

N° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

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 :

**Effet protecteur de l'extrait de thé vert (*Camellia sinensis*) sur
quelques paramètres hématologiques et biochimiques après la
toxicité par le toluène chez les lapins mâles *Oryctolagus cuniculus***

Présenté par :

- BENZAID Saida
- BOUGUELOT Soundous
- BOUNAMA Hanane

Devant le jury composé de :

Encadreur : RIHANI Lamia

M.C.A. Centre Universitaire de Mila.

Examinatrice : MANALLAH Ahlam

M.A.A. Centre Universitaire de Mila.

Présidente : LAGHOUATI Ouafa

M.C.B. Centre Universitaire de Mila.

Remerciement



D'abord, nous voudrions remercier « ALLAH » par qui tout est possible, qui nous donnons la santé, le courage pour surmonter les difficultés rencontrées et la volonté de finaliser ce modeste travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche et d'avoir examiné notre travail tout l'en ayant enrichi par leurs propositions.

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à notre directrice de mémoire, Madame Rihani Lamia. Nous la remercions de nous avoir encadré, orienté, guidé tout au long de ce travail, nous avons très reconnaissante pour sa disponibilité, son aide précieuse et ses encouragements.

Nous tenons à remercier particulièrement tout le personnel de département de SNV.

Un grand merci au docteur vétérinaire Walid Guenouche. Merci pour votre professionnalisme, votre gentillesse et votre amour des animaux.

Un grand merci aussi à Amir de nous avoir aidés à la sacrifice des lapins.

Enfin, nous exprimons notre remerciement à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.



Dédicace

Je remercie « ALLAH », le tout puissant, le miséricordieux de m'avoir illuminé le chemin de savoir et de m'avoir aidé et donné la santé, la force, le courage et la volonté afin d'atteindre mon objectif.

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :

A mes chers parents qui m'ont dirigé soutenus et aidés tout au long de mes études "Ammar & Zoulikha", qu'ils trouvent ici l'expression de ma plus profonde gratitude.

A ma grande mère 'رحمها الله'

A Mon frère Mouhamed, mes sœurs "Nassira, Hassiba, Aicha, Fatima" et leurs familles.

A Mes oncles, mes tantes et leurs familles.

A Tous mes cousins et cousines : " Abd Elrahim, Ismail, Sara, Soumia, Imane, Amal, Titi".

Aux enfants de la famille : "Amdjed, Djoud, Adam, Douha, shahd, Iyad, Anes, Ahmed, Rami, Alae, Amani".

A tous mes amies les plus proches qui m'ont apporté leur soutien pendant ces années, et avec lesquelles j'ai pu partager des moments de bonheur uniques : " Nariman, Khawla, Djoumana, Hanane, Soundous".

Je dédie également ce travail à "Ahmed et Ali". Je ne pourrai jamais oublier de vous exprimer ma profonde reconnaissance pour votre infatigable soutien tant moral que financier.

Enfin je dédie ce travail à ceux qui m'ont donné de l'aide de près ou de loin.

Je vous remercie tous.

Saida.



Dédicace

Avant tous, je remercie en premier lieu notre Dieu de nous donner la santé et la patience pour avoir terminé ce travail.

Je dédie ce mémoire à :

-Mes très chers parents aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur la gratitude et l'amour que je vous portez. J'ai l'honneur de dédier le fruit de mes 18 ans d'études à la femme mon adorable mère Aziza, que Dieu ait pitié de son âme, souhaitait que tu sois à mes côtés. et mon modèle et fierté mon père Rabih, en signe d'amour, de reconnaissance et de gratitude pour tout le soutien les sacrifices dont il a fait preuve à m'égard.

-A ma tante Samira pour me soutenir.

-A ma sœur, Racha et Doha.

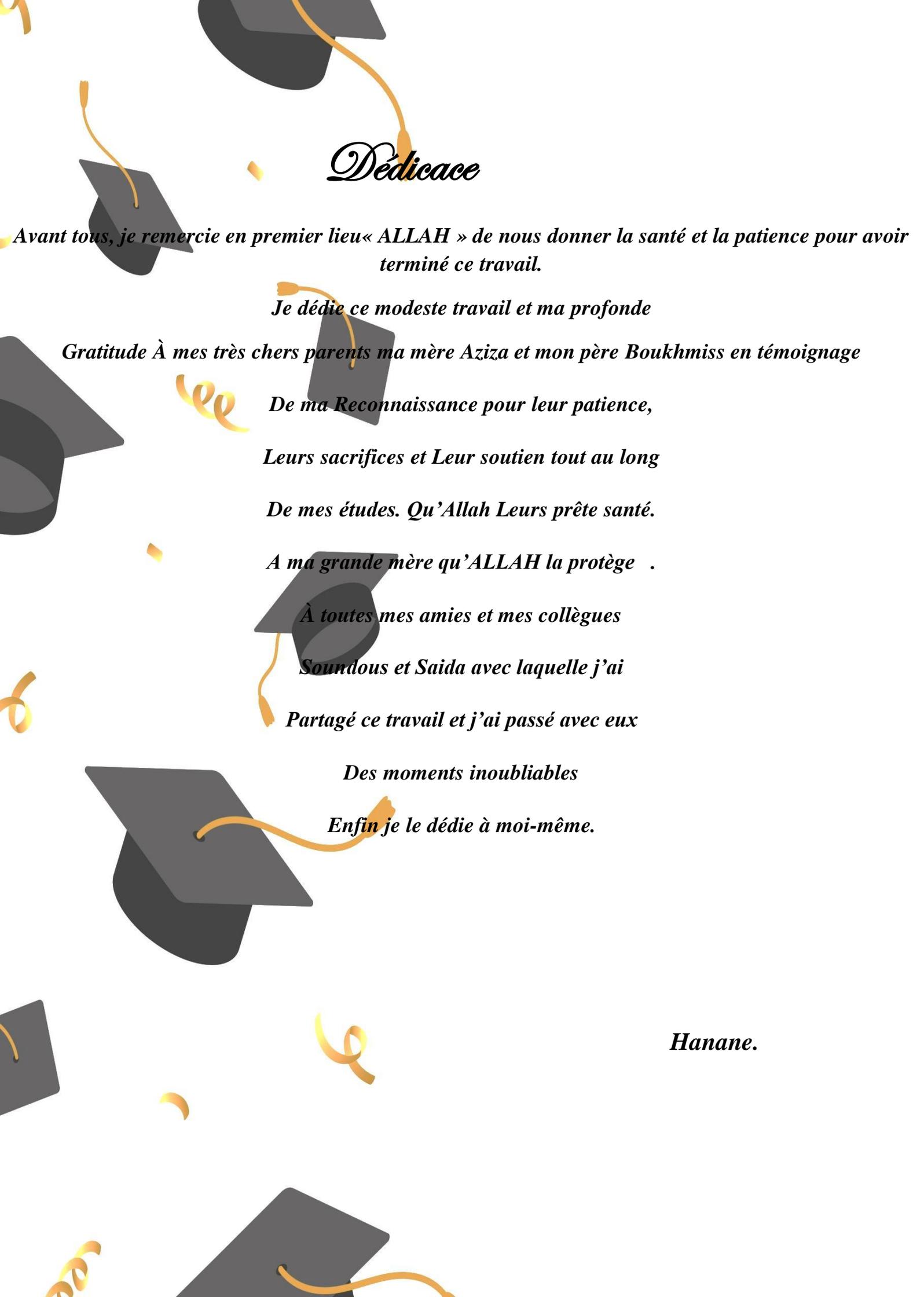
-Mes chers frères ; et toute la famille Bouguelot et Mezhoud.

-A toute Mes amies surtout :Nourhane, ASMA et saïda.

-Et à mes chers collègues saïda et Hanane avec laquelle j'ai partagé ce travail et j'ai passé avec eux des moments inoubliables.

Enfin je le dédie à moi-même.

Soundous.



Dédicace

Avant tous, je remercie en premier lieu « ALLAH » de nous donner la santé et la patience pour avoir terminé ce travail.

Je dédie ce modeste travail et ma profonde

Gratitude À mes très chers parents ma mère Aziza et mon père Boukhmiss en témoignage

De ma Reconnaissance pour leur patience,

Leurs sacrifices et Leur soutien tout au long

De mes études. Qu'Allah Leurs prête santé.

A ma grande mère qu'ALLAH la protège .

À toutes mes amies et mes collègues

Soudous et Saida avec laquelle j'ai

Partagé ce travail et j'ai passé avec eux

Des moments inoubliables

Enfin je le dédie à moi-même.

Hanane.

Résumé

Les solvants sont devenus une menace majeure pour l'humanité, ils ont été utilisés dans de nombreux produits importants de la vie quotidienne humaine telle que la peinture, vernie et plusieurs d'autres, en revanche, il y a ce qui dieu a créé dans la nature «le thé vert » qui est considéré parmi l'un des remèdes naturelles les plus utilisés à l'échelle mondiale.

