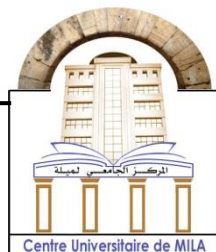


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

**Implication du stress oxydatif dans la toxicité
de l'atrazine**

Présenté par :

- MEGHLAOUI Feriel
- ZAIBET Naila
- SEYER Chahla

Devant le jury :

Présidente : M^{me} O. HARICHE

Examinatrice : M^{me} M. AMIMOUR

Promotrice : M^{me} L. KADECHE

Année Universitaire : 2021/2022



Dédicace



Je dédie ce mémoire

À a Dieu le Tout Puissant , Maître du temps et des circonstances , plein d'amour, de tendresse et de bonté.

À mon père Adel pour ces encouragements .

À ma mère Rahima qui j'aime beaucoup.

À mon frère Ammar qui est le beau et chic .

À mon âme sœur Meriem .

*À mes partenaires et mes soeurs * Zaibet Naila et Seyar Chahla *.*

*À mes amis * Hoda, Warda , Manal, Imane ,Meryem *.*

*À mes chères chats *Maya , Charo , Seucar *.*

À la bibliothèque étudiante Grands salutations et remerciements particuliers pour l'avoir aidé à terminer ce travail

À tous ceux qui me sont chers.

Merci

Feriel





Dédicace



Je remercie Dieu de m'avoir permis de terminer cette étude. Et ridiculisé pour son pauvre serviteur est possible et impossible. Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de gratitude : À mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

À ma chère maman: KARAWET KHADRA

À la lumière de mes yeux mon amour, que j'ai participé avec moi ma joie et ma tristesse, qui a pleuré pour moi a celui qui ma donné l'amour quand j'étais jeune, qui ma soutenu et encouragé durant ces années d'études.

À mon chère papa: ZAIBET AMMAR

A celui qui ma honoré de porter son nom à l'âme pure de mon père, Ce travail est dédié à mon père , décédé trop tôt , qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études . J'espère que , du monde qui est sien maintenant , il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme . Puisse Dieu , le tout puissant , lavoir en sa sainte miséricorde !

À mon chère frères et soeurs

Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

Ma grande soeur SAMIA et son mari Rabie et ses filles BESMALA, YOUSRA, MAYAR, AYA(ayouya).

Mon frère SAMIR et sa femme LAMIA et sa fille ALAA.

Ma soeur FELLA et son mari ABDE RAZAK et ses enfants ANFEL et ABDE RAHMAN.

Mon frère YUCEF et sa femme SAMIHA et ses enfants AHMED YAZEN et MIRAL.

À mon amie

À mon amie et soeur qui garde mes secrets SAMRA, je vous souhaite plus de succès et de succès, si Dieu le veut.

À mes chères binômes

Mes binômes CHEHLA et FERIEL pour sa entente et sa sympathie.

À mes amis: MERYEM et NARIMEN et CHEHLA et FERIEL

À tous ceux qui m'ont aidé même avec un sourire je veux dit merci beaucoup.

Naila





Dédicace



Avant toutes les choses, je remercie Allah, le tout puissant pour m'avoir donné la force et la patience pour réaliser ce travail. Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce travail pour ceux qui m'ont embrassé le cœur et je n'arriverai jamais à leur exprimer mon amour sincère...

Mon père, ma raison d'être l'homme de ma vie SEYAR Abdellah... Ma chère mère GUERDOUH Naïma ...la femme qui a souffert sans me laisser souffrir et qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse.

A mes chères sœurs :Nadjet_ Mouna_ Sara qui n'ont cessé de me soutenir, conseiller et m'encourager tout le long de mes études...

A mon petit frère Mesbah que Dieu me le protège... Sans oublier mes petits poussins Anes - Aridj -Aline- Kossai et Ritadj.

A toutes mes cousins, mes voisins et mes amis que j'ai connu jusqu'à ce moment pour leur amour et leurs encouragements.. surtout mes amis MOHAMED BENABDELLAH Nourhane, MEGHLAOUI Ferial, Manel BELEMRABET, ZAIBET Naïla , DIB Chahrazed, Ikram BOUHELI et ROBAI Sabrina.

Enfin je remercie infiniment mon cher cousin GUERDOUH Hamza pour son soutien moral.

Chahla.





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 Mme. HARICHE Ouahiba Maître de conférences 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 Mme Amimour Mouna 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.

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 (en particulier le pesticide étudié, l'atrazine) sont classés et discutés en fonction de leur capacité à produire un stress oxydatif.

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

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

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. Pesticides (and in particular the pesticide studied, atrazine) are categorized and discussed according to their ability to produce oxidative stress.

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

Keywords: Free radicals, Reactive oxygen species, Oxidative stress, Antioxidants, Natural antioxidants, Pesticide Toxicity, Atrazine.

المخلص

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 أيضاً 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. المبيدات الحشرية (وخاصة المبيد المدروس، الاترازين) صنفتم ونوقشت بناءً على قدرتها على إنتاج الإجهاد التأكسدي.

في هذا العمل سنشير أيضاً الى الدراسات التي يبدو أنها تسلط الضوء على الاترازين كمادة مؤكسدة ومضادات الأكسدة الطبيعية كوسيلة لمكافحة الإجهاد التأكسدي .

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

Liste des abréviations



Liste des abréviations

Enzymes/ions/substances :

A[·]	: radical ascorbyle
ADN	: Acide Désoxyribo Nucléique
ADP	: Adénosine diphosphate
AGPI	:Acides Gras Polyinsaturés
Asc[°]	: Radicale ascorbyle
AsCH	:L'ascorbate
ATP	: Adénosine Tri-Phosphate
Au	: Acide urique
BSA	: Sérum albumine bovine
CAT	: Catalase
CH₂	: Méthylène
Cl²⁻	: Chlore
Cl^{o·}	: Monoxyde de chlore
CO₂[·]	: Dioxyde de carbone
CoQ10	: Coenzyme Q10
Cu	: Cuivre
Cu⁺	: ions cuivreux
Cu²⁺	: Ion cuivre
Cyt c.	: Cytochrome C
DRO	: dérivés des espèces réactives de l'oxygène
DTNB	: l'acide 5,5'-dithio-bis-2- nitrobenzoïque
e⁻	: Electron
ERN	: Espèces réactives de l'azote
ERO	: Espèces réactives oxygénées
EPA	: L'Agence de protection de l'environnement
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
FAS	: Fonds d'aide sociale
Fe	: Fer
Fe²⁺	: Ion ferreux
Fe³⁺	: Ion ferrique
FSH	: hormone de stimulation folliculaire

GABA	: Acide aminobutyrique
Gpx	: Glutathion peroxydase
GR	: Glutathion réductase
GSH	: Glutathion réduit
GR•	: Sentier de grande randonnée
GSH-PX	: Glutathion peroxydases
GSSG	: Glutathion oxydé
GST	: Glutathion transférase
H⁺	: Proton d'Hydrogène
HO	: L'hème oxygénase
H₂O	: Eau
H₂O₂	: Peroxyde d'hydrogène
HO₂•	: Hydroperoxyde
HOCl	: Acide hypochlorique
LDL	: Lipoprotéine de base densité
LH	: hormone lutéinisante
MAPKinaze	: Protéines kinases activées par les mitogènes
MPO	: myéloperoxydase
MDA	: Malondialdéhyde
Mn	: Manganèse
NADP	: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NADPH	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NR	: Non radical
NO	: Oxyde nitrique
NO•	: Monoxyde d'azote
NO₂H	: Acide nitreux
O₂	: L'oxygène ou dioxygène
O₂•⁻	: Anion superoxyde
O₂²⁻	: Anion peroxyde
¹O₂	: L'oxygène singulet
O₃	: Ozone
OH	: Hydroxyle
OH•	: Radical hydroxyle
OMS	: l'Organisation Mondiale de la Santé (ONOO- :

ONOO-	: Peroxynitrite
ONOO•	: oxydant le peroxynitrite
ONOOH.	: Nitroperoxyde
R•	: Radical libre oxydant
Pi	: phosphate inorganique
ROS	: Reactive Speaces Oxygen
RL	: Radical libre
RO•	: Alkoxyde
RO₂•	: Peroxyle
ROOH	: Hydroperoxyde lipidique
Se-Cys	: Séléno-cystéine
SH	: Un groupement sulfhydrile
SOD	: Superoxyde dismutase
UV	: Ultra-Violet
Zn	: Zinc
α-TocH	: α -tocophérol
•NO₂	: Dioxyde d'azote

Unités

%	: Pourcentage
°C	: Degré Celsius
cm	: Centimètre
h	: Heure
g	: Gramme
M	: Molaire
mg	: Milligramme
min	: minute
ml	: Millilitre
mM	: Millimole

nm : Nanomètre

nmol : Nanomole

μl : Microlitre

μM : Micromolaire

Table des illustrations



Liste des figures

Figures	Titre	Page
1	la formation des radicaux libres	5
2	la stabilité des radicaux libre	5
3	Voie métabolique de l'oxygène et des espèces réactives de l'oxygène (ERO)	8
4	Fuite d'électrons source de ROS au sein de la chaîne de transport d'électrons	11
5	Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène	13
6	mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature de produits terminaux formés	14
7	Nature de quelques modifications des chaînes latérales acides aminés des protéines après attaque radicalaire	15
8	Lésions de ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules	16
9	Aperçu des espèces oxygénées activées (EOA)dérivant de oxygène et systèmes de protection permettant de limiter effet toxique de ces espèces	18
10	Action des anti-oxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de oxygène	18
11	Cycle élimination de H ₂ O ₂ par le GSH	20
12	Formule semi-développée du glutathion réduit (GSH)	21
13	Structure chimique des tocophérols	24
14	Régénération du tocophérol (vit.E) par acide ascorbique (vit.C).	25
15	Structure de l'acide ascorbique	25
16	Principaux caroténoïdes antioxydants	26
17	Structure du noyau phénol	27
18	la place centrale du stress oxydant au sein pathologie	28
19	Interaction entre les pesticides et les écosystèmes	34
20	Mode d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides	35
21	Mode d'action de l'atrazine au sein des plantes	38

Table des illustrations

22	structure chimique de l'atrazine	38
23	Principe de dosage du glutathion.	43
24	la gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1 mg/ml) pour le dosage des protéines	45
25	Principe de dosage du malondialdéhyde	45

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Principales ERO radicalaires et non-radicalaires	7
2	Classification et caractéristiques des groupes des pesticides	32
3	Propriétés physico- chimiques de l'atrazine	39

Table des matières



Table des matières

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des abréviations

Table des illustrations

Table des matières

Introduction : 1

Chapitre I : Stress oxydant

I. Stress oxydant 5

1. Radicaux libres 5

1.1. Généralité sur les radicaux libres 5

1.2. Les radicaux libres biologiques 6

2. Définition du stress oxydant 8

3. Mécanismes de production des principales ERO 8

3.1. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ 9

3.2. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 9

3.3. Le radical hydroxyle HO^{\cdot} 10

3.4. L'oxygène singulet 1O_2 10

4. Sources des ERO ou ROS 10

4.1. Sources endogènes 10

4.2. Sources exogènes 12

5. Cibles biologiques des ROS 13

5.1. Peroxydation lipidique 13

5.2. Oxydation des protéines 14

5.3. Oxydation de l'ADN 15

6. Antioxydants.....	16
6.1. Définition	16
6.2. Mode d'action des antioxydants	17
6.3. Les systèmes de défense antioxydants	17
6.3.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques	18
6.3.2. Les systèmes antioxydants non-enzymatiques	21
6.3.2.1. Antioxydants non-enzymatiques endogènes	21
6.3.2.2. Antioxydants non-enzymatiques exogènes	23
7. Stress oxydant et pathologies humaines	27

Chapitre II : Les pesticides

II. Pesticides	30
1. Définition et utilisation	30
2. Classification	30
2.1. Le premier système de classification :	30
2.2. Le deuxième système de classification	31
3. Mode d'action des pesticides.....	32
4. Impacts des pesticides sur l'environnement et la santé humaine	33
4.1. Effets sur l'environnement.....	33
4.2. Effet sur la santé.....	34
5. Les principaux mécanismes de toxicité des pesticides	36
6. Généralité sur le pesticide étudié : l'atrazine.....	37
6.1. Présentation.....	37
6.2. Utilisation et mode d'action	37
6.3. Propriétés physico-chimiques	38
6.4. Devenir dans l'environnement.....	39
6.5. Toxicité de l'atrazine	40

Chapitre III : Méthodes de dosage

I. Méthodes de dosage des biomarqueurs du stress oxydatif	42
---	----

1. Le choix des biomarqueurs du stress oxydant.....	42
2. Méthodes de dosage des principaux biomarqueurs du stress oxydatif.....	43
2.1. Dosage du glutathion réduit (GSH)	43
2.1.1. Dosage des protéines	44
2.2. Dosage de malondialdéhyde (MDA)	45
2.3. Dosage de l'activité de la GPx.....	46
2.4. Dosage de la catalase (CAT).....	47
2.4.1. Mode opératoire	48
2.4.2. Calcul de l'activité de CAT :.....	48
<i>Chapitre IV: Discussion d'études</i>	
II. Discussion.....	50
Conclusion et perspectives	54
Références bibliographiques	57

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-risk, 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 (Badgajar 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).

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). Toutefois, 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 un pesticide (l'atrazine) 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 et du pesticide étudié (l'atrazine), en particulier.

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 de l'atrazine 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.

