

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERRIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المركز الجامعي عبد الحفيظ
بوالصوف ميلة



Centre Universitaire Abdel Hafid
Boussouf Mila

Institut des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

En Biochimie Appliquée

Thème

Implication du stress oxydatif dans la toxicité des
pesticides

Filière : Sciences Biologiques

Présenté par :

Boussouf Yousra
Mebaoudj Sabrina

DEVANT LE JURY

Président :	A. Bounamous	Pr. Centre Universitaire de Mila.
Encadreur :	L. Kadeche	M.C. Centre Universitaire de Mila.
Examineur :	L. Douafer	M.C. Centre Universitaire de Mila.

Année universitaire : 2020/2021

Dédicace

*Avant toutes choses, je remercie ALLAH, le tout puissant, pour m'avoir donné
la force et la patience pour réaliser ce travail.*

*Je dédie ce mémoire à : mes chers parents qui tiennent une place immense dans
mon cœur. Papa qu'ALLAH lui fasse miséricorde. Maman, vous resterez
toujours une vraie école de la vie, je ne cesse d'apprendre tous les jours avec vous.*

*Vous avez toujours été là pour moi, et à aucun moment vous n'avez cessé de me
couvrir de votre tendresse.*

*Pour votre patience dans les moments difficiles et votre amour constant, recevez
ce mémoire en guise de remerciement et témoignage de ma plus profonde
gratitude.*

À mes chères sœurs ISMAHANE, ASSIA, TAYAT, KARIMA

À mon cher frère AMMAR et sa femme IBTISEM

*À toute la famille MEBAOUDJ, MECHAAL, BOUKARECHE,
BENCHEKHCHOUKH*

*À toutes mes amies qui m'ont toujours encouragée et à qui je souhaite plus de
succès :*

*YOUSRA, RAYAN, ZOULAYKHA, SOUMIA, NEDJWA, RAZIKA,
CHAYMA, RIHAB*

À tous ceux qui me sont chers

À tous ceux qui m'aiment

À tous ceux que j'aime.

SABRINA

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de gratitude :
À mes très chers parents, que j'admire, qui m'ont toujours aidé dans ma vie et qui
n'ont cessé de m'encourager et de me soutenir tout au long
de mes études.*

*Vous m'avez appris la rigueur, la ténacité et surtout l'humilité. Puisse ce travail
témoigner de ma reconnaissance à cette éducation. Papa Maman, que ce travail
témoigne ma fierté de reprendre le flambeau.*

*Que ALLAH vous garde et vous
Protège.*

*À ma chère tante HALIMA
À mes chers frères MED TAHAR, KHALED et REDA
À toute la famille BOUSSOUF, BOUDJEDAA, ZIAD
À mes chères amies SABRINA, FATEN et ZINEB
À tous ceux qui me sont chers
À tous ceux qui m'aiment
À tous ceux que j'aime.*

YOUSRA

REMERCIEMENT

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à Mademoiselle Kadeche Lilia. Maître de conférences à l'Université Abdelhafid Boussouf de Mila pour avoir accepté de diriger et de réaliser ce travail. Nous vous remercions pour votre confiance, votre soutien et votre disponibilité. Vos qualités morales, intellectuelles et surtout votre intérêt pour la science forcent le respect et l'admiration.

Nous exprimons également nos vifs remerciements à Monsieur Bounamousse Azzedine. Professeur à l'Université Abdelhafid Boussouf de Mila d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de notre mémoire. Votre simplicité et votre modestie sont à la dimension de votre envergure scientifique.

Nous tenons à exprimer notre vive reconnaissance à Mademoiselle Douafer Louiza. Maître de conférences à l'Université Abdelhafid Boussouf de Mila pour avoir accepté de juger ce travail et nous honorer de sa présence.

Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

RÉSUMÉS

الملخص

يعتبر الإجهاد التأكسدي، السبب الأساسي الكامن وراء العديد من الأمراض، حيث يتمثل في حدوث اختلال بين مضادة الأكسدة ومولدات الأكسدة لصالح هذه الأخيرة (خاصة أنواع الجذور الحرة). هذه الجذور الحرة التي تنتجها عملية التنفس الخلوية تتولد أيضًا أثناء التفاعلات المناعية وتحت تأثير المؤكسدات البيئية، مثل المبيدات الحشرية.

الهدف من هذا العمل هو تقديم لمحة موجزة عن الحالة الراهنة المتعلقة بمعرفتنا حول المبيدات الحشرية والإجهاد التأكسدي ومن أجل فهم طبيعة الإجهاد التأكسدي بشكل أفضل، تمت مناقشة مبادئ إنتاج الجذور الحرة ونظام الدفاع الطبيعي للجسم. ومنه يتم تصنيف المبيدات الحشرية ومناقشتها بناءً على قدرتها على إنتاج الإجهاد التأكسدي.

في هذا العمل سنشير أيضًا إلى الدراسات التي يبدو أنها تسلط الضوء على المبيدات الحشرية كمواد مؤكسدة ومضادات أكسدة طبيعية كوسيلة لمكافحة الإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: الجذور الحرة، أنواع الأكسجين التفاعلية، الإجهاد التأكسدي، مضادات الأكسدة، مضادات الأكسدة الطبيعية، المبيدات الحشرية.

ABSTRACT

Oxidative stress, the main initial cause of several diseases, corresponds to an imbalance between endogenous antioxidant defenses and the production of pro-oxidant molecules (reactive oxygen species, in particular). These reactive oxygen species produced by cellular respiration, are also generated during immune reactions and under the effect of environmental oxidants, such as pesticides.

The aim of this work is to provide a brief review of the current state of our knowledge regarding pesticides and oxidative stress. In order to better understand the nature of oxidative stress, the principles of free radical production and the body's normal defense system are discussed. The pesticides are categorized and discussed according to their ability to produce oxidative stress.

We will also discuss studies that seem to highlight pesticides as a pro-oxidant agent and natural antioxidants as a way to combat oxidative stress.

Key words: Free radicals, Reactive oxygen species, Oxidative stress, Antioxidants, Natural antioxidants, Pesticide Toxicity.

RÉSUMÉ

Le stress oxydant, la principale cause initiale de plusieurs maladies, correspond à un déséquilibre entre les défenses antioxydantes endogènes et la production de molécules pro-oxydantes (espèces réactives de l'oxygène, notamment). Ces espèces réactives de l'oxygène produites par la respiration cellulaire, sont également générées lors des réactions immunitaires et sous l'effet d'oxydants environnementaux, comme les pesticides.

L'objectif de ce travail est de fournir un bref aperçu de l'état actuel de nos connaissances sur les pesticides et le stress oxydant. Afin de mieux comprendre la nature du stress oxydatif, les principes de la production de radicaux libres et le système de défense normal du corps sont discutés. Les pesticides sont classés et discutés en fonction de leur capacité à produire un stress oxydatif.

Nous discuterons aussi des études qui semblent mettre en évidence les pesticides comme agents pro-oxydants et les antioxydants naturels comme un moyen pour lutter contre le stress oxydatif.

Mots clé : Radicaux libres, Espèces réactives de l'oxygène, Stress oxydant, Antioxydants, Antioxydants naturels, Toxicité des pesticides.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ABRÉVIATIONS

Enzymes/ions/substances :

ABM	:	Abamectine
ADN	:	Acide Désoxyribo Nucléique
AGE	:	Advanced Glycation End products
ARN	:	Acide ribonucléique
AGPI	:	Acides Gras Polyinsaturés
Asc^o	:	Radicale ascorbyle
AscH	:	L'ascorbate
ATP	:	Adénosine Tri-Phosphate
AU	:	Acide urique
BSA	:	Sérum albumine bovine
CAT	:	Catalase
CO₂⁻	:	Dioxyde de carbone
Coq10	:	Coenzyme Q10
Cu	:	Cuivre
Cu/Zn-SOD	:	Superoxydedismutase associée aux ions cuivre et zinc
Cu²⁺	:	Ion cuivre
Cyt C	:	Cytochrome C
DJA	:	Dose journalière admissible
DL50	:	Dose létale 50
DO	:	Densité optique
DTNB	:	Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman
DZN	:	Diazinon

LISTE DES ABRÉVIATIONS

E	:	Coefficient d'extinction molaire
e⁻	:	Electron
ERO	:	Espèces réactives oxygénées
FAD	:	Flavine adénine dinucléotide
FADH2	:	Flavine adénosine dinucléotide
Fd	:	Facteur de dilution
Fe	:	Fer
Fe²⁺	:	Ion ferreux
Fe³⁺	:	Ion ferrique
FSH	:	Hormone folliculostimulante
GFAT	:	Glutamine fructose-6-phosphate aminotransférase
Gpx	:	Glutathion peroxydase
GR	:	Glutathion réductase
GSH	:	Glutathion réduit
GSH-PX	:	Glutathion peroxydases
GSSG	:	Glutathion oxydé
GST	:	Glutathion transférase
H⁺	:	Proton d'Hydrogène
H₂O	:	Eau
H₂O₂	:	Peroxyde d'hydrogène
HO₂[·]	:	Hydroperoxyde
HOCl	:	Acide hypochlorique
L	:	Largeur de la cuve ou longueur du trajet optique
LDL	:	Lipoprotéine de base densité
LH	:	Hormone lutéinisante

LISTE DES ABRÉVIATIONS

MDA	:	Malondialdéhyde
MET	:	Méthomyl
Mn	:	Manganèse
Mn-SOD	:	Superoxydedismutase associée au manganèse
Mtz	:	Métribuzine Mtz
NaCl	:	Chlorure de sodium
NAD⁺	:	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADH	:	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Réduite
NADP	:	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NADPH	:	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NF-κB	:	Facteur Nucléaire-kappa B
NH	:	Fonctions amines
-NH₂	:	Groupement amine
Ni	:	Nickel
NO	:	Oxyde nitrique
NO[•]	:	Monoxyde d'azote
NOS	:	Nitric oxide synthase
NOX	:	NAD(P) H oxydase
NR	:	Non radical
O₂	:	L'oxygène ou dioxygène
O₂^{•-}	:	Anion superoxyde
O₂²⁻	:	Anion peroxyde
O₃	:	Ozone
O-GlcNac	:	O- Glycosylées
OH	:	Hydroxyle

LISTE DES ABRÉVIATIONS

OH[•]	:	Radical hydroxyle
ONOO⁻	:	Peroxynitrite
ONOOH	:	Nitroperoxyde
PH	:	Potentiel hydrogène
PK	:	Point kilométrique
PKC	:	Protéine kinase C
PPAR-γ	:	Récepteur Gama activé par les proliférateurs de pyroxyosomes
R[•]	:	Radical libre oxydant
RL	:	Radical libre
RO[•]	:	Alcoxyle
RO₂[•]	:	Peroxyle
ROO[•]	:	Radicaux peroxydes
ROOH	:	Hydroperoxyde lipidique
ROS	:	Reactive Speaces Oxygen
Se	:	Sélénium
Se-Cys	:	Séléno-cystéine
SO	:	Stress oxydant ou stress oxydatif
SOD	:	Superoxydedismutase
-SOH	:	Sulféniques
-SOOH	:	Sulfiniques
SOOOH	:	Sulfoniques
TBA	:	Thiobarbiturique
TCA	:	Trichloroacétique
TGF-β	:	Facteur de croissance transformant
TZ	:	Triazophos

LISTE DES ABRÉVIATIONS

UDP-GlcNAc	:	Uridine diphosphate N-acétylglucosamine
UQ	:	Ubiquinone
UV	:	Ultra-Violet
X	:	Quantité des protéines
XD	:	Déshydrogénase
XO	:	Xanthine oxydase
XOR	:	Xanthine oxydoréductase
Zn	:	Zinc
α-TocH	:	α -tocophérol
ΔDO	:	Variation de la densité optique par minutes
\bulletNO₂	:	Dioxyde d'azote
¹O₂	:	L'oxygène singulet
4-HNE	:	4-hydroxy-2-nonéanal

Unités

%	:	Pourcentage
°C	:	Degré Celsius
Cm	:	Centimètre
h	:	Heure
g	:	Gramme
L	:	Litre
M	:	Molaire
mg	:	Milligramme
Min	:	Minute
ml	:	Millilitre
mM	:	Millimole
nm	:	Nanomètre
nmol	:	Nanomole
µl	:	Microlitre
µM	:	Micromolaire

TABLES DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

FIGURE	TITRE	PAGE
Figure 1	Représentation d'un radical libre	03
Figure 2	Stress oxydant	06
Figure 3	Régulation de l'homéostasie Redox	06
Figure 4	Voie métabolique de l'oxygène et des espèces réactives de l'oxygène (ERO)	08
Figure 5	Fuite d'électrons source de ROS au sein de la chaîne de transport d'électrons D'après (UQ Ubiquinone ; Cyt C Cytochrome C)	10
Figure 6	Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène	13
Figure 7	Réactions de la peroxydation lipidique en chaîne	14
Figure 8	Nature de quelques modifications des chaînes d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire	15
Figure 9	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules	17
Figure 10	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants	19
Figure 11	Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase	21
Figure 12	Cycle de détoxification par la glutathion peroxydase	22
Figure 13	État d'oxydation du glutathion	24
Figure 14	Structure chimique des ubiquinones	25
Figure 15	Structure des différents vitamères de la vitamine E	25
Figure 16	Piégeage des radicaux libres par L'α -TocH	27
Figure 17	Différentes structures chimiques de la vitamine C et réaction avec les radicaux	28
Figure 18	Structure chimique de β carotène	28
Figure 19	Quenching physique de l'oxygène singulet par les caroténoïdes (C caroténoïde ; 3C* caroténoïde triplet excité)	29
Figure 20	Structure du noyau phénol	29
Figure 21	Voie des polyols	32
Figure 22	Voie de la PKC dans le cadre de la pathologie diabétique	33
Figure 23	Voie des hexosamines en conditions d'hyperglycémie	33
Figure 24	L'interaction du stress oxydant avec le vieillissement	34
Figure 25	Structures chimiques des principales familles des pesticides	39
Figure 26	Cycle des pesticides	41
Figure 27	Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides	43

TABLES DES ILLUSTRATIONS

Figure 28	Principe de dosage du glutathion	48
Figure 29	la gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1 mg/ml) pour le dosage des protéines	50
Figure 30	Principe de dosage du malondialdéhyde	50

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU	TITRE	PAGE
Tableau 1	Principales ERO radicalaires et non-radicalaires	04

TABLES DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

<i>INTRODUCTION</i>	01
<i>CHAPITRE I. Stress oxydant :</i>	
I. Stress oxydant	03
1. Radicaux libres	03
1.1. Généralité sur les radicaux libres	03
1.2. Les radicaux libres biologiques	04
2. Définition du stress oxydant	05
3. Mécanismes de production des principales ERO	07
3.1. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$	07
3.2. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2	07
3.3. Le radical hydroxyle HO^{\cdot}	08
3.4. L'oxygène singulet 1O_2	09
4. Sources des ERO ou ROS	09
4.1. Sources endogènes	09
4.2. Sources exogènes	13
5. Cibles biologiques des ROS	13
5.1. Peroxydation lipidique	14
5.2. Oxydation des protéines	15
5.3. Oxydation de l'ADN	17
6. Antioxydants	18
6.1. Définition	18
6.2. Mode d'action des antioxydants	19
6.3. Les systèmes de défense antioxydants	19
6.3.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques	19
6.3.2. Les systèmes antioxydants non enzymatiques	23
6.3.2.1. Antioxydants non enzymatiques endogène	23
6.3.2.2. Antioxydants non enzymatiques exogènes	26
7. Les maladies et pathologies humaines	30
7.1. Exemples des maladies liées au SO	31
7.1.1. Diabète	31
7.1.2. Vieillessement	34
7.1.3. Cancer	35

7.1.4. L'obésité	36
CHAPITRE II. Pesticides :	
1. Définition et utilisation	37
2. Composition et formulation	37
3. Classification	38
4. Mode d'action des pesticides	39
5. L'impact des pesticides sur l'environnement et la santé humaine	40
5.1. Effets sur l'environnement	41
5.2. Effets sur la santé	42
6. les pesticides et le stress oxydatif	45
6.1. Les principaux mécanismes de toxicité des pesticides	45
CHAPITRE III : Méthodes de dosage des biomarqueurs et Discussion d'études	
I. Méthodes de dosage des biomarqueurs du stress oxydatif	47
1. Le choix des biomarqueurs du stress oxydant	47
2. Méthodes de dosage des principaux biomarqueurs du stress oxydatif	48
2.1. Dosage du glutathion réduit (GSH)	48
2.1.1. Dosage des protéines	49
2.2. Dosage de malondialdéhyde (MDA)	50
2.3. Dosage de l'activité de la GPx	51
2.4. Dosage de la catalase (CAT)	52
2.4.1. Mode opératoire	53
2.4.2. Calcul de l'activité de CAT	53
II. Discussion d'études	54
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	58
BIBLIOGRAPHIE	60

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUES

INTRODUCTION

Introduction

Les problèmes posés par la dispersion de polluants dans l'environnement ont suscité l'intérêt de la communauté scientifique depuis maintenant de nombreuses décennies. La prise de conscience de la nécessité de préserver les écosystèmes terrestres et aquatiques a ainsi fait émerger certaines questions, notamment celles du devenir de ces polluants dans l'environnement ainsi que de leurs effets sur les communautés animales et végétales.

Parmi les contaminants majeurs de l'environnement, les pesticides posent de sérieux problèmes écologiques et sanitaires (Galloway et Depledge, 2001). Leur immense succès dans les applications agricoles afin d'optimiser la productivité des denrées, a entraîné une étendue rapide de leur production et utilisation. Mais, vu leurs propriétés toxicologiques, ubiquité, persistance, présence et concentration dans la chaîne alimentaire, ils constituent un véritable danger, et sont actuellement considérés parmi les principaux polluants environnementaux, à l'origine de résidus toxiques dans l'air, le sol et l'eau (Rakitsky et al, 2000 ; Pereg et al, 2002; Sanderson et al, 2002 ; Perera et al, 2005 ; Watanabe-Akanuma et al, 2005).

Bien qu'utilisés contre des organismes cibles particuliers, les pesticides sont susceptibles d'exercer une activité toxique vis-à-vis d'autres organismes dits non-cibles (Maroni et al., 2000 ; Eason et O'Halloran, 2002). Par conséquent, et face à cette dualité bénéfice-risque, la protection de la santé humaine contre l'exposition aux pesticides demeure une préoccupation majeure, et le problème de résidus toxiques reste d'actualité.

Les effets potentiellement néfastes des pesticides sur les espèces non ciblées font l'objet d'un large consensus. Ainsi, les principaux effets chroniques relevés sont les troubles des systèmes nerveux central (Sharma et al., 2014 ; Galal et al., 2014 ; Andrea Rother, 2014) et immunitaire (Badgujar et al., 2013 ; Thakur et al., 2013 ; Kumar et al., 2015), les effets perturbateurs endocriniens (Memon et al., 2014 ; Khedr Nassar, 2016) et les cancers (Héritier et al., 2014 ; Zare et al., 2015).

A ce jour, ces études n'ont pas cessé et sont à l'origine de nombreux documents de référence, démontrant la complexité des mécanismes toxicologiques mis en jeu. Néanmoins, les résultats obtenus par le biais de ces études concluent que les pesticides incluant les herbicides, les insecticides et les fongicides sont des molécules pro-oxydantes dans la mesure où elles engendrent une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules de l'organisme qui y est exposé (Rezaie Agdam et al., 2016 ; Jamal et al., 2016 ; Mehri et al., 2016 ; Abdel-Ghany et al., 2016).

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Du fait de leur très grande réactivité, ces dérivés de l'oxygène (ROS) peuvent réagir avec la plupart des composés cellulaires (lipides membranaires, les protéines ou l'ADN), entraînant ainsi des dommages cellulaires et tissulaires (Valavanidis et al., 2006). Toute fois, une régulation très fine de la production et de la dégradation des ROS est réalisée dans les cellules (Lushchak, 2011 ; Islas-Flores et al., 2013).

En fait, pour se protéger des effets toxiques du ROS, l'organisme a développé des systèmes de défense contre ces toxiques. Ces systèmes dits « antioxydants », comprennent des enzymes qui catalysent la réduction des ROS (e.g. catalase, superoxydes dismutases ou glutathion peroxidases), et des molécules non enzymatiques qui les neutralisent (e.g. glutathion réduit, acide ascorbique, vitamine E et polyphénols) (Bouayed et al., 2010 ; Lushchak, 2011 ; Regoli et Giuliani, 2014). Cependant, les pesticides peuvent altérer le fonctionnement des systèmes de contrôle et être à l'origine d'un stress cellulaire appelé stress oxydant.

À partir de ces connaissances, nous nous sommes intéressés dans ce mémoire de faire une recherche bibliographique sur le phénomène du stress oxydatif et les systèmes de défense antioxydants, d'une part, et de discuter les résultats de recherches précédentes, qui ont été menées dans le but de comprendre les mécanismes de l'induction du stress oxydatif par les pesticides et de lutter contre ce phénomène, d'autre part.

Cette recherche est subdivisée en deux parties essentielles, dans la première partie, le premier chapitre est une revue de littérature introduisant le concept du stress oxydant. Les sources des ERO et leurs conséquences biologiques sont abordées dans un premier temps, les propriétés des molécules antioxydantes et leur utilisation dans la lutte contre le stress oxydant, sont ensuite présentés. Le second chapitre est quant à lui dédié à l'étude bibliographique sur les définitions, l'utilisation et les mécanismes mis en jeu dans la toxicité de l'ensemble des pesticides agricoles.

Dans la deuxième partie, nous avons exposé les principales méthodes utilisées pour le dosage des marqueurs du stress oxydant suivi d'une discussion des résultats issus des précédentes études portant sur le stress oxydatif, l'action prooxydant des pesticides et l'intérêt des antioxydants dans la lutte contre le stress oxydant.

Enfin, avant de présenter les perspectives sur lesquelles ce sujet serait susceptible de déboucher, ce mémoire sera terminé par une conclusion générale.

CHAPITRE I.
STRESS OXYDANT

I. Stress oxydant

1. Radicaux libres

1.1. Généralité sur les radicaux libres

Les radicaux libres (fig.1) comprennent toute espèce moléculaire pouvant exister seule et contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe, c'est à dire un électron célibataire (Halliwell et Guttridge, 2008). La tendance naturelle des électrons non appariés à interagir avec les électrons de molécules ou d'atomes voisins, pour reformer des liaisons chimiques covalentes, confère aux radicaux libres une très grande instabilité, une extrême réactivité et la capacité de déclencher la néoformation et la propagation en chaîne d'autres espèces radicalaires (Guttridge et Halliwell, 1986 ; Halliwell et Guttridge, 1992).

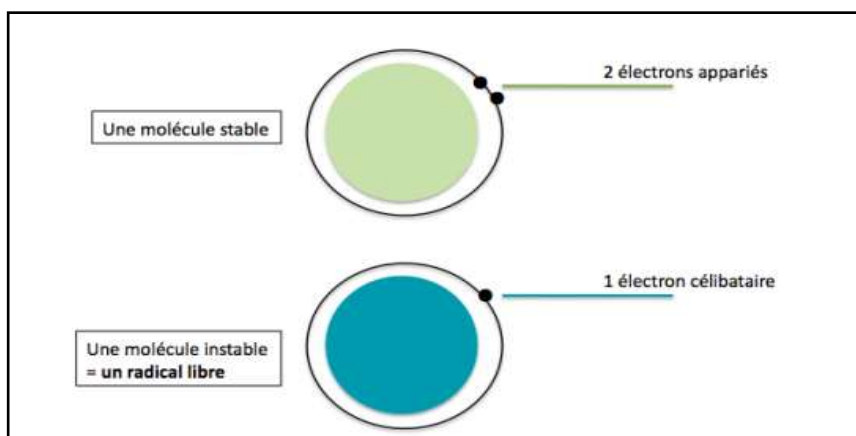


Figure 1 : Représentation d'un radical libre (Durand, 2018)

La durée de vie d'un radical libre est très courte de quelques millisecondes à quelques nanosecondes et il est symbolisé par un point (OH^\bullet) qui indique où l'électron libre se situera (Sayer et al., 2005 ; Mac Lare, 2007 ; Gato et al., 2008).

Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés (rouaki, 2016) :

- scission homolytique d'une liaison covalente ($\text{A} : \text{B} \longrightarrow \text{A}^\bullet + \text{B}^\bullet$) ;
- l'élimination ou la perte d'un électron par un non radical ($\text{NR} - e \longrightarrow \text{R}^\bullet$) ;
- l'addition d'un électron libre à un non radical ($\text{NR} + e \longrightarrow \text{R}^\bullet$).

De plus, la réactivité des radicaux libres dépendra de l'éléments en présence : si un radical rencontre un autre radical, le produit sera un non radical ($\text{A}^\bullet + \text{B}^\bullet \longrightarrow \text{AB}$) ; si le radical rencontre un non radical, un nouveau radical sera formé ($\text{A}^\bullet + \text{B} \longrightarrow \text{A} + \text{B}^\bullet$) et donnera

l'origine à une chaîne qui continuera jusqu'à que le radical rencontre un autre (Wolinsky et Thopson, 1998 ; Clarkson et al., 2000 ; Finaud et al., 2006b, Mac Laren, 2007).

1.2. Les radicaux libres biologiques

En biologie, les radicaux libres sont formés le plus souvent par gain d'électron à partir de l'O₂ (Droge, 2002). Les radicaux dérivés d'oxygène représentent, en effet, la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivants à cause de l'importance de leur métabolisme aérobie (Valko et al., 2007). Cependant, d'autres espèces radicalaires sont encore à considérer, à savoir les espèces réactives de l'azote (Palmer et al., 1988).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer (Favier, 2003) :

Des radicaux primaires : dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tel l'anion superoxyde O₂^{•-}, et le radical hydroxyle OH[•] ; ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO[•] ;

Des radicaux secondaires : se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule ;

D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites :

Espèces actives de l'oxygène : comme l'oxygène singulet ¹O₂, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux.

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ERO), ou de l'anglais reactive oxygen species (ROS).

Tableau 1 : Principales ERO radicalaires et non-radicalaires (Favier, 2003) :

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	
Radicalaire	Non radicalaire
- Anion superoxyde (O ₂ ^{•-})	- Peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)
- Hydroxyle (OH [•])	- Acide hypochlorique (HOCl)
- Hydroperoxyde (HO ₂ [•])	- Ozone (O ₃)
- Peroxyle (RO ₂ [•])	- Oxygène singulet (¹ O ₂)
- Alkoxyde (RO [•])	- Hydroperoxyde (ROOH)
- Dioxyde de carbone (CO ₂ ^{•-})	- Peroxynitrite (ONOO ⁻)

Le tableau 1 reprend la nomenclature des espèces réactives, incluant les principales espèces réactives de l'oxygène (radicalaires et non radicalaires), seront reprises par la suite que celles qui sont les plus représentatives lors de l'étude du stress oxydant et susceptibles d'être évoquées à de nombreuses reprises.

