.

b- Réactifs

Réactif 1 : Tampon	Diéthanolamine (DEA) pH 10.4	1mmol/L
	Chlorure de magnésium	0.5mmol/L
Réactif 2 : Substrat	p-Nitrophénylphosphate (pNPP)	10mmol/L

- **Réactif:** dissoudre une tablette de réactif 2 (substrat) dans une bouteille du réactif 1 (tampon).

c- Mode opératoire

Réactif de travail (ml)	1.2
Echantillon (µl)	20

Mélanger, incuber pendant une minute. Lire à 405 nm l'absorbance initiale et démarrer le chronomètre simultanément. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes.

Déterminer la moyenne des absorbances par minutes (Δ abs/min) pour l'utiliser dans les calculs.

d- Calcul de la concentration

Pour estimer l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline, on utilise la formule suivante :

$$\text{Phosphatase alcaline (U/L)} = \Delta \text{ DO/min} \times 3300$$

III.1.7. Dosage de la lactate déshydrogénase (LDH) plasmatique

Nous avons utilisé des coffrets (Spinreact) pour réaliser ce dosage.

a- Principe

La lactate déshydrogénase catalyse la réduction du pyruvate par le NADH (Pesce, 1984), selon la réaction suivante :



Le taux de la diminution de la concentration de NADPH ; mesurer photométriquement, est proportionnel à la concentration catalytique de LDH présent dans l'échantillon.

b- Réactifs

Réactif R1 : Tampon	Imidazole	65 mmol/L
	Pyruvate	0.6 mmol/L
Réactif R2 : Substrat	NADH	0.18 mmol/L

- **Réactif:** Dissoudre un comprimé de R1 (tampon) dans un flacon de R2 (substrat).

c- Mode opératoire :

	37°C
Réactif de travail (ml)	3.0
Echantillon (µl)	50

Mélanger et laisser 1 minute. Lire l'absorbance à 340 nm avec trois répétitions chaque minute d'incubation pour déterminer la moyenne $\Delta \text{ DO/min}$.

d- Calcul de la concentration

L'activité de LDH est calculée par la formule suivante :

$$\text{L'activité de LDH (U/L)} = \Delta \text{ DO/min} \times 4925$$

III.1.8. Dosage des protéines totales plasmatiques

Le dosage de protéine a été réalisé par la méthode colorimétrique (selon la fiche technique Spinreact).

a- Principe

Les protéines forment un complexe coloré en bleu violet intensif avec les ions de cuivre dans un milieu alcalin. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des protéines totales dans l'échantillon (Koller, 1984 ; Burtis et *al.*, 1999).

b- Réactifs

Réactif (Biuret)	Tartrate de potassium sodium	15 mmol/L
	Iodure de sodium	100 mmol/L
	Iodure de potassium	5 mmol/L
	Sulfate de cuivre	19 mmol/L
Etalon	Sérum albumine bovin	7 g/dL

➤ **Réactif:** le réactif est prêt à l'emploi.

c- Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	--	25	--
Echantillon (µl)	--	--	25

Mixer et incuber 5 min à 37 °C ou 10 min à la température ambiante (15-25°C).

Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 540nm.

La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

d- Calcul de la concentration

La concentration des protéines totales est calculée par la formule suivante :

$$\text{Protéines totales (g/dL)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO étalon}} \times \text{concentration de l'étalon (7 g/dL)}$$

III.2. Exploration de la fonction rénale

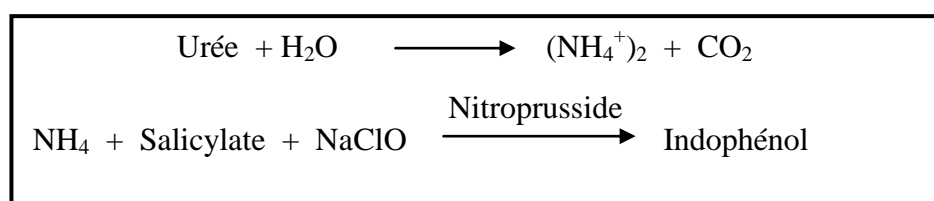
III.2.1. Dosage de l'urée plasmatique

Le dosage de l'urée a été réalisé par la méthode cinétique enzymatique à l'uréase (selon la fiche technique Spinreact).

a- Principe

L'urée est hydrolysée enzymatiquement en ions d'ammoniac (NH_4^+) et dioxyde de carbone (CO_2).

Les ions d'ammoniac formés réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite (NaClO) en présence du catalyseur nitroprusside pour former l'indophénol vert (Kaplan, 1984), selon les réactions suivantes :



L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon.

b- Réactifs

Réactif 1 : Tampon	Phosphate pH 6.7	50 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
	Sodium salicylate	400 mmol/L
	Sodium nitroprusside	10 mmol/L
Réactif 2 : NaClO	Sodium hydrochlorite (NaClO)	140 mmol/L
	Sodium hydroxyde	150 mmol/L
Réactif 3 : Enzymes	Uréase	30000 U/L
Urée calibrant	Urée aqueux (Standard) 50 mg/dL	

- **Réactif:** Dissoudre une tablette de réactif 3 (enzymes) dans une bouteille de réactif 1 (tampon) et mélanger légèrement. Le réactif 2 (NaClO) est préparé pour l'utiliser.

c- Mode opératoire

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

Mixer et incuber 5 min à 37 °C ou 10 min à la température ambiante (15-25°C).

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif 2 (ml)	1.0	1.0	1.0

Mixer et incuber 5 min à 37 °C ou 10 min à la température ambiante (15-25°C).

Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 340nm.

La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

d- Calcul de la concentration

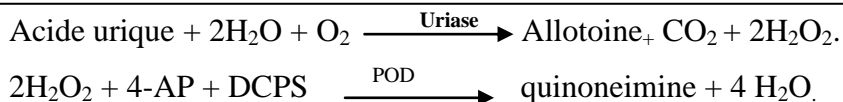
La concentration de l'urée est calculée par la formule suivante :

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

III.2.2. Dosage de l'acide urique plasmatique :

a-Principe:

L'acide urique est oxydé en allotoïne et peroxyde hydrogène ($2\text{H}_2\text{O}_2$), par la participation de la peroxydase (POD), 4- aminophenazone(4-AP) et 2-4 Dichlorophenol sulfate (DCPS) formé la couleur rouge de quinoneimine (Schultz et Kaplan *et al.*, 1984).



La couleur rouge est proportionnelle de la concentration de l'acide urique.

b-Réactifs:

R1 tampon	Phosphate ph 7.4	50mmol/l
	2-4 Dichlorophenolsulfanate(DCPS)	4mmol/l
R2 Enzymes	Uricase	60 U/L
	Peroxydase (POD)	660 U/L
	Ascorbateoxydase	200 U/L
	4- Aminophenazone (4-AP)	1mmol/l
Calibrant	Acideurique aqueous primary standard 6mg/dl	

➤ **Réactif:** dissoudre le contenant R2 en R1, lire l'absorbance a $\lambda = 520\text{nm}$.

c-Mode opératoire:

	Blanc	standard	Essai
Réactif (ml)	1.0	1.0	1.0
standard (ml)	-	25	-
Essai (ml)	-	-	25

- ❖ Mélanger et incuber 5 minutes à 37°c ou bien 10 minutes à $25\text{-}30^\circ\text{c}$.
- ❖ Lire l'absorbance de l'essai, le standard contre le blanc.
- ❖ La couleur est stable pendant 30 minutes.

d- Calcule de la concentration:

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

$$\text{Acide urique mg/dl} = \frac{\text{(A) Essai}}{\text{(A) standard}} \times 6 \text{ (concentration de standard)}$$

III.2.3. Dosage de la créatinine plasmatique :

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

a- Principe

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

b- Réactifs

Réactif 1	Acide picrique	17.5 mmol/L
Réactif 2	Hydroxyde de sodium	0.29mol/L
créatinine calibrant	Créatinine aqueux (standard) 2 mg/dL	

➤ **Réactif:** mélanger un volume de réactif 1 avec un volume de réactif 2.

c- Mode opératoire

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

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

d- Calcul de la concentration

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

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

$$\Delta \text{ DO} = (\text{DO 2} - \text{DO 1})$$

III.4. Exploration du stress oxydant

III.4.1. Préparation de l'homogénat

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

III.4.2. Détermination de la peroxydation lipidique (LPO) par le taux du malondialdéhyde (MDA) au niveau tissulaire

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) méditées par les radicaux libres.

Le niveau de peroxydation lipidique a été évalué en mesurant le MDA avec le test TBARS (Thiobarbituric reactive species) selon la méthode de Buege et Aust (1972). Le test TBARS est le test le plus couramment utilisé pour déterminer indirectement la peroxydation des lipides, en mesurant le MDA.

a- Principe

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe de

couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique qui peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm (fig. 19).

b- Mode opératoire

- ↪ Prélever 125µl de l'homogénat (surnageant) ;
- ↪ Ajouter 50µl de la solution tampon TBS ;
- ↪ Ajouter 125µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%) ;
- ↪ Vortexer et Centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min à 4°C ;
- ↪ Prélever 200µl du surnageant ;
- ↪ Ajouter 40µl du HCl (0.6 M) ;
- ↪ Ajouter 160µl de la solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120mM) ;
- ↪ Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 min.

c- Calcul de la concentration

On calcule la concentration de MDA exprimée en nanomoles par milligramme de protéines (nmol/mg prot) selon la formule suivante :

$$C = \frac{DO \cdot 10^6}{\varepsilon \cdot \chi \cdot L \cdot Fd}$$

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

III.4.3. Détermination du taux de glutathion réduit (GSH) au niveau tissulaire

Le glutathion est un thiol intracellulaire le plus abondant présent dans toutes les cellules animales.

a- Principe

Pour le dosage du glutathion, la méthode colorimétrique par le réactif d'Ellman (DTNB) est la méthode la plus employée (Ellman, 1959). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5' dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) lequel présente une absorbance à 412 nm selon la réaction d'Ellman (fig.20).

b- Mode opératoire

- ↪ Prélever 0.8 ml de l'homogénat;
- ↪ Ajouter 0.2 ml de la solution d'acide sulfosalicylique (0.25%) et laisser pendant 15 min dans un bain de glace;
- ↪ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 15 min;
- ↪ Prélever 0.5 ml du surnageant;
- ↪ Ajouter 1ml du tampon Tris-EDTA (contenant 0,02M d'EDTA, pH 9.6);
- ↪ Ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01 M;
- ↪ Laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc réactif.

c- Calcul de la concentration

On calcul la concentration du GSH exprimée en nanomoles par milligramme de protéines (nmol/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{GSH} = \frac{\text{DO} \times \text{L} \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg prot}}$$

- DO: Densité optique;
- L : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation;

- 1.525: Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant;
- 13100: Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm;
- 0.8: Volume de l'homogénat;
- 0.5: Volume du surnageant.

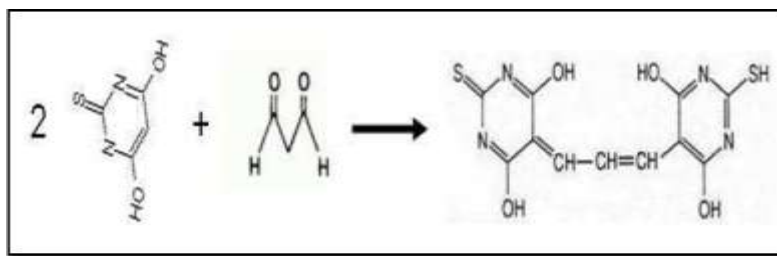
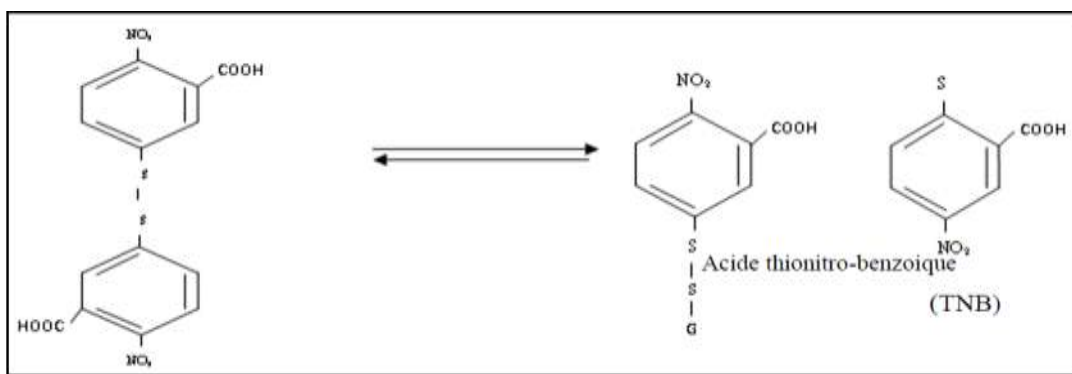


Fig.19 : Réaction entre deux molécules d'acide thiobarbiturique et le MDA.

Fig
·
20:
Ré
acti
on
d'E



Ilman

III.4.4. Détermination de l'activité de quelques enzymes antioxydantes au niveau tissulaire

III.4.4.1. Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)

Le terme glutathion peroxydase est réservé pour les sélénoprotéines catalysant la réaction :



a- Principe

L'activité de la glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée selon la méthode de Flohe et Gunzler (1984). Cette activité a été calculée par la diminution de taux de GSH réduit par rapport à la réaction non enzymatique « blanc ».

b- Mode opératoire

- ↪ Prélever 0.3 ml de l'homogénat;
- ↪ Ajouter 0.2 ml de GSH (2 mM);
- ↪ Ajouter 0.3 ml de la solution tampon PBS (0.1 M, pH 7.4);
- ↪ Ajouter 0.1 ml de la solution azoture de sodium (10 mM);
- ↪ Ajouter 0.1 ml de H₂O₂ (1 mM) pour initier la réaction;
- ↪ Incuber à 37°C, pendant 15 min;
- ↪ Ajouter 0.5 ml de TCA (5%) pour arrêter la réaction;
- ↪ Centrifuger à 3000 tours/min durant 10 min;
- ↪ Prélever 0.1 ml du surnageant;
- ↪ Ajouter 0.2 ml de la solution tampon PBS (0.1 M, pH 7.4);
- ↪ Ajouter 0.7 ml de DTNB (0.4 mg/ml);
- ↪ Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 420 nm.

c- Calcul de l'activité de la GPx

L'activité de la GPx exprimé en micromoles de GSH oxydé par nanogramme de protéines (nmol GSH/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{GPx (nmol GSH/mg prot)} = \frac{\text{X (nmol de GSH réduit)} \times 5}{\text{mg prot}}$$

$$\text{X} = \frac{\text{DO échantillon} - \text{DO étalon}}{\text{DO étalon}}$$

III.4.4.2. Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST)

Les glutathion S-transférases appartiennent à une famille d'enzyme multifonctionnelle essentiellement cytosolique, impliqués dans le transport et la biosynthèse intracellulaire, elles catalysent des réactions de conjugaison entre un peptide endogène, le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles.

a- Principe

La technique que nous avons utilisée pour doser l'activité de GST est celle de Habig *et al.*, 1974, elle mesure la cinétique de formation entre un substrat modèle, le chlorodinitrobenzene (C-DNB) et le glutathion, qui absorbe la lumière à 340 nm.

b- Mode opératoire

Réactifs	Blanc (μl)	Essai (μl)
Tampon phosphate (PBS) (0.1 M, pH 7.4)	850	830
CDNB (0.02 M)	50	50
GSH (0.1 M)	100	100
Homogénat	–	20

↪ La lecture de l'absorbance se fait à 340 nm après 30 s en intervalle de 3 min.

c- Calcul de l'activité de la GST

L'activité de la GST exprimée en nanomoles de C-DNB par minute par milligramme de protéines (nmol C-DNB/min/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{GST (nmol C-DNB/min/mg prot)} = \frac{\Delta \text{DO échantillon} - \Delta \text{DO Blanc}}{\varepsilon \times L \times \text{mg prot}}$$

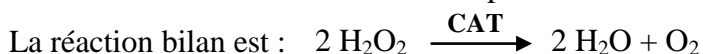
- $\Delta \text{DO échantillon} - \Delta \text{DO blanc}$: moyenne des DO des échantillons par minute – moyenne des DO des Blancs par minute ;
- ε : Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB, $\varepsilon_{\text{C-DNB}} = 9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$;
- L : Trajet optique de la cuve = 1cm

III.4.4.3. Dosage de l'activité de la catalase (CAT)

a- Principe

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces réactives et en accélérant la réaction spontanée de l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) toxique pour la cellule en eau et en oxygène (Aebi, 1984).

La réaction se fait en deux étapes :



L'activité de la CAT est mesurée à 240nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

b- Mode opératoire

Réactifs	Blanc (μl)	Essai (μl)
Tampon phosphate (PBS) (0.1 M, pH 7.4)	800	780
H ₂ O ₂ (0.5 M)	200	200
Homogénat	–	20

- ↳ Régler le zéro de l'appareil par la solution PBS ;
- ↳ La lecture de l'absorbance se fait à 340 nm après 15 s de délai et durent 60 s de mesure.

c- Calcul de l'activité de la CAT

L'activité de la CAT exprimée en micromoles de H₂O₂ par minute par milligramme de protéines (μmol de H₂O₂/min/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{CAT } (\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2/\text{min/mg prot}) = \frac{\Delta \text{DO} \times d}{\epsilon \times X \times L \times 0.02}$$

- Δ DO : variation de la densité optique par minute
- d : dilution de l'échantillon au début ;

- ε : coefficient d'extinction moléculaire de l'eau oxygénée, $\varepsilon \text{ H}_2\text{O}_2 = 0.043 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} = 0,043 \text{ } \mu\text{mol cm}^{-1} \text{ ml}^{-1}$;
- L : trajet optique de la cuve = 1 cm ;
- X : concentration de protéines en mg/ml.

III.4.5. Dosage des protéines totales au niveau tissulaire

a- Principe

La méthode utilisée pour le dosage des protéines totales chez les Levures est la méthode de Bradford (1976) qui utilise la BSA (Sérum Albumine Bovine) comme standard. C'est une méthode colorimétrique basée sur l'absorption du colorant Bleu de Coomassie G250, en milieu solide, sur les groupements basiques et / ou aromatiques des protéines et une mesure spectrophotométrique à 595 nm.

c- Mode opératoire

- ↳ Prélever 0.1 ml de l'homogénat ;
- ↳ Ajouter 5 ml de bleu brillant de Coomassie (BBC) (G250), comme réactif ;
- ↳ Agiter et laisser le mélange à température ambiante pendant 5 min pour la stabilisation de la couleur ;
- ↳ Mesurer l'absorbance de l'échantillon à 595 nm contre le blanc contenant l'eau distillée à la place de l'homogénat. La densité optique obtenue est rapportée sur la courbe d'étalonnage préalablement tracé (0 → 1 mg/ml de sérum albumine de bovin (BSA)).

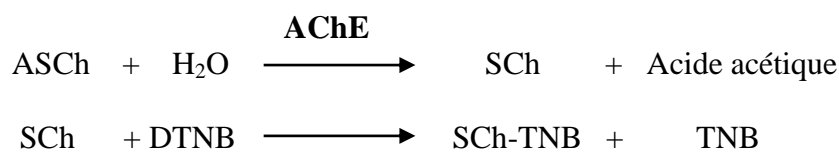
III.5. Dosage de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)

a- Principe

La méthode utilisée est dérivée de celle d'Ellman (Ellman et *al.*, 1961), adoptée au lecteur par Bocquené et Galgani (1998).

Ainsi l'acétylcholinestérase contenue dans la fraction des tissus va réagir avec l'acétylthiocholine (ASCh) en libérant l'acétate et la thiocholine (SCh). Cette dernière réagit à son tour avec le 5-5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoate) (DTNB) en donant du TNB produit de couleur jaune qui absorbe à 412 nm et dont la concentration est proportionnelle à la quantité d'enzymes présente dans le milieu.

La réaction peut se schématiser ainsi :



b- Mode opératoire

Réactifs	Blanc (μl)	Essai (μl)
Tampon phosphate (PBS) (0.1 M, pH 7.4)	1050	1000
DTNB	50	50
ASCh	50	50
Homogénat	–	50

- ↳ Les tubes sont bouchés puis agiter ;
- ↳ La lecture de l'absorbance se fait à 412 nm à un intervalle de temps de 25 min (lecture de la DO chaque 3min) contre la solution blanc.

c- Calcul de l'activité de l'AChE

L'activité de l'AChE exprimée en nanomoles par minute par milligramme de protéines (nmol/min/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{AChE (nmol/min/mg prot)} = \frac{\Delta \text{DO} / \Delta t \times 1691.18}{\text{mg prot.}}$$

- $\Delta \text{DO} / \Delta t$: variation de la densité optique par minute ;
- mg prot. : Concentration de protéines en mg/ml.

IV- TECHNIQUE HISTOLOGIQUE :

Afin de réaliser les coupes histologiques on a utilisé la technique classique de Houlot (Houlot, 1984) qui comporte les étapes suivantes :

- ❖ **Fixation** : la fixation des échantillons a été faite dans le Bouin alcoolique.
- ❖ Le foie ainsi que les reins et le cerveau de chaque rat sont retirés du Bouin alcoolique puis coupés à l'aide de couteaux tranchants afin de réaliser des prélèvements pour l'étude histologique avec une surface de 1 à 2 cm² et une épaisseur proche de 1.5 mm. Les pièces obtenues sont alors mises dans des cassettes spéciales à parois tournées qui permettent le passage de liquides.
- ❖ **Déshydratation** : Avant d'être coulé dans la paraffine, les prélèvements doivent d'abord subir une déshydratation par immersion successive dans des bains d'alcool de degré croissant (70%, 90%, 100%), pour des durées adaptées (2 heures pour chaque bain) ; puis dans des bains de toluène.
- ❖ **Inclusion et réalisation des blocs** : Après déshydratation les échantillons sont d'abord imprégnés de paraffine par passage dans plusieurs bains puis à l'aide d'une pince métallique, chaque pièce est extraite du dernier bain d'imprégnation et est versée rapidement entre des barres de Leuckart adaptables à la dimension de chaque pièce, et dont le fond contient de la paraffine qui en se solidifiant après refroidissement on se trouve en présence d'un bloc de paraffine dur, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse. Cette opération fait appel à des appareils « dit à inclusion » refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet, et une plaque métallique réfrigérée pour obtenir la solidification rapide du bloc de paraffine contenant le tissu. A la fin on accompagne le bloc d'une étiquette d'identification.
- ❖ **Confection des coupes** : Les coupes de bloc de paraffine sont faites grâce à un microtome qui permet de réaliser des tranches de section de 2 à 5 µm d'épaisseur. Ces coupes sont reliées entre elles sous forme de rubans ; les quels sont par la suite étalés sur des lames porte-objets, dépliés et fixés sur les lames par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

- ❖ **Coloration** : La coloration est fait selon la technique à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine) ; qui nécessite la présence de l'alcool acide (100ml éthanol à 70%+50ml HCL) ; l'eau ammoniacale (100ml d'eau distillé+2ml d'ammoniaque), et solution d'Eosine (100ml Eosine solution aqueuse à 3%,125ml alcool éthylique à 95%,375 ml d'eau distillée et 2 gouttes d'acide acétique).

La coloration suit les étapes suivantes :

1. Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau de robinet puis rincer à l'eau distillée.
2. Immerger dans un bain d'hématoxyline de Harris (15min) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux).
3. Différencier les coupes dans l'alcool acide, puis les rincer à l'eau de robinet en suite vérifier la différenciation au microscope.
4. Bleuir dans un bain d'eau ammoniacale.
5. Immerger dans un bain d'Eosine (15secondes à 2min) qui colore les structures acidophiles (cytoplasme) en rose.
6. Enfin, déshydrater, éclaircir et monter les prélèvements entre lame et lamelle puis passer à l'observation au microscope photonique, lequel est équipé d'un appareil photographique qui permet la réalisation des photographiées.

V- PRESENTATION DES RESULTATS ET ANALYSES STATISTIQUES

Les résultats ont été représentés sous forme de moyennes avec leur écart-type (Moy± écart-type).

Les analyses statistiques ont été effectuées pour une probabilité définie selon le test de la variable « t » de Student (grâce à l'Excel).

- ✓ * : Différence significative ($P \leq 0.05$) ;
- ✓ ** : Différence hautement significative ($P \leq 0.01$) ;
- ✓ *** : Différence très hautement significative ($P \leq 0.001$).

Avec P : Seuil de signification.

Résultats et discussion:

Chapitre I : Impact de diazinon sur la variation de quelques paramètres physiologiques et hématologiques : Effet protecteur de la supplémentation en vitamine E /et ou en curcumine.

1. Action sur la croissance corporelle :

Les variations de poids corporel des rats soumis à différents traitements sont représentées dans le tableau (01). Aucun décès n'a été observé dans tous les groupes au cours de la période expérimentale.

Dans notre travail on observe une diminution hautement significative ($P \leq 0,01$) du poids corporel des rats traités par le diazinon par rapport au témoin, une diminution significative ($P \leq 0,05$) chez tous les autres groupes comparés au groupe témoin. Par contre on remarque que la supplémentation en vitamine E et/ ou en curcumine éliminent les effets néfastes des pesticides, on note une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) chez les groupes traités par (DZN+Vit E et/ou la cur) comparant au groupe traité par le diazinon (Tab.01 ; fig.21).

Tab. 01: Variation de poids corporel PC (g) chez les rats témoins et les rats traités par diazinon, diazinon+vitamine E, diazinon+ curcumine et à la combinaison (diazinon+ vit E+ curcumine) après 03 semaines de traitement:

<i>Paramètres</i>	<i>lots expérimentaux</i>				
	<i>Témoin</i>	<i>DZN</i>	<i>DZN+Vit E</i>	<i>DZN+Cur</i>	<i>DZN+Vit E+Cur</i>
<i>Poids initial (g)</i>	211.4 ±0.33	211.4± 0.51	210.6±0.51	209.6±0.51	210.66± 0.68
<i>Poids final (g)</i>	243.8 ±10	222 ±13 (**)	233.9±14.2 (*,##)	230.25± 14(*,##)	254 ± 17(*,##)
<i>%</i>	-	-8,94%	-4,03%	-5,55%	+4,18%
<i>Gain de poids (g)</i>	+32.4	+10.6	+23.36	+20.65	+43.34

- ❖ DZN, DZN Vit E, DZN + Cur, DZN+ Vit E + Cur par rapport au témoin *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$).
- ❖ DZN+ Vit E, DZN+ Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport au DZN :(#: $p \leq 0.05$; ## : $p \leq 0.01$).

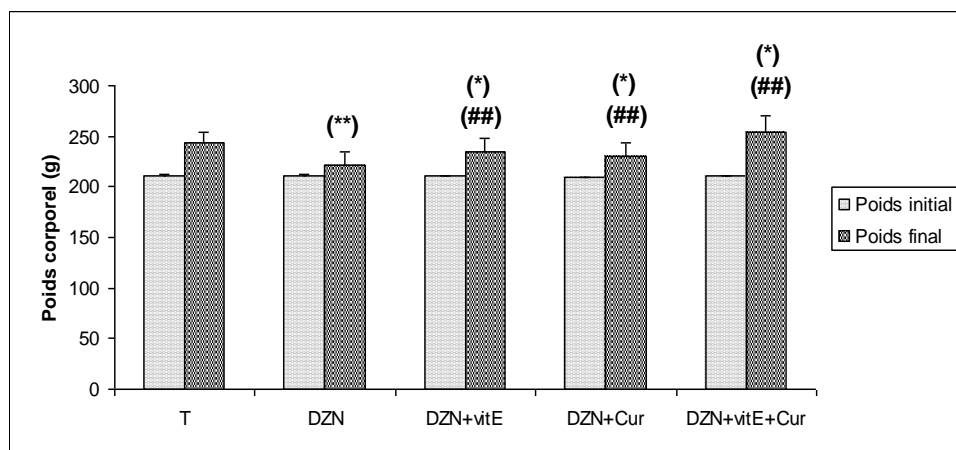


Fig. 21 : Variation du poids corporel final en (g) des rats témoins et les rats traités après 03 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN Vit E, DZN+ Cur, DZN+ Vit E+ Cur par rapport le témoin *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$).
- ❖ DZN+ Vit E, DZN+ Cur, DZN+ Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN :(#: $p \leq 0.05$; ## : $p \leq 0.01$).

2. Action sur la consommation quotidienne d'aliment et de l'eau de boisson:

On remarque que la consommation quotidienne d'aliment et de l'eau de boisson est diminuée chez les groupes traité par le diazinon et le groupe DZN- Cur / DZN-Vit E comparativement par le témoin

Tab.02: Variation de la consommation d'aliment (g/rat/j) et de l'eau de boisson (ml/rat/j) chez les rats témoins et les rats traités après 03 semaines de traitement.

Paramètres	Témoin	DZN	DZN+Vit E	DZN+Cur	DZN+Vit E+Cur
Aliment	20.48 ± 1.2	15.7 ± 1.5	11.81 ± 1.41 ^(*)	21.7 ± 1.3 ^(*)	18.6 ± 2.2
Eau	16.22 ± 2.6	15.75 ± 1.7	13.8 ± 1.3 ^(*)	12.5 ± 3.4 ^(*)	14.5 ± 1.8
Quantité de DZN digérée (mg/jour/rat)	–	1.6 ± 0.17	1.38 ± 0.13 ^(**)	1.25 ± 0.34 ^(**)	1.45 ± 0.18

- ❖ DZN, DZN + Vit E, DZN+ Cur, DZN+ Vit E+ Cur par rapport le témoin *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$).

3. Action sur quelques paramètres sanguins des rats témoins et rats traités après 03 semaines de traitement:

Le tableau (03) résume quelques paramètres sanguins des rats témoins et rats traités après 03 semaines de traitement. Dans cette expérience le diazinon provoque une réduction significative dans quelques paramètres tels que les globules rouges (GR) et l'hémoglobine (Hb) comparés par le témoin. Mais la co-administration de la vitamine E et/ou la curcumine avec le diazinon régule cette perturbation.

Tab.03: Variation de quelques paramètres hématologiques chez les rats témoins et les rats traités ; par le DZN, Vit E et la Cur et à la combinaison (diazinon, vitamine E, curcumine) après 03 semaines de traitement.

<i>Paramètres</i>	<i>Témoin</i>	<i>DZ</i>	<i>DZ+Vit E</i>	<i>DZ+ Cur</i>	<i>DZ+Vit E+Cur</i>
GR ($\times 10^6/mm^3$)	7.056 \pm 0.32	5.3 \pm 1	7.78 \pm 0.39 ^(#)	8.43 \pm 0.3 ^(**,#)	7.12 \pm 0.44
%	-	-24.88%	-10.26%	+19.47%	+0.90%
HB (g/100ml)	14.1 \pm 0.88	10.52 \pm 1.4 ^(*)	13.6 \pm 0.75	17.26 \pm 0.87 ^(**,# #)	13.18 \pm 0.92
%	-	-25.39%	-3.54%	+22.41%	-6.52%
HT (%)	39.8 \pm 1.0	27.5 \pm 5.5 ^(*)	41.54 \pm 1.9	49.44 \pm 3.5 ^(*)	38.6 \pm 2.5
%	-	-30.9%	+4.37%	+24.22%	-3.01%
VGM (μ^3)	52.82 \pm 0.47	51.7 \pm 0.84	53.34 \pm 0.74	53.34 \pm 0.23	54.04 \pm 0.39
%	-	-2.12%	+0.98%	+0.98%	+2.30%
TCMH (pg)	17.38 \pm 0.38	20.88 \pm 1.6	17.46 \pm 0.56	18 \pm 0.16	18.5 \pm 0.24
%	-	+20.13%	+0.46%	+3.56%	+6.44%
CCMH (%)	33.16 \pm 0.67	40.42 \pm 3.3	32.68 \pm 1.1	34.02 \pm 0.39	34.24 \pm 0.54
%	-	+21.89%	-1.44%	+2.59%	+3.25%

❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN+ Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le témoin *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$).

❖ DZN + Vit E, DZN +Cur, DZN+ Vit E + Cur par rapport le groupe traité par le DZN (:# : $p \leq 0.05$; ## : $p \leq 0.01$).

❖ Discussion:

Le diazinon (C₁₂H₂₁N₂O₃PS) est un insecticide organophosphoré utilisé pour lutter contre les insectes nuisibles dans le sol et la maison, ainsi que les insectes suceurs et broyeurs et les acariens dans une grande variété de cultures. Il est aussi utilisé comme ectoparasiticite pour l'animal. Le diazinon n'est pas très persistant dans le sol où sa dégradation chimique et biologique est rapide. La demi-vie de diazinon dans le sol varie de 21 à 80 jours selon le type de sol, sa teneur en eau, l'activité des microorganismes et la concentration du pesticide (FAO/OMS. 1970).

Les résultats de notre expérimentation suggèrent que l'administration de diazinon comme agent stressant provoque une diminution hautement significative de poids corporel par rapport à celle de témoin, mais aussi on note que la supplémentation en vitamine E /et ou en curcumine corrige la perte de poids.

La diminution du poids corporel peut être expliquée par la diminution de la prise alimentaire suite à l'intoxication par le diazinon. Nos résultats sont en accord avec les études de Grance et al. (2008) ; Meltem et Yusuf, (2011) et Alireza et al., (2011) qui ont montré que la croissance corporelle est affectée suite a l'intoxication par les pesticides.

Des recherches sur la lambda-cyhalothrin (pesticide) montrent une diminution significative en consommation d'aliment, d'eau de boisson et de poids corporel chez le rat et aussi des altérations de l'appétit dues à l'exposition à ce pesticide (Fetoui et al., 2008).

Par ailleurs, l'administration de la vitamine E et/ou la curcumine avec le diazinon a induit une amélioration de la consommation quotidienne d'aliment et une augmentation du gain de poids. Cette amélioration est due a l'effet protecteur de la vitamine E ainsi que de la curcumine contre la toxicité induite par les pesticides (Fetoui et al., 2008., Ismail et al., 2009; Sankar et al., 2010).

Les pesticides généralement et les insecticides organophosphorés spécialement provoquent des changements de paramètres hématologiques et biochimiques (Patil et al., 2003, Jacobsen et al., 2004; Kalender et al., 2005 ; 2006).

Nos résultats indiquent que l'administration de diazinon provoque une diminution significative de globules rouges (GR) et l'hémoglobine (Hb), cette perturbation érythrocytaire est expliquée par l'effet hémolytique et l'inhibition de l'érythropoïèse par le diazinon (Tehia et *al.*, 2007). nos résultats sont similaires avec ceux de Gupta et *al.*, (1982) qui ont traité les souris par le Nuvacron et le Furadan.

En revanche, plusieurs autres études ont montré que le diazinon provoque l'insuffisance rénale, cette pathologie est la cause principale de l'anémie hémolytique en diminuant la production des globules rouges suite d'une inhibition de la synthèse de l'érythropoïétine (hormone stimule l'érythropoïèse) (Albert et *al.*, 2003; kalender et *al.*, 2005).

Chapitre II : Hépatotoxicité induite par le diazinon: Effet protecteur de la supplémentation en vitamine E et /ou en curcumine.

1. Action sur le poids relatif du foie:

Nous avons suivi l'évolution des poids absolus (PA) et relatifs (PR) du foie chez les rats témoins et les rats recevant le diazinon, diazinon + la vitamine E, diazinon + la curcumine ou la combinaison entre le diazinon, vitamine E et curcumine.

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une diminution significative ($P \leq 0,05$) du poids relatif de foie chez le groupe traité par le diazinon à 10 mg/kg poids corporel (-21.79%), une augmentation chez le groupe traité par DZN+Vit E (-0.38%); DZN+ Cur (-6.4%) comparativement au groupe témoin, par contre chez le groupe traité par la combinaison DZN+ Cur +Vit E on note aussi une augmentation significative ($P \leq 0,05$) avec un pourcentage de (+43.27%) comparativement au groupe traité par le DZN (tab. 04, fig. 22).