Etude bibliographique



Chapitre I
Stress oxydant



I. Stress oxydant

Radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même pour le grand public :

1. Radicaux libres

1.1. Généralité sur les radicaux libres

Un radical libre (fig.1) est une espèce chimique « libre », contenant un ou plusieurs électrons non appariés (célibataires) dans son orbitale atomique sur la couche électronique la plus externe. Les électrons sont des corpuscules chargés électriquement et qui par un mouvement de rotation sur eux-mêmes, induisent un champ magnétique appelé « SPIN », cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique (Pillou, 2014).

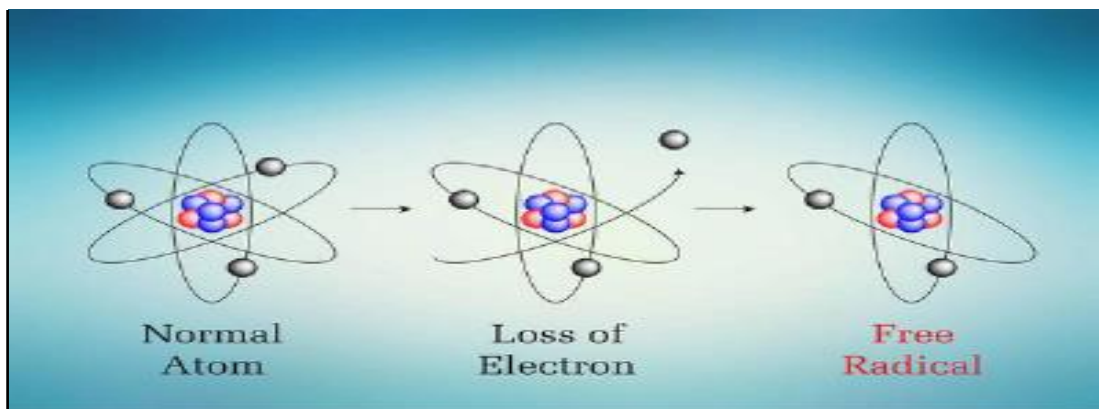


Figure 1 : la formation des radicaux libres (Pillou, 2014)

Du fait de leurs instabilités énergétiques (fig.2), les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à un état stable en donnant un électron ou en prenant un à une autre molécule ce qui induit l'apparition des réactions d'oxydation en chaîne (Asmus et Bonifacic, 2000).

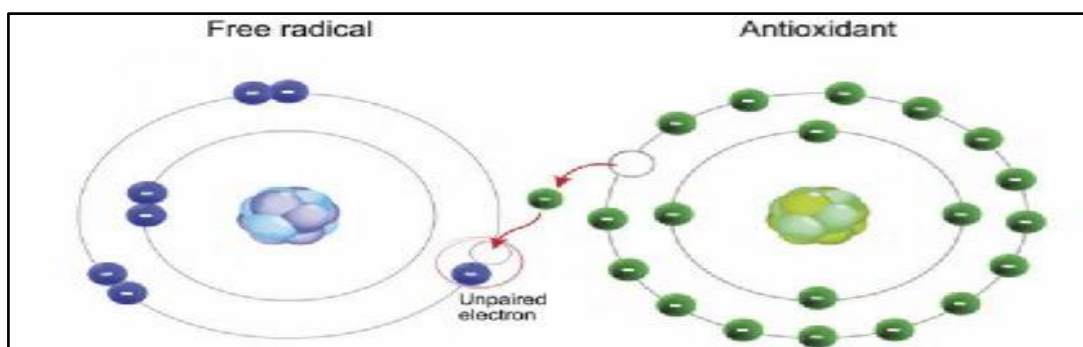


Figure 2 : la stabilité des radicaux libre (Asmus et Bonifacic, 2000)

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. ($\text{A} : \text{B} \rightarrow \text{A}^\bullet + \text{B}^\bullet$) ;
- L'élimination ou la perte d'un électron par un non radical. ($\text{NR} - e. \rightarrow \text{R}^\bullet$) ;
- L'addition d'un électron libre à un non radical ($\text{NR} + e \rightarrow \text{R}^\bullet$).

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 ($\text{A}^\bullet + \text{B}^\bullet \rightarrow \text{AB}$) ; si le radical rencontre un non radical, un nouveau radical sera formé ($\text{A}^\bullet + \text{B} \rightarrow \text{A} + \text{B}^\bullet$) et donner 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'électrons à partir de l' O_2 (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 $\text{O}_2^{\bullet -}$, et le radical hydroxyle OH^\bullet ; ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^\bullet ;
- **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 $^1\text{O}_2$, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) 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 réactive oxygen species (ROS). 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.

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

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	
radicalaire	Non radicalaire
- Radical superoxyde: $O_2^{\cdot-}$	- Peroxyde d'hydrogène : H_2O_2
- Radical hydroxyle: OH^{\cdot}	- Ion hypochlorite : ClO^-
- Peroxyle: RO_2^{\cdot}	- Ozone : O_3
- Alkoxy: RO^{\cdot}	- Oxygène singulet : 1O_2
- Hydroperoxy: HO_2^{\cdot}	- Peroxynitrite : $ONOO^-$

Toutes ces espèces oxygénées sont produites par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. 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 oxydatif » a été décrit pour la première fois en 1985 par Helmut Sies, qui l'a défini comme étant « une perturbation de l'équilibre entre les oxydants et les antioxydants, en faveur des premiers » (Sies, 1985). Selon cette définition, les oxydants endommagent les constituants cellulaires lorsque les antioxydants ne sont pas en quantité suffisante pour les neutraliser. Cependant, un déséquilibre de la signalisation redox peut se produire sans effet néfaste obligatoirement.

Pour cette raison, une nouvelle définition du stress oxydatif a été proposée par Sies et Jones en 2007, comme étant un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants en faveur des oxydants, conduisant à une perturbation de la signalisation redox et/ou des mécanismes de contrôle des dommages moléculaires qui en résultent (Sies et Jones, 2007).

Différentes voies cellulaires contribuent à la production des dérivés ou des espèces réactives de l'oxygène (DRO, ERO ou ROS) qui sont générées dans divers compartiments cellulaires, à savoir la mitochondrie, le réticulum endoplasmique, la membrane plasmique ou le cytosol, et qui sont à la base du stress oxydatif.

3. Mécanismes de production des principales ERO

Parmi les espèces radicalaires, on peut distinguer quatre espèces principales (fig.3) : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}) et l'oxygène singulet (1O_2) :

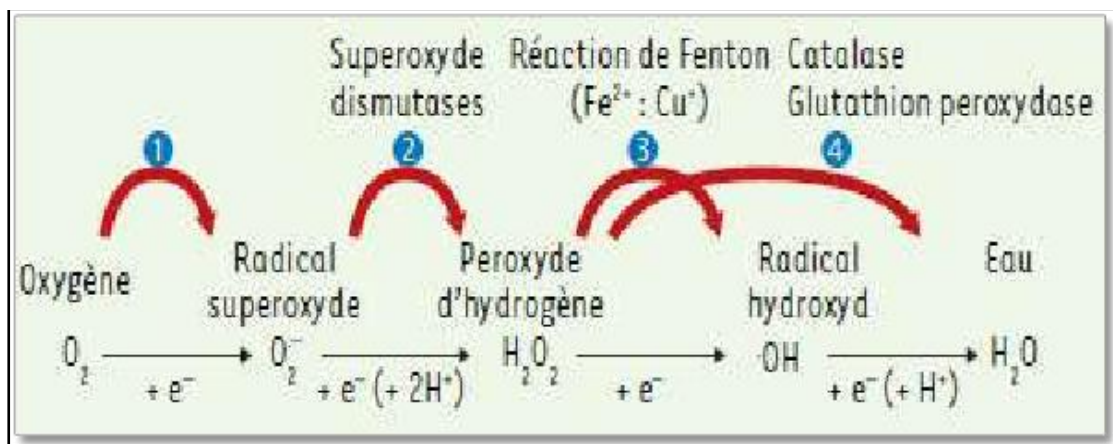
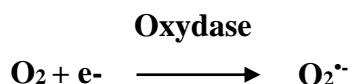


Figure 3 : Voie métabolique de l'oxygène et des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Camille et Mireille, 2011)

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

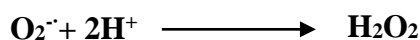
L'anion superoxyde est généré par différents systèmes enzymatiques notamment des oxydases (ex. NADPH oxydase dans la membrane lipidique et cytochrome oxydase dans la chaîne respiratoire mitochondriale). Cette réaction se fait grâce au transfert d'un électron du cofacteur enzymatique à l'oxygène.



La durée de vie du radical $O_2^{\cdot-}$ ainsi créé est très courte du fait de sa forte réactivité, il va ainsi interagir rapidement avec son environnement direct (molécules de solvant). L'anion superoxyde est souvent désigné comme une des espèces permettant la production de nombreuses autres espèces réactives de l'oxygène (Bergendiet al., 1999).

3.2. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Le peroxyde d'hydrogène est formé secondairement par dismutation de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ par réduction mono électrique et elle est catalysée par des ions métalliques, mais il peut être produit à partir de l'eau sous l'action de radiation ionisante qui vont fournir l'énergie nécessaire.



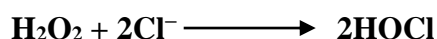
En présence d'ion ferreux Fe^{2+} , il se décompose selon la réaction de FENTON, pour donner un radical hydroxyle OH^{\cdot} très agressif et un ion hydroxyle OH^- inoffensif :



De plus, le peroxyde d'hydrogène peut réagir lui même avec l'anion superoxyde, la réaction étant catalysée par le fer, pour aboutir au radical hydroxyl, selon la réaction d'ABER WEISS :



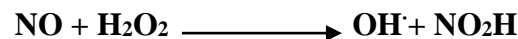
En outre le peroxyde d'hydrogène peut réagir dans les milieux intracellulaires avec des anions de chlore aboutissant ainsi à la formation d'acide hypochloreux. :



Cet acide peut réagir avec les groupements amines de certains composés biologiques (e.g. protéines, lipides et ADN), entraînant leur dénaturation (Gutteridge et al., 1993).

3.3. Le radical hydroxyle HO[•]

Le radical hydroxyle est le plus instable des radicaux libres de l'oxygène, car il est le plus réactif et le plus toxique, sa durée de vie étant extrêmement courte de l'ordre de 10⁻⁹s. Le radical hydroxyle réagit de manière non spécifique avec son environnement (comme l'ADN ou les protéines), il intervient donc comme un initiateur de la peroxydation lipidique ayant comme résultat la dégradation de la membrane lipidique. Il peut être formé à partir du peroxyde d'hydrogène, ou par des nombreux polluants comme la cigarette (Gutteridge et al., 1993).



3.4. L'oxygène singulet ¹O₂

L'oxygène singulier ¹O₂ n'est pas un radical libre mais une molécule en état d'excitation se comportant comme un radical libre. Il peut réagir avec différents accepteurs d'électrons pour produire des peroxydes et de nouveaux radicaux libres (Pierre, 1991).

Toutefois, il existe d'autres ERO tel que le monoxyde d'azote (NO[•]), 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 O₂^{•-} pour former un puissant oxydant le peroxydinitrite (ONOO[•]), qui peut secondairement se décomposer en d'autres oxydants comme [•]NO₂ et le OH[•] (Densiov et Afanas'ev, 2005).

4. Sources des ERO ou ROS

Les RL sont produits dans l'organisme par de nombreux mécanismes tant endogènes qu'exogènes (Halliwell, 2006) :

4.1. Sources endogènes

Les ERO produits d'une manière endogène proviennent essentiellement du métabolisme mitochondrial (Pattwell et Jackson, 2004), du peroxydosome (Boveris et al., 1972), du réticulum endoplasmique (De et Baudhuin, 1966) et de NADPH oxydase (Krause, 2004) :

- **Les mitochondries**

La mitochondrie est considérée comme une des principales sources de ROS dans la cellule par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire (fig.4). 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 Popel, 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 (O_2) comme accepteur final d'électrons (Nicholls et Ferguson, 2002).

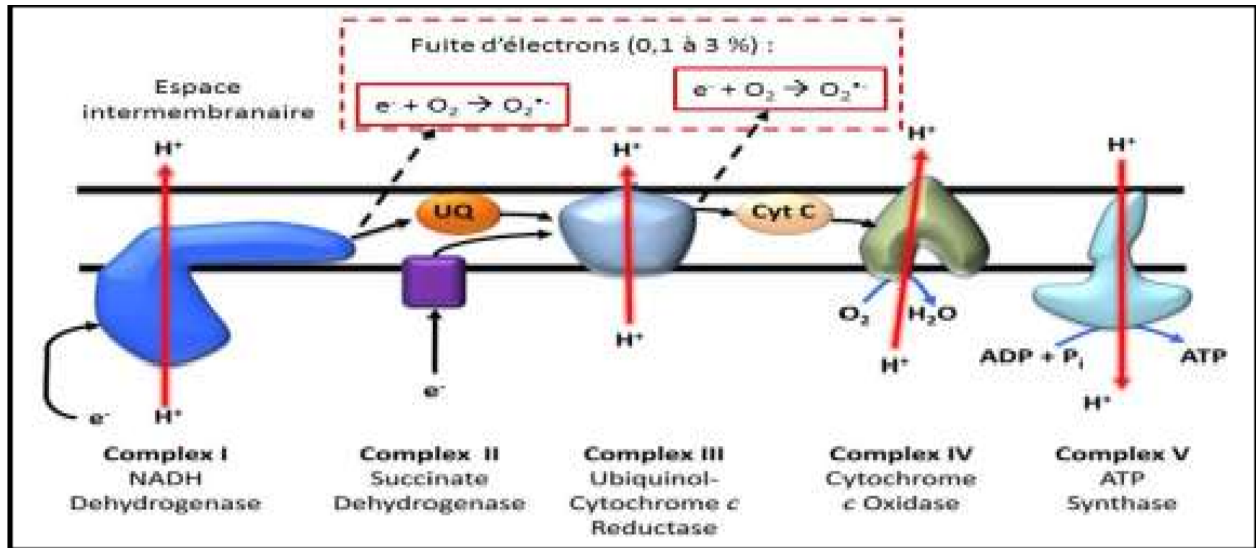


Figure 4 : Fuite d'électrons source de ROS au sein de la chaîne de transport d'électrons (D'après Ghoulé et al., 2011)

(UQ : Ubiquinone ; Cyt C : Cytochrome C)

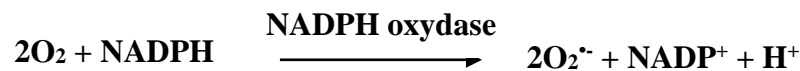
La réduction de l'oxygène en eau nécessite l'apport de quatre électrons (Beckman et Ames, 1998). Or, des réductions à un seul électron, produisant des anions superoxydes, peuvent aussi survenir (Abele et al., 2002). Cette réduction partielle d'oxygène dans la mitochondrie est due à la fuite d'électrons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

La fuite d'électrons se produit principalement au niveau des complexes I (NADH deshydrogénase) et III (ubiquinone – cytochrome c réductase), et mène à la production du radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), 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).