Toutes ces espèces oxygénées sont produites par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. En effet, elles participent (Favier, 2003) :

- ✓ au cycle cellulaire et au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire ;
- ✓ au fonctionnement de certaines enzymes ;
- ✓ à la transduction de signaux cellulaires ;
- ✓ à l'apoptose des cellules tumorales ;
- ✓ à la régulation des gènes ;...

Cette production physiologique des ERO est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (Favier, 2003). Cependant, les ERO provoquent des dommages cellulaires si elles sont produites d'une manière incontrôlée (Kim et al., 2009).

En fait, l'hyperréactivité d'ERO les engage dans des réactions de dénaturation des constituants cellulaires de type peroxydation avec les glucides, les lipides, les protéines et l'ADN (Curtay et Robin, 2000). De ce fait, ces entités oxydantes sont physiologiquement maintenues en équilibre par de nombreux systèmes dits antioxydants (Sies, 1991).

2. Définition du stress oxydant

Le stress oxydant est un terme général qui a été d'abord employé dans un contexte biologique par l'endocrinologue Hans Selye en 1936, pour décrire la réponse physiologique inadéquate d'un organisme (Schiavone et al., 2013). La définition de ce type de stress se réfère à une rupture de l'équilibre homéostatique normalement maintenu entre la production des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote et la défense antioxydante de l'organisme (Anderson, 1997).

Comme cité précédemment, il existe un équilibre entre d'une part les espèces réactives d'oxygène (ERO) qui sont présentes à l'état basal en faible concentration et d'autre part le système antioxydant. Dans ces conditions, on dit que la balance pro-oxydants/antioxydants est en équilibre. Lorsqu'un déséquilibre intervient (fig.2) par surproduction de composés pro-

oxydants ou par déficit en substances antioxydantes, on parle alors de stress oxydatif ou stress oxydant (Favier, 2003).

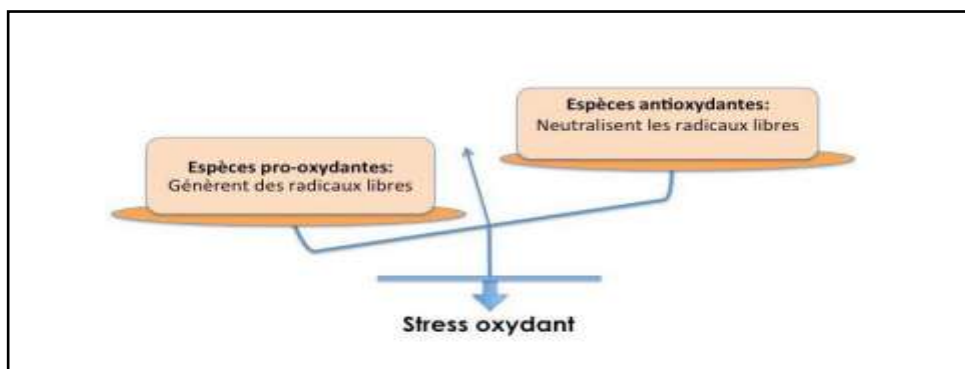


Figure 2 : stress oxydant (Baraka-vidot, 2014)

Le stress oxydant est donc une perturbation dans l'équilibre pro-oxydant/antioxydant en faveur de la formation des espèces réactives, conduisant à des dommages potentiels sur les cellules, les tissus et l'ADN (Anderson, 1997). Si ce stress est prolongé ou permanent comme dans certaines pathologies chroniques, la concentration en ERO est augmentée de façon constante, et la réponse anti-oxydante n'est plus suffisante pour la contenir : une perte de l'homéostasie redox apparait conduisant à l'apparition d'un déséquilibre avec une production d'ERO forte. À l'inverse, dans le cas d'une faible concentration d'ERO, le système anti-oxydant la compense : le déséquilibre est de courte durée et l'équilibre redox est alors maintenu (Poisson, 2013). Cette régulation de l'équilibre homéostatique est illustrée dans la figure 3 :

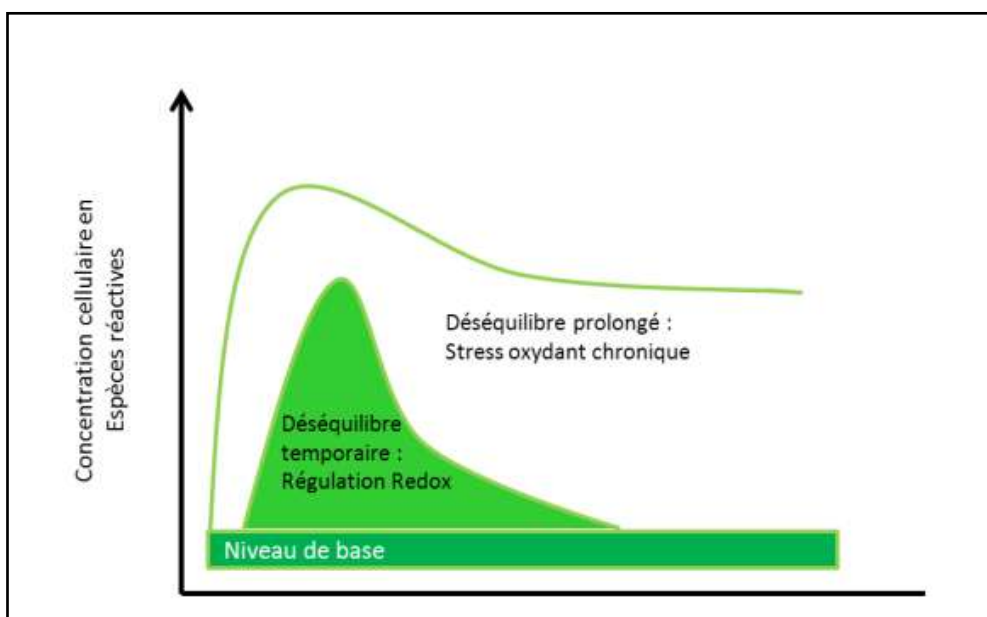


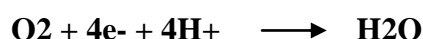
Figure 3 : Régulation de l'homéostasie Redox (d'après Dröge, 2002)

3. Mécanismes de production des principales ERO

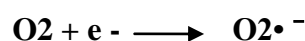
Parmi les EROs, on peut distinguer quatre espèces principales (fig.4) : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}) et l'oxygène singulet (1O_2) :

3.1. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$

Au cours du métabolisme cellulaire, l' O_2 peut être réduit en H_2O . Ce passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons (Ronald St-Louis, 2011) :



Cependant, dans quelque cas (2 à 5%), l'oxygène fait l'objet d'une réduction incomplète. Chaque molécule d'oxygène sera réduite par un seul électron, aboutissant ainsi à la formation d'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) (Dawson et al., 1993 ; Cadenas et al., 2000) :



L'anion superoxyde est une ERO primaire, ayant la réactivité la plus faible parmi les radicaux libres du stress oxydant, il est généré à partir de différentes sources dans les conditions physiologiques et physiopathologiques (Gardès-Albert et al., 2005). Il est cependant hautement réactif avec certains métaux de transition comme le cuivre, le fer et le manganèse (Abreu et al., 2010).

La formation de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) est un processus physiologique à la base de l'obtention des autres radicaux libres et par voie de conséquence à la formation en cascade de tous les autres oxydants (Halliwell and Guttridge, 1986).

3.2. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Le peroxyde d'hydrogène n'est pas un radical libre, puisqu'il ne possède pas d'électron libre. Cependant, il fait partie des dérivés actifs de l'oxygène (Eurotext, 2007). H_2O_2 est extrêmement réactif et possède un fort pouvoir oxydant. De plus, sa capacité à traverser les membranes biologiques fait qu'il peut se retrouver à une grande distance de son lieu de production (Garait, 2011).

À pH physiologique, tout ion peroxyde formé va se protoner pour donner immédiatement du peroxyde d'hydrogène. Au bilan, le peroxyde d'hydrogène est produit à partir du radical superoxyde en solution aqueuse. Cet ion provoque la dismutation de l'eau pour former du

peroxyde d'hydrogène et du dioxygène. Cette réaction est catalysée par la superoxyde dismutase (Delattre et al., 2005) :

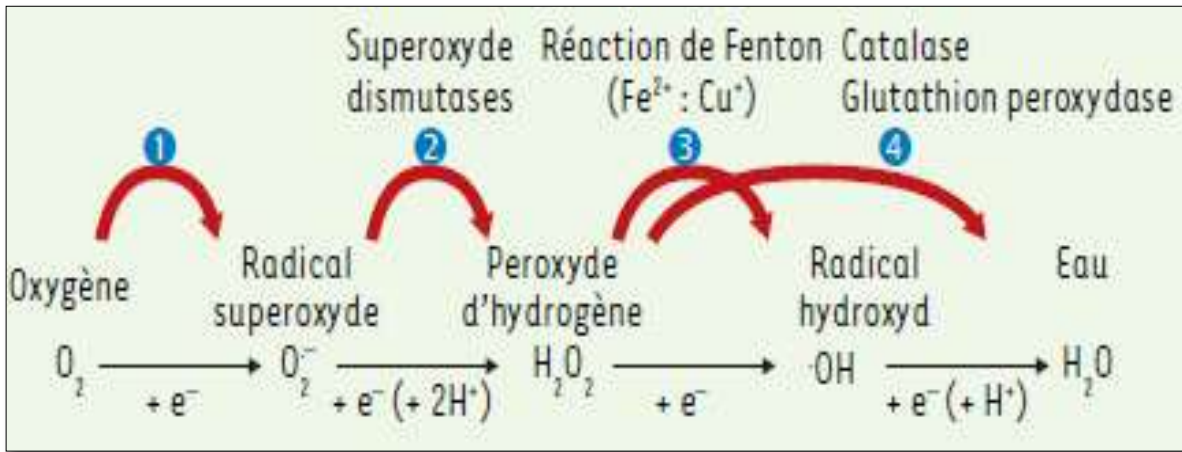
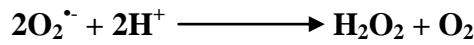


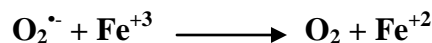
Figure 4 : Voie métabolique de l'oxygène et des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Camille et Mireille, 2011)

3.3. Le radical hydroxyle HO•

Le radical hydroxyle, est généré par la réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'anion superoxyde (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., 1994) :



Le radical hydroxyle à une demi-vie extrêmement courte et une capacité à diffuser restreinte, il est capable de réagir très rapidement avec la plupart des molécules biologiques comme l'ADN, les protéines, les sucres et les lipides membranaires (Delattre et al., 2005), en transformant la molécule cible en radical libre très réactif. Ce radical nouvellement formé peut alors interagir avec d'autres molécules cibles déclenchant ainsi des réactions en chaîne.

Les réactions en chaîne représentent l'un des plus grands dangers du radical OH•. En revanche, l'H₂O₂ et l'O₂•⁻ ne sont pas suffisamment réactifs pour déclencher des réactions en

chaîne (Lau et al., 2008 ; Aprioku, 2013). Le radical hydroxyle apparaît donc comme l'espèce réactive ayant une responsabilité majeure dans la cytotoxicité des radicaux libres (Guetteridge, 1993).

3.4. L'oxygène singulet $^1\text{O}_2$

L'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), est la forme « excitée » de l'oxygène moléculaire qui est très instable et extrêmement réactif et a une durée de vie très limitée. Au contact des molécules de son environnement, notamment les molécules d'eau, il se désactive en libérant de l'énergie. Il est formé en moindre quantité que les oxy-radicaux et est produit lors de la peroxydation lipidique, et suite à l'action des rayons ultraviolets sur le dioxygène (Favier, 2003).

L'oxygène singulet est très réactif et peut par exemple s'ajouter rapidement sur des doubles liaisons carbone-carbone (Yoshikawa et al., 2000). Il a pour cible biologique les membranes, les acides nucléiques et les protéines (Halliwell, 2006).

Toutefois, il existe d'autres ERO tel que le monoxyde d'azote ($\text{NO}\cdot$), qui a un rôle dans de multiples fonctions physiologiques (De Backer, 2006). Mais, à forte concentration, le NO devient délétère pour les cellules notamment en réagissant avec $\text{O}_2\cdot^-$ pour former un puissant oxydant le peroxynitrite ($\text{ONOO}\cdot$), qui peut secondairement se décomposer en d'autres oxydants comme $\cdot\text{NO}_2$ et le $\text{OH}\cdot$ (Densiov et Afanas'ev, 2005).

4. Sources des ERO ou ROS

Selon certains auteurs (Dalton et al., 2002 ; Fulbert et Cals, 1992 ; Yoshikawa et al., 2000 ; Tillement, 2001), les radicaux libres peuvent avoir plusieurs origines. Ils sont issus du métabolisme physiologique mais ils peuvent aussi être, produits lors de «déviation» du métabolisme cellulaire.

Il existe de nombreuses sources de radicaux libres et d'espèces réactives de l'oxygène. Elles sont classées en deux catégories, les sources endogènes, et les sources exogènes :

4.1. Sources endogènes

Le principal processus endogène de production d'EROs in vivo est la respiration cellulaire (la chaîne respiratoire mitochondriale) (Yu, 1994). Ainsi, les peroxysomes, la membrane plasmique et le reticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération des ERO (Barouki et Morel, 2001) :

- **Mitochondrie**

La mitochondrie est considérée comme une des principales sources de ROS dans la cellule par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire (fig.5). Elle produirait, en effet, 90% des ROS cellulaires (Balaban et al., 2005). Cette production centralisée de ROS est due au fait que la mitochondrie est le lieu central de consommation de l'oxygène au cours de la phosphorylation oxydative (Qutub et al., 2008).

Cet organe produit la majeure partie de l'énergie cellulaire grâce aux processus de phosphorylation oxydative où l'oxydation de divers substrats métaboliques (tels les glucides et les acides gras en particulier) produit de l'eau et de l'adénosine triphosphate (ATP), avec l'oxygène (O₂) comme accepteur final d'électrons (Nicholls et Ferguson, 2002).

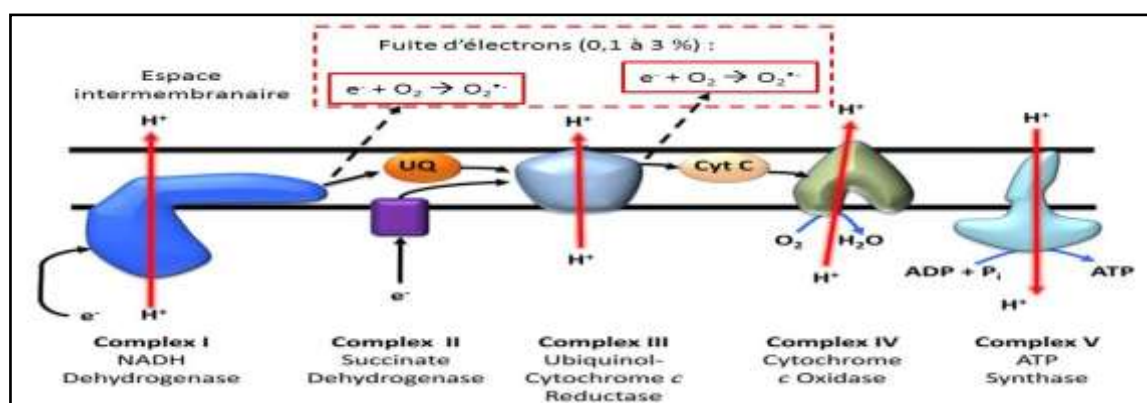


Figure 5 : Fuite d'électrons source de ROS au sein de la chaîne de transport d'électrons (Ghouleh et al., 2011)

(UQ : Ubiquinone ; Cyt C : Cytochrome C)

La réduction de l'oxygène en eau nécessite l'apport de quatre électrons (Beckman et Ames, 1998). Or, des réductions à un seul électron, produisant des anions superoxyde, peuvent aussi survenir (Abele et al., 2002). Cette réduction partielle d'oxygène dans la mitochondrie est due à la fuite d'électrons dans la chaîne respiratoire qui a lieu dans la membrane interne mitochondriale.

Cette fuite se produit principalement au niveau des complexes I (NADH deshydrogénase) et III (ubiquinone – cytochrome c réductase), et mène à la production du radical superoxyde (O₂•), le précurseur des ROS (Turrens, 1997 ; McLennan et Degli Esposti, 2000).

Selon les sources, cette fuite d'électrons représente entre 0,1 et 3% du flux total de la chaîne respiratoire (Beckman et Ames, 1998).

- *Peroxisomes*

Les peroxysomes sont des organites retrouvés dans pratiquement toutes les cellules de l'organisme à l'exception des hématies. Ils sont les seuls organites cellulaires avec les mitochondries et les réticulums endoplasmiques à consommer de l'oxygène lors du métabolisme (Delattre et al., 2005). Ils sont, en fait, le siège d'une forte activité métabolique très centrée sur le métabolisme oxydatif (Corpas et al., 2001 ; Nyathi and Baker, 2006).

Ils sont une importante source de production d'H₂O₂ cellulaire, en conditions physiologiques et en présence des enzymes peroxysomales (les oxydases). L'activité enzymatique de ces derniers et la β -oxydation des acides gras comptent parmi les principaux processus métaboliques impliqués dans la génération de H₂O₂ dans les peroxysomes. (Bennamara, 2017). Ce dernier est utilisé comme substrat de la catalase peroxysomale (enzyme antioxydante) afin de réaliser des réactions de peroxydation d'autres substrats. Ces réactions sont importantes dans le processus de détoxification présent dans le foie et le rein. Seule une faible quantité d'H₂O₂ produit au niveau du peroxysome pourrait échapper à la catalase (Nacri, 2013).

- *Réticulum endoplasmique*

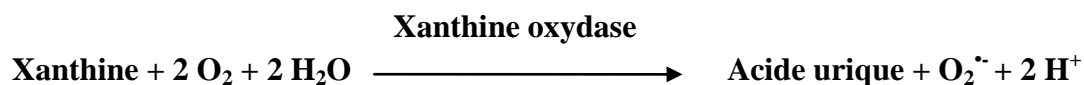
Dans ce compartiment cellulaire sont retrouvées des enzymes du métabolisme des lipides et des protéines, et notamment des complexes enzymatiques de détoxification de métabolites hautement réactifs, mais aussi de molécules pharmacologiques liposolubles. Les plus étudiées de ces enzymes appartiennent à la famille des cytochromes P450, qui assurent l'oxydation des acides gras insaturés (et certains xénobiotiques), et réduisent l'oxygène moléculaire pour former O₂⁻ et/ou H₂O₂. Les ERO ainsi produites semblent intervenir dans la régulation redox de certaines fonctions essentielles du réticulum endoplasmique telles que la sécrétion des protéines (Delattre et al., 2005).

- *Xanthine oxydase*

Il existe deux types de xanthine oxydase inter-convertibles également connus sous le nom de xanthine oxydoréductase (XOR) qui diffèrent par leur forme et par leur mode d'action. Elles peuvent être soit de type xanthine oxydase (XO), dépendantes de l'O₂, soit de type xanthine déshydrogénase (XD), dépendantes du NAD⁺ (Favier, 2003).

La xanthine oxydase est une enzyme cytosolique qui génère des ROS en réduisant l'hypoxanthine en xanthine ainsi que la xanthine en acide urique (Harrison, 2002). Au cours de

cette oxydation, elle utilise l'oxygène moléculaire comme un accepteur d'électrons tout en produisant l'O₂^{•-} (O'Mahony et al., 2013) :



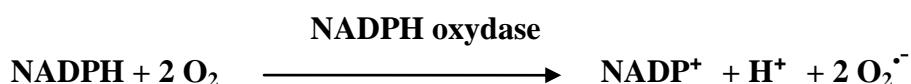
La xanthine oxydase est surtout présente dans le foie mais peut se retrouver dans la circulation en cas d'atteinte hépatique. La production de ROS par la xanthine oxydase est faible en condition physiologique mais jouerait un rôle important lors de l'ischémie-reperfusion. Dans le cas de l'ischémie, la grande consommation de l'ATP conduit à une accumulation d'hypoxanthine et de xanthine et donc une production de ROS plus importante.

L'activité de la xanthine oxydase a aussi été détectée dans le cytosol des cellules endothéliales bovines (Jarasch et al., 1981), sur la surface cellulaire de cellules endothéliales humaines (Rouquette et al., 1998), dans le plasma circulant (Tan et al., 1995) et dans les cardiomyocytes (Abadeh et al., 1992).

- *NADPH oxydase*

La nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase (ou NADPH-oxydase) est un complexe enzymatique membranaire. Les NADPH oxydases (Nox) ont d'abord été considérées comme des enzymes uniquement exprimées dans les cellules immunitaires (macrophages et monocytes). Il a ensuite été découvert qu'il existait 7 isoformes de NADPH oxydase exprimées dans divers tissus et impliquées dans divers processus biologiques (Paravicini et Touyz, 2008).

Les NADPH oxydases catalyse la réduction mono électronique de l'oxygène en O₂^{•-}, en utilisant le NADH et le NADPH comme donneur d'électrons selon la réaction (Bennamara, 2017) :



Après sa production, l'anion superoxyde se dismute hors la cellule en H₂O₂ (Hala, 2008). La NADPH oxydase a la particularité de présenter des domaines intra-, trans- et extra-membranaires, cette particularité va permettre la libération de l'anion superoxyde à l'intérieur ou à l'extérieur de la cellule (Souza et al., 2001) et joue un rôle fondamental dans la réponse immunitaire précisément dans la lutte contre les micro-organismes (Babior, 1999). Il existe aussi les NOX dans des cellules non phagocytaires où elles ont une activité de 10 à 100 fois

moins élevée que celle des cellules phagocytaires et les ERO qu'elles produisent jouent un rôle dans la signalisation intracellulaire (Favier, 2003).

4.2. Sources exogènes

L'environnement dans lequel nous vivons tout comme notre mode de vie sont également à l'origine d'une augmentation de la production de ROS dans notre organisme et sont générateurs du stress oxydant.

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles (Priyadarsini, 2005). Les nombreuses sources potentielles de ROS exogènes comprennent les radiations, les infections pathogènes, les pesticides, les toxines, les UV et la fumée de cigarette (Kregel et Zhang, 2007).

5. Cibles biologiques des ROS

En plus des fonctions biologiques, la réactivité particulière des ROS ajoute des propriétés toxiques et diversifiées (Barouki, 2006 ; Valko et al., 2007). En fait, lors d'un stress oxydant (fig.6), les RLs non détoxiquées par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines et l'acide désoxyribonucléique (ADN) (Menon, 2014). Ils provoquent aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Favier, 2003).

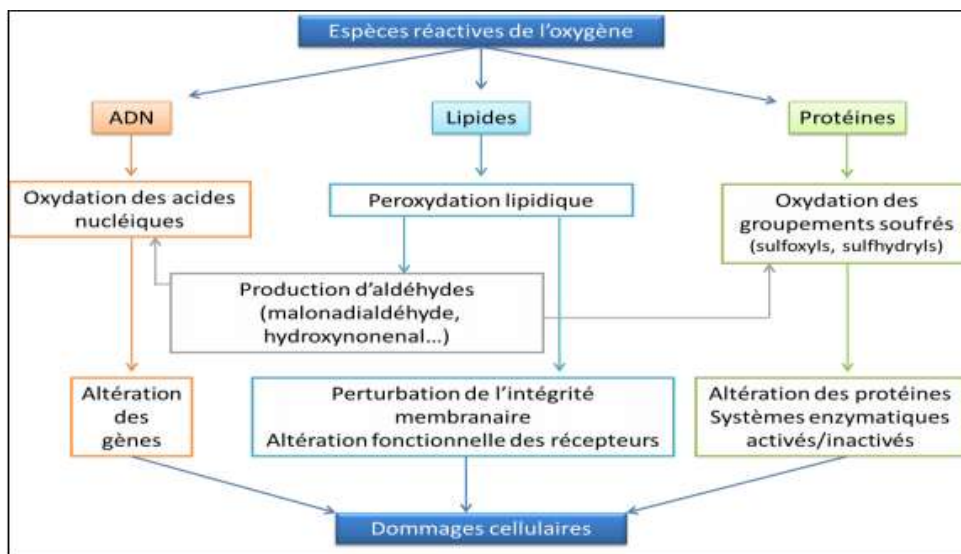


Figure 6 :Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (Monteil, 2004)

5.1. Peroxydation lipidique

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés (AGPI) représentent la première cible de l'attaque radicalaire par le radical OH^\bullet (Bennamara, 2017). En fait, les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation (Hulbertl, 2005 ; Pamplona et al., 2000).

Le processus général de la peroxydation lipidique LPO (fig.7) consiste en une réaction radicalaire en chaîne qui se déroule en trois phases : initiation, propagation et terminaison (Frankel, 2005 ; Leopold et Loscalzo, 2009) :

❖ **L'initiation** : la réaction commence lorsqu'un acide gras insaturé rencontre une espèce capable d'arracher un atome d'hydrogène et ainsi créer un site radicalaire sur un atome de carbone (radical alkyle). Les espèces initiatrices de la peroxydation lipidique sont principalement des radicaux libres et essentiellement le radical hydroxyle OH^\bullet et hydroperoxyde HO_2^\bullet (Halliwell et Chirico, 1993).

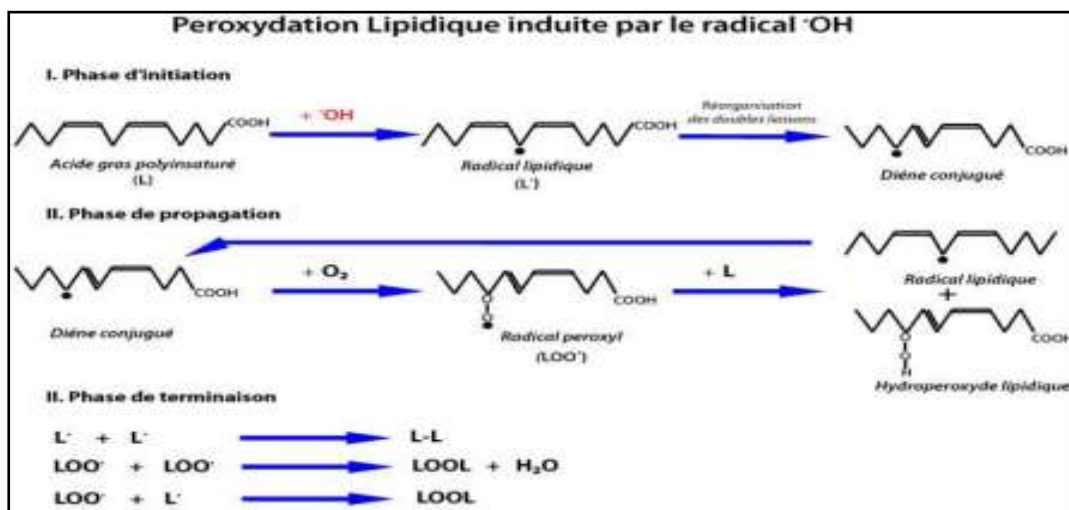


Figure 7 : Réactions de la peroxydation lipidique en chaîne (Halliwell et Gutteridge, 2007)

❖ **La propagation** : cette étape correspond à la fixation très rapide des radicaux libres alkyles (R^\bullet), issus lors de l'initiation, avec l'oxygène moléculaire à l'état normale. Il se forme des radicaux libres peroxydés (ROO^\bullet) instables pouvant réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras insaturée pour former des lipides hydroperoxydes susceptibles d'être décomposés en d'autres espèces réactives (Davies, 2000 ; Fam et Morrow, 2003).