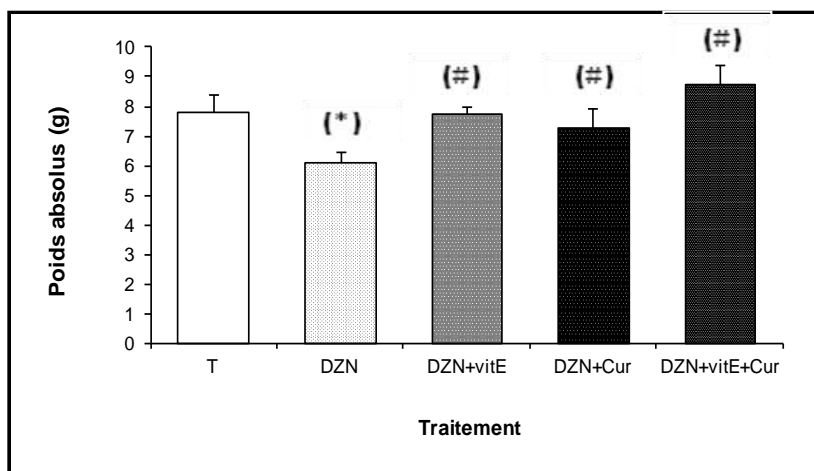


Fig. 22 : Variation du poids absolu du foie en (g) chez les rats témoins et les rats traités après 03 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN + Vit E, DZN+ Cur, DZN+ Vit E+ Cur vs le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$).
- ❖ DZN +Vit E, DZN+ Cur, DZN + Vit E+ Cur vs le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; ##: $p \leq 0.01$).

Les résultats obtenus pour le poids relatif du foie sont représentés dans le tableau (04).

Tab. 04 : Variation de poids relatif (PR) (g/100g de PC) du foie chez les rats témoins et les rats traités par le DZN et par la combinaison DZN / Cur ou/ et Vit E après 3 semaines de traitement.

Paramètres	lots expérimentaux				
	Témoin	DZN	DZN+ Vit E	DZN+ Cur	DZN +Vit E+ Cur
PR du foie (g/100g de PC)	3.2±0.6	2.7± 0.36 ^(*)	3.48 ± 0.17 ^(#)	3.3 ± 0.44 ^(#)	3.44 ±0.38 ^(#)
%	-	-21.79%	+8.75%	+3.12%	+12.05%

- ❖ DZN, DZN +Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E +Cur par rapport le témoin (*: p ≤ 0.05; **: p ≤ 0.01).
- ❖ DZN +Vit E, DZN+ Cur, DZN + Vit E + Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: p ≤ 0.05; ##: p ≤ 0.01).

2. Action sur certains biomarqueurs de la fonction hépatique :

Le tableau (05) résume quelques bio marqueurs de la fonction hépatique des rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

Tab.05 : Variation de quelques biomarqueurs de la fonction hépatique chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux				
	Témoin	DZN	DZN/Vit E	DZN/ Cur	DZN/Cur et Vit E
Glucose (g/l)	0.548 ± 0.03	0.651 ± 0.03 ^(**)	0.588 ± 0.06	0.565 ± 0.02	0.556 ± 0.01
%	—	+ 18.19%	+7.29%	+3.10%	+1.45%
bilirubine directe (mg/l)	2.20±0.49	1.90±0.24	2.10±0.55	1.80±0.24	2.10±0.44
%	—	-13.63%	-4.54%	- 18.81%	- 4.54%
Cholestérol (mmol/l)	1.4±0.12	1.9±0.23 ^(*)	1.5±0.12 ^(#)	1.4±0.08 ^(#)	1.4±0.13 ^(#)
%	—	+ 35.71%	+ 7.41%	00 %	00%
Triglycérides (mmol/l)	1.3±0.14	0.8±0.01 ^(*)	1.02±0.16	1.2±0.12	1.1±0.18
%	—	-38.46%	-21.53%	-7.69%	-15.38%
Protéines totales (g/dl)	14.5±0.78	16.26±0.76	15.50±0.70	15.32±0.75	15±0.61
%	—	12.13%	+6.89%	+5.65%	+3.44%
AST (U/L)	208±22	243.18±18 ^(**)	196.4±9.8 ^(###)	219.4±22 ^(##)	216.6±18 ^(##)
%	—	+ 16.57%	- 5.93%	+5.07%	+3.73%
ALT (U/L)	65.6±6.2	84.2±6.2 ^(**)	70.8±9.4 ^(#)	68.4±7.2 ^(###)	67.16±6.00 ^(#)
%	—	+28.35%	+7.92%	+4.26%	+2.37%
PAL (U/L)	563±51	776.01±11 ^(***)	474±97 ^(*,###)	503.6±38 ^(###)	509.2±9.1 ^(###)
%	—	+37.83%	- 15.45%	-10.55%	-9.55%
LDH (U/L)	2540±185	2795±71 ^(***)	2744±128 ^(**)	2690±184 ^(###)	2608±158 ^(*,###)
%	—	+10.03%	+8.03%	+5.90%	+2.67%

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: p ≤ 0.05; **: p ≤ 0.01 ; ***: p ≤ 0.001).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: p ≤ 0.05; # #: p ≤ 0.01 ; ###: p ≤ 0.001).

2.1. Concentration plasmatique en glucose

D'après les résultats obtenus, on observe une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) de la concentration plasmatique en glucose chez le groupe traité par le DZN (+18.19%) comparant au groupe témoin. Par contre, on enregistre un rétablissement par une diminution de la concentration plasmatique en glucose chez les groupes traités par la combinaison DZN+Vit E / (-9.67%) ou Cur (-13.21%) et DZN / Cur et Vit E (-14.59%) comparant aux rats traités par le DZN (tab.05 ; fig.23).

2.2. Concentration plasmatique en bilirubine directe

L'administration du DZN chez les rats induits une diminution de la concentration plasmatique en bilirubine directe (-13.63%). Parallèlement, on note une diminution chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (- 4.54%) ; DZN / Cur (-18.81%) et DZN / Cur et Vit E (-4.54%) comparativement aux rats témoins (tab.05 ; fig.24).

2.3. Concentration plasmatique en cholestérol :

Les résultats montrent une augmentation significative ($P \leq 0.05$) des taux sériques en cholestérol chez le groupe traité par le DZN (+35.71%), tandis qu'on enregistre une diminution significative ($P \leq 0.05$) du cholestérol chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-21.05%) ; DZN / Cur (-26.31%) et DZN / Cur et Vit E (-26.31%) par rapport au lot traité par le DZN. (tab.05 ; fig.25).

2.4. Concentration plasmatique en triglycérides

Les résultats montrent une diminution significative ($P \leq 0.05$) de taux sériques en triglycérides chez le groupe traité par le DZN (-38.46%), aussi on enregistre une diminution de taux sériques en triglycéride chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-21.53%) ; DZN/ Vit E (-7.69%) et DZN / Cur et Vit E (-15.38%) par rapport au lot témoin.

Par contre, on note un rétablissement par une augmentation de taux sériques en triglycérides chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+27.5%) ; DZN / Cur (+50%) et chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur et Vit E (+37.5%) par rapport au lot traité par le DZN. (tab.05 ; fig.26).

2.5. Concentration plasmatique en protéines totales :

Nos résultats montrent que l'administration du DZN chez les rats provoque une augmentation de la teneur plasmatique en protéines totales (+12.13%) et une augmentation aussi chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+6.89%) ; DZN / Cur (+5.65%) et la combinaison DZN / Vit E/ Cur (+3.44%).

On note aussi, une diminution non significative des protéines totales chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-4.26%) ; DZN / Cur (-5.78%) et DZN/Cur / Vit E (-7.74%) comparant aux rats traités par le DZN. (tab.05 ; fig.27).

2.6. Activité des transaminases

Le traitement des rats par le DZN provoque une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) des transaminases ; ALAT (+28.35%) et ASAT (+16.57%) comparant au groupe témoin.

On note une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) et hautement significative ($P \leq 0.01$) de ASAT chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-19.23%) ; DZN/ Cur (-9.77%) et DZN / Vit E/ Cur (-10.93%), respectivement, et une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) de ALAT chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-15.91%) , hautement significative ($P \leq 0.001$) de ALAT chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (-18.76%) et une diminution significative ($P \leq 0.05$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E/ Cur (-20.23%) comparant aux rats traité par le DZN. (tab.05 ; fig.28 et 29).

2.7. Activité de la phosphatase alcaline (PAL)

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL) chez le lot traité par le DZN (+37.83%) par rapport au lot témoin. On note aussi, une diminution significative ($P \leq 0.05$) de l'activité de PAL chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-15.45%), une diminution non significative chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (-10.55%) et chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E/ Cur (-9.55%) comparant aux rats témoins.

On enregistre un rétablissement par une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'activité de PAL chez les rats traités par la combinaison

DZN / Vit E (-38.91%); DZN/ Cur (-35.10%) et DZN / Cur / Vit E (-34.38%) par rapport au lot traité par le DZN. (tab.05 ; fig.30).

2.8. Activité du lactate déshydrogénase (LDH)

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'activité du lactate déshydrogénase (LDH) chez le lot traité par le DZN (+10.03%) par rapport au lot témoin, une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) et significative chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+8.03%) et DZN / Cur et Vit E (+2.67%) par rapport au lot témoin.

Par contre, on enregistre un rétablissement par une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'activité du LDH chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (-3.75%) et DZN / Cur / Vit E (-6.96%) par rapport au lot traité par le DZN. (tab.05; fig.31).

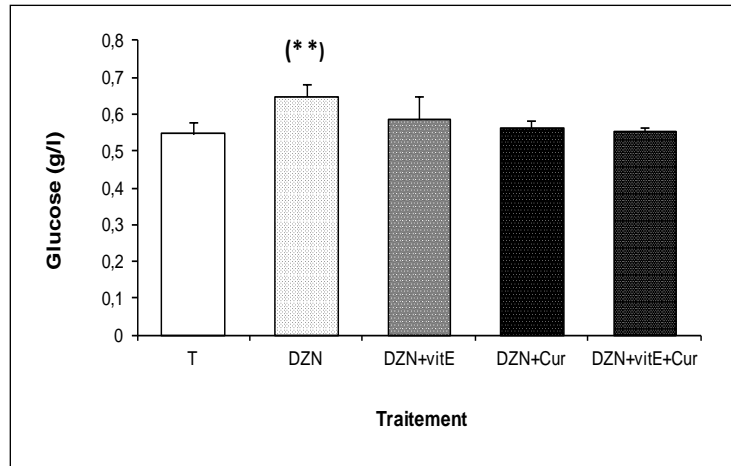


Fig. 23: Variation de la concentration plasmatique en glucose (g/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

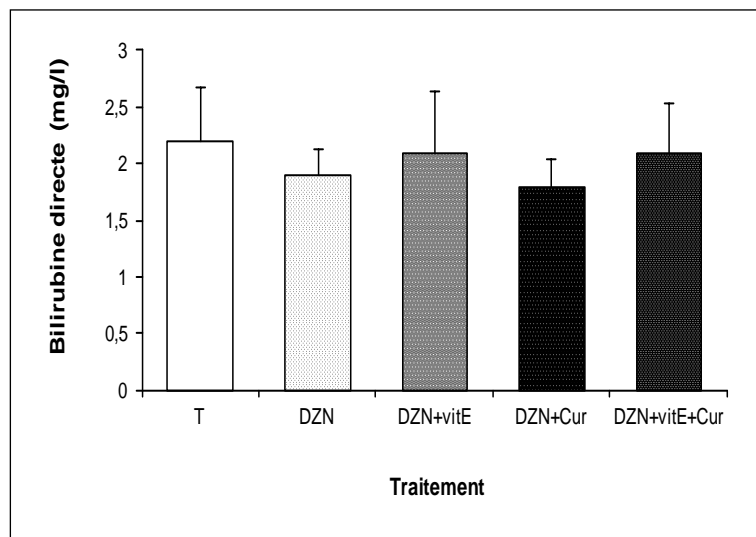


Fig. 24: Variation de la concentration plasmatique en bilirubine directe (mg/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement

- ❖ DZN, DZN Vit E, DZN Cur, DZN Vit E Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN Vit E, DZN Cur, DZN Vit E Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; ##: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

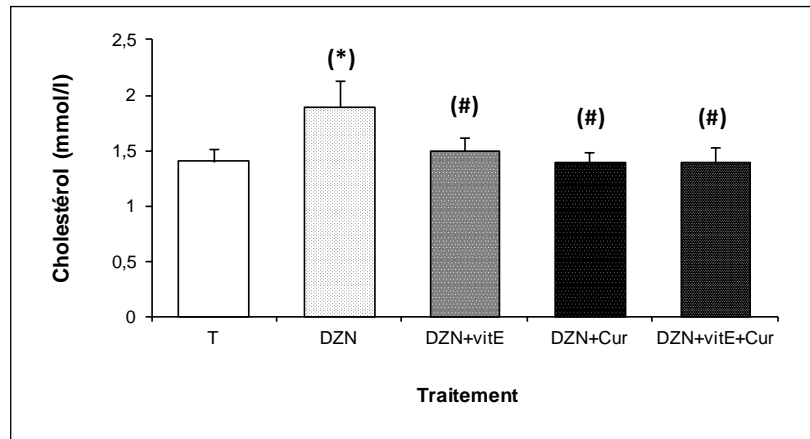


Fig. 25: Variation de la concentration plasmatique en cholestérol (m mol/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

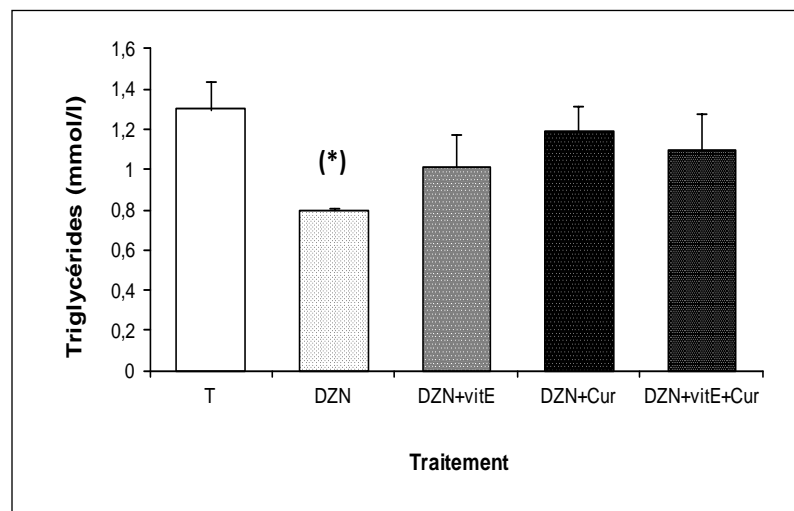


Fig. 26: Variation de la concentration plasmatique en triglycérides (m mol/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN + Vit E, DZN+ Cur, DZN + Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; # #: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

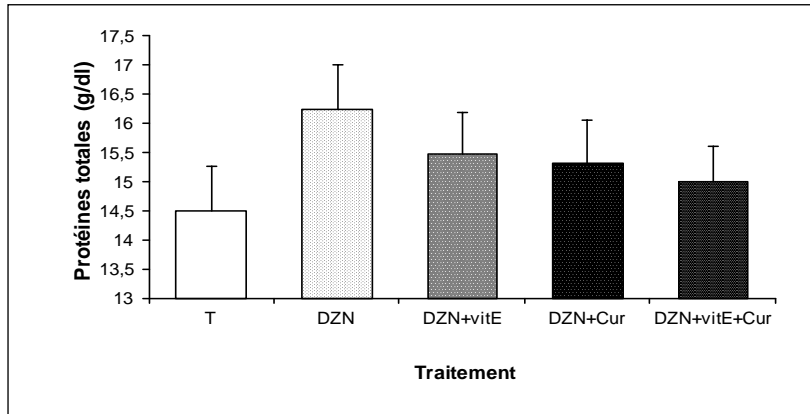


Fig. 27: Variation de la concentration plasmatique en protéines totales (g/dl) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

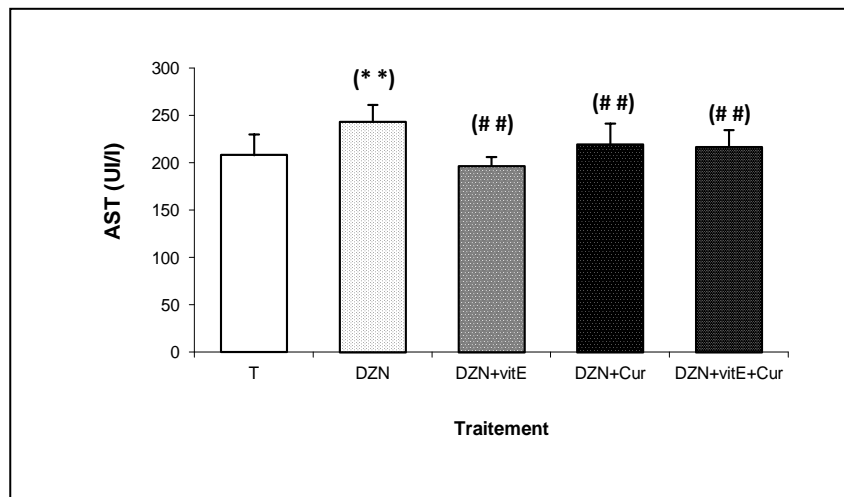


Fig. 28: Variation de l'activité enzymatique de l'AST (U/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement

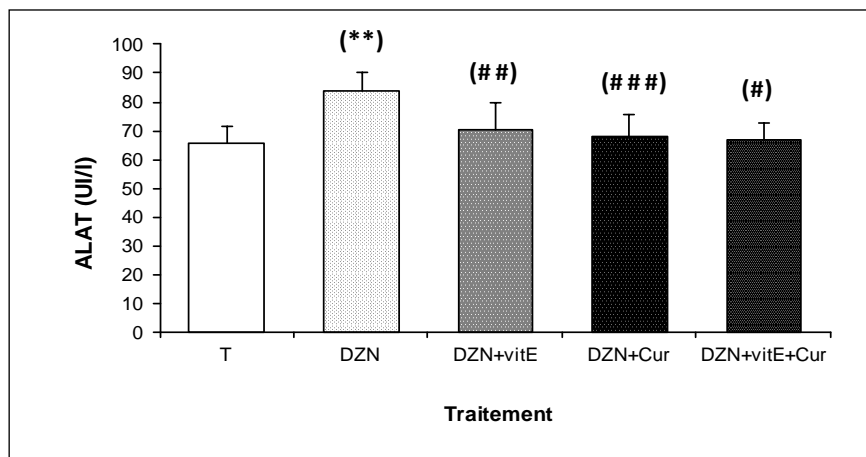


Fig. 29 : Variation de l'activité enzymatique de l'ALAT (U/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN + Vit E, DZN+ Cur, DZN + Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; # #: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

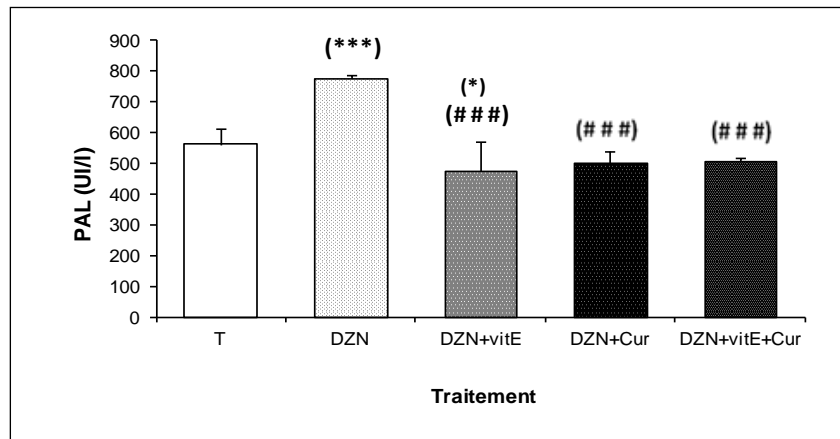


Fig. 30 : Variation de l'activité enzymatique du PAL (U/l) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement

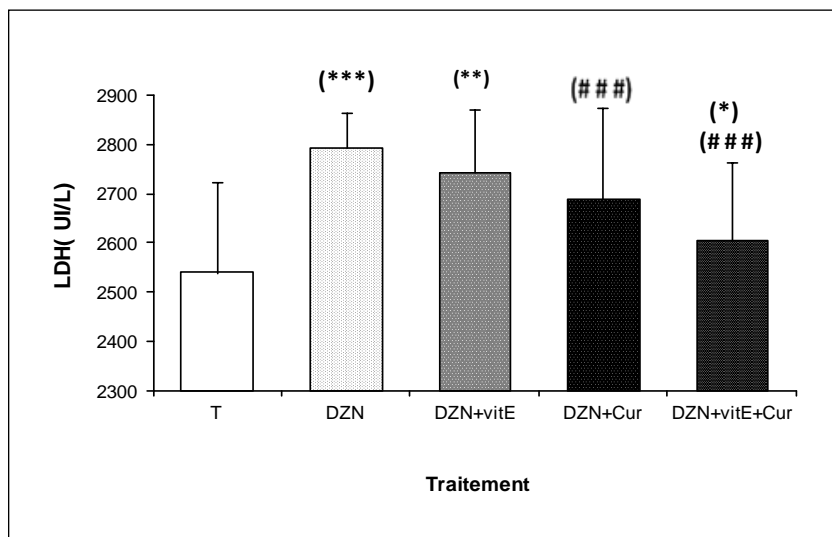


Fig. 31: Variation de l'activité enzymatique de l' LDH (U/L) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN + Vit E, DZN+ Cur, DZN + Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; #: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

3. Impact sur l'histoarchitecture du foie :

L'observation microscopique dans notre étude, montre des changements histologiques du foie chez les rats traités par le diazinon à 10 mg/kg de poids corporel, caractérisés par la présence de vacuolisation au niveau des hépatocytes, ainsi qu'une dilatation des espaces sinusoïdales comparativement aux témoins. On note aussi, une congestion vasculaire au niveau de la veine porte. L'installation de changement de l'histoarchitecture du foie pourrait être due essentiellement à un effet toxique de diazinon qui touche la structure des hépatocytes.

Par contre, chez les rats traités par la combinaison entre le diazinon et la vitamine E on note des espaces portes très dilatés comblés parfois par un infiltrat inflammatoire plasmocytaire, nombreux vaisseaux congestifs dilatés, nécrose septale mais une architecture normale.

Chez les rats traités par le diazinon et la curcumine, on voit, des espaces portes très dilatés comblés par des vaisseaux congestifs, nécrose moins de groupe traité par le diazinon et la vitamine E qui assure les effets bénéfiques de la curcumine.

Chez les rats traités par le diazinon, vitamine E et la curcumine on note une architecture normale similaire aux rats témoins.

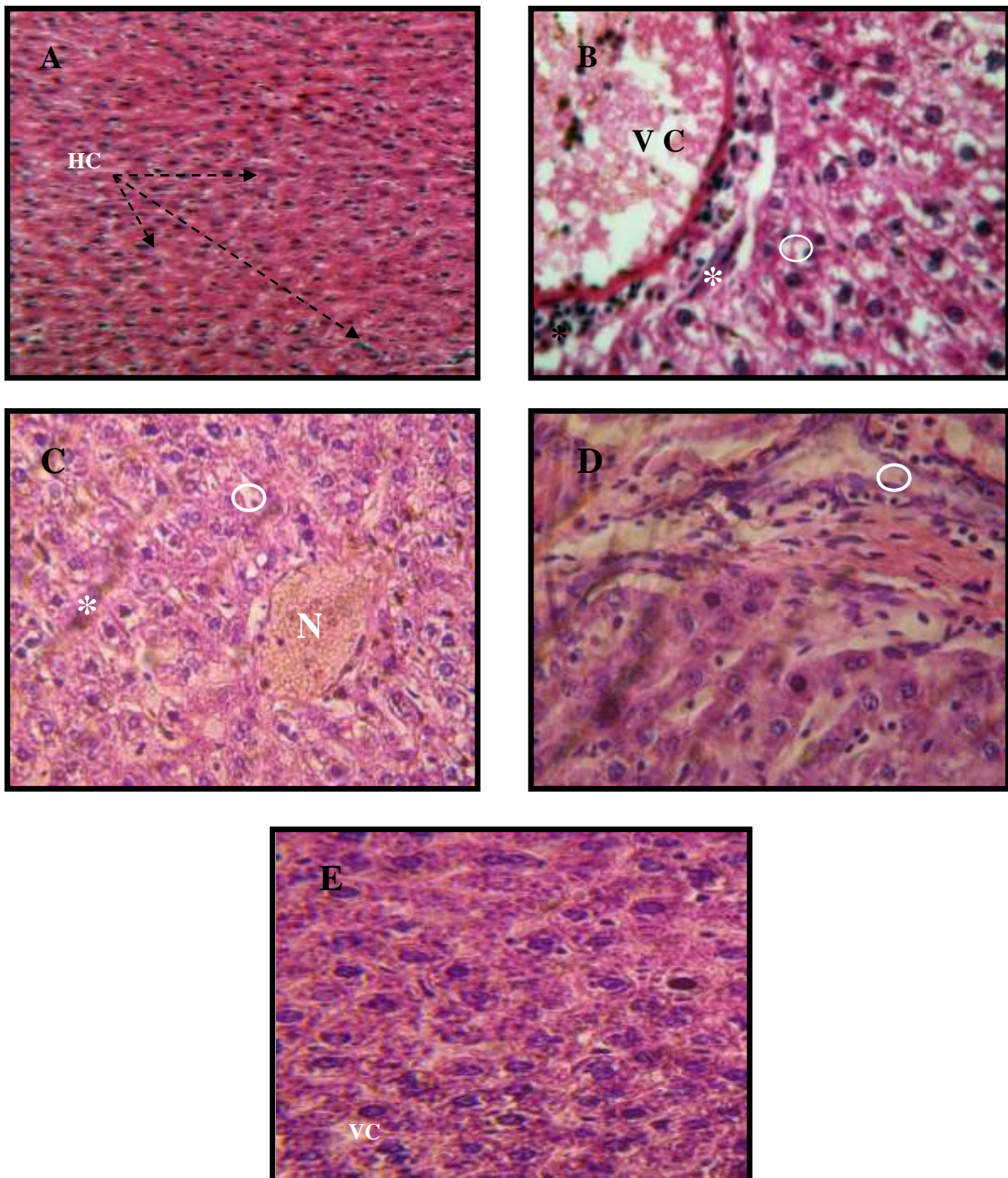


Fig. (32) : Histopathologie du foie chez les rats témoins et les rats traités après 03 semaines de traitement.

A : Témoin, B : DZN, C : DZN+Vit E, D : DZN+Cur, E : DZN+Vit E+Cur. Coloration, Hématoxyline-éosine. Microscopie optique (X400).

*Légende : VC : veine centrolobulaire., Hc : hépatocyte., ○ : dilatation., * : congestion vasculaire., N: nécrose.*

❖ Discussion:

Les pesticides, largement utilisés par les agriculteurs du monde entier. Ils ont été détectés dans les eaux de puits et certaines plantes. Les insecticides ; même dans des concentrations très basses, interfèrent avec le métabolisme basal (Al-Shinnawy, 2008).

Plusieurs études ont prouvé que les insecticides peuvent altérer les paramètres biochimiques chez des animaux d'expérience (Garg et *al.*, 2009, 2009a ; Karami-Mohajeri et Abdollahi, 2011).

L'administration de diazinon à raison de 10 mg/ kg de poids corporel par voie orale, pendant 03 semaines chez les rats mâles de la souche wistar a provoquée une perturbation au niveau des paramètres biochimiques.

L'analyse de nos résultats montre une augmentation hautement significative de la concentration sérique du glucose chez les rats traités par le DZN. Des études réalisées par Brand et al, (1974) ont montré une augmentation de l'activité de certains enzymes nécessaires à la gluconéogenèse, comme la fructose 1, 6 di phosphatase et la phosphoenol pyruvate carboxykinase.

D'autres études ont aussi montré une augmentation de glucose après exposition à d'autres insecticides comme les carbamates : le thiodicarbe (Al-Shinnawy, 2008) et le carbamate 8-hydroxy quinaldine *N-N'*-diméthyle-carbamate diméthyle sulfate (Zaahkouk et *al.*, 2000) et de BUN par d'autres insecticides comme le lambda-cyhalothrine ; pyréthroïde insecticide (Fetoui et *al.*, 2010).

De plus, autres études (Anichkov et *al.*, 1962 ; Haynes and Berthret, 1957) ont montré que l'augmentation du taux de glucose, est la conséquence de l'effet inhibiteur de diazinon sur l'activité d'enzyme cholinestérase, donc l'accumulation de l'acétylcholine au niveau des sites neurologiques, cette accumulation a un effet stimulateur sur l'adéno hypophyse en libérant l'ACTH , ce dernier stimule la glande surrénale et donc la sécrétion des corticostéroïdes qui influencent le métabolisme glucidique (Matin et *al.*, 1989).

La bilirubine est l'un des bio marqueurs les plus sensibles et directement impliqués dans l'ampleur des dommages et de la toxicité hépatique.

Nos résultats, montrent une diminution en bilirubine chez les rats traités par le DZN. Par contre d'autres études montrent une augmentation en bilirubine chez les animaux traités par d'autres pesticides (Yousef et *al.*, 2003 ; El-Demerdash et *al.*, 2004 ; Yousef, 2004 ; Ben Amara et *al.*, 2011).

L'induction de la bilirubine plasmatique indique le dysfonctionnement dans le foie des lapins (El-Zahar et *al.*, 1996) et/ou peut être résulter de la production accrue de bilirubine suite à l'hémolyse après l'exposition des rats à l'insecticide (Rana et *al.*, 1996). Due à leur rôle important dans le métabolisme des xénobiotiques environnementaux, le foie est en grand risque au dommage et à l'hépatotoxicité.

Les transaminases ; AST et ALT, PAL et LDH dans le sérum reflètent l'activité fonctionnelle du foie. Ces enzymes sont utilisées comme des indicateurs des dommages cellulaires et de l'altération de la perméabilité membranaire (Gaw, 2004).

Nos résultats montrent qu'il y a une augmentation de l'activité enzymatique des transaminases et de LDH chez les rats traités par le diazinon.

Le diazinon induit une augmentation hautement significative et très hautement significative de l'activité enzymatiques des transaminases et lactate déshydrogénase LDH respectivement, cela est lié à l'effet hépatotoxique de diazinon et ses métabolites, particulièrement le diazoxon, ou l'accumulation de ce dernier provoque une lésion des hépatocytes qui déversent leurs contenus dans le sang.

Les changements dans le sérum des activités enzymatiques de ces enzymes sont conformes avec plusieurs recherches suite à l'exposition au DZN (Sharma et *al.*, 2005) . nos résultats sont accord avec (Abdulaziz et Hristev, 1996) et confirmé par les études de (Kalender et *al.*, 2005; Fan et *al.*, 2009) et plusieurs d'autres études réaliser à différents autres insecticides (Gupta et *al.*, 1993 ; Choudhary et *al.*, 2003 ; Ksheerasagar et Kaliwal, 2004 ; Al-Shinnawy, 2008 ; Brkić et *al.*, 2008 ; Fatoui et *al.*, 2009 ; Saoudi et *al.*, 2011).

De plus, nos résultats montrent, une augmentation très hautement significative pour l'ALAT que pour l'AST, cela signifie que l'ALAT est plus spécifique au niveau du foie que l'AST. on remarque que la co- administration de la vitamine E et la curcumine avec le diazinon peut régler le taux plasmiq ue de AST, ALAT, PAL et LDH, indiqué que les antioxydants va protéger la fonction hépatique.

Les phosphatases sont des enzymes critiques importantes dans le système biologique, responsables du métabolisme, de la détoxification, et de la biosynthèse des macromolécules énergiques pour les différentes fonctions importantes. L'interférence avec ces enzymes mène aux perturbations biochimiques, aux lésions tissulaires et la perte de fonction cellulaire.

La PAL est responsable de la dégradation des esters de phosphate en plus, elle est comptée comme indicateur sur les voies d'absorption et de transport dans la membrane cellulaire.

Le changement de l'activité de PAL chez les rats provoqué par le DZN est conforme aux conclusions rapportées par Messarah et *al.* (2012), Patil et *al.* (2008)

Szilagyi et *al.* (1994) ont référé les niveaux élevés de la PAL à une activité ostéoblastique accrue, provoquées par perturbation de la formation de l'os. Rahman et *al.*, (2000) ont montré que la diminution des activités de la PAL et de la phosphatase acide (PAC) dans différents tissus peut être due à la plus grande perméabilité de la membrane plasmatique ou de la nécrose cellulaire, montrant l'état d'un stress dans l'animal traité. En outre, ils ont rapporté que l'augmentation de leurs activités dans le sérum peut être due à la nécrose des tissus mous.

D'autres études ont aussi montré l'augmentation de l'activité plasmatique de PAL suite à l'exposition aux carbamate insecticides ; comme le carbofuran (Pach et *al.*, 1998 ; Brkić et *al.*, 2008) et le carbaryl (Sharma, 1999 ; Eraslan et *al.*, 2009).

L'analyse de nos résultats, montrent que l'administration de diazinon provoque une augmentation de taux sérique de cholestérol total, ces résultats sont confirmés par Ashgar et *al.* (1994), qui ont déterminé que le taux sérique de cholestérol total va augmenter chez

les lapins traité par le parathion de methyl. Cette augmentation est liée par l'augmentation de synthèse de cholestérol du foie. (Enan et *al.*, 1987).

De plus on note que l'augmentation de taux sérique de cholestérol est associée à la diminution du triglycéride (Saoudi et *al.*, 2011).

Cette perturbation a été prouvée par l'augmentation de la concentration hépatique en protéines carbonyle dans l'étude de Manawadi et Kaliwal. (2010) suite à l'exposition aux pesticides. Parmi les diverses modifications oxydantes des acides aminés dans les protéines, la formation des protéines carbonyle peut être un biomarqueur tôt de l'oxydation des protéines par les ERO. Ces derniers sont connus pour modifier ou inactiver les protéines dans une variété des voies. Généralement, les ERO peuvent causer des modifications réversibles et/ou irréversibles sur les protéines sensibles.

De plus, on note que la vitamine E et la curcumine sont des antioxydants qui ont un effet protecteur contre la cytotoxicité induite par les xénobiotiques (Aldana et *al.*, 2001; Altuntas et Delibas, 2002).

En ce qui concerne les effets sur le poids relatif du foie, nous avons enregistré une augmentation, cette dernière peut être due à l'accumulation de diazinon dans le foie et les autres organes, ces résultats sont d'accord avec (Grance et *al.*, 2008) et confirmé par les études de (Benerjee et *al.*, 1999; Ogtutcu et *al.*, 2006; Tayeb et *al.*, 2010).

Chapitre III : Néphrotoxicité induite par le diazinon : Effet protecteur de la supplémentation en vitamine E et/ou en curcumine.

1. Action sur les poids absolu et relatif des reins :

Les résultats obtenus montrent une augmentation non significative du poids absolu des reins chez le groupe traité par le DZN comparant au groupe témoin (+5.38%), par contre on enregistre un rétablissement par une diminution non significative du poids absolu des reins chez les groupes traités par la combinaison DZN / Vit E (-3.72%) et DZN / Cur (-1.78%) ou DZN / Cur et Vit E (-1.62%), respectivement comparant aux rats traités par le DZN (fig. 33).