- **La NADPH oxydase**

La NADPH oxydase joue un rôle fondamental dans la réponse immunitaire et plus précisément dans la lutte contre les micro-organismes (Babior, 1999). En effet, lors de la phagocytose, cette enzyme présente dans la membrane plasmique des phagocytes, catalyse la

formation d'O₂^{•-}. Il existe aussi une NADPH oxydase dans des cellules non phagocytaires dont le rôle serait de réguler la croissance cellulaire (Krause, 2004).



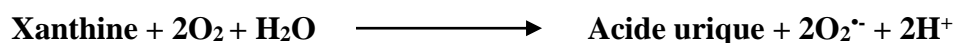
- **Les peroxysomes**

Les peroxysomes sont une importante source de production d'H₂O₂ cellulaire (Boveris et al., 1972). Toutefois, l'H₂O₂ 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 (Dalle-Donne et al., 2006).

- **La xanthine oxydases**

La xanthine oxydase catalyse la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique en condition de forte demande d'ATP et de déficit en oxygène. Mais, elle peut également catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique, notamment lors d'ischémie-reperfusion ou d'hypoxie. Dans cette réaction, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électron produisant ainsi l'O₂^{•-} (McKelvey et al., 1988 ; Parks et al., 1988).

Xanthine oxydase



- **Le réticulum endoplasmique**

Le réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes qui catalysent une série de réactions pour détoxifier les molécules liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques (Freeman et al., 1983 ; Turrens et al., 1982). La plus connue de ces enzymes est le cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques, produisant ainsi des ROS (Morel et al., 1999). Il semble que cette production radicalaire régule certaines fonctions du réticulum.

4.2. Sources exogènes

L'environnement dans lequel nous vivons tout comme notre mode de vie sont 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, en effet, 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

La production excessive des espèces réactives d'oxygène provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (fig.5). L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des autoanticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (Favier, 2003).

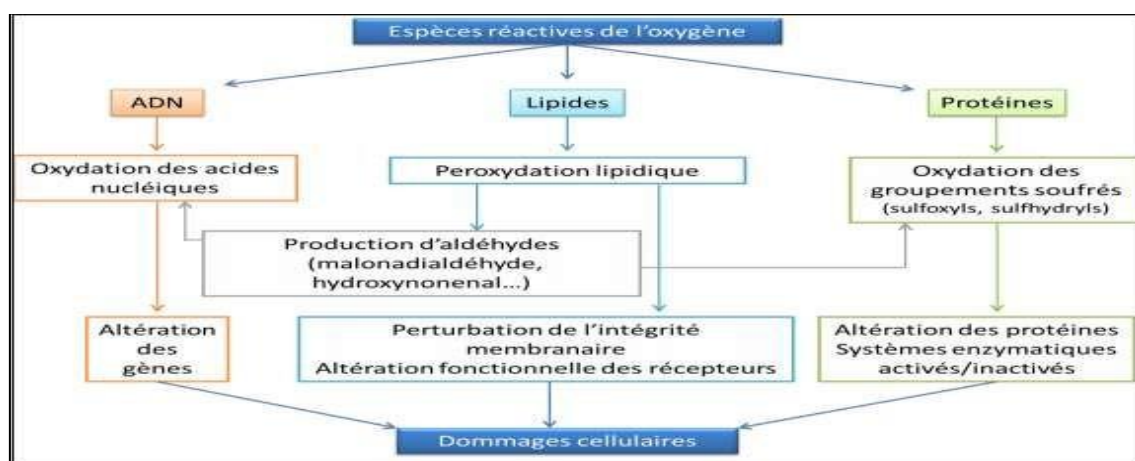


Figure 5 : Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (Monteil, 2004)

5.1. Peroxydation lipidique

Les premières cibles privilégiées de l'attaque radicalaire sont les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés, qui sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation (Pamplona et al., 2000 ; Hulbertl, 2005). La peroxydation lipidique (fig.6) se déroule en trois phases suivantes :

❖ L'initiation

Consiste à l'arrachement par le radical libre d'un atome d'hydrogène d'un groupement méthylène (-CH₂-) surtout s'il est adjacent à deux doubles liaisons, en présence d'O₂ le radical carboné est transformé en radical pyroxyloxy RO₂[•].

❖ La propagation

Le radical RO₂[•] enlève un hydrogène à un nouvel AGPI voisin qui à son tour produira un radical R[•] puis un radical RO₂[•], une réaction en chaîne s'installe.

❖ La terminaison

Cette phase consiste à former des composés stables issus de la rencontre entre deux espèces radicalaires ou le plus souvent par la réaction d'un radical avec une molécule antioxydante dite « Briseur de chaîne » (Kohen et Nyska, 2002). En présence des métaux de transition, les hydroperoxydes formés peuvent subir un clivage au niveau des liaisons C-C pour donner naissance à divers produits de décompositions : le malondialdéhyde (MDA), le 4-hydroxynonénal représentant les produits les plus toxiques de la peroxydation lipidique (Lehucher-Michel, 2001).

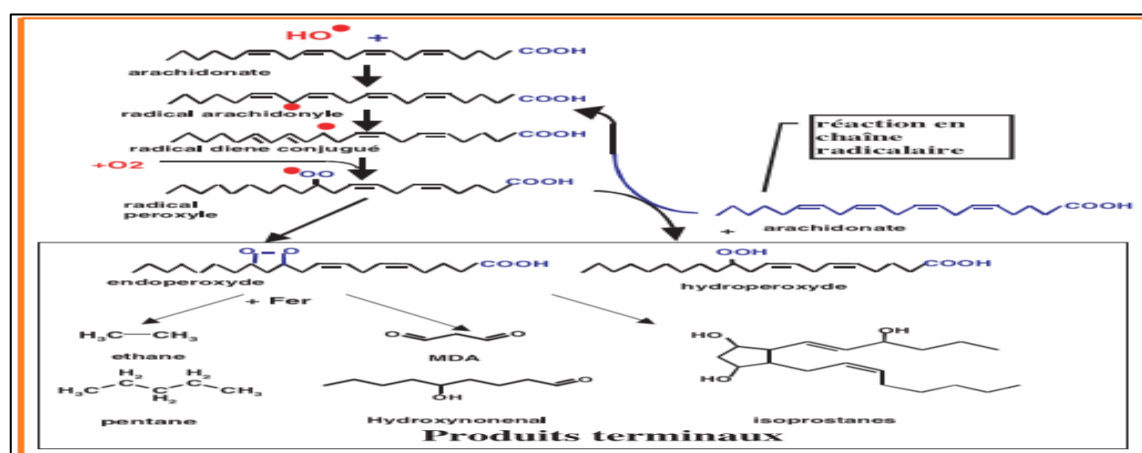


Figure 6 : mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature de produits terminaux formés.(D'après Favier A., 2003)

5.2. Oxydation des protéines

Tout comme les lipides, les protéines peuvent également être la cible de réactions radicalaires ou oxydatives et subir des modifications sous l'action des ERO et ERN. Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le cuivre et le fer (Servais, 2004). Les protéines atteintes peuvent se fragmenter ou se dénaturer avec l'altération de leurs structures primaires et secondaires. On peut observer une oxydation des chaînes latérales des acides aminés (fig.7) notamment de la cystéine et de la méthionine, avec formation de ponts disulfures (Stadtman, 1993).

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées ou inactivées. Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, récepteur...) et deviennent beaucoup plus sensible à l'action des protéases (Ott, 2007).

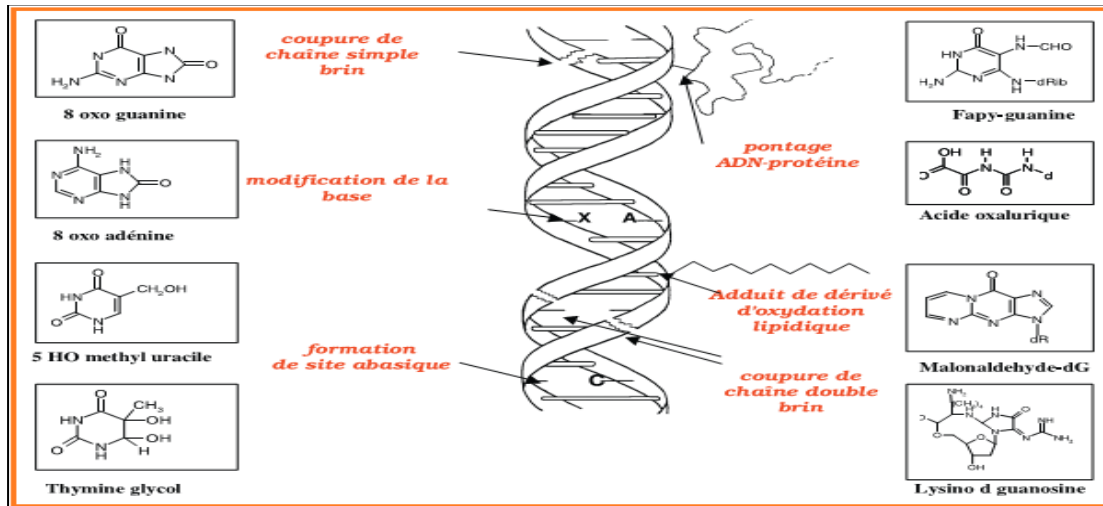


Figure 8 : Lésions de ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003).

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 à des concentrations faibles par rapport à celles d'un substrat oxydable, retarde ou empêche l'oxydation de ce substrat de manière significative (Halliwell, 1991).

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 (Delattre et al., 2005). Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous organismes, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires (Cano et al., 2006).

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

On distingue deux sources d'antioxydants (fig.9), l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Haleng et al., 2007).

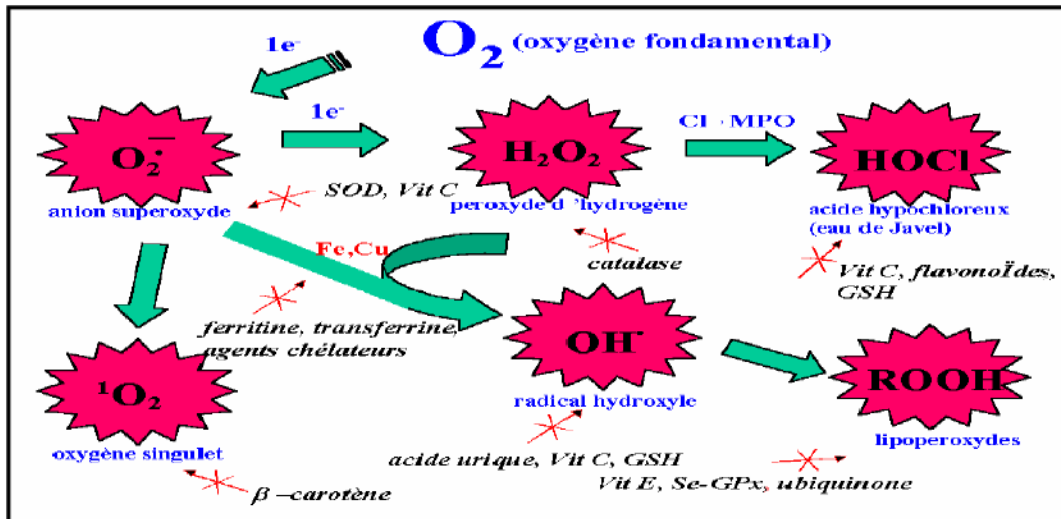


Figure 9 : Aperçu des espèces oxygénées activées (EOA) dérivant de l'oxygène et systèmes de protection permettant de limiter l'effet toxique de ces espèces (Pince ma il, 1998).

6.3.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques

Les systèmes antioxydants enzymatiques sont d'origine endogène. Ces enzymes sont élaborées par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (Mika et al., 2004). Trois types d'enzymes antioxydantes sont mis en œuvre pour la destruction des espèces réactives de l'oxygène. Ces différentes enzymes sont en interrelation dans la régulation du stress oxydant intracellulaire (fig.10).