❖ **La terminaison** : les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution, être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase (enzyme antioxydante) et la vitamine E

intercalée dans la bicouche lipidiques des membranes (Luc et al., 1991 ; Halliwell, 1996 ; Favier, 2003), ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en produits secondaires c'est-à-dire en aldéhydes très réactifs, pouvant être considérés comme des messages secondaires toxiques qui augmente les dommages initiaux dus aux radicaux libres (Marnett, 1999).

Parmi les aldéhydes formés : l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE), sont très étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique (Echtay et al., 2003). Les deux derniers produits (MDA, 4HNE) réagissent avec les protéines et l'ADN, une fois fixé à la molécule d'ADN, le MDA semble être le produit le plus mutagène, alors que le 4-HNE est le plus toxique pour la cellule (Marnett, 1999).

La peroxydation lipidique est suivie d'un changement structural des membranes biologiques (Pacifici et al., 1994), ou d'autres éléments contenant des lipides (Niki et al., 2005 ; Stark, 2005 ; Al-Mutairi et al., 2007). Ces perturbations fonctionnelles peuvent aboutir à la mort des cellules (Bonnefont-Rousselot, 1994).

5.2. Oxydation des protéines

En présence d'EROs, les protéines peuvent se dénaturer (Benyami, 2017) et tous les acides aminés peuvent être oxydés par les ROS préférentiellement ceux portant des chaînes latérales aromatiques (histamine, tyrosine...), les acides aminés sulfurés (cistéine, méthionine...) (Wang et al., 2008) et les acides aminés basiques.

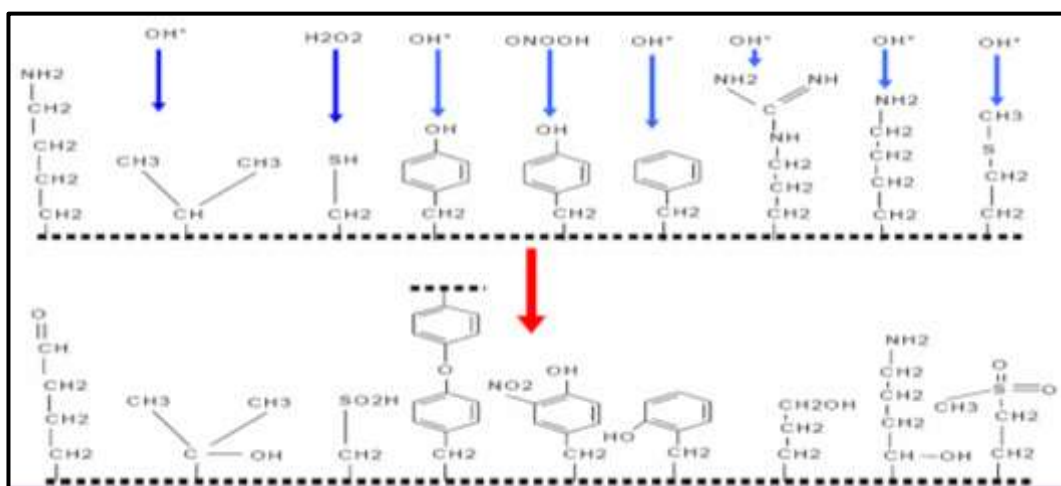


Figure 8 : Nature de quelques modifications des chaînes d'acides aminée des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003)

Comme le montre la figure 8, les ERO oxydent les résidus amino-acides responsables des activités des protéines, principalement au niveau des centres S-S de ces dernières, ce qui

endommage les structures protéiques et provoque la perturbation de leurs fonctions (Thannickal & Funburg, 2000). L'action peut être directe sur les chaînes peptidiques et latérales et produit des métabolites primaires comme elle peut être indirecte par glycation et formation des groupements carbonyles, ou par lipo-oxydation (Bensakhria, 2018).

✓ **Oxydation des acides aminés aromatiques :**

L'oxydation des acides aminés aromatiques (phénylalanine, tryptophane et tyrosine) provoque l'ouverture du cycle aromatique ou son oxygénation (ajout de groupements hydroxyde -OH) (Benjamin, 2015). La tyrosine s'oxyde en O-hydroxytyrosine (Athmani, 2016) et elle peut être l'origine de ponts dityrosines qui vont modifier la structure tertiaire des protéines par formation du radical tyrosyle sous l'action des EROs. Ce radical va donner lieu à la formation d'un hydroperoxyde de tyrosine par sa réaction avec $O_2^{\bullet-}$ (Halliwell and Gutteridge, 2008). L'altération oxydative des protéines forme des composés carbonylés (Benjamin, 2015). Le tryptophane et le phénylalanine sont également s'oxydés en cynurénine et 3,4- Dihydroxyphénylalanine respectivement (Baudin, 2006).

✓ **Oxydation des acides aminés soufrés :**

Les acides aminés soufrés sont particulièrement sensibles à l'oxydation, par exemple l'oxydation du groupement thiols -SH de la cystéine peut conduire à la formation de groupements sulféniques (-SOH), sulfoniques (-SOOH), sulfoniques (SOOOH), ou à la formation de ponts disulfures (-S—S-) entre deux cystéines. La méthionine peut également être oxydée en sulfoxyde de méthionine ou en sulfone de méthionine (Raman and Berry, 2011).

✓ **Oxydation des acides aminés basiques :**

Les acides aminés basiques (lysine, l'arginine et histidine) ont des fonctions amines (NH ou NH_2) sur leurs chaînes latérales. En présence de métaux, une désamination oxydative a lieu conduisant à la formation d'un groupement carbonyle (Stadtman, 1990). Ce dernier aboutit à la formation des liaisons imines (-HC=N-) entre les chaînes peptidiques, en réagissant avec des fonctions amines non oxydées de la lysine ce qui va provoquer l'agrégation des protéines (Oueslati, 2017).

Les dommages oxydatifs des protéines produisent des changements structuraux majeurs des structures protéiques par réticulation et fragmentation ce qui va modifier des propriétés des protéines responsables de nombreuses altérations des fonctions cellulaires (Bensakhria, 2018).

Les protéines oxydées perdent leurs propriétés biologiques, et sont beaucoup plus sensibles à l'action des protéases.

5.3. Oxydation de l'ADN

L'acide désoxyribonucléique est une molécule très sensible au stress oxydant. La plupart des ERO sont, en effet, capables de réagir avec l'ADN, aussi bien sur les bases azotées (puriques et pyrimidiques) que sur le ribose et le désoxyribose (Benjamin, 2015).

Ainsi, l'ADN mitochondrial est la cible privilégiée des oxydations par les ERO du fait de son potentiel de séparation plus faible que celui de l'ADN nucléaire et de sa proximité directe de l'une des principales sources d'ERO cellulaire : la chaîne respiratoire mitochondriale. Le taux de bases oxydées serait 2 à 3 fois supérieur dans l'ADNmt par rapport à l'ADNn et le génome mitochondrial présente une susceptibilité au stress oxydant qui est 10 fois supérieure à celle du génome nucléaire (Richter et al., 1988).

L'attaque radicalaire de la molécule d'ADN (fig.9) peut 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 (Burton et Jauniaux, 2011 ; Charbon et al., 2014).

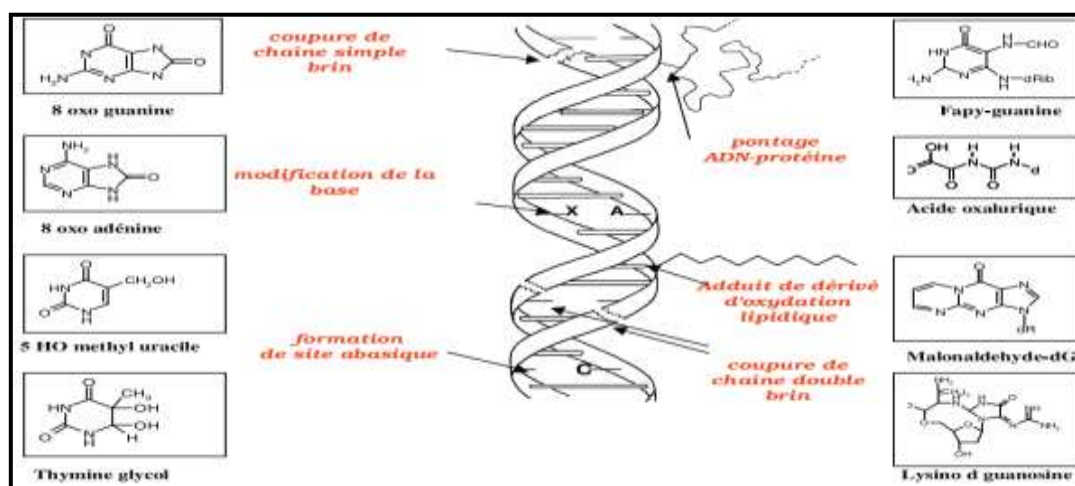


Figure 9 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003)

La sensibilité de l'ADN aux ERO s'explique également par la présence de nombreux métaux de transition (comme Fe, Cu, Zn, Mg...) fixés sur la molécule d'ADN en raison de son caractère polyanionique. (Benjamin, 2015).

Ces modifications et ces dégâts sur la molécule d'ADN peuvent avoir certaines conséquences : altération de la fonction mitochondriale, formation d'espèces mutagènes, activation des systèmes de réparation (Bensakhria, 2018) et même elles peuvent avoir de graves conséquences sur la réplication du génome.

Il existe plusieurs systèmes de réparation de l'ADN. Certaines enzymes permettent la réparation directe de l'ADN. Cependant, l'efficacité de ces systèmes dépend de plusieurs facteurs comme l'âge ou le type de la cellule. Cette dernière peut entrer en apoptose en cas de division cellulaire non contrôlée aboutissant à la formation de tumeurs cancéreuses (Florence, 2016).

6. Antioxydants

Face à la production permanente de ROS, les organismes vivants ont développé des systèmes de défense qui les protègent des dommages liés aux formes radicalaires. Ces défenses permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal. En effet, elles possèdent une grande affinité pour les ROS, avec lesquelles elles réagissent très rapidement pour les neutraliser (Delattre et al., 2005b). Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme "Antioxydant" :

6.1. Définition

Un antioxydant est une molécule capable d'inhiber l'oxydation d'autres molécules. En termes d'alimentation, un antioxydant a été défini comme "toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou inhibe de manière significative l'oxydation de ce substrat", mais il a ensuite été défini comme "toute substance qui retarde, empêche ou supprime les dommages oxydatifs d'une molécule cible". (Göçer et al., 2013 ; Çakmakçi et al., 2015).

Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi aux petites molécules hydro- ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous organismes, qu'ils soient intracellulaire, membranaires ou extracellulaires (Cano et al., 2006).

Les systèmes antioxydants présents dans l'organisme sont, soit d'origine endogène, soit exogène. On distingue également les antioxydants enzymatiques des antioxydants non enzymatiques (Niki, 2010). Les antioxydants peuvent donc être produits de façon endogène ou

provenir de sources exogènes, comme l'alimentation ou les suppléments antioxydants (Vertuani et al., 2004).

6.2. Mode d'action des antioxydants

Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent agir à deux niveaux : en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés ou en épurant les radicaux libres oxygénés. (Penna et al., 2009). En fait, en fonction de leur mécanisme d'action on distingue des antioxydants inhibiteurs des radicaux libres, décomposeurs des peroxydes, désactivateurs des ions métalliques, ou des piègeurs d'oxygènes (Dziezak, 1986 ; Yagi, 1970). En complément de ces mécanismes, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire (Penna et al., 2009).

6.3. Les systèmes de défense antioxydants

6.3.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques

Les principaux systèmes enzymatiques (fig.10) comprennent les superoxydes dismutases (SOD), la catalase (CAT) et plusieurs formes de glutathion peroxydases (GSH-PX) (Jacob et al., 2006 ; Garrel et al., 2007 ; Menon et Goswami, 2007).

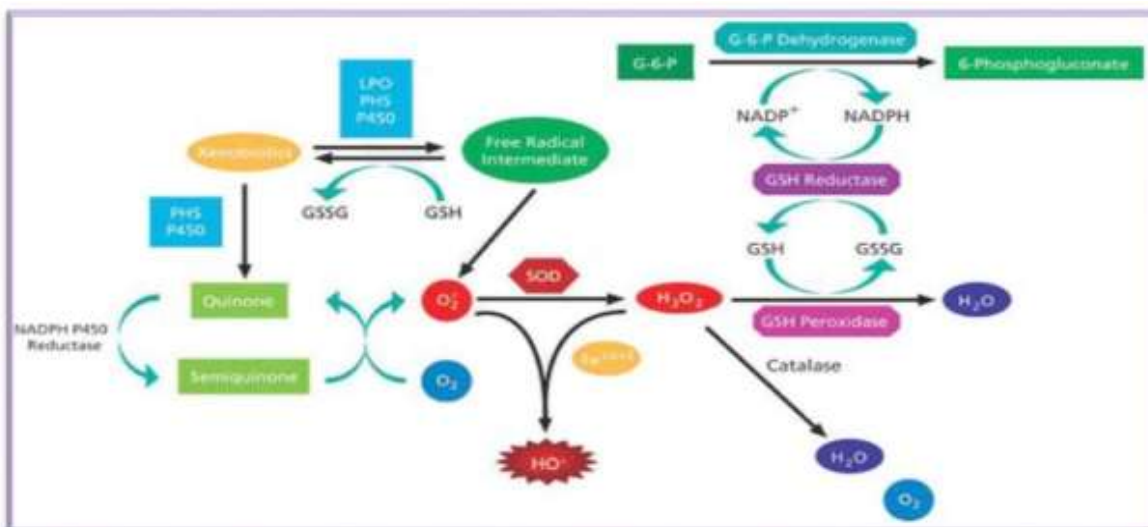


Figure 10 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants (Descamps, 2004)

- **La Superoxyde dismutase (SOD)**

La superoxyde dismutase (EC 1.15.1.1) est l'un des antioxydants enzymatiques intracellulaires les plus efficaces (Rahman, 2007). Les SODs sont des métallo-enzymes se

retrouvant dans l'ensemble du monde du vivant à l'exception de quelques microorganismes (Alscher et al., 2002).

Cette métalloprotéine catalyse la dismutation du superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène et représente de ce fait, une partie importante du système de défense contre les radicaux libres (Afonso, 2007). Cette réaction de dismutation nécessite un milieu acide et va permettre d'agir simultanément avec 2 anions superoxydes aboutissant à la formation de dioxygène et de peroxyde d'hydrogène (Desmier, 2016) :

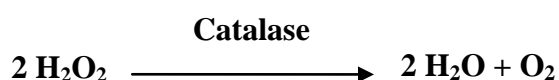


La SOD existe sous trois isoformes qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique : une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD). Il a été montré que la Cu/Zn-SOD était également présente dans l'espace intermembranaire (Okado-Matsumoto et Fridovich, 2001 ; Sturtz et al., 2001). Les différentes SODs catalysent la même réaction avec une efficacité comparable. Elles accélèrent la vitesse de dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (Desideri et Falconi, 2003 ; Rahman et al., 2006 ; Garrel et al., 2007).

- ***La Catalase (CAT)***

La catalase (EC 1.11.1.6) est parmi les antioxydants puissants les plus connus dans la nature (Ratnam et al., 2006). Cette enzyme est localisée principalement dans les peroxysomes et les mitochondries (Deaton et Marlin, 2003), elle se produit en abondance dans le corps, avec la plus grande activité dans le foie, suivie par les érythrocytes, puis les poumons (Ratnam et al., 2006).

C'est une enzyme hémunique capable de transformer par dismutation le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et oxygène moléculaire (Bonfont-Rousselot et al., 2003) :



De ce fait, la CAT a un rôle essentiel dans l'acquisition de la tolérance au stress oxydatif et dans la réponse adaptative des cellules (Buschfort et al., 1997 ; Góth et al., 2004). Elle joue, en effet, un rôle significatif en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse s'amplifier (Cantin, 1999). Ainsi, divers états pathologiques et anomalies sont associés à la carence ou à la mutation de cette enzyme (Buschfort et al., 1997 ; Góth et al., 2004).

- **La Glutathion peroxydase (GPx)**

La glutathion peroxydase (EC 1.11.10.19) est une enzyme dépendante du sélénium (Akbas et al., 2005). Elle contient un seul résidu séléno-cystéine (Se-Cys) dans chacune de ces quatre sous-unités identiques (fig 11), ce qui est essentiel pour l'activité enzymatique (Marés et al., 1999). Elle se retrouve dans les liquides extracellulaires ainsi que dans les cellules, au sein du cytosol et des mitochondries (Richard et al., 1997).

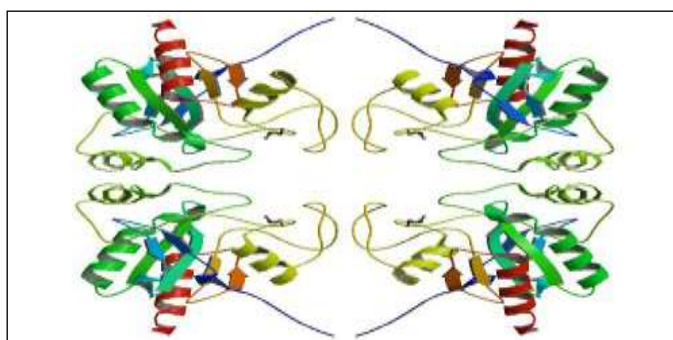
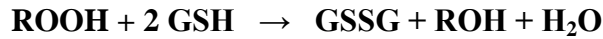
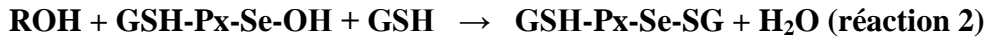


Figure 11 : Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase (Lyons et al., 1990)

On distingue 5 isoenzymes de la GSH-Px contenant du sélénium chez les eucaryotes : la GSHPx1 ou cGSH-Px cytoplasmique et mitochondriale, la GSH-Px2 ou giGSH-Px gastro intestinale, la GSH-Px3 ou pGSH-Px plasmatique, la GSH-Px4 ou HP-GSH-Px localisée à l'interface de la membrane interne et du cytoplasme et la GSH-Px5 ou snGSH-Px épидidymaire. La plus abondante est la GSH-Px1, qui est exprimée dans la plupart des cellules (Comhair et Erzurum, 2002).

La GPx permet la décomposition des hydroperoxydes organiques et peroxyde d'hydrogène. Elle réduit un grand nombre de ces peroxydes avec des vitesses comparables. L'enzyme possède une grande spécificité pour le glutathion réduit (GSH) qui est utilisé comme donneur d'hydrogène au cours des réactions de décomposition ; il s'en suit la formation du glutathion oxydé (GSSG). La GPx est donc en compétition avec la catalase pour le substrat H

et est la source majeure de protection contre les faibles niveaux de stress oxydant (Valko et al., 2006 ; Valko et al., 2007).



La première réaction est une oxydation du groupement séléniol de l'enzyme par un hydroperoxyde pour former un acide séléinique (réaction 1). La seconde réaction conduit à la formation d'une liaison covalente entre le soufre du GSH et le sélénium de l'enzyme (réaction2) (kehili, 2018). La dernière réaction (réaction 3) traduit la réduction du glutathion-disulfure GSSG par la glutathion réductase (Halliwell, 1989).

La glutathion réductase permet donc de recycler le GSH en réduisant le GSSG et produisant deux molécules de GSH (Raman and Berry, 2011). C'est une flavoenzyme homodimérique dont le quelle chaque sous-unité contient du FAD au niveau de son site actif. Elle utilise le NADPH comme donneur d'électron, qui réduit d'abord le FAD en FADH2. Ce dernier est ensuite une source d'électrons sur un pont disulfide -S—S- de l'enzyme qui réduit à son tour le GSSG en GSH (Halliwell and Gutteridge, 2008).

Le schéma ci-dessous présente les réactions mises en jeu pour la décomposition du peroxyde d'hydrogène par la glutathion peroxydase (GPx) :

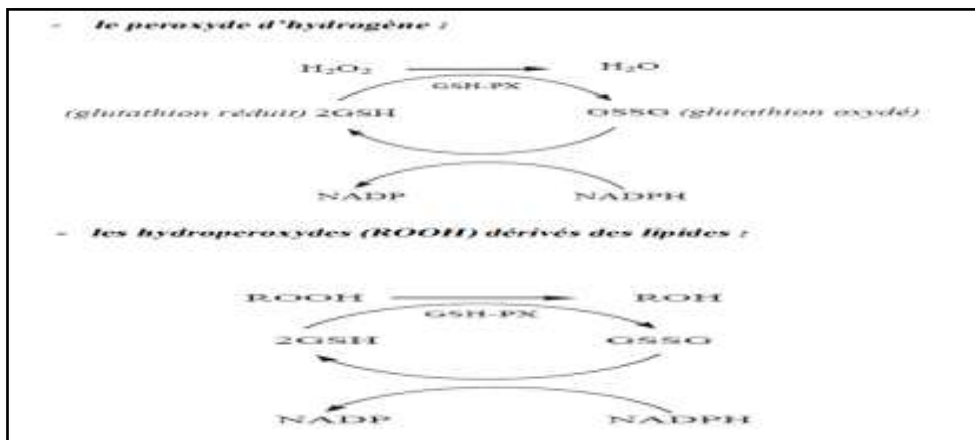


Figure 12 : Cycle de détoxification par la glutathion peroxydase

6.3.2. Les systèmes antioxydants non-enzymatiques

Dans ce groupe d'antioxydants on peut distinguer deux types : les antioxydants endogènes et les antioxydants exogènes (Ribeiro et al., 2001) :

6.3.2.1. Antioxydants non enzymatiques endogènes

Ce groupe d'antioxydants renferme de nombreuses molécules endogènes synthétisées par les cellules :

- *Le Glutathion (GSH)*

Le glutathion est un tripeptide (acide γ -glutamique-cystéine-glycine) connu par son puissant pouvoir antioxydant (Menon et Goswani, 2007). Le foie est la principale source de la synthèse du glutathion (Sies, 1999), il est également abondant dans le cytosol, les noyaux et les mitochondries. Il est le principal antioxydant soluble dans ces compartiments cellulaires (Rahman, 2007). Le groupement actif de glutathion est le sulfhydryle (-SH) de la cystéine (Sies, 1999 ; Deaton et Marlin, 2003), qui peut aisément accommoder la perte de l'électron unique (Rahman, 2007).

Le glutathion (GSH) est impliqué dans de nombreux processus métaboliques, parmi lesquels le maintien des communications intercellulaires (Barhoumi et al., 1993) et la prévention de l'oxydation des groupements thiols grâce à son pouvoir réducteur. Il piège les espèces réactives de l'oxygène car il réagit notamment avec le radical hydroxyle (Bump and Brown, 1990). Il est intéressant de noter que le GSH peut chélater les ions Cu^+ et ainsi limiter leur participation à la génération de radicaux libres par la réaction de Fenton (Hanna and Mason, 1992). Dans certaines conditions physiologiques, le GSH protège l'ADN contre $^1\text{O}_2$ (Lafleur et al., 1994).

Comme citée précédemment, le glutathion réduit (GSH) est aussi le substrat indispensable aux réactions qui éliminent les peroxydes à partir de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx), de la glutathion transférase (GST) et de la glutathion réductase (GR). Au cours de l'oxydation du glutathion (fig.13), deux molécules de GSH se lient en formant un pont disulfure (S-S) par l'oxydation du groupement -SH de chaque cystéine. De cette réaction résulte la formation de glutathion oxydé ou disulfide (GSSG) (Dwassy, 2014).

Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car, plus le flux d' H_2O_2 est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté (Ji et Fu, 1992).

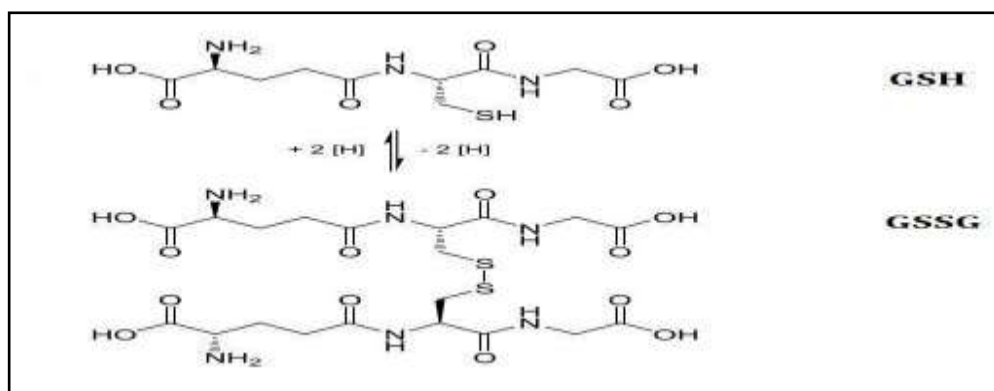


Figure 13 : État d'oxydation du glutathion (Raman et Berry, 2011)

- ***L'Acide urique***

Issu du catabolisme des purines, l'acide urique (AU) joue un rôle important dans le système antioxydant. Il apparaît comme étant l'antioxydant plasmatique le plus réactif avec les ROS, contribuant à lui seul à 60 % de la capacité antioxydante du plasma grâce à sa concentration élevée (Zhao et al., 2009).

Au début des années 80, Ames et al ont proposé que l'AU puisse avoir une signification biologique en tant qu'antioxydant et ont montré, par des expériences in vitro, qu'il est un puissant capteur de radicaux peroxyde (RO_2^*), de radicaux hydroxyle (OH^*) et d'oxygène singulet (1O_2). Il est également un neutralisant puissant de l'ozone, de l'acide hypochloreux et du radical superoxyde (Sekli-belaidi, 2011 ; Mimouni, 2020).