Ce travail repose sur l'étude de l'effet protecteur de thé vert sur l'effet néfaste de toluène sur le métabolisme et certains paramètres biochimiques et hématologiques chez les lapins mâles *Oryctolagus cuniculus*.

Les lapins ont été répartis en 3 lots de 5 animaux, Le premier lot était les lapins témoins, le second administré par une dose de toluène (500 mg/kg/j) par voie orale chaque jour. Le troisième lot a reçu la même dose de toluène avec une autre dose de thé vert par voie orale pendant 2 semaines successives. Après l'abattage des animaux, nous avons prélevé des échantillons de sang pour effectuer certaines analyses à étudier (glucose, triglycéride, taux de protéines totales... et aussi les paramètres hématologiques) et la dissection des lapins pour le pesage des organes (le foie et les testicules).

Nous avons obtenu les résultats suivants en comparaison avec les lapins témoins, qui ont montré un changement de poids des organes étudiés. En effet, une diminution du poids des testicules et une augmentation du poids de foie a été enregistrée. Par ailleurs, on a noté des altérations des paramètres biochimiques pour les lapins traités par le toluène uniquement. Tandis que les lapins traités par le toluène plus le thé vert ne présentent aucune perturbation significative de ces deux paramètres. Nous avons également remarqué une augmentation du taux de protéines totales, glucose, ALAT et ASAT. L'analyse des paramètres hématologiques montre une diminution des globules rouges, de l'hémoglobine et de l'hématocrite, accompagnée d'une augmentation du taux de globules blancs alors que les lapins traités par une autre dose de thé vert n'ont enregistré aucun effet significatif sur le taux de ces paramètres.

En conclusion, cette étude a démontré les effets néfastes après l'exposition orale au toluène sur les paramètres biochimiques et hématologiques. D'autre part, le thé vert a un effet correctif qui peut réduire la toxicité de toluène sur les paramètres précédents.

Mots clés : Toluène, Thé Vert "*Camellia sinensis*", Lapins "*Oryctolagus cuniculus*", Paramètres Biochimiques, Paramètres Hématologiques.

Abstract

Solvents have become a major threat to mankind and have been used in many important products of human daily life, such as paint, varnish, and many others. On the other hand, there is what God created in nature, "green tea," which is considered among the most widely used natural remedies worldwide.

This work is based on the study of the protective effect of green tea on the harmful effect of toluene on metabolism and certain biochemical and hematological parameters in male *Oryctolagus cuniculus* rabbits.

The rabbits were divided into 3 batches of 5 animals. The first batch was the control rabbits ; the second batch was administered an oral dose of toluene (500 mg/kg) each day. The third batch received the same dose of toluene plus another dose of green tea orally for two successive weeks. After the slaughter of the animals, we took blood samples for analysis and anatomized the rabbits for organ weighing.

Our experience is based on the study of organ weights such as the testicles and liver. The study of biochemical parameters such as glucose and triglycerides and hemological parameters.

We obtained the following results in comparison with control rabbits : a change in the weight of the organs studied, a decrease in testicular weight, and an increase in liver weight. In addition, altered biochemical parameters were observed in rabbits treated with toluene only, while rabbits treated with toluene plus green tea showed no significant disturbance of either parameter. We also noted an increase in total protein, glucose, ALAT, and ASAT levels. Analysis of hemological parameters showed a decrease in red blood cells, hemoglobin, and haematocrit, accompanied by an increase in white blood cells, while rabbits treated with another dose of green tea had no significant effect on the levels of these parameters.

In conclusion, this study demonstrated the adverse effects of toluene exposure on biochemical and hematological parameters. On the other hand, green tea has a corrective effect on the above parameters.

Key words : Toluene, Green Tea "*Camellia sinensis*", *Oryctolagus cuniculus* rabbits, Biochemical Parameters, Hemological Parameters.

أصبحت المذيبات تهديدًا كبيرًا للبشرية، فقد تم استخدامها في العديد من المنتجات المهمة للحياة اليومية للإنسان، وبدلاً من ذلك، هناك ما خلقه الله في الطبيعة «الشاي الأخضر» الذي يعتبر أحد أكثر العلاجات الطبيعية استخدامًا على نطاق واسع في جميع أنحاء العالم.

يستند هذا العمل إلى دراسة التأثير الوقائي للشاي الأخضر على التأثير الضار للطوليان على التمثيل الغذائي وبعض المعلمات الكيميائية الحيوية والدموية في الأرانب الذكورية *Oryctolagus cuniculus*.

تم تقسيم الأرانب إلى 3 مجموعات من 5 حيوانات، حيث كانت المجموعة الأولى عبارة عن أرانب شاهدة، في حين تلقت المجموعة الثانية جرعة من الطوليان (500 مجم/كجم) عن طريق الفم كل يوم والمجموعة الثالثة نفس الجرعة من الطوليان مع جرعة أخرى من الشاي الأخضر عن طريق الفم لمدة أسبوعين متتاليين. بعد ذبح الحيوانات، أخذنا عينات الدم لإجراء بعض التحاليل المراد دراستها (الجلوكوز، الدهون الثلاثية، مستويات بعض البروتينات... وكذا معلمات امراض الدم) وتشريح الأرانب لوزن الأعضاء (الخصيتين والكبد).

كانت النتائج المحصل عليها كالتالي: مقارنة بالأرانب الشاهدة يظهر هناك تغيرًا في وزن الأعضاء المدروسة (انخفاض وزن الخصية وزيادة وزن الكبد). بالإضافة إلى ذلك، يحدث تغييرات في المعلمات الكيميائية الحيوية للأرانب المعالجة بالطوليان فقط على غرار تلك المعالجة بالطوليان والشاي الأخضر فهي لم تظهر أي اضطراب كبير في هذين المعلمين. تم أيضًا تسجيل زيادة في إجمالي مستويات البروتين، غلوكوز، ALAT، ASAT. كما يُظهر تحليل المعلمات الدموية انخفاضًا في خلايا الدم الحمراء والهيموجلوبين والهيماتوكريت، مع زيادة عدد خلايا الدم البيضاء بالنسبة لأرانب المجموعة الثانية.

في الختام، أظهرت هذه الدراسة الآثار الضارة للتعرض للطوليان على المعلمات الكيميائية الحيوية وأمراض الدم. من ناحية أخرى، للشاي الأخضر تأثير صحيحي على المعلمات السابقة.

الكلمات المفتاحية: الطوليان، الشاي الأخضر "*Camellia sinensis*"، الأرانب "*Oryctolagus cuniculus*"، المعلمات الكيميائية الحيوية، معلمات أمراض الدم.

Sommaire

List des Abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Introduction

Introduction	1
--------------------	---

Partie I : Partie Théorique

Chapitre 1 : toluène

1. Identification de Toluène	4
2. Historique.....	5
3. Réglementation et Classification.....	6
4. Propriétés physico chimiques de toluène	6
A. Propriétés physiques	6
B. Propriétés chimiques	8
5. Principales sources d'expositions.....	8
6. Utilisations courantes.....	9
7. Toxicocinétique de toluène	9
A. Absorption et Distribution chez l'homme et l'animale	9
B. Métabolisme et Élimination du toluène.....	10
8. Signes cliniques de l'intoxication de toluène.....	14
A. Toxicité chronique et aiguë.....	14
B. Toxicologie chez les mammifères	15
C. Foetotoxicité	15
D. Génotoxicité.....	16
9. Effets sur la santé humaine et animale.....	16
9.1) Effets sur les animaux de laboratoire	16
9.2) Effets sur les êtres humains	16
9.3) Effets sur le développement	17
9.4) Effets sur la reproduction	17
9.5) Effets sur le système nerveux central.....	19
9.6) Effets sur les reins et le foie.....	20
9.7) Effets immunologiques	20

Chpitre 2 : Thé Vert

1. Historique.....	22
2. Généralité.....	22
3. Nomenclature et Taxonomie : <i>Camellia sinensis</i>	24

4. Classification de <i>Camellia sinensis</i>	24
5. Description botanique	25
6. Fabrication et consommation du thé vert	26
7. Constituants chimiques de thé vert	28
7.1) <i>Les polyphénols</i>	29
7.2) <i>Les Méthylxanthines</i>	33
7.3) <i>Les vitamines</i>	34
7.4) <i>Les Composés Minéraux</i>	34
7.5) <i>Les acides aminés et les protéines</i>	35
7.6) <i>Les Glucides, Les Pectines et Les Fibres</i>	35
7.7) <i>Les Lipides, Les Chlorophylles et Les Caroténoïdes</i>	35
7.8) <i>Les Composés Volatils</i>	36
8. Bienfaits du thé vert pour la santé des êtres humains	36