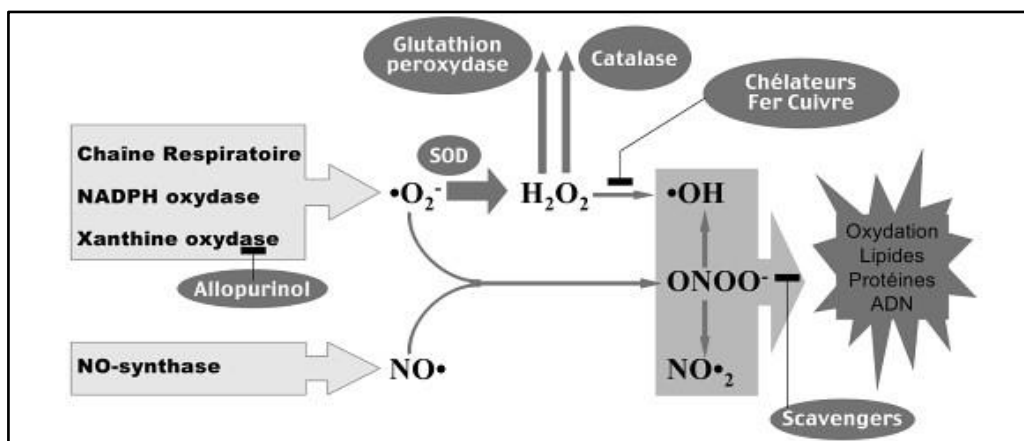


Figure 10 : Action des anti-oxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène (Boubekri C, 2014).

- **La Superoxyde dismutase (SOD)**

C'est une métalloprotéine ubiquitaire chez les eucaryotes (Jiang, 2002). Elle 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) :



Il existe deux types de SOD selon la nature métallique de leur cofacteur : une SOD cytoplasmatique Cu et Zn dépendante et la SOD mitochondriale Mn dépendante. C'est la découverte de ces deux enzymes dans les cellules qui a permis de démontrer pour la première fois l'existence de radicaux libres dans les organismes vivants, phénomène supposé totalement impossible par les chimistes du fait de leur danger potentiel. Ainsi, c'est en démontrant la réalité de puissants systèmes antioxydants enzymatiques endogènes que Mc Cord et Fridovitch ont mis en évidence pour la première fois l'importance du concept du stress oxydant (McCord et Fridovich, 1970).

- **La Catalase (CAT)**

Ce sont des enzymes présentes dans les peroxysomes des cellules végétales et animales, qui catalysent la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Valko, 2006) :



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, 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).

La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Lors de cette réaction (fig.11) deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion-disulfure (GSSG).

La glutathion réductase, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons. La concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de le réduire constamment pour que la GPx maintienne sa fonction (Halliwell, 2001).

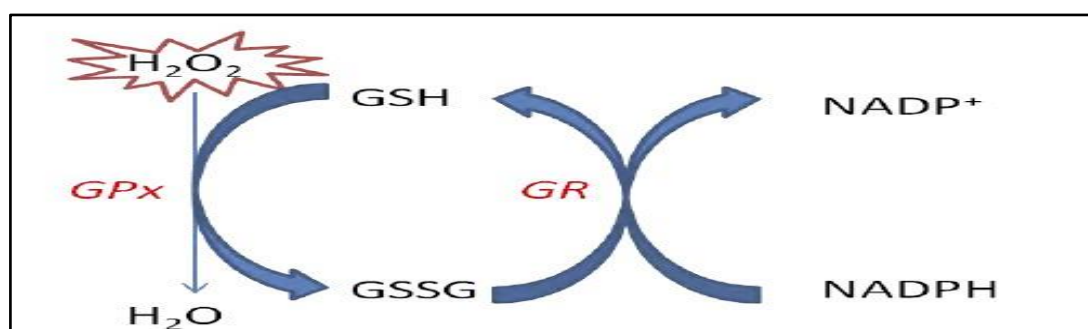


Figure 11 : Cycle élimination de H_2O_2 par le GSH (William, 2013).

- **La glutathion S-transférase (GST)**

La GST est une famille d'enzymes multifactorielles présentes chez tous les organismes (Renuka al., 2003). La GST est un système très important dans la protection de la cellule contre les ERO par sa capacité de conjuguer le glutathion avec les composés électrophiles et la réaction des peroxydes (Zhihua et al., 2004).

- **L'hème oxygénase (HO)**

Le système (HO) est constitué de trois iso enzymes : la forme HO-1 inductible, la forme HO-2 constitutive et la forme HO-3 qui a été récemment clonée. C'est une enzyme qui catalyse la

dégradation de l'hème. Ses produits de dégradation sont la biliverdine, du fer et du monoxyde de carbone. L'effet Protecteur de la HO contre le stress oxydant est indirect, puisqu'il est relié au fait que :

- ✓ La biliverdine se transforme en bilirubine à activité antioxydante (Ryter et Tyrell, 2000) ;
- ✓ Le fer produit par l'activité de l'HO stimule la synthèse de la ferritine, qui est également impliquée dans la réponse antioxydante (Milane, 2004).

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

- **Le Glutathion (GSH)**

Le glutathion (fig.12) est un tripeptide, formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine : γ -L-Glutamyl-L-cystéinyglycine. Le glutathion est très abondant dans le cytosol, dans les noyaux et dans les mitochondries, sa forme oxydée est GSSG, glutathion disulfure (Masella et al., 2005).

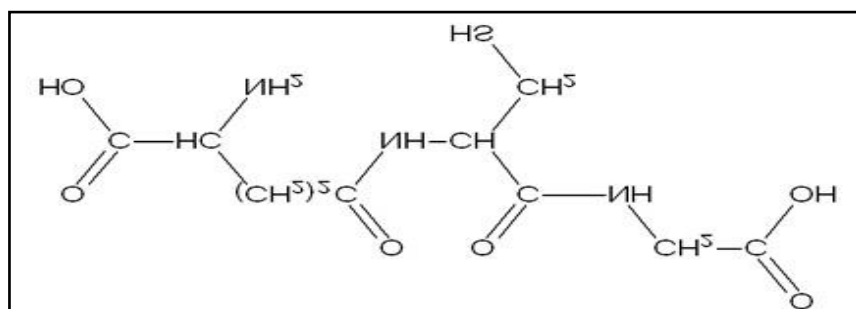
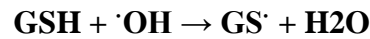


Figure 12 : Formule semi-développée du glutathion réduit (GSH)

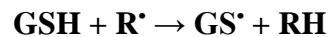
(D'après Sies, 1999).

La forme réduite représentant environ 98 % du glutathion total. Le GSH participe de façon prépondérante aux mécanismes de défense cellulaires grâce à sa fonction sulfhydryle (-SH) à l'origine d'une grande réactivité et d'un puissant pouvoir réducteur. 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 al., 1992).

La fonction thiol confère au glutathion un rôle d'antioxydant, c'est-à-dire de réducteur (donneur d'électron ou d'atome H) qu'il exerce vis-à-vis de nombreuses espèces oxydées, et en particulier vis-à-vis de l'eau oxygénée et des radicaux hydroxyles (Karoui et al., 1996).



Toutefois, le rôle protecteur de GSH semble provenir de sa capacité à réagir avec les radicaux centrés sur le carbone R \cdot :



Les Thiyles radicaux générés peuvent se dimériser pour former le produit non radicalaire, le glutathion oxydé (GSSG) (Hwang et al., 1992) :



- **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 $_2\cdot$), de radicaux hydroxyle (OH \cdot) et d'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$). 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).

D'autres antioxydants non enzymatiques endogènes dont leur rôle est aussi important, notamment la bilirubine, le coenzyme Q10 et l'acide lipoïque.

- **La Bilirubine**

La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules du système réticuloendothéliale (foie, rate et moelle osseuse) chez les mammifères. C'est un composé non hydrosoluble, elle se lie à l'albumine dans un rapport stœchiométrique 1/1, ce qui empêche sa pénétration dans des tissus riches en lipides tels que le cerveau.

La bilirubine est un piègeur d'oxygène singulet et de radicaux peroxydes RO_2^* et protège ainsi l'albumine et les acides gras qui y sont associés des attaques radicalaires (Neuzil et al., 1993).

- **La Coenzyme Q10**

La coenzyme Q10, forme prédominante d'ubiquinone chez l'homme et l'animal, peut agir comme un antioxydant liposoluble, en complément de son rôle dans le métabolisme énergétique. Sa fonction serait de stimuler un recyclage efficace de la vitamine E, plutôt que d'agir directement sur les R^* (Tessier et al., 1995).

La coenzyme Q10 est un transporteur d'électrons présent dans la chaîne oxydative mitochondriale, dans les membranes cellulaires, dans le plasma et dans les lipoprotéines. Elle est capable de donner des électrons et permet à ce titre une protection des membranes contre la lipoperoxydation (Powers et Jackson, 2008).

6.3.2.2. Antioxydants non-enzymatiques exogènes

Un certain nombre de substances d'origine alimentaire s'opposent à la propagation des radicaux libres, très souvent en formant à partir d'un radical très réactif un autre radical beaucoup moins réactif. Elles sont capables de neutraliser un seul radical libre par molécule : on les appelle pour cela des piègeurs stœchiométriques. Ils n'agissent qu'à des concentrations élevées et ne jouent qu'un rôle négligeable par rapport aux enzymes précédentes. Certains protecteurs stœchiométriques sont régénérables et se comportent comme des agents presque catalytiques, capables d'éliminer de nombreux radicaux nocifs.

- **La Vitamine E**

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identique à celles de la famille des tocophérols (fig.13). Sa forme naturelle inclut

quatre tocophérols isomères (α , β , γ et δ) avec une activité antioxydante variable (Carr et al., 2000).

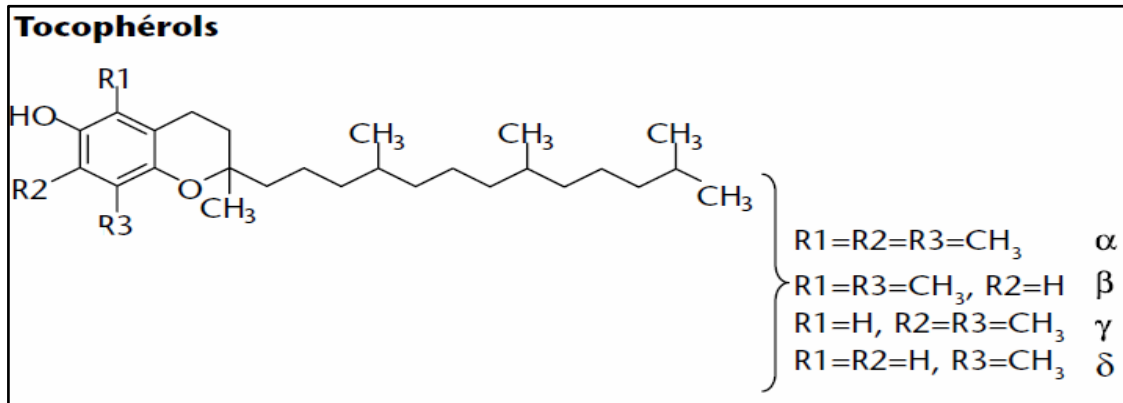


Figure 13 : Structure chimique des tocophérols (Laguerre et Al., 2007).

Elle est liposoluble et s'incorpore facilement dans les membranes cellulaires qui, étant riches en acides gras polyinsaturés facilement oxydables et qui sont très exposées aux dommages induits par les radicaux libres. Elle réagit avec les radicaux peroxydes (RO_2^*) qui, sont fabriqués dans les membranes pour former un radical α -tocophéryl ($\alpha-T^*$) plus stable protégeant ainsi les membranes cellulaires et les lipoprotéines :



De plus, l' α -tocophérol capte les radicaux superoxydes (sous leur forme protonée HO_2^*), les radicaux hydroxyles OH^* , ainsi que l'oxygène singulet 1O_2 (Gardès-Albert et al., 2003).

Bien que la concentration d' α -tocophérol soit relativement faible in vivo, le recyclage de ce dernier (fig.14) est assuré par une consommation optimale de vitamine C (Leger, 2006).

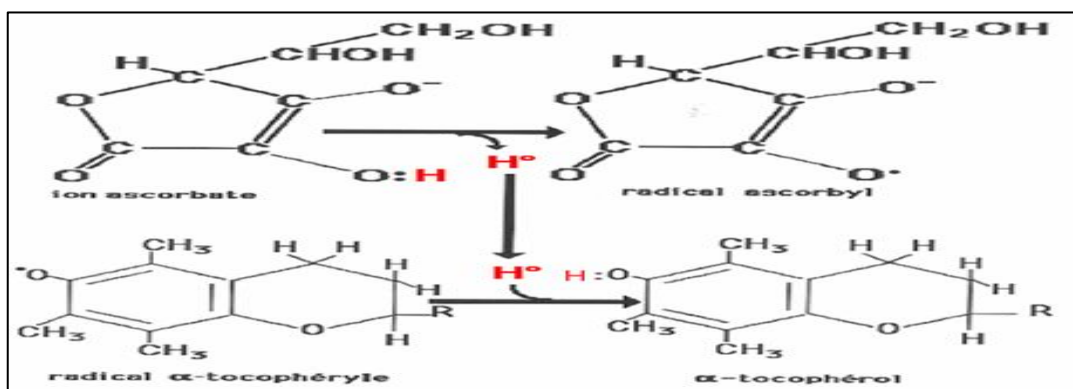


Figure 14 : Régénération du tocophérol (vit.E) par acide ascorbique (vit.C).

(Leger , 2006)

- **La vitamine C**

La vitamine C (fig.15), ou acide ascorbique, est une molécule hydrosoluble (Wickens, 2001). C'est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés puisqu'il réagit non seulement avec les radicaux hydroxyles $\cdot\text{OH}$, mais aussi avec les radicaux superoxydes $\text{O}_2^{\cdot-}$ (et leur forme protonée HO_2^{\cdot}). En outre, l'ascorbate capte les radicaux peroxydes $\text{RO}_2^{\cdot-}$ en réagissant avec ces divers oxyradicaux.