Après réaction avec les ERO et d'autres agents oxydants, l'acide urique peut être oxydé en différents produits dont le prédominant est l'allantoïne qui augmente également dans les muscles en cas d'effort (Hellsten et al., 2001), puis est régénéré par la vitamine C (Vasconcelos et al., 2007). Il subsiste certains doutes quant à une réelle fonctionnalité antioxydante de l'acide urique, dont l'augmentation peut aussi bien avoir des conséquences pro que antioxydantes (Patterson et al., 2003 ; Baillie et al., 2007 ; Sautin et al., 2007 ; Gersch et al., 2009 ; Johnson et al., 2009).

- ***La Coenzyme Q10***

Découvert en Angleterre par Morton, le coenzyme Q, aussi appelé ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est une molécule antioxydante qui se singularise par un comportement particulier (Pincemail et Defraigne, 2003). Il s'agit d'un dérivé benzoquinonique avec une longue chaîne latérale isoprénique (fig 14). Dans la majorité des tissus des

mammifères, cette chaîne possède dix unités isoprénoïdes (d'où le nom de CoQ10) mais, dans d'autres organismes, elle n'est formée que de six (COQ6) ou huit (CoQ8) unités.

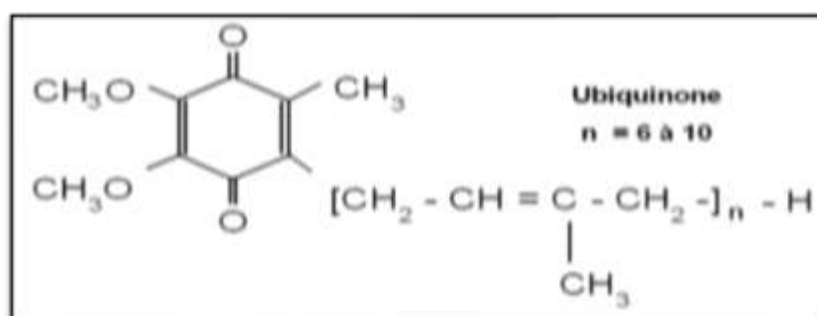


Figure 14 : Structure chimique des ubiquinones (Haleng et al., 2007)
(n peut varier de 6 à 10)

Cette chaîne latérale confère à la molécule un caractère lipophile important qui lui permet de s'insérer dans toutes les membranes cellulaires, subcellulaires et les lipoprotéines sériques (Pincemail et Defraigne, 2003).

La coenzyme Q10 exerce à la fois un rôle de transporteur d'électrons et un rôle d'antioxydant. Sous sa forme réduite, elle limite la peroxydation lipidique en réagissant directement avec les hydroperoxydes ou indirectement en régénérant la vitamine E (Beyer, 1994). Son effet anti-oxydant s'exerce aussi au niveau de l'ADN et des protéines, étant donné que le coenzyme Q est le seul anti-oxydant liposoluble endogène (Bentinger et al., 2010).

- **La bilirubine**

La bilirubine est le produit terminal de la dégradation de l'hème de plusieurs protéines hémiques d'intérêt biologique comme l'hémoglobine des hématies et la myoglobine des muscles (Halliwell et Gutteridge, 2008 ; Paredi et al., 2002).

Elle est fortement liée aux protéines et lipoprotéines plasmatiques et potentialise la défense antioxydante sanguine (notamment avec l'albumine) (Halliwell and Gutteridge, 2008). La bilirubine est capable de piéger les radicaux peroxyde, l'oxygène singulet et le radical hydroxyle, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Algeciras-schimmich et al., 2007).

Elle trouve donc toute son expression dans la protection des membranes cellulaires contre la peroxydation lipidique (notamment des cellules sanguines) et des protéines plasmatiques ; certains auteurs pensent que la bilirubine serait un antioxydant efficace de l'oxydation protéique médiée par le peroxy-nitrite et pourrait être plus efficace encore que la vitamine E dans la prévention de la peroxydation lipidique (Paredi et al., 2002). La bilirubine est

reconvertie en biliverdine par certains ERO, qui est à nouveau réduite par la biliverdine réductase (Halliwell and Gutteridge, 2008).

- **Les hormones sexuelles**

Les hormones sexuelles femelles (œstradiol, œstrone et oestriol) sont capables d’inhiber la peroxydation lipidique des LDL in vitro à des concentrations micromolaires. Ce pouvoir antioxydant est lié à la présence d’un hydroxyle phénolique dans leur structure chimique, particularité commune avec la vitamine E et responsable de leur capacité à interrompre des chaînes de peroxydation lipidique (Mimouni, 2020).

6.3.2.2. Antioxydants non enzymatiques exogènes

Ce système fait appel à des molécules non enzymatiques telles que les vitamines antioxydante (vitamine C et vitamine E), les caroténoïdes et les composés phénoliques. Contrairement aux enzymes antioxydants, ces composés ne sont pas synthétisés par l’organisme et doivent être apportés par l’alimentation (Gardès-Albert et al., 2003).

- **La Vitamine E**

La vitamine E est un terme générique pour tous les tocophérols et les tocotriénols (fig.15), desquels existent 8 dérivatifs et dont l’alfa-tocophérol est le plus abondant (Shils et al., 2006). La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ et δ , avec une activité antioxydante variable (Singh et al., 2005).

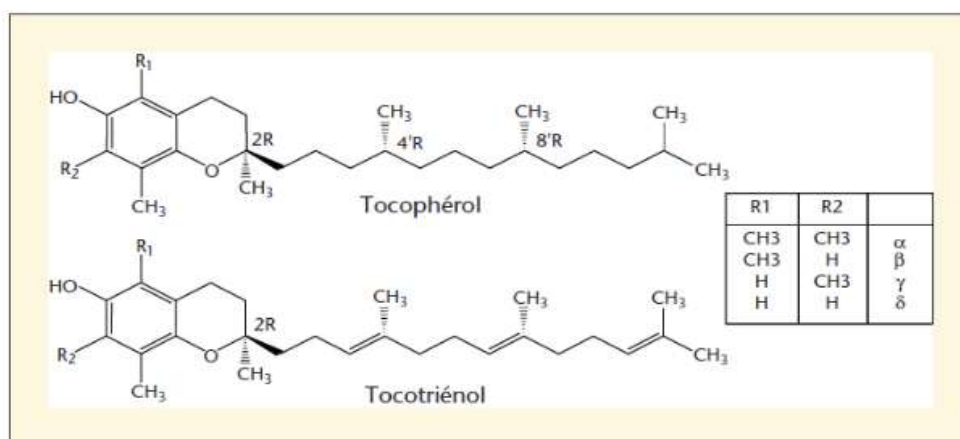


Figure 15 : Structure des différents vitamères de la vitamine E (landrier,2011)

La vitamine E est uniquement apportée par l’alimentation, se retrouve dans les huiles végétales (olive, colza, arachide) mais aussi dans le beurre, les céréales et les légumes verts (SuzukiK et al., 2011).

L' α -tocophérol (α -Toch) est la forme la plus active de la classe des tocophérols (Gulcin, 2012). Il piège les radicaux peroxydes produits durant la peroxydation lipidique, ce qui conduit à un radical tocophéryl (Van stijn et al., 2008), plus spécifiquement lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire (fig.16). L' α -Toch, qui est un inhibiteur de la propagation radicalaire, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO_2^{\cdot} , et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection. L' α -tocophérol, en cédant son hydrogène, se transforme lui-même en produit radicalaire mais de faible réactivité (Bouguerne, 2012).

L' α -Toch peut aussi réagir avec les radicaux $\cdot OH$ et $O_2^{\cdot -}$ même si ces réactions, en théorie réalisables, ils restent peu probables au vu de leur lenteur.

La régénération de l' α -tocophérol se fait selon 2 voies : soit via la vitamine C, soit en mettant en jeu la tocophéryle réductase qui en présence de GSH redonne de l' α -tocophérol (Brigelius-Flohe et al., 1999).

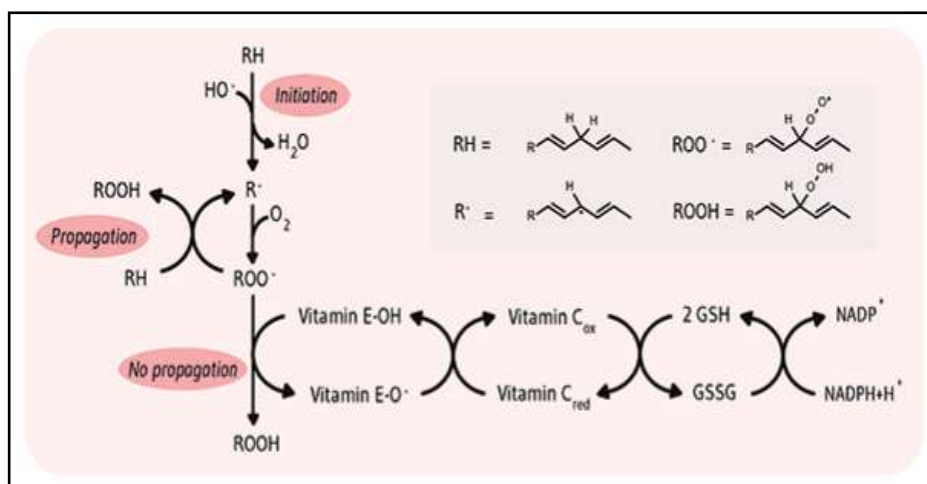


Figure 16 : Piégeage des radicaux libres par L' α -Toch

Enfin, il est importants de montré que la vitamine E peut réguler à la hausse les enzymes antioxydantes (SOD, GPx et CAT du foie, GST et NADPH réductase) (Lopez et al., 2005). Il est aussi capable de réduire l'ion ferrique en ion ferreux, mais il peut également agir comme un pro-oxydant (Sharma et al., 2018).

- **La Vitamine C**

La vitamine C, ou acide ascorbique, est une molécule hydrophile que l'on retrouve dans de nombreux fruits comme les oranges, les citrons et les fraises. Son caractère hydrophile ne lui permet pas d'avoir une activité intracellulaire (Fabre et al., 2015).

Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire (Retsky et al., 1999). Son caractère antioxydant provient de sa forme ionisée abondante (AscH^-) qui peut aisément réagir avec des radicaux et produire le radical ascorbate tricarbonyle (AscH^\bullet), stabilisé par résonance (fig.17). Du fait de son très faible pK, la forme non protonée radicalaire faiblement réactive est privilégiée ($\text{Asc}^{\bullet-}$) (Valko et al., 2006).

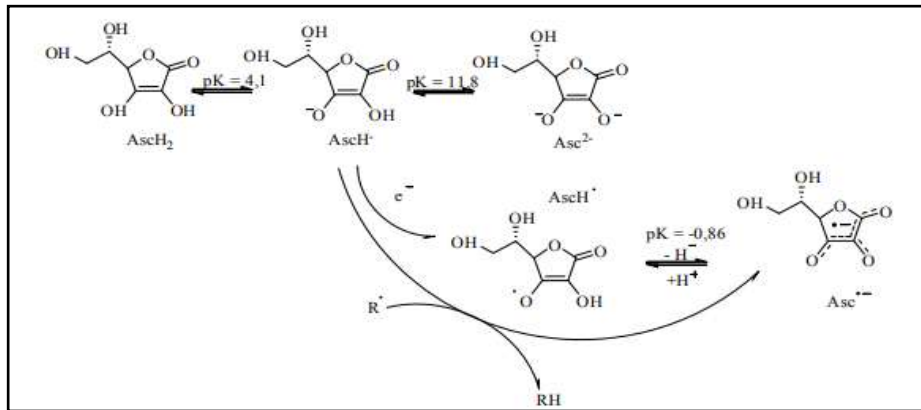


Figure 17 : Différentes structures chimiques de la vitamine C et réaction avec les radicaux (Rezaire, 2012)

- **La Vitamine A**

La vitamine A est un nom générique pour les rétinoïdes et les provitamines A ou les caroténoïdes dont plusieurs centaines sont répertoriés (Wolinsky, 1998). Les rétinoïdes (rétinol, rétinal et acide rétinoïque) sont présents dans les aliments d'origine animale (lait, foie, jaune d'œuf), alors que les provitamines A (bêta-carotène, lutéines, lycopènes,...) se rencontrent dans de nombreux fruits et légumes. Le bêta-carotène (fig.18) est le principal précurseur de la vitamine A (Shils et al., 2006).

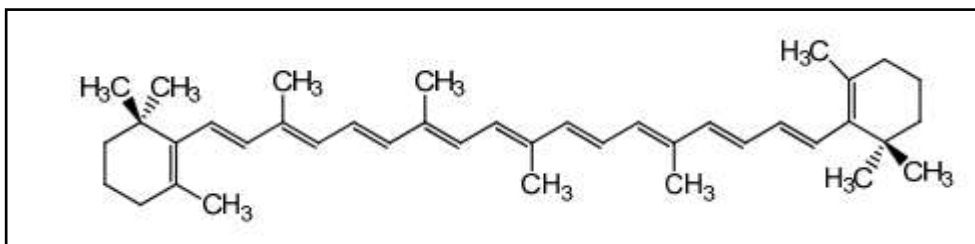


Figure 18 : Structure chimique de β carotène (Laguerre et al., 2007)

L'activité antioxydante des caroténoïdes repose essentiellement sur le piégeage de l'anion superoxyde ou de radicaux peroxydes. Cependant, le mécanisme principal n'est pas chimique, mais plutôt d'ordre physique. Il s'agit d'un phénomène de quenching physique dans la phase lipidique entre un caroténoïde et un O_2^- ou un $^1\text{O}_2$ entraînant un transfert d'énergie à partir de

ce dernier vers le caroténoïde (fig.19). Il en résulte du dioxygène triplet et un caroténoïde triplet excité, qui sera capable de dissiper cette énergie et ainsi retrouver son état initial (Sies et Stahl, 1995 ; Stahl et Sies, 2003).

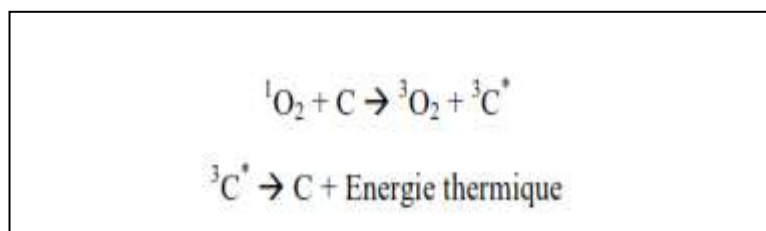


Figure 19 : Quenching physique de l'oxygène singulet par les caroténoïdes

(D'après Stahl et Sies, 1993)

(C : caroténoïde ; ${}^3\text{C}^*$: caroténoïde triplet excité)

- **Les polyphénols**

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (Mompon et al., 1996 ; He et al., 2008). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Richter, 1993).

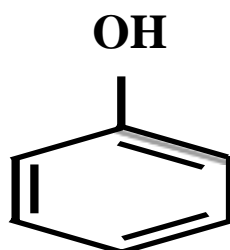


Figure 20 : Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés (Martin et Andriantsitohaina, 2002 ; Druzyńska et al., 2007). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Fig.20), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside. (Bruneton, 1999 ; Balasundram et al., 2006).

- *Les oligo-éléments*

Les oligo-éléments se définissent comme une classe de nutriments nécessaires, en quantité très faible, à la vie d'un organisme. L'apport par l'alimentation, en quantité raisonnable, est crucial.

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

7. Stress oxydant et pathologies humaines

Le stress oxydant (SO) est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. La multiplicité des conséquences médicales de ce stress n'a rien de surprenant car, selon les maladies, celui-ci se localisera à un tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. La plupart des maladies induites par le SO apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux.

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur exprimant certains gènes, le SO sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, sclérose latérale amyotrophique, vieillissement accéléré. Le SO est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires.

Les causes essentielles de ce SO sont soit d'origine nutritionnelle dans les cas de carences en vitamines et oligo-éléments, ou inversement de surcharges en facteurs prooxydants (fer, acides gras), soit d'origine accidentelle (inflammation, exposition à des xénobiotiques prooxydants...), soit d'origine génétique. Le plus souvent, l'association de ces différents facteurs aboutira au mécanisme pathogène. La responsabilité la plus nette des RL est mise en évidence dans les maladies directement induites par des anomalies d'un gène antioxydant. Plusieurs mutations de la Cu/Zn-SOD ont été observées dans les formes familiales d'une maladie neurologique de la sclérose latérale amyotrophique (Favier, 2003).

7.1. Exemples des maladies liées au SO

7.1.1. Diabète

Le diabète sucré est un désordre métabolique caractérisé par une hyperglycémie chronique et une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique. Il est causé par une sécrétion inadéquate d'insuline et/ou l'altération de son activité. On distingue quatre types de diabète : type 1, type 2, diabète gestationnel et les autres types parmi lesquels des déficiences génétiques conduisant à un manque d'insuline, des altérations génétiques des cellules bêta pancréatiques, des diabètes mitochondriaux et plusieurs maladies du pancréas.

La majorité des cas de diabète sont représentés par les diabètes de type 1 et de type 2 (respectivement environ 15% et 80% des cas), le reste étant constitué par des formes plus rares représentant moins de 5% des cas (Bonfont- Rousselot et al., 2004).

Le diabète sucré est associé à une augmentation de la production des radicaux libres d'une part, et d'une diminution du potentiel antioxydant d'autre part (Lorenzi et Oates, 1995; Willems et al., 1998 ; Werstuck, 2006). Il existe plusieurs mécanismes impliqués dans le développement du SO et responsables de la production des ERO lors d'une hyperglycémie (Nacri, 2013) :

✓ **Auto-auxydation du glucose**

En présence de métaux de transition, le glucose peut former un radical anionique qui peut alors réduire l'oxygène moléculaire débutant la formation des ERO (anion superoxyde, peroxyde d'hydrogène, radical hydroxyl...) (Hunt et al., 1988 ; 1999).

✓ **Glycation des protéines**

Il s'agit de la formation d'un groupement cétole au sein des protéines (fonction cétole et fonction alcool secondaire portées par deux carbones contigus). Cette réaction résulte de la formation d'une liaison covalente entre la fonction aldéhyde du glucose et les groupements amines libres des protéines. En présence de métaux de transition, cette fonction cétole va réduire l'oxygène moléculaire en lui cédant un électron conduisant à la formation d'anion superoxyde. (Nacri, 2013).

✓ **Voie des polyols**

Dans le cas du diabète, le glucose ne peut plus être métabolisé par la glycolyse ou la voie des pentoses phosphate, il est donc pris en charge par la voie des polyols (fig.21). Le glucose est réduit en sorbitol qui est alors oxydé en fructose à l'origine de produits avancés de glycation (AGE) par la sorbitol déshydrogénase.

La réduction du glucose en sorbitol est catalysée par une aldose réductase qui va utiliser du NADPH comme cofacteur. De ce fait, une hyperstimulation de cette voie entraîne donc une diminution considérable de la quantité de NADPH intracellulaire. Les enzymes anti-oxydantes nécessitant du NADPH pour fonctionner s'en trouvent alors inactives, comme le cas du glutathion réductase qui est importante à la formation du glutathion réduit, ne peut alors plus jouer son rôle antioxydant à cause de la diminution de son activité.

L'activation de cette voie va entraîner, de ce fait, une augmentation du stress oxydant au sein de la cellule avec une diminution des défenses anti-oxydantes et surproduction des EROs, mais aussi provoquer des dommages osmotiques dus à l'augmentation du sorbitol qui reste accumulé dans la cellule (Florence, 2016).

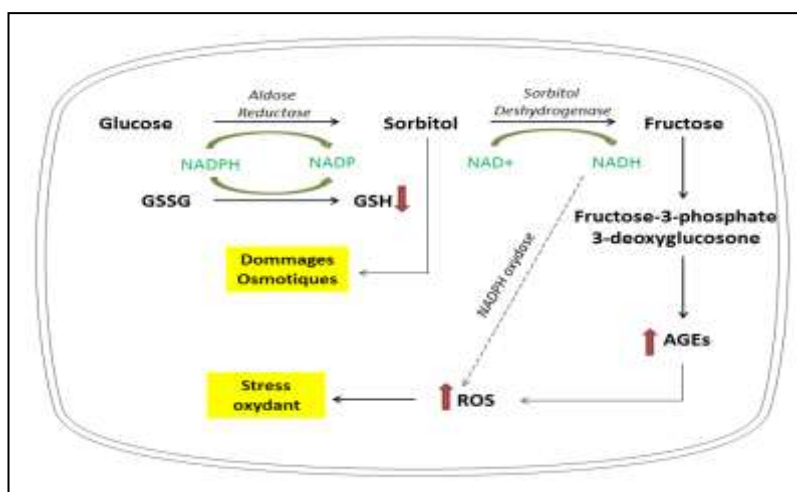


Figure 21 :Voie des polyols (Florence, 2016)

✓ Voie de la protéine kinase C

L'augmentation du glucose va entraîner une augmentation de glycéraldéhyde-3-phosphate via la glycolyse. Le glycéraldéhyde-3-phosphate est un précurseur du diacylglycerol, qui est activateur de la protéine kinase C (PKC). Des études ont largement démontré que le diabète entraînait une activation de la voie de la PKC (fig.22) (Derubertis et al., 2013).

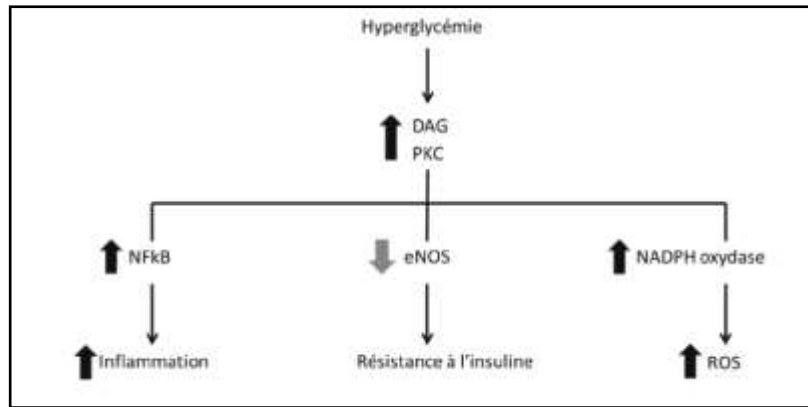


Figure 22 : Voie de la PKC dans le cadre de la pathologie diabétique

Cette activation est notamment impliquée dans l'augmentation du stress oxydatif du fait qu'elle entraîne l'augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par l'augmentation de l'activité NADPH oxydase. L'activation de la PKC va aussi jouer un rôle dans l'inflammation par l'augmentation de la synthèse du facteur pro-inflammatoire NFκB (Banerjee et Vats, 2013). Elle va contribuer aussi à la résistance à l'insuline via la diminution de l'expression d'endothelial nitric oxide synthase (eNOS) (Naruse et al., 2006).

✓ **Voie des hexosamines**

Lorsque les concentrations de glucose intracellulaire sont élevées, la majorité de ce dernier est métabolisé via la glycolyse par l'intermédiaire du fructose-6-phosphate en glucosamine-6-phosphate grâce à l'enzyme GFAT (glutamine fructose-6-phosphate aminotransférase).

La glucosamine-6-phosphate réagit avec l'uridine et forme l'UDP-GlcNAc (uridine diphosphate N-acétylglucosamine) qui intervient dans l'O-glycosylation des protéines (Bertry, 2011). L'UDP-GlcNAc va modifier différents facteurs de transcription conduisant à l'expression des gènes et à la synthèse des protéines TGF-β et PAI-1 (Du et al., 2000).

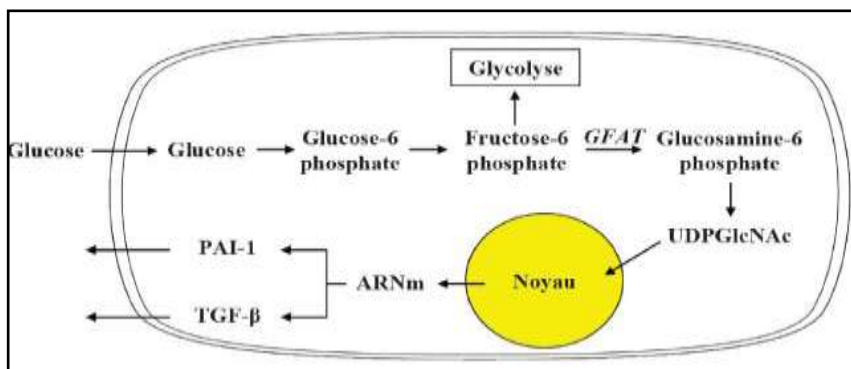


Figure 23 : Voie des hexosamines en conditions d'hyperglycémie (Brownlee, 2005)

L'activation de la voie des hexosamine (fig.23) va aboutir à la formation de protéines O-Glycosylées (O-GlcNac) et elle va entraîner une augmentation de la production des ROS et donc va contribuer à un stress oxydant. De plus, l'accumulation des protéines modifiées par l'O-GlcNac glycosylation joue un rôle dans les complications et l'apparition de maladies associées au diabète (Tang et al., 2000).

7.1.2. Vieillessement

Le vieillissement se présente par l'ensemble des processus physiologiques et psychologiques qui modifient, après la phase de maturité, la structure et les fonctions de l'organisme d'un être vivant sous l'action du temps. La notion de physiologie exclut les modifications induites par des maladies. Il a pour caractéristiques d'être progressif, universel et irréversible (De Jaeger, 2011).

Il existe de nombreuses théories explicatives de ce phénomène de vieillissement : théorie génétique, théorie immunologique, théorie de la restriction calorique et théorie du SO. Cette dernière (fig.24) attribue un rôle prépondérant aux ERO qui entraînent des lésions macromoléculaires de la cellule, en réagissant avec les lipides notamment membranaires, les protéines et les acides nucléiques, ce qui peut entraîner des dégâts majeurs de la cellule pouvant conduire à la mort cellulaire (Harman, 1956).