Chpitre 3 : Les Lapins

1. Identification de l'animal	38
A. Généralités	38
B. Définition de lapin	38
2. Classification zoologique (Taxonomie)	39
3. Utilisation du lapin dans le domaine scientifique et toxicologique	39
4. Physiologie générale	40
5. L'anatomie physiologique de l'appareil digestif	41
6. Rôle du foie dans le métabolisme des toxiques	43
7. Caractéristiques Générales	44
A. Alimentation en élevage	44
B. Communication	44
C. Reproduction	45
D. Digestion et efficacité alimentaire	45

Partie II: Partie Pratique

Chpitre 4: Matériels et Méthodes

I. Matériels	46
1. Matériel biologique	46
2. Matériel chimique	47
3. Matériel végétal	48
II. Méthodes	49
□ Protocole expérimental	49
1. Préparation de thé vert	49
2. Préparation de toluène	50
3. Préparation des prélèvements	51

A. Prélèvement sanguin	51
B. Dissection et prélèvement des organes	54
4. Dosage des paramètres biochimiques	55
4.1 Dosage plasmatique du glucose.....	55
4.2 Dosage plasmatique des protéines totales	56
4.3 Dosage plasmatique des triglycérides	58
4.4 Dosage plasmatique du cholestérol	59
4.5 Dosage plasmatique d'Aspartate-Aminotransférase (ASAT/ TGO)	61
4.6 Dosage de l'Alanine-Aminotransférase (ALAT/GPT)	63
5. Dosage des paramètres hématologiques	64
6. Traitement statistique des résultats	65

Chapitre 5 : Résultats et Discussion

I. Résultats	66
1. Étude des paramètres biochimiques	66
1.1. Glucose	66
1.2. Protéines totale	67
1.3. Triglycérides	68
1.4. Cholestérol	69
1.5. L'Alanine-Aminotransférase (ALAT/GPT)	70
1.6. Aspartate-Aminotransférase (ASAT /TGO).....	71
2. Étude des paramètres hématologiques	72
3. État pondéral des organes.....	73
3.1. Testicules	73
3.2. Foie.....	74
II. Discussion	75

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives	84
----------------------------------	----

Référence Bibliographiques

Référence Bibliographiques.....	85
---------------------------------	----

Annexes

Annexe 1	86
----------------	----

List des Abréviations

MOT	ABREVIATION
ABM	Acide Benzylmercapturique
ADH	Alcool Déshydrogénase
ADP	Adénosine Di Phosphate
AF	Aminophénazone
ALDH	Aldéhyde Déshydrogénase
ALT	Alanine amino transférase
AP	Aminopeptidase
AP	Amin anti pyrine
ARN	Acide Ribo Nucléique
AST	Aspartate amino trasférase
ATP	Adénosine Tri Phosphate
CCMH	Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
CYP450	Cytochrome P450
CHE	Cholestérol Estérase
CHOD	Cholestérol Oxydase
CYP1A2	Cytochrome P1A2
CYP2E1	Cytochrome P2E1
GABAA	l'acide gamma-aminobutyrique de type A
GK	Glycérol Kinase
GnRH	Gonadotrophin releasing hormone
GOD	Glucose Oxydase
GOT	Transaminase Glutamate Oxaloacétique
GPDH	Glycérophosphate déshydrogénase
GPO	glycerol-3-phosphate oxydase
GPT	Transaminase Glutamique Pyruvique
GSH	Glutathion
GST	Glutathion S-transférase
G3-P	Glycérol 3-phosphate
EC	Epicatechin
ECG	Epicatechin gallate
EDTA	Éthylène diamine tétra acétique
EGC	Epigallocatechine
EGCG	Epigallocatechine - 3- gallate
EPGC	Epigallocatechine
FNS	Numération Formule Sanguine
FSH	Hormone Folliculo-Stimulante
HCL	Chlorure d'hydrogène
HDL	High Density Lipoproteins (lipoprotéine de haute densité)
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
H₂SO₄	Acide Sulfurique

<i>KPa</i>	kilopascal
<i>LDH</i>	Lactate Déshydrogénase
<i>LH</i>	Hormone Lutéinisante
<i>Log Pow</i>	coefficient de partage octanol/eau
<i>LPL</i>	Lipoprotéine Lipase
<i>MCV</i>	Maladies Cardiovasculaires
<i>MDH</i>	Malate Déshydrogénase
<i>MS</i>	Masse
<i>NADH</i>	Nicotinamide Adénine Dinucléotide (NAD) +Hydrogen (H)
<i>ND</i>	Non Défini
<i>N-AT</i>	N-acétyltransférase
<i>PH</i>	Potentiel Hydrogène
<i>POD</i>	Peroxydase
<i>SBP</i>	Six binding protein
<i>SNC</i>	Système Nerveux Centrale
<i>ST</i>	Sulfotransféras
<i>TCMH</i>	Teneur Globulaire Moyenne en Hémoglobine
<i>TRIS</i>	Trisaminométhane
<i>VGM</i>	Volume Globulaire Moyen
<i>γ-GT</i>	γ-glutamyltransférase

Liste des Figures

Figure 1 : La structure chimique de toluène.....	5
Figure 2 : Le toluène à l'état liquide.	7
Figure 3 : Profil métabolique du toluène.....	12
Figure 4 : Les principales voies majeures et mineures de toluène dans l'organisme.....	13
Figure 5 : Complexe hypothalamo hypophysaire.....	18
Figure 6.a : <i>Camellia Sinensis</i> var. <i>Sinensis</i>	23
Figure 6.b : <i>Camellia Sinensis</i> var. <i>Assamica</i>	23
Figure 7 : Les trois types de thé.....	23
Figure 8 : La plante <i>Camellia sinensis</i>	25
Figure 9 : Types de thé en termes de pourcentage de la production mondiale en 2005.....	26
Figure 10 : Principales étapes du traitement des feuilles de théier après récolte	27
Figure 11 : Structure de base des flavonoïdes	29
Figure 12 : Les principales catéchines du thé vert	30
Figure 13 : Les glycosides de flavonol.....	31
Figure 14 : Structure chimique d'acide gallique.	32
Figure 15 : Structure chimique des tanins dans le thé vert.....	33
Figure 16 : Structure chimique de caféine.....	33
Figure 17 : A. Structure chimique de Théophylline	34
B. Structure chimique de Théobromine.....	34
Figure 18 : Théanine.....	35
Figure 19 : Lapin de Garenne (<i>Oryctolagus cuniculus</i>).....	38
Figure 20 : Les lapins de laboratoire (A ; B).....	39 ; 40
Figure 21 : Dissection de l'appareil digestif du lapin	41
Figure 22 : Foie de lapin.....	43
Figure 23 : La collecte des aliments et leur transformation	45
Figure 24 : Les lapins dans les cages.....	47
Figure 25 : Toluène.	48
Figure 26 : Le thé vert (<i>Camellia sinensis</i>)	48
Figure 27 : Préparation de thé vert.	49
Figure 28 : Préparation de solvant (toluène).	50
Figure 29 : Les témoins sains.	50
Figure 30 : Traitement par toluène.	50
Figure 31 : Traitement par le thé vert et le toluène.	51
Figure 32 : Les prélèvements du sang.	52

Figure 33 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	53
Figure 34 : La dissection des lapins.	54
Figure 35 : Prélèvement des organes.....	54
Figure 36 : Le pesage des organes (Le foie et les testicules).	55
Figure 37 : Le test du FNS.	65
Figure 38 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique du Glucose chez le lot témoin et les lots traités (n=5).	66
Figure 39 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique des protéines totales chez le lot témoin et les lots traités (n=5).	67
Figure 40 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique des Triglycérides chez le lot témoin et les lots traités (n=5).	68
Figure 41 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique des cholestérols chez le lot témoin et les lots traités (n=5).	69
Figure 42 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique des Alanine-Aminotransférase chez le lot témoin et les lots traités (n=5).	70
Figure 43 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique des d'Aspartate-Aminotransférase chez le lot témoin et les lots traités (n=5).	71
Figure 44 : Variation moyenne ($X \pm SD$) du poids (P) des testicules chez le lot témoin et les lots traités (n= 5).....	73
Figure 45 : Variation moyenne ($X \pm SD$) du poids (P) de foie chez le lot témoin et les lots traités (n= 5).	74