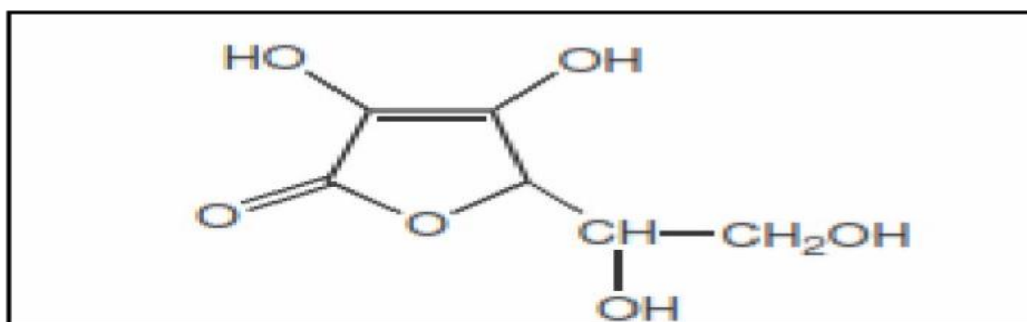


Figure 15 : Structure de l'acide ascorbique (Diallo, 2005)

L'ascorbate (AscH^-) est oxydé en radical ascorbyle ($\text{Asc}^{\cdot-}$) qui est relativement inerte vis-à-vis des matériaux biologiques (Gardès-Albert et al., 2003). Elle réagit également avec le radical tocophéryl, en régénérant la vitamine E, en devenant le radical ascorbyle $\text{A}^{\cdot-}$, également très stable.

La vitamine C est régénérée par d'autres molécules comme le glutathion, et des enzymes, la glutathion peroxydase ou les superoxydes dismutases (Gardès-Albert et al., 2003).

- Les caroténoïdes

Les caroténoïdes (fig.16) sont les molécules les plus efficaces pour piéger l'oxygène singulet. Les caroténoïdes peuvent être des hydrocarbures purs appelés carotènes (lycopène, β -carotène...) ou posséder un groupement fonctionnel oxygéné et dans ce cas, s'appeler xanthophylles (astaxanthine, lutéine...) (Laguerre, 2007).

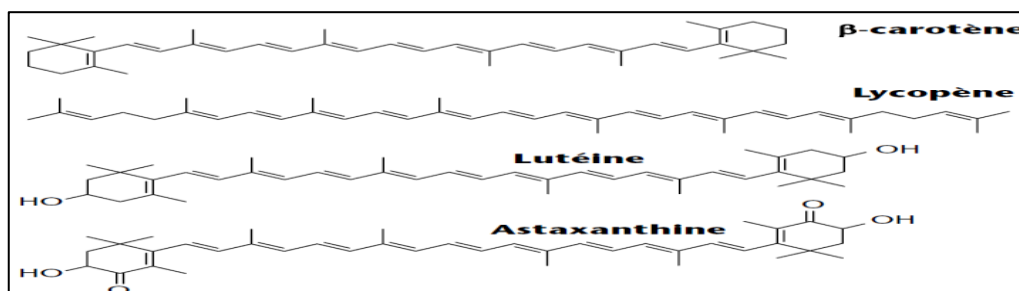
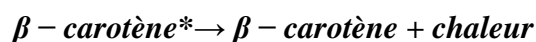
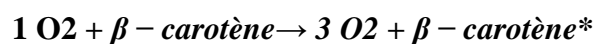


Figure 16 : Principaux caroténoïdes antioxydants (Laguerre, 2007)

Les caroténoïdes développent diverses activités biologiques, dont des activités antioxydantes et antiradicalaires, par lesquelles ils protègent les LDL de la peroxydation : leurs nombreuses doubles liaisons conjuguées font d'eux de bons piégeurs des radicaux libres.

Grâce au long système polyénique conjugué de ces molécules, l'excès d'énergie de leur état excité (β -carotène*) est dissipé au travers d'interactions vibrationnelles et rotationnelles avec le solvant ou leur environnement (Palozza et Krinsky, 1992).



Par ce mécanisme de dissipation de l'énergie sous forme de chaleur, le β -carotène régénéré peut commencer un nouveau cycle de piégeage de $^1\text{O}_2$ et constitue par conséquent un piégeur non stœchiométrique. Il est estimé que chaque molécule de caroténoïde pourrait piéger environ 1000 molécules d' $^1\text{O}_2$, avant de réagir chimiquement et de former un produit.

- Les polyphénols

Les polyphénols (fig.17) sont généralement de puissants antioxydants. Ils ont ainsi la capacité de protéger les végétaux contre les effets néfastes des radicaux libres générés en réponse

aux polluants, infections, rayonnements UV etc. D'autres sont également de bons inhibiteurs d'enzymes ou sont reconnus pour leurs propriétés antiseptiques ou anti-inflammatoires.

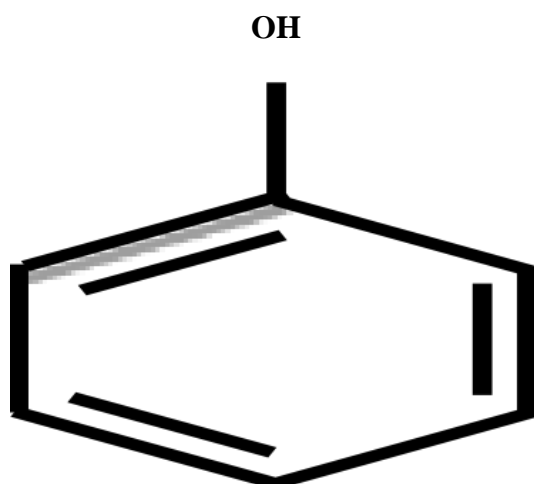


Figure 17 : Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Les polyphénols et en particulier les flavonoïdes sont susceptibles de neutraliser les radicaux libres, d'exercer un rôle de protection cardio-vasculaire et de favoriser l'élimination de substances toxiques. En raison de leur abondance dans les plantes consommées par l'homme et de leurs bénéfices potentiels pour la santé humaine, les flavonoïdes font l'objet d'une attention croissante. Que ce soit pour l'étude des relations structure-activité, le contrôle de la qualité alimentaire ou le suivi de l'absorption et de la métabolisation de ces composés phénoliques naturels (Perron et Brumaghim, 2009).

7. Stress oxydant et pathologies humaines

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

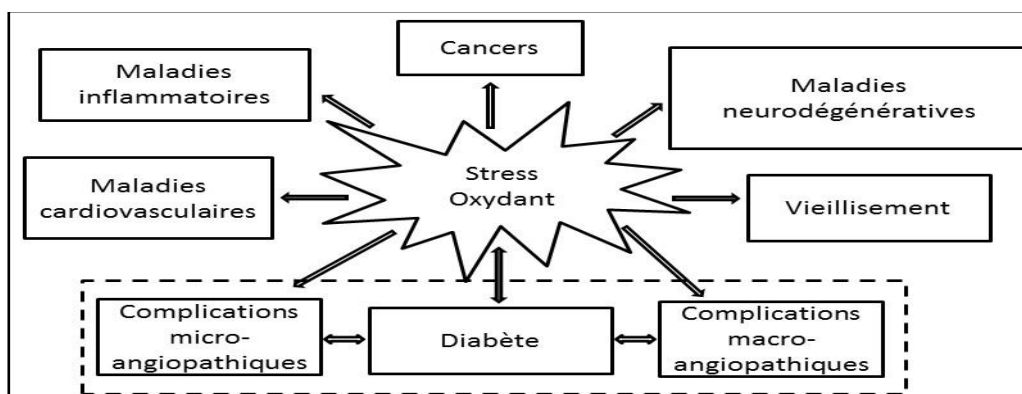


Figure 18 : la place centrale du stress oxydant au sein pathologie. (Favier , 2003)

De nombreuses pathologies (fig.18), à savoir les maladies neurologiques, les cancers, les processus inflammatoires ou encore le vieillissement accéléré, sont associées au stress oxydant. Ce dernier est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaire (Zhang et Jope, 1999 ; Favier, 2003).

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. L'augmentation de l'apport nutritionnel en antioxydant visera donc essentiellement à prévenir ces maladies, de même, une consommation régulière en antioxydant pourrait avoir un effet bénéfique, mais essentiellement préventif (Favier, 2003).

Chapitre II
Les pesticides



II. Pesticides

1. Définition et utilisation

L'étymologie du mot pesticide s'est construite à partir du suffixe "cide" qui signifie "tuer " et de la racine anglaise "Pest" (animal, insecte ou plante nuisible) provenant du latin Pestis (peste) qui désignait le fléau en général (El azzouzi, 2013). Selon FAO (1996), les pesticides sont définis comme « toute substance ou associations de substances qui est destinée à repousser, neutraliser ou détruire les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaine ou animales, et les espèces indésirables des plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant autrement nuisibles ».

Selon Middlekauf (1986), un pesticide est toute substance naturelle ou synthétique utilisée pour prévenir, détruire, repousser ou inhiber les pestes, ou utilisé comme régulateur de plant, défoliant ou dessicatif.

Encore appelés produits phytosanitaires ou phytopharmaceutiques, les pesticides sont définis de plusieurs manières selon l'objectif recherché dans leur utilisation (FAO, 1990 ; OMS, 1994), et varie selon les époques et les pays. Cependant, l'essence du pesticide reste fondamentalement constante, c'est-à-dire qu'il s'agit d'une substance (mélangée) toxique et efficace pour les organismes cibles et sans danger pour les organismes et les environnements non ciblés (Wenjun et al., 2011).

2. Classification

Les pesticides disponibles aujourd'hui sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe, En général ils sont classés en fonction de :

- ✓ La nature chimique de l'espèce combattre (premier système de classification) ;
- ✓ La nature chimique de la principale substance active (deuxième système de classification) (Bourbia-Ait Hamlet, 2013).

2.1. Le premier système de classification :

Il repose sur le type de parasites à contrôler, il existe principalement trois grandes familles d'activités (El Mrabet, 2006).

- **Les herbicides**

Destinés à lutter contre les mauvaises herbes, qui entrent en concurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance.

- **Les fongicides**

Destinés à éliminer les moisissures et parasites (champignons...) des plantes. Les fongicides assurent une excellente protection contre le développement des champignons parasites et permettent l'obtention de plantes saines.

- **Les insecticides**

Ce sont les premiers pesticides utilisés et les plus utilisés en Algérie. Les insecticides sont des substances actives destinés à lutter contre les insectes. Ils interviennent en tuant ou en empêchant la reproduction des insectes, ce sont souvent les plus toxiques (Bougeutof & Djaballah, 2016).

Outre, ces trois grandes familles, d'autres peuvent être citées en exemple :

- ✓ **Les acaricides** (contre les acariens) ;
- ✓ **Les nématocides** (contre les nématodes) ;
- ✓ **Les rodenticides** (contre les rongeurs) ;
- ✓ **Les taupicides** (contre les taupes) ;
- ✓ **Les molluscicides** (contre les limaces et les escargots essentiellement) ;
- ✓ **Les corvicides** (contre les corbeaux, et tous les oiseaux ravageurs de culture).

2.2. Le deuxième système de classification

Le classement se fait en fonction de leur substance active (tab.2). Les principaux groupes chimiques comprennent : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyrèthrinoïdes, les triazines et les urées substituées (Bourbia-Ait Hamlet, 2013).

Tableau 2 : Classification et caractéristiques des groupes des pesticides (Benziane, 2014).

Classes	Exemples	Utilisation / Action	Caractéristiques
Organochlorés	DDT, aldrine, lindane Chlordane	Paralyse et mort des insectes	Bioaccumulation Bioamplification
Carbamates	Carbaryl, Aldicarbe	Neurotoxique	Hydrosolubles
Triazines	Atrazine	Agit sur la photosynthèse utilisée dans les cultures de maïs	Très Hydrosolubles toxique pour le phytoplancton et les aigues d'eau douce
Dérivés des pyridines	Paraquate	Dés herbant de la vigne	Lésions pulmonaires irréversibles
Urées substituées	Diuron	Inhibiteur de la Photosynthèse	Toxicité faible pour l'homme
Acides organique	Pentachlorophénol	Dés herbant totale	Toxicité faible due à la pénétration difficile dans les feuilles
organophosphorés	Paration, diazinone Malathion,	Neurotoxique	Persistances dans les milieux hydrosolubles

3. 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 et schéma de translocation (mouvement) et produiront des symptômes de blessure similaires (Kumar Das et Mondal, 2014). Ils peuvent agir dans le sol au niveau des racines ou directement sur feuilles et 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).

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

4.1. Effets sur l'environnement

En plus de tuer l'espèce visée, les effets des pesticides sur l'environnement sont nombreux (fig.19). Les substances et/ou les molécules issues de leur dégradation sont susceptibles de se trouver dans différentes parties de l'environnement (l'air, le sol, les eaux, les sédiments, ainsi que dans les aliments). Elles présentent, par leur migration entre ces 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 (Saadane, 2018).