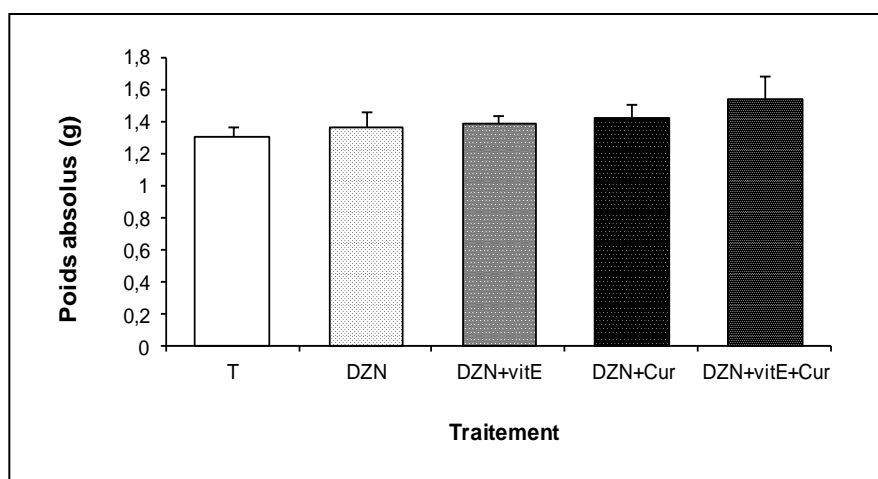


Fig. 33 : Variation du poids absolu des reins en (g) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

Les résultats obtenus pour le poids relatif des reins sont représentés dans le tableau.

Tab.06 : Variation de poids relatif (PR) (g/100g de PC) des reins chez les rats témoins et les rats traités par le DZN et par la combinaison DZN / Vit E et/ou Cur après 3 semaines de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux				
	Témoin	DZN	DZN/Vit E	DZN/ Cur	DZN/Cur et Vit E
PR des reins	0.534 ± 0.06	0.617 ± 0.08	0.594 ± 0.05	0.606 ± 0.09	0.607 ± 0.14
%	—	+15.54%	+11.23%	+15.73%	+13.67%

2. Action sur certains biomarqueurs sanguins de la fonction rénale :

Le tableau (07) résume quelques bio marqueurs sanguins de la fonction rénale des rats témoins et traités après 3 semaines de traitement.

Tab.07 : Variation de quelques bio marqueurs sanguins de la fonction rénale chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux				
	Témoin	DZN	DZN/Vit E	DZN/ Cur	DZN/Cur et Vit E
Urée (mg/dl)	40.42±06.59	35.38±4.37	43.04±7.99	50.5±8.2	30.35±4.74
%	—	-12.46%	+6.48%	+24.93%	-24.91%
Acide urique (mg/dl)	2.97±0.59	2.72±0.65	5.82±1.38 ^(* * # #)	3.37±0.64	3.67±0.68
%	-	-8.41%	+95.95%	+13.46%	+23.56%
Créatinine (mg/dl)	42.2±3.3	50.80±3.5 ^(*)	35.80±2.2 ^(*)	44.8±1.4	37.0±0.77
%	-	+20.37%	-15.16%	+6.16%	-12.32%

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: p ≤ 0.05; **: p ≤ 0.01 ; ***: p ≤ 0.001).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: p ≤ 0.05; # #: p ≤ 0.01 ; ###: p ≤ 0.001).

2.1. Concentration plasmatique en urée et acide urique :

Nos résultats montrent une diminution non significative du taux sérique en urée (-12.46%) et en acide urique (-8.41%) chez le groupe témoin, tandis qu'on enregistre une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) de l'acide urique chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+95.95 %) par rapport au lot témoin.

Par contre, on note un rétablissement par une augmentation non significative chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+21.65%); chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (+42.73%) et une diminution non significative chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E / Cur (-14.21%) de l'urée par rapport au lot traité par le DZN. On note aussi un rétablissement par une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+113.97%); une augmentation non significative chez les rats traités par la combinaison

DZN / Cur (+23.89%) et chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E et Cur (+34.92%) par rapport au lot traité par le DZN (tab. 07 ; fig. 34 et 35).

2.2. Concentration plasmatique en créatinine:

Nos résultats montrent une augmentation significative ($P \leq 0.05$) de taux sérique en créatinine (+20.37%) chez le groupe traité par le DZN, une augmentation non significative chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (+6.16%) comparant au groupe témoin, en revanche, on note une diminution significative ($P \leq 0,05$) de taux sérique en créatinine (-15.16%) chez les rats traités par DZN / Vit E et une diminution non significative chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur et Vit E (-12.32%) comparant au groupe témoin.

Par contre, on enregistre un rétablissement par une diminution non significative chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-29.52%) ; DZN / Cur (-11.81%) et DZN / Vit E/ Cur (-27.16%) par rapport au lot traité par le DZN. (tab. 07; fig. 36).

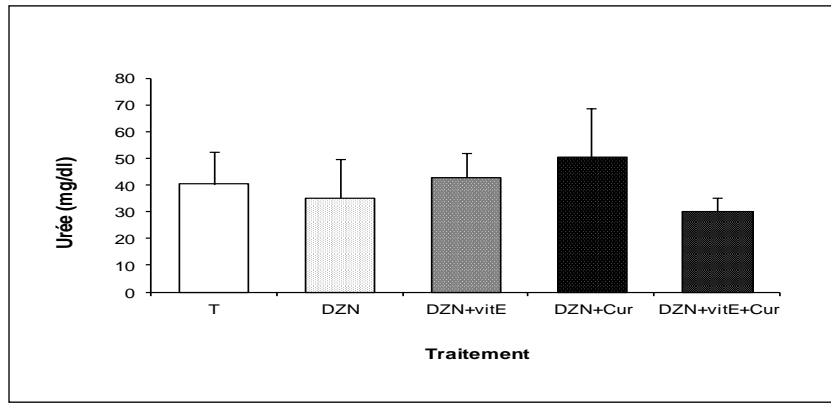


Fig.34 : Variation de la concentration plasmatique en urée (mg/dl) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

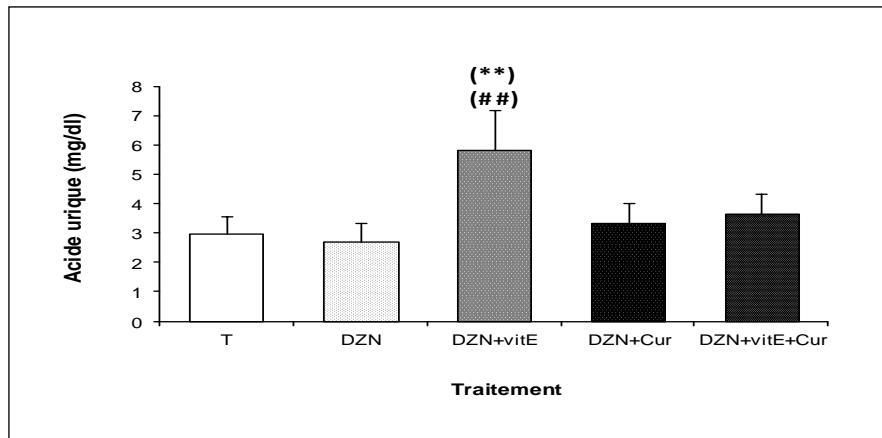


Fig. 35 : Variation de la concentration plasmatique en acide urique (mg/dl) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

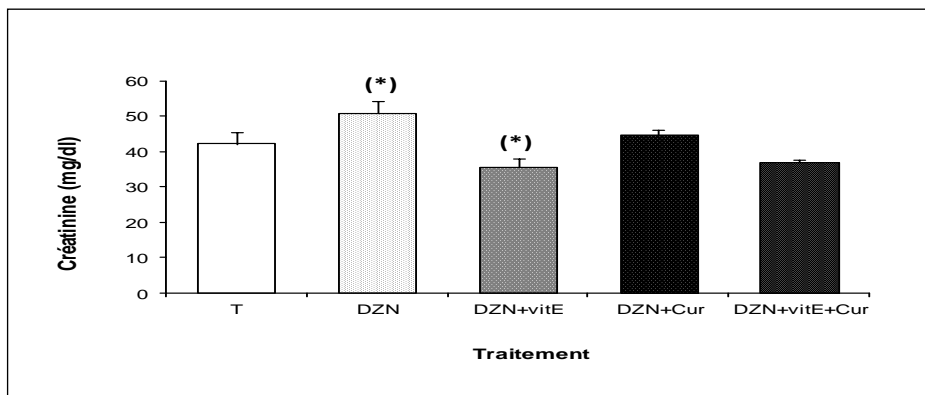


Fig. 36 : Variation de la concentration plasmatique en créatinine (mg/dl) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; # #: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

3. Impact sur l'histoarchitecture des reins :

L'observation microscopique du rein des rats traités par le diazinon à 10 mg/kg de poids corporel pendant 21 jours, montre une altération structurale des reins qui est marquée par la présence d'une vacuolisation cytoplasmique au niveau des cellules épithéliales des tubules proximaux des rats traités par le diazinon, comparativement aux témoins.

Chez les rats traités par la combinaison entre le diazinon et la vitamine E, on note une structure normal, par contre l'observation microscopique chez les rats traités par le diazinon et la curcumine, montre des vaisseaux congestifs entres les tubes contournés proximaux et distaux et un infiltrat inflammatoire lympho –plasmocytaire, mais le groupe ou on combine le diazinon par la vitamine E et la curcumine en voit une architecture normale similaire aux rats témoins.

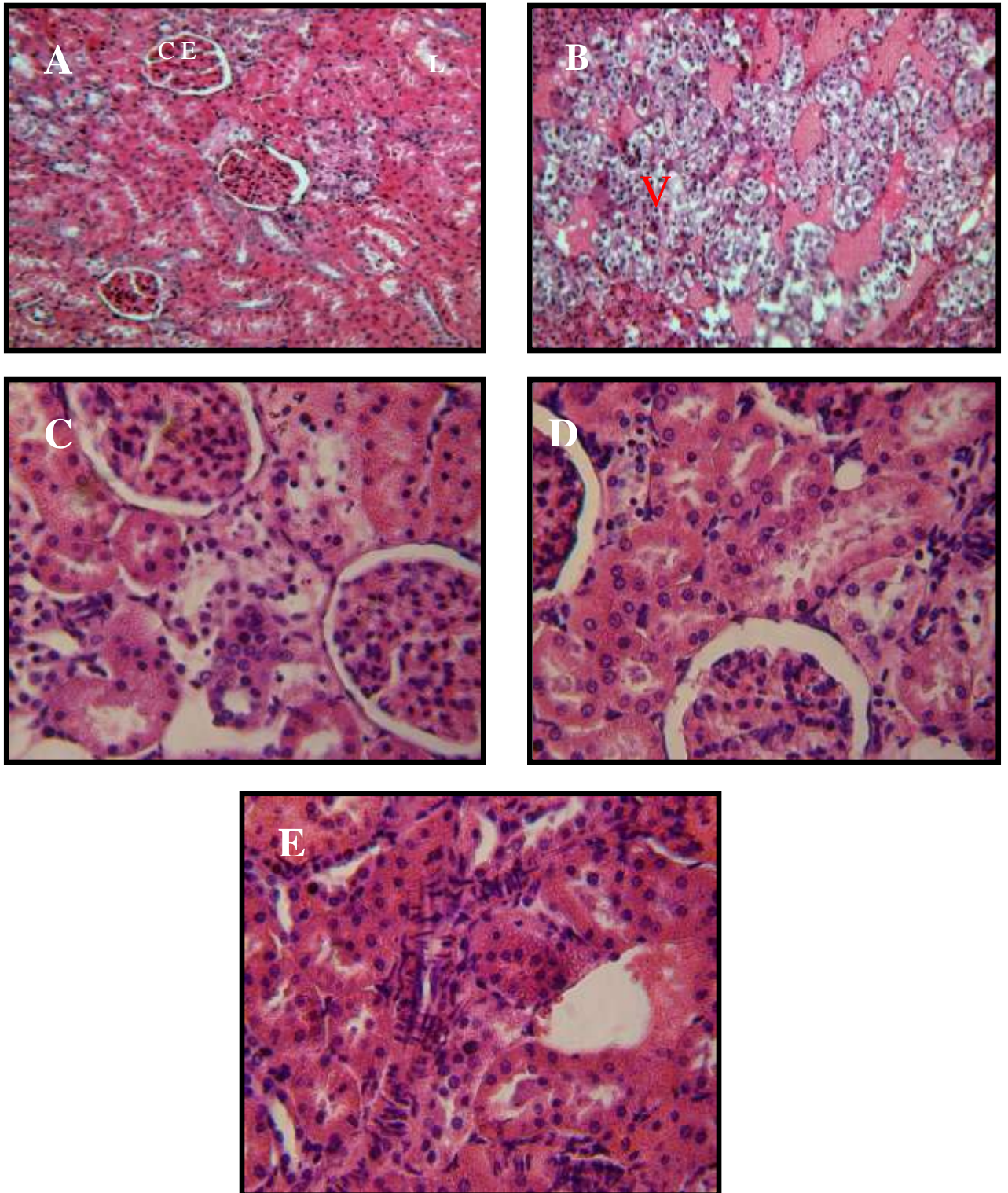


Fig. (37) : Histopathologie des reins chez les rats témoins et les rats traités après 03 semaines de traitement.

A : Témoin ; B : DZN ; C : DZN+Vit E ; D : DZN + Cur ; E : DZN+ Vit E+ Cur.
CE: Cellule épithéliales, L: lumière des reins., V: vacuolisation.

❖ Discussion :

Le rein est un organe critique de cible pour les composés xénobiotiques notamment les polluants environnementaux en conséquence du volume élevé du sang supplémenté et au rôle qu'il joue en concentrant les solutés. Cette susceptibilité du rein à la toxicité produit une variété d'effets toxiques rénaux impliquant les cellules tubulaires et le glomérule (Mohamed et *al.*, 2003).

L'estimation des marqueurs rénaux comme la créatinine, l'urée et l'acide urique dans le sérum des animaux d'expérience confirment les dommages rénaux.

Nos résultats montrent que l'administration de diazinon provoque une diminution de taux sérique en urée et en acide urique, associé avec une augmentation de taux sérique en créatinine qui se considère comme un biomarqueur de la dysfonction rénale et les dommages rénaux provoqués par le diazinon (Riadh et *al.*, 2008).

L'urée et la créatinine ce sont des paramètres essentiels pour évaluer la fonction rénale et la filtration glomérulaire (Finco, 1997). La diminution de l'urée et l'acide urique explique l'augmentation des protéines totales qui se dégrade normalement pour donner les acides aminés puis l'urée et la créatinine.

Chapitre IV : Stress oxydant induit par le diazinon : Effet protecteur de la supplémentation en vitamine E et/ou en curcumine.

1. Effet sur les taux de MDA et de GSH tissulaires :

La variation des taux de MDA et de GSH des organes (foie, reins et cerveau) et des érythrocytes des rats traités et témoins après 3 semaines de traitement sont montrés dans le tableau (08).

Tab.08: Variation de l'MDA (nmol/mg prot.) et du glutathion réduit (nmol/mg prot.) dans les organes (Foie, reins et cerveau) et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

Paramètres	Organes	Lots expérimentaux				
		Témoin	DZN	DZN/Vit E	DZN/ Cur	DZN/Vit E /Cur
MDA (nmol/mg protéine)	Foie	0.201±0.045	0.551±0.09 ^(***)	0.349±0.035 ^(**, #)	0.277±0.031 ^(*, #)	0.272±0.041 ^(*, ##)
	%	—	+174.12%	+73.63%	+37.81%	+35.32%
	Reins	0.146±0.014	0.31±0.046 ^(**)	0.213±0.025 ^(**)	0.145±0.012 ^(*, ##)	0.203±0.14 ^(*, #)
	%	—	+112.32%	+45.89%	-0.68%	+39.04%
	Cerveau	0.895±0.092	1.142±0.14 ^(**)	1.327±0.17 ^(**)	1.169±0.06 ^(**, #)	1.067±0.087 ^(**, #)
	%	—	+27.59%	+48.26%	+30.61%	+19.21%
	Erythrocytes	0.191±0.048	0.314±0.051 ^(***)	0.241±0.056 ^(***)	0.166±0.021 ^(**, #)	0.158±0.018 ^(**, ##)
%	—	+64.39%	+26.17%	-13.08%	-17.27%	
GSH (nmol/mg protéine)	Foie	6.32±1.28	2.741±1.234 ^(***)	4.089±0.908 ^(##)	4.157±1.064 ^(###)	4.727±1.091 ^(###)
	%	—	-56.62%	-35.30%	-34.22%	-25.20%
	Reins	6.77±0.37	2.40±1.19 ^(***)	5.44±0.93 ^(##)	5.18±0.63 ^(#)	5.1±0.5 ^(#)
	%	—	-64.54%	-19.64%	-23.48%	-24.66%
	Cerveau	6.36±0.95	2.41±1.00 ^(*)	3.99±0.67 ^(*)	3.057±0.38 ^(#)	5.066±0.32 ^(#)
	%	—	-62.10%	-37.26%	-51.93%	-20.34%
	Erythrocytes	9.261±0.669	6.207±0.926 ^(***)	7.774±1.601 ^(##)	7.156±1.244 ^(##)	7.20±0.395 ^(###)
%	—	-32.97%	-16.05%	-22.72%	-22.25%	

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: p ≤ 0.05; **: p ≤ 0.01 ; ***: p ≤ 0.001).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: p ≤ 0.05; ##: p ≤ 0.01 ; ###: p ≤ 0.001).

1.1. Malondialdéhyde (MDA)

a) Dans le foie

D'après les résultats obtenus, on observe une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) du taux du malondialdéhyde (MDA) dans le foie chez les rats traités par le DZN (+174.12%) par rapport aux rats témoins, une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les rats traités par la combinaison DZN/ Vit E (+73.63%) et une augmentation significative ($P \leq 0.05$) chez les rats traités par la combinaison DZN/ Cur (+37.81%) et DZN/ Vit E/Cur (+35.32%) par rapport aux rats témoins.

Par contre, on enregistre un rétablissement par une diminution statistiquement significative ($P \leq 0.05$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-36.66%) ; DZN / Cur (-49.72%) et une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E / Cur (-50.63%) de l'MDA par rapport au lot traité par le DZN (tab. 08 ; fig. 38).

b) Dans les reins

D'après les résultats obtenus, on observe une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) du taux du malondialdéhyde (MDA) dans les reins chez les rats traités par le DZN (+112.32%) et les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+45.89%), par rapport aux rats témoins. une diminution significative ($P \leq 0.05$) chez les rats traités par la combinaison DZN/ Cur (-0.68%) et une augmentation significative ($P \leq 0.05$) chez les rats traités par la combinaison DZN/ Vit E/Cur (+39.04%) par rapport aux rats témoins.

Par contre, on enregistre un rétablissement par une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les rats traités par la combinaison DZN/ Cur (-53.22%) et significative ($P \leq 0.05$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur et Vit E (-34.51%) de l'MDA par rapport au lot traité par le DZN (tab. 08 ; fig. 38).

c) Dans le cerveau

D'après les résultats obtenus, on observe une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) du taux du malondialdéhyde (MDA) dans le cerveau chez les rats traités par le DZN (+27.59%), chez les rats traités par la combinaison DZN/ Vit E (+48.26%), DZN/ Cur (+30.61%) et DZN / Cur et Vit E (+19.21%) par rapport aux rats témoins.

Par contre, on enregistre un rétablissement par une augmentation statistiquement non significative chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+16.19%) et significative ($P \leq 0.05$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (+2.36%) et une diminution ($P \leq 0.05$) chez les rats traités par la combinaison DZN/ Vit E/Cur (-6.56%) de l'MDA par rapport au lot traité par le DZN (tab. 08; fig. 39).

d) Dans les érythrocytes

D'après les résultats obtenus, on observe une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) du taux du malondialdéhyde (MDA) dans les érythrocytes chez les rats traités par le DZN (+64.39%), et par la combinaison DZN / Vit E (+26.17%), et une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les rats traités par la combinaison DZN/Cur (-13.28%) et DZN / Vit E/ Cur (-17.27%) par rapport aux rats témoins.

Par contre, on enregistre un rétablissement par une diminution non significative chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-23.24%), et une diminution significative ($P \leq 0.05$) et hautement significative ($P \leq 0.01$) respectivement chez les rats traités par la combinaison DZN/Cur (-47.13%) et DZN / Cur/ Vit E (-49.68%) de l'MDA par rapport au lot traité par le DZN (tab. 08; fig. 39).

1.2. Glutathion réduit (GSH)

a) Dans le foie

D'après les résultats obtenus, on observe une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) de la teneur cellulaire en glutathion (GSH) du dans le foie chez les rats traités par le DZN (-56.62%) par rapport aux rats témoins.

Par contre, on enregistre un rétablissement par une augmentation statistiquement hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+49.17%), une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (+51.65%), DZN / Vit E / Cur (+72.45%) de la teneur cellulaire en glutathion (GSH) par rapport au lot traité par le DZN (tab. 08 ; fig. 40).

b) Dans les reins

Le traitement des rats par le DZN, entraîne une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) de la teneur cellulaire en glutathion (GSH) dans les reins (-64.54%).

En revanche, on note un rétablissement par une augmentation statistiquement hautement significative ($P \leq 0.01$) du GSH chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+126.66%), et une augmentation significative ($P \leq 0.05$) du GSH chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (+115.83%), DZN / Vit E / Cur (+112.5%) par rapport au lot traité par le DZN (tab. 08 ; fig. 40).

c) Dans le cerveau

Le traitement des rats par le DZN, entraîne une diminution significative ($P \leq 0.05$) de la teneur cellulaire en glutathion (GSH) dans le cerveau (-62.10%).

D'après les résultats obtenus, on observe une diminution significative ($P \leq 0.05$) de la teneur cellulaire en glutathion (GSH) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-37.26%) par rapport aux rats témoins.

En revanche, on note un rétablissement par une augmentation significative ($P \leq 0.05$) du GSH chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (+26.84%) et DZN/ Vit E et Cur (+27.21%) comparant aux rats traités par le DZN (tab. 08 ; fig. 41).

d) Dans les érythrocytes

Le traitement des rats par le DZN, entraîne une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) de la teneur cellulaire en glutathion (GSH) dans les érythrocytes (-32.97%).

En revanche, on note un rétablissement par une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) et très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+25.24%) et DZN / Cur (+15.28%) et la combinaison DZN/ Vit E et Cur (+15.99%), respectivement du GSH comparant aux rats traités par le DZN (tab. 08; fig. 41).

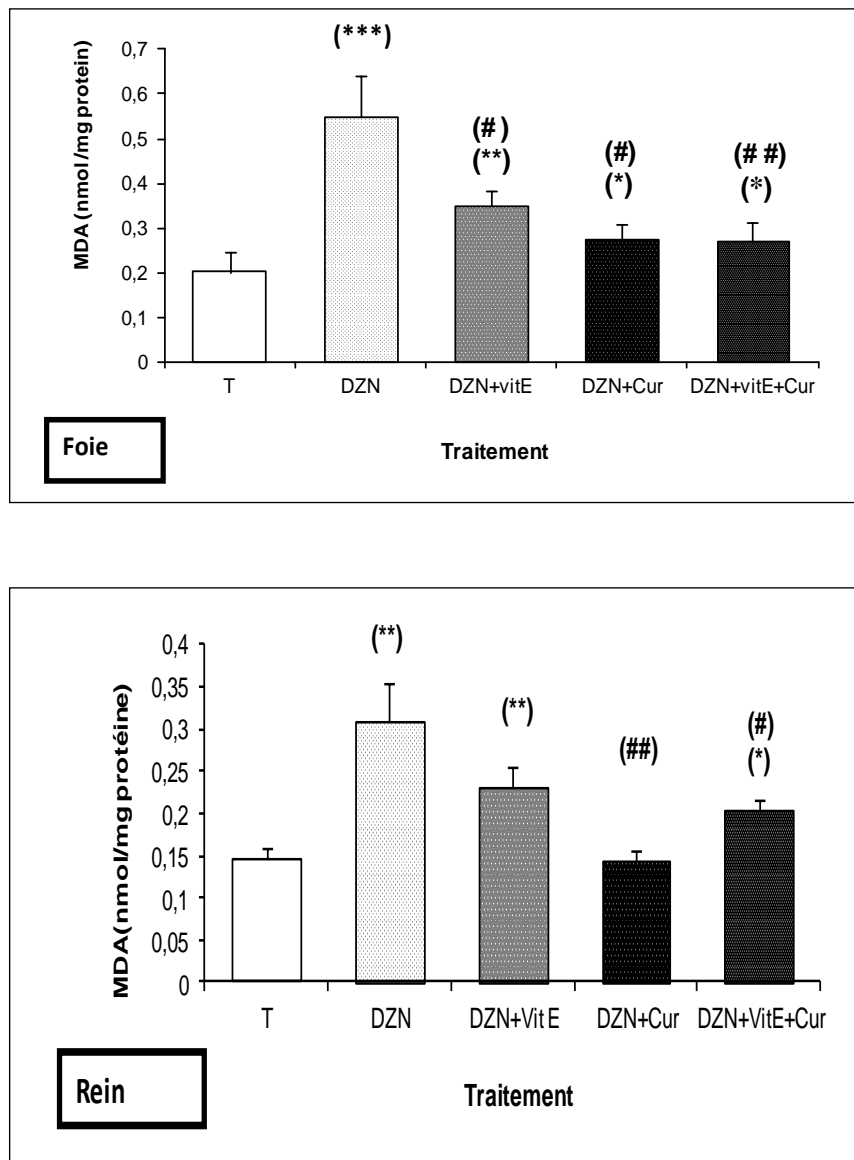


Fig. 38: Variation du taux du malondialdéhyde dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; ##: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

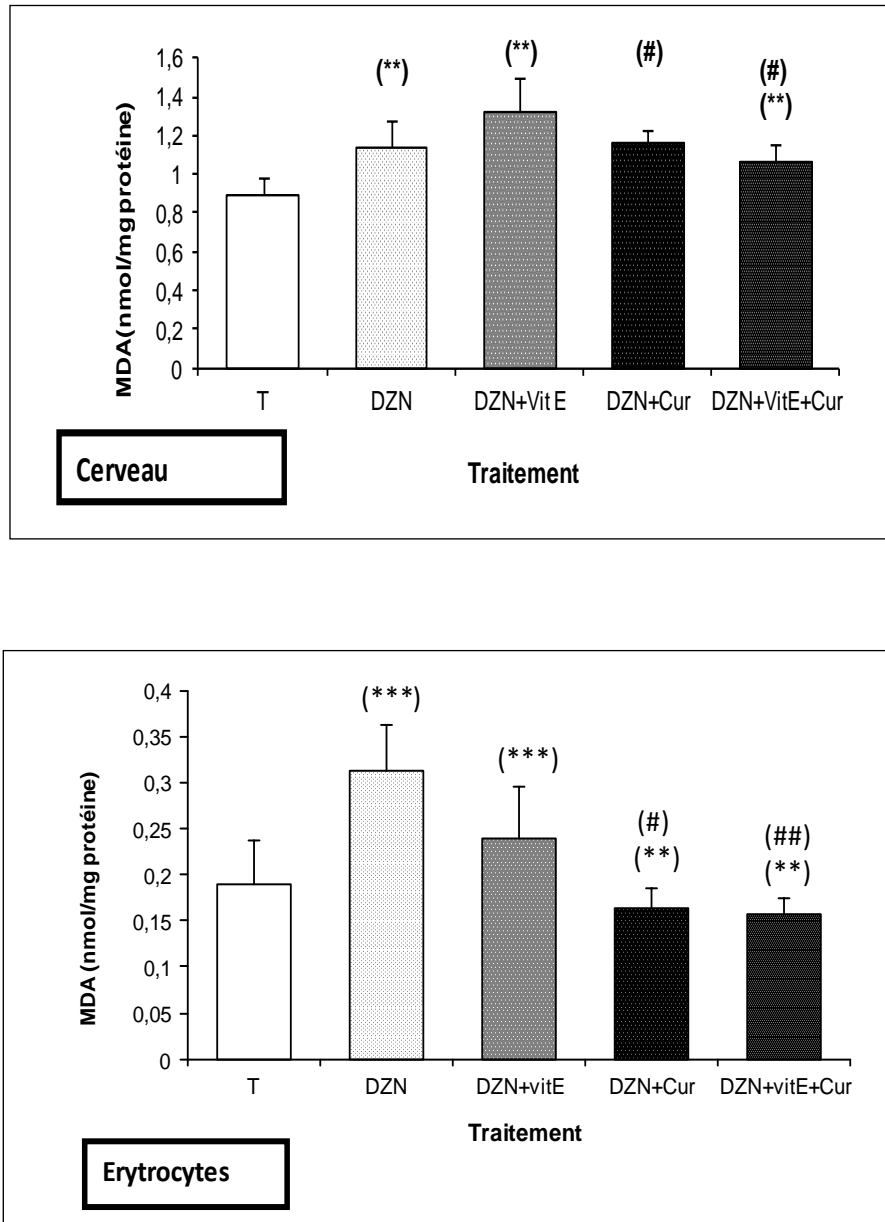


Fig. 39 : Variation du taux du malondialdéhyde dans le cerveau et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; ##: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

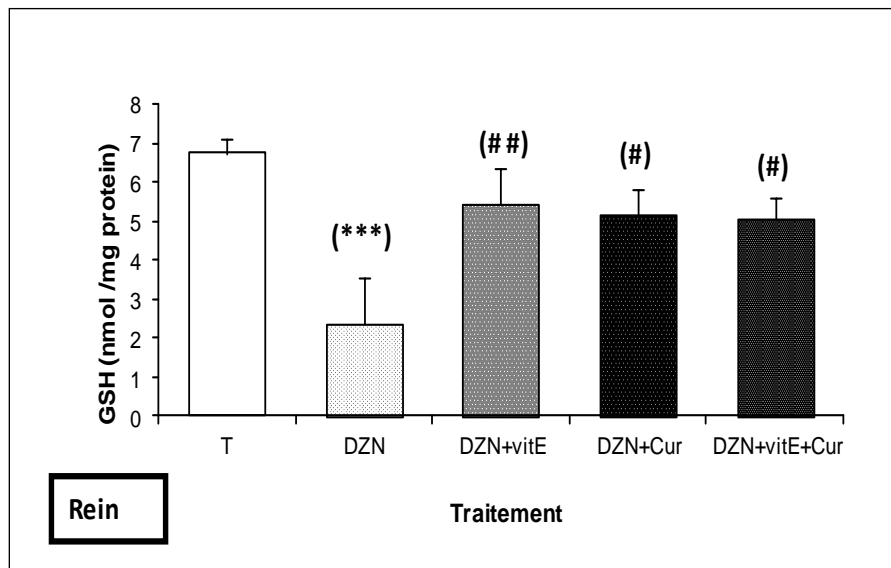
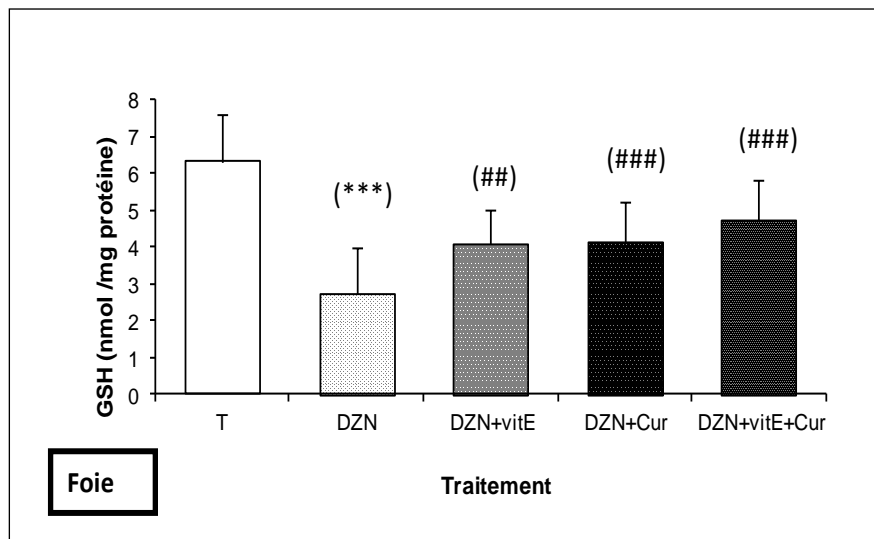


Fig.40 : Variation de la teneur cellulaire en glutathion dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; ##: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

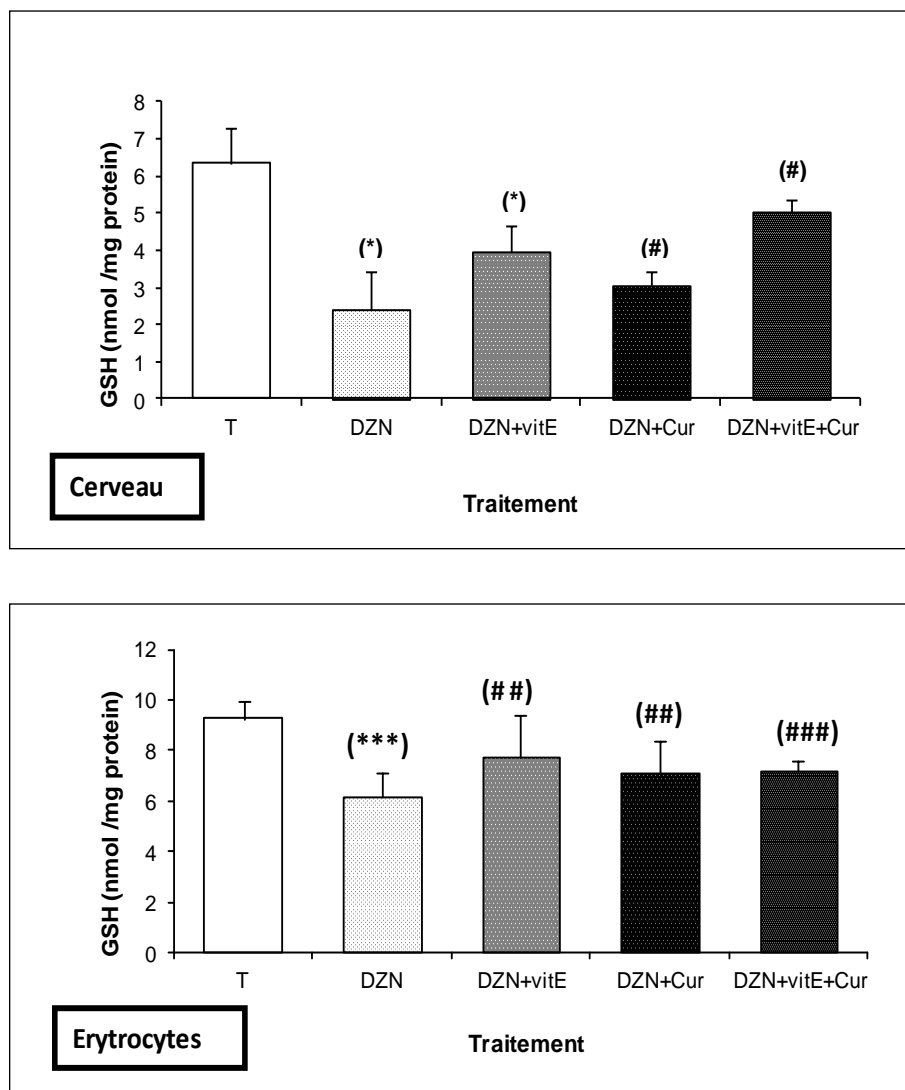


Fig.41 : Variation de la teneur cellulaire en glutathion dans le cerveau et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; ##: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

2. Effet sur l'activité de quelques enzymes antioxydantes tissulaires :

La variation de l'activité de certaines enzymes antioxydants des organes (foie, reins et cerveau) et des érythrocytes des rats traités et témoins après 3 semaines de traitement sont montrés dans le tableau (10).