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Identification de la substance.....	5
Tableau 02 : Les propriétés physicochimiques de toluène	7
Tableau 03 : Concentrations habituellement mesurées dans les différents milieux en l'absence de pollution spécifique au toluène	8
Tableau 04 : Synthèse des taux d'absorption et organes cibles en fonction des voies d'exposition	10
Tableau 05 : Classification botanique de <i>Camellia sinensis</i>	24
Tableau 06 : Composition chimique des feuilles de thé vert.....	28
Tableau 07 : Composition de la feuille de thé en vitamines du groupe B	34
Tableau 08 : Classification des lapins <i>Oryctolagus cuniculus</i>	39
Tableau 09 : Principaux paramètres physiologiques du lapin	40
Tableau 10 : Répartition des groupes et traitement des lapins :	51
Tableau 11 : Variation de la concentration du glucose chez le témoin (T) et les Lots traités DI/DII (n=5) :	66
Tableau 12 : Variation de la concentration des protéines totales chez le témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5).....	67
Tableau 13 : Variation de la concentration sérique des triglycérides chez le témoin (T) et les Lots traités DI/DII (n=5)	68
Tableau 14 : Variation de la concentration du cholestérol chez le témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5)	69
Tableau 15 : Variation de la concentration de l'Alanine-Aminotransférase chez le témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5)	70
Tableau 16 : Variation de la concentration d'Aspartate-Aminotransférase chez le témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5)	71
Tableau 17 : Les variations des paramètres sanguins chez les lapins témoins traités par doses du toluène et par doses du toluène et thé vert après 2 semaines successives	72
Tableau 18 : Variation du poids (P) du testicule chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/ DII (n=5)	73
Tableau 19 : Variation du poids (p) de foie chez le lot témoin (T) et les lots Traités DI/DII (n=5)	74

Introduction

Introduction

L'histoire de l'industrie chimique moderne commence sans doute au tournant du XIX^e siècle, la Seconde Guerre mondiale marque des transformations majeures dans les échelles de production, de commercialisation et d'utilisation de produits chimiques. L'industrie chimique est alors désormais en mesure de créer et de mettre sur le marché rapidement et de manière continue des nouvelles substances, de leur trouver sans cesse de nouveaux usages, et de les produire en grande quantité (**Aftalion, 2001 ; Ross et Atmer, 2010**).

Les substances ou les produits chimiques font partie de notre quotidien on en trouve partout, présentes dans l'alimentation, les cosmétiques, les vêtements...et dans l'environnement. Certaines de ces substances de n'importe quel produit chimique à certaines doses peuvent menacer notre vie et présenter des risques pour la santé des personnes, la sécurité des installations ou pour l'environnement. D'une part quelques substances chimiques sont capables de circuler sur de longues distances et de polluer des sites improbables, d'autre part, loin de se dégrader et de disparaître facilement, certaines substances se logent et s'accumulent dans tous les organismes vivants, jusque dans les embryons et les organismes des nouveau-nés, et peuvent causer de nombreux risques (**Boudia et Jas, 2013**).

Parmi les plus connus produits chimiques toxicité à l'échelle mondiale : "Toluène". Dans lequel ; les effets toxicologiques les plus communément reconnus de la toxicité résiduelle lorsque l'exposition au toluène sont la toxicité rénale et hépatique (**Poon et al., 1994**).

Donc la nature des effets des produits chimiques sur la santé dépend de plusieurs paramètres : la caractéristique du produit, la voie de pénétration dans l'organisme et finalement le mode d'exposition au produit (**Fiche toxique INRS, 2023**).

Le toluène considéré comme un poison violent, est un liquide volatil incolore clair mobile, d'odeur aromatique. Il est naturellement présent dans certains produits pétroliers. Le pétrole brut. Il est produit à des fins commerciales dans le processus de fabrication de nombreux produits : benzène et xylènes, phénol, nitrotoluène, diisocyanate de toluylène (TDI), chlorure de benzyle, caprolactame, benzaldéhyde, acide p-toluènesulfonique, vinyltoluène...et dans l'industrie en générale (**Fiche toxique INRS, 2021**).

L'ingestion ou l'inhalation de toluène chez l'humain et chez les animaux peut entraîner à fortes doses des effets néfastes sur la santé humaine et animale, cependant parmi ces effets on trouve les effets neurologiques consistant à une grave dépression du système nerveux

centrale et la narcose (**Campo et al., 1998**), elles peuvent entraîner aussi des anomalies rénales comme l'acidose tubulaire rénale distale (**Kamajima et al., 1994**), faiblesse musculaire, des nausées et des vomissements (**Marjot et Mcleod, 1989**). D'autre coté le toluène peut entraîner des troubles hépatiques comme la stéatose hépatique aiguë qu'ait été observée chez une femme exposée à long terme au toluène (**Paraf et al., 1993**) et une insuffisance hépatique réticulo-endothéliale ait été observée chez un homme ayant des antécédents d'exposition au toluène (**Shiomi et al., 1993**).

Les plantes, les aliments, les oligoéléments peuvent participer à la prise en charge de la douleur chronique en compléments d'autres traitements (**Mahmoud, 2019**).

Les plantes médicinales ont été employées pendant des siècles dans toutes les civilisations anciennes, on retrouve des traces de l'utilisation de la phytothérapie par l'homme qui a toujours été recouru aux remèdes naturels pour soigner les différentes maladies humaines. Dans lequel Le Papyrus d'Ebers et les autres pharmacopées d'Égypte Antique retrouvées démontrent une tradition de la recherche de la préservation de la santé. Ces écrits témoignent également de la volonté de transmettre des connaissances empiriques. Cependant, l'utilisation des plantes médicinales (ainsi que des autres remèdes en général) est intrinsèquement liée aux considérations sacrées et mythologiques de l'époque : la plante possède un pouvoir curatif qui provient d'un dieu au même titre que la maladie est le résultat d'un châtement divin (**Koemoth, 2010**).

D'un point de vue étymologique, la phytothérapie est la thérapie par le végétal ou par le monde végétal ont utilisé intégralement aujourd'hui les plantes médicinales contrairement à la pharmacologie qui isole leurs principes actifs (**Mahmoud, 2019**).

En phytothérapie, le thé vert est essentiellement proposé pour lutter contre les maladies cardiovasculaires et cancéreuses. Des recherches expérimentales sur des animaux ont révélé que le thé vert ou ces extraits sont merveilleux et miraculeux pour la santé. Les propriétés de thé vert sont multiples : riche en tanins, ce sont des polyphénols antioxydant qui donnent au thé vert son arôme et son goût amer particulier. Le thé vert contient également de plusieurs vitamines notamment la vitamine C, mais ce qui rend le thé vert remarquable c'est la présence d'une catéchine nommée épigallocatechine (EPGC) ou encore épigallocatechine-3- gallate (EGCG) (**Mazzon et al., 2005**).

Grâce à son puissant pouvoir antioxydant l'EGCG neutralise les radicaux libres et les espèces oxygénées réactives responsables de lésion cellulaire susceptibles de causer des

maladies cardiaques. Il convient également de souligner que la catéchine réduit l'expression des cytokines qui favorisent l'inflammation et aussi améliore la dilatation des parois des vaisseaux sanguins et donc la facilité de passage de flux sanguin (**Ouyang et al., 2004**).

Des recherches scientifiques affirment que le thé vert pourrait protéger l'organisme des maladies cardiaques, inhiber la formation anormale de caillot sanguin dans les vaisseaux, réduire le taux de cholestérol total et en élever celui de cholestérol HDL. De plus, le thé a la capacité de réduire la tension artérielle par l'inhibition de conversion de l'angiotensine et enfin inhiber l'oxydation de cholestérol HDL dans la paroi des artères (**Kuriyama et al., 2006**).

- ❖ L'angiotensine est une hormone appartient à un système appelé : le système rénine-angiotensine-aldostérone qui désigne un système hormonal localisé dans le rein, dont le rôle est de maintenir l'homéostasie hydro-sodée. Il joue un rôle prépondérant dans la régulation de la pression artérielle. En particulier par l'action de l'angiotensine II (**Djebbar, 2019-2020**).

Pour cela dans ce contexte, nous avons étudié les propriétés et l'effet protecteur de l'extrait de thé vert sur les paramètres hématologiques, biochimiques et sur le métabolisme chez les lapins mâles adultes *Oryctolagus cuniculus* après l'administration par la voie orale d'un solvant toxique tel que le toluène.

Partie I :

Partie Théorique

Chapitre 1 :

Toluène

1. Identification de Toluène

L'un des produits chimiques volatils les plus utilisés est le toluène, le toluène est un hydrocarbure aromatique et est généralement utilisé comme diluant à peinture. La formule légale du diluant à peinture est de 90% de toluène, 9% d'acétate d'éthyle et moins de 1% de benzol et les substances adhésives contiennent 94% de toluène comme solvant principal. Le toluène est l'une des substances volatiles illicites les plus couramment utilisées en raison de son effet euphorique et de sa facilité d'accès. Dans l'étude de Kendirli le toluène était la substance volatile la plus couramment utilisée (**Kendirli et al., 2008**).