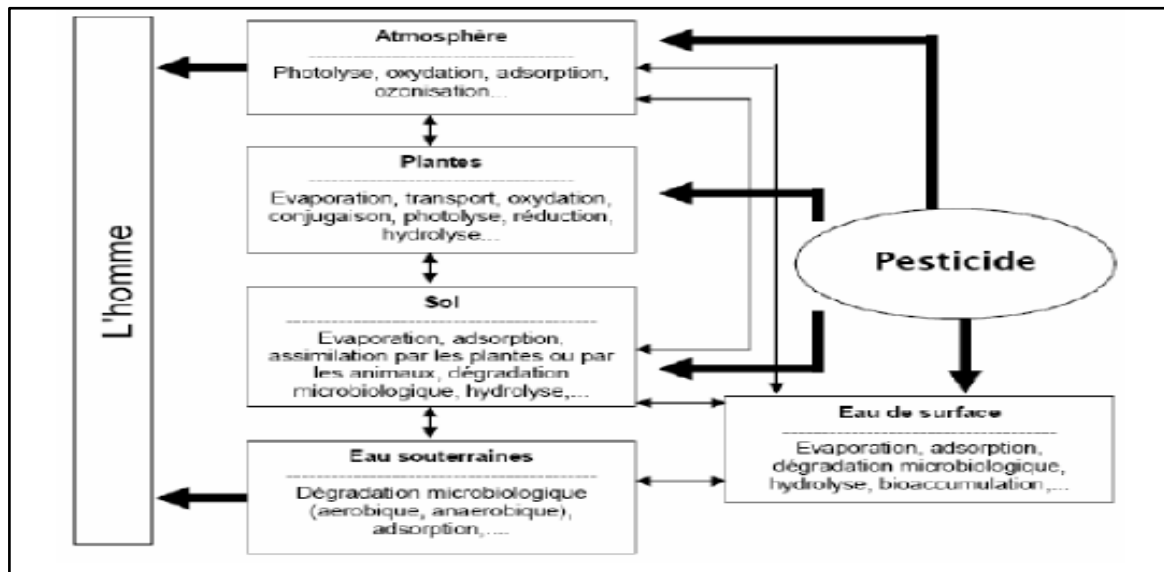


Figure 19 : Interaction entre les pesticides et les écosystèmes (Webographie-2).

4.2. Effet sur la santé

Les pesticides ont amélioré le niveau de santé humaine en contrôlant les maladies à transmission vectorielle, mais leur utilisation à long terme et aveugle a eu des effets graves sur la santé. Comme l'utilisation de pesticides a augmenté au cours des dernières décennies, la probabilité d'exposition à ces produits chimiques a également considérablement augmenté (Kaur et al., 2019).

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).

- **Exposition**

Les pesticides pénètrent dans l'organisme selon trois voies : cutanée, respiratoire et orale. En milieu agricole, la voie de pénétration majeure est la voie cutanée. L'exposition par inhalation est principalement liée à l'épandage et la contamination orale concerne le contact de la bouche avec les mains ou du matériel souillé. Dans la population générale (fig20), la voie d'exposition majeure est la voie orale et est principalement liée à l'ingestion d'aliments ou de boissons contaminés (Sylvie Bortoli et Coumoul, 2018).

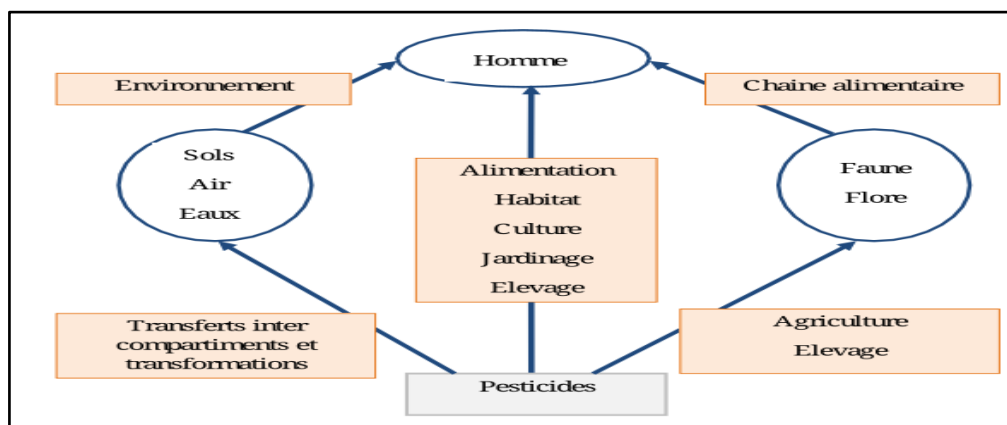


Figure 20 : Mode d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides (Merhi, 2008)

- **Effets aigus**

De par leur emploi, généralement en circuit ouvert et de par leur capacité à se disperser au-delà de la cible visée, les pesticides constituent un risque pour les organismes non cibles. L'emploi inadéquat de ces produits peut entraîner à très court terme (heures, jours) des troubles de la santé. Ces troubles, le plus souvent reliés au même mécanisme mis en jeu par le pesticide dans son action contre le nuisible, sont regroupés sous le terme d'intoxications aiguës. Dans certains cas, ces troubles peuvent se manifester à moyen terme, en particulier en cas d'expositions répétées (Baldi et al., 2013).

- **Effets chroniques**

Les effets chroniques des pesticides sont souvent mortels et peuvent ne pas apparaître même pendant des années et sont des effets à long terme qui endommagent plusieurs organes du corps, l'exposition aux pesticides pendant de longues périodes entraîne les conséquences suivantes (Mahmood et al., 2016) :

- L'exposition aux pesticides peut entraîner une gamme d'effets neurologiques sur la santé tels que la perte de coordination et de mémoire et la capacité visuelle réduite...etc.
- L'exposition à long terme aux pesticides endommage le système immunitaire et peut provoquer une hypersensibilité, de l'asthme et des allergies.
- Des résidus de pesticides ont été trouvés dans la circulation sanguine de patients cancéreux par rapport aux individus normaux. Les pesticides ont été associés à la

leucémie, cancer du cerveau, lymphome, cancer du sein, de la prostate, des ovaires et des testicules.

- La présence de pesticides dans le corps pendant une période plus longue affecte également les capacités de reproduction en modifiant les niveaux d'hormones reproductrices mâles et femelles. Par conséquent, il en résulte une mort naissante, des anomalies congénitales, un avortement spontané et infertilité.
- Une exposition prolongée aux pesticides endommage également le foie, les poumons, les reins et peut causer maladies du sang.

5. 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 cancérigènes (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.

6. Généralité sur le pesticide étudié : l'atrazine

6.1. Présentation

L'atrazine ($C_8H_{14}ClN_5$) est un herbicide aromatique de la famille des triazines. C'est un produit de synthèse organique qui est produit à partir de la réaction du chlorure de cyanuryle sur l'éthylamine et l'isopropylamine (Schivaon et Soulas, 1983 ; Capriel et al., 1985).

L'atrazine a été l'un des pesticides les plus fréquemment utilisés aux Etats-Unis et en Europe. Elle a été découverte par la société Ciba-Geigy à la fin des années 50 (actuellement Novartis Crop Protection AG). Au marché, elle a été commercialisée sous différents noms : Aatrex, Aktikon, Atranex, Primatol, Malermis, Atratol, Gesaprim et Zeapos. En France, elle a été introduite en 1962 et a été largement utilisée à cause de ses caractéristiques avantageuses et a été massivement utilisée pendant quarante ans.

6.2. Utilisation et mode d'action

L'atrazine s'utilise principalement dans le contrôle des mauvaises herbes graminoides et à feuilles larges, dans les champs de maïs, de colza et de bleuet nain et s'emploie également pour détruire les mauvaises herbes en général dans les secteurs non cultivés et les zones industrielles.

Pour le mécanisme d'action herbicide, l'atrazine interfère avec le photosystème II de la photosynthèse des plantes en empêchant la phase de Hill ou la phase lumineuse d'inhiber la protéine D1 (plastoquinone B), localisée dans la membrane des thylakoïdes (fig.21), à l'intérieur des chloroplastes (Tasli et al., 1996).

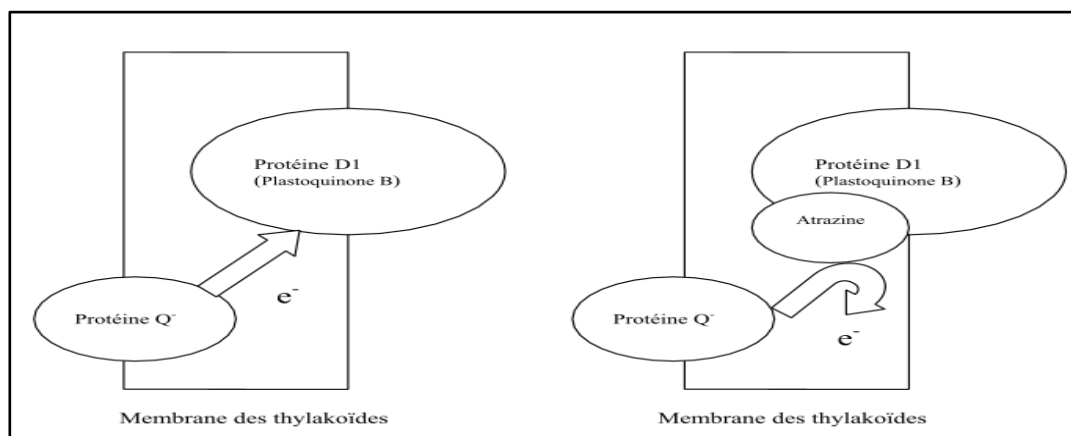


Figure 21 : Mode d'action de l'atrazine au sein des plantes. (Tasli et al , 1996)

6.3. Propriétés physico-chimiques

L'atrazine (fig.22) ou 2-chloro-4-ethylamino-6-isopropylamino-1,3,5-triazine est un herbicide aromatique hétérocyclique de Classe III (légèrement toxique) selon la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Elle est classée comme pesticide restreint d'utilisation en raison de son fort potentiel de contamination des eaux souterraines.

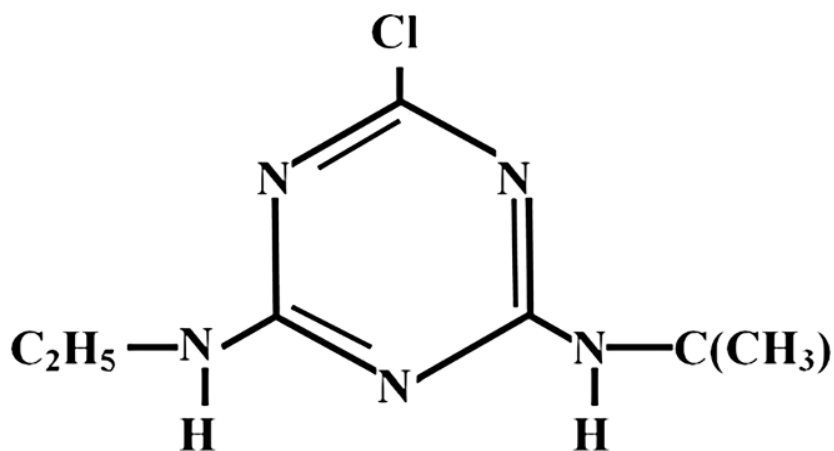


Figure 22 : structure chimique de l'atrazine. (Norouzi ,2012 ,Gricic 2009)

L'atrazine est une base faible (pKa de l'acide conjugué étant égal à 1,64), peu soluble dans l'eau (30 mg.L⁻¹ à 20 °C) avec un coefficient de partage KOW de 398. Ses principales caractéristiques physico-chimiques sont présentées dans le Tableau 3 :

Tableau 3 : Propriétés physico- chimiques de l'atrazine (www.chemfinder.com)

Formule brute	C₈H₁₄ClN₅
Masse molaire	215.69 g mol ⁻¹
Etat physique	Solide cristalline, blanc
Solubilité dans l'eau	30 mg L ⁻¹ à 20 °C, 33 mg L ⁻¹ à 27 °C
Solubilité dans le méthanol	15000 mg L ⁻¹ à 20 °C
PKa	1.64
Pression de vapeur	2.89 x 10 ⁻⁷ mm Hg à 25 °C
Densité	1.187 à 20 °C
Point d'ébullition	200 °C
Point de fusion	171-175 °C
Constante de Henry	2.36 x 10 ⁻⁹ atm-m ³ mol ⁻¹

6.4. Devenir dans l'environnement

L'évolution de l'atrazine est variable dans l'environnement, la part de produits réellement exploitée pour l'action herbicide ne représentant que 16,7% du produit appliqué. Les pertes environnementales se divisent en trois voies principales, la volatilisation (environ 2%), le ruissellement (environ 5%) et le lessivage (environ 0,6%). L'importance de chaque voie de transfert dépend des caractéristiques physico-chimiques du sol, de la molécule et des caractères environnementaux (température, pluviométrie...). On note ainsi que la grande partie du produit appliqué (environ 75%) s'accumule dans le sol.

Ce constat est confirmé par Schiavon et al., 1991, qui montre que 77% de l'atrazine marquée au 14C initialement appliquée se retrouvait dans les 10 premiers centimètres de sol. Parmi ces 77%, 57% se trouvent sous forme de résidus liés à la matière organique du sol et sont non extractible lors des dosages. Ainsi, la matière active s'accumule dans la partie supérieure du sol et peut être libérée ultérieurement de façon diffuse. L'atrazine a donc été considéré par l'Environmental Protection Agency (EPA) des États-Unis comme un produit chimique de priorité A pour ce qui est de la contamination potentielle des eaux souterraines (McRae et Backgrounder, 1991).

6.5. Toxicité de l'atrazine

L'atrazine exerce des effets toxiques aigus et chroniques chez divers organismes. Les mécanismes par lesquels l'atrazine induit de tels effets reste encore à élucider. Néanmoins, la synthèse des données issues d'études toxicologiques a démontré que l'atrazine était capable d'induire un stress oxydant.

Comme certains pesticides, la métribuzine a pour effet d'augmenter le stress oxydatif, résultant d'excès d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Selon l'étude de (Shirisha et al., 2013), cette surproduction d'ROS pourrait donc être à l'origine d'effet pro-oxydant de l'atrazine dont pourraient résulter des réactions d'oxydation, et dont les macromolécules telles que les protéines et les phospholipides membranaires sont les principales cibles. Dans cette étude, ces effets pro-oxydants sont observés dans les reins des rats mâles exposés à une dose 300mg/kg d'atrazine.