Tab.10: Activité enzymatique de la GPx (nmol GSH/mg prot), la CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de prot) et la GST (nmol C-DNB/min/mg prot) dans les organes (Foie, reins et cerveau) et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

Paramètres	Organes	Lots expérimentaux				
		Témoin	DZN	DZN/Vit E	DZN/ Cur	DZN/Vit E/ Cur
GPx (nmol GSH/mg protéine)	Foie	1.16±0.02	0.7±0.03 (**)	1.07±0.04 (#)	1.35±0.01 (#)	1.37±0.01 (#)
	%	-	-35.65%	-7.75%	+16.37%	+18.10%
	Reins	0.17±0.01	0.16±0.008 (**)	0.143±0.008 (***)	0.146±0.01 (***)	0.144±0.01 (***)
	%	-	-5.88%	-15.88%	-14.11%	-15.29%
	Cerveau	0.124±0.005	0.109±0.002 (**)	0.084±0.005 (**)	0.055±0.004 (***)	0.0548±0.009 (***)
	%	-	-12.09%	-32.25%	-55.64%	-55.80%
	Erythrocytes	0.25±0.01	0.1±0.05 (**)	0.21±0.04 (###)	0.24±0.03 (###)	0.3±0.06 (###)
%	-	-60%	-16%	-4%	+20%	
CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéine)	Foie	12.32±2.7	6.01±1.8 (***)	8.81±1.7 (**)	7.7±0.95 (***)	10.88±1.09 (#)
	%	-	-51.21%	-28.49%	-37.5%	-11.68%
	Reins	25.2±1.7	20.56±1.6 (**)	22.11±1.3 (#)	24.8±0.9 (##)	30.1±1.8 (###)
	%	-	-18.41%	-12.26%	-1.58%	+19.44%
	Cerveau	18.51±1.9	16.28±1.6 (**)	15.66±0.9 (#)	17.2±0.6 (##)	22.8±1.02 (###)
	%	-	-12.04%	-15.39%	-7.07%	+23.17%
	Erythrocytes	23.02±1.7	18.13±1.6 (**)	20.64±1.36 (#)	22.71±0.7 (##)	27.8±1.01 (###)
%	-	-21.24%	-11.03%	-2.11%	+20.76%	
GST (nmol C-DNB/min/mg protéine)	Foie	38.07±2.16	22.07±3.31 (**)	39.16±1.13 (###)	35.14±5.5 (###)	40.65±1.1 (###)
	%	-	-42.02%	+2.86%	-7.69%	+6.77%
	Reins	20.72±3.7	17.01±2.8 (*)	20.46±0.7	10.53±1.7 (*,##)	20.22±0.6 (#)
	%	-	-17.90%	-1.25%	-49.17%	-2.41%
	Cerveau	10.67±1.1	9.2±1.8	13.18±0.59 (*)	6.23±3.1	14.34±1.9 (**)
	%	-	-13.77%	+23.52%	-41.61%	+34.39%
	Erythrocytes	3.48±0.37	1.75±0.3 (***)	2.35±0.85 (##)	2.38±0.34 (##)	2.98±0.4 (###)
%	-	-49.71%	-32.47%	-31.60%	-14.36%	

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; ##: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

2.1. Activité de la glutathion peroxydase (GPx)

a) Dans le foie

Le traitement des rats par le DZN provoque une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) dans le foie (-35.65%) comparant au groupe témoin.

En revanche, on enregistre un rétablissement par une augmentation significative ($P \leq 0.05$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+52.85%), une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (+92.85%) et DZN / Vit E / Cur (+95.71%) comparant aux rats traités par le DZN (tab. 10; fig. 42).

b) Dans les reins

Le traitement des rats par le DZN provoque une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) dans les reins (-5.88%) comparant au groupe témoin

On enregistre aussi une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-15.88%), chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (-14.11%) et DZN / Vit E / Cur (-15.29%) comparant aux rats témoin. (tab. 10 ; fig. 42).

c) Dans le cerveau

Le traitement des rats par le DZN provoque une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) dans le cerveau (-12.09%) comparant au groupe témoin.

On enregistre aussi une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-32.25%), et une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (-55.64%) et DZN / Vit E / Cur (-55.80%) comparant aux rats témoin. (tab. 10 ; fig. 43).

d) Dans les érythrocytes

Le traitement des rats par le DZN provoque une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) dans les érythrocytes (-60%) comparant au groupe témoin.

En revanche, on enregistre un rétablissement par une augmentation statistiquement très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+110%), DZN / Cur (+140%) et DZN / Vit E / Cur (+200%) comparant aux rats traités par le DZN (tab. 10; fig. 43).

2.2. Activité de la catalase (CAT)**a) Dans le foie**

Le traitement des rats par le DZN provoque une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) dans le foie (-51.21%) comparant au groupe témoin.

On enregistre aussi une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-28.49%), et très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (-37.5%) comparant au rat témoin. (tab. 10; fig. 44).

En revanche, on enregistre un rétablissement par une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les rats traités par la combinaison DZN/Vit E/Cur (+81.03%) comparant aux rats traités par le DZN (tab. 10; fig. 44).

b) Dans les reins

Le traitement des rats par le DZN provoque une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) dans les reins (-18.41%) comparant au groupe témoin.

En revanche, on enregistre un rétablissement par une augmentation statistiquement significative ($P \leq 0.05$), hautement significative ($P \leq 0.01$) et très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+7.53%) et par la

combinaison DZN / Cur (+20.62%) et DZN / Vit E/ Cur (+46.40%), respectivement comparant aux rats traités par le DZN. (tab. 10; fig. 44).

c) Dans le cerveau

Le traitement des rats par le DZN provoque une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) dans le cerveau (-12.04%) comparant au groupe témoin.

En revanche, on enregistre un rétablissement par une diminution significative ($P \leq 0.05$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (-3.80%), et une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) et très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (+5.65%) et DZN / Vit E/ Cur (+40.04%), respectivement comparant aux rats traités par le DZN. (tab. 10; fig. 45).

d) Dans les érythrocytes

Le traitement des rats par le DZN provoque une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) dans les érythrocytes (-21.24%) comparant au groupe témoin.

En revanche, on enregistre un rétablissement par une augmentation significative ($P \leq 0.05$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+13.84%), et une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) et très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (+25.26%) et DZN / Vit E/ Cur (+53.33%), respectivement comparant aux rats traités par le DZN. (tab. 10; fig. 45).

2.3. Activité de la glutathion S-transférase (GST)

a) Dans le foie

L'administration du DZN pendant 03 semaines chez les rats induit une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) dans le foie (-42.02%) par rapport aux rats témoins.

Tandis qu'on enregistre un rétablissement par une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+77.43%), DZN / Cur (+59.22%) et par la combinaison DZN / Vit E et Cur (+84.18%), respectivement comparant aux rats traités par le DZN. (tab. 10; fig. 46).

b) Dans les reins

L'administration du DZN pendant 03 semaines de traitement chez les rats induit une diminution significative ($P \leq 0.05$) de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) dans les reins (-17.90 %) par rapport aux rats témoins.

Chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur, on note une déférence significative ($P \leq 0.05$) comparant aux rats témoins.

Tandis qu'on enregistre un rétablissement par une augmentation non significative chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+20.28%), une diminution hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (-38.09%) et une augmentation significative ($P \leq 0.05$) par la combinaison DZN / VitE/ Cur (+18.87%), comparant aux rats traités par le DZN. (tab. 10; fig. 46).

c) Dans le cerveau

L'administration du DZN pendant 03 semaines chez les rats induit une diminution non significative de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) dans le cerveau (-13.77%) par rapport aux rats témoins.

On note une augmentation significative ($P \leq 0.05$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+23.52%) comparant aux rats témoins.

Tandis qu'on enregistre un rétablissement par une augmentation statistiquement non significative chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+43.26%) et par la combinaison DZN / Vit E et Cur (+55.86%), et une diminution non significative chez les rats traités par la combinaison DZN / Cur (-32.28%), respectivement comparant aux rats traités par le DZN. (tab.10; fig. 47).

d) Dans les érythrocytes

L'administration du DZN pendant 03 semaines chez les rats induit une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) dans les érythrocytes (-49.71%) par rapport aux rats témoins.

Tandis qu'on enregistre un rétablissement par une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) et très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les rats traités par la combinaison DZN / Vit E (+34.28%), DZN / Cur (+36%) et DZN / Vit E et Cur (+70.28%), respectivement comparant aux rats traités par le DZN (tab. 10; fig. 47).

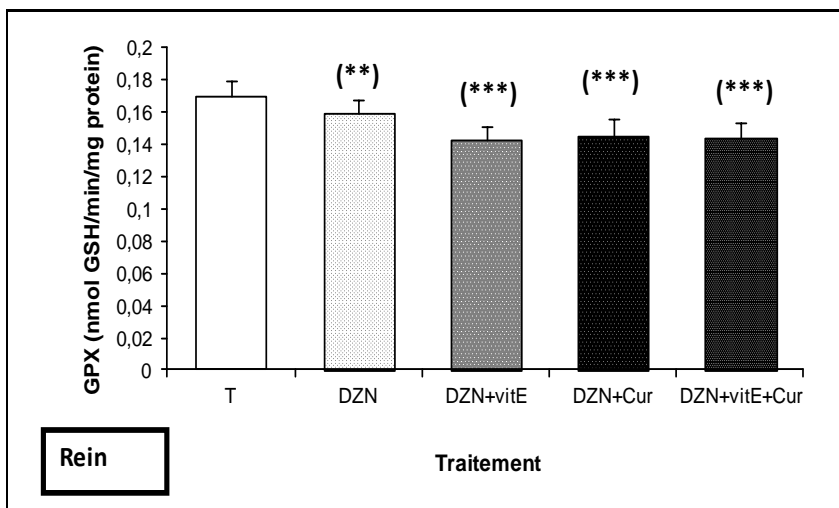
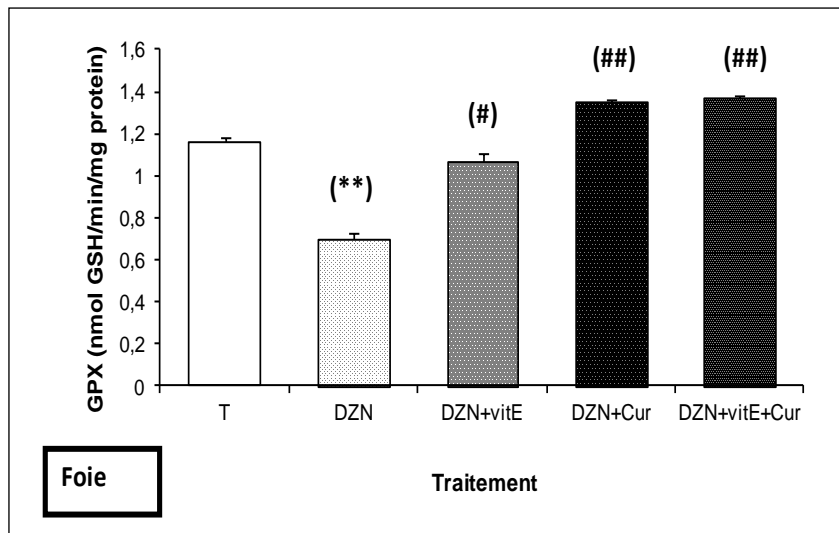


Fig.42 : Variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; # #: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

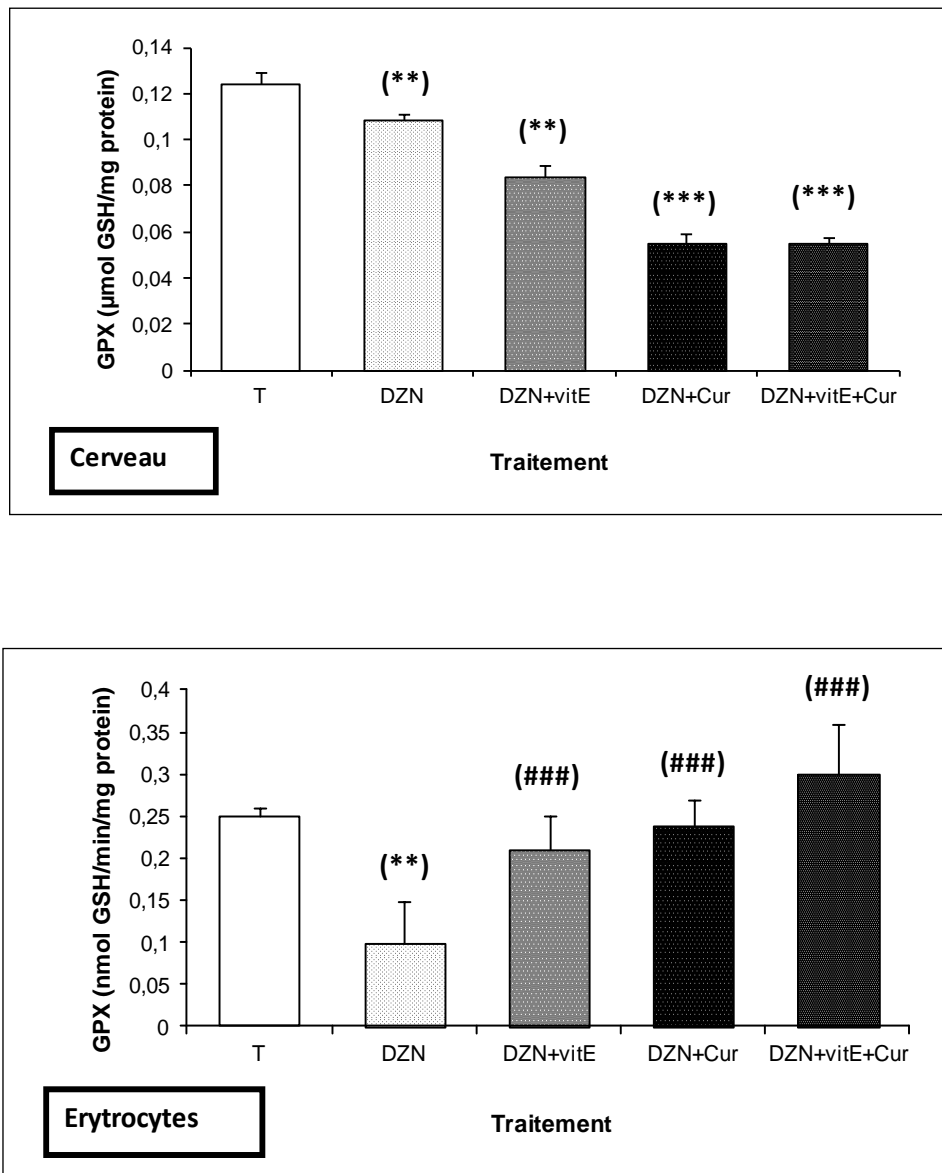


Fig.43: Variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase dans le cerveau et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; ##: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

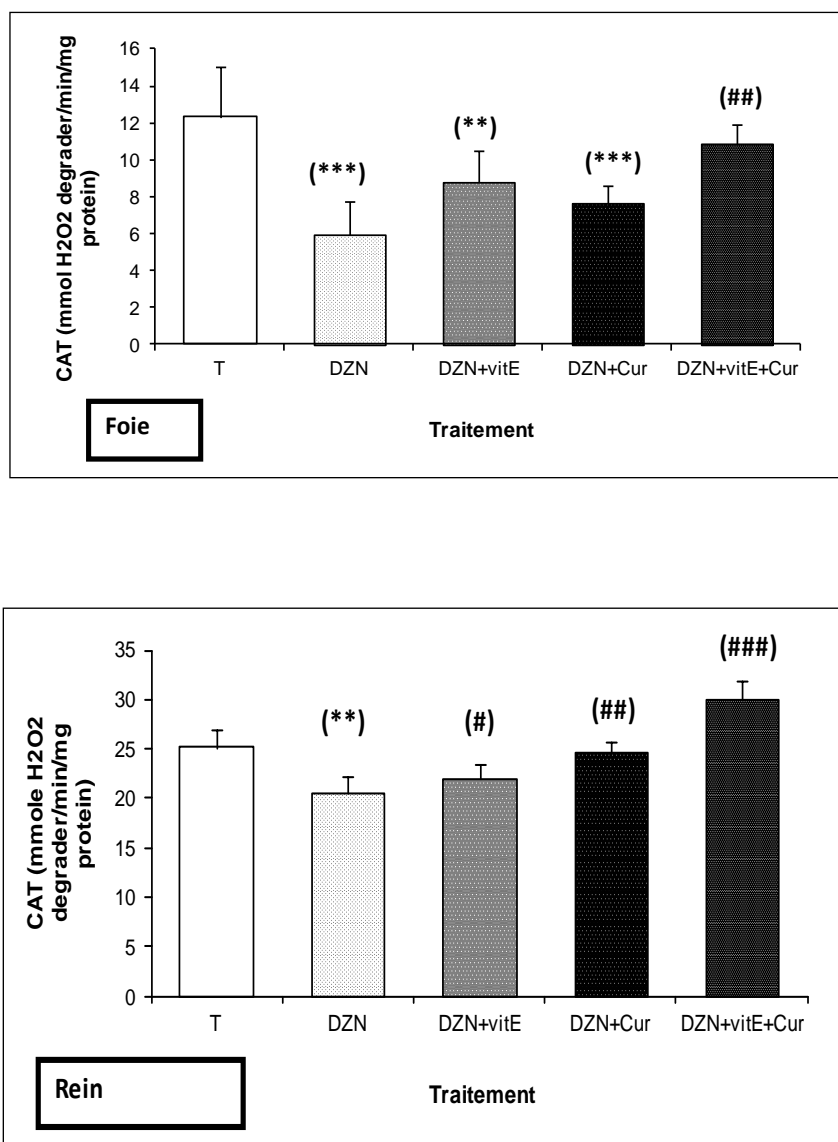


Fig.44 : Variation de l'activité enzymatique de la catalase dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; ##: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

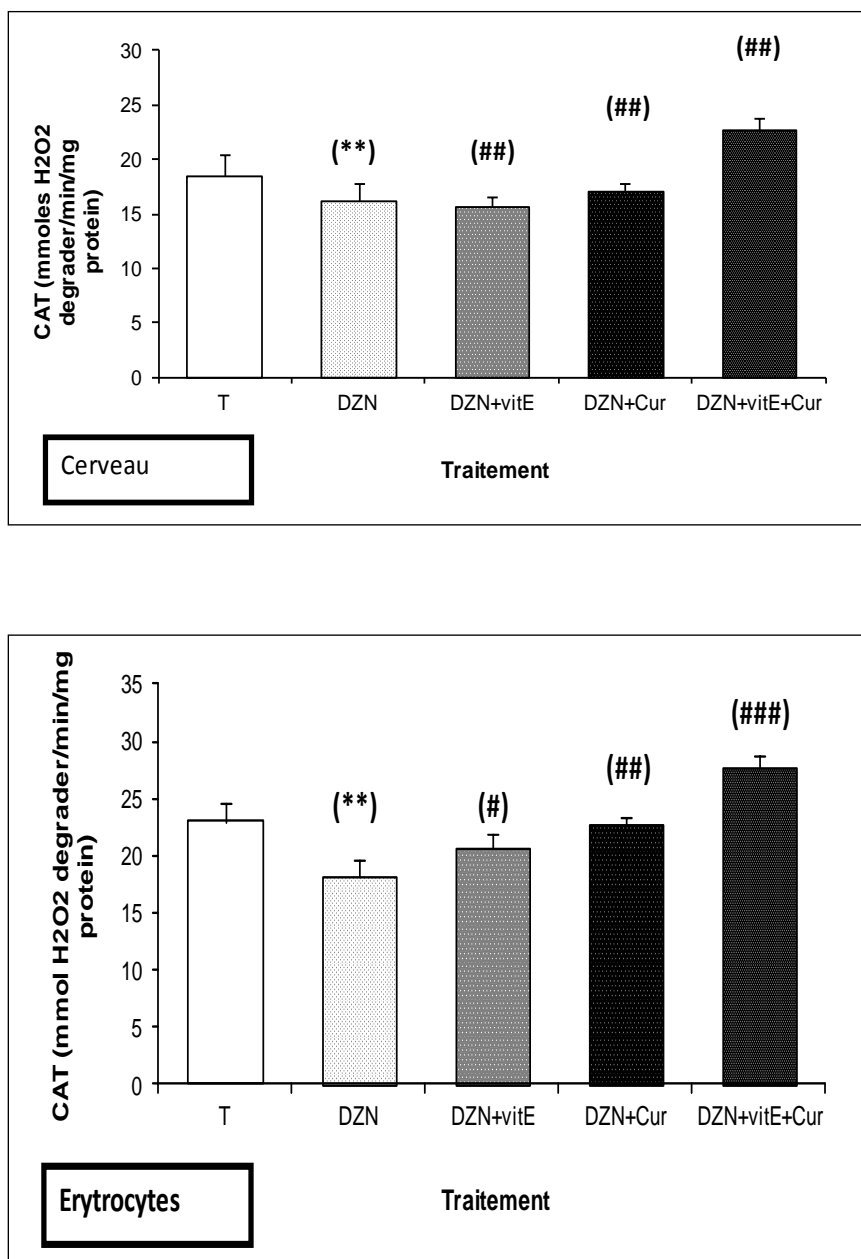


Fig.45 : Variation de l'activité enzymatique de la catalase dans le cerveau et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; ##: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

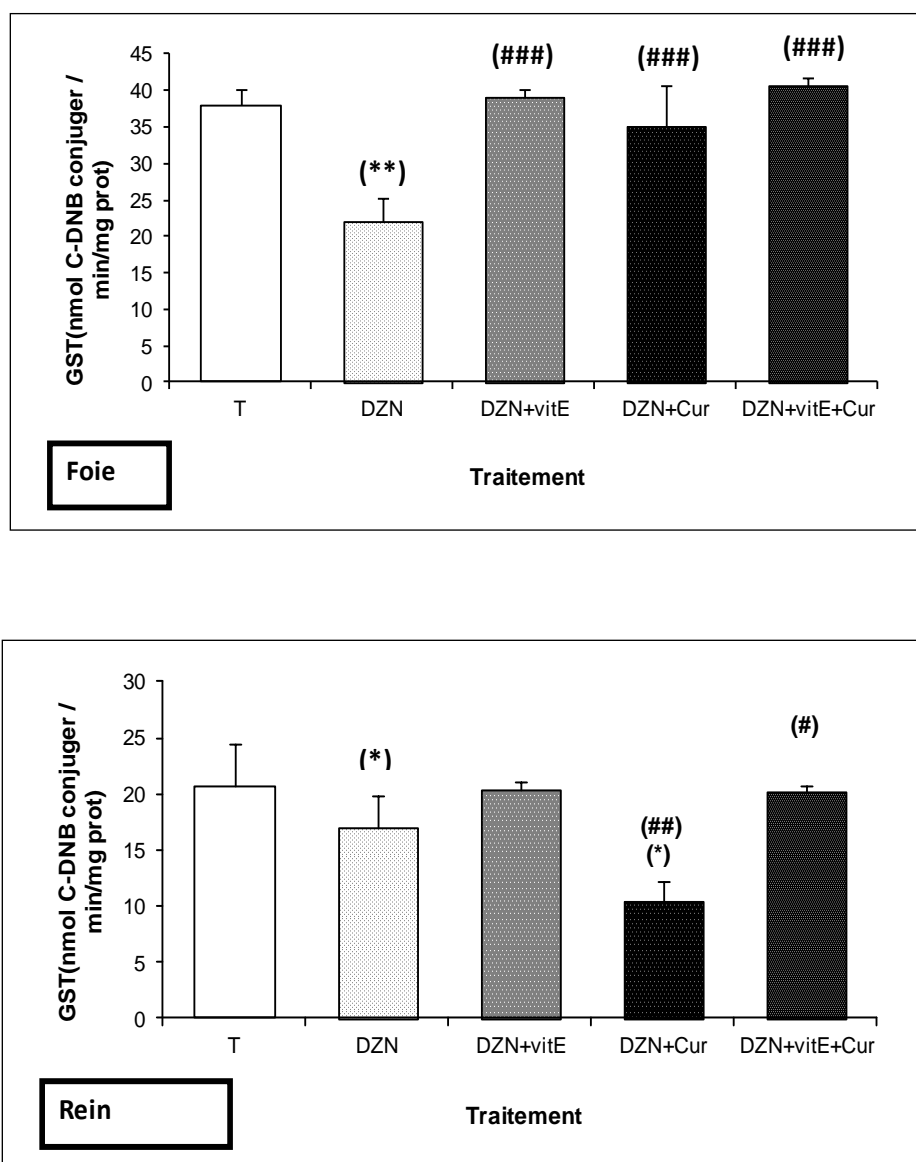


Fig.46 : Variation de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; # #: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

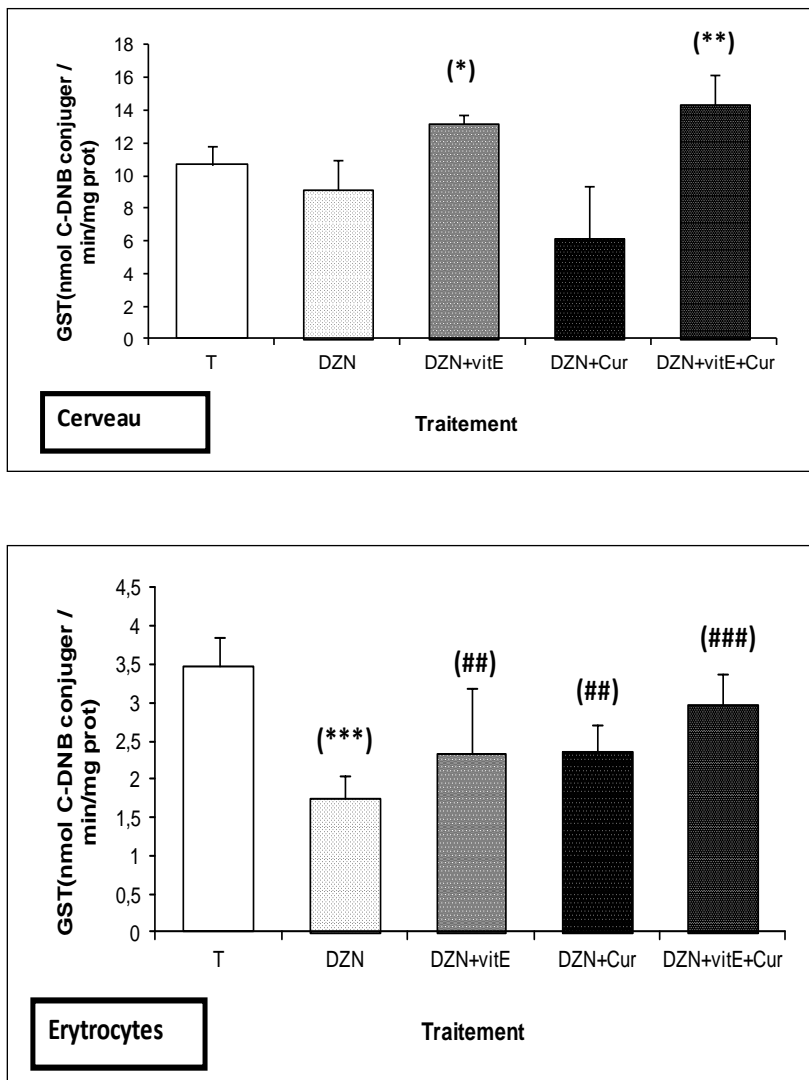


Fig.47: Variation de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase dans le cerveau et les érythrocytes chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; ##: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

❖ Discussion:

L'exposition aux pesticides peut induire le SO par production accrue des radicaux libres qui s'accumulent dans la cellule, par altération des mécanismes de défense antioxydants ; y compris la détoxification et les enzymes de balayage, ou par augmentation de la peroxydation lipidique suite à l'interaction entre les ERO et les membranes cellulaires ou sous-cellulaires (Abdollahi *et al.*, 2004).

Plusieurs recherches chez des animaux d'expérience ont rapporté plus que le SO joue un rôle important dans la toxicité de divers pesticides ; y compris des organophosphorés (OP) (Possamai *et al.*, 2007), des N-méthyle carbamates (NMC) (Mansour *et al.*, 2009), des organochlorés (OC) (Pal *et al.*, 2009), des pyréthroïdes (PYR) (Raina *et al.*, 2009), des triazines (Singh *et al.*, 2010), des néonicotinoïdes (El-Gendy *et al.*, 2010), des dithiocarbamates et du paraquat (Ahmad *et al.*, 2010). En plus, les études épidémiologiques chez l'homme après exposition de long terme à un mélange des pesticides (OPs, PYRs synthétiques et NMC) ont montré la stimulation des enzymes antioxydantes et l'induction de la peroxydation lipidique dans les érythrocytes même en l'absence d'une diminution d'acétylcholinestérase (Ogut *et al.*, 2011).

La peroxydation lipidique (LPO) est l'une des manifestations principales des dommages oxydatifs et s'est avérée jouer un rôle important dans la toxicité et la cancérogénicité de plusieurs xénobiotiques. La LPO est le processus de la dégradation oxydative des acides gras polyinsaturés et son occurrence dans les membranes biologiques causent des changements dans la structure et la fonction membranaires et mènent à la diminution de la fluidité de la membrane et l'inactivation de plusieurs enzymes membranaires (Gutteridge et Halliwell, 2000).

Les taux du MDA (comme produit final de LPO) ont été mesurés pour indiquer la génération des ERO et des dommages induits par la LPO tissulaire dans la toxicité des pesticides (Cemek *et al.*, 2010).

Divers pesticides sont capables de générer des ERO, tels que le peroxyde d'hydrogène, le superoxyde et l'hydroxyle (Stevenson *et al.*, 1995). Ces oxydants ont été

impliqués dans la toxicité des pesticides en raison de leurs effets nocifs sur la santé humaine.

Dans la présente étude, l'exposition des rats au DZN dans l'eau de boisson a eu comme conséquence une augmentation significative de la peroxydation lipidique, indiquée par l'augmentation significative du MDA dans plusieurs organes et les érythrocytes, prouvent que le DZN a activé la formation des radicaux libres dans les tissus hépatiques, rénaux et cérébraux et dans les érythrocytes et suggérant leurs effets délétères dans ces tissus. Ces observations sont en agrément avec d'autres recherches suites à l'exposition au DZN dans différents organes et tissus chez les animaux d'expérience (Osman *et al.*, 2005; Elif, 2010; Elhalwagy et Ismail, 2009; Reeta *et al.*, 2009; Aktürk *et al.*, 2006; Riadh *et al.*, 2008; Anupama *et al.*, 2011; Jinajing *et al.*, 2012; Mahvash *et al.*, 2011; Elchenawy *et al.*, 2010).

La LPO a été suggérée en tant qu'un des mécanismes moléculaires impliqués dans la toxicité induite par les pesticide (Ozden *et al.*, 2009).

En effet, le cerveau et les érythrocytes sont fortement susceptibles aux radicaux libres dus à leur activité métabolique oxydante accrue et leur teneur élevée en acides gras polyinsaturés (AGPI) (Evans, 1993).

Rai et Sharma (2007) et Rai *et al.* (2009) ont signalé que le carbofuran (un carbamate insecticide) a causé la génération des ERO dans le cerveau et les érythrocytes de rat, respectivement et a augmenté significativement la LPO, aussi Gupta *et al.*, (2009) a proposé que LPO pourrait être l'un des mécanismes de neurotoxicité associée à l'exposition au propoxur (un autre carbamate insecticide) et que le taux élevé du MDA chez les rats indique que ce composé a augmenté la peroxydation lipidique et a produit un état du SO.

L'administration concomitante de vitamine E et / ou la curcumine atténue les effets in vivo de DZN par balayage possible ou de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ces résultats indiquent que la vitamine E et / ou la curcumine pourrait avoir un rôle bénéfique en abaissant la toxicité organophosphoré.

La vitamine E est un antioxydant régule l'effet des enzymes du stress oxydatif de MDA et le GSH (Osman et *al.*, 2005; Aktürk et *al.*, 2006, Mahvash et *al.*, 2011).

GSH est un thiol antioxydant endogène qui fonctionne comme agent réducteur physiologique pour maintenir un statut redox intracellulaire adéquat (Kamboj et *al.*, 2008). En outre, il joue un rôle important dans la protection intracellulaire contre les composés toxiques et les ERO (Garg et *al.*, 2009).

Le traitement par le DZN a provoqué une diminution significative des niveaux de GSH dans les organes ; foie, reins et cerveau et dans les érythrocytes du rat.

En outre, la diminution de la teneur en GSH dans le foie et les érythrocytes de rats en présence de DZN pourrait s'expliquer soit par l'utilisation de GSH pour la conjugaison et / ou par la participation de GSH comme un antioxydant en neutralisant les radicaux libres. Ces résultats ont été corrélés avec les rapports précédents d'Ojha et *al.*, (2011), qui a suggéré que le métabolisme de pyréthrinoïdes peuvent générer des ROS, qui à son tour pourrait conduire à une peroxydation lipidique accrue.

Dans notre étude, on note une diminution de taux de GSH liée à une augmentation de MDA au niveau des érythrocytes qui explique l'anémie observée dans cette étude. Qui sont probablement liées à une hémolyse intra vasculaire en raison de la peroxydation lipidique dans érythrocytes circulants, liée avec la diminution de l'activité de GSH dans ces organes (Ahmed et *al.*, 2005; Dorval et Hontela, 2003).

Il s'avère également que l'augmentation de la peroxydation lipidique est une conséquence de l'épuisement des réserves en GSH, qui sont capables de modérer la LPO (Garg et *al.*, 2008).

Par conséquent, la réduction du niveau de GSH augmente l'effet toxique, car le GSH joue un rôle important dans la détoxification des xénobiotiques en tant que co-facteur pour la famille des GST et en tant qu'antioxydant important pour l'élimination des ERO (EL-Demerdash et *al.*, 2012).

La curcumine et la vitamine E sont bien connus comme des antioxydants. Les deux phénolique et b-dicétone groupes fonctionnels de la curcumine ont remarquables par les activités de chiffonnage des radicaux libres (Reddy et Lokesh, 1994).

Par conséquent, l'administration concomitante de vitamine E et / ou la curcumine après le traitement DZN améliorent les niveaux de glutathion pour atteindre des valeurs normales et amélioré le système de défense antioxydant. En effet, l'implication de l'exposition à un stress oxydatif qui suit OP a été rapporté par (Akhgari et *al.*, 2003; Sivapiriya et *al.*, 2006).

Les ROS peuvent être détoxifiés par plusieurs systèmes de défense enzymatique SOD, CAT et GPx , ou systèmes non enzymatique comme la GSH, tandis que les peroxydes organiques peuvent être détoxifiés par l'activité de la GST (Halliwell, 1994; Halliwell et Gutteridge, 1990 ; 2002).

La modulation de ces enzymes et les niveaux de glutathion jouent un rôle primordial dans l'équilibre de l'état d'oxydo-réduction par la réduction des ROS et peroxydes produits dans l'organisme ainsi que dans la détoxification des xénobiotiques (Ramiro-Puig et *al.*, 2007; Ramos, 2008).

Notre étude a montré une diminution de l'activité de GPx dans les organes ; foie, rein et cerveau après exposition au DZN chez les rats. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par El-Demerdash, (2004), EL-Khawaga, (2005) et Messaoud et *al.*, (2009).

L'élévation dans l'activité enzymatique est pour contrecarrer le SO induit par le DZN (El-Demerdash, 2004). Cette diminution pourrait s'expliquer par l'induction de radicaux libres chez les rats traités par DZN. Par conséquent, la toxicité de nombreux xénobiotiques est associée à la production de radicaux libres qui sont également impliqués dans de nombreux processus physiopathologiques (Abdollahi et *al.*, 2004).

Les érythrocytes humaines déficientes en GPx sont fortement susceptibles aux métabolites peroxidative des drogues ou des xénobiotiques et sont également enclins à l'hémolyse induite par les peroxydes (Garg et *al.*, 2009). Ces observations suggèrent que la

GPx soit essentielle pour l'intégrité de la membrane érythrocytaires (Garg et al., 2008 ; 2009).