Le toluène est souvent la seule drogue volatile d'abus. Le toluène est un solvant efficace pour les vernis, les revêtements et les adhésifs, ainsi qu'un solvant commercial pur. Les polyuréthanes, le nylon, les bouteilles en plastique, les produits pharmaceutiques, le polissage des ongles, les couleurs et les composés synthétiques comprennent tout le toluène. L'euphorie légère, l'excitation, les illusions et la perception déformée de l'espace et des visuels sont tous des résultats désirés de la mauvaise utilisation du toluène (**Press et Done, 1967**). Le toluène est un composant de nombreuses adhésifs abusés, en particulier dans les cas précédents ; Néanmoins, le niveau de toluène varie considérablement entre les glucides (**Glaser et Massengale, 1962**).

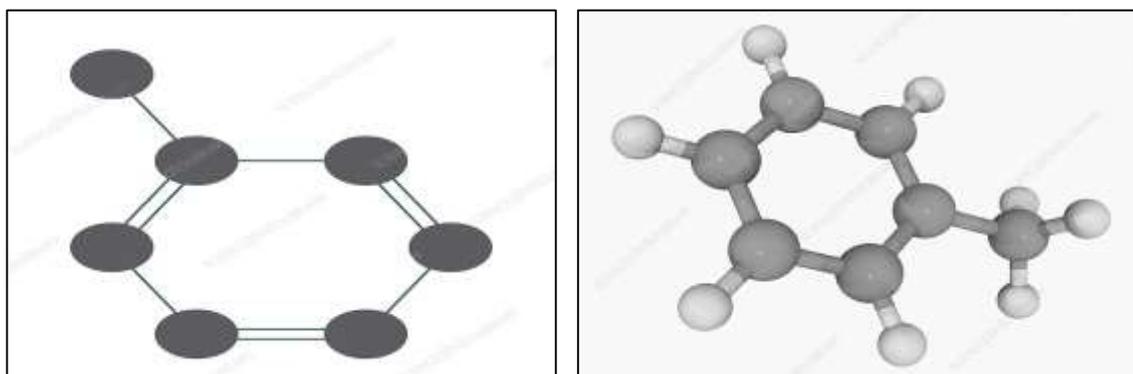
Il y a peu de recherches sur les effets de l'exposition au toluène liés à l'abus de drogues volatiles. Un rapport de cas a lié l'inhalation prolongée de vapeurs de toluène au travail à des maux de tête, un discours incorrect, une perte de mémoire transitoire et une perte de conscience ; Néanmoins, aucune anomalie dans le cœur, le foie ou la fonction rénale n'a été trouvée (**Satran et Dodson, 1963**). L'exposition au toluène de 600 à 800 ppm induit la confusion, une perte de perception auditive et visuelle altérée, la perte d'inhibitions et une mauvaise coordination ; les abuseurs chroniques peuvent avoir des expositions de 5 000 ppm (**Brozosky, 1965 ; Ron, 1986**). Le Toluène provoque des effets excitants rapides chez les animaux à des doses modérées et effets dépressifs en grandes quantités (**Wood et Colotla, 1990**).

Le toluène est un hydrocarbure aromatique liquide transparent C_7H_8 .il est présent dans certains produits pétroliers (**Fiche toxique INRS, 2021**).

Le toluène ne peut être pas stocké dans le corps et par conséquent, le corps doit le métaboliser pour s'en débarrasser. En effet, le métabolisme de toluène se réalise uniquement au niveau du foie grâce à sa richesse en multiples enzymes nécessaires aux diverses réactions métaboliques pour l'organisme vivant.

Tableau 01 : Identification de la substance (**Fiche toxique INRS, 2021**).

Caractéristiques	Détails
N° CAS	108-88-3
Etiquetage	CE R 63, risque possible pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant
Noms français	Toluène
Nom chimique mentionné à l'annexe	I Méthylbenzene, phénylmethane
Nom commercial	Toluène
Formule chimique	C_7H_8 , $C_6H_5CH_3$
Structure	Liquide à 20°C

**Figure 1** : La structure chimique de toluène (www.sciencephoto.com)

2. Historique

Comme nous l'avons montré précédemment, le toluène est un hydrocarbure aromatique, c'est-à-dire un composé qui ne contient que du carbone et de l'hydrogène, les atomes de carbone étant disposés en anneau. Les composés aromatiques ont des structures basées sur celle du benzène (C_6H_6). Le toluène (méthyl-benzène) a été découvert par Pelletier et Walter en 1837, lors de la préparation de gaz de houille à partir de résine de pin. En 1841, Sainte-Claire-Deville décrit l'isolement du toluène par la distillation sèche du baume de tolu, une matière résineuse solide à l'odeur de vanille, extraite du tronc de *Myroxylon balsamum* (L.) Harms, un grand arbre trouvé dans les hauts plateaux et les chaînes de montagnes d'Amérique du Sud. Dans le processus d'extraction, le toluène est formé à partir de cinnamate de benzyle (ester phénylméthyle de l'acide 3-phényl-2-propénoïque). Mansfield a identifié le toluène dans le goudron de houille en 1849. Il avait reçu le nom de toluine par Berzelius en 1843 ; plus

tard, Muspratt et Hofmann ont changé le nom en toluol. Le terme anglais « toluène » fait référence à la substance pure, alors que « toluol » fait référence à un produit commercial, de pureté variable (Ziegler-Sylakakis et *al.*, 2000).

3. Réglementation et Classification

Le toluène est classé reprotoxique de catégorie 2 par l'union européenne (classification révisée, 30ème ATP), en raison d'effets nocifs pendant la grossesse.

Phrases de risque : R 63, risque possible pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant ; R 11 (facilement inflammable), R 38 (irritant pour la peau), R 48/20 (nocif : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par inhalation, R 65 (nocif : peut provoquer une atteinte des poumons en cas d'ingestion), R 67 (l'inhalation de vapeurs peut provoquer somnolence et vertiges) (Anses, 2012).

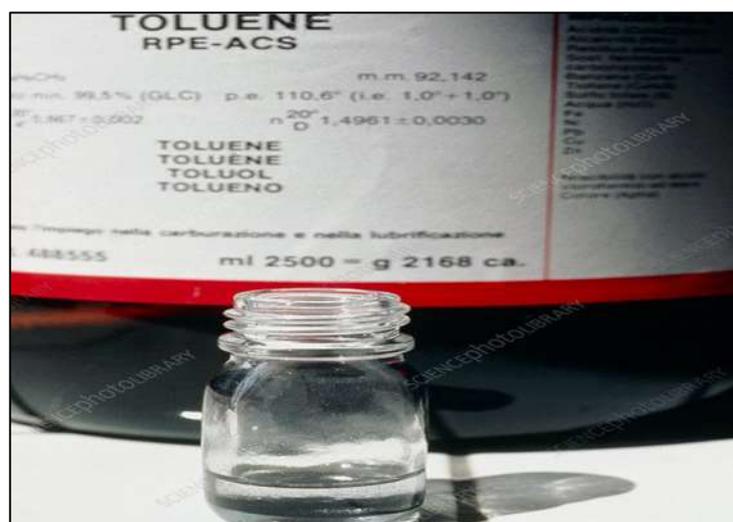
4. Propriétés physico-chimiques de toluène

A. Propriétés physiques

Le toluène est un hydrocarbure liquide incolore C₇H₈, mobile, d'odeur aromatique, Il est pratiquement insoluble dans l'eau (0,535 g/L à 25 °C), miscible à de nombreux solvants organiques (acétone, oxyde de diéthyle, chloroforme, éthanol...), soluble dans l'acide acétique glacial (Fiche toxique INRS, 2021).

Tableau 02 : Les propriétés physicochimiques de toluène (Fiche toxique INRS, 2021).

Nom de substance (Toluène)	Détails
<i>Formule</i>	<i>C₇H₈</i>
<i>N° CAS</i>	<i>108-88-3</i>
<i>Etat Physique</i>	<i>Liquide</i>
<i>Masse molaire</i>	<i>92,14</i>
<i>Point de fusion</i>	<i>- 95 °C</i>
<i>Point d'ébullition</i>	<i>110,6 °C</i>
<i>Densité</i>	<i>0,87</i>
<i>Densité gaz / vapeur</i>	<i>3,14</i>
<i>Pression de vapeur</i>	<i>3 kPa à 20 °C</i> <i>3,8 kPa à 25 °C</i>
<i>Point d'éclair</i>	<i>4 °C (coupelle fermée)</i>
<i>Température d'auto inflammation</i>	<i>480 °C</i>
<i>Limites d'explosivité ou d'inflammabilité (en volume % dans l'air)</i>	<i>Limite inférieure : 1,2 %</i> <i>Limite supérieure : 7,1 %</i>
<i>Limites d'explosivité ou d'inflammabilité (en volume % dans l'air)</i>	<i>2,65</i>

**Figure 2** : Le toluène à l'état liquide (www.sciencephoto.com).

B. Propriétés chimiques

Le toluène est un produit stable dans les conditions normales d'utilisation, c'est un hydrocarbure aromatique, c'est-à-dire un composé qui ne contient que du carbone et de l'hydrogène, les atomes de carbone étant disposés en anneau. Les composés aromatiques ont des structures basées sur celle du benzène (C₆H₆). Il réagit avec de nombreux composés organiques. Les réactions peuvent être dangereuses avec des produits tels que l'acide nitrique concentré, le dichlorure de soufre, le trifluorure de brome, des mélanges acide nitrique/acide sulfurique. Le toluène peut former des mélanges explosifs avec le tétranitrométhane. Danc il peut provoquer des risques d'incendie et d'explosion. Il ne dégrade pas les métaux usuels. Tandis que, certaines matières plastiques subissent des dégradations au contact du toluène : caoutchouc naturel, caoutchouc nitrile, polychloroprène, polyéthylène (**Fiche toxique INRS, 2021**).