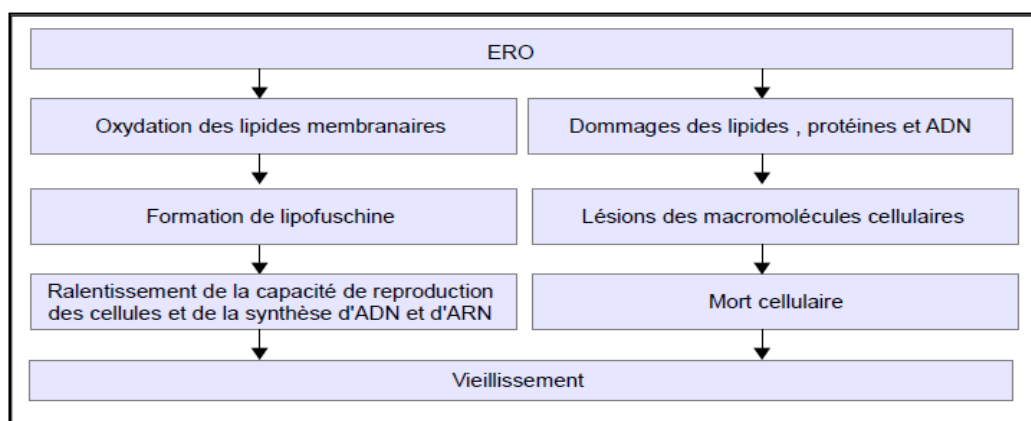


Figure 24 : L'interaction du stress oxydant avec le vieillissement (Bennamara, 2017)

Les ERO provoquent des attaques des cibles cellulaires, induisant des dommages oxydatifs moléculaires cumulatifs responsables du vieillissement (De Jaeger, 2011). L'accumulation de produits d'oxydation des biomolécules au niveau plasmatique et au niveau cellulaire, est responsable de dégâts organiques. Ainsi, les membranes de nos cellules seront attaquées par les RL du fait qu'elles sont très sensibles à l'oxydation car elles sont constituées

de lipides insaturés. L'oxydation des membranes va produire un déchet métabolique, la lipofuscine, qui va s'accumuler dans l'organisme et apparaît sur la peau en formant ce qu'on appelle les « tâches de vieillesse ». La lipofuscine va gêner la capacité de reproduction des cellules et la synthèse de l'ADN et de l'ARN (Bennamara, 2017).

7.1.3. Cancer

Le cancer est une maladie multifactorielle causée par des facteurs internes (comme les mutations héréditaires, les hormones et les conditions immunitaires) et des facteurs environnementaux / acquis (comme l'alimentation, les rayonnements et les agents infectieux). Elle est provoquée par la transformation de cellules qui deviennent anormales et prolifèrent de façon excessive. Ces cellules dérégulées finissent par former une masse ce qu'on appelle tumeur maligne (Bennamara, 2017).

Les facteurs causant le cancer modulent certains éléments cellulaires importants incluant des gènes tels que proto-oncogènes, les gènes suppresseurs de tumeurs et les gènes de réparation de l'ADN à travers des intermédiaires cellulaires (Sadikovic et al., 2008 ; Storz et al., 2013). Ces derniers, influencent les voies de signalisation cellulaire, qui sont principalement médiées par les facteurs de transcription suivants : NF- κ B, les kinases, divers facteurs de croissance, les cytokines et d'autres protéines.

Parmi les principaux intermédiaires cellulaires : les ERO qui à des niveaux faibles, présentent des effets bénéfiques (signalisation intracellulaire et homéostasie), par contre, leur accumulation peut entraîner plusieurs troubles y compris la carcinogenèse (Acharya et al., 2010).

Un niveau élevé des ERO dans n'importe quelle cellule normale peut la convertir en une cellule maligne et joue ainsi un rôle important dans les différentes étapes du cancer. Le développement du cancer par les ERO implique diverses molécules de signalisation. Les ERO, générés de façon exogène ou endogène, vont d'abord empêcher les mécanismes de défenses antioxydantes conduisant à des lésions de l'ADN. L'accumulation des dommages d'ADN causés par un mauvais entretien ou une réparation incomplète peuvent entraîner une mutagenèse et par conséquent une transformation, en particulier si elle est combinée avec une déficience de la voie apoptotique (Kryston et al., 2011).

Si les cellules hébergeant de telles modifications de l'ADN échappent à la mort cellulaire programmée, ils peuvent continuer à proliférer, augmentant la probabilité d'une croissance cancéreuse. Cependant, l'oxydation des protéines peut altérer leur fonction, y compris

l'inactivation ou l'activation constitutive, ce qui peut contribuer à la croissance oncogène (Nakashima et al., 2009), et même la peroxydation lipidique génère plusieurs molécules génotoxiques telles que des aldéhydes réactifs qui peuvent modifier les protéines et l'ADN (Storz et al., 2013).

7.1.4. L'obésité

L'obésité est définie médicalement par une accumulation excessive et anormale de masse grasse ayant des conséquences somatiques, psychologiques et sociales, retentissant sur la qualité de vie. Elle résulte d'un déséquilibre énergétique dans lequel les entrées sont supérieures aux sorties, conduisant ainsi à une accumulation de graisse dans l'organisme. Mais, l'obésité est un trouble hétérogène impliquant de multiples facteurs et résultant d'interactions entre statut génétique, comportement et environnement (Karouche, 2014).

Chez les sujets obèses, un état de stress oxydant a été mis en évidence. Au cours de l'obésité, le SO induit par H_2O_2 peut stimuler la différenciation des pré-adipocytes en adipocytes en régulant positivement des activateurs transcriptionnels tels que le C/EBP- β et le PPAR- γ , intervenant dans le programme de différenciation adipocytaire (Lee et al., 2009).

Cette prolifération et différenciation est due au développement du tissu adipeux stimulé par l'accumulation excessive de lipides. En outre, des études ont également montré que les ERO ont un rôle dans le contrôle du poids par le système nerveux central (Alfadda et Sallam, 2012). Plus spécifiquement, elles pourraient agir au niveau de l'hypothalamus, zone où sont localisés de nombreux neurones permettant le contrôle de la satiété ou de la faim. Ces données permettraient de mieux comprendre la difficulté de perte de poids avec l'âge ainsi que la longévité induite par la restriction calorique. Parallèlement, l'obésité peut induire un état de SO au niveau adipocytaire (Wellen et Thompson, 2010).

CHAPITRE II. PESTICIDES

II. Pesticides

1. Définition et utilisation

De tout temps, l'homme s'est trouvé dans l'obligation de défendre ses cultures contre les parasites, les ravageurs et les plantes concurrentes. La lutte physique a d'abord été utilisée à travers le désherbage ou le ramassage des insectes. Quelques produits étaient utilisés, mais c'est vraiment à partir de la seconde guerre mondiale qu'avec l'essor considérable de la chimie organique, la lutte chimique a pris l'importance qu'on lui connaît aujourd'hui par l'introduction des pesticides (Vigouroux-Villard, 2006 ; Charbonnel, 2003).

Le mot « **pesticide** » provient de l'association du mot anglais « *pest* », lequel provient du latin « *pestis* » (fléau, calamité), signifie animal, insecte, plante ou nuisible (virus, bactérie, champignon, ver, mollusque, insecte, rongeur, oiseau et mammifère) susceptibles d'être nuisible à l'homme et à son environnement et du suffixe « *-cide* » (latin *-cida*, du verbe latin *caedo, caedere*) qui signifie tuer (Cotonat, 1996 ; Couteux et Salaün, 2009).

C'est une appellation générique désignant toutes les substances naturelles ou synthétiques utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes (microorganismes, animaux ou végétaux) jugés indésirables ou nuisibles pour l'agriculture, mais également pour d'autres applications (hygiène et santé publiques, soins vétérinaires, traitements de surfaces non-agricoles...) (Institut Pasteur, 1999 ; Aubertot et al., 2005 ; ORP, 2008).

Les pesticides englobent les substances utilisées comme régulateurs de la croissance végétale, défoliants, excitateurs, agents d'ébourgeonnement ou inhibiteurs de germination, ainsi que les substances appliquées aux cultures avant ou après la récolte pour protéger le produit contre toute détérioration pendant l'entreposage et le transport (Gaouar, 2017).

Couramment appelés produits phytosanitaires, les pesticides sont donc un des moyens pour l'agriculteur de lutter contre les ravageurs et ennemis de ses cultures. Il est cependant à noter qu'une protection n'est jamais totale, elle vise plutôt à limiter les pertes (Testud et al, 2007).

2. Composition et formulation

Les produits phytosanitaires sont des formulations contenant une ou plusieurs substances chimiques minérales ou organiques, synthétiques ou naturelles. Les formulations sont composées d'une ou de plusieurs substances actives et d'un ou de plusieurs adjuvants. La

substance active exerce une action générale ou spécifique sur les organismes nuisibles ou sur les végétaux ; c'est elle qui confère au produit l'effet désiré. L'adjuvant quant à lui est une substance dépourvue d'activité biologique jugée suffisante dans la pratique mais capable de modifier les propriétés physiques, chimiques ou biologiques des produits phytosanitaires. Il renforce l'efficacité, la sécurité du produit et sa facilité d'utilisation (Ciss et al, 2014).

3. Classification

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe (El-mrabet, 2008). D'une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre (1^{er} système de classification) mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose (2^{ème} système de classification) :

Selon le premier système de classification, il existe principalement trois grandes familles de produits phytosanitaires (Regnault-Roger, 2005) :

- **Les herbicides** : destinés à la lutter contre certains végétaux (mauvaises herbes) entrant en concurrence avec les plantes cultivées, ils constituent aujourd'hui la famille la plus importante en nombre de molécules et la plus utilisée (Ferfar, 2017). Ce sont des produits aux structures chimiques complexes. Chaque herbicide possède des caractéristiques propres selon sa composition, son mode d'absorption, son effet sur la mauvaise herbe et son élimination progressive. Cependant, les herbicides d'une même famille présentent des structures chimiques semblables et de nombreuses caractéristiques communes (Edelahi, 2004).

- **Les insecticides** : destinés à lutter contre les insectes, ils interviennent en tuant ou en empêchant leur reproduction. Ce sont souvent les pesticides les plus toxiques et c'est dans cette famille que l'on trouve la pluparts des polluants organiques persistants (Ferfar, 2017).

- **Les fongicides** : ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent de graves dommages aux végétaux cultivés, servant à combattre la prolifération des champignons pathogènes (Ferfar, 2017).

À celles-ci s'ajoutent des produits divers tels que les acaricides (contre les acariens), les nématicides (contre les nématodes), les rodenticides (contre les rongeurs), les taupicides (contre les taupes), les molluscicides (contre les limaces et les escargots), les corvicides et les corvifuges (contre les corbeaux et les oiseaux ravageurs de culture).

Selon le deuxième système de classification, les principaux groupes chimiques comprennent les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthrinoïdes, les triazines et les urées substituées. Ce deuxième système de classification ne permet pas de définir de manière systématique un composé. Certains pesticides peuvent être composés de plusieurs fonctionnalités chimiques. Ils peuvent alors être classés dans une ou plusieurs familles chimiques (Calvet et al., 2005).

Il existe actuellement plus de 80 familles ou classes chimiques dont les structures caractéristiques de certaines de ces familles sont présentées en figure 25 (Calvet, 2005) :

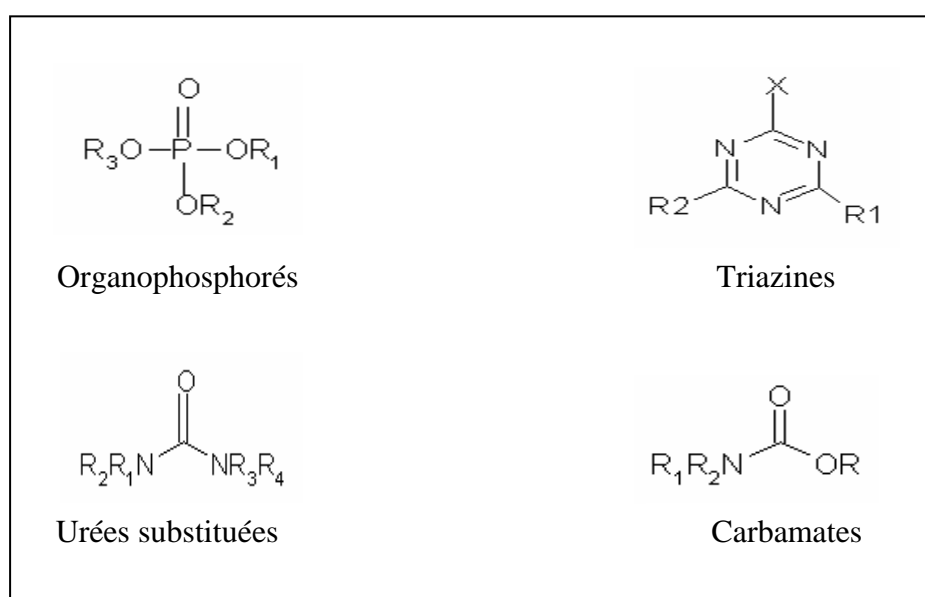


Figure 25 : Structures chimiques des principales familles des pesticides (Cavlet, 2005)

4. Mode d'action des pesticides

- **Les herbicides :** le mode d'action est la manière générale dont un herbicide affecte une plante au niveau tissulaire ou cellulaire. Les herbicides ayant le même mode d'action auront le même schéma de translocation (mouvement) et produiront des symptômes de blessure similaires (Kumar Das et Mondal, 2014).

Les herbicides peuvent agir dans le sol au niveau des racines ou directement sur feuilles, ils possèdent différents sites d'action sur la plante (Batsch., 2011) :

- ✓ perturbateurs de la photosynthèse ;
- ✓ perturbateurs de la croissance : inhibition de la division cellulaire, perturbation de l'élongation, inhibiteurs de la synthèse de la cellulose ;
- ✓ inhibiteurs de la synthèse des lipides, des acides aminés et des pigments.

• **Les insecticides** : le mécanisme d'action des insecticides se fait soit directement sur les parasites cibles par digestion ou inhalation, soit indirectement dans ce cas le pesticide pénètre et diffuse dans la plante (effet systémique) (Manirakiza et al., 2003).

Les insecticides se caractérisent par deux modes d'action (Saidi –Adimi, 2018):

✓ **Action sur le système nerveux**

La neurotoxicité de ces insecticides se manifeste par le blocage de la propagation de l'influx nerveux au niveau des neurones et des synapses, tant au niveau du système nerveux central que périphérique. Les symptômes d'intoxication par les substances neurotoxiques sont les suivants: période de latence, hyperexcitation, manque de coordination, tremblements, convulsions, prostration et mort;

✓ **Action sur le système respiratoire**

Certaines familles des insecticides sont des inhibiteurs du site I de la chaîne mitochondriale (coenzyme Q oxydo-réductase) tandis que d'autres inhibent le complexe cytochrome bc1 ou la phosphorylation oxydative.

• **Les fongicides** : peuvent agir différemment sur les plantes soit en inhibant le système respiratoire ou la division cellulaire, soit en perturbant la biosynthèse des stérols, des acides aminés, des protéines ou le métabolisme des glucides (Agnandji, 2018). Leur mode d'action, peut être observé sur un seul site et on parle ici de fongicide unisite, ou sur plusieurs cibles et on parle dans ce cas de fongicide multi-sites (Batsch, 2011).

5. Impacts des pesticides sur l'environnement et la santé humaine

Le plus souvent, les pesticides utilisés laissent des résidus dans les aliments et l'environnement (Hildebrandt et al., 2009). Des études portant sur les molécules des pesticides, ont montré que celles-ci ont des impacts négatifs sur l'environnement et la santé des personnes qui en sont exposées (Giroux, 2000 ; Gingras, 2007). Plusieurs études (Brown et al., 2006 ; Salameh et al., 2006) rapportent des liens étroits entre la survenue de certaines maladies chez les agriculteurs et l'exposition professionnelle aux pesticides.

5.1. Effets sur l'environnement

Le plus souvent, les pesticides appliqués sur les cultures sont à l'état liquide. Lors de leurs applications, les matières actives qu'ils contiennent sont soit incorporées au sol, soit entraînées par le vent en dehors de la zone traitée (Akogbéto et al., 2006). Dès qu'ils ont atteint le sol et les cultures, sous l'influence de divers phénomènes, les matières actives se dispersent dans l'atmosphère et les horizons du sol. Une fois dans ces compartiments de l'environnement, elles subissent diverses transformations (fig.26) (Agnandji, 2018).

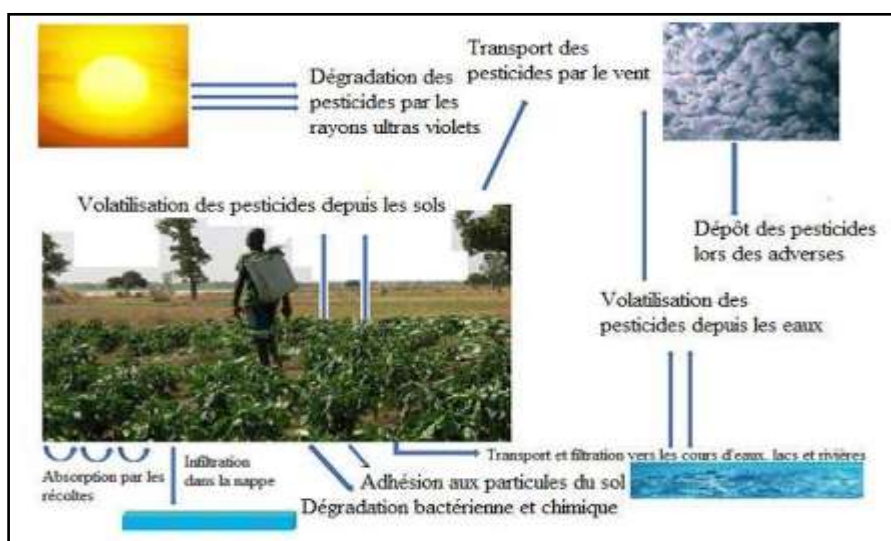


Figure 26 : Cycle des pesticides (Agnandji, 2018)

Elles présentent, par leur migration entre les compartiments de l'environnement, des dangers plus ou moins importants pour l'homme et les écosystèmes, avec un impact à court ou à long terme. Les phénomènes de transfert qui affectent les produits phytosanitaires sont complexes et les réactions possibles des écosystèmes à leur présence sont largement méconnues (Weber, 1991).

Les pesticides sont donc capables d'engendrer un effet néfaste sur l'environnement, avec un certain nombre de risques à l'égard de la composition chimique de l'air, de l'eau et du sol qui se traduisent par des pollutions dont les conséquences toxicologiques et écotoxicologiques peuvent être préjudiciables à la qualité de l'environnement (Mamy et al., 2008).

Ainsi, certains pesticides peuvent être dégradés par la lumière ou les micro-organismes, une fois dispersés dans l'environnement, tandis que d'autres persistent et peuvent s'accumuler

ou se transformer en d'autres contaminants parfois plus à risque que le produit d'origine (Comité permanent de l'environnement et du développement durable, 2000).

Du fait du phénomène de bioaccumulation, les pesticides sont également retrouvés dans de très nombreux organismes, dont ceux qui sont consommés, comme les fruits, les légumes, les céréales et les produits d'origine animale, sous leur forme originale ou dégradée (ORP, 2010). Les apports de pesticides peuvent donc présenter des risques de toxicité pour des organismes vivants qui n'étaient pas visés par le traitement phytosanitaire (Maroni et al., 2000).

Généralement, les risques attribuables aux pesticides sont cependant difficiles à circonscrire vu le nombre élevé d'organismes vivants, leur sensibilité différente aux pesticides, la grande diversité des milieux et des pesticides employés, ainsi que la difficulté de recenser les effets engendrés. Certains cas liés aux effets de ces produits sur les communautés benthiques (Richard et Giroux, 2004), les amphibiens (Aubertot et al., 2005, Bérubé et al., 2005), les poissons (Gendron et Branchaud, 1997, Dorval et al., 2005), les oiseaux (Mitre et al., 2011) et les mammifères (Chaturvedi et al., 2013) ont cependant été étudiés.

5.2. Effets sur la santé

- **Exposition**

L'exposition de l'homme aux pesticides se caractérise par une multiplicité des voies d'exposition (fig.27). Ces substances peuvent pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion et par inhalation (Unsworth et al., 1999).

Les chiffres de l'OMS indiquent que la contamination des aliments par les pesticides est la voie d'exposition de loin la plus importante. Les évaluations de risque attribuent (90 %) de l'exposition à l'alimentation contre (10 %) à l'eau et une part moindre à l'air (17%) (Gérin et al., 2003).

Les effets néfastes des pesticides peuvent se manifester immédiatement ou à court terme après l'exposition ou à la suite d'absorption répétée, sur une longue période, de faibles doses de pesticides. Dans le premier cas, on parlera d'intoxication aiguë alors dans le second, on fait une référence à une intoxication chronique (Onil, 2005).

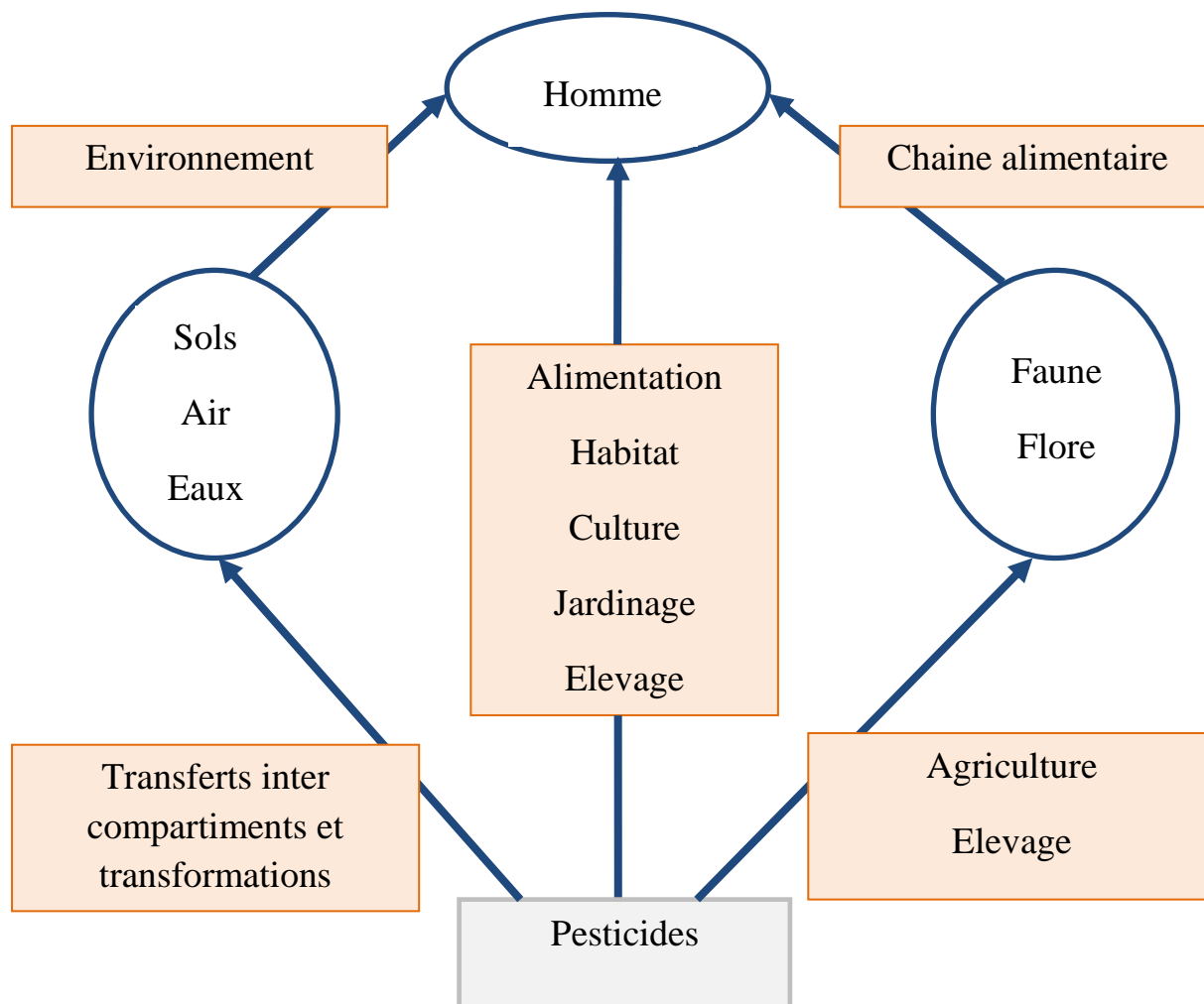


Figure 27 : Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides

(Merhi, 2008)

- **Toxicité aiguë**

La toxicité aiguë est induite par une exposition ponctuelle à une dose importante de pesticide susceptible d'entraîner des effets immédiats ou rapprochés tels que la manipulation des produits non dilués (ORSB, 2001). La toxicité aiguë des substances chimiques est évaluée à l'aide de tests réglementaires réalisés sur des animaux de laboratoire. La notion retenue est celle de la dose létale 50 (DL₅₀) correspondant à la quantité de matière active qui, administrée en une seule fois, par ingestion, inhalation ou voie cutanée, entraîne la mort de 50% des animaux traités (Pflieger, 2009).

La toxicité aiguë des pesticides résulte d'une mauvaise utilisation, d'un usage accidentel des pesticides (accidents domestiques) ou d'une intoxication volontaire souvent gravissime. Les pesticides organophosphorés et les carbamates sont à l'origine des cas

d'empoisonnements par les pesticides les plus fréquents, ainsi l'exposition se fait essentiellement par voie cutanéomuqueuse et respiratoire (inhalation), la voie d'exposition orale concernerait davantage la population générale par ingestion accidentelle ou intentionnelle de pesticides. (Saidi –Adimi, 2018).

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) il y a chaque année dans le monde un million d'empoisonnements graves par les pesticides, à l'origine d'environ 220 000 décès par an (Cherin et al., 2012).

Les principales connaissances sur les effets aigus des pesticides chez l'homme sont issues d'observations rapportées en milieu professionnel et des cas d'intoxications documentés par les centres antipoison (ORSB, 2001). Le délai d'apparition varie en fonction de la toxicité intrinsèque du produit utilisé, de la dose reçue, de la voie d'exposition et de la sensibilité de la personne. Les symptômes peuvent aller de la simple irritation à la mort (Prouvost et Declercq, 1998).

- **Toxicité chronique**

Ce type de toxicité se développe sur une période plus longue et peut persister longtemps après le fait. Elle survient suite à l'absorption répétée pendant plusieurs jours, plusieurs mois et même plusieurs années, de faibles doses de pesticides qui peuvent s'accumuler dans l'organisme. La majorité des problèmes de santé liés aux pesticides repose sur l'exposition prolongée et l'intoxication chronique à ces produits phytosanitaires, sachant que leurs effets tardifs sont d'autant plus dangereux qu'ils sont difficiles à cerner (Payan-renteria et al., 2012).

Elle peut être aussi le résultat d'intoxications aiguës répétées, cette toxicité est évaluée de par expérimentation sur des animaux de laboratoire, l'ensemble des tests réalisés permettent de fixer la dose journalière admissible (DJA) (Ould kankou, 2004). Les maladies potentiellement liées aux expositions à long terme aux pesticides sont essentiellement étudiées dans les populations professionnellement exposées (ORSB, 2001).

Les pesticides possèdent des effets génotoxiques, en dehors des effets cancérogènes, trois types d'effets font l'objet d'une attention particulière : les troubles neurologiques causant des troubles psychologiques, en particulier des syndromes dépressifs, les troubles de la reproduction et du développement et les perturbations endocriniennes (Kersante, 2003 ; Kaur et al., 2011). Des études ont démontré que la majorité des hommes exposés aux pesticides ont une concentration spermatique bien au-dessous de la limite considérée normale pour les hommes fertiles (Oliva et al., 2001 ; Velez de la calle et al., 2001).