Ainsi, le stress oxydant lié à l'exposition à l'atrazine serait à l'origine d'une perturbation de l'activité de certaines enzymes impliquées dans la défense cellulaire antioxydante (inhibition des activités superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase, glutathion-s-transférase, glutathion reductase).

Chez le poisson carpe herbivore (*Ctenopharyngodon idella*), des phénomènes oxydatifs ont également été rapportés par Shahamat et al. (2015) lors d'évaluation du statut antioxydant (GSH, CAT) au niveau des organismes exposés à l'atrazine par voie orale.

Il semble donc que les études toxicologiques concernant l'atrazine, apportent des arguments en faveur d'une plausibilité de la relation de causalité entre l'exposition à la métribuzine et l'apparition de certains troubles.

Chapitre III
Méthodes de dosage



I. Méthodes de dosage des biomarqueurs du stress oxydatif**1. Le choix des biomarqueurs du stress oxydatif**

Les scientifiques se sont intéressés, dès le début, des recherches sur le stress oxydatif, à la découverte d'un marqueur biologique qui identifierait à coup sûr la présence d'un stress oxydatif 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 oxydatif (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-mercaptopurique. 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.

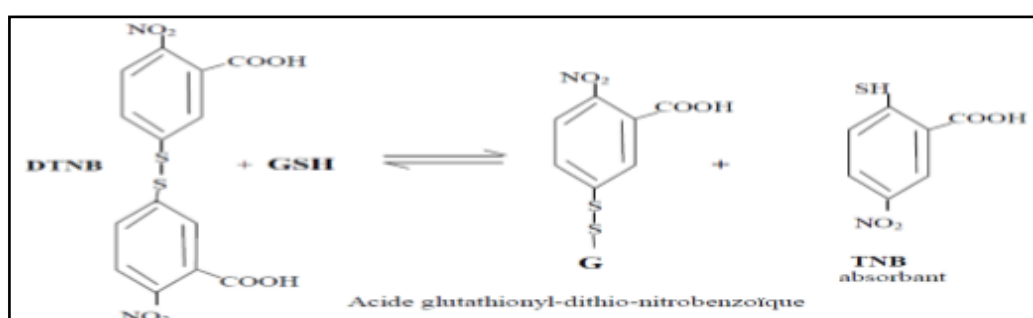


Figure 23 : Principe de dosage du glutathion.

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 apport 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) :

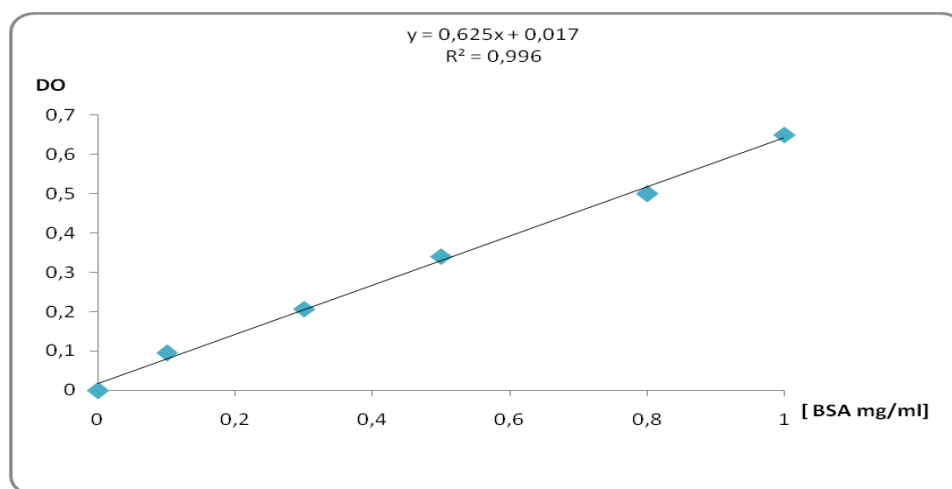


Figure 24 : la gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1 mg/ml) pour le dosage des protéines

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.

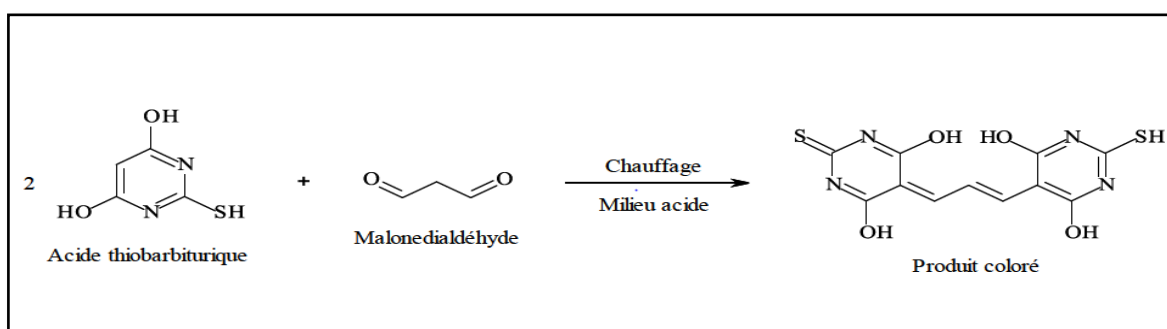


Figure 25 : Principe de dosage du malondialdéhyde

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) :

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

- ✓ 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 = 0.5 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 :

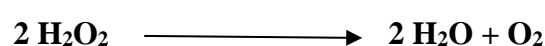
$$\text{GPx (nmol GSH/mg)} = \frac{\text{DO échantillon} \times \text{DO étalon} \times 0.04}{\text{DO étalon}}$$

- ✓ 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).

Chapitre IV

Discussion d'études



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 pesticides comme l'atrazine et d'étudier les composés naturels à pouvoir antioxydant (Abarikwu, 2014 ; Mohan Singh et al., 2010 ; Shirisha et al., 2013 ; Owolabi et Omotosho, 2017 ; Shahamat et al., 2015) :

L'étude de (Abarikwu, 2014), a pour objet d'évaluer la toxicité hépatique, rénale et cérébrale de l'atrazine chez les rats mâles Wistar. Au travers de cette étude, Abarikwu a montré que l'exposition à une dose de 120 mg/kg de l'atrazine, a provoqué une augmentation de la peroxydation lipidique (augmentation du taux de MDA), indiquant que les effets délétères de l'atrazine chez les rats sont associés à un stress oxydant au niveau du foie, des reins et du cerveau.

Ce résultat a permis de suggérer que cet herbicide agit au niveau des organes (foie, reins et cerveau) 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 de l'atrazine, a été également confirmé par une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD et CAT) et une déplétion de la teneur tissulaire en GSH réduit, qui sont souvent considérées comme les marqueurs les plus significatifs du stress oxydant cellulaire, chez les rats contaminés par l'atrazine.

En traitement préventif, la quercétine a par ailleurs, empêché chez les rats traités par l'atrazine, la chute de GSH et l'augmentation des niveaux de MDA. De même, le traitement a amélioré significativement le taux de SOD et CAT dans le foie, le rein et le cerveau. 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.

Une autre étude utilisant également le rat comme modèle expérimental, confirme également l'effet prooxydant de l'atrazine. Les paramètres du stress oxydant pris en considération sont : l'MDA, le GSH et l'activité enzymatique de superoxyde dismutase (SOD), glutathion peroxydase (GPx), catalase (CAT) et glutathion S-transférase (GST). En effet, l'étude de Mohan Singh et ses collaborateurs en 2010, a montré que le traitement des rats par l'atrazine, a entraîné dans les érythrocytes des rats, une augmentation du taux de MDA et une réduction des défenses antioxydantes enzymatiques (SOD, GPx et CAT) et non enzymatiques (GSH).

Le taux élevé du malondialdéhyde (MDA) érythrocytaire, est le reflet de la présence de lipides ayant subi une peroxydation par les EROs générées par l'atrazine. De plus, la baisse du taux de GSH et de l'activité des enzymes antioxydantes dans les érythrocytes, sont considérées comme un mécanisme préventif à l'action de l'atrazine.

En traitement préventif, la vitamine E a, par ailleurs, empêché l'augmentation des niveaux de MDA. De même, le traitement a amélioré significativement le taux du GSH et de (SOD, GPx, CAT et GST) dans les érythrocytes des rats. Ces résultats montrent clairement que la vitamine E a permis de rétablir les perturbations pro-oxydantes induites par l'atrazine. Cet effet serait en partie dû à ses propriétés antioxydantes.

De même, l'étude de Shirisha et al en 2013 confirme l'effet pro-oxydant des pesticides dans les reins des rats traités par l'atrazine. Une augmentation de la peroxydation lipidique, une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes (catalase, superoxyde dismutase, glutathion peroxydase et glutathion-S-transférase) et une déplétion de la teneur tissulaire en GSH réduit, ont été constatées dans le tissu rénal des rats contaminés par l'atrazine.

Afin de prévenir l'effet toxique l'atrazine, Shirisha et al ont abouti à une amélioration de la fonction rénale et à une réduction de l'atteinte rénale catalysée par l'atrazine grâce à un traitement des rats avec l'*Andrographis paniculata*, une plante annuelle de la famille des Acanthaceae originaire du sud de l'Inde et connu pour ses propriétés antioxydantes, grâce à sa richesse en flavonoïdes.

D'autres travaux, ont été aussi réalisés pour évaluer l'effet pro-oxydant de l'atrazine. Owolabi et Omotosho en (2017), ont par exemple montré qu'après une exposition à l'atrazine par voie orale, cet herbicide est capable d'induire des effets délétères chez le poisson carpe

herbivore (*Ctenopharyngodon idella*). L'atrazine induit, en effet, un stress oxydatif dans le tissu hépatique et rénal, se traduisant par une diminution de l'activité de la CAT, une déplétion de la teneur tissulaire en GSH réduit et une augmentation du taux de MDA.

Dans de précédente étude (Shahamat et al., 2015), l'atrazine a également induit un stress oxydant chez le Poisson-chat africain (*Clarias gariepinus*). En effet, l'étude de biomarqueurs de stress oxydant habituellement utilisés (MDA, SOD), a montré que le traitement des poissons avec différentes doses de l'atrazine, a entraîné au niveau du foie, une élévation significative du taux de MDA et une diminution de l'activité de l'enzyme antioxydante (SOD).

Enfin, ces données expérimentales montrent dans leur ensemble que l'atrazine est capable 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 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 aux pesticides comme l'atrazine 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 de l'atrazine chez le rat ou d'autres espèces de mammifères, par le dosage de marqueur enzymatique (GPx, SOD, CAT) ou non enzymatique (GSH, MDA) ;

3) déterminer les effets d'une exposition (court et long termes) à l'atrazine, 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

Abarikwu Sunny O. (2014). Protective Effect of Quercetin on Atrazine-Induced Oxidative Stress in the Liver, Kidney, Brain, and Heart of Adult Wistar Rats. *Toxicology International* May-Aug. **21** (2).

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

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.

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 de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Rhumatisme*. **74** : 636-643.

Agnandji P. (2018). Niveaux de contamination du sol et des légumes (*Solanum macrocarpum*L. et *Lactuca sativa*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.

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.

Asmus K.D., Bonifacic M. (2000). « Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise». *Free radicchem*. 3-53.

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.

Baldi I., Cordier S., Coumoul X., Elbaz A., Gamet-Payraastre L., Lebailly P., Multigner L., Rahmani R., Spinosi J., Van Maele-Fabry G. (2013). Pesticides : effets sur la santé. Thèse de Doctorat, Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM). p: 2.

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.

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.

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 récepteurs du système nerveux central. Thèse de doctorat de l'Université Ahmed Ben Bella d'Oran, Faculté de biochimie appliquée. p : 23.

Benziane A.D., 2014. Effet d'un régime enrichi en chlorpyrifos chez le rat wistar : étude de l'activité enzymatique des cholinestérases comme indicateur biologique. Thèse de master. Université Telemiane, p51.

Bergendi L. et al. (1999). «Chemistry, physiology and pathology of free radicals». *Life Sci.* **65** (18) : 1865-74.

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

Bouayed J. (2010). Polyphenols : a potential new strategy for the prevention and treatment of anxiety and depression. *Curr Nutr Food Sci.* **6** : 13-18.

Boubekri C ,(2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat de l'Université Mohamed Khider – Biskra.

Bougeutof A., Djaballah S. (2016). Evaluation de la toxicité potentielle d'une mixture de pesticides (Oxychlorure de cuivre et Thiaméthoxam) sur l'escargot *Helix Aspersa*. Mémoire de master de l'Université de Larbi Tébessi –Tébessa. p : 4-5.

Bourbia Ait-Hamlet S. (2013).Evaluation de la toxicité de mixture de pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols *H. aspersa*. Thèse de Doctorat de l'Université Badji Mokhtar, Annaba. p : 110.

Boveris A., Oshino N., Chance B. (1972). The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem J.* **128** : 617-630.

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

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

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.

Bushway R.G. (1992). Atrazine, alachlor and carbofuran contamination of well water in central Maine.- *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **49** : 1-9.