5. Principales sources d'expositions

L'essence automobile, qui contient de 5 à 7 % de toluène, est à l'origine d'environ 65 % du toluène anthropique présent dans l'air. Le reste provient essentiellement de l'industrie pétrolière et de procédés industriels utilisant le toluène, seulement 2 % résultent de la production. Presque tout le toluène rejeté dans l'environnement se retrouve dans l'air du fait de sa pression de vapeur. Les volcans et les feux de forêt constituent par ailleurs des sources naturelles d'émission (**Fiche INERIS, 2016**).

➤ Concentrations ubiquitaires

Tableau 03 : Concentrations habituellement mesurées dans les différents milieux en l'absence de pollution spécifique au toluène (**Fiche INERIS, 2016**).

Milieux	Concentrations
<i>Air</i>	$\approx 0,2 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ ⁽¹⁾
<i>Eaux</i>	<i>Eaux Non disponible</i>
<i>Sols</i>	<i>Non disponible</i>
<i>Sédiments</i>	<i>Non disponible</i>

(1) : Valeur issue d'une étude américaine citée par ATSDR (**ATSDR, 2000**).

6. Utilisations courantes

Le toluène compte généralement parmi les trente premiers composés produits annuellement aux États-Unis. Toluène est un intermédiaire de synthèse pour la fabrication de nombreux produits : benzène et xylènes, phénol, nitrotoluène, chlorure de benzyle, caprolactame, benzaldéhyde, acide p-toluènesulfonique, vinyltoluène... (**Fiche toxique INRS, 2021**).

Le toluène est principalement utilisé sous forme de mélange ajouté à l'essence pour améliorer l'indice d'octane de l'essence automobile. Il est utilisé isolément pour produire du benzène et comme solvant dans les peintures, les revêtements, les parfums synthétiques, les adhésifs, comme intermédiaire de synthèse, les encres et aussi utilisé comme additif dans les produits cosmétiques et l'industrie pharmaceutique. Ainsi, le toluène est utilisé dans la synthèse de produits chimiques organiques et aussi dans les recherches scientifiques et biologiques de laboratoires (**Fiche INERIS, 2016**).

7. Toxicocinétique de toluène

A. Absorption et Distribution chez l'homme et l'animale

➤ Absorption

Absorption Chez l'homme et l'animale, la principale voie d'exposition est l'inhalation pour laquelle l'absorption est d'environ 50 % (proportionnelle à la ventilation pulmonaire). L'absorption par voie orale est de 100 % (**Bælum et al., 1987**). L'absorption respiratoire est très rapide et efficace, le toluène apparaît dans le sang après 10 à 15 minutes d'exposition, avec une forte corrélation, lors et après l'exposition, entre la concentration alvéolaire et la concentration sanguine. L'absorption (environ 50 % de la concentration) est fortement influencée par le taux de ventilation pulmonaire (**Fiche INERIS, 2016**).

Le toluène est absorbé complètement par le tractus gastro-intestinal de l'homme et du animale, chez ce dernier, une vitesse inférieure marquée à l'absorption pulmonaire : le pic sanguin est atteint après 2 heures. Il est absorbé lentement à travers la peau humaine (14 à 23 mg/cm /h) avec des variations individuelles importantes. Chez l'animal, le taux de pénétration cutanée est faible pour le toluène liquide et pratiquement inexistant pour la forme vapeur (**Fiche toxique INRS, 2021**).

➤ Distribution

De nombreuses études ont montré des relations entre le taux de toluène dans le sang et certains tissus, en particulier pour le cerveau (**Benignus et al., 1984 ; Harabuchi et al., 1993**).

Le toluène est absorbé dans le sang et se disperser dans les tissus riches en lipides et les organes fortement vascularisés notamment le cerveau, en particulier la matière blanche, la moelle osseuse, la moelle épinière, le foie, le tissu adipeux et les reins. La concentration dans le cerveau semble plus importante que dans le sang ; le tissu adipeux joue le rôle de réservoir. En effet le toluène est capable de traverser aisément la barrière placentaire des animaux vers le fœtus, et sécrété dans le lait maternel chez l'homme et aussi chez l'animal (**Fiche toxique 74 INRS, 2021**)

Tableau 04 : Synthèse des taux d'absorption et organes cibles en fonction des voies d'exposition (**Fiche INERIS, 2016**).

Substance Chimique (n°CAS)	Voies d'exposition	Taux d'absorption		Organe cible	
		Homme	Animale	Principal	Secondaire
Toluène (108-88-3)	Inhalation	50 %	90%	SNC	Reins -Foie
	Ingestion	100%	99%	SNC	Reins -Foie
	Cutanée	1%	Faible	Peau	ND

SNC : Système Nerveux Centrale ; **ND** : Non Défini.

B. Métabolisme et Élimination du toluène

➤ Métabolisme

Le toluène suit un métabolisme comparable chez l'homme et l'animal. Comme nous avons mentionné précédemment il est facilement absorbé par les tractus gastro-intestinal et respiratoire et, à un degré moindre, par voie cutanée ; il se distribue dans les tissus riches en lipides, en particulier le cerveau ; il est éliminé tel quel dans l'air expiré et, après transformation, dans l'urine, majoritairement sous forme d'acide hippurique (**Fiche toxique INRS, 2021**).

Le toluène est rapidement et efficacement absorbé à travers les poumons (environ 50 à 80 %) (**Donald et al., 1991**). En outre, une grande partie du toluène inhalé peut atteindre le

cerveau avant d'être détoxifiée par le foie, siège central du métabolisme du toluène (**Waniusiow, 2009**). L'absorption à partir des voies gastro-intestinales est plus lente et moins efficace (**Pyykko et al., 1977**). Initialement, le toluène se répartit dans les tissus hautement vascularisés et riches en lipides (**Fiche toxique INRS, 2021**).

La biotransformation de toluène absorbé réalise par l'intervention des isoenzymes essentiels du cytochrome hépatiques : sont les cytochromes P450(CYP) ; ces derniers sont des enzymes responsables de la biotransformation de composés exogènes, aussi bien dans les phénomènes de détoxification que d'intoxication par formation d'entités réactives (**Nguyen, 2007**).

Le processus de détoxification du toluène se décline en deux grandes voies principales : la voie d'oxydation (ou phase I) au niveau du réticulum endoplasmique (**Waniusiow, 2009**) qui met en jeu les **CYP450** (activité monooxygénase, oxydase, réductase, ou peroxydase) conduisant principalement à l'oxydation en alcool benzylique et enfin à la formation d'acide hippurique (80%) et secondairement à l'acide toluylmercapturique et aux o-, m-, p- crésols (1-2%), - la voie de conjugaison (ou phase II) qui met en jeu le glutathion pour former les dérivés cystéinés puis l'acide benzylmercapturique (20%) (Figure 03). Le rôle principal de ces réactions d'oxydation et de conjugaison est de promouvoir l'élimination des métabolites en favorisant leur transfert au travers des membranes intestinales, hépatiques ou rénales. Lors de la phase I (Figure 03), le toluène est oxydé en alcool benzylique par une superfamille d'hémoprotéines : les **CYP450**. Ces enzymes, principalement hépatiques, sont impliquées dans le métabolisme de nombreux composés endogènes ou exogènes en raison de la grande flexibilité de leur site actif héminique (**Anzenbacherova et al., 2005**). Trois familles principales sont nécessaires à la détoxification du toluène : **CYP450 1, 2, 3** et plus particulièrement dans l'ordre d'importance les sous-familles suivantes : **CYP 2E1, 2B1/2, 2C6/11, 1A1/2, 2A1 et 3A1/2** (**Tamie et Rui-Sheng, 1994**). Le rôle joué par ces sous-familles dépend du composé ou du xénobiotique à transformer. Par exemple, les **CYP 2E1** induisent la transformation du toluène en alcool benzylique. Le métabolite terminal de la voie des alcools et aldéhyde déshydrogénases est l'acide benzoïque qui est secondairement conjugué avec la glycine et éliminé dans les urines sous forme d'acide hippurique (AH) (**Wrighton et Stevens, 1992**).