6. Les pesticides et le stress oxydatif

6.1. Les principaux mécanismes de toxicité des pesticides

Plusieurs études expérimentales *in vitro* ont permis de montrer que certains pesticides (l'Endosulfan, la Roténone, et des organophosphorés/Chlorpyrifos), peuvent induire un stress oxydant entraînant des perturbations de processus de régulation de la survie et de la prolifération cellulaire comme par exemple certaines voies de signalisation cellulaire (MAPkinase, FAS/TNF) et certaines caspases (Ledirac et al., 2005; Lee et al., 2008; Saulsbury et al., 2008). Il a été montré que des effets neurotoxiques (Drechsel et Patel, 2008; Rio et Velez-Pardo, 2008), immunotoxiques (Li et Kawada, 2006) ainsi que des effets cancérogènes (Antherieu et al., 2007) et génotoxiques (Bagchi et al., 1995; Calviello et al., 2006) étaient liés à une augmentation de la libération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) en présence des pesticides.

Une augmentation des aberrations chromosomiques *in vitro* chez des lymphocytes humains a été observée en présence de certains pesticides tels que le Carbofuran, seul (Naravaneni et Jamil, 2007) ou en mélange avec l'Endosulfan et le Monochrotophos (Das et al., 2007). De plus, sur des cellules mammifères, l'Alachlore, le Chlorpyrifos, le Mancozèbe et le Monochrotophos ont montré une augmentation des aberrations chromosomiques (Bagchi et al., 1995 ; Calviello et al., 2006) et des bases oxydées de type 8-OH-dG (Calviello et al., 2006) ainsi qu'une présence de micronoyaux (Peitl et al., 1996).

Par ailleurs, certains pesticides comme les carbamates et les organophosphorés provoquent une inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase au niveau du système nerveux périphérique ou central entraînant une hyperexcitabilité des cellules neuronales et des effets potentiellement neurotoxiques (Moser, 2007). Une inhibition de la neurotransmission provoquée par la diminution de l'activité de l'acétylcholinestérase cérébrale a également été liée à une suppression de la sécrétion d'hormones stimulant les gonades (e.g, hormone de stimulation folliculaire (FSH) et hormone lutéinisante (LH) pouvant entraîner des effets sur la fertilité (Lyons, 2000).

De plus, certains pesticides comme le Lindane, l'Endosulfan, la Dieldrine et l'Eldrine peuvent entraîner une inhibition des récepteurs GABAergiques et une activation des récepteurs glutaminergiques dans les cellules neuronales de mammifères, induisant un syndrome d'hyperexcitabilité qui peut évoluer jusqu'à l'apparition de convulsions (Sunol et

al., 2008). Cependant, la plupart de ces études utilisent des doses relativement fortes et les effets à faibles doses sont moins bien décrits.

Il semble donc que les études toxicologiques concernant les pesticides, apportent des arguments en faveur d'une plausibilité de la relation de causalité entre l'exposition aux pesticides et l'apparition d'un stress oxydant.

CHAPITRE III.
MÉTHODES DE DOSAGE DES
BIOMARQUEURS ET DISCUSSION
D'ÉTUDES

I. Méthodes de dosage des biomarqueurs du stress oxydatif

1. Le choix des biomarqueurs du stress oxydant

Les scientifiques se sont intéressés, dès le début, des recherches sur le stress oxydant, à la découverte d'un marqueur biologique qui identifierait à coup sûr la présence d'un stress oxydant dans diverses situations expérimentales ou cliniques.

Toutes les méthodes proposées, qu'elles que soient, présentent toujours leurs propres spécificités et limites, montrant qu'il serait utopique de croire en l'existence d'un marqueur idéal et unique de stress oxydant (Favier, 1997 ; Pincemail et al., 1999). Donc, les critères d'un bon biomarqueur peuvent être définis comme suit (Carine Badouard, 2006) :

- ✓ Un produit majeur de modification oxydative qui peut être directement impliqué dans le développement de la maladie ;
- ✓ Un produit stable non susceptible d'induction artéfactuelle ou de perte durant la conservation des échantillons ;
- ✓ Représentatif de la balance entre la génération des dommages oxydatifs et leur élimination ;
- ✓ Déterminé par une analyse spécifique, sensible, reproductible et robuste ;
- ✓ Libre des facteurs confondants venant d'une prise alimentaire ;
- ✓ Accessible dans un tissu cible comme les lymphocytes et cellules mononuclées ;
- ✓ Mesurable dans les limites de détection d'une procédure analytique fiable.

Ainsi,

- ✓ Les dosages des biomarqueurs en fonction du matériel dont nous disposons au sein de notre établissement et les réactifs disponibles.

Selon ces critères, nous allons nous intéresser dans ce chapitre aux méthodes employées pour déterminer les principaux paramètres du stress oxydatif:

2. Méthodes de dosage des principaux biomarqueurs du stress oxydatif

2.1. Dosage du glutathion réduit (GSH)

La méthode de Wekbeker et Cory (1988) a été appliquée pour le dosage du glutathion dans les tissus. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela, une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

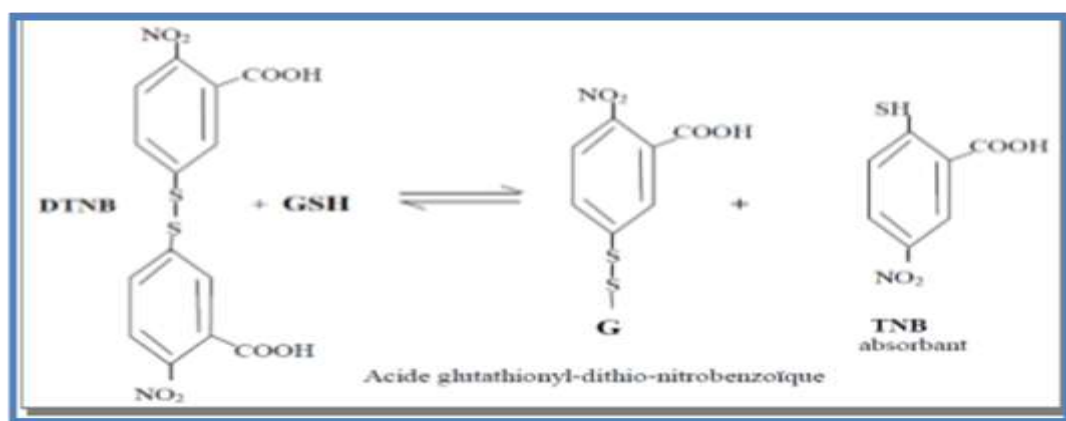


Figure 28 : Principe de dosage du glutathion

Pour l'homogénat, une préparation obtenue après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), la suspension est centrifugée à 9000 tours par minute pendant 15 minutes à 4 °C. Le surnageant est alors récupéré pour le dosage.

La procédure expérimentale du dosage du glutathion est la suivante:

- ✓ Prélever 0.8 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 0.2 ml de la solution d'acide sulfosalicylique (0.25%).

Après agitation durant 15 mn dans un bain de glace:

- ✓ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- ✓ Prélever 0.5 ml du surnageant. Ajouter 1 ml du tampon Tris, pH 9.6. Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01 M.

Après 5 min d'incubation, la lecture de l'absorbance s'effectue à $\lambda = 412$. La concentration en glutathion (GSH) est évaluée selon la formule :

$$\text{GSH (nmol GSH/ mg protéine)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg protéine}}$$

- DO : Densité optique ;
- 1 : 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.

La concentration de la forme réduite du glutathion (GSH) est mesurée par rapport à 1mg de protéines. Ce dosage doit donc être accompagné par le dosage des protéines.

2.1.1. Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de Bradford (1976), qui utilise le Bleu Brillant de Coomassie et l'albumine de bœuf comme standard.

Le bleu de Coomassie réagit avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines dans l'échantillon.

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

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

La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (BSA à 1 mg/ml), réalisée dans les mêmes conditions (fig.24) :

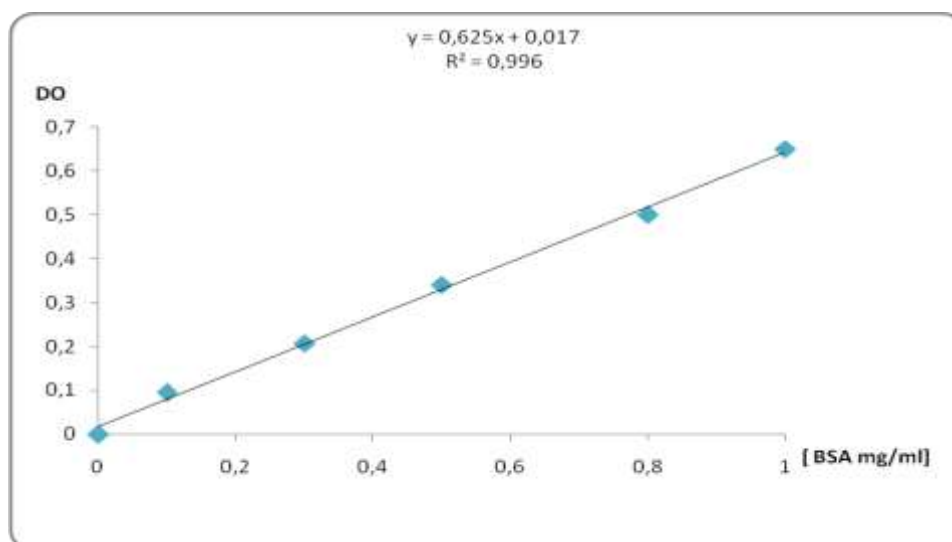


Figure 29 : la gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1 mg/ml) pour le dosage des protéines.

2.2. Dosage de malondialdéhyde (MDA)

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

La peroxydation des lipides est estimée par mesure du malondialdéhyde (MDA) produit, capable de réagir avec l'acide thiobarbiturique (TBA). La réaction de dosage du malondialdéhyde, décrite par Esterbauer et al en 1992, repose sur la formation en milieu acide et à chaud entre le malondialdéhyde et deux molécules d'acide thiobarbiturique, d'un pigment absorbant à 530 nm.

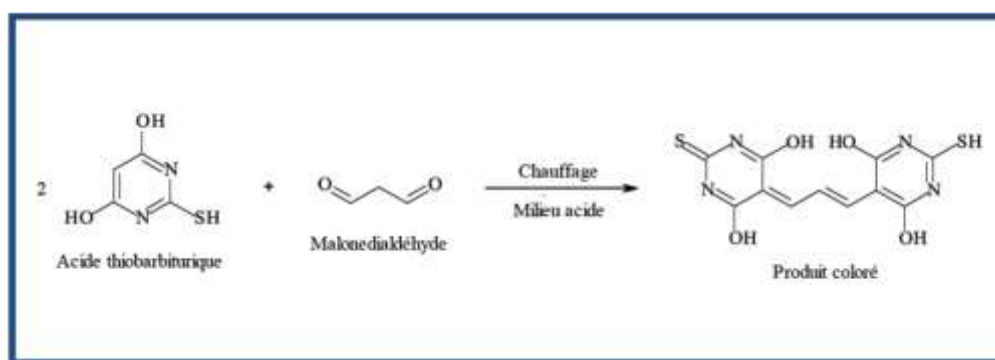


Figure 30 : Principe de dosage du malondialdéhyde

La procédure s'est déroulée de la façon suivante :

- ✓ Prélever 375 µl de l'homogénat (surnageant) ;
- ✓ Ajouter 150 µl de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4) ;

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

La lecture se fait par spectrophotométrie, l'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés.

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

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

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

2.3. Dosage de l'activité de la GPx

Le dosage de l'activité de la GPx tissulaire a été réalisé selon la méthode décrite par Flohe et Gunzler (1984), fondée sur l'oxydation du glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) par la GPx parallèlement à la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau :



Ce dosage a été fait selon les étapes suivantes :

- ✓ Prélever 0.2 ml de l'homogénat (surnageant);
- ✓ Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM);
- ✓ Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4);
- ✓ Incuber au bain Marie à 25 °C, pendant 5 min;

- ✓ Ajouter 0.2 ml de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes;
- ✓ Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.

Après incubation pendant 30 minutes dans la glace:

- ✓ Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes;
- ✓ Prélever 0.48 ml du surnageant. Ajouter 2.2 ml de la solution tampon TBS;
- ✓ Ajouter 0.32 ml de DTNB (1.0 mM), puis mélanger l'ensemble.

Après 5 minutes, l'activité de la GPx a ensuite été déterminée par spectrophotométrie à 412 nm selon la formule :

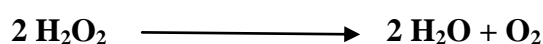
$$\text{GPx (nmol GSH/mg)} = \frac{\text{DO}_{\text{échantillon}} \times \text{DO}_{\text{étalon}} \times 0.04}{\text{DO}_{\text{étalon}}}$$

- DO_{échantillon} : Densité optique de l'échantillon ;
- DO_{étalon} : Densité optique de l'étalon ;
- 0.04 : Concentration de substrat (GSH).

2.4. Dosage de la catalase (CAT)

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. La réaction bilan est :



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

2.4.1. Mode opératoire

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

On note que :

- ✓ Le zéro de l'appareil est réalisé par le tampon phosphate ;
- ✓ La quantité du surnageant (S9) doit être déterminée en fonction de la quantité de protéines qui doit être comprise entre 1 et 1,5 mg/mL, soit une quantité de 10 à 20 µL de S9 dilué ;
- ✓ L'activité décroît rapidement, il est important de mettre toujours le même temps de pipetage et le moment où on place la cuve au spectrophotomètre ;
- ✓ La lecture de l'absorption se fait après 15 secondes de délai et durant 60 secondes de mesure.

2.4.2. Calcul de l'activité de CAT :

$$\text{L'activité de la CAT (uM H}_2\text{O}_2\text{/min/mg protéines (50 mg/dl) = } \frac{\Delta\text{DO} \times 10}{\varepsilon \times L \times X \times \text{Fd}}$$

- ΔDO : Variation de la densité optique par minutes ;
- ε : Coefficient d'extinction du H₂O₂ (0,04 mM-1.Cm-1) ;
- L : Largeur de la cuve ou longueur du trajet optique (1 cm) ;
- X : Quantité des protéines en mg/ml ;
- Fd : Facteur de dilution du H₂O₂ dans le tampon (0,02).

II. Discussion

Au cours de ces dernières années, les connaissances sur la contamination des milieux et sur l'exposition de la population par les pesticides ont été approfondies. Ainsi, la mise en œuvre de travaux relatifs aux effets chroniques des pesticides sur la santé humaine a été poursuivie.

Dans le cadre de ce travail, nous allons essayer de donner les points de quelques études qui nous semblent essentiels à la bonne compréhension du stress oxydatif, qui est l'un des mécanismes aggravant la toxicité des pesticides. Nous allons ainsi présenter les résultats qui se déduisent de ces études concernant l'intérêt des antioxydants dans la lutte contre ce phénomène et les analyser assez brièvement :

Plusieurs études ont utilisé des modèles animaux afin de déterminer les effets toxiques des agents environnementaux pro-oxydants comme les pesticides et d'étudier les composés naturels à pouvoir antioxydant (Mansour et al., 2017 ; Abdelkhalek et al., 2021 ; Al-Attar et al., 2017 ; Dharmender et Gurinder, 2017 ; Kadeche et al., 2017 ;

L'étude de Mansour et al en 2017, a pour objet d'étudier chez un modèle animal, le rat albinos, le pouvoir pro-oxydant de deux substances actives de produit phytosanitaire (pesticide), qui présentent un effet insecticide, le méthomyl (MET) et l'abamectine (ABM). Au travers de cette étude, les auteurs ont montré que l'exposition répétée à de faibles doses du méthomyl et de l'abamectine, administrés par voie orale, a provoqué au niveau du plasma, une augmentation de la peroxydation lipidique (augmentation du taux de MDA), indiquant que les effets délétères du MET et d'ABM chez les rats sont associés à un stress oxydant.

Ce résultat a permis aux auteurs de suggérer que ces deux insecticides agissent au niveau du plasma via des phénomènes oxydatifs liés à la production d'espèces réactives de l'oxygène, conduisant à la libération de différents aldéhydes toxiques comme le malondialdéhyde (MDA), qui représente un bio marqueur de la peroxydation lipidique.

Ainsi, le pouvoir pro-oxydant du MET et d'ABM, a été également confirmé par des modifications dans l'activité des enzymes antioxydantes (GPx, SOD, GST et GR), qui sont souvent considérées comme les marqueurs les plus significatifs du stress oxydant cellulaire, chez les rats contaminés par le méthomyl et l'abamectine.

Toutefois, ces mêmes auteurs ont montré le pouvoir protecteur du zinc (molécule antioxydante) contre la toxicité induite par le MET et l'ABM. Grâce à ses propriétés antioxydantes, le traitement des rats par le zinc a empêché l'augmentation des niveaux de MDA et a amélioré significativement le taux des enzymes antioxydantes.

D'autres travaux, ont été aussi réalisés pour évaluer l'effet pro-oxydant du méthomyl. (Abdelkhalek et al., 2021) ont par exemple montré que après une exposition au méthomyl (ME) par injection intrapéritonéale, cet insecticide est capable d'induire des effets délétères chez des rats albinos. Le méthomyl induit, en effet, un stress oxydatif dans le tissu cardiaque, se traduisant par une diminution de l'activité de la SOD et la GST, une déplétion de la teneur tissulaire en GSH réduit et une augmentation du taux de MDA.

Afin de prévenir l'effet oxydatif du méthomyl, Abdelkhalek et al ont abouti à une amélioration de la fonction cardiaque et un rétablissement des perturbations pro-oxydantes induites par la ME grâce à un traitement des rats avec le thé vert, une plante vertueuse pour la santé connue pour ses propriétés antioxydantes.

Une autre étude (Al-Attar et al., 2017) du même type a montré qu'un traitement des rats par le diazinon (un insecticide organophosphoré utilisé pour lutter contre les insectes nuisibles) provoque un dommage tissulaire au niveau du foie et des reins à cause du stress oxydatif. Le diazinon est administré aux rats par voie orale.

Les travaux d'Al-Attar et al ainsi que les travaux d'autres équipes de recherche, indiquent que le diazinon (DZN) est un élément toxique avec un effet pro-oxydant. Il est donc capable de déclencher dans l'organisme un stress oxydatif. En effet, à la suite d'un traitement au DZN, une augmentation du taux de MDA, une déplétion de la teneur en GSH réduit et une diminution de la concentration plasmatique en SOD ont été observés chez les rats après 6 semaine de traitement.

Dans cette même étude, Al-Attar et al montrent également une présence d'effet bénéfique des huiles alimentaires d'origine végétale (l'huile d'olive, sésame, nigelle et maïs) sur la toxicité de diazinon. Ces huiles végétales, sont connues, depuis longtemps, par leur effet antioxydant.

Des perturbations oxydatives (inhibition enzymatique et augmentation de la peroxydation lipidique), ont été observées chez des rats traités avec d'autres substances actives de produits phytosanitaires comme le triazophos (Dharmender et Gurinder, 2017). Au

travers de cette étude, les auteurs ont montré que l'exposition orale des rats au triazophos (TZ), a provoqué au niveau des organes (foie et reins), une augmentation de la peroxydation lipidique (augmentation du taux de MDA) et une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes (catalase, superoxyde dismutase, glutathion peroxydase et glutathion-S-transférase).

Ces derniers résultats ont été histologiquement confirmés. Le traitement des rats avec le triazophos (TZ) a montré des changements dégénératifs du foie avec des changements dans les tubules rénaux caractéristiques de la toxicité du triazophos. Par ailleurs, l'extrait aqueux de brocoli (BE) de part ces propriétés antioxydantes aurait contribué à une amélioration significative du taux de MDA et d'enzymes antioxydantes dans le foie et les reins des rats traités par le TZ.

Selon l'étude de Dharmender et Gurinder et d'autres études, le brocoli est préconisé dans le traitement préventif du stress oxydant en raison de la présence d'antioxydants qui agissent contre le développement de certains radicaux libres.

L'étude de Kadeche et al en 2017 confirme également l'effet pro-oxydant des pesticides dans le foie, les reins et d'autres organes. En fait, une augmentation de la peroxydation lipidique, une diminution de l'activité de la GPx et une déplétion de la teneur tissulaire en GSH réduit, ont été observées dans les organes (foie, reins, cerveau et testicules), après 21 jours de traitement des rats par la métribuzine (un herbicide utilisé en agriculture pour la lutte contre les mauvaises herbes à feuilles larges et les graminées).

En traitement préventif, la quercétine a par ailleurs, empêché chez les rats traités par la métribuzine (Mtz) la chute de GSH et l'augmentation des niveaux de MDA. De même, le traitement a amélioré significativement le taux de GPx dans le foie, le rein, le cerveau et le testicule. Cet effet serait en partie dû à ses propriétés antioxydantes. Comme tous les autres polyphénols, la quercétine a des propriétés antioxydantes très puissantes, permettant de lutter contre la formation de radicaux libres en excès.

De même, l'étude de Jalili et al en 2019 confirme l'effet pro-oxydant des pesticides dans les reins des rats traités par le malathion (insecticide organophosphoré utilisé pour lutter contre divers insectes et acariens). Une augmentation de la peroxydation lipidique, qui est souvent considérée comme les marqueurs les plus significatifs du stress oxydant cellulaire, a été constatée dans le tissu rénal des rats contaminés par le malathion.

Afin de prévenir l'effet toxique du malathion, Jalili et al ont abouti à une amélioration de la fonction rénale et à une réduction de l'atteinte rénale par inhibition de la peroxydation lipidique catalysée par le malathion grâce à un traitement des rats avec le Resvératrol, un composé polyphénolique de la classe des flavonoïdes présent dans certains fruits comme les raisins et connu pour ses propriétés antioxydantes.

Enfin, ces données expérimentales montrent dans leur ensemble que les pesticides sont capables d'induire un stress oxydant et d'entraîner par conséquent des modifications oxydatives délétères pour les cellules. Ainsi, ces études montrent également le potentiel antioxydant des produits naturels pour une action protectrice contre les effets délétères du stress oxydant.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion générale et perspectives

L'utilisation exponentielle de substances polluantes par l'homme, leur présence dans l'environnement et leurs effets sur les écosystèmes et les ressources et, à terme, sur la santé humaine, constituent l'un des problèmes les plus préoccupants du XXI^{ème} siècle. Les pesticides sont un exemple de ces substances et donnent lieu à de nombreuses études. Ainsi, ces études apportent des arguments en faveur d'une plausibilité de la relation de causalité entre l'exposition aux pesticides et l'apparition d'un stress oxydant. Ce processus biologique est aujourd'hui reconnu comme principal précurseur de nombreuses pathologies et correspond en fait, à une agression des cellules par des radicaux libres, aussi appelés « espèces réactives de l'oxygène » (ERO).

Le stress oxydant, pourrait occasionner des états d'épuisement susceptibles de compromettre la santé des individus, particulièrement lorsque les défenses antioxydantes de l'organisme sont insuffisantes. Une prise de conscience de l'importance de l'alimentation pour la santé est donc apparue. Cet effet protecteur est habituellement attribué au pouvoir antioxydant d'aliments, caractérisés par la présence dans leur composition de substances antioxydantes

À la suite d'une étude bibliographique sur le phénomène du stress oxydant, notre recherche apporte un éclairage sur les études faites précédemment, montrant qu'une exposition à des agents pro oxydants comme les pesticides est à l'origine de stress oxydant. Ainsi, les résultats de ces études ont permis d'affirmer que l'utilisation de suppléments d'antioxydants, pourrait s'avérer bénéfiques pour la santé.

Cette recherche documentaire que nous avons menée nous a permis d'identifier plusieurs perspectives :

1) intensifier les recherches sur les sources de stress oxydant qui sont l'un des éléments essentiels pour répondre à des questions relatives à la compréhension de ces mécanismes délétères ;

2) étudier les effets toxiques des divers agents prooxydants (e.g pesticides) chez le rat ou d'autres espèces de mammifères, par le dosage de marqueur enzymatique (GPx, SOD, CAT) ou non enzymatique (GSH, MDA) ;

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

3) déterminer les effets d'une exposition (court et long termes) à des agents pro-oxydants, afin de mettre en évidence des relations dose-effet et les éventuels risques potentiels pour la santé de l'homme et de l'animal ;

4) confirmer les actions anti-oxydantes des micronutriments comme les polyphénols et les possibilités de renforcer l'effet protecteur de l'organisme par la supplémentation de ces composés naturels.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abadeh S., Killacky J., Benboubetra M., Harrison R.(1992).Purification and partial characterization of xanthine oxidase from human milk.Biochim.Biophys.Acta. **17**: 25-32.

Abdel-Ghany R., Mohammed E., Anis S., Barakat W.(2016).Impact of Exposure to Fenitrothion on Vital Organs in Rats.Journal of Toxicology.18 p.

Abdelkhalek Manar R., El-Khawaga Omali Y., Elbnhawy Rehab A., El-Gayar Hussam A. (2021). Green Tea Attenuates methomyl-Induced Cardiac Toxicity Through ModulatingOxidative Stress and Nuclear Factor kappa B Up- Regulation in Mice.Egyptian Journal of Basicand Applied Sciences. **8**(1):136-145.

Abele D., Heise K., Pörtner H.O., Puntarelo S. (2002).Temperature-dependence of mitochondrial function and production of reactive oxygen species in the intertidal mud clam *Mya arenaria*. J Exp Biol. **205**:1831-41.

Abreu I.A., Cabelli D.E. (2010). Superoxide dismutases-a review of the etalassociated mechanistic variations. Biochimica et Biophysica Acta.**1804** :263-274.

Acharya A., Das I., Chandhok D., Saha T.(2010). Redox regulation in cancer: a double-edged sword with therapeutic potential, Oxid. Med. Cell. Longev. **3**: 23-34.

Aebi H. (1984). Catalase in vitro, Methods Enzymol. **105** : 121-126.

Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A. (2007).Radicaux libres dérivés del'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. Revue du Rhumatisme. **74** : 636-643.

Agnandji P. (2018).Niveaux de contamination du sol et des légumes (*Solanummacrocarpum*L. et *Lactucasativa*L.) par les résidus de pesticides et leurs effets sur la santé des maraîchers au Sud du Bénin. Thèse de Doctorat de l'Université Abomey- Calavi, Faculté de Chimie Analytique. p : 11-21.

Akbas S .H., Yegin A., Ozben T. (2005). Effect of pentylenetetrazol-induced epileptic seizure on the antioxidant enzyme activities, glutathione and lipid peroxidation levels in rat erythrocytes and liver tissues.Clin Biochem. **38**(11): 1009-14.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Akogbéto M.C., Djouaka R.F., Kinde-Gazard D.A. (2006). Screening of pesticide residues in soil and water samples from agricultural settings. *Malar J.* **5**:22.