La catalase est une enzyme ubiquitaire et fait partie de la première ligne de défense antioxydante importante (Garg et al., 2008 ; 2009). Elle réduit l' H_2O_2 en H_2O et O_2 pour empêcher l'induction d'un état du SO, maintenir l'homéostasie des cellules et jouer un rôle important dans l'élimination des ERO (Manawadi et Kaliwal, 2010).

La diminution observée de l'activité de la CAT et de la GPx pourrait probablement être due à l'utilisation de ces enzymes dans la conversion du H_2O_2 en H_2O (Garg et al., 2008 ; 2009).

La famille enzymatique des GST est impliquée dans les processus de la détoxification. Une fonction importante de GST en réponse au SO, est sa capacité de conjuguer le GSH avec les produits de la peroxydation lipidique (Manawadi et Kaliwal, 2010).

La diminution de l'activité de GST observée dans la présente étude pourrait plus loin contribuer à la peroxydation lipidique augmentée et représentée par les niveaux accrus du MDA (Zaidi et Banu, 2004). En outre, cette diminution reflète l'insuffisance des niveaux de GSH (Garg et al., 2008 ; 2009).

En outre, la réduction des activités de la CAT, GPx, de la GST et de la peroxydation lipidique augmentée pourrait s'expliquer par l'induction de radicaux libres chez les rats traités par DZN. Par conséquent, la toxicité de nombreux xénobiotiques est associée à la production de radicaux libres qui sont également impliqués dans de nombreux processus physiopathologiques (Abdollahi et al., 2004).

La vitamine E comme antioxydant liposoluble joue un rôle important de protection contre le stress oxydatif et empêche la production de peroxydes lipidiques en piégeant les radicaux libres (piégeur particulièrement forte des radicaux hydroxyles) dans les membranes biologiques (Gupta et al., 2004; Verma et Nair, 2001). Dans l'étude présente, la baisse des niveaux de CAT, GPx et la GST après l'administration DZN pourrait provenir de l'implication de ces enzymes dans le processus de désintoxication dans le foie et les

globules rouges et le niveau insuffisant de ces antioxydants peuvent endommager les cellules par l'intermédiaire de l'oxydation.

Cependant, l'administration de la curcumine et de la vitamine E avec DZN effectivement empêché la diminution des activités de la GPx, CAT et de la GST dans les érythrocytes et le foie, qui peut être directement corrélée au balayage des radicaux libres oxydants (Reddy et Lokesh, 1996 ; Rukkumani et *al.*, 2004).

En outre, la présence du groupe méthoxy en curcumine augmente encore son activité de balayage des radicaux libres (Sen Gupta et *al.*, 2004). La curcumine a été signalé à inhiber l'anion superoxyde et hydroxyle génération de radicaux en prévenant l'oxydation du Fe^{+2} Fe^{+3} par la réaction de Fenton (Duvoix et *al.*, 2005; Reddy et Lokesh, 1994).

Il est suggéré que le balayage de radicales libres activités est en grande partie réalisé par le phénol et des groupes méthoxy en liaison avec les systèmes de 1,3 - diène-dicétone conjugués présents dans la structure curcumine.

Les rapports documentés et nos résultats actuels justifient ce traitement. La curcumine significativement améliore le stress oxydatif induit par le DZN principalement par la préservation des érythrocytes et des antioxydants endogènes hépatiques qui pourraient être un facteur clé responsable de l'amélioration observée dans les marqueurs plasmatiques (Messarah et *al.*, 2012).

Ces résultats indiquent clairement que l'administration combinée de la vitamine E et la curcumine peuvent agir comme des agents potentiels contre le stress oxydatif induit par le DZN. Ces résultats corroborent les constatations antérieures menées sur des rats adultes traités avec des antioxydants (Celik et *al.*, 2007; Eybyl et *al.*, 2006; Kalpana et Menon, 2004; Radhey et *al.*, 2009).

En outre, un effet protecteur de la curcumine a également été signalé contre le cadmium, le plomb et l'aluminium induits par la peroxydation des lipides dans les homogénats de cerveau de rat (Daniel et *al.*, 2004; Sethi et *al.*, 2009) et au cours du toxicité par le paracétamol, de l'arsenic, la gentamicine, nitrilotriacétate ferrique et la

nicotine (Donatus et *al.*, 1990;. Farombi et Ekor, 2006; Fatma et *al.*, 2009; Kalpana et Menon, 2004; Venkatesan et *al.*, 2000), et aussi la curcumine qui va réguler l'activité de ces enzymes (Reeta et *al.*, 2009) dans le tissu cérébral et rénaux. (Nagwa et *al.*, 2007 ; Maryam et *al.*, 2009; Elchinawy et Zaki, 2009).

Chapitre V : Impact de diazinon sur l'activité de l'ACHE : Effet protecteur de la supplémentation en vitamine E et / ou en curcumine.

1. Action sur les poids absolu et relatif du cerveau :

Les résultats obtenus montrent qu'il n'y a pas eu de variation statistiquement significative du poids absolu du cerveau chez le groupe traité par le DZN comparant au groupe témoin. (fig. 48).

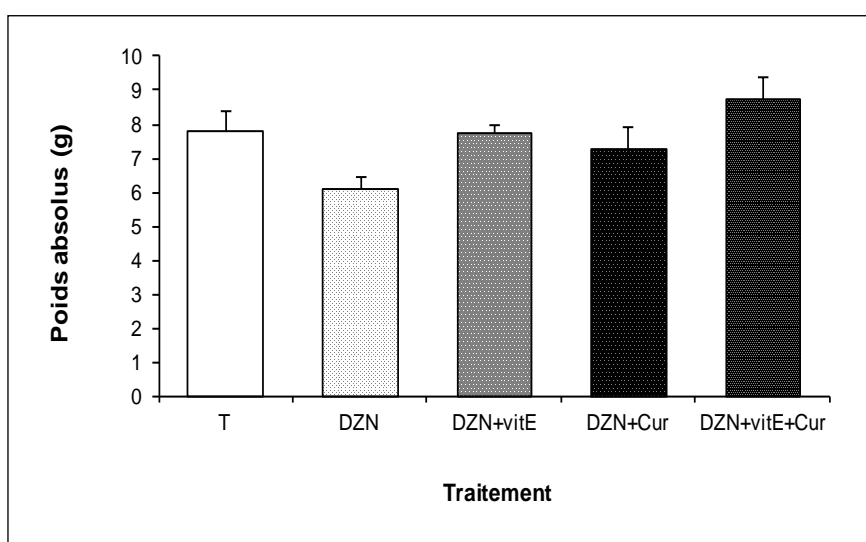


Fig. 48 : Variation du poids absolu du cerveau en (g) chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement

Les résultats obtenus pour le poids relatif du cerveau sont représentés dans le tableau.

Tab. 11: Variation de poids relatif (PR) (g/100g de PC) du cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux				
	Témoin	DZN	DZN/Vit E	DZN/ Cur	DZN/Vit E et Cur
PR du cerveau (g/100g de PC)	0.400 ± 0.06	0.467 ± 0.1	0.508 ± 0.22	0.415 ± 0.08	0.397 ± 0.08
%	—	+16.75%	27.00%	+3.75%	-0.75%

2. Effet sur l'activité de l'ACHE au niveau plasmatique :

La variation de l'activité de l'ACHE au niveau cérébrale et plasmatique des rats traités et témoins après 3 semaines de traitement sont montrés sur le tableau.

Tab.12: Variation de l'activité de l'ACHE au niveau plasmatique chez les rats témoins et les rats traités après 3 semaines de traitement.

Paramètres	Organes	Lots expérimentaux				
		Témoins	DZN	DZN/ Vit E	DZN / Cur	DZN / Vit E et C
	Plasma	1.86±0.1	0.774±0.0076 (***)	1.58±0.055 (###)	1.32±0.09 (**, ##)	1.47±0.061 (##)
	%	—	-58.38%	-15.05%	-29.03%	-20.96%

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; # #: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

2.1. Activité de l'acétylcholinestérase (AChE)

a) Dans le plasma

Les résultats obtenus montrent qu'il a eu une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) et hautement significative ($P \leq 0.01$) de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE) sérique chez les rats traités par le DZN (-58.38%) et chez les rats traités par la combinaison DZN/Cur (-29.03%), respectivement comparant au groupe témoin.

Par contre on enregistre un rétablissement par une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) et hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les groupes traités par la combinaison DZN / Vit E (+104.13%) et DZN / Cur (+70.54%) et la combinaison DZN / Vit E et Cur (+89.92%), respectivement comparant aux rats traités par le DZN (tab. 12; fig. 49).

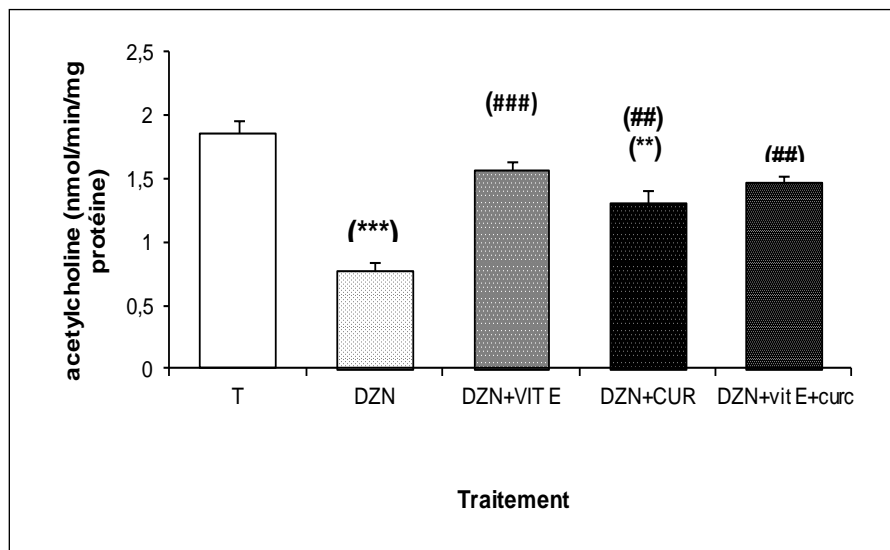


Fig.49 : Variation de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase dans le plasma chez les rats témoins et les rats traités pendant 3 semaines de traitement.

- ❖ DZN, DZN+ Vit E, DZN + Cur, DZN +Vit E + Cur par rapport le témoin (*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$).
- ❖ DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E+ Cur par rapport le groupe traité par le DZN (#: $p \leq 0.05$; # #: $p \leq 0.01$; ###: $p \leq 0.001$).

3. Impact sur l'histoarchitecture du cerveau :

L'observation microscopique de cerveau chez les groupes étudiés montre que les rats traités par le diazinon ont des cellules gliales dilatés comparant aux rats témoins. Aussi, on marque la présence des cellules atypiques, la même chose au niveau des cerveaux des rats traités par le diazinon et la vitamine E, le diazinon et la curcumine. On voit aussi la présence des cellules gliales de taille et de forme irréguliers dotés des noyaux hyperchromatique basophile et on observe que la mitose très active.

Par contre, le dernier groupe ou on combine le diazinon avec la vitamine E et la curcumine, on note que les observations histologiques de cerveaux des rats traités sont similaires aux cerveaux des rats témoins et on note aussi l'absence totale des cellules cancéreuses.

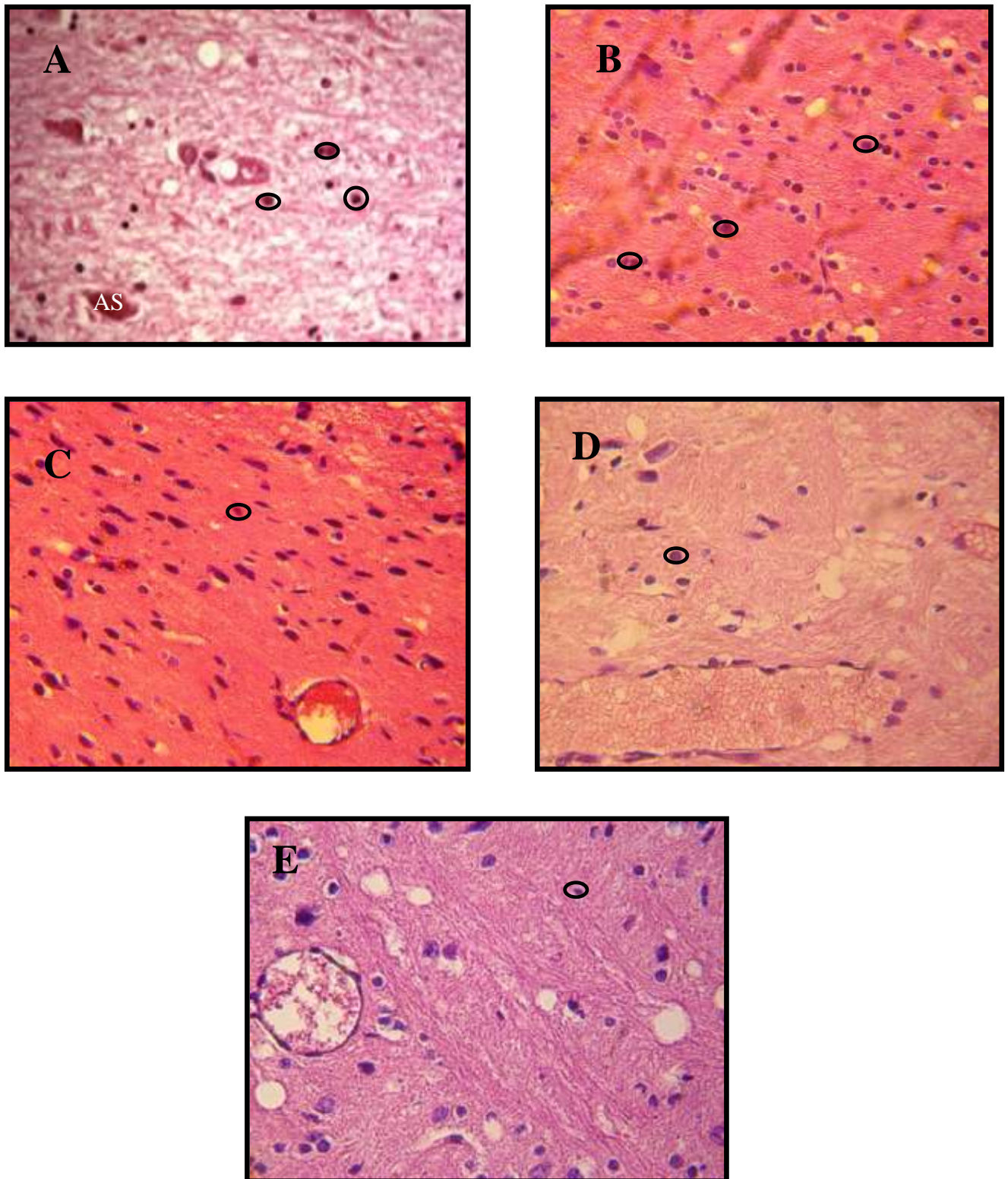


Fig. (35) : Histopathologie du cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 03 semaines de traitement.

Témoin, DZN, DZN+Vit E, DZN+Cur, DZN+Vit E+Cur
AS: astrocytes., O : neurone

❖ Discussion

Au niveau des jonctions neuromusculaires et inter-neuronales, l'influx nerveux est transmis grâce à la libération d'acétylcholine (ACh) par la terminaison nerveuse dans l'espace synaptique, ce qui permet la transmission du message nerveux d'une cellule à une autre. Une fois l'information transmise, l'ACh est rapidement inactivé par l'acétylcholinestérase (AChE), ce qui permet au système de revenir à son état de repos.

L'inhibition de l'enzyme AChE par de nombreux toxiques entraîne une accumulation du médiateur chimique dans les espaces synaptiques, conduit ainsi à une transmission continue de l'influx.

Concernant l'activité de l'AChE ; biomarqueur de neurotoxicité, les résultats obtenus ont indiqué leur diminution dans le plasma des rats après traitement avec le DZN. Le diazinon, comme les autres insecticides exerce leur toxicité par inhibition de l'AChE dans les synapses et les jonctions neuromusculaires. Cette inhibition de l'activité de l'AChE, comme cible enzymatique, peut servir d'indicateur d'exposition excessive aux effets de ces agents (Alexandra et al., 2009).

Plusieurs études sont similaires a nos résultats qui ont montré l'effet inhibiteur du DZN sur l'enzyme AChE (De La Torre et al., 2002 ; Lionetto et al., 2003 ; Alexandra et al., 2009). Par contre Romani et al., (2003) montre une augmentation significative de l'activité enzymatique de l'AChE au niveau de cerveau et les muscles chez les poissons *Sparus auratus* exposé au cadmium, mais d'autres études assurent aussi qu'il n'y a pas un changement de l'activité enzymatique de l'AChE lors d'une toxication par les métaux tel que le cadmium (Bauvais et al., 2001 ; Senger et al., 2006).

L'AChE est une enzyme non-thiol-dépendante. Cette enzyme sanguine est biochimiquement identique à celle neuronale. Plusieurs études ont montré la corrélation entre l'inhibition de l'AChE dans le sang et leur inhibition dans les tissus cibles (Yang et Dettbarn, 1996 ; Kale et al., 1999). Sa localisation sur la surface de la membrane érythrocytaire la rend aisément accessible aux radicaux (HO^{\cdot}), formés dans le milieu externe, qui peut provoquer des changements structurels menant à la diminution de son activité. Les changements dans leurs activités peuvent résulter de la réaction directe du xénobiotique avec l'enzyme, à la modification de la membrane érythrocytaire, au

changement de la charge électrique de la couche membranaire et à la génération des ERO tels que le H₂O₂ (Mansour et *al.*, 2009).

Le traitement par la curcumine et la vitamine E a amélioré l'activité enzymatique de l'AChE dans le plasma chez le rat traité par le DZN. Les futures recherches devraient porter sur les mécanismes moléculaires qui sous-tendent les effets protecteurs de la vitamine E et la curcumine pendant l'exposition DZN.



Conclusion générale

Conclusion et perspective

En conclusion, nos résultats montrent dans un premiers temps que l'administration de diazinon à 10mg/kg de poids corporel par voie orale chez les rats mâles pendant 21 jours, a provoquée des effets hépatotoxiques, néphrotoxiques et hématotoxiques. En revanche, la supplémentation en vitamine E et/ou en curcumine avec le diazinon améliore la plupart de ces perturbations. L'ensemble des résultats obtenus nous ont permis de tirer les conclusions suivantes:

En ce qui concerne la croissance corporelle; nos résultats montrent:

- * Une diminution du poids corporel liée avec une diminution de la consommation d'eau et de concentré durant la période de traitement avec le diazinon.
- * Une augmentation des poids relatifs des organes surtout les reins chez les rats traités par le diazinon.

En ce qui concerne la fonction hématologique; l'administration de diazinon provoque :

- Une diminution du nombre de globules rouges (GR);
 - Une diminution du taux de l'hémoglobine (Hb);
 - Une diminution du taux de l'hématocrite (HC);
 - Une diminution des valeurs du VGM témoignant de l'installation d'une anémie microcytaire.
- La combinaison avec vitamine E et/ ou la curcumine améliore les perturbations enregistrées avec le diazinon.

En ce qui concerne l'étude des paramètres biochimiques; nos résultats montrent:

Le traitement par le diazinon induit :

- Une diminution de la concentration sérique en bilirubine, triglycérider, urée et acide urique.
- Une augmentation de la concentration sérique en glucose, créatinine, cholestérol.
- Une augmentation de la concentration sérique des activités des enzymes sériques (TGO, TGP et PAL), ce qui confirme l'effet hépatotoxique et néphrotoxique de diazinon.
- Associées à la vitamine E/ la curcumine, ces perturbations enregistrées avec le diazinon sont améliorées ce qui peut témoigner de l'effet antioxydant et protecteur de la curcumine et de la vitamine E contre l'effet oxydatif de diazinon.

En ce qui concerne l'étude de quelques paramètres du stress oxydatif; nos résultats montrent::

Le traitement par le diazinon provoque :

- Une augmentation hautement significative du taux de la peroxydation lipidique (MDA) hépatique et rénale ce qui montre l'effet peroxydatif de ce pesticide au niveau des organes étudiés.
- Une diminution de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase au niveau des organes étudiés.
- Une augmentation de l'activité enzymatique de la glutathion – S – transférase.
- Une diminution de la concentration de la glutathion réduit (GSH), Ceci témoigne de l'effet oxydant de diazinon.

L'association de la vitamine E/ la curcumine avec le diazinon montre :

- Une protection contre les effets toxiques de diazinon au niveau des trois organes : foie, reins et cerveau aussi bien pour les activités enzymatiques de GPx, GST que sur le taux de GSH. Ceci montre bien l'effet antioxydant de la vitamine E/ la curcumine.

En ce qui concerne l'étude histologique :

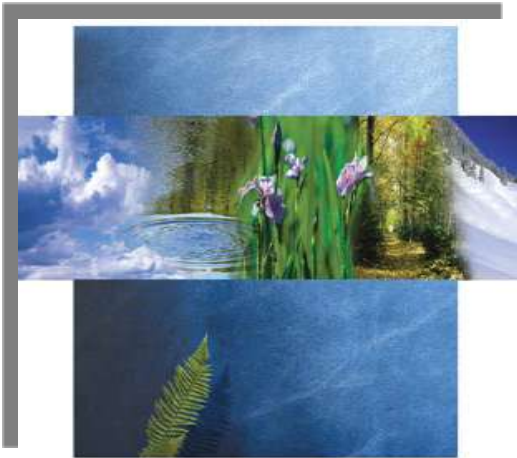
- Une altération structurale de foie avec des vacuolisations au niveau des hépatocytes, ainsi qu'une dilatation des espaces sinusoidales, En effet nos résultats illustrent l'apparition des cytolyses hépatiques; Ceci témoigne de l'effet cytotoxique local de diazinon sur les hépatocytes.

- Une altération structurale des reins qui est marquée par la présence d'une vacuolisation cytoplasmique au niveau des cellules épithéliales des tubules proximaux des rats traités par le diazinon, comparativement aux témoins.

- L'observation microscopique de cerveau chez les rats traités par le diazinon ont des cellules gliales dilatés et la présence des cellules atypiques comparant aux rats témoins.

- L'addition de la vitamine E/ la curcumine aux rats traités par le diazinon a amélioré l'aspect histologique des organes étudiés.

Les perspectives de notre travail sont encore nombreuses sur ce sujet. Il serait intéressant d'éclaircir d'avantage les mécanismes de défenses radicalaires, et ceci par des études de recherches plus poussées en s'intéressant de près au système radicalaire et au statut antioxydant total (SAT) par le dosage de plusieurs paramètres du stress oxydant (Le rapport GSH /GSSG , les radicaux libres, SOD, Vitamines E et C,)



Références Bibliographiques

Références bibliographiques



- ❖ **Abdollahi M., Ranjbar A., Shadnia S., Nikfar S., Rezaiee A. (2004).** Pesticides and oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit.* 10: RA141-RA147.
- ❖ **Abdulaziz M., Hristev H. (1996).** Serum aminotransferase, alkaline transferase and lactate dehydrogenase responses to oral consecutive doses of cyano-3 alpha phenoxybenzyl pyrethroids on sheep. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 2: 661–666.
- ❖ **Aebi H. (1984).** Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology.* 105: 121-126.
- ❖ **Aggarwal B.B., Kumar A., Bharti A.C. (2003).** Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Research* 23 (1): 363-398.
- ❖ **Aggarwal B.B., Kumar A., Aggarwal M.S. (2004).** Curcumin derived from turmeric (*Curcuma longa*): a spice for all seasons. In Bagchi D., Preuss H.G. *Phytopharmaceuticals in Cancer Chemoprevention*, Informa Healthcare: 349-87.
- ❖ **Ahmad I., Shukla S., Kumar A., Singh B.K., Patel D.K., Pandey H.P., Singh C. (2010).** Maneb and paraquat-induced modulation of toxicant responsive genes in the rat liver: comparison with polymorphonuclear leukocytes. *Chem. Biol. Interact.* 188: 566-579.
- ❖ **Ahmed K. et al. (2005).** Oxidative stress induced by different pesticides in the lands snails *Helix aspersa*. *Pakistan. Journal of Biological science.* 8(1): 92-96.
- ❖ **Akhgari M., Abdollahi M., Kebryaezadeh A., Hosseini R., Sabzevari O. (2003).** Biochemical evidence for free radical-induced lipid peroxidation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats. *Human and Experimental Toxicology.* 22: 205–211.
- ❖ **Akturk O. (2006).** The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat heart and ameliorating role of vitamin E and vitamin C. *Cell boil toxicol.* 22: 455-461.
- ❖ **Aldana L., Tsutsumi V., Craigmill A., Silveira M.I., Mejia E.G. (2001).** α -Tocopherol modulates liver toxicity of the pyrethroid cypermethrin. *Toxicol. Lett.* 125: 107–116.
- ❖ **Alexandra P., Vania L.L., Vera M.M., Bibiana S.M., Charlen M., Barbara C., Lucélia H., Valderi D. (2009).** Acetylcholinesterase activity, Lipid Peroxidation, and

- Bioaccumulation in Silver Catfish (*Rhamdia quelen*) Exposed to Cadmium. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 94: 19-3.
- ❖ **Alireza T., Hariri et al . (2011).** The effect of crocin and safranal, constituents of saffron, against subacute effect of diazinon on hematological and genotoxicity indices in rats, Phytomedicine 18:499–504.
 - ❖ **Al-Shinnawy M. (2008).** Vitamin C as ameliorative agent against thiodicarb toxicated male albino rats (*Rattus norvegicus*). Egyptian Acad. J. Biol. Sci. 12: 177-187.
 - ❖ **Altuntas I., Delibas N. (2002) .** The effects of fenthion on lipid peroxidation and some liver enzymes: the possible protective role of Vitamins E and C. Turk. J. Med. Sci. 32: 293–297
 - ❖ **Amara S. (2007).** Effets d'une exposition sub-chronique au champ magnétique statistique sur le métabolisme du zinc et la toxicité du cadmium chez le rat: Rôle du stress oxydant. Thèse de doctorat. Université du 7 novembre à Carthage. Tunisie.
 - ❖ **Anupama O. et al. (2011).** Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. Pesticides Biochemistry and Physiology. 99: 148-156.
 - ❖ **Araujo CAC ., Leon LL. (2001).** Biological activities of curcuma longa L, Mem Inst Oswaldo, Cruz, 96(5) :723-728.
 - ❖ **Archana A. (2011).** Effect of Diazinon on Acetylcholinesterase Activity and Lipid Peroxydation of Poecilia reticulata, Research Journal of environmental toxicology, 5(2):152-161.
 - ❖ **Ashgar M., Sheikh MA ., Hashmi A.(1994).** Effects of orally fed methyl parathion on some hematochemical parameters of rabbits. Pakistan Veterinary Journal 14: 34–36.
 - ❖ **Azzi A., Stocker A. (2000).** Vitamin E : non-antioxidant roles. Progress in Lipid Research .39: 231-255.

B

- ❖ **Banerjee B.D., Seth V., Bhattacharya A., Pasha S.T., Chakraborty A.K. (1999).** Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. Toxicol. Lett. 107: 33–47.
- ❖ **Barouki R., Morel Y.(2001).** Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress: mechanisms and biological implications. Biochem Pharmacol. Vol 61: 511-516.

- ❖ **Beaudeux J.L., Vasson M.P.(2001).** Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène. *Biochem Pharmacol.* Vol 61: 511-516.
- ❖ **Beauvais S.L., Jones S.B., Parris J.T., Brewer S.K., Little E.E. (2001).** Cholinergic and behavioral neurotoxicity of carbaryl and cadmium to larval rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicol Environ Safety.* 49: 84-90.
- ❖ **Ben Amara I., Soudani N., Troudi A., Bouaziz H., Boudawara T., Zeghal N. (2011).** Antioxidant effect of vitamin E and selenium on hepatotoxicity induced by dimethoate in female adult rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 74: 811-819.
- ❖ **Bharat B., Aggarwal B.B., Chitra S., Nikita M., Haruyo I. (2006).** CURCUMIN: The Indian gold. P1: OTE/SPH P2: OTESVNY332-Aggarwal.
- ❖ **Bocquené G., Galgani F. (1998).** Cholinesterase inhibition by organophosphorous and carbamate compounds. *Techniques in Marine Environmental Science* 22: 1-12.
- ❖ **Bollag J.M., Liu S.Y. (1990).** Biological transformation processes of pesticides in H.H. cheng, éd: *Pesticide in the soil en environmental processes, impacts, and modeling.* Soil science society of America Book, Madison.
- ❖ **Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Delattre J. (2003).** Radicaux libres et anti-oxydants. In : Delattre, J., Durand, G., Jardillier, J.C. *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires.* Médecine-sciences Flammarion, Paris: 59-81.
- ❖ **Bourdin J. (1983).** *Phytoma - Défense des cultures* : 6-11.
- ❖ **Bourg S.P. (2006).** Abeille et insecticides phytosanitaires. *Ecole national vétérinaire.Toulouse.PP* : 50-51.
- ❖ **Bouvenot G. (1996).** *Pathologie médical : dermatologie, rhumatologie, endocrinologie, toxicologie,* éd. Masson. Paris, pp: 570-571.
- ❖ **Bouvier G. (2005).** Contribution à l'évaluation de l'exposition de la population francilienne aux pesticides. *Faculté des sciences pharmaceutiques et biologique.* Paris.
- ❖ **Bradford M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteinbinding, *Anal. Biochem.* 72: 248–254.
- ❖ **Brand C., Snaddon J., Bailey M., Cicuttini F. (2001).** Vitamin E is ineffective for symptomatic relief of knee osteoarthritis: a six month double blind, randomised, placebo controlled study. *Ann Rheum Dis* .60:946-949.
- ❖ **Brkić V.D., Vitorović S.L., Gašić S.M., Nešković N.K. (2008).** Carbofuran in water: Subchronic toxicity to rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 25: 334-341.

- ❖ **Buege J.A., Aust S.D. (1972).** Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. 51: 302-310.
- ❖ **Buettner GR., Ng CF., Wang M., Rodgers VG., Schafer FQ. (2006).** A new paradigm manganese superoxide dismutase influences the production of H₂O₂ in cells and thereby their biological state. *Free Radic Biol Med*; 41:1338-50.
- ❖ **Burtis A . (1999).** *Tiets textbook of clinical chemistry*, 3rd Ed AACC.



- ❖ **Cadet J., Bellon S., Berger M., Bourdat A.G., Douki T., Duarte V., Frelon S., Gasparutto D., Muller E., Ravanat J.L., Sauvaigo S. (2002).** Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases, *Biol. Chem*, 383(6): 93 - 100.
- ❖ **Cai J., Huang Z.Z., Lu S.C.(1997).** Differential regulation of gamma-glutamylcysteine synthetase heavy and light subunit gene expression. *Biochem J*; 326 (Pt 1):167-72.
- ❖ **Celik I., Turker M., Tuluçe Y. (2007).** Abscisic acid and gibberellic acid cause increased lipid peroxidation and fluctuated antioxidant defense systems of various tissues in rats. *Journal of Hazardous Materials* .148: 623–629.
- ❖ **Cemek M., Büyükben A., Büyükkuroğlu M.E., Aymelek F., Tür L. (2010).** Protective roles of vitamin E (α -tocopherol), selenium and vitamin E plus selenium in organophosphate toxicity in vivo: A comparative study. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 96: 113-118.
- ❖ **Cédric Clauzure. (2007).** Méta-analyses des effets chimioprotecteurs de la curcumine et du thé vert sur la cancérogenèse colorectale chez les rongeurs, l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.
- ❖ **Chambers J.E., Carr R.L. (1995).** Biochemical mechanisms contributing to species differences in insecticidal toxicity. *Toxicology*. 105: 291-304.
- ❖ **Chattopadhyay I., Biswas K., Bandyopadhyay U., Banerjee R. K. (2004).** Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Curr Sci* 87:44–50.
- ❖ **Choudhary, N., Sharma, M., Verma P., Joshi S.C. (2003).** Hepato and nephrotoxicity in rat exposed to endosulfan. *J. Environ. Biol*. 24: 305-308.
- ❖ **Comhair S.A.A ., Erzurum S.C. (2002).** Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 283: 246 - 255.

- ❖ **Cuvelier C., Dotreppe O., Istasse L. (2003).** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann Méd Vét.*147:315-324. (a)
- ❖ **Cuvelier C., Dotreppe O., Istasse L. (2003).** Vitamine E : état des connaissances chez les carnivores domestiques. Métabolisme, besoins et apports. *Ann Méd Vét.* .147:367-382. (b).

D

- ❖ **Danatus IA., Vermeulen S., Vermeulen N. (1990).** Cytotoxic and cytoprotective activities of curcumin, Effect on paracetamol induced cytotoxicity, lipid peroxidation and glutathione depletion in rat hepatocytes, *biochem, pharmacol.* 39 (12):1869-1875.
- ❖ **Daniel S., Limson J.L., Dairam A., Watkins G.M., Daya S. (2004).** Through meta binding, curcumin protects against lead- and cadmium-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates and against lead-induced tissue damage in rat brain. *Journal of Inorganic Biochemistry.* 98: 266–275.
- ❖ **De La Tore F.R., Ferrari I., Salibian A. (2002).** Freshwater pollution biomarker : response of brain acetylcholinesterase activity in two fish species. *Comp. Biochem. Physiol.C* (131) : 271-280.
- ❖ **Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris. 1 - 405.
- ❖ **Dellali M. M., Gnassia-Barelli M., Romeo., Aissa P. (2001).** The use of acetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussates* and *Mitillus galloprovincialis* in the biomonitoring of Bzerta lagoon. *Comp. Biochem. Physiol.* 130: 227-235.
- ❖ **Dettbarn W.-D., Milatovic D., Zivin M., Gupta R.C. (2001).** Oxidative stress, acetylcholine and excitotoxicity. In: Marwah J., Kanthasamy A. (Eds.). *International Conference on Antioxidants.* Prominant Press, Scottsdale, AZ. pp. 183-211.
- ❖ **Donatus I. A., Sardjoko Vermeulen. N.P. (1990).** Cytotoxic and cytoprotective activities of curcumin: effects on paracetamol-induced cytotoxicity, lipid peroxidation and glutathione depletion in rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology.* 39:1869–1875.
- ❖ **Dorsey A., Corcoran J. (2001).** Toxicological profile for diazinon. U.S. Department of Health and Human Services. Georgia :30333.

- ❖ **Dorval J., Hontela A. (2003).** Role of glutathione redox cycle and catalase in defense against oxidative stress induced by endosulfan in adrenocortical cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicology and Applied Pharmacology*. 192: 191-200.
- ❖ **Desrumaux C., Deckert V., Athias A., Masson D., Lizard G., Palleau V., Gambert P., Lagrost L. (1999).** Plasma phospholipid transfer protein prevents vascular endothelium dysfunction by delivering α -tocopherol to endothelial cells. *The FASEB Journal*. 13:883–892.
- ❖ **Dubois G. (1986).** Index phytosanitaire, produits insecticides, fongicides, herbicides. Edition: acta vol.PP: 22-26.
- ❖ **Duvoix A., Blasius R., Delhalle S., Schnekenburger M., Morceau F, Henry E. et al. (2005).** Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Letters* 223: 181–190.



- ❖ **El-Demerdash F.M. (2004).** Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 18: 113-121.
- ❖ **El-Demerdash F., Attia A.A., Elmazoudy R.H. (2012).** Biochemical and histopathological changes induced by different time intervals of methomyl treatment in mice liver. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*. 47(12): 1948-1954.
- ❖ **El-Demerdash F., Dewar Y., Elmazoudy R.H., Attia A.A. (2013).** Kidney antioxidant status, biochemical parameters and histopathological changes induced by methomyl in CD-1 mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etp.2013.01.002>.
- ❖ **Elhalwagy M., Ismail N.Z. (2009).** Comparative study on pesticides mixture of organophosphorus and pyrethroid in commercial formulation. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 28:219-224.
- ❖ **Elif O. (2010).** Effects of Diazinon on Antioxidant defense System and Lipid Peroxidation in the liver of *Cyprinus Carpio* (L). *Environmental Toxicology*. Doi: 10:1002.