D'autres métabolites secondaires sont également excrétés dans les urines : les crésols et l'acide toluylmercapturique qui proviennent de l'oxydation du cycle benzénique du toluène sous l'action des **CYP450**. La phase II, quant à elle, est initiée par la sulfotransférase qui transfère un groupement sulfate sur l'alcool benzylique aboutissant au benzylsulfate (**Van**

Doorn et al., 1981). Ce groupement sulfate subit ensuite une attaque nucléophile par la fonction thiol du glutathion (GSH) formant ainsi le S-benzyl glutathion. Puis apparaissent les dérivés cystéinés (ou S-conjugués) qui aboutissent à l'acide benzylmercapturique (ABM) (**Tassaneeyakul et al., 1996**). La dégradation du toluène en ABM reste un processus complexe faisant intervenir plusieurs organes (**Sano et al., 2001**). Dans ce processus, le rein est le premier site de conversion du benzyl sulfate en S-benzyl glutathion. Puis la γ -glutamyltransférase (γ -GT) catalyse l'hydrolyse de la liaison entre l'acide glutamique et le conjugué cystéiné libérant ainsi le premier dérivé cystéiné : le S-benzyl cystéinylglycine (**Hinchmann et Ballatori, 1990**). Le S-benzyl cystéinylglycine est à son tour hydrolysé par l'aminopeptidase qui élimine la glycine terminale donnant ainsi le deuxième dérivé cystéiné : le S-benzyl L-cystéine. Ce dernier dérivé cystéiné est transporté de nouveau en direction du foie où il subit une N-acétylation aboutissant au métabolite terminal de la voie de conjugaison : l'acide benzylmercapturique qui est excrété dans les urines (**Lash, 1994 ; Sano et al., 2001**).

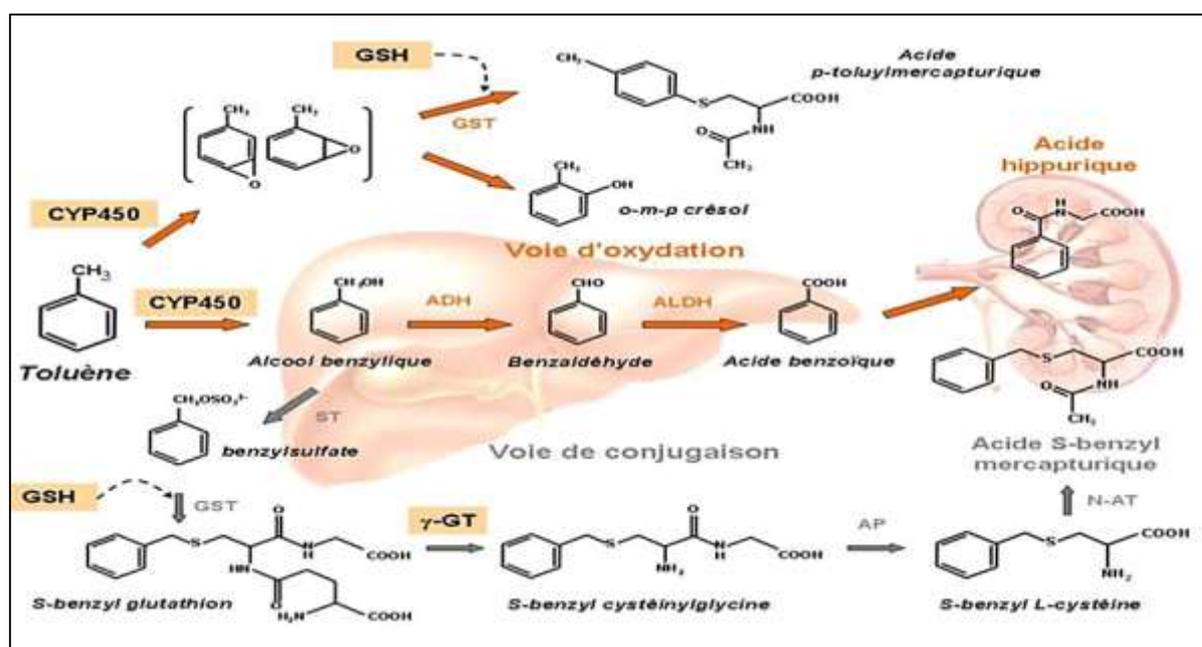


Figure 3 : Profil métabolique du toluène. **CYP450** : cytochrome P450, **ADH** : alcool déshydrogénase, **ALDH** : aldéhyde déshydrogénase, **ST** : sulfotransférase, **GSH** : glutathion, **GST** : glutathion S-transférase, **γ -GT** : γ -glutamyltransférase, **AP** : aminopeptidase, **N-AT** : N-acétyltransférase (**Waniusiow, 2009**).

- Les résols ortho -, méta - et para-c sont des métabolites mineurs du métabolisme du toluène. Le rein excrète ces métabolites mineurs sous forme de crésols conjugués, les crésols présentent une action toxique. D'autres métabolites mineurs en terme de quantité, la méthylhydroquinone et la méthylbenzoquinone, présentent également un

potentiel toxique pouvant être à l'origine d'effets cancérigènes ou d'effets sur la reproduction (Murata *et al.*, 1999 ; Woiwode *et al.*, 1979 ; Woiwode et Drysch, 1981).

- La majeure partie de l'acide benzoïque est conjuguée avec de la glycine pour former de l'acide hippurique avant son excrétion dans l'urine (Ogata *et al.*, 1970).

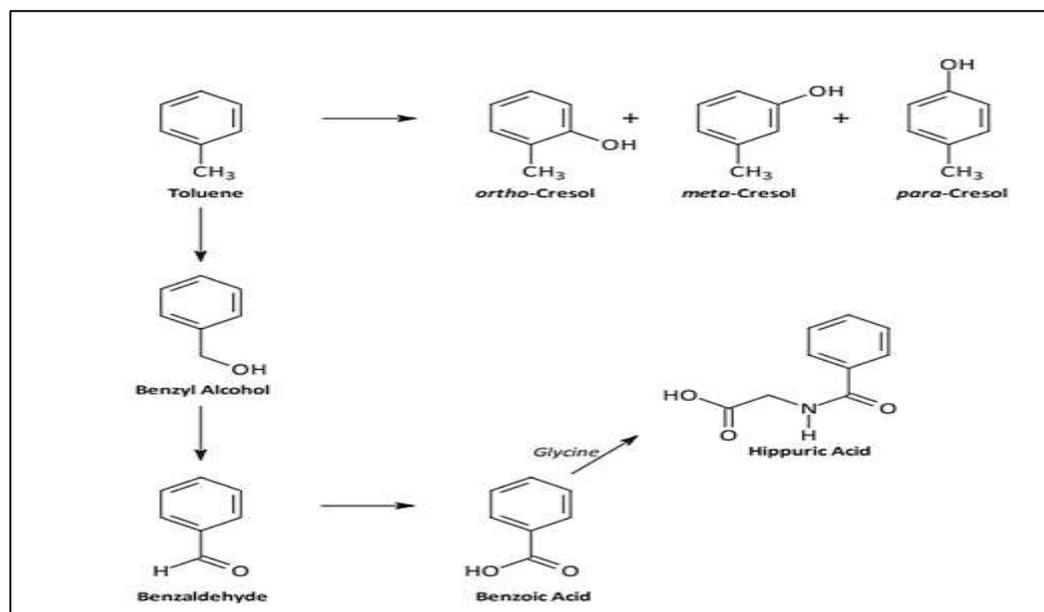


Figure 4 : Les principales voies majeures et mineures de toluène dans l'organisme (Fiche INERIS, 2016).

➤ Elimination

Des études chez l'homme et l'animal ont montré que la majorité du toluène présent dans l'organisme est éliminée dans l'urine (80 %) et dans l'air expiré sous forme inchangée (10 - 20 %), principalement sous forme de métabolisée (acide hippurique (60 - 70 %), benzoylglucuronide (10 - 20 %), acides mercapturiques ou crésols conjugués) (Löf *et al.*, 1990, 1993 ; Turkall *et al.*, 1991 ; Tardif *et al.*, 1992, 1998).

Le principal métabolite urinaire du toluène est l'acide hippurique, avec des métabolites supplémentaires résultant de voies métaboliques mineures (Sato et Nakajima, 1978 ; Carlsson, 1982 ; Löf *et al.*, 1990, 1993).

L'élimination du toluène dans l'air expiré est maximale à certains moments pendant ou immédiatement après l'exposition et diminue rapidement par la suite (Benoit *et al.*, 1985). Turkall *et al.* ont estimé qu'environ 22 % d'une dose orale unique est éliminée dans l'air expiré chez certains animaux tandis que le reste étant principalement éliminé dans l'urine (Turkall *et al.*, 1991).