Al-Attar A.M., Elnaggar M.H.R., Almalki E.A. (2017). Protective effect of some plant oils on diazinon induced hepatorenal toxicity in male rats. *Saudi J Biol Sci.* **24**(6):1162-1171.

Alfadda A.A., Sallam R.M. (2012). Reactive oxygen species in health and disease. *J Biomed Biotechnol.* p: 14.

Algeciras-Schimmich A., Cook W.J., Milz T.C., Saenger A.K., Karon B.S. (2007). Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-Stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. *Clinical Biochemistry.* **40**: 1311-1316.

Al-Mutairi D.A., Craik J.D., Batinic-Haberle I., Benov L.T. (2007). Induction of oxidative cell damage by photo-treatment with zinc N-methylpyridylporphyrin. *Free Radic Res.* **41** (1) : 89-96.

Alscher G, N., Erturk L.S Heath. (2002). "Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J Exp Bot.* **53**(372): 1331-1341.

Anderson D., Dobrzynska M.M., Yu T.W. et al. (1997). DNA integrity in human sperm. *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis.* **17** (3): 97-102.

Andrea Rother H. (2014). Communicating pesticide neurotoxicity research findings and risks to decision-makers and the public. *NeuroToxicology.* **45**: 327-337.

Antherieu S., Ledirac N., Luzy A.P., Lenormand P., Caron J.C., Rahmani R. (2007). Endosulfan decreases cell growth and apoptosis in human HaCaT keratinocytes: partial ROS dependent ERK1/2 mechanism. *J Cell Physiol.* **213**: 177-186.

Aprioku J.S. (2013). Pharmacology of free radicals and the impact of reactive oxygen species on the testis. *J Reprod Infertil.* **14** (4) : 158-172.

Athmani N. (2016). Etude de l'effet hypocholestérolémiant et du potentiel antioxydant de deux hydrolysats de protéines de poisson (Sardine et sardinelle) chez le rat adulte soumis à un

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

régime enrichi en cholestérol. Thèse de doctorat de l'Université Ahmed Ben Bella d'Oran, Faculté de Nutrition clinique et Métabolique. p : 17.

Aubertot J.N., Barbier J.M., Carpentier A., Gril J.J., Guichard L., Lucas P., Savary S., Savini I., Voltz M.(2005). Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Rapport d'expertise scientifique collective, INRA et Cemagref (France).

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

Badgujar P.C., Jain S.K., Singh A., Punia J.S., Gupta R.P., Chandratre G.A. (2013). Immunotoxic effects of imidacloprid following 28 days of oral exposure in BALB/c mice. *Environ Toxicol Pharmacol*. **35** (3): 408-18.

Bagchi D., Bagchi M., Hassoun E.A., Stohs S.J. (1995). In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology*. **104**(1-3): 129-140.

Baillie J.K., Bates M.G.D., Thompson A.A.R., Waring W.S, Partridge R.W, Schnopp M.F., Simpson A., Gulliver-Sloan F., Maxwell S.R.J., Webb D.J. (2007). Lowland Subjects Exposed to High Altitude Plasma Antioxidant Capacity in Healthy Endogenous Urate Production Augments. *Chest*. **131**:1473-78 .

Balaban R.S, Nemoto S., Finkel T. (2005). Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*. **120** (4):483-95.

Banerjee M., Vats P. (2013). Reactive metabolites and antioxidant gene polymorphisms in Type 2 diabetes mellitus. *Redox Biol*. **11**(2): 170–7.

Baraka-vidot J.(2014). Stress oxydant et pathologie diabétique à l'île de La Réunion - Identification et caractérisation des propriétés structurales et fonctionnelles de l'albumine glyquée. Thèse de Doctorat de l'Université de la Reunion, Faculté de Biochimie. p : 35.

Barhoumi R., Bowen J. A., Stein L. S., Echols J., Burghardt R. C. (1993). Concurrent analysis of intracellular glutathione content and gap junctional intercellular communication. *Cytometry*. **14**: 747-56.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barouki R.** (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/sciences*. **22** (3): 266-72.
- Barouki R., Morel Y.**(2001).Repression of cytochrome P450 1A1gene expression by oxidativestress: mechanisms and biological implications. *Biochem Pharmacol*. **61** : 511 516.
- Batsch D.** (2011). L'impact des pesticides sur la santé humaine.Thèse de Doctorat de l'Université Henri Poincaré Nancy, Faculté de Pharmacie.p : 165.
- Baudin B.** (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *Mt cardio*. **2**(1): 43-52.
- Beckman K.B., Ames B.N.** (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev*. **78**: 547-581.
- Bensakhria A.** (2018).Toxicologie générale-Le stress oxydatif. **9** : 79-82.
- Bentinger M., Tekle M., Dallner G.** (2010). Coenzyme Q-Biosynthesis and functions. *Biochem.Biophys.Res.Commun*. p : 396-7479.
- Benyamina A.** (2017). Etude des effets de l'extrait d'Artemisia absintium L. chez les rats intoxiqués au plomb. Etude neurocomportementale, Biochimique et in Silico de composés d'Artemisia absinthium L. à potentiel thérapeutique ciblant les recepteurs du système nerveux central. Thèse de doctorat de l'Université Ahmed Ben Bella d'Oran,Faculté de biochimie appliqueé. p : 23.
- Bertry R.**(2011). Les mécanismes toxiques liés à l'hyperglycémie chronique chez le diabétique de type 2.Thèse de doctorat de l'Université de Limoges, Faculté de pharmacie. p : 46.
- Bérubé V.E., Boily M.H., Deblois C., Dassylva N., Spear P.A.** (2005). Plasma retinoid profile in bullfrogs, *Ranacatesbeiana*, in relation to agricultural intensity of sub-watersheds in the Yamaska River drainage basin (Québec, Canada). *Aquatic Toxicology*. **71**: 109-120.
- Beyer R.E.** (1994). The role of ascorbate in antioxidant protection of biomolecules: interaction with vitamin E and coenzyme Q. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. **26**(4): 349-358.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bonnefont-Rousselot D. (1994). Irradiation des membranes cellulaires. *J Chim Phys.* **91** : 968-983.

Bonnefont-Rousselot D., Beaudoux J. L., Thérond P, Peynet J., Legrand A., Delattre J. (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Ann Pharm Fr.* **62** : 147-157.

Bonnefont-Rousselot D., Therond P., Delattre J. (2003). Radicaux libres et antioxydants. In : delattre J, Durand G, Jardillier JC. Ed. *Biochimie pathologique : aspects moléculaires et cellulaires.* Paris : Médecine-sciences Flammarion .p :59-81.

Bouguerne B.(2012). Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose). Thèse de Doctorat de l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. p : 18

Brigelius-Flohe R., Traber M.G. (1999). Vitamin E: function and metabolism. *FASEBJ* **13**(10): 1145-1155.

Brown T.P., Rumsby P.C., Capleton A.C., Rushton L, Levy L.S. (2008). Pesticides and Parkinson's disease-is there a link *Environ Health Perspect.* **11** :156-164.

Brownlee M. (2005). The Pathobiology of Diabetic Complications A Unifying Mechanism. *Diabetes.* **54** (6) : 1615-1625.

Bruneton J. (1999). *Phytochimie. Plantes médicinales. Pharmacognosie.* 3^{ème} édition, Paris.

Balasundram N., Sundram K., Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agricultural by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry.* **99**: 191-203.

Bump E.A., Brown J.M. (1990). Role of glutathione in the radiation response of mammalian cells in vitro and in vivo. *Pharmacology & therapeutics.* **47**:117-36.

Burton G., Jauniaux E. (2011). Oxidative stress. Best practice and research clinical obstetrics and gynaecology. **25**: 287-299.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Buschfort C., Muller M.R., Seeber S. et al. (1997). DNA excision repair profiles of normal and leukemic human lymphocytes: Functional analysis at the single cell level. *Cancer Research*.**57**: 651-658.

Cadenas E., Davie K.J. (2000) .Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med*. **29**:222-230.

Çakmakçi S et al.(2015). Antioxidant capacity and functionality of oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.) flour and crust in a new kind of fruity ice cream. *Int. J. Food Sci. Technol*. 472-481.

Calvet R., Barriuso E., Benoit P., Bedos C., Charnay M.P., Coquet Y. (2005). Les pesticides dans le sol. Conséquences agronomiques et environnementales. Editions France Agricole, Paris. 637 p.

Calviello G., Piccioni E., Boninsegna A., Tedesco B., Maggiano N., Serini S., Wolf F.I., Palozza P. (2006). DNA damage and apoptosis induction by the pesticide Mancozeb in rat cells: involvement of the oxidative mechanism. *Toxicol Appl Pharmacol*. **211** (2) : 87-96.

Camille M., Mireille. S. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Med Sci(Paris)*. **27** (4): 405-412.

Cano N., Barnoud D., Schneider S.M., Vasson M.P., Hasselmann M., Leverve X. (2006). *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*. Edition Springer.p:255.

Cantin P.A.(1999).Oxidant and antioxidants in lung injury. *Lam and other Diseases characterized by smooth muscle proliferation*. p: 519-531.

Carine B. (2006). Les lésions des acides nucléiques : détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation. Thèse de doctorat de l'Université Joseph-Fourier - Grenoble I, France. p : 51.

Charbon G., Bjørn L., Mendoza-Chamizo B., Frimodt-Møller J., Løbner-Olesen A. (2014). Oxidative DNA damage is instrumental in hyperreplication stress-induced inviability of *Escherichia coli*.*Nucleic acids research*.**42**(21): 13228-13241.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Charbonnel J.(2003).Contribution de l'atmosphère à l'exposition aux pesticides par la consommation de produits de jardin. École national de la santé publique. p : 2

Chaturvedi M., Sharma C., Chaturvedi M. (2013).Effects of Pesticides on Human Beings and Farm Animals: A Case Study. Res.J.Chem. Env. Sci. **1** (3) : 14-19.

Cherin P., Voronsk E., Fraoucene N., De Jaeger C.(2012). Toxicité aiguë des pesticides chez l'homme. Médecine et Longévité.**4** :68-74.

Ciss, M., Parisey, N., Moreau, F., Dedryver, C. A. et Pierre, J. S. (2014). A spatiotemporel model for predicting grain aphid population dynamics and optimizing insecticide sprays at the scale of continental France.Environmental Science and Pollution Research.**21**(7): 4819-4827.

Clarkson P.M.,Thompson H.S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. American Journal of Clinical Nutrition.**72**(2):637.

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.

Comité Permanent de l'Environnement et du Développement Durable. (2000). Les pesticides, un choix judicieux s'impose pour protéger la santé et l'environnement. Adresse URL: <http://cmte.parl.gc.ca/Content/HOC/committee/362/envi/reports/rp1031697/envi01/04-toc-f.html>.

Corpas F.J., Barroso J.B., Del Río L.A.(2001).Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells. Trends in Plant Science.**6**(4) : 145-150.

Cotonat J. (1996). La toxicologie. Presses universitaires de France, Paris.127p.

Couteux A., Salaün C. (2009). Index phytosanitaire ACTA 2009. 45^{ème}édition. Association de Coordination Technique Agricole.MAME.

Curtay J.P., Robin J.M. (2000).Intérêt des complexes antioxydants. Nutrithérapie Info.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Dalton T.P., Scertzer H.G., Puga A.(2002).Regulation of gene expression by reactive oxygen.Signalling.p: 879.

Davies K.J. (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems.IUBMB Life. **50**:279-289.

Dawson T.L., Gores G.J., Nieminen A.L., Herman B., Lemasters J.J. (1993).Mitochondria as a source of reactive oxygen species during reductive stress in rat hepatocytes. Am J Physiol. **264**: 961-967.

De Backer D. (2006). Inhibition du monoxyde d'azote dans le choc septique Nitric oxide inhibition in septic shock.Réanimation. **15** (2) : 145-149.

De Jaeger C. (2011). Les théories du vieillissement. Médecine & Longévité.**3** :155-174.

De Moffarts B., Kirschvink N., Art T., Pincemail J., Lekeux P.(2005). Effect of oral antioxidant supplementation on blood antioxidant status in trained thoroughbred horses. Vet. J.**169**: 65-74.

Deaton C.H.M., Marlin D.J. (2003). Exercise-associated oxidative stress.Clin Tech Equine Pract.**2**(3): 278-91.

Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot D.(2005). Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris. p : 1- 405.

Densiov E.T., Afanas'ev I.B. (2005). IN: Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. Eds: Taylor & Francis Group (U.S.A).p: 703-861.

Derubertis F.R., Cravens P.A. (2013). Oxidative and glycooxidative stress in diabetic nephropathy, in: The Diabetic Kidney. Springer.p: 151-172.

Descamps O. (2004).Stress oxydant et vieillissement : aspects mitochondriaux et stratégies nutritionnelles anti-cancer et anti-vieillesse chez la souris OHI. Thèse de Doctorat de l'Université René-Descartes Paris 5.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Desideri A., Falconi M. (2003). Prokaryotic Cu, Zn superoxide dismutases. *Biochemical Society transactions*. **31**: 1322-1325.

Desmier T. (2016). Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse de Doctorat de l'Université de Limoges, faculté de pharmacie. p:32

Dorval J., Leblond V., Deblois C., Hontela A. (2005). Oxidative stress and endocrine endpoints in white sucker (*Catostomus commersoni*) from a river impacted by agricultural chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **24** (5): 1273-1280.

Drechsel D.A., Patel M. (2008). Role of reactive oxygen species in the neurotoxicity of environmental agents implicated in Parkinson's disease. *Free Radical Biology and Medicine*. **44** (11): 1873-1886.

Droge W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. **82**(1): 47-95.

Druzyńska B., Stepnińska A., Wołoszak R. (2007). The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* **6** (1) :27-36.

Du X.L., Edelstein D., Rossetti L., Fantus I.G., Goldberg H., Ziyadeh F., Wu J., Brownlee M. (2000). Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **97** (22) : 12222-12226.

Durand K. (2018). Diabetes et stress oxydant. Thèse de Doctorat de l'Université d'Aix-Marseille, Faculté de Pharmacie. p : 8

Dwassy A. (2014). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Thèse de doctorat Université Mohammed V-souissi-faculté de médecine et de pharmacie - Rabat. p : 7.

Dziezak J.D. (1986). Preservatives: Antioxidants. *Food Technol.* **40**: 94-102.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Echtay K.S., Esteves T.C., Pakay J.L., Jekabsons M.B., Lambert A.J., Portero-Otin M., Pamplona R., Vidal-Puig A.J., Wang S., Roebuck S.J., Brand M.D. (2003). A signalling role for 4-hydroxy-2-nonenal in regulation of mitochondrial uncoupling. *Embo J.* **22**:4103-4110.

Edelahid M.C. (2004). Contribution à l'étude de dégradation un situ des pesticides par procédès d'oxydation avancés faisant intervenir le fer. Application au herbicides phénylueées. Thèse de Doctorat de l'Université de Marne la Vallés, faculté de la biochimie. p :22-25.

El-Mrabet K. (2008). Les pesticides. Centre de métrologie scientifique et industrielle, LNE. Expertise Scientifique Collective INRA/CEMAGREF. 64 p.

Eurotext J.L. (2007). Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux. 1396p.

Fabre G., Bayach I., Berka K., Paloncýová M., Starok M., Rossi C., et al. (2015). Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes. *Chem Commun.* **51**(36) :7713-6.

Fam S.S., Morrow J.D. (2003). The isoprostanes: unique products of arachidonic acid oxidation-a review. *Curr. Med. Chem.* **10**: 1723-1740.

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

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

Ferfar M. (2017). Toxicité et bioaccumulation de pesticides sur quelques variétés de blé dur (T. Durum Desf). Thèse de Doctorat de l'Université Badji Moukhtar-Annaba, Faculté des sciences. p : 16.

Finaud J., Lac G., Filaire E. (2006b). Oxidative Stress. Relationship with Exercise and raining. *Sports med.* **36** (4) : 327-58.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Florence B.(2016).Stress oxydant et pathologie diabétique. Thèse de doctorat de l'Université dela Réunion, Faculté de Biochimie. p : 28.

Frankel E.N.(2005).Lipid oxidation. 2nd Edition, The oily Press, P.J. Barnes, Bridgwater;xvi+470 pp. UK ISBN: 0-9531949-8-1.

Fulbert J.C., Cals M.J. (1992).Les radicaux libres en biologie clinique. Pathologie et Biologie .p: 66-77.

Galal M.K., Khalaf A.A., Ogaly H.A., Ibrahim M.A. (2014). Vitamin E attenuates neurotoxicity induced by deltamethrin in rats. BMC Complement Altern Med. **2** (14): 458.

Galloway T.S., Depledge M.H. (2001). Immuno-toxicity in invertebrates: measurement and ecotoxicological relevance. Ecotoxicology. **10** : 5-23.

Gaouar Z.L. (2017).Evaluation des teneures en résidus de pesticides dans les aliments et la nappe phréatique. Thèse de Doctorat de l'Université d'Oran 1, Faculté de médecine.p : 4.

Garait B. (2011). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin.Thèse de Doctorat de l'Universite Joseph Fourier, Faculté de Biologie Cellulaire.p : 9.

Gardès-Albert M., Jore D. (2005).Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène. Radicaux libres et stress oxydant. Paris, Lavoisier. p : 1-23.

Gardés-Albert.M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D. (2003). Espèce réactives de l'oxygène. J : Mécanisme biochimiques. p : 91-95.

Garrel C., Ceballos-Picot I., Germain G., Al-Gubory K.H. (2007).Oxidative stressinducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F2alpha-induced luteal cell death in vivo. Free radical research.**41**: 251-259.

Gendron A., Branchaud A. (1997). Impact potentiel de la contamination du milieu aquatique sur la reproduction du suceur cuivré (Moxostomahubbsi) : synthèse des connaissances. Ministère de l'Environnement et de la Faune, Service de l'aménagement et de l'exploitation de la faune, Direction régionale de la Montérégie (France). Rapport technique.p : 16-02.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Gérin M., Gosselin P., Cordier S., Viau C., Quénel P., Dewailly E. (2003). Environnement et santé publique - Fondements et pratiques. Edisem Inc. / Editions Tec & Doc, Acton Vale /Paris.

Gersch C., Pali S.P., Imaram W., Kim K.M., Karumanchi S.A., Angerhofer A., Johnson R.J., Henderson G.N. (2009). Reactions of peroxynitrite with uric acid: Formation of reactive intermediates, alkylated products and triuret, and in vivo production of triuret under conditions of oxidative stress. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. **28**: 118-149.

Ghouleh I.A., Khoo N.K.H., Knaus U.G., Griendling K.K., Touyz R.M., Thannickal V.J., Barchowsky A., Nauseef W.M., Kelley E.E., Bauer P.M., Darley-Usmar V., Shiva S., Cifuentes-Pagano E., Freeman B.A., Gladwin M.T., Pagano P.J. (2011). Oxidases and Peroxidases in Cardiovascular and Lung Disease: New Concepts in Reactive Oxygen Species Signaling. *Free Radic Biol Med*. **51** (7) : 1271-88.

Gingras M.D.B. (2007). L'agriculture Québécoise, L'environnement de la ferme familiale et la santé. Direction régionale de santé publique de Chaudière-Appalaches, Bise une publication du réseau de la santé publique du Québec, 4 (5) octobre 1993, 11.

Giroux I. (2002). Contamination de l'eau par les pesticides dans les régions de culture de maïs et de soya au Québec. Résultats des campagnes d'échantillonnage 1999, 2000 et 2001, et évolution temporelle de 1992 à 2001 par Ministère de l'Environnement, Gouvernement du Québec. p : 78.

Göçer H., Akincioglu A., Öztasgin N., Göksu S., Gülçin I. (2013). Synthesis, antioxidant, and antiacetylcholinesterase activities of sulfonamide derivatives of dopamine-related compounds". *Arch. Pharm (Weinheim)*. p:783-792.

Goldstein S., Meyerstein D., Czapski G. (1993). The Fenton reagents. *Free Rad Biol Med*. **15**:435-45.

Góth L., Rass P., Páy A. (2004). Catalase enzyme mutations and their association with diseases. *Molecular Diagnostics*. **8**:141-149.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Goto M., Ueda K., Hashimoto T., Fujiwara S., Matsuyama K., Kometani T., Kanazawa K. (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine*. **45**:1318-1325.

Guetteridge J.M. (1993). Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radic Res Commun*. **19** (3): 141-58.

Gülçin I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview, *Arch. Toxicol*. **86**(3): 345-391.

Gutteridge J.M., Halliwell B. (1992). Comments on review of *Free Radicals in Biology and Medicine*, second edition, by Barry Halliwell and John M. C. Gutteridge. *Free Radic Biol Med*. **12**: 93-95.

Hala Y. (2008). L'obésité de l'adolescent Libanais : étude épidémiologique et effets d'un exercice aigu et chronique sur le stress oxydant d'adolescentes en surpoids. Thèse de doctorat de l'Université Européenne de Bretagne. p : 83.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P. (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege*. **62** (10): 628-638.

Halliwell B. (2006). Reactive Species and Antioxidants. *Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life/Plant Physiol*. **141** (2): 312-322.

Halliwell B., Gutteridge J.M. (1986). Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys*. **246**: 501-514.

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., Chirico S. (1993). Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am. J. Clin. Nutr*. **57**: 715S-724S.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (1996). Mechanisms involved in the generation of free radicals. *Pathologie Biologie*. **44**: 6-13.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (2007). Free Radicals in Biology and Medicine. 4 th ed. Oxford University Press. p: 20-31.

Halliwell B., Gutteridge J.M.(2008). Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth Edition. Oxford University Press.

Hanna P.M., Mason R.P. (1992). Direct evidence for inhibition of free radical formation from Cu(I) and hydrogen peroxide by glutathione and other potential ligands using the EPR spin-trapping technique. Archives of biochemistry and biophysics. **295**:205- 13.

Harman D., Aging.(1956). A theory based on free radical and radiation chemistry. J Gerontol.**11**: 298-300.

Harrison R. (2002). Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? Free Radic. Biol. Med. **33**:774-797.

He Z., Xia W., Chen J. (2008). Isolation and structure elucidation of phenolics compounds in Chinese olive (*Cnarium album* L.) fruit. Eur Food Res Technol. **226** (5): 1191-1196.

Hellsten Y., Svensson M., Sjödin B., Smith S., Christensen A., Richter E.A., Bangsbo J. (2001). Allantoin formation, urate, and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. Free Radic Biol Med. **31**(11) : 1313-1322.

Héritier F.L., Marques M., Fauteux M., Gaudreau L. (2014). Defining Molecular Sensors to Assess Long-Term Effects of Pesticides on Carcinogenesis. Int J Mol Sci. **15** (9): 17148-17161.

Hildebrandt A., Lacorte S., Barceló D. (2009). Occurrence and Fate of Organochlorinated Pesticides and PAH in Agricultural Soils from the Ebro River Basin. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. **57**(2):247-255. <http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr/>.

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

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Hunt J.V., Dean R.T., Wolff S.P.(1988). Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation. Glucose autoxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and ageing. *Biochem J.* **256** : 205-12.

Islas-Flores H., Gómez-Oliván L.M., Galar-Martínez M., Colín-Cruz A., NeriCruz N., García-Medina S. (2013). Diclofenac-induced oxidative stress in brain, liver, gill and blood of common carp (*Cyprinus carpio*).*Ecotoxicol.environ.* **92**: 32-38.

Jacob C., KnightI., Winyard P.G.(2006). Aspects of the biological redox chemistry of cysteine:from simple redox responses to sophisticated signalling pathways. *Biol Chem.* **387**:1385-1397.

Jalili C., Farzaei M.H., Roshankhah S., Salahshoor M.R. (2019). Resveratrol attenuates malathion-induced liver damage by reducing oxidative stress. *J Lab Physicians* .**11**: 212-9.

Jamal F., Haque Q.S., Singh S., Arshad M.D. (2016).The Influence of Pesticides on Hepatic and Renal Functions in Occupational Sprayers of Rural Malihabad, Lucknow (India).*Toxicol open access.* p: 1-106.

Jarasch E.D., Grund C., Bruder G., Heid H.W., KeenanT.W., Franke W.W. (1981).Localization of xanthine oxidase in mammarygland epithelium and capillary endothelium. *Cell*25. P: 67-82.

Ji L.L., Fu R., Mitchell E.W. (1992). Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. *J Appl Physiol.* **73**: 1854-1859.

Kadeche L., Bourogaa E.,Boumendjel A, Djeffal A.,Abdennour C.,El Feki A., Messarah M. (2016).Quercetin Attenuates Metribuzin-induced Biochemical and Hematological Toxicity in Adult Rat.*Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **40**(1): 38-46.

Karouche S.(2014). Profil épidémiologique et balance pro / antioxydants de la surcharge pondérale chez les adultes de la localité d'Ain-Fakroun-Est Algérien. Thèse de doctorat de l'Université Constantine, Faculté de Science de la nature et de la Vie.p: 33.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Kaur R., Kaur S., Lata M.(2011). Evaluation of DNA damage in agricultural workers exposed to pesticides using single cell gel electrophoresis (comet) assay. *Indian J Hum Genet.***17** : 179-87

kehili N. (2018).L'effet protecteur d'un antioxydant naturel contre le stress oxydatif induit par le chlorure de cadmium. Thèse de Doctorat de l'Université Badji-Mokhtar-annabafaculte, faculté des sciences. p : 9-10.

Kersante A. (2003). Rôle régulateur de la macrofaune lombricienne dans ladynamique de l'herbicide atrazine en sol cultivé tempéré. In : SAIBA A. Etude del'adsorption d'un herbicide -la métribuzine- sur un sol cultivé. Mémoire de Magister,Ecole Nationale Polytechnique, El-Harrach.102p.

Khedr Nassar A.M. (2016).Comparative endocrine disrupting effects of abamectin and indoxacarb insecticides.*International Journal of Pharmacology and Toxicology.* **4** (1): 89-92.

Kim D.W., Jeong H.J., Kang H.W., Shin M.J., Sohn E.J., Kim M.J., Ahn E.H., An J.J., Jang S.H., Yoo K.Y., Won M.H., Kang T.C., Hwang I.K., Kwon O.S., Cho S.W., Park J., Eum W.S., Choi S.Y. (2009). Transduced human PEP-1–catalase fusion protein attenuates ischemic neuronal damage. *Free Radic Biol Med.* **47** (7): 941-952.

Kregel K.C., Zhang H.J. (2007). An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul IntegrComp Physiol.* **292** (1): R18-36.

Kryston T.B., GeorgievA.B, Pissis P.,Georgakilas A.G. (2011). Role of oxidative stress andDNA damage in human carcinogenesis, *Mutat.Res.***711**: 193-201.

Kumar A., Bhaskar A., Chandra S., Sasmal D., Mukhopadhyay K., Sharma N. (2015).Mechanism of Deltamethrin induced Immunotoxicity: Current and Future Perspectives. *Receptors & Clinical Investigation.***2**: 1-7.