- ❖ **El-Gendy K.S., Aly N.M., Mahmoud F.H., Kenawy A., El-Sebae A.K. (2010).** The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food Chem. Toxicol.* 48: 215-221.
- ❖ **El-Khawaga O.A. (2005).** Role of selenium on antioxidant capacity in methomyl-treated mice. *J. Physiol. Biochem.* 61(4): 501-506.
- ❖ **Elmadfa I. (2008).** vitamine E für Gesundheit, Kraft und Lebensfreude? *Ernährungsumschau.* PP: 3.
- ❖ **Ellman G.L. (1959).** Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 82: 70-77.
- ❖ **Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V. J.r., Featherstone R.M. (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol.*7: 88-95.
- ❖ **El-Shenawy N., Zaki R. (2009).** Prophylactic effect of vitamin E against hepatotoxicity, nephrotoxicity, haematological indices and histopathology induced by diazinon insecticide in mice. *Curr. Zool.*55 (3): 219-226.
- ❖ **El-Shenawy N. et al. (2010).** Amelioratory effect of vitamin E on organophosphorus insecticide diazinon-induced oxidative stress in mice liver. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 96: 101-107.
- ❖ **El-Zahar H.E., Tharwat E., El-Aal W.A., El-Ashry M.A., Saad M.M., Amin S.O. (1996).** Rabbit and aflatoxins. 1. Effect of aflatoxins. 2. Reproductive performance of mature New Zealand white rabbit bucks. *Egypt. J. Rabbit Sci.* 6: 55- 65.
- ❖ **Enan E., Berberian I.G., el-Fiki S., El-Masry M., Enan O.H. (1987).** Effects of two organophosphorus insecticides on some biochemical constituents in the nervous system and liver of rabbits. *Journal of Environmental Science and Health.* B22: 149–170.
- ❖ **Eraslan G., Kanbur M., Silici S. (2009).** Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen. *Food and Chemical Toxicology.* 47: 86-91.
- ❖ **Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jurgens G. (1992).** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic. Biol. Med.* 13, 341.
- ❖ **Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jurgens G. (1997).** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL, *Free Rad. Biol. Med.*13 : 341 - 349.
- ❖ **Evans P.H. (1993).** Free radicals in brain metabolism and pathology. *Br. Med. Bull.* 49: 577-587.

- ❖ **Even I., Berta J.L., Volatier J.L. (2002).** Evaluation de l'exposition théorique des nourrissons et enfants en bas age aux résidus de pesticides apportés par les aliments courants et infantiles, Document AFSSA.
- ❖ **Eybyl V., Kotyzova D., Leseticky L., Bludovska Mand., Koutensky J. (2006).** The influence of curcumin and manganese complex of curcumin on cadmium-induced oxidative damage and trace elements status in tissues of mice. *Journal of Applied Toxicology*. 26: 207–212.



- ❖ **Faber R. (1971).** Précis de toxicologie tome.1Ed.Paris. PP: 265-270.
- ❖ **Fan G., Tang J.J., Bhadauria M., Nirala S.K, Dai F., Zhou B. (2009).** Resveratrol ameliorates carbon tetrachlorideinduced acute liver injury in mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 28: 350–356.
- ❖ **Farombi E.O., Ekor M. (2006).** Curcumin attenuates gentamicin-induced renal oxidative damage in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 44: 1443–1448.
- ❖ **FAO/OMS.(1970).** evaluation of some pesticide residues in food. Série de l’OMS sur les additifs alimentaires, n° 42, Organisation mondiale de la santé, Genève (1971).
- ❖ **Fatma M.E.D., Mokhtar I.Y., Fatma M.E.R. (2009).** Ameliorating effect of curcumin on sodium arsenite-induced oxidative damage and lipid peroxidation in different rat organs. *Food and Chemical Toxicology*. 47: 249–254.
- ❖ **Favier A. (1997).** Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d’un marqueur. *Ann Biol Clin*, 55 (1) : 9 - 16.
- ❖ **Favier A. (2003).** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L’actualité chimique*. Vol (5): 108-115.
- ❖ **Feigenbrugel V. (2005).** Devenir atmosphérique des pesticides: distribution entre les différentes phases de l’atmosphère et oxydation photochimique. Université louis Pasteur strasbourg.
- ❖ **Fernandez-Checa J.C ., Kaplowitz N. (2005).** Hepatic mitochondrial glutathione: transport and role in disease and toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* . 204:263-73.
- ❖ **Fest C. Schmidt K.S. (1973).** The Chemistry of Organophosphorus pesticides. Springer-Verlag. Berlin.

- ❖ **Fetoui H., Garouia E., Makni-ayadi F., Zeghal N .(2008).** Oxidative stress induced by lambda-cyhalothrin (LTC) in rat erythrocytes and brain: attenuation by vitamin C. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 26: 225–231
- ❖ **Finco D.R. (1997).** Kidney function. In: Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruce, M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic press, San Diego, California. 462-478.
- ❖ **Flohe L., Gunzler W.A. (1984).** Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol.* 105. 114–121.
- ❖ **Floyd R.A. (1997).** Protective action of nitron-based free radical traps against oxidative damage to the central nervous system. *Adv. Pharmacol.* 38: 361-378.
- ❖ **Folz R.J., Crapo J.D.(1994).** Extracellular superoxide dismutase (SOD3): tissue-specific expression, genomic characterization, and computer-assisted sequence analysis of the human EC SOD gene. *Genomics.dfc.* 22:162-71.



- ❖ **Garg D.P., Kiran R., Bansal A.N., Malhotra A. and Dhawan D.K. (2008).** Role of vitamin E in mitigating methomyl acute toxicity in blood of male Wistar rats. *Drug and Chemical Toxicology.* 31: 487-499.
- ❖ **Garg D.P., Bansal A.K., Malhotra A., Kiran R., Dhawan D.K. (2009).** Methomyl induced hematological and biochemical alterations protection by vitamin E. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 93(3): 127-132.
- ❖ **Garg D.P., Bhalla P., Kiran R., Bansal A.K., Dhawan D.K. (2009a).** Vitamin E-mediated protection in methomyl induced alterations in rat liver. *Toxicological and Environmental Chemistry.* 91(4): 685-698.
- ❖ **Gallogly M.M., Mieyal J.J.(2007).** Mechanisms of reversible protein glutathionylation in redox signaling and oxidative stress. *Curr Opin Pharmacol .* 7:381-91.
- ❖ **Gaw A .(2004).** *Biochimie Clinique*, éd. Elsevier SAS.Paris. PP : 52-53 .
- ❖ **Goldstein S., Meyerstein D., Czapski G.(1993).** The Fenton reagents. *Free Rad Biol Med,* 15 : 435 - 445.
- ❖ **Grance S.R., Teixeira M.A., Leite R.S., Guimaraes E.B., Siqueira J.M., Oliveira, Filii W.F. (2008).** *Baccharis trimera*: effect on haematological and biochemical parameters and hepatorenal evaluation in pregnant rats. *Journal of Ethnopharmacology* 117: 28–33.

- ❖ **Gregor D. J; Gummer D. W. (1989).** Evidence of atmospheric transport and deposition of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyl in Canadian arctic. *Snow Environ. Sci. Tech* (23). PP: 561-565.
- ❖ **Gupta M., Bagchi G., Bandyopadhyay S., Sasmal D., Chatterjee T., Dey S.N. (1982).** Hematological changes produced in mice by Nuvacron or Furadan. *Toxicology* 25: 255–260.
- ❖ **Gupta R.C., Goad J.T., Kadel W.L. (1993).** Protection and reversal by memantine and atropine of carbofuran-induced changes in biomarkers. *Drug Develop. Res.* 28: 153-160.
- ❖ **Gupta R.C., Milatovic D., Dettbarn W.-D. (2001a).** Depletion of energy metabolites following acetylcholinesterase inhibitor-induced status epilepticus: protection by antioxidants. *Neurotoxicology.* 22: 271-282.
- ❖ **Gupta R.C., Milatovic D., Dettbarn W.-D. (2001b).** Nitric oxide modulates high-energy phosphates in brain regions of rats intoxicated with diisopropylphosphorofluoridate or carbofuran: prevention by *N-tert-butyl- α -phenylnitron* or vitamin E. *Arch. Toxicol.* 75: 346-356.
- ❖ **Gupta P.K. et al. (2004).** Pesticide exposure—Indian scene. *Toxicology.* 198:83-90.
- ❖ **Gupta S., Garg G.R., Bharal N., Mediratta P.K., Banerjee B.D., Sharma K.K. (2009).** Reversal of propoxur-induced impairment of step-down passive avoidance, transfer latency and oxidative stress by piracetam and ascorbic acid in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 28: 403-408.
- ❖ **Gutteridge J.M., Halliwell B. (2000).** Free radicals and antioxidants in the year 2000: a historical look to the future. *Ann. NY Acad.* 899: 136-147.



- ❖ **Habig W.H., Pabst M.J., Jacobi W.B. (1974).** The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J.Biol. Chem.* 249: 7130-7139.
- ❖ **Hakkarainen R.V., Tyopponen J.T., Hassan S., Bengtsson S.G., Jonsson S.R., Lindberg P.O. (1984).** Biopotency of vitamin E in barley. *British Journal of Nutrition.* 52:335-349.
- ❖ **Halliwell B. (1989).** Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol,* 70: 737 - 757.
- ❖ **Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (1989).** Free radicals in biology and medicine. 2nd edition. Clarendon Press, Oxford. 543p.

- ❖ **Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (1990).** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology* 186: 1–85.
- ❖ **Halliwell B., Chirico S. (1993).** Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *American Journal of Clinical Nutrition*. 57(suppl):715S-25S.
- ❖ **Halliwell B. (1994).** Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews* 52: 253–267.
- ❖ **Halliwell B. (1996).** Mechanisms involved in the generation of free radicals. *Pathologie Biologie*. 44: 6-13.
- ❖ **Halliwell B., Gutteridge J. M. (1996).** The definition and measurement of antioxidants in biological systems: *Free Radic. Biol Med.* v. 18. PP: 125-6.
- ❖ **Halliwell B, Gutteridge J.M.C. (2002).** Free radicals in biology and medicine. Oxford: University Press Inc. 3: 105–245.
- ❖ **Hance R. J; Fuhr F. (1992).** Lysimeter studies of the fate of pesticides in the soil. The British Crop Protection council Monographs series, Farnham.
- ❖ **Hand M.S., Thatcher C.D., Remillard R.L., Roudebush P. (2000).** Nutrition clinique des animaux de compagnie. 4eme edition, Mark Morris Institute Edition, Topeka, Kansas. 1208.
- ❖ **Harper B., Luukinen B., Gervais J. A., Buhl K., Stone D. (2009).** Diazinon Technical Fact Sheet; National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services. <http://npic.orst.edu/factsheets/diazinontech.pdf>.
- ❖ **Hayes W.J. (1982).** Pesticides studies in man. Williams and Wilkins; Baltimore, MD.
- ❖ **Henri C. (1999).** Pesticides in introduction à la toxicologie nutritionnelle. Ed: Tec et Doc Londres – New York. PP : 65-77.
- ❖ **Houlot R. (1984).** Techniques d’histopathologie et de cytopathologie. Ed. Maloine, 19-21, 225-227.
- ❖ **Houote S. (1992).** Information biologique des produits à usage agricole (nitrates des pesticides) dans le sol et dans l'eau: Modélisation possible, INRA. Grignon.
- ❖ **Huang C.S., Moore W.R., Meister A. (1988).** On the active site thiol of gamma glutamylcysteine synthetase: relationships to catalysis, inhibition, and regulation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 85:2464-8.
- ❖ **Hutson D. H., Roberts T.R. (1999).** Metabolic pathways of agrochemicals: insecticides and fungicides. The royal society of chemistry; Cambridge. U. K. pp: 258-263.



- ❖ **International Workshop on Crop Protection Chemistry. (2005).**
- ❖ **Isabelle T., Odile P., Sandra C. (2001).** Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel des connaissances. Etude commanditée et financée par : la Direction Régionale des Affaires Sanitaires et Sociales de Bretagne, la Direction Régionale de l'Environnement, la Direction Régionale de l'Agriculture et de la Forêt, l'Agence de l'eau Loire Bretagne.
- ❖ **Ismail R.S.A., El-Megeid Ashraf A.A., Abdel-Moemin A.R. (2009).** Carbon tetrachloride-induced liver disease in rats: the potential effect of supplement oil with vitamins E and C on the nutritional status. *German Medical Science* 7: 1–10.



- ❖ **Jean loup - Mouysset. (2009).** Recommandation pratique pour l'utilisation du Curcuma en prévention et accompagnement du traitement du cancer. oncologue médical Aix en Provence Président fondateur de l'association Ressource Soutien des personnes atteintes de cancer et leur entourage.
- ❖ **Jacobsen H., Ostergaard G., Lam H.R., Poulsen M.E, Frandsen H, Ladefoged O. (2004).** Repeated dose 28-day oral toxicity study in Wistar rats with a mixture of five pesticides often found as residues in food: alphacypermethrin, bromopropylate, carbendazim, chlorpyrifos and mancozeb. *Food and Chemical Toxicology* .42: 1269–1277.
- ❖ **Ji l.l. (1998) .** Exercise at old age: does it increase or alleviate oxidative stress (*Ann N Y Acad Sci*.Vol (928).236-247.
- ❖ **Jingjing L. et al. (2012).** Anti hyperlipidaemic and antioxidant effects of turmeric oil in hyperlipidaemic rats. *Food Chemistry*.130: 229-235.



- ❖ **Kale M., Rathore N., John S., Bhatnagar D. (1999).** Lipid peroxidative damage on pyrethroids exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: a possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicology Letters*. 105: 197-205.
- ❖ **Kalender Y. et al. (2005).** Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes, *Toxicology* 211, 197-206.
- ❖ **Kalender Yusuf .et al. (2006).** Effects of diazinon on pseudocholinesterase activity and haematological indices in rats: The protective role of Vitamin E, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 22: 46–51.
- ❖ **Kalpana C., Menon V.P. (2004).** Curcumin ameliorates oxidative stress during nicotine-induced lung toxicity in Wistar rats. *Italian Journal of Biochemistry* .53: 82–86.
- ❖ **Kamboj A., Kiran R., Sandhir R. (2006).** Carbofuran-induced neurochemical and neurobehavioral alterations in rats: attenuation by N-acetylcysteine. *Experimental Brain Research*. 170: 367-575.
- ❖ **Kaplan A. (1984).** Glucose. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. pp. 1032-1036.
- ❖ **Kaplan A. (1984).** Urea. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. pp. 1257-1260, 437 and 418.
- ❖ **Kaplan A. et al. (1984).** Bilirubin. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. pp. 1238-1241.
- ❖ **Kaplan A. et al. (1984).** Triglycerides. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. p 437.
- ❖ **Karami-Mohajeri S., Abdollahi M. (2011).** Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: a systematic review. *Human and Experimental Toxicology*. 30(9): 1119-1140.
- ❖ **Kehrer J. P .(1993).**Free radicals as mediators of tissue injury and disease: *Crit Rev Toxicol*, v. 23, p. 21-48.
- ❖ **Koller A. (1984).** Total serum protein. *Clin chem the C.V. Mosby Co. St louis. Toronto.Princeton*. 1316-1324.
- ❖ **Ksheerasagar R.L., Kaliwal B.B. (2006).** Histological and biochemical changes in the liver of albino mice on exposure to insecticide, carbosulfan. *Caspian J. Env. Sci.* 4: 67-70.

- ❖ **Kunnumkkara. (2008).** curcumin sensitizes human colorectal cancer xenografts in nude mice to radiation by targeting nuclear factor B-regulated gene products. *Cancer Therapy : cancer biol therapy.* Apr 4: 7 (7).
- ❖ **Kuntal Maiti., Kakali Mukherjee., Arunava Gantait., Bishnu Pada. Saha., Pulok Mukherjee. (2007).** Curcumin–phospholipid complex: Preparation, therapeutic evaluation and pharmacokinetic study in rats. School of Natural Product Studies, Department of Pharmaceutical Technology, Jadavpur University, Kuntal International Journal of Pharmaceutics (330):155–163, India.

L

- ❖ **Lawerys R.R .et al. (2007).** Toxicologie industrielle et intoxication professionnelles, éd Elsevier. Masson. Paris. PP:62-67.
- ❖ **Levine R.L., Garland D., Olive C.N., Amici A., Climent I., Lenz A.G., Ahn B.W., Shaltiel S., Mc Cord J.M. (2002).** The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J. Med.* Vol 108: 652-659.
- ❖ **Lionetto M.G., Caricato R., Giordano R., Pasciriello M.F., Marinosci I., Schettio T. (2003).** Integrated use of biomarkers (acetylcholinesterase and antioxidant enzymes activities) in *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbours* in an Italian coastel marine area. *Mar. Pollut. Bull.* 44:324-330.
- ❖ **Lu S.C. (1999).** Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. *Faseb. J.* 13:1169-83.
- ❖ **Luc Montagnier. (2002).** Nutrition, Prévention et Santé, nutra news juin Science. Fondation Mondiale Recherche et Prévention Sida1, paris.

M

- ❖ **Macmillan-Crow L.A., Cruthirds D.L. (2001).** Invited review: manganese superoxide dismutase in disease. *Free Radic Res.* 34:325-36.
- ❖ **Malloy H.T. (1937).** The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J. Biol Chem.* 112. (2): 481-491.
- ❖ **Manawadi S.I., Kaliwal B.B. (2010).** Methomyl-induced alteration in mice hepatic-oxidative status. *Inter. J. Biotech. App.* 2(2): 11-19.

- ❖ **Mansour S.A., Mossa A.T.H., Heikal T.M. (2009).** Effects of methomyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat erythrocytes: *In vitro* studies. *Toxicol. Indust. Health.* 25(8): 557-563.
- ❖ **Marc Nicol1., Maryvonne Maudet .(2005).** Le curcumin, *Biochimie Médicale A* (Professeur A. Le Treut), Faculté de Médecine de Rennes, F-35000 Rennes., 41, 3 : 135-145.
- ❖ **Masters R. (1986).** L'analyse des résidus toxique. I. R. Derache, éd. Toxicologie et sécurité des aliments. 1er éd, technique et documentation. Paris.
- ❖ **Maysaloun M. (2008).** L'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faible doses: caractérisation des effets sur les lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique marin. Institut National Polytechnique. Toulouse. PP: 3-5.
- ❖ **Mc Cord J. (1993).** Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.*PP: 26-32.
- ❖ **Meltem Uzunhisarcikli.,Yusuf Kalender. (2011).** Protective effects of vitamins C and E against hepatotoxicity induced by methyl parathion in rats, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74: 2112–2118.
- ❖ **Messarah M., Klabet F., Boumendjel A., Abdennour C., Bouzerna N., Boulakoud M.S., El Feki A. (2012).** Hepatoprotective role and antioxidant capacity of selenium on arsenic induced liver injury in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 64: 167-174.
- ❖ **Meiattini F. et al. (1978).** The 4-hydroxybenzoate / 4-aminophenazone Chromogenic System. *Clin. Chem .* 24 (12): 2161-2165.
- ❖ **Mitchell Deborah. (2009).** Curcumin and chronic fatigue syndrome, Co-Cure. Dossier sur le Curcuma. passeportsante.net, avril 2009.PP : 264.
- ❖ **Mohamed M., Abdellatif M.D., Sabar A., Elglammal M.D. (2003).** Sodium fluoride ion and renal function after prolonged sevoflurane or isoflurane anaesthesia. *Eng. J. Anaesth.* 19: 79-83.
- ❖ **Morel Y. Barouki R. (1999).** Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J.* Vol 342: 481-496.
- ❖ **Munnich A., Ogier H., Saudubray J.M. (1987).** Les vitamines. Aspects métaboliques, génétiques, nutritionnels et thérapeutiques. Edition Masson, Paris, France.PP : 428 .
- ❖ **Murray R. (1984).** Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al .*Clin chem. The C.V.* Mosby Co. Si louis. Tronto. Princeton. 1112-1116.



- ❖ **Nathalie Bonvallot., Frédéric Dor. (2004).** Insecticides organochlorés aux Antilles : identification des dangers et valeurs toxicologiques de référence (VTR). Institut de vielle sanitaire.
- ❖ **National Academy of Science (NAS). (1977).** Drinking water and health. Vol (1). U. S. National Research Concl. Washington. DC.
- ❖ **Nohl H., Gille L., Staniek K .(2004).** The mystery of reactive oxygen species derived from cell respiration. *Biochemical Society Transactions*. 51: 223 - 229.
- ❖ **Naito H.K. (1984).** Cholesterol. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. pp. 1194-11206.
- ❖ **Nordberg J., Arner E.S. (2001).** Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med* . 31:1287-312.



- ❖ **Ogut S., Gultekin F., Kisioglu A.N., Kucukoner E. (2011).** Oxidative stress in the blood of farm workers following intensive pesticide exposure. *Toxicol. Ind. Health*. 27: 820-825.
- ❖ **Ojha A., Yaduvanshi S.K., Srivastava N. (2011).** Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 99(2): 148–156.
- ❖ **Ookhtens M., Kaplowitz N. (1998).** Role of the liver in interorgan homeostasis of glutathione and cysteine. *Semin Liver Dis*. 18:313-29.
- ❖ **ORS. (2001).** Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel sur la santé, Bretagne, [http://www.fne.asso.fr/transfert/eau/5_pagepesticides/1_ORSB_pesticides .pdf](http://www.fne.asso.fr/transfert/eau/5_pagepesticides/1_ORSB_pesticides.pdf).
- ❖ **Osman G. et al. (2005).** The effects of diazinon on pancreatic damage and amelioring role of vitamin E and vitamin C, *Pesticide Biochemistry and Physiology*.81:123-128.
- ❖ **Ozden S., Catalgol B., Gezginci-Oktayoglu S., Arda-Pirincci P., Bolkent S., Alpertunga B. (2009).** Methiocarb-induced oxidative damage following subacute exposure and the protective effects of vitamin E and taurine in rats. *Food and Chemical Toxicology*.47: 1676-1684.

P

- ❖ **Pach D., Gawlikowski B., Huszno B., Targosz D. (1998).** The evaluation of carbofuran hepatotoxicity in acute poisoning. *Toxicol. Lett.* 95: 164.
- ❖ **Pai E.F., Schulz G.E. (1983).** The catalytic mechanism of glutathione reductase as derived from x-ray diffraction analyses of reaction intermediates. *J Biol Chem.* 258:1752-7.
- ❖ **Pal R., Ahmed T., Kumar V., Suke S.G., Ray A., Banerjee B.D. (2009).** Protective effects of different antioxidants against endosulfan-induced oxidative stress and immunotoxicity in albino rats. *Indian J. Exp. Biol.* 47: 723-729.
- ❖ **Patil J.A.A, Patil A.J.V., Sontakke A.V., Govindwar S.P. (2008).** Effect of methomyl on hepatic mixed function oxidases in rats. *Indian J. Pharmacol.* 40: 158-163.
- ❖ **Pesce A. (1984).** Lactate dehydrogenase. Kaplan, A et al. 1984. *Clin Chem The C.V.* Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton; 1124-1117. 438.
- ❖ **Pesson P. (1978).** Information générale sur les pesticides. Ed: Gauthier Villards. PP : 105-120.
- ❖ **Possamai F.P., Fortunato J.J., Feier G., Agostinho F.R., Quevedo J., Wilhelm Filho D., Dal-Pizzol F. (2007).** Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 23: 198-204.
- ❖ **Priyadarshini K.I., Maity D.K., Naik G.H., Kumar M.S., Unnikrishnan M. K., Satav J.G., Mohan H. (2003).** Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radic Biol Med.* 35:475- 484.
- ❖ **Punithavathi D., Venkatesan N., Babu M. (2000).** Curcumin inhibition of bleomycininduced pulmonary fibrosis in rats. *Br .J. Pharmacol.* 131:169–172.

R

- ❖ **Radhey S.V., Anugya M., Nalini S. (2009).** Comparative studies on chlorpyrifos and methyl parathion induced oxidative stress in different parts of rat brain: attenuation by antioxidant vitamins. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 95: 152–158.
- ❖ **Rahman M.F., Siddiqui M.K., Jamil K. (2000).** Acid and alkaline phosphatase activities in a novel phosphorothionate (RPR-11) treated male and female rats. Evidence of dose and time-dependent response. *Drug Chem. Toxicol.* 23: 497-509.
- ❖ **Rai D.K., Sharma B. (2007).** Carbofuran induced oxidative stress in mammalian brain. *Mol. Biotechnol* 37: 66-71.
- ❖ **Rai D.K., Rai P.K., Rizvi S.I., Watal G., Sharma B. (2009).** Carbofuran-induced toxicity in rats: Protective role of vitamin C. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 61(6):531-535.
- ❖ **Raina R., Verma P.K., Pankaj N.K., Prawez S. (2009).** Induction of oxidative stress and lipid peroxidation in rats chronically exposed to cypermethrin through dermal application. *J. Vet. Sci.* 10: 257-259.
- ❖ **Ramirez D.C., Gomez-Mejiba S.E., Corbett J.T., Deterding L.J., Tomer K.B., Mason R.P. (2008).** Cu, Zn-Superoxide Dismutase-driven Free Radical Modifications: Copper- and Carbonate Radical Anion-initiated Protein Radical Chemistry. *Biochemical Society*, 10: 1 - 25.
- ❖ **Ramiro-Puig E., Urpi´-Sarda´ M., Pe´rez-Cano FJ., Franch A., Castellote C., Andre´s-Lacueva C. et al. (2007).** Cocoaenriched diet enhances antioxidant enzyme activity and modulates lymphocyte composition in thymus from young rats. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 55: 6431–6438.
- ❖ **Ramos S. (2008).** Cancer chemoprevention and chemotherapy: dietary polyphenols and signalling pathways. *Molecular Nutrition and Food Research*. 52: 507–526.
- ❖ **Rana S.V., Rekha S., Seema V. (1996).** Protective effects of few antioxidants on liver function in rats treated with cadmium and mercury. *Indian J. Exp. Biol.* 34: 177-179.
- ❖ **Raymond G. A. M. (2006).** Thèse: principale intoxication du chien dans les jardins. Toulouse. PP: 54-55.
- ❖ **Reddy A.C.P., Lokesh B.R. (1994).** Studies on the inhibitory effects of curcumin and euganol on the formation of reactive oxygen species and the oxidation of ferrous iron. *Molecular and Cellular Biochemistry* 137: 1–8.
- ❖ **Reddy ACP., Lokesh B.R. (1996).** Effect of curcumin and eugenol on iron-induced hepatic toxicity in rats. *Toxicology*. 107: 39–45.

- ❖ **Reitman S. (1957).** Frankel S. J.Clin Path. 28- 56.
- ❖ **Retta Kh .et al. (2009).** Curcumin is protective against phenytoin-induced congenitive impairment and oxidative stress in rats, Brain research 39631, No of pages 9: 4C.
- ❖ **Riadh Nciri .et al. (2008).** Effets chroniques de faibles doses de carbonate de lithium chez la souris. Relations entre statut oxydant et modifications fonctionnelles et structurales des reins et du cerveau, C. R. Biologies 331 : 23–31.
- ❖ **Ringman J.M., Frautschy S.A., Cole G.M. (2005).** A potential role of the curry spice curcumin in Alzheimer's disease. Curr Alzheimer Res. Apr. 2- 2: 131-6.
- ❖ **Roberts T. R., Hutson D. H. (1999).** Metabolic Pathways of Agrochemicals - Part 2: Insecticides and Fungicides: The Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK, 1999.PP: 258-263.
- ❖ **Romani R., Antognelli C., Baldracchini F., De Santis A., Isani G., Giovannini E., Rosi G. (2003).** Increased acetylcholinesterase activities in specimes of *Sparus auratus* exposed to sublethal copper concentrations. Chem. Biol. Interact.145:321-329.
- ❖ **Roneus B.O., Hakkarainen R.V.J. (1985).** Vitamin E in serum and skeletal muscle tissue and blood glutathione peroxidase activity from horses with the azoturia-tying-up syndrome. Acta Veterinaria Scandinavica. 26:425.
- ❖ **Ronéus B.O., Hakkarainen R.V.J., Lindholm C.A., Tyoppone B. (1986).** Vitamin E requirements of adult Standarbred horses evaluated by tissus depletion and repletion. Equine Veterinary Journal. 18-50-58.
- ❖ **Rosalki S. et al. (1993).** Clin. Chem; 39/4 : 648-652.
- ❖ **Rukkumani R., Aruna K., Varma P.S, Rajasekaran K.N., Menon V.P. (2004).** Comparative effects of curcumin and an analog of curcumin on alcohol and PUFA induced oxidative stress. Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science. 7: 274–283.
- ❖ **Rupérez F.J., Martin D., Herrera E., Barbas C. (2001).** Chromatographic analysis of α -tocopherol and related compounds in various matrices. Journal of Chromatography. 935:45–69.



- ❖ **Sanders C.L. (2003).** Prevention and therapy of cancer and other common diseases: alternative and traditional approaches.

- ❖ **Sankar P., Telang A.G., Manimaran A. (2010).** Curcumin protects against cypermethrin-induced genotoxicity in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 30(3): 289–291.
- ❖ **Saoudi M., Messarah M., Boumendjel A., Jamoussi K., El Feki A. (2011).** Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltamethrin in male Wistar rats. *Ecotoxicology and Environmental Safty.* 74: 1765–1769.
- ❖ **Schafer F.Q., Buettner G.R. (2001).** Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med.* 30:1191-212.
- ❖ **Scherak O., Kolarz G., Schodl C., Blankenhorn G. (1990).** High dosage vitamin E therapy in patients with activated arthrosis. *Z. Rheumatol* .49:369-373. [Article in German].
- ❖ **Schomburg C. T., Glotfelty D.E. (1991).** Pesticide accurence and distribution in fog collected near Monterey. California. *Environ. Sci. Tech.* 25: 155-160.
- ❖ **Schmiatt I. (2005).** FTSS du diazinon 50w de la Platte chemical company.
- ❖ **Schultz A., Kaplan A. (1984).** Uric acid. *Clin chem.* The C.V. Mosby Co. Si Louis. Tronto. Princeton; 1261-1266 .418.
- ❖ **Sen Gupta R., Sen Gupta E., Dhakal B.K., Thakur A.R., Ahnn J. (2004).** Vitamin C and vitamin E protect the rat testes from cadmium-induced reactive oxygen species. *Molecules and Cells.* 17: 132–139.
- ❖ **Senger M.R., Rosemberg D.B., Rico E.P., Arizi M.P., Dias R.D., Bogo M.R., Bonan C.D. (2006).** In vitro effect of zenc and cadmium on acetylcholinesterase and ectonucleotidase activities in zebrafish (*danio rerio*) brain. *Toxicol In Vitro.* 20: 954-958.
- ❖ **Sethi P., Jyoti A., Hussain E., Sharma D. (2009).** Curcumin attenuates aluminium-induced functional neurotoxicity in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 93: 31–39.
- ❖ **Severin F., Tissut M. (1991).** Les herbicides : mode d'action et principes d'utilisation, Institut National de la Recherche Agronomique, Lavoisier, Paris.
- ❖ **Sharma R.A., Gescher A.J., Steward W.P. (2005).** Curcumin: the story so far. *Eur J Cancer.*; 41, 13, 1955-68.
- ❖ **Sharma Y., Bashir S., Irshad M., Gupta SD., Dogra T.D. (2005).** Effects of acute dimethoate administration on antioxidant status of liver and brain of experimental rats. *Toxicology* 206: 49–57.

- ❖ **Singh M., Sandhir R., Kiran R. (2010).** Oxidative stress induced by atrazine in rat erythrocytes: mitigating effect of vitamin E. *Toxicol. Mech. Methods.* 20: 119-126.
- ❖ **Sivapiriya V., Jayanthisakthisekaran J., Venkatraman S. (2006).** Effects of dimethoate (O,O,-dimethyl S-methyl carbamoyl methyl phosphorodithioate) and ethanol in antioxidant status of liver and kidney of experimental mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 85: 115–121.
- ❖ **Sjodin B., Westing Y.H., Apple F.S. (1990).** Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Med.* 10: 236-254.
- ❖ **Smith K.L., Harrison J.H., Hancock D.D., Todhunter D.A., Conrad H.R. (1984).** Effects of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *Journal of Dairy Science.* 67:1293-1300.
- ❖ **Stahl W., Sies H. (2003).** Antioxidant activity of carotenoids. *Mol Aspects Med.* 24:345-51.
- ❖ **Stevenson D.E., Kehrer J.P., Kolaja K.L., Walborg E.F., Klaunig Jr., J.E. (1995).** Effect of dietary antioxidants on dieldrin-induced hepato-toxicity in mice. *Toxicol. Lett.* 75: 177-183.
- ❖ **Suw Yong. Ly. (2008).** Assay of diazinon pesticides in cucumber juice and in the deep brain cells of a live carps. *Microchim acta.* PP: 163, 283-288.
- ❖ **Sylvaine Lecoeur. et al .(2006).** Effect of organophosphate pesticide diazinon on expression and activity of intestinal P-glycoprotein, *Toxicology letters.* 161, 200-209.
- ❖ **Szilagyi M., Bokori J., Fekete S., Vetesi F., Albert M., Kadar I. (1994).** Effects of long-term aluminum exposure on certain serum constituents in broiler chickens. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 32: 485-486.

J

- ❖ **Tateishi N., Higashi T., Naruse A., Nakashima K., Shiozaki H. (1977).** Rat liver glutathione: possible role as a reservoir of cysteine. *J. Nutr .* 107:51-60.
- ❖ **Tayeb Wafa. et al. (2010).** Hepatotoxicity induced by sub-acute exposure of rat to 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid based herbicide " désorme lourd" *journal of Hazardous Materials.*
- ❖ **Tehia M.A.H., El-Banna S.G., Okab A.B. (2007).** Diazinon toxicity affects histophysiological and biochemical parameters in rabbits. *Experimental and Toxicologic Pathway.* 26: 215–225.

- ❖ **Testud F., Garnier R., Delmotte B. (2001).** Toxicologie humaine des produits phytosanitaires, éd. ESKA. Paris. PP: 23-25 ; 67-73.
- ❖ **Thomas J.A. (2006).** Oxidant defense in oxidative and nitrosative stress. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, eds. Modern Nutrition in Health and Disease. Baltimore, MD, U.S.A.: Lippincott Williams & Wilkins. PP:685-694.
- ❖ **Tian B. et al. (2008).** Effects of curcumin on bladder cancer cells and development of urothelial tumors in a rat bladder carcinogenesis model, Cancer letter mars 2008.
- ❖ **Tirkey N., Kaur G., Vij G., Chopra K. (2005).** Curcumin, a diferuloylmethane, attenuates cyclosporine-induced renal dysfunction and oxidative stress in rat kidneys. BMC Pharmacol. 5, 15.
- ❖ **Tirilly Y., Bourgeois C.M. (1999).** Technologie des légumes: collection science et technique agroalimentaires, éd. Tec et Doc. Paris. PP: 473-480.
- ❖ **Traber M.G. (2006).** Vitamin E. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, eds. Modern Nutrition in Health and Disease. Baltimore, MD, U.S.A.: Lippincott Williams & Wilkins. PP: 396-411.
- ❖ **Trinder P. (1969).** Ann. Clin. biochem. 6, 24-33.

U

- ❖ **Uner N. et al. (2005).** Effects of diazinon on acetyl cholinesterase activity and lipid peroxidation in the brain of *Oreochromis niloticus*. Environmental toxicology and pharmacology. PP: 21, 241-245.
- ❖ **U. S. A. Environmental Protection Agency. EPA. (1985).** Draft final list of recommendation for chemicals in the National Survey for Pesticides in Groundwater. Chem. Regul. Rep. 9 (34), 988.