L'acide hippurique urinaire est le principal indicateur biologique pour la surveillance de l'exposition au toluène. Ce n'est pas un indicateur spécifique car de nombreux aliments contiennent des benzoates qui sont également transformés en acide hippurique. Les taux urinaires d'acide hippurique ont généralement été utilisés comme bio marqueur de l'exposition au toluène. Cependant, en raison de sa courte demi-vie (**Lowry, 1987**), les niveaux d'acide hippurique sont mieux corrélés aux situations d'exposition aiguë. Les concentrations sanguines de toluène ont été rapportées comme la mesure la plus fiable de l'exposition au toluène (**Kawai et al., 1993 ; Brugnone et al., 1995**).

➤ **Mécanisme d'action**

Plusieurs hypothèses pourraient expliquer le mécanisme d'action du toluène (**EU, 2003**). Au niveau moléculaire, le toluène pourrait se disperser au cholestérol membranaire ce qui modifierait la fluidité membranaire et altérerait les communications entre cellules et les mouvements ioniques normaux (**Engelke et al., 1996**). La localisation de toluène dans les régions hydrophobes des protéines et les interactions liées altèrent l'activité des enzymes membranaires et/ou des récepteurs spécifiques (**Balster, 1998**). Le toluène augmenterait la fonction de l'acide gamma-aminobutyrique de type A (GABAA) (**Mihic et al., 1994**), atténuant le récepteur N-méthyl-D aspartate stimulé par le flux calcique (**Cruz et al., 1998**) et activant les systèmes dopaminergiques (**Von Euler, 1994a**) et inhibant les canaux calciques sensibles au voltage (**Tillar et al., 2002**).

8. Signes cliniques de l'intoxication de toluène

A. Toxicité chronique et aiguë

Lors d'une exposition prolongée, le toluène s'accumule dans le cerveau (**Fabre, 1946**), comme dans le cas d'une intoxication aiguë, cela provoque des altérations graves au système nerveux central. Cependant, dans les expérimentations animales, cela n'est clairement visible qu'à des concentrations $> 500 \text{ ml/m}^3$ (**Bättig et Grandjean, 1964**).

Cependant, de nombreuses études sur des travailleurs ont indiqué que l'exposition au toluène affecte les performances neurocomportementales, testées comme la fonction motrice, l'attention et la mémoire (**Taylor et al., 2017**) Dans les études animales, le toluène a entraîné des lésions dans l'oreille interne qui sont connues sous le terme d'ototoxicité (**EU, 2003**).

Les risques aux organes internes par inhalation chronique de concentrations de toluène relativement faibles (jusqu'à environ 200 à 400 mg/m^3) ne sont pas clairement détectables

(Bänfer, 1961). Tandis que, l'inhalation chronique de fortes doses de toluène entraîne des troubles cérébraux notamment les lésions du cervelet, une perturbation du métabolisme et une faiblesse musculaire (Boor et al., 1977).

B. Toxicologie chez les mammifères

La toxicité aiguë du toluène inhalé ou ingéré est relativement faible. Des expositions répétées à court terme d'espèces animales à des concentrations modérées ou élevées de toluène provoquent une dépression du système nerveux central et ont des effets néfastes sur le foie, les reins et les poumons. D'après des essais biologiques suffisants et bien documentés portant sur des expositions subchroniques par inhalation, la concentration la plus faible à laquelle on signale des effets est de 100 p.p.m. (375 mg/m³). Une telle concentration a provoqué une diminution du poids corporel (réduction de 7,5 et 12 % du poids final par rapport aux témoins chez les mâles et les femelles, respectivement) (Huff, 1990).

Le toluène ne semble pas être tératogène chez les lapins, si l'on se fie aux données limitées dont on dispose. Il est foetotoxique à des concentrations élevées (1 000 mg/m³), qui ne sont toutefois pas toxiques pour la mère et il provoque une diminution du poids du fœtus chez les souris et les rats ainsi qu'un retard de l'ossification avec une certaine augmentation des troubles du squelette (Ungvary et Tatrai, 1985).

Dans les études effectuées jusqu'à présent, on n'a décelé aucune indication de la cancérogénicité, de la mutagénicité ou de la toxicité oculaire de plusieurs des métabolites du toluène, notamment de l'alcool benzylique, du benzaldéhyde, de l'acide benzoïque et de l'acide hippurique (Huff, 1990 ; Ikeda, 1987).

- **ppm** : On utilise surtout la ppm pour exprimer une fraction volumique on précise « partie par million en volume » (ppmv ; 1 ppmv = 1 µL/L).

C. Foetotoxicité

Le toluène ne semble pas être tératogène chez les lapins ou d'autres animaux à faibles doses, Si l'on se fie aux données limitées dont on dispose. Il est foetotoxique à des concentrations élevées (1 000 mg/m³), qui ne sont toutefois pas toxiques pour la mère et il cause une diminution du poids du fœtus chez les mammifères ainsi qu'un retard de l'ossification avec une certaine augmentation des anomalies mineures du squelette (Ungvary et Tatrai, 1985).

D. Génotoxicité

L'évaluation des effets génétiques de l'exposition professionnelle au toluène repose sur le nombre des personnes analysées, sur les informations adéquates sur les possibilités d'exposition à d'autres agents qui endommagent les chromosomes (**World Health Organization, 1985**). Des données récentes indiquent que le toluène induit des effets génotoxiques susceptibles de provoquer des ruptures ou des cassures dans les lymphocytes de sang périphérique stimulés par les mitogènes qui favorisent la prolifération cellulaire (**Nise et al., 1991**). L'exposition au toluène des imprimantes était également fortement corrélée avec un excès de chromatide ruptures dans les lymphocytes périphériques par rapport aux témoins (**Pelclova et al., 1990**). Aucun effet sur l'échange de chromatides sœurs, le cycle cellulaire on a observé un retard ou une mortalité cellulaire dans les lymphocytes du sang périphérique chez des volontaires exposés à trois jours consécutifs à 50 ppm (**Richer et al., 1993**). Auparavant, Bauchinger et al. ont trouvé une augmentation des échanges de chromatides sœurs et des erreurs chromosomiques dans les imprimantes (fumeurs et non-fumeurs par rapport aux témoins) exposés au toluène pendant plus de 16 ans (**Bauchinger et al., 1982**).

9. Effets sur la santé humaine et animale

9.1) Effets sur les animaux de laboratoire

Un grand nombre d'études appuient fortement les effets de toluène sur le système nerveux central (SNC). Presque toutes les études ont utilisé des concentrations ou des doses d'exposition qui dépassent de loin les concentrations auxquelles les humains ont été exposés sur le lieu de travail ou dans l'air ambiant. Dans une certaine mesure, ces études pourraient mieux se rapporter aux effets observés chez les toxicomanes au toluène. Récemment, l'utilisation d'une approche statistique de « dose de référence » appliquée aux effets comportementaux du toluène chez les rats suggère que les effets associés au SNC chez les animaux de laboratoire peuvent se produire à des niveaux associés à des signes d'altération du SNC chez l'homme (**Wood et Cox, 1955**).

9.2) Effets sur les êtres humains

En général, la plupart des études cliniques portent sur des expositions assez courtes (20 minutes à 8 heures) ou sur des expositions répétées (6 à 7 heures par jour pendant des périodes de 3 à 4 jours ou 8 heures deux fois par semaine. Dans la plupart de ces études, on n'a pas observé d'effets néfastes après une exposition à 375 mg/m³ ou moins, pendant des périodes uniques variant de 20 minutes à 3,5 heures (**Gamberale et Hultengren, 1972; Winneke, 1982**) ou après

des expositions répétées de 3 à 7 heures pendant des périodes allant jusqu'à 3 jours, d'après divers tests des fonctions neurologiques (**Echeverria et al., 1989; Ogata et al., 1970**). Toutefois, on signale une diminution de la fonction neurologique mesurée avec divers tests, une augmentation des symptômes neurologiques et une irritation des voies respiratoires chez 16 volontaires exposés à 375 mg/m³, 6 heures par jour, pendant 4 jours (**Andersen et al., 1983**).

9.3) Effets sur le développement

A des niveaux d'exposition communément rencontrés, le toluène serait à l'origine de diminution de poids à la naissance, de retard de développement post-natal (**EU, 2003**), aussi des Troubles du comportement ont été rapportées chez certains animaux exposés au toluène pendant la période de développement du cerveau (**Hass et al., 1999 ; Hougaard et al., 1999**). Même si les résultats de ces études sont difficiles à interpréter, une exposition professionnelle au toluène chez les mères pourrait induire des déficits cognitifs chez les enfants (**Grandjean et Landrigan, 2006**) et un retard d'ossification à la concentration la plus élevée (**Api, 1985**).

Des rapports de cas associent l'abus de toluène autodéclaré au développement d'anomalies faciales phénotypiques, d'anomalies comportementales et de déficits de croissance chez les enfants nés de