Kumar-Das S., Mondal T. (2014).Mode of action of herbicides and recent trends in development: A Reappraisal. *International Journal of Agricultural and Soil Science.* **2**(3): 27-32.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Lafleur M.V., Hoorweg J.J., Joenje H., Westmijze E. J., Retel J. (1994). The ambivalent role of glutathione in the protection of DNA against singlet oxygen. *Free radical research*. **21** :9-17.

Laguerre M., Mestres C., Davrieux F., Ringuet J., Boulanger R.(2007). Rapid discrimination of scented rice by solid-phase microextraction, mass spectrometry, and multivariate analysis used as a mass sensor. *J Agric Food Chem*. **55** : 1077-1083.

Landrier J.F.(2011). Vitamine E et physiologie du tissu adipeux.oleagineux corps gras lipides. **1** : 83-87.

Lau A.T., Wang Y., Chiu J.F. (2008). Reactive oxygen species: current knowledge and applications in cancer research and therapeutic. *J Cell Biochem*. **104** (2): 657-667.

Ledirac N., Antherieu S., d'Uby A.D., Caron J.C., Rahmani R. (2005). Effects of organochlorine insecticides on MAP kinase pathways in human HaCaT keratinocytes: key role of reactive oxygen species. *Toxicological Sciences*. **86** (2) : 444-452.

Lee H., Lee Y.J., Choi H. et al.(2009). Reactive oxygen species facilitate adipocyte differentiation by accelerating mitotic clonal expansion. *J Biol Chem*. **284**: 10601-9.

Lee W.J., Huang M.S., Yang I.C., Lai T.C., Wang J.L., Pang V.F., Hsiao M., Kuo M.Y. (2008). Essential roles of caspases and their upstream regulators in rotenone induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*. **371** (1): 33-38.

Leopold J.A., Loscalzo L. (2009). Oxidative Risk for Atherothrombotic Cardiovascular Disease. *Free Radic Biol Med*. **47**: 1673-1706.

Li Q., Kawada T. (2006). The mechanism of organophosphorus pesticide-induced inhibition of cytolytic activity of killer cells. *Cellular and Molecular Immunology*. **3** (3): 171-178.

Lopez G. V., Batthyany C., Blanco F., Botti H., Trostchansky A., Migliaro E., Radi R., Gonzalez M., Cerecetto H., Rubbo H. (2005). Design, synthesis, and biological characterization of potential antiatherogenic nitric oxide releasing tocopherol analogs. *Bioorg. Med Chem*. **13**: 5787-5796.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Lorenzy M., Oates P.J. (2005). The polyol pathway and diabetic Retinopathy. Ed: Johnstone. Humana Press. Inc Totawa. N.J.

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

Lushchak V.I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. Aquatic Toxicology. 101: 13-30.

Lyons G. (2000). Mixed messages: pesticides that confuse hormones. Pesticides Action Network UK.

Lyons M.E.G., Fay H.G., McCabe T., Corish J., Vos J.G., Kelly A.J. (1990). Charge percolation in electroactive polymers. Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions. p:86-2905

Mac Laren D. (2007). Advances in sports and exercise science series. Nutrition and sport 8. Antioxidants and free radicals by close GL and Mc Ardle F. Elsevier.

Mamy L., Barriuso E., Gabrielle B. (2008). Evaluer les Risques Environnementaux des Pesticides, Exemple du désherbage des cultures résistantes ou non au glyphosate. Innovations Agronomiques, Livre. 3: 121-143.

Manirakiza P., Akinbamijo O., Covaci A., Pitonzo R., Schepens P. (2003). Assessment of organochlorine pesticide residues in West African city farms: Banjul and Dakar case study. Arch. Environmental Contamination and Toxicology. 44:171-179.

Mansour S.A., Mostafa A.A., Hassan A.S. (2017). Zinc Ameliorate Oxidative Stress and Hormonal Disturbance Induced by Methomyl, Abamectin, and Their Mixture in Male Rats. 5(37): 2-17.

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

Maroni M., Colosio C., Ferioli A., Fait A. (2000). Biological monitoring of pesticide exposure: a review. Toxicology. 143: 5-118.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Maroni M., Colosio C., Ferioli A., Fait A. (2000). Biological monitoring of pesticide exposure: a review. *Toxicology*.143: 5-118.

O'Halloran K.(2002).Biomarkers in toxicology versus ecological risk assessment.*Toxicology*. **181** (182): 517-21.

Martin S., Andriantsitohaina R. (2002).Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Ann Cardiol Angeiol*. **51** (6): 304-315.

Matés J.M., Pérez-Gómez C., Núñez de Castro I. (1999).Antioxidant enzymes and human diseases.*Clin Biochem*.**32**(8): 595-603.

McLennan H.R., Degli Esposti M. (2000).The contribution of mitochondrial respiratory complexes to the production of reactive oxygen species. *J Bioenerg Biomembr*.**32** (2): 153-62.

Mehri N., Felehgari H., Harchegani A.L., Behrooj H., Kheiripour N., Ghasemi H., Mirhoseini M., Ranjbar A. (2016). Hepatoprotective effect of the root extract of green tea against malathion-induced oxidative stress in rats. *HerbMed Pharmacol*. **5** (3): 116-119.

Memon S.A., Shaikh S.A., Memon N. (2014). Effects of profenofos an endocrine disrupting chemical on leydig's cells in rabbits. *J. Anim. Plant Sci*. **24** (1): 167-171.

Menon S.G., Goswami P.C. (2007). A redox cycle within the cell cycle: ring in the old with the new. *Oncogene*. **26**: 1101-1109.

Mimouni I.(2020).Le processus oxydatif et les antioxydants en pathologie humaine.Thèse de Doctorat de l'Université Mohammed V de Rabat, faculté de medecine. p : 110-111.

Mompon B., Lemaire B., Mengal P., Surbel D. (1996). Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. IN « Polyphénols 96 ». Ed INRA.p: 31-35.

Monteil C., Mulder P., Thuillez C. (2004). Stress oxydant et insuffisance cardiaque : unecible thérapeutique utopique ? *Médecine thérapeutique Cardiologie*. **2**: 75-85.

Moser V.C. (2007). Animal models of chronic pesticide neurotoxicity. *Hum Exp Toxicol*. **26** (4) : 321-331.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Nacri I. (2013). Apport des thérapeutiques antioxydantes dans le traitement du diabète. Mémoire de Master Université Mentouri Constantine 1. p : 23.

Nakashima I et al. (2009). Redox-linked signal transduction pathways for protein tyrosinekinase activation. *Antioxid Redox Signal.* **4**(3): 517-531.

Naravaneni R., Jamil K. (2007).Determination of AChE levels and genotoxic effects in farmers occupationally exposed to pesticides. *Human and Experimental Toxicology.***26** (9): 723-731.

Naruse H., Fuisawa T.X., Yatsuga C., Kubota M., Matsuo H., Takiguchi S., Shimada S., Imai Y., Hiratani M.,Kosaka H., Tomoda A.(2006). Increased anterior pelvic angle characterizes the gait of children with attentiondeficit/hyperactivity disorder (ADHD). *PLoS One.***12**(1).

Nicholls D.G., Ferguson S.J. (2002).*Bioenergetics.*3rd edn, chs. Amsterdam: Academic Press. p: 297.

Niki E. (2010). Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. *Free Radic Biol Med.* **49** (4): 503-15.

Niki E., Yoshida Y., Saito Y., Noguchi N. (2005). Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem Biophys Res Commun.***338** (1): 668-76.

Nyathi Y., Baker A.(2006). Plant peroxisomes as a source of signalling molecules." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research.* **1763**(12): 1478-1495.

O'Mahony, J.M., Donnelly, T.T., Bouchal R.S., Este D. (2013).Cultural background and socioeconomic influence of immigrant and refugee women coping with postpartum depression.*Journal of Immigrant Minority Health.***15**:300-314.

Okado-Matsumoto A., Fridovich I.(2001). Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu,Zn-SOD in mitochondria. *J Biol Chem.* **276**:38388-38393.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Oliva A., Spira A., Multigner L.(2001). Contribution of environmental factors to the risk of male infertility, *Human Reproduction*.p: 1768-1776.

Onil S. (2005). Votre santé vous préoccupe ? Attention aux pesticides. CRAAQ, colloque sur la sericulture. p 16.

ORP. (2008). Observatoire des Résidus de Pesticides. In : **ERRAMI M.** Devenir atmosphérique de bupirimate et transfert de ses métabolites (les diazines) dans l'atmosphère, sa dissipation dans les fruits de tomate et sa dégradation électrochimique.Thèse de Doctorat de l'Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims. 212 p.

ORP. (2010). Observatoire des Résidus de Pesticides. Exposition de la population générale aux résidus de pesticides en France. Rapport scientifique. 354 p.

ORSB. (2001). Observatoire Régional de Santé de Bretagne, Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel des connaissances. <http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr/index.php?pageid=224>.

Oueslati K.(2017). Caractérisation et modélisation de la production des radicaux Libres oxygénés par la chimie de Fenton dans un milieu mimétique de la viande. Thèse de doctorat de l'Université Clermont Auvergne.p : 32.

Ould kankou M.O.S.A.(2004). Vulnérabilité des eaux et des sols de la rive droite du fleuve Sénégal en Mauritanie : Etude en laboratoire du comportement de deux pesticides. In : SAIBA A. Etude de l'adsorption d'un herbicide -la métribuzine- sur un sol cultivé. Mémoire de Magister, Ecole Nationale Polytechnique, El-Harrach.102p.

Pacifici E.H., McLeod L.L., Sevanian A. (1994). Lipid hydroperoxide-induced peroxidation and turnover of endothelial cell phospholipids. *Free radical biology & medicine*. **17** (4): 297- 309.

Palmer R.M., Rees D.D., Ashton D.S., Moncada S. (1988). L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun*.**153** (3): 1251-6.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Pamplona R., Portero-Otin M., Ruiz C., Gredilla R., Herrero A., Barja G.(2000).Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum nlongevity in the heart of mammals. *Mech Ageing Dev.* **112**:169-183.

Paravicini T.M, Touyz R.M.(2008).NADPH Oxidases, Reactive Oxygen Species, and Hypertension Clinical implications and therapeutic possibilities. *Diabetes Care.* **31** (2):S170-80.

Paredi P., Kharitonov S.A., Barnes P.J. (2002).Analysis of expired air for oxidation products.American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. **166** (1): 31-37.

Patterson R.A., Horsley E.T., Leake D.S. (2003). Prooxidant and antioxidant properties of human serum ultrafiltrates toward LDL: Important role of uric acid. *J Lipid Res.* **44**: 512-521.

Payan-Renteria R., Garibay-Chavez G., Rangel-Ascencio R., Preciado-martinez V., Munoz-Islas L., Beltran-Miranda C. (2012).Effect of chronic pesticide exposure in farm workers of a Mexico community. *ArchEnviron OccupHealth.***67**:22-30.

Peitl P.J., Sakamoto-Hojo E.T., De Syllos Colus I.M.(1996). Genotoxic activity of the insecticide Nuvacron (Monocrotophos) detected by the micronucleus test in bone marrow erythrocytes of mice and in CHO cells. *Brazilian journal of Genetics.***19** (4): 571-576.

Penna C., Mancardi D., Rastaldo R., Pagliaro P. (2009). Cardio protection: A radical view Free radicals in pre and post conditioning. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics.* **1787** (7): 781-793.

Pereg D., Robertson L.W., Gupta R.C. (2002). DNA adduction by polychlorinated biphenyls: adducts derived from hepatic microsomal activation and from synthetic metabolites. *ChemicoBiological Interactions.***139**:129-144.

Perera F.P., Rauh V., Whyatt R.M., Tang D., Tsai W.Y., Bernert J.T., Tu Y.H., Andrews H., Barr D.B., Camann D.E., Diaz D., Dietrich J., Reyes A., Kinney P.L. (2005). A Summary of Recent Findings on Birth Outcomes and Developmental Effects of Prenatal ETS, PAH, and Pesticide Exposures.*NeuroToxicology.***26** : 573-587.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Pflieger M.(2009).Etude de la dégradation photochimique des pesticides adsorbés à la surface de particules atmosphériques.Thèse de Doctorat de l'Université de Provence, Faculté de Biosciences de l'environnement, chimie, santé.p :19

Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J.O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumon*. **4** (5).

Pincemail J.O., Defraigne J.O.(2003).Le coenzyme Q10 ou ubiquinone : un antioxydant particulier, *Vaisseaux, Cœur, Poumons*. **8** : (2) 6.

Poisson C.(2013). Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de doctorat de l'Université de Paris-Sud 11, Faculté de Pharmacologie et Toxicologie. p : 115.

Priyadarsini K.I.(2005). Molecular Mechanisms Involving Free Radical Reactions of Antioxidants and Radioprotectors. Founder's Day Special Issue.p: 1-6.

Prouvost H., Declercq C. (1998). Evaluation de l'impact sanitaire de la pollution atmosphérique : les apports de l'épidémiologie, in *Air Pur 55 – Plan Régional pour la Qualité de l'Air dans le Nord – Pas de Calais*. APPA.p:30-35.

Qutub A.A., Popel A.S. (2008). Reactive oxygen species regulate hypoxia-inducible factor 1 α differentially in cancer and ischemia. *Mol Cell Biol*. **28** (16): 5106-19.

Rahman I., Biswas S.K., Kode A. (2006). Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. *Eur j pharmacol*.**533**: 222-239.

Rahman K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging*.**2**(2):219-36.

Rakitsky V.N., Koblyakov V.A., Turusov V.S.(2000). Nongenotoxic (epigenetic) carcinogens: pesticides as an example. A critical review. *Teratog.Carcinog.Mutagen*.**20** (4):229-240.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Raman Arjun V.,Berry M.J. (2011). Selenoproteins in cellular redox regulation and signaling. *Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates: Molecular Aspects of Cell Signaling*.p:195-208.

Ratnam V.D. Ankola D.D., Baradwaj V., Sahana D.K. (2006).Ravi Kumar, MNV. Role of antioxidants in Sciences. **81**:95-905.

Regnault-Roger C. (2005). Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Tec& Doc, Lavoisier, Paris.1013 p.

Regoli F., Giuliani M.E. (2014). Oxidative Pathways of Chemical Toxicity and Oxidative Stress Biomarkers In Marine Organisms. *Marine environmental research*. **93**: 106-117.

Retsky K.L., Chen K., Zeind J., Frei B.(1999).Inhibition of copper-induced LDLoxidation by vitamin C is associated with decreased copper binding to LDL and 2oxo-histidine formation. *FreeRadical Biology andMedicine*. **26**(1-2): 90-98.

Rezaie Agdam H., Razi M., Amniattalab A., Malekinejad H., Molavi M. (2017). Coadministration Of vitamin E and testosterone attenuates the atrazine-induced toxic effects on sperm quality and testes in rats. *Cell J*. **19** (2) : 292-305.

Rezaire A.(2012).Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa).Thèse de Doctorat de l'Université Antilles et de la Guyane, Faculté de Santé, Environnement. p : 57

Ribeiro M.A., Bernardo-Gil M.G., Esquivel M.M. (2001).Melissa officinalis, L: study of antioxidant activity in supercritical residues. *J Supercritical Fluids*.**21**:51-60.

Richard M.J., Belleville F., Chalas J., Ceballos-Picot I., Vitoux D., Boyer M.J, et al. (1997). Les glutathion peroxydases : intérêt de leur dosage en biologie clinique. *Ann Biol Clin* (Paris). **55**(3) :195-208.

Richard Y., Giroux I. (2004). Impact de l'agriculture sur les communautés benthiques etpiscicoles du ruisseau Saint-Georges (Québec, Canada). Ministère de l'Environnement,Direction du suivi de l'état de l'environnement. 28 p.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Richter B.D., baumgartner J.V., wigingtonP., Braun D.P.(1988). How much water does a river need? *Freshwater Biology*. **37**: 231-249.

Richter G. (1993).Composés phénoliques in *Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie*. Ed Presse polytechnique et universitaire romande. p : 317-339.

Rio M.J., Velez-Pardo C. (2008). Paraquat induces apoptosis in human lymphocytes: protective and rescue effects of glucose, cannabinoids and insulin-like growth factor-1. *Growth Factors*. **26** (1) : 49-60.

Ronald S .L.(2011). Implication des espèces réactives de l'oxygène dans le contrôle central d'osmorégulation. Thèse de Doctorat de l'Univesité d'Aris VI, Faculté de Neurosciences.p :35.

Rouaki F.(2016). Effet de l'ingestion de l'huile de tournesol oxydée et de la supplémentation en alpha-tocophérol sur certains paramètres structuraux et fonctionnels du tissu cardiaque chez le rat en croissance. Thèse de doctorat de l'Université El-harach/alger, Faculté de Science Alimentaire. p:14.

Sadikovic B., Al-Romaih K., SquireJ.A., ZielenskaM. (2008). Cause and consequences of genetic and epigenetic alterations in human cancer, *Curr. Genomics*. **9** : 394-408.

Saidi –Adimi I. (2018).Recherche et analyse des résidus de pesticides dans la tomate et la courgette cultivées dans la région de Boudouaou et Douaouda.Thèse de Doctorat de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Faculté de science agronomique. p: 5-19.

Salameh P.R., Waked M., Baldi I., Brochard P., Saleh B.A. (2006) .Chronic bronchitis and pesticide exposure: a case-control study in Lebanon. *Eur J Epidemiol*. **21**(9): 681-688.

Sanderson J.T., Boerma J., Lansbergen G.W.A., Van den Berg M. (2002). Induction and Inhibition of Aromatase (CYP19) Activity by Various Classes of Pesticides in H295R Human Adrenocortical Carcinoma Cells.*Toxicology and Applied Pharmacology*.**182**:44-54.

Sarni-Manchado P., Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier. p : 02-11.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Saulsbury M.D., Heyliger S.O., Wang K., Round D. (2008). Characterization of chlorpyrifos-induced apoptosis in placental cells. *Toxicology*. **244**: 98-110.

Sautin Y.Y., Nakagawa T., Zharikov S., Johnson R.J. (2007). Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress. *Am J Physiol Cell Physiol*. **293**(2): C584-596.

Sayre L.M., Moreira P.I., Smith M.A., Perry G. (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità*. **41**(2):143-164.

Schiavone S., Jaquet V., Trabace L., Krause K.H. (2013). Severe Life Stress and Oxidative Stress in the Brain: From Animal Models to Human Pathology / *Antioxid Redox Signal*. **18** (12): 1475-1490.

Sharma D., Sangha G.K. (2018). Antioxidative effects of aqueous extract of broccoli sprouts against Triazophos induced hepatic and renal toxicity in female Wistar rats. *J Appl Biomed*. **16**:100-110.

Sharma P., Singh R., Jan M. (2014). Dose-Dependent Effect of Deltamethrin in Testis, Liver, and Kidney of Wistar Rats. *Toxicol Int*. **21** (2): 131-139.

Sharma G.N., Gupta G., Sharma P. (2018). A comprehensive review of free radicals, antioxidants, and their relationship with human ailments. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr*. **28** :139-154.

Shils M.E., Shike M., Ross A.C., Caballero B., Cousins R.J. (2006). *Modern Nutrition in Health and Disease*. Tenth Edition. Lippincott Williams & Wilkins.

Sies H. (1991). Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med* Vol. **91** (3): 31-38.

Sies H., Stahl W. (1995). Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *The American Journal of Clinical Nutrition*. p: 1315S-1321S.

Sies H. (1999). Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic Biol Med*. **27**(9-10): 916-21.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Singh U., Devaraj S., Jialal I. (2005). Vitamin E, Oxidative Stress, and inflammation. *Annual Review of Nutrition*. **25**: 151-175.

Souza H.P., Laurindo F.R., Ziegelstein R.C., Berlowitz C.O., Zweier J.L. (2001). Vascular NAD(P)H oxidase is distinct from the phagocytic enzyme and modulates vascular reactivity control. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. **280**(2): 658-67.

Stadtman E.R. (1999). Role of oxidant species in aging. *Curr. Med. Chem.* **11** (9): 1105-1112.

Stahl W., Sies H. (1993). Physical Quenching of Singlet Oxygen and cis-trans Isomerization of Carotenoids », *Annals of the New York Academy of Sciences*. 691: 10-19.

Stahl W., Sies H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*. **24**: 345-351.

Stark G. (2005). Functional consequences of oxidative membrane damage. *J Membr Biol*. **205** (1): 1-16.

Storz P., Jakob U., Reichmann D. (2013). Oxidative Stress in Cancer, Oxidative Stress and Redox Regulation. *Media Dordrecht* .p 427-447.

Sturtz L.A., Diekert K., Jensen L.T., Lill R., Culotta V.C. (2001). A fraction of yeast Cu,Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. *J Biol Chem*. **276**: 38084-38089.

Sunol C., Babot Z., Fonfria E., Galofre M., Garcia D., Herrera N., Iraola S., Vendrell I. (2008). Studies with neuronal cells: From basic studies of mechanisms of neurotoxicity to the prediction of chemical toxicity. *Toxicol In Vitro*. **22** (5): 1350-1355.

Suzuki K., Ito Y., Inoue T., Hamajima N. (2011). Inverse association of serum carotenoids with prevalence of metabolic syndrome among Japanese. *Clin Nutr*. **30**: 369-75.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Tan M.C., Van der mark F., Hoojendijk K., Van marrewijk G.A.M., Kool A.J.(1995). Oevelopment of methods for somatic cy bridizatio n of Solanaceae and the analysis of cy brids. *Ac ta Bot ani ca Nee rla nd ica*. p: 35 -45.

Tang J., Neidigh J.L., Cooksey R.C., McClainD.A. (2000). Transgenic mice with increased hexosamine flux specifically targeted to beta-cells exhibit hyperinsulinemia and peripheral insulin resistance. *Diabetes*. **49**(9) :1492–9.

Testud F., Grillet J.P, Nisse C. (2007). Effets à long terme des produits phytosanitaires : lepoint sur les données épidémiologiques récentes. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*. **68** (4) : 394-401.

Thakur D., Singh P., Tripathi C., Bhadauria S., Jain S.K., Tripathi R.K. (2013). In Vitro Immunotoxicity Testing of Pesticides using Human Cytokine Promoter Based Reporter Cell Lines.*Clin Exp Pharmacol*. S4: 001.

Thannickal V.J., Fanburg B.L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling.*Am J Physiol Lung Cell Moll Physiol*. **279**: L1005-28.

Thompson H.S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?*American Journal of Clinical Nutrition*. **72**(2):637- 646.

Tillement J.H. (2001). Protection in vitro des fonctions mitichondriales cérébrales par l'Eresveratrol dans les états d'anoxie suivie de réoxygénation. *Bull. Acad. Med*. p: 1429-1445.

Turrens J.F. (1997).Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain.*Bioscience Rep*. **17**: 3-8.

Unsworth J.B., Wauchope R.D., Klein A.W., Dorn E., Zeeh E., Yeh S.M., Akerblom M., Racke K.D., Rubin B. (1999). Significance of the long-range transport of pesticides in the atmosphere.*Pure Appl. Chem*. **71** (7): 1359-83.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. (2007).Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.*Int. J. Biochem. Cell Biol*. **39**:44-84.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J.(2007).Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* **39** (1): 44-84.

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

Van-Stijin M.F.,Ligthart-Melis G.C.,Boelens P.G.,Scheffer P.G.,Teerlink Y.,Twisk J.W., Houdijk A.P.,Van-Leeuwen P.A.(2008).Antioxidant enriched enteral nutrition and oxidative stress after major gastrointestinal trac surgery.*World J Gastroenterol.***14**:9660-6969.

Vasconcelos S.M.L., Goulart M.O.F., Moura J.B.F., Manfredini V., Benfato M.S., Kubota L.T. (2007).Espécies reactivas de oxigénio et de nitrogénio, antioxydants e marcadores de dano oxidativo em sangue humano : principais métodos analiticoa para sua determinação. *Quim Nova.* **30**(5) : 1323-1338.

Velez De La Calle J.F., Rachou E., Le Martelot M.T., Ducot B.,Multigner L., ThonneauP.F.(2001).Male infertility risk factors in a French military population. *Human Reproduction.***16**(3): 481-486.

Vertuani S., Angusti A., Manfredini S. (2004). The antioxidants and pro-antioxidants network: An overview. *Curr. Pharm. Des.***10**: 1677-1694.

vigourou_villard A.(2006).Niveau d'imprégnation de la population générale aux pesticides : élection des substances a mesuré en priorité. Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et de travail.

Wang M.,Xu X.Y., Yang F., Zhang S.Y., Yang X.J. (2008). Development of an amperometric sensor for simultaneous determination of uric acid and ascorbic acid using 2-[bis(2-aminoethyl) amino] ethanol, 4,40-bipyridine bridgeddicopper (II) complex. *J.Appl. Electrochem.***38**: 1269-1247.

Watanabe-Akanuma M., Ohta T., Sasaki Y.F. (2005).A novel genotoxic aspect of thiabendazole as a photomutagen in bacteria and cultured human cells. *Toxicology Letters,* **158**(3):213-219.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Weber J.B.** (1991). Fate and behaviour of herbicides in soils. *Appl. Plant sci.***5**:2-3.
- Wellen K.E., Thompson C.B.** (2010). Cellular metabolic stress: considering how cells respond to nutrient excess. *Molec Cell.* **40**: 323-32.
- Werstuck G.H.** (2006).Molecular and cellular mechanism by which diabetes Mellitus promotes the development of atherosclerosis. *Biochemistry of atherosclerosis* ed : S. Kchoma. Springer. Newyork. p: 284-297.
- Willems D., Dorchy H., Dufasne D.** (1998).Serum antioxidant status and oxidized LDL in well controlled young type 1 diabetic patients with and without subclinical complications. *Athéroxlerosis suppl.***137**: 561-564.
- Wolinsky I.** (1998). *Nutrition in Exercise and Sport*. 3th edition. New York: CRC Press.
- Yagi K.**(1970). A rapid method for evaluation of autoxidation and antioxidants. *Agric.Biol. Chem.* **34** (1): 142-145.
- Yoshikawa T., Toyokuni S., Yamamoto Y., Naito Y.** (2000). *Free Radicals in Chemistry, Biology and Medicine*. Eds: OICA International, London.
- Yu B.P.** (1994).Cellular defenses against damage from reactive oxygen species.*Physiol Rev.***74**: 139-162.
- Zare S., Behzadi M., Tarzanan M., Beik Mohamadi M., Omid L., Babaei Heydarabadi A., Kazemi S.** (2015). The impacts of pesticides on the health of farmers in Fasa, Iran.*Electron Physician.***7**(4): 1168-1173.
- Zhao P., Wang J., Ma H., Xiao Y., He L., Tong C., Wang Z., Zheng Q., Dolence E.K., Nair S., Ren J., Li J.A.** (2009). Newly synthetic chromium complex-chromium (Dphenylalanine)₃ activates AMPactivated protein kinase and stimulates glucose transport. *Biochem Pharmacol.***77**(6):1002-10.