V

- ❖ **Venkatesan N. (2000).** Pulmonary protective effects of curcumin against paraquat toxicity. Life Sciences. 66: 21–28.

- ❖ **Vergely C., Goirand F.E., carnot-Laubriet A., Renard C., Moreau J.C., Guiland D. (2003).** NF- κ B activation in hydrogen peroxide-treated human endothelial cells. *Experi Biol and Med.* Vol 228: 855 - 865.
- ❖ **Verma R.J., Nair A. (2001).** Ameliorative effect of vitamin E on aflatoxin-induced lipid peroxidation in the testis of mice. *Asian Journal of Andrology.* 3: 217–221.
- ❖ **Vincent H.K., Taylor A.G. (2006).** Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (Lond)* . 30:400-18.
- ❖ **Vittoria Siegel. (2009).** Le curcuma et la curcumine à toutes les sauces, *Alternatif-Bien-être* No : 68.

W

- ❖ **Wardman P., Candeias L.P. (1996).** Fenton chemistry: an introduction. *Radiat Res.* 145 (5): 523 - 531.
- ❖ **Walker A. (1976).** Simulation of herbicide persistence in soil. *Pestic. Sci.* PP: 41-49.
- ❖ **Weckbeker G., Cory J.G. (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathoine-depleted mous leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters.* 40, 257-264.
- ❖ **Wenger C. et al. (1984).** Alkaline phosphatase. Kaplan A et al .*Clin chem. The C.V.* Mosby Co. Si Louis. Tronto. Princeton. 1094-1098.
- ❖ **Weiss W.P., Hogan J.S., Todhunter D.A., Smith K.L. (1997).** Effects of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows. *Journal of Dairy Science.* 80:1728-1737.
- ❖ **WHO. (1998).** Diazinon. Joint report by WHO, World Health Organisation, the International Labour Organisation and the United Nations Environment programme. *Environ. Health Criteria* 198.
- ❖ **Wolin M.S. (1996).** Reactive oxygen species and vacular signal transduction mechanisms.*Microcirculation.* Vol (3) :1-17.

Y

- ❖ **Yang Z.P., Dettbarn W.D. (1996).** Isopropyl phosphorofluoridate induced cholinergic hyperactivity and lipid peroxidation. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 138: 48-53.

- ❖ **Yousef M.I. (2004).** Aluminium-induced changes in hemato-biochemical parameters, lipid peroxidation and enzyme activities of male rabbits: protective role of ascorbic acid. *Toxicology*. 199: 47-57.

Z

- ❖ **Zaahkoug S.A.M., Helal E.G.E., Abd-Rabo T.E.I, Rashed S.Z.A. (2000).** Carbamate Toxicity and Protective effect of vitamin A and Vitamin E on some biochemical aspects of male albino rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 1: 60-77.
- ❖ **Zaidi S.M.K.R., Banu N. (2004).** Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta*. 340: 229-233.

Site:

1-<http://www.intechopen.com/books/pesticides-advances-in-chemical-and-botanical-pesticides/evolution-and-expectations-of-enzymatic-biosensors-for-pesticides>.



Production scientifique

I- PUBLICATION INTERNATIONALE :

1. Messarah M., **Amamra W.**, Boumendjel A., Barkat L., Bouasla I., Abdennour C., Boulakoud M.S., El Feki A. (2012). Ameliorating effects of curcumin and vitamin E on diazinon-induced oxidative damage in rat liver and erythrocytes. Toxicology and Industrial Health. DOI: 10.1177/0748233712446726.

Ameliorating effects of curcumin and vitamin E on diazinon-induced oxidative damage in rat liver and erythrocytes

Mahfoud Messarah, Wahiba Amamra, Amel Boumendjel, Leila Barkat, Ihcene Bouasla, Cherif Abdenour, Mohamed Salah Boulakoud and Abdelfattah El Feki

Toxicol Ind Health published online 18 May 2012

DOI: 10.1177/0748233712446726

The online version of this article can be found at:

<http://tih.sagepub.com/content/early/2012/05/18/0748233712446726>

Published by:



<http://www.sagepublications.com>

Additional services and information for *Toxicology and Industrial Health* can be found at:

Email Alerts: <http://tih.sagepub.com/cgi/alerts>

Subscriptions: <http://tih.sagepub.com/subscriptions>

Reprints: <http://www.sagepub.com/journalsReprints.nav>

Permissions: <http://www.sagepub.com/journalsPermissions.nav>

>> [OnlineFirst Version of Record](#) - May 18, 2012

[What is This?](#)

Ameliorating effects of curcumin and vitamin E on diazinon-induced oxidative damage in rat liver and erythrocytes

Mahfoud Messarah¹, Wahiba Amamra², Amel Boumendjel¹,
Leila Barkat¹, Ihcène Bouasla¹, Cherif Abdennour²,
Mohamed Salah Boulakoud² and Abdelfattah El Feki³

Abstract

The aim of this study was to evaluate the protective effects of vitamin E and/or curcumin against diazinon (DZN) (an organophosphorus insecticide)-induced toxicity of blood, liver and erythrocyte markers of male Wistar rats. The exposure of rats to DZN for 21 days provoked significant changes in red blood cell counts and hemoglobin. Results showed that lipid peroxidation increased significantly in DZN-treated rats, as evidenced by high liver and erythrocyte thiobarbituric acid reactive substance levels. Alteration of the antioxidant system in DZN-treated rats was confirmed by the significant decrease in the activity of catalase, glutathione peroxidase and glutathione-S-transferase, accompanied by a decline in reduced glutathione content in both tissues. On the other hand, a significant increase in the activities of plasma aspartate transaminase, alanine transaminase, lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase was observed in the rats treated with DZN. However, the administration of vitamin E and curcumin has ameliorated the previous markers. In conclusion, our results indicate that the natural antioxidants like vitamin E and curcumin can effectively lower the erythrocytes and hepatic injuries induced by DZN as monitored by lipid peroxides, antioxidant enzyme activities and sensitive serum enzyme levels.

Keywords

Biochemical markers, curcumin, diazinon, oxidative stress, protective effects, rat, vitamin E

Introduction

Pesticides are purposefully added in the environment to control domestic and agricultural pests. Organophosphate (OP) pesticides are among the most widely used synthetic chemicals for controlling a wide variety of pests and insects. OP poisoning continues to be a major cause of morbidity and mortality in third world countries. Recently, more than 100 different OP compounds have been synthesized and are extensively used worldwide in agriculture, homes, gardens, veterinary practices, medicine and industry (Poet et al., 2004; Radhey et al., 2009).

Diazinon (DZN) (*O,O*-diethyl-*O*-(2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinyl) phosphorothioate) is an OP insecticide with a broad range of activities, which inhibit acetyl cholinesterase activity. It has been widely and effectively used throughout the world with applications in agriculture and horticulture for

controlling insects in crops, ornamentals, lawns, fruit and vegetables and as a pesticide in domestic and agricultural areas (Garfitt et al., 2002). DZN affects mitochondrial membrane transportation in rat liver (Nakagawa and Moore, 1999). It also disturbs cytochrome P450 system in human liver (Kappers et al., 2001; Poet et al., 2004) and causes changes in liver

¹Biochemistry and Environmental Toxicology Laboratory, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria

²Animal Ecophysiology Laboratory, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria

³Animal Ecophysiology Laboratory, Sfax, Tunisia

Corresponding author:

Mahfoud Messarah, Biochemistry and Environmental Toxicology Laboratory, Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University, BP 12 Sidi Amar, Annaba, Algeria
Email: mahfoud.messarah@univ-annaba.org

enzymes, biochemical indices and provoke mitochondria swelling (Kalender et al., 2005; Svoboda et al., 2001). Several studies indicated that the pesticide intoxication produced oxidative stress by the generation of free radicals and the induction of tissue lipid peroxidation in mammals and other organisms (El-Demerdash et al., 2004; Hazarika et al., 2003; Oruç and Üner, 2000).

In the present study, two potent antioxidants, that is, vitamin E and curcumin, have been selected to evaluate their protective effect against oxidative stress induced by DZN. Hence, many insecticides are hydrophobic molecules that bind extensively to biological membranes, especially to the phospholipids bilayers. On the other hand, vitamin E is a natural component of the membrane lipid bilayer (Lee et al., 1991). Subsequently, vitamin E is a potent lipid soluble antioxidant in biological systems with the ability to directly quench free radicals and function as a membrane stabilizer (Kalender et al., 2004, 2005). In addition, vitamin E controls lipid peroxidation by limiting the propagation of chain reaction in biological systems (Aldana et al., 2001; Buetter, 1993; Kalender et al., 2002). In addition, curcumin (1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione) is a natural yellow pigment originally isolated from turmeric (*Curcuma longa L.*), a rhizome used as a spice and medicinal agent. It possesses a wide range of pharmacological properties. Curcumin was shown to inhibit inflammatory processes (Ammon et al., 1993) and to act as an antioxidant (Naik et al., 2004; Reddy and Lokesh, 1994). Research has shown curcumin to be a powerful scavenger of the superoxide anion, the hydroxyl radical and nitrogen dioxide (Daniel et al., 2004). However, not much attention has been paid to study the impact of DZN on the oxidative stress of rat liver and erythrocytes. The present article is interested, first, in evaluating the effects of DZN on lipid peroxidation and on antioxidant enzymes activities (glutathione peroxidase (GPx), glutathione-S-transferase (GST) and catalase (CAT)) in liver and erythrocytes. Second, the possible protective role of vitamin E and/or curcumin against this insecticide is investigated.

Material and methods

Chemicals

DZN is a synthetic organophosphorus insecticide (Figure 1) ($C_{12}H_{21}N_2O_3PS$). CAS chemical name is *O,O*-diethyl-*O*-(2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinyl)

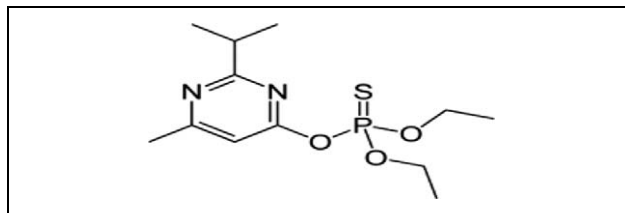


Figure 1. Chemical structure of diazinon.

phosphorothioate; CAS registry number is 333-41-5. A commercial formulation of DZN, named 'dimpylate' (Syngenta Agrochemicals, Greensboro, North Carolina, USA) was used in the experiments. All other chemical products used in this study were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, France).

Animals and experimental design

DZN was applied as a commercial emulsified concentrate formulation containing 60% active ingredient from Alpyte Spa 'Algerienne des phytosanitaires'.

A total of 35 male Wistar rats (aged 9 weeks, weighing 270–290 g) were obtained from the Pasteur institute (Algiers, Algeria). Animals were acclimated for 2 weeks under the same laboratory conditions of photoperiod (12:12 h, light:dark cycle), a minimum relative humidity of 40% and a room temperature $23 \pm 2^\circ\text{C}$. Food (standard diet, supplied by the 'ONAB, El-Harrouch', Algeria) and water were provided *ad libitum*. The animals were randomized into two groups: group I: rats which received standard diet ($n = 21$); group II: received a curcumin (50 mg/kg of diet; $n = 14$) for 30 days.

The rats of group I was again divided into three subgroups of seven males each as follows:

- Subgroup (Ia, C) served as control rats.
- Subgroup (Ib, DZN) received orally only DZN (10 mg/kg) administered in the drinking water.
- Subgroup (Ic, DZN + Vit E) received both DZN and vitamin E (200 mg/kg; via oral gavage).

The animals of group II were similarly divided but into two subgroups of seven males each as follows:

- Subgroup (IIa, DZN + Cur) received both DZN and curcumin (Cur).
- Subgroup (IIb, DZN + Cur + Vit E) was treated with DZN + curcumin + vitamin E (Vit E).

During the treatment period (21 days), food and water intake and body weight of the animals were

monitored daily. The dose of DZN and the period of treatment were selected on the basis of previous studies (Kalender et al., 2006). While doses of vitamin E and curcumin were selected based on the clinical application and on the results obtained from previous experiments in experimental animals against pesticides poisoning (Kalender et al., 2006; Subudhi et al., 2009).

At the end of the experiment, body weights of rats were recorded. Animals were killed by cervical decapitation to avoid animal stress and the liver was immediately removed and weighed; the organ weight ratio was calculated. The relative weight of organs (%) was calculated as grams per 100 g of body weight.

Blood collection

Whole blood samples were collected into evacuated tubes containing EDTA solution as anticoagulant. Each sample was then randomly divided into three different EDTA tubes. The first tube was conserved at 4°C (within 24 h after collection) and used for the determination of hematological parameters. The second tube was centrifuged at 3000g for 15 min, and the obtained plasma was stored at -20°C until biochemical analysis of total cholesterol, triglyceride, total protein and marker enzyme activities (alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH)). The pellet, containing erythrocytes, was twice suspended in phosphate buffer saline (0.9% NaCl in 0.01 M phosphate buffer, pH 7.4) and centrifuged at 3000g for 15 min. The hemolysates were then aliquoted and stored at -20°C before using for the determination of antioxidant enzyme activities (GPx, GST and CAT) and levels of reduced glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) in erythrocytes. Erythrocyte ghosts were prepared according to the method of Dodge et al. (1963).

Hematological variables

Red blood cells (RBCs) count, hemoglobin (Hb) concentration, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular Hb and mean corpuscular Hb concentration were measured by electronic automate coulter MAXM (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, California, USA).

Tissue preparation

About 1 g of liver was homogenized in 2 ml of buffer solution of phosphate-buffered saline (PBS)

1:2 (w/v; 1 g tissue with 2 ml PBS, pH = 7.4). Homogenates were centrifuged at 10,000g for 15 min at 4°C, and the resultant supernatant was used for the determination of thiobarbituric acid (TBA) reactive substances (TBARS), GSH and protein levels, in one hand, and for measuring the activity of CAT, GPx and GST, on the other hand.

Biochemical assays and analysis

Determination of total cholesterol, triglyceride, total protein, bilirubin and enzymes markers in plasma. Total cholesterol, triglyceride, total protein and bilirubin were measured using commercial colorimetric kits. The activities of transaminases (ALT and AST), ALP and LDH were assayed using commercial kits from Spinreact (Spain, refs: GOT-1001165, GPT-1001175, ALP-1001131 and LDH-1001111, respectively).

TBARS level. The lipid peroxidation level in the liver and erythrocyte homogenates was measured using the levels of MDA, which is the end product of lipid peroxidation and reacts with TBA as a TBARS to produce a red colored complex that has peak absorbance at 532 nm according to Buege and Aust, (1984). Supernatants of 125 µl were homogenized by sonication with 50 µl of PBS and 125 µl of trichloroacetic acid (TCA)-butylhydroxytoluene, in order to precipitate proteins and then centrifuged (1000g, 10 min and 4°C). Supernatant of 200 µl were mixed with 40 µl of HCl (0.6 M) and 160 µl of TBA dissolved in Tris and the mixture was heated at 80°C for 10 min. The absorbance of the resultant supernatant was read at 530 nm. The amount of TBARS was calculated using a molar extinction coefficient of 1.56×10^5 M/cm

GSH level. GSH contents in liver and erythrocyte homogenates was estimated using a colorimetric technique, as mentioned by Ellman (1959) and modified by Jollow et al. (1974), based on the development of a yellow color when 5,5-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) was added to the compounds containing sulfhydryl groups. In brief, 0.8 ml of liver supernatant was added to 0.3 ml of 0.25% sulfosalicylic acid and the tubes were centrifuged at 2500g for 15 min. The supernatant (0.5 ml) was mixed with 0.025 ml of 0.01 M DTNB and 1 ml phosphate buffer (0.1 M, pH 7.4). Finally, absorbance at 412 nm was recorded. Total GSH content was expressed as nanomoles of GSH per milligram of protein.

Table 1. Changes in body and absolute and relative liver weights of control and rats treated with DZN, Vit E and Cur after 21 days of treatment^a

Parameters studied	Control	DZN	DZN + Vit E	DZN + Cur	DZN + Vit E + Cur
Initial body weight (g)	211.40 ± 0.33	211.40 ± 0.51	210.6 ± 0.51	209.6 ± 0.51	210.66 ± 0.68
Final body weight (g)	243.8 ± 10	222 ± 13 ^c	233.96 ± 14.2 ^{b,e}	230.25 ± 14 ^{b,e}	254 ± 17 ^{b,e}
Absolute liver weight (g)	7.8 ± 0.06	6.1 ± 0.048 ^b	7.77 ± 0.024	7.3 ± 0.062	8.74 ± 0.065 ^d
Relative liver weight (g/100 g b.w.)	3.2 ± 0.6	2.7 ± 0.36 ^b	3.48 ± 0.17 ^d	3.3 ± 0.44 ^d	3.44 ± 0.38 ^d

DZN: diazinon; Vit E: vitamin E; Cur: curcumin.

^aValues are given as mean ± SEM for group of 7 animals each.

Significant differences:

DZN, DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus control group (^b: $p < 0.05$; ^c: $p < 0.01$).

DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus DZN group (^d: $p < 0.05$; ^e: $p < 0.01$).

Determination of GPx activity. GPx (E.C.1.11.1.9) activity was measured by the procedure of Flohe and Gunzler (1984). Supernatant obtained after centrifuging 5% liver homogenate at 1500g for 10 min followed by 10,000g for 30 min at 4°C was used for GPx assay. Reaction mixture of 1 ml was prepared containing 0.3 ml of phosphate buffer (0.1 M, pH 7.4), 0.2 ml of GSH (2 mM), 0.1 ml of sodium azide (10 mM), 0.1 ml of H₂O₂ (1 mM) and 0.3 ml of liver supernatant. After incubation at 37°C for 15 min, reaction was terminated by the addition of 0.5 ml 5% TCA. Tubes were centrifuged at 1500g for 5 min and the supernatant was collected. Phosphate buffer of 0.2 ml (0.1 M, pH 7.4) and 0.7 ml of DTNB (0.4 mg/ml) were added to 0.1 ml of reaction supernatant. After mixing, absorbance was recorded at 420 nm.

Determination of GST activity. GST (EC 2.5.1.18) catalyzes the conjugation reaction with glutathione in the first step of mercapturic acid synthesis. The activity of GST was measured according to the method of Habig et al. (1974). Chloro-dinitro benzene (C-DNB) was used as a substrate. The absorbance was measured spectrophotometrically at 340 nm at 30 s intervals for 3 min.

Determination of CAT activity. CAT activity (EC 1.11.1.6) was determined according to the method of Aebi (1984). The rate of H₂O₂ decomposition was followed by monitoring absorption at 240 nm. One unit of CAT activity is defined as the amount of enzymes required to decompose 1 mmol of hydrogen peroxide in 1 min. The enzyme activity was expressed as millimoles of H₂O₂ consumed per minute per milligram of protein.

Protein estimation. The protein contents of various samples were determined by the method of Bradford (1976), using bovine serum albumin as a standard.

Statistical analysis

Data are expressed as means ± SEM. Data comparisons were carried out by using one-way analysis of variance followed by Student's *t* test to compare means between the different treatment groups. Differences were considered statistically significant at $p \leq 0.05$.

Results

Effects of treatments on body, absolute and relative liver weights

The variations in the body and relative liver weights of the animals subjected to different treatments are shown in Table 1. No death was observed in any group during the experimental period. During the course of present investigations, it was observed that the body and liver weights were lower in DZN-treated rats, when compared with controls. When curcumin and vitamin E was administered to DZN-treated rats, the adverse effects of the pesticides upon these parameters were reversed.

Effects of treatments on food intake and water consumption

In DZN-treated rats, food intake and water consumption were reduced when compared with controls. In the DZN + Cur- or DZN + Vit E-treated groups, the food intake increased significantly, when compared with DZN group. In the DZN + Cur + Vit E-treated group, food intake reached normal values,

Table 2. Effects of DZN, Vit E and Cur on daily food and water intake and DZN quantities ingested by rats after 21 day of treatment

Parameters studied	Control	DZN	DZN + Vit E	DZN + Cur	DZN + Vit E + Cur
Food consumption (g/day/rat)	20.48 ± 1.2	15.7 ± 1.5	1.81 ± 1.41 ^a	21.7 ± 1.3 ^a	18.6 ± 2.2
Water consumption (ml/day/rat)	16.22 ± 2.6	15.75 ± 1.7	13.8 ± 1.3 ^a	12.5 ± 3.4 ^a	14.5 ± 1.8
Quantities of DZN ingested (mg/day/rat)	–	1.6 ± 0.17	1.38 ± 0.13 ^b	1.25 ± 0.34 ^b	1.45 ± 0.18

DZN: diazinon; Vit E: vitamin E; Cur: curcumin.

^aSignificant differences: DZN, DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus control group ($p < 0.05$).

^bSignificant differences: DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus DZN group ($p < 0.05$).

Table 3. Effects of DZN, Vit E and Cur hematological parameters of rats after 21 days of treatment

Parameters studied	Control	DZN	DZN + Vit E	DZN + Cur	DZN + Vit E + Cur
RBC ($10^{-6} \mu\text{l}^{-1}$)	7.056 ± 0.32	5.3 ± 1	7.78 ± 0.39 ^c	8.43 ± 0.3 ^{b,c}	7.12 ± 0.44
Hb (g/dl)	14.1 ± 0.88	10.52 ± 1.4 ^a	13.6 ± 0.75	16.26 ± 0.87 ^{a,d}	13.18 ± 0.92
Ht (%)	39.8 ± 1.0	27.5 ± 5.5 ^a	41.54 ± 1.9	49.44 ± 3.5 ^a	38.6 ± 2.5
MCV (fl)	52.82 ± 0.47	51.7 ± 0.84	53.34 ± 0.74	53.34 ± 0.23	54.04 ± 0.39
MCH (pg)	17.38 ± 0.38	20.88 ± 1.6	17.46 ± 0.56	18 ± 0.16	18.5 ± 0.24
MCHC (g/dl)	33.16 ± 0.67	40.42 ± 3.3	32.68 ± 1.1	34.02 ± 0.39	34.24 ± 0.54

DZN: diazinon; Vit E: vitamin E; Cur: curcumin; RBC: red blood cell; Hb: hemoglobin; Ht: hematocrit; MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular Hb; MCHC: mean corpuscular Hb concentration.

^aSignificant differences:

DZN, DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus control group (^a: $p < 0.05$; ^b: $p < 0.01$).

^bDZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus DZN group (^c: $p < 0.05$; ^d: $p < 0.01$).

when compared with controls. The administration of vitamin E associated with curcumin in DZN group restored these parameters (Table 2).

Effects of treatments on hematological parameters

DZN treatment caused a significant reduction in hematological constituents such as RBC count and Hb content, when compared with those of controls (Table 3). Supplementation of vitamin E and/or curcumin to the DZN-treated group produced recovery in the abovementioned hematological parameters.

Effects of treatments on plasma biochemical parameters

The treatment of animals with sodium DZN caused a significant increase in the activities of AST, ALT, ALP and LDH in plasma when compared with controls (Table 4). The DZN-treated rats also exhibited a significant increase in the protein and cholesterol plasma concentrations, while triglyceride decreases significantly when compared with the control group. No significant changes were observed in total protein and bilirubin in all the treated groups when

compared with the control. Supplementation of vitamin E and/or curcumin to the DZN-treated group produced recovery in the abovementioned biochemical variables.

Effects of treatments on lipid peroxidation in liver and erythrocytes

TBARS levels in hepatic and erythrocyte tissues were significantly increased in DZN-treated rats when compared with controls (Figure 2). The supplementation of vitamin E and/or curcumin alleviated lipid peroxidation, induced by DZN treatment, and significantly modulated the TBARS levels in hepatic and erythrocyte tissues.

Effects of treatments on GSH contents in liver and erythrocytes

GSH contents in hepatic and erythrocyte tissues were decreased significantly in DZN-treated rats compared with controls (Figure 3). The coadministration of vitamin E and/or curcumin modulated the GSH levels in hepatic and erythrocyte homogenates.

Table 4. Effects of DZN, Vit E and Cur on biochemical parameters of rats after 21 days of treatment

Parameters studied	Control	DZN	DZN + Vit E	DZN + Cur	DZN + Vit E + Cur
AST (U/l)	208.8 ± 22	243.4 ± 18 ^b	196.4 ± 9.8 ^f	219.4 ± 22 ^e	216.6 ± 18 ^e
ALT (U/l)	65.6 ± 6.2	84.2 ± 6.2 ^b	70.8 ± 9.4 ^e	68.4 ± 7.2 ^f	67.16 ± 6.00 ^d
PAL (U/l)	563 ± 51	776.01 ± 11 ^c	474 ± 97 ^{a,f}	503.6 ± 38 ^f	509.2 ± 9.1 ^f
LDH (U/l)	2540 ± 185	2795 ± 71 ^c	2744 ± 128 ^b	2690 ± 184 ^f	2608 ± 158 ^{a,f}
Total protein (g/dl)	14.5 ± 0.78	16.26 ± 0.76	15.50 ± 0.7	15.32 ± 0.75	15 ± 0.61
Bilirubin (mg/l)	2.2 ± 0.49	1.9 ± 0.24	2.1 ± 0.55	1.80 ± 0.24	2.1 ± 0.44
Triglyceride (mmol/l)	1.3 ± 0.14	0.8 ± 0.01 ^a	1.02 ± 0.16	1.2 ± 0.12	1.1 ± 0.18
Cholesterol (mmol/l)	1.4 ± 0.12	1.9 ± 0.23 ^a	1.5 ± 0.12 ^d	1.4 ± 0.08 ^d	1.4 ± 0.13 ^d

DZN: diazinon; Vit E: vitamin E; Cur: curcumin.

Significant differences:

DZN, DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus control group (^a: $p < 0.05$; ^b: $p < 0.01$; ^c: $p < 0.001$).

DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus DZN group (^d: $p < 0.05$; ^e: $p < 0.01$; ^f: $p < 0.001$).

Effects of treatments on antioxidant enzyme activities in liver and erythrocytes

Exposure to DZN produced significant adverse effects on the liver and erythrocyte redox status, which is evidenced by significant depletion in GPx, CAT and GST activities when compared with those of controls (Tables 5 and 6). The supplementation of vitamin E and/or curcumin produced recovery in the abovementioned hepatic oxidative stress parameters induced by DZN treatment and significantly modulated the GPx, CAT and GST activities.

Discussion

The current study was undertaken to determine the possible protective effect of vitamin E and/or curcumin on both the antioxidant status and serum markers during DZN-mediated oxidative stress of rat liver and erythrocytes.

During the treatment, an important daily decrease in food and water consumptions has been noted. These behavioral perturbations could be resulted from DZN stress. Most of the physiological functions were modified in correlation with the important changes in body weight and liver relative weights. According to Grance et al. (2008), the changes in body weight could be explained by the induced toxicity of xenobiotics. Moreover, Fetoui et al. (2008) reported a significant decrease in food consumption, water intake and body weight in lambda-cyhalothrin-treated rats, the alteration of appetite due to lambda-cyhalothrin exposure may account for the reduction in water and food intake seen in the LTC-treated animals. In this work, the coadministration of vitamin E and/or curcumin to the DZN-treated group has improved body and liver weights, which could be attributed to an

alteration in appetite and in daily food consumption. These findings are compatible with the results of other studies (Fetoui et al., 2008; Ismail et al., 2009; Sankar et al., 2010).

The OP insecticides provoked changes in some hematological and biochemical markers in experimental animals (Jacobsen et al., 2004; Kalender et al., 2005, 2006) and the hematological markers in humans (Patil et al., 2003). The present results revealed that the DZN exposure was associated with significant decreases in RBC counts and blood Hb. A similar trend has been observed in mice treated with Nuvacron and Furadan (Gupta et al., 1982). Tehia et al. (2007) found that treating rabbits with DZN has led to a reduction in Hb level and RBC counts. Also, the significant reduction in RBCs and Hb might be due to the inhibition of both erythropoiesis and hemosynthesis and to an increase in the erythrocyte destruction of hemopoietic organs. On the other hand, Hb in erythrocytes is found to be a major source of radical production when it interacts with redox drugs or xenobiotics (French et al., 1978) giving rise to superoxide radicals, hydrogen peroxide and, in certain cases, peroxy radicals, leading to membrane lipid peroxidation and hemolysis (Clemens and Waller, 1987; Kalender et al., 2002, 2004). In fact, the decrease in the GSH level and the enhanced MDA levels in erythrocytes reflected the anemia signs observed in the current study, which are probably related to intravascular hemolysis due to lipid peroxidation in circulating erythrocytes. The coadministration of vitamin E and/or curcumin attenuated the *in vivo* effects of DZN by possible scavenging or neutralizing reactive oxygen species (ROS). These results indicated that vitamin E and/or curcumin might have a beneficial role in lowering organophosphorus toxicity.

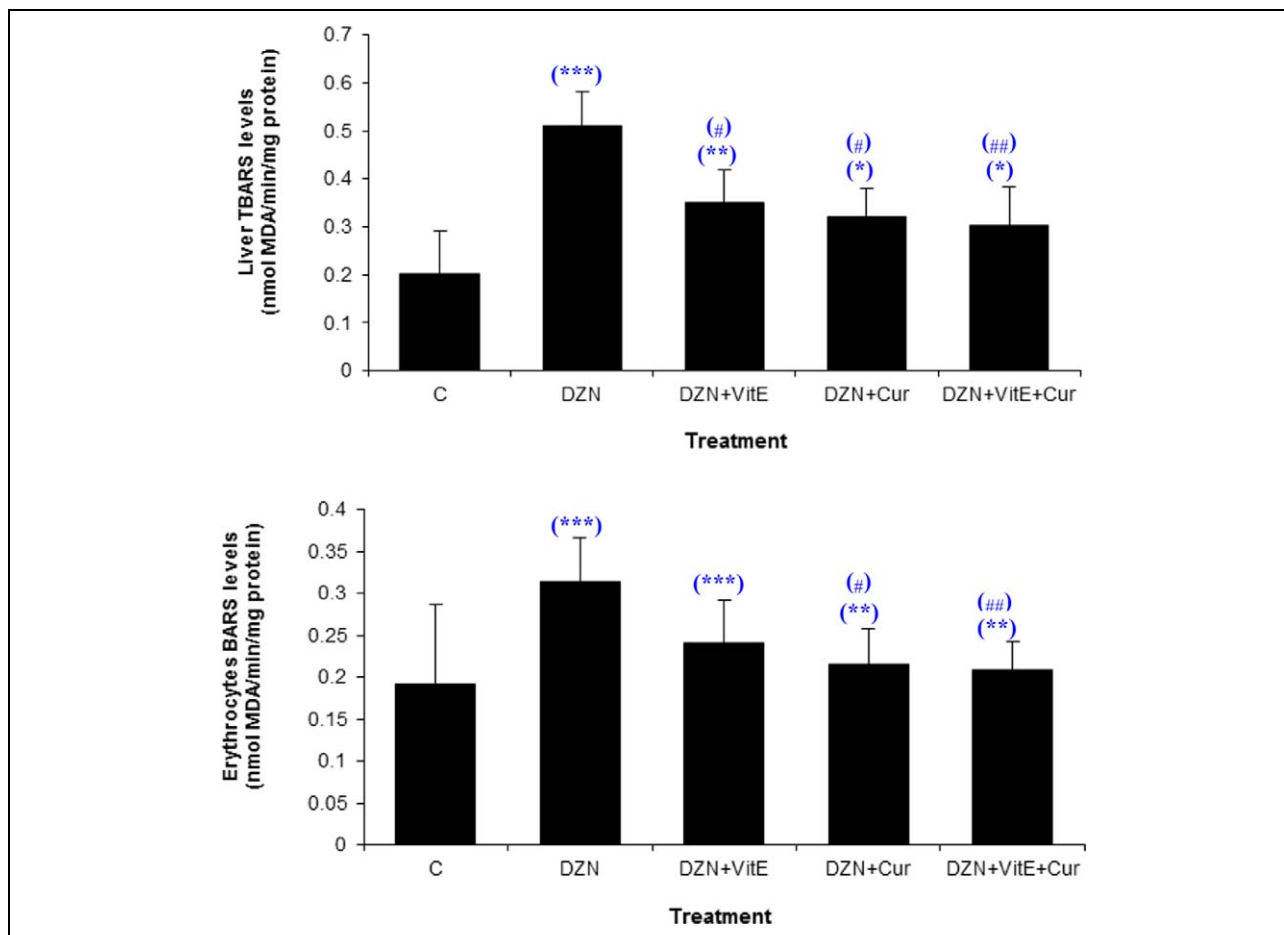


Figure 2. Effects of DZN, Vit E and curcumin on the TBARS (nanomoles of MDA per milligram of protein) levels in liver and erythrocytes of rats after 21 days of treatment. Values are given as mean \pm SEM for a group of seven animals each. Significant differences: *DZN, DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus control group (*: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$). #DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus DZN group (#: $p < 0.05$; ##: $p < 0.01$; ###: $p < 0.001$). DZN: diazinon; TBARS: thiobarbituric acid reactive substances; MDA: malondialdehyde; Vit E: vitamin E; Cur: curcumin.

Liver was the major site of organophosphorus metabolism by accumulating a great quantity of its metabolites (Giray et al., 2001). The latter may intoxicate hepatocytes through the generation of ROS causing damage to various membranes' components. In this work, DZN exposure for a period of 21 days could induce oxidative stress in the rat liver as indicated by the elevated MDA concentrations and the decreased GSH content of this organ, which would further induce membrane lipid peroxidation, leading to liver injury. In this case, exposure of rats to DZN alone increased and decreased the hepatic levels of MDA and GSH, respectively. Moreover, the depletion of GSH content in liver and erythrocytes of rats in the presence of DZN could be explained either by high GSH utilization for conjugation and/or by the

participation of GSH as an antioxidant in neutralizing free radicals. These results were correlated with previous reports of Ojha et al. (2011), who suggested that pyrethroid metabolism might generate ROS, which in turn could lead to enhanced lipid peroxidation. Accordingly, the coadministration of vitamin E and/or curcumin after DZN treatment improved GSH levels to reach normal values and ameliorated the antioxidant defense system. Indeed, the involvement of oxidative stress following exposure to OP has been reported (Akhgari et al., 2003; Sivapiriya et al., 2006). Also, OP insecticides may cause increase in the activities of serum AST, ALP and ALT (Sharma et al., 2005). The disturbance in the transport function of the hepatocytes as a result of hepatic injury provoked the leakage of enzymes from cells due to

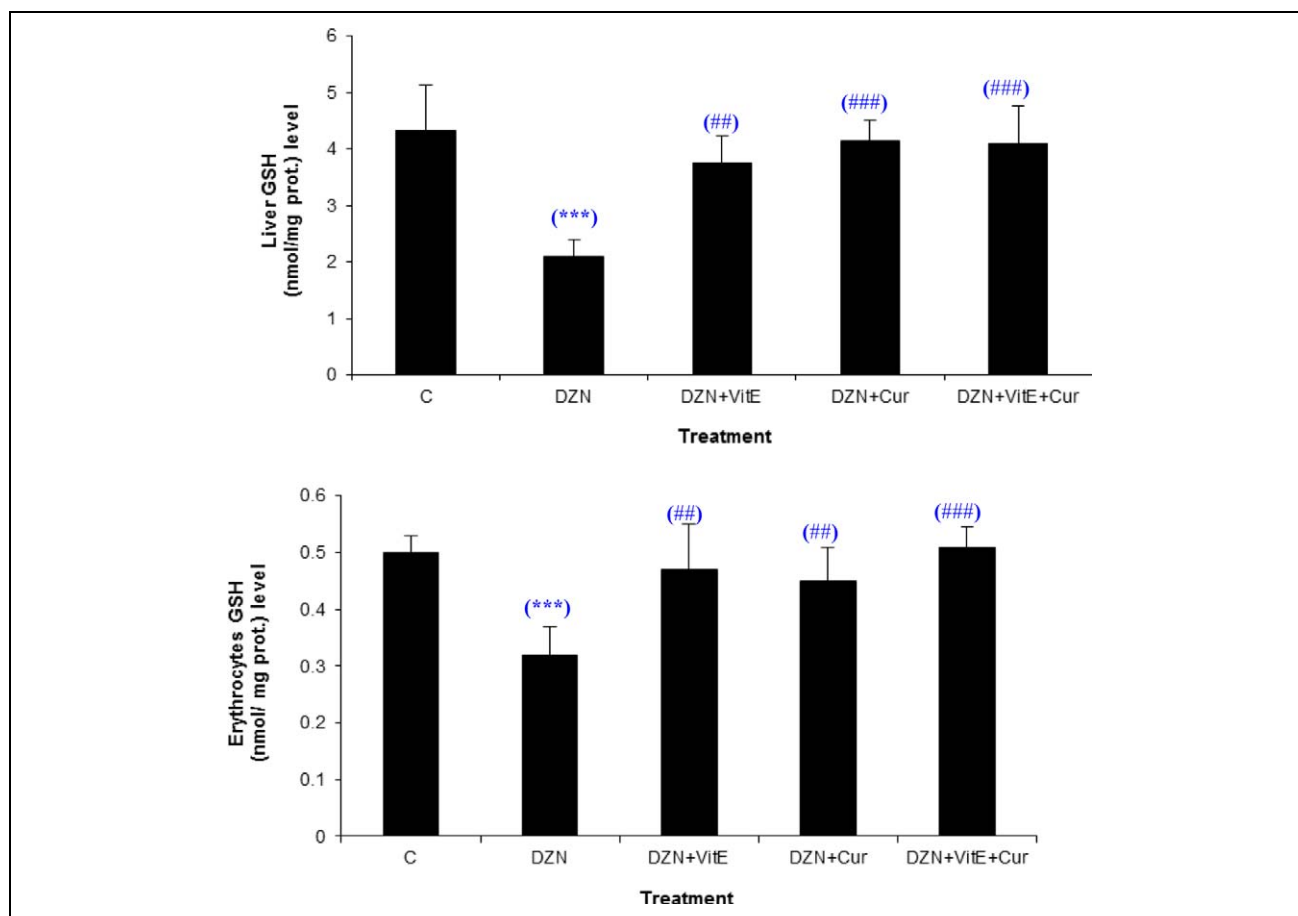


Figure 3. Effects of DZN, vitamin E and curcumin on the liver and erythrocyte GSH (nanomoles per milligram of protein) levels of rats after 21 days of treatment. Values are given as mean \pm SEM for group of seven animals each. Significant differences: *DZN, DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus control group (***: $p < 0.001$). #DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus DZN group (##: $p < 0.01$; ###: $p < 0.001$). GSH: reduced glutathione; DZN: diazinon; Vit E: vitamin E; Cur: curcumin.

altered permeability of membrane (Fan et al., 2009). In our investigation, a significant increase in the activities of AST, ALT, ALP and LDH of DZN-treated rats was observed. The increase in the activities of these enzymes may be due to a rise in the secretory activities of hepatocytes, which was in accordance with the findings reported in sheep (Abdulaziz and Hristev, 1996). Furthermore, and for the first time, the data suggest that supplementation of vitamin E and curcumin into DZN-treated rats can alleviate the serum levels of AST, ALT, ALP and LDH, indicating that exogenous antioxidants could protect liver function. Besides, the observed augmentation of cholesterol level in the present study by DZN is consistent with the finding of Ashgar et al. (1994), who reported that total cholesterol was elevated in male rabbits treated by methyl parathion. Such increase might come from an enhanced synthesis of liver cholesterol (Enan et al.,

1987). In addition, the observed rise of plasma cholesterol concentration, which is associated with the depletion of triglycerides, may indicate a possible membrane lipid peroxidation (Saoudi et al., 2011).

ROS can be detoxified by an elaborated battery of enzymatic defense system, comprising SOD, CAT and GPx or nonenzymatic systems by the scavenging action of GSH, while organic peroxides can be detoxified by the activity of GST (Halliwell, 1994; Halliwell and Gutteridge, 1990, 2002). The modulation of these enzymes and GSH levels plays a primary role in the balance of the redox status through the reduction in ROS and peroxides produced in the organism as well as in the detoxification of xenobiotics (Ramiro-Puig et al., 2007; Ramos, 2008). Curcumin and vitamin E are well-known antioxidants. Both phenolic and β -diketone functional groups of curcumin have remarkable free radical scavenging activities

Table 5. Effect of DZN, Vit E and Cur on the activities of GPx, GST and CAT in rat liver after after 21 days of treatment

Parameters studied	Control	DZN	DZN + Vit E	DZN + Cur	DZN + Vit E + Cur
GPx (nmol GSH/min/mg protein)	1.16 ± 0.02	0.7 ± 0.03 ^a	1.07 ± 0.04 ^c	1.35 ± 0.01 ^d	1.37 ± 0.01 ^d
GST (nmol C-DNB conjugate formed/min/mg protein)	38.07 ± 2.16	22.07 ± 3.31 ^a	39.16 ± 1.13 ^e	35.14 ± 5.5 ^e	40.65 ± 1.1 ^e
CAT (µm H ₂ O ₂ degraded/min/mg protein)	12.32 ± 2.7	6.01 ± 1.8 ^b	8.81 ± 1.7 ^a	7.7 ± 0.95 ^b	10.88 ± 1.09 ^d

DZN: diazinon; Vit E: vitamin E; Cur: curcumin; GPx: glutathione peroxidase; GST: glutathione-S-transferase; CAT: catalase; C-DNB: chloro-dinitro benzene.

Significant differences:

DZN, DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus DZN group (^a: $p < 0.01$; ^b: $p < 0.001$).

DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus DZN group (^c: $p < 0.05$; ^d: $p < 0.01$; ^e: $p < 0.001$).

Table 6. Effect of DZN, Vit E and Cur on the activities of GPx, GST and CAT in rat erythrocytes after 21 days of treatment

Parameters studied	Control	DZN	DZN + Vit E	DZN + Cur	DZN + Vit E + Cur
GPx (nmoles GSH/min/mg protein)	0.25 ± 0.01	0.1 ± 0.05 ^a	0.21 ± 0.04 ^e	0.24 ± 0.03 ^e	0.3 ± 0.06 ^e
GST (nmoles C-DNB conjugate formed/min/mg protein)	3.48 ± 0.37	1.75 ± 0.3 ^b	2.35 ± 0.85 ^d	2.38 ± 0.34 ^d	2.98 ± 0.4 ^e
CAT (µmoles H ₂ O ₂ degraded/min/mg protein)	23.02 ± 1.7	18.13 ± 1.6 ^a	20.64 ± 1.36 ^c	22.71 ± 0.7 ^d	27.8 ± 1.01 ^e

DZN: diazinon; Vit E: vitamin E; Cur: curcumin; GPx: glutathione peroxidase; GST: glutathione-S-transferase; CAT: catalase; C-DNB: chloro-dinitro benzene.

Significant differences:

DZN, DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus control group (^a: $p < 0.01$; ^b: $p < 0.001$).

DZN + Vit E, DZN + Cur, DZN + Vit E + Cur versus DZN group (^c: $p < 0.05$; ^d: $p < 0.01$; ^e: $p < 0.001$).

(Reddy and Lokesh, 1994). Also, the presence of methoxy group in curcumin further increases its free radical scavenging activity (Sen Gupta et al., 2004). Curcumin was reported to inhibit superoxide anion and hydroxyl radical generation by preventing oxidation of Fe²⁺ to Fe³⁺ through Fenton reaction (Duvoix et al., 2005; Reddy and Lokesh, 1994). Vitamin E as a lipid soluble antioxidant plays a major protective role against oxidative stress and prevents the production of lipid peroxides by scavenging free radicals (particularly strong scavenger of hydroxyl radicals) in biological membranes (Sen Gupta et al., 2004; Verma and Nair, 2001). In the present study, the decline in the levels of CAT, GPx and GST after DZN administration might come from the involvement of these enzymes in the detoxification process in liver and erythrocytes, and the insufficient level of these antioxidants may damage the cells via the oxidative stress. In addition, the reduction in the activities of CAT, GPx and GST and the risen lipid peroxidation could be explained by the induction of free radicals in DZN-treated

rats. Hence, the toxicity of many xenobiotics is associated with the production of free radicals that are also implicated in many pathophysiological processes (Abdollahi et al., 2004). However, administration of curcumin and vitamin E with DZN effectively prevented the decrease in GPx, CAT and GST activities in erythrocytes and liver, which can be directly correlated to the scavenging of oxidative free radicals (Reddy and Lokesh, 1996, Rukkumani et al., 2004). It is suggested that scavenging of oxidative free radicals activity is largely achieved through the phenolic and methoxy groups in conjunction with the 1,3-diketone-conjugated diene systems present in curcumin structure. The documented reports and our present findings support that curcumin treatment significantly ameliorated DZN-induced oxidative stress mainly through the preservation of erythrocytes and hepatic endogenous antioxidants that might be a key factor responsible for the improvement observed in plasma markers. These findings clearly suggest that the combined administration of vitamin E and

curcumin can act as potential agents against DZN-induced oxidative stress.

These results corroborate with previous findings carried out on adult rats treated with antioxidants (Celik et al., 2007; Eybyl et al., 2006; Kalpana and Menon, 2004; Radhey et al., 2009). Furthermore, a protective effect of curcumin has also been reported against cadmium, lead and aluminum-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates (Daniel et al., 2004; Sethi et al., 2009) and during paracetamol, arsenic, gentamicin, ferric nitrilotriacetate and nicotine-induced toxicity (Donatus et al., 1990; Farombi and Ekor, 2006; Fatma et al., 2009; Kalpana and Menon, 2004; Venkatesan et al., 2000). Future research should address molecular mechanisms underlying the protective effects of vitamin E and curcumin during DZN exposure.

Conclusion

In view of the present study data, it can be concluded that DZN has induced oxidative stress and lipid peroxidation in liver and erythrocytes of male rats and the coadministration of vitamin E and/or curcumin has ameliorated these effects. These findings suggest that the combined administration of vitamin E and curcumin can be potential agents against DZN induced toxicity. The mechanism for this protective effect is due its free radical scavenging activity and increased antioxidant enzymes.

Funding

This work was supported by the Research Laboratory of Animal Ecophysiology, University Badji Mokhtar, Annaba.

References

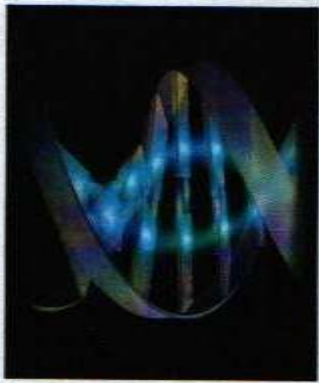
- Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S and Rezaie A (2004) Pesticides and oxidative stress. A review. *Medical Science Monitor* 10(RA): 141–147.
- Abdulaziz M, Hristev H (1996) Serum aminotransferase, alkaline transferase and lactate dehydrogenase responses to oral consecutive doses of cyano-3 alpha phenoxybenzyl pyrethroids on sheep. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 2: 661–666.
- Aebi H (1984) Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105: 121–126.
- Akhgari M, Abdollahi M, Kebryaezadeh A, Hosseini R and Sabzevari O (2003) Biochemical evidence for free radical-induced lipid peroxidation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats. *Human and Experimental Toxicology* 22: 205–211.
- Aldana L, Tsutsumi V, Craigmill A, Silveira ML and de Mejia EG (2001) α -tocopherol modulates liver toxicity of the pyrethroid cypermethrin. *Toxicology Letters* 125: 107–116.
- Ammon HP, Safayhi H, Mack T and Sabieraj J (1993) Mechanism of antiinflammatory actions of curcumine and boswellic acids. *Journal of Ethnopharmacology* 38: 113–119.
- Ashgar M, Sheikh MA and Hashmi A (1994) Effects of orally fed methyl parathion on some hematochemical parameters of rabbits. *Pakistan Veterinary Journal* 14: 34–36.
- Bradford M (1976) A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteinbinding. *Analytical Biochemistry* 72: 248–254.
- Buege JA, Aust SD (1984) Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology* 105: 302–310.
- Buetter GR (1993) The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, α -tocopherol and ascorbate. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 300: 535–543.
- Celik I, Turker M and Tuluze Y (2007) Abscisic acid and gibberellic acid cause increased lipid peroxidation and fluctuated antioxidant defense systems of various tissues in rats. *Journal of Hazardous Materials* 148: 623–629.
- Clemens R, Waller HD (1987) Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chemistry and Physics of Lipids* 45: 251–268.
- Daniel S, Limson JL, Dairam A, Watkins GM and Daya S (2004) Through meta binding, curcumin protects against lead- and cadmium-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates and against lead-induced tissue damage in rat brain. *Journal of Inorganic Biochemistry* 98: 266–275.
- Dodge JT, Mitchell C and Hananan DJ (1963) The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of human erythrocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 100: 119–130.
- Donatus IA, Sardjoko Vermeulen NP (1990) Cytotoxic and cytoprotective activities of curcumin: effects on paracetamol-induced cytotoxicity, lipid peroxidation and glutathione depletion in rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology* 39:1869–1875.
- Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, et al. (2005) Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Letters* 223: 181–190.
- El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS and Baghdadi HH (2004) Role of α -tocopherol and β -carotene in ameliorating the fenvalerate-induced changes in oxidative stress, hemato- biochemical parameters and semen quality of male rats. *Journal of Environmental Science and Health* B39: 443–459.
- Ellman GL (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 82: 70–77.
- Enan E, Berberian IG, el-Fiki S, El-Masry M and Enan OH (1987) Effects of two organophosphorus insecticides on

- some biochemical constituents in the nervous system and liver of rabbits. *Journal of Environmental Science and Health B22*: 149–170.
- Eybyl V, Kotyzova D, Leseticky L, Bludovska M and Koutensky J (2006) The influence of curcumin and manganese complex of curcumin on cadmium-induced oxidative damage and trace elements status in tissues of mice. *Journal of Applied Toxicology* 26: 207–212.
- Fan G, Tang JJ, Bhadauria M, Nirala SK, Dai F, Zhou B, et al. (2009) Resveratrol ameliorates carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 28: 350–356.
- Farombi EO, Ekor M (2006) Curcumin attenuates gentamicin-induced renal oxidative damage in rats. *Food and Chemical Toxicology* 44: 1443–1448.
- Fatma MED, Mokhtar IY and Fatma MER (2009) Ameliorating effect of curcumin on sodium arsenite-induced oxidative damage and lipid peroxidation in different rat organs. *Food and Chemical Toxicology* 47: 249–254.
- Fetoui H, Garouia E, Makni-ayadi F and Zeghal N (2008) Oxidative stress induced by lambda-cyhalothrin (LTC) in rat erythrocytes and brain: attenuation by vitamin C. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 26: 225–231.
- Flohe L, Gunzler WA (1984) Analysis of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology* 105: 114–121.
- French JK, Winterbourn CC and Carrel RW (1978) Mechanism of oxyhaemoglobin breakdown on reaction with acetyl phenylhydrazine. *Biochemical Journal* 173: 19–26.
- Garfitt SJ, Jones K, Mason HJ and Cocker J (2002) Exposure to the organophosphate diazinon: data from a human volunteer study with oral and dermal doses. *Toxicology Letters* 134: 105–113.
- Giray B, Gurbay A and Hincal F (2001) Cypermethrin-induced oxidative stress in rat brain and liver is prevented by vitamin E or allopurinol. *Toxicology Letters* 118: 139–146.
- Grance SR, Teixeira MA, Leite RS, Guimarães EB, de Siqueira JM, de Oliveira Filii WF, et al. (2008) Baccharis trimera: effect on haematological and biochemical parameters and hepatorenal evaluation in pregnant rats. *Journal of Ethnopharmacology* 117: 28–33.
- Gupta M, Bagchi G, Bandyopadhyay S, Sasmal D, Chatterjee T and Dey SN (1982) Hematological changes produced in mice by Nuvacron or Furadan. *Toxicology* 25: 255–260.
- Habig WH, Pabst MJ and Jakoby WB (1974) Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry* 249: 7130–7139.
- Halliwell B (1994) Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews* 52: 253–267.
- Halliwell B, Gutteridge JMC (1990) Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology* 186: 1–85.
- Halliwell B, Gutteridge JMC (2002) *Free radicals in biology and medicine*. Oxford: University Press Inc, 3: 105–245.
- Hazarika A, Sarkar SN, Hajare S, Kataria M and Malik JK (2003) Influence of malathion pretreatment on the toxicity of anilofos in male rats: a biochemical interaction study. *Toxicology* 185: 1–8.
- Ismail RSA, El-Megeid Ashraf AA and Abdel-Moemin AR (2009) Carbon tetrachloride-induced liver disease in rats: the potential effect of supplement oil with vitamins E and C on the nutritional status. *German Medical Science* 7: 1–10.
- Jacobsen H, Ostergaard G, Lam HR, Poulsen ME, Frandsen H, Ladefoged O, et al. (2004) Repeated dose 28-day oral toxicity study in Wistar rats with a mixture of five pesticides often found as residues in food: alphacypermethrin, bromopropylate, carbendazim, chlorpyrifos and mancozeb. *Food and Chemical Toxicology* 42: 1269–1277.
- Jollow DJ, Mitchell JR, Zampaglione Z and Gillette JR (1974) Bromobenzene induced liver necrosis. Protective role of glutathione and evidence for 3, 4- bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolites. *Pharmacology* 11: 51–157.
- Kalender S, Kalender Y, Ates A, Yel M, Olcay E and Candan S (2002) Protective role of antioxidant vitamin E and catechin on idarubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 35: 1379–1387.
- Kalender S, Kalender Y, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Durak D and Acikgoz F (2004) Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology* 202: 227–235.
- Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Acikgoz F, Durak D, Ulusoy Y, et al. (2005) Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology* 211: 197–206.
- Kalender Y, Uzunhisarcikli M, Ogutcu A, Acikgoz F and Kalender S (2006) Effects of diazinon on pseudocholinesterase activity and haematological indices in rats: the protective role of vitamin E. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 22: 46–51.
- Kalpna C, Menon VP (2004) Curcumin ameliorates oxidative stress during nicotine-induced lung toxicity in Wistar rats. *Italian Journal of Biochemistry* 53: 82–86.

- Kappers WA, Edwards RJ, Murray S and Boobis AR (2001) Diazinon is activated by CYP2C19 in human liver. *Toxicology and Applied Pharmacology* 177: 68–76.
- Lee A, East J and Balgaug P (1991) Interactions of insecticides with biological membranes. *Pesticide Science* 32: 317–327.
- Naik RS, Mujumdar AM and Ghaskadbi S (2004) Protection of liver cells from ethanol cytotoxicity by curcumin in liver slice culture in vitro. *Journal of Ethnopharmacology* 95: 31–37.
- Nakagawa Y, Moore G (1999) Role of mitochondrial membrane permeability transition in p-hydroxybenzoate ester-induced cytotoxicity in rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology* 58: 811–816.
- Ojha A, Yaduvanshi SK and Srivastava N (2011) Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 99(2): 148–156.
- Oruç EÖ, Üner N (2000) Combined effects of 2,4-d and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Orochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 127: 291–296.
- Patil JA, Patil AJ and Govindwar SP (2003) Biochemical effects of various pesticides on sprayers of grape gardens. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 18: 16–22.
- Poet TS, Kousba AA, Dennison SL and Timchalk C (2004) Physiologically based pharmacokinetic/pharmacodynamic model for the organophosphorus pesticide diazinon. *Neurotoxicology* 25: 1013–1030.
- Radhey SV, Anugya M and Nalini S (2009) Comparative studies on chlorpyrifos and methyl parathion induced oxidative stress in different parts of rat brain: attenuation by antioxidant vitamins. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 95: 152–158.
- Ramiro-Puig E, Urpí-Sardá M, Pérez-Cano FJ, Franch A, Castellote C, Andrés-Lacueva C, et al. (2007) Cocoa-enriched diet enhances antioxidant enzyme activity and modulates lymphocyte composition in thymus from young rats. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 55: 6431–6438.
- Ramos S (2008) Cancer chemoprevention and chemotherapy: dietary polyphenols and signalling pathways. *Molecular Nutrition and Food Research* 52: 507–526.
- Reddy ACP, Lokesh BR (1994) Studies on the inhibitory effects of curcumin and eugenol on the formation of reactive oxygen species and the oxidation of ferrous iron. *Molecular and Cellular Biochemistry* 137: 1–8.
- Reddy ACP, Lokesh BR (1996) Effect of curcumin and eugenol on iron-induced hepatic toxicity in rats. *Toxicology* 107: 39–45.
- Rukkumani R, Aruna K, Varma PS, Rajasekaran KN and Menon VP (2004) Comparative effects of curcumin and an analog of curcumin on alcohol and PUFA induced oxidative stress. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science* 7: 274–283.
- Sankar P, Telang AG and Manimaran A (2010) Curcumin protects against cypermethrin-induced genotoxicity in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 30(3): 289–291.
- Saoudi M, Messarah M, Boumendjel A, Jamoussi K and El Feki A (2011) Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltamethrin in male Wistar rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74: 1765–1769.
- Sen Gupta R, Sen Gupta E, Dhakal BK, Thakur AR and Ahnn J (2004) Vitamin C and vitamin E protect the rat testes from cadmium-induced reactive oxygen species. *Molecules and Cells* 17: 132–139.
- Sethi P, Jyoti A, Hussain E and Sharma D (2009) Curcumin attenuates aluminium-induced functional neurotoxicity in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 93: 31–39.
- Sharma Y, Bashir S, Irshad M, Gupta SD and Dogra TD (2005) Effects of acute dimethoate administration on antioxidant status of liver and brain of experimental rats. *Toxicology* 206: 49–57.
- Sivapiriya V, Jayanthisakthisekaran J and Venkatraman S (2006) Effects of dimethoate (O,O,-dimethyl S-methyl carbamoyl methyl phosphorodithioate) and ethanol in antioxidant status of liver and kidney of experimental mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 85: 115–121.
- Subudhi U, Das K, Paital B, Bhanja S and Chainy GBN (2009) Supplementation of curcumin and vitamin E enhances oxidative stress, but restores hepatic histoarchitecture in hypothyroid rats. *Life Sciences* 84: 372–379.
- Svoboda M, Luskova V, Drastichova J and Zlabek V (2001) The effect of diazinon on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno* 70: 457–465.
- Tehia MAH, El-Banna SG and Okab AB (2007) Diazinon toxicity affects histophysiological and biochemical parameters in rabbits. *Experimental and Toxicologic Pathway* 26: 215–225.
- Venkatesan N (2000) Pulmonary protective effects of curcumin against paraquat toxicity. *Life Sciences* 66: 21–28.
- Verma RJ, Nair A (2001) Ameliorative effect of vitamin E on aflatoxin-induced lipid peroxidation in the testis of mice. *Asian Journal of Andrology* 3: 217–221.

I- COMMUNICATIONS INTERNATIONALES :

1. **Amamra W.**, Djefal A., Messarah M., Boulakoud M.S. (2011). Effets d'un pesticide "le diazinon" sur la variation de certains paramètres biochimiques et sur le taux de malondialdéhyde chez le rats. 22^{èmes} Forum International des Sciences Biologiques. 28-31 Mars 2011, Mahdia. Tunisie.
2. Djefal A., **Amamra W.**, Messarah M. (2011). Impact de l'administration de methomyl sur la variation de certains paramètres biochimiques et sur le taux de malondialdéhyde chez le rat de la souche wistar. 22^{èmes} Forum International des Sciences Biologiques. 28-31 Mars 2011, Mahdia. Tunisie.
3. Barkat L., Bouasla A., Mongi S., **Amamra W.**, Messarah M. (2011). Etude des effets cytotoxiques du diazinon sur la variation des paramètres biochimiques et histopathologiques chez le rat de la souche wistar. Séminaire d'échange international « aux interfaces du développement durable » SEMAGRO TECH. le 21 et 23 juin, Bejaia. Algérie.
4. Ihcéne Bouasla., Leila Barkat., Saoudi Mongi., **Wahiba Amamra.**, Mahfoud Messarah. (2011). Etude cytotoxique de diazinon chez le rat de la souche wistar. 3^{ème} séminaire international de biologie animal (SIBA). 9- 10- 11 Mai 2011, Constantine. Algérie.
5. Barkat L., Bouasla A., Mongi S., **Amamra W.**, Messarah M. (2011).). Etude des effets cytotoxiques du diazinon sur la variation des paramètres hémathologiques et histopathologiques chez le rat de la souche wistar. 3^{ème} séminaire international de biologie animal (SIBA). 9- 10- 11 Mai 2011, Constantine. Algérie.



Association Tunisienne des

Sciences Biologiques

A.T.S.B

22^{ème} Forum International des Sciences

Biologiques

28-31 Mars 2011



ATTESTATION DE PARTICIPATION

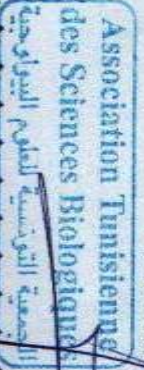
Le comité d'organisation du 22^{ème} Forum International des Sciences Biologiques de l'ATSB tenu à l'hôtel Vinci Nour Palace, Mahdia du 28 au 31 mars 2011, atteste que :

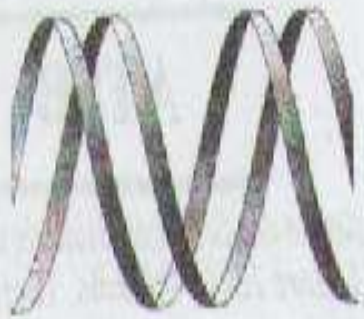
M^{lle} *A. W. S. M. R. A.* *W. A. K. I. H. A.* a participé activement à la réussite des Journées du forum et a présenté la communication affichée n °: ... *43*

Pour le comité d'organisation

Le trésorier

Pr. Mohamed MAKNI





C. affichée N°43.

EFFETS D'UN PESTICIDE « LE DIAZINON » SUR LA VARIATION DE CERTAINS PARAMETRES BIOCHIMIQUES ET SUR LE TAUX DE MALONDIALDEHYDE CHEZ LES RATS

AMAMRA WAHIBA. (1), DJEFFAL A. (2) , MESSARAH M. (1) , BOULAKOUD M. S. ⁽¹⁾

(1) Laboratoire de Recherche d'Ecophysiologie Animale (L.R.E.A.), Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie (2) Laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquées (L.B.M.A.), Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie E-mail: amamrawahib1@yahoo.fr

Dans le but d'évaluer les effets cytotoxiques du diazinon, sur la variation de quelques paramètres biochimiques et le taux de malondialdéhyde au niveau de quelques organes, chez les rats de la souche wistar.

Notre expérience a été réalisée sur 20 rats males répartis en deux lots de 10 individus chacun : un lot témoin et un lot traité par le diazinon dans l'eau de boisson à raison de 10mg/kg de poids corporel pendant 21 jours de traitement.

Les résultats obtenus ont montré une diminution du poids corporel des rats traités par le diazinon comparativement aux témoins. Nos résultats montrent également que l'administration du diazinon provoque chez les rats une perturbation de plusieurs paramètres biochimiques et hépatiques. En effet, nous avons noté une augmentation des taux plasmatiques de quelques enzymes considérées comme biomarqueurs du stress oxydatif telles que les transaminases (ALAT et ASAT) et la phosphatase alcaline, s'accompagne par l'augmentation des taux de glucose, cholestérol et les triglycérides ainsi qu'une augmentation du taux de malondialdéhyde dans les extraits hépatiques chez le lot traité par rapport au témoin.

Ces résultats confirment que l'exposition prolongée au diazinon provoque des effets toxiques au niveau hépatique.



Association Tunisienne des

Sciences Biologiques

A.T.S.B

22^{ème} Forum International des Sciences

Biologiques

28-31 Mars 2011



ATTESTATION DE PARTICIPATION

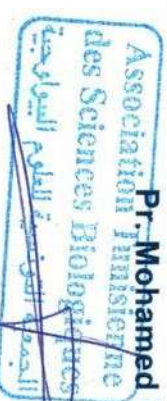
Le comité d'organisation du 22^{ème} Forum International des Sciences Biologiques de l'ATSB tenu à l'hôtel Vinci Nour Palace, Mahdia du 28 au 31 mars 2011, atteste que :

M *P. Nour* *A. S. A.* a participé activement à la réussite des journées du forum et a présenté la communication affichée n °: *64*

Pour le comité d'organisation

Le trésorier

Pr. Mohamed MAKNI



IMPACT DE L'ADMINISTRATION DE METHOMYL SUR LA VARIATION DE CERTAINS PARAMETRES BIOCHIMIQUES ET SUR LE TAUX DE MALONDIALDEHYDE CHEZ LE RAT DE LA SOUCHE WISTAR

DJEFFAL ASSIA⁽¹⁾, AMAMRA W.⁽²⁾, MESSARAH M.⁽²⁾

(1) Laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquées (L.B.M.A.), Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie. (2) Laboratoire de Recherche d'Ecophysiologie Animale (L.R.E.A.), Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie. E-Mail: de-djl-assia@live.fr

L'objectif de notre étude est d'évaluer les effets cytotoxiques du méthomyl, carbamate insecticide, sur la variation de quelques paramètres biochimiques et hépatiques chez les rats de la souche Wistar. Notre travail a été réalisé sur 16 rats mâles répartis en deux lots de 8 individus chacun : un lot témoin et un lot traité par le méthomyl dans l'eau de boisson à raison de 8mg/kg de poids corporel pendant 25 jours de traitement. Nos résultats ont montré une diminution du poids corporel s'accompagnant d'une augmentation du poids relatif du foie chez les rats traités par rapport aux témoins.

L'administration du méthomyl conduit à une altération de quelques paramètres biochimiques parmi lesquels, nous avons noté une augmentation du taux plasmatique du glucose. De plus, nous avons enregistré également une augmentation de la concentration du cholestérol, triglycérides et de la créatinine chez les rats traités par le méthomyl par rapport aux rats témoins. L'utilisation continue du méthomyl provoque une augmentation du stress oxydatif au niveau du foie, en induisant chez les rats une augmentation des taux plasmatiques de quelques enzymes considérées comme biomarqueurs du stress oxydatif telles que les transaminases (ALAT et ASAT), lactate déshydrogénase (LDH) et la phosphatase alcaline (PAL). S'accompagne par l'augmentation du taux de malondialdéhyde hépatique chez le lot traité par rapport au témoin. L'ensemble de ces résultats montre que l'exposition prolongée au méthomyl provoque des effets toxiques au niveau de l'organisme.



الجامعة الجزائرية
Tasawit n' Djasret
Université de Béjaïa

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ ABDERRAHMANE MIRA DE BEJAIA

LABORATOIRE BIOCHIMIE BIOPHYSIQUE BIOMATHÉMATIQUES ET SCIENTOMÉTRIE

B B B S

SÉMINAIRE D'ÉCHANGE INTERNATIONAL
« AUX INTERFACES DU DÉVELOPPEMENT DURABLE »

SEMAGRO TECH 2011
BEJAIA LE 21 ET 22 JUIN 2011

Attestation de Participation

M^{me}, M^{lle}, **M. BARKAT Leïla**

A participé avec une communication poster

Titre de la communication : **ETUDE DES EFFETS CYTOTOXIQUES DU DIAZINON SUR LA VARIATION DE QUELQUES PARAMETRES BIOCHIMIQUE ET HISTOPATHOLOGIQUE CHEZ LE RAT DE LA SOUCHE WISTAR**
Co-auteurs : **BOUASLA A., MONGI S., AMAMARA W., MESSARAH M.**



Le Président
L.M. BENHAMICHE
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA DE BEJAIA
Laboratoire de Biochimie
et Biophysique
et de la Recherche Scientifique



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية و الشعبية
 وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
 الجزائر - Constantine
 كلية العلوم و الحياة
 و العلوم الطبيعية و الحياة
 Department de Biologie Animale



ATTESTATION DE COMMUNICATION
 3eme Séminaire International de Biologie Animale (SIBA)
 Constantine le 09, 10 & 11 Mai 2011

Je soussignée **Pr Naimi Dalila**, Présidente du 3eme Séminaire International de Biologie Animale.

Atteste que **Mademoiselle: IHCÈNE BOUASLA***
 CO-AUTEURS: **LEILA BARKAT, SAOUDI MONGI, WAHIBA AMAMARA, MAHFOUD MESSARAH**

a présenté une Communication Affichée Dont l'intitulé :

Étude cytotoxique du diazinon chez le rat de la souche Wistar.
 *Laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquées, Université d Annaba.

Dans la thématique : **Physiologie Toxicologie Animale**

Présidente du SIBA
 Pr Dr Dalila NAIMI



Doyen de la Faculté
 Pr Dr Laid Delhimat

La présente attestation est délivrée pour servir et faire valloir ce que de droit



Republique Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Universités d'Alger - Constantine
Facultés des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

ATTESTATION DE COMMUNICATION
3eme Séminaire International de Biologie Animale (SIBA)
Constantine le 09, 10 & 11 Mai 2011

Je soussignée **Pr Naimi Dalila**, Présidente du 3eme Séminaire International de Biologie Animale.

Atteste que **Mademoiselle: BARKATI***
CO-AUTEURS: BOUASLAI, MONGI S, AMAMARA W, MESSARAHM.

a présenté une **Communication** **Affichée** **Dont l'intitulé :**

Étude des effets cytotoxiques du diazinon sur la variation de quelques paramètres
hématologique et histopathologiques chez le rat de la souche **Wistar**.

*Laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquées, Université d'Annaba.

Dans la thématique : **Physio-Toxicologie Animale**

Présidente du SIBA
Pr Dr Dalila NAIMI

Doyen de la Faculté
Pr Dr Laid Delhimag



Ld présente attestation est délivrée pour servir et faire valoir ce que de droit

III- COMMUNICATIONS NATIONALES:

1. **Amamra W.**, Boulakoud M.S., Messarah M. (2011).). Effets d'un pesticide "le diazinon" sur la variation de certains paramètres biochimiques et sur le taux de malondialdehyde chez le rats.. 3ème congrès de Société Algérienne de Biologie Clinique. 18, 19 et 20 octobre.
2. Barkat L., Bouasla A., Mongi S., **Amamra W.**, Messarah M. (2011). Altération hépatocytaire et histopathologique induite par un insecticide organophosphoré, le diazinon chez le rat de la souche wistar. The first meeting of medical oncology in annaba. 8 et 9 avril, Annaba.

Société Algérienne de Biologie Clinique

3^{ème} Congrès

Palais de la Culture - Moufati Zakaria - Alger

18, 19 et 20 Octobre 2011

Attestation

Le comité scientifique atteste que :

Mr / Mme/Melle : AMAMIRA W

a participé par une Communication Affichée intitulée :

**EFFETS D'UN PESTICIDE « LE DIAZINON » SUR LA VARIATION DE CERTAINS PARAMETRES BIOCHIMIQUES ET
SUR LE TAUX DE MALONDIALDEHYDE CHEZ LES RATs**

Coauteurs : MESSARAH M. , BOULAKOUD M. S.

Président du comité scientifique



La Société Algérienne d'Oncologie Médicale (SAOM) En collaboration avec Le Conseil de l'Ordre de Annaba (CORA)

SAOM

The First Meeting
of Medical Oncology
In Annaba

Palais de la Culture de Annaba
8 & 9 avril 2011



ATTESTATION DE COMMUNICATION

Auteur(s) Boukhal L, Benabdel A, Boungi S, Amaraoui W, Jerssah. M.

Titre Altération hépatocytaire et néphrologique induite par un anticancer organophosphore
« de diagnostic chez le rat de la souche Wistar.

Le Président de séance



Le Président du Comité Scientifique