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. 255.
- Cantin P.A.** (1999).Oxidant and antioxidants in lung injury. Lam and other Diseases characterized by smooth muscle proliferation. 519-531.
- Capriel P., Haisch A., Khan S.U.** (1985). Distribution and nature of bound (non-extractable) residues of atrazine in a mineral soil nine years after the herbicide application. J. Agric. Food Chem. **33** : 567-569.
- Carr A.C., Zhu B.Z., Frei B.** (2000). Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). Circ Res. **7** (5) : 349-354.
- 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.
- 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.
- Curtay J.P., Robin J.M.** (2000). Intérêt des complexes antioxydants. Nutrithérapie Info.
- Dalle-Donne I., Rossi R., Colombo R., Giustarini D., Milzani A.** (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. Clin Chem. **52** (4) : 601-23.
- Das P.P., Shaik A.P., Jamil K.** (2007). Genotoxicity induced by pesticide mixtures : invitro studies on human peripheral blood lymphocytes. Toxicol Ind Health. **23** (8) : 449-458.
- De Backer D.** (2006). Inhibition du monoxyde d'azote dans le choc septique Nitric oxide inhibition in septic shock.Réanimation. **15** (2) : 145-149.
- 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. 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). 703-861.
- Desmier T.** (2016). Les antioxydants de nos jours : définition et applications.Thèse de Doctorat de l'Université de Limoges, faculté de pharmacie. 32
- Diallo A.** (2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de Syzygium guineense Willd (Myrtaceae). Thèse de Doctorat de l'Université de Bamako. p : 13-14.

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.

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

EL Azzouzi E. (2013). Processus Physico-chimiques d'Elimination des pesticides dans l'environnement : Cas de l'Imazéthapyr. Thèse de Doctorat de l'Université Mohammed V – Agdal, Rabat. p : 108.

El Mrabet .K (2006). Développement d'une méthode d'analyse de résidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem dans les matrices céréalières après extraction en solvant chaud pressurisé. These de Doctorat de l'Université Pierre et Marie currie, paris. p : 12.

Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jungens G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic. Biol. Med*. 13 : 341.

FAO. (1990). Code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides (Version amendée). p : 39.

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.

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

Flohe L., Gunzler W.A. (1984). Analysis of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*. **105** : 114-121.

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

Freeman B.A., Young S.L., Crapo J.D. (1983). Liposome-mediated augmentation of superoxide dismutase in endothelial cells prevents oxygen injury. *J Biol Chem*. 258 : 12534-12542.

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.

Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique, novembre. 91-96.

Gersch C., Palii 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.

Ghoulé 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.

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

Gricic I, Koprivanac N, Vujevic D: Removal of Atrazine herbicide from model wastewater. *Tecnologia Quimica* 2009, 10109(1):32–42.

Gutteridge J.M.C., Halliwell P.B. (1993). « Invited Review Free Radicals in Disease Processes : A Compilation of Cause and Consequence ». *Free Radic Res Commun.* **193** : 141-58.

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. (1991). Reactive oxygen species in living systems : source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med.* **91** (3C) :14S-22S.

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

Halliwell B. (2001). Free Radicals and other reactive species in Disease. *Encyclopedia of life sciences.* Nature Publishing Group / www.els.net.

Halliwell B. (2006). Phagocyte-derived reactive species : salvation or suicide. *Trends Biochem Sci.* **31** (9) : 509-15.

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.

Hulbertl A.J. (2005). On the importance of fatty acid composition of membranes for aging. *J Theor Biol.* **234** (2) : 277-88.

Hwang C., Sinskey A.J., Lodish H.F. (1992). Oxidized redox state of glutathione in the endoplasmic-reticulum. *Science.* **57** : 1496-1502.

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.

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.

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.

Jiang Y.F. (2002). Complex roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in cancer. *Oncogene.* **21** : 2245-2252.

Karoui H., Hogg N., Frejaville C., Tordo P., Kalyanaraman B. (1996). Characterization of sulfur-centered radical intermediates formed during the oxidation of thiols and sulfite by peroxynitrite— ESR-SPIN trapping and oxygen uptake studies. *J. Biol. Chem.* **271** : 6000–6009.

Kaur R., Mavi G.K., Raghav S., Khan I. (2019). Pesticides classification and its impact on environment. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* **8** (3) : 1893.

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.

Kohen R., Nyska A. (2002). Oxidation of biological systems : oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology.* **30**: 620- 650.

Krause K.H. (2004). Tissue distribution and putative physiological function of NOX family NADPH oxidases. *Jpn J Infect Dis.* **57** : S28-29.

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 Integr Comp Physiol.* **292** (1) : R18-36.

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.

Laguerre M., Lopez Giraldo L.J., Lecomte J., Pina M., Villeneuve P. (2007). Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante *OCL*. *Oléagineux corps gras lipides.* **14** (5) : 278-292.

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 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.

Leger C. (2006). Antioxydants d'origine alimentaire : diversité, modes d'action antioxydante, interactions. *Ol Corps Gras Lipides.* **13** : 59-69.

Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P., Prost M. (2001). Stress oxydant et pathologies humaines. *La Presse médicale.* **30**: 1076-1081.

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.

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.

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.

Mahmood I., Imadi S.R., Shazadi K., Gul A., Hakeem K.R. (2016). Effects of pesticides on environment. Plant, soil and microbes. 265.

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.

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

Masella R., Di Benedetto R., Vari R., Filesi C., Giovannini C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems : involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. J. Nutr. Biochem. 16 : 577-586.

Mate J.M., Perez-Gomez C., Numez de castro I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem. 32 (8) : 595-603.

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

McCord J.M., Fridovich I. (1970). The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. II. The mechanism of the mediation of cytochrom C reduction by a variety of electron carriers. J. Biol. Chem. 245 : 1374-1377.

McKelvey T.G., Hollwarth M.E., Granger D.N., Engerson T.D., Landler U., Jones H.P. (1988). Mechanisms of conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase in ischemic rat liver and kidney. Am J Physiol. 254 : G753-760.

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.

McRae B. (1991). The characterization and identification of potentially leachable pesticides and areas vulnerable to groundwater contamination by pesticides in Canada. 91-01. Agriculture Canada, Direction des pesticides, Ottawa.

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

Merhi M. Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin . Thèse de doctorat en pathologie , toxicologie , génétique et nutrition , université de Toulouse , France ,2008 , 140 p .

Middlekauf R.N. (1986). Pesticides residue in food : Legal and scientific issues. *Food drugcosmc!*. **1** (42) :251-264.

Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S. (2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews.* **3** : 173-193.

Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat de l'Université de Louis Pasteur. p : 13-36.

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.

Mohan S., Rajat S., Ravi K. (2010). Oxidative stress induced by atrazine in rat erythrocytes : Mitigating effect of vitamin E. *Toxicology Mechanisms and Methods.* **20** (3) : 119-126.

Morel Y., Mermoud N., Barouki R. (1999). An autoregulatory loop controlling CYP1A1 gene expression : role of H₂O₂ and NFI. *Mol Cell Biol.* **19** : 6825-6832.

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

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.

Neuzil J., Stocker R. (1993). Bilirubin attenuate radical-mediated damage to serum albumin. *FEBS Lett.* **331** : 281-284.

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

Norouzi P, Larijani B, Ganjali MR, Faridbod F: Admittometric electrochemical determination of Atrazine by nano-composite immunobiosensor using FFT- square wave voltammetry. Int J Electrochem Sci 2012, 7:10414–10426.

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

Olufemi D.O., James S.O. (2017). Atrazine-Mediated Oxidative Stress Responses and Lipid Peroxidation in the Tissues of *Clarias gariepinus*. Iranian Journal of Toxicology. **11** (2).

OMS. (1994). Prévention des risques pour la santé lors de la préparation et de l'emba J Pesticides. 80 p.

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

Ott M., Gogvadze V., Orrenius S., Zhivotovsky B. (2007). Mitochondria, oxidative stress and cell death. Apoptosis. **12** (5) : 913-922.

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.

Palozza P., Krinsky N.I. (1992). Antioxidant effects of carotenoids *in vivo* and *in vitro* : an overview. Methods in Enzymology. **213** : 403-20.

Pamplona R., Portero-Otin M., Ruiz C., Gredilla R., Herrero A., Barja G. (2000). Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals. Mech. Ageing Dev. **112** (3) : 169-183.

Parks D.A., Williams T.K., Beckman J.S. (1988). Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine : a reevaluation. Am J Physiol. 254 : G768-774.

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.

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.

Perron N. R., Brumaghim J. L. (2009). A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochem Biophys*. 53:75-100.

Pierre J.L. (1991). « Chimie de l'oxygène ». Club d'étude des radicaux libre en biologie. p : 1-8.

Pillou. (2014). « Radicaux libres – Définition ». *Journal des Femmes*.

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).

Powers S., Jackson M. (2008). Exercise-induced oxidative stress : Cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol. Rev*. **88** : 1243-1276.

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

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.

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.

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

Reuka B, Rajurkar Z.H., Govind T.G. (2003). Studies on Levels of glutathione S-transferase, its isolation and purification from *Helicoverpa armigera*. *Current Science*. **85** : 1355-1360.

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.

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.

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.

Ryter S.F., Tyrell R.M. (2000). The heme synthesis and degradation pathways : role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro and antioxidant properties. *Free Rad. Res.* **36** : 1299-1306.

Saadane O. (2018). L'impact des pesticides sur l'environnement et la santé humaine et méthodes alternatives. Thèse de Doctorat de l'Université de Rebat. p : 32.

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.

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. 02-11.

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.

Schiavon M., Portal G.M., Andreux F., Bertin G. (1991). Estudio de la adsorción de atrazina por un ácido húmico mediante la técnica de diálisis. *Suelo y Planta.* **2** : 177-185.

Schiavon M., Soulas G. (1983). Etude de la contamination des eaux de drainage et de la matière organique du sol par l'atrazine et ses dérivés de dégradation. Ministère de l'Environnement. Convention n° 81398.

Schiavon M.C, Perrin-Ganier J.M. (1991). La pollution de l'eau par les produits phytosanitaires, état et origine. *Science du sol (synthèse) agronome.* **15** : 157- 170.

Sekli Belaid F. (2012). Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly (3,4- éthylénedioxythiophène PEDOT pour l'élaboration de micro-capteurs spécifiques des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés anti-oxydants du sérum sanguin. Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse 3 Paul Sabatier, France. p : 18.

Servais S. (2004). Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effets de l'âge et d'une supplémentation en OMEGA-3. Thèse de Doctorat de l'Université Claude Bernard. Lyon1.

Shahamat S., Alishahi M., Banaee M., Shahriali A. (2015). Effects of Sub-lethal Concentrations of Atrazine on Some Oxidative Stress Biomarker in Various Tissues of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Environmental Treatment Techniques.* **3** (1) : 1-6.

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.

Shirisha K.B., Begum S., Mastan M. (2013). Protective Effect of *Andrographis paniculata* Against Atrazine Induced Renotoxicity in Albino Rats. *IOSR Journal Of Pharmacy.* **3** (10) : 17-21.

Shookoofeh S., Mojtaba Alishahi M.B., Shahriali A. (2015). Effects of Sub-lethal Concentrations of Atrazine on Some Oxidative Stress Biomarker in Various Tissues of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of Environmental Treatment Techniques.* **3** (1) : 1-6.

Sies H. (1985). Oxidative Stress : Introductory Remarks. In *Oxidative Stress*, ed. (London : Academic Press). p : 1-8.

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

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

Sies H., Jones D. (2007). Oxidative Stress. In Encyclopedia of Stress (Second Edition), G. Fink, ed. (New York : Academic Press). 45-48.

Sohal R.S., Mockett R.J., Orr W.C. (2002). Mechanisms of aging : an appraisal of the oxidative stress hypothesis. Free Rad Biol Med. **33** (5) : 575-86.

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

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.

Sylvie Bortoli S., Coumoul X. (2018). Impact des pesticides sur la santé humaine. Elsevier. p : 1-2.

TASLI R., TISSUT T.G. (1996). Atrazine movement and dissipation in a sandy loam soil under irrigation : an immunoenzymatic study. Bull. Environ. Contam. Toxicol. **56** : 359-366.

Tessier F., Marconnet P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Science and sports. **10** (1) : 1-13.

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.

Trachootham D., Alexander J., Huang P. (2009). Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanism : a radical therapeutic approach ? Nat. Rev. **8** : 579-591.

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

Turrens J.F., Freeman B.A., Crapo J.D. (1982). Hyperoxia increases H₂O₂ release by lung mitochondria and microsomes. Arch Biochem Biophys. **217** : 411-421.

Valavanidis A., Vlahoyianni T., Fiotakis K. (2005). Comparative study of the formation of oxidative damage marker 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) adduct from the nucleoside 2'-deoxyguanosine by transition metals and suspensions of particulate matter in relation to metal content and redox reactivity. Free Radic. Res. **39** : 1071-1081.

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.

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

Wang Y. (2008). Bulky DNA lesions induced by reactive oxygen species. *Chem Res Toxicol* **21**, 276-281.

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.

Weckbeker G., Cory J.G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathoine-depleted mous leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters.* **40** : 257-264.

WenJun Z., FuBin J., JianFeng O. (2011). Global pesticide consumption and pollution : with China as a focus. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences.* **2**: 125-144.

Wickens A.P. (2001). Aging and the free radical theory. *Respir Physiol.* **128**: 379-91.

William R. (2013). Nouvelle stratégie de fonctionnalisation de surfaces d'électrodes à base de sels de diazonium : application aux capteurs à antioxydants. Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse. p : 35.

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.

Zare S., Behzadi M., Tarzanan M., Beik Mohamadi M., Omidi 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.

Zhang L., Joep R.S. (1999). Oxidative stress differentially modulates phosphorylation of ERK, p38 and CREB induced by NGF or EGF in PC12 cells. *Neurobiol Aging.* **20** (3) : 271-8.

Zhang W.J., Bjorn L.O. (2009). The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. *Fitoterapia*. **80**: 207-218.

Zhihua J., Elias S.J.A., Ying M., Linda J., Jiming S., Siqi Z., Shujun L., Ruiying W., Tianzhu Z., Ganglin Y., Junqiu L., Jiacon S., Guimin L. (2004). Expression of Selenocysteine containnig glutathion S-transferase in Escherichia coli. *Biochem and Bioph Res commun.* **321** : 94 - 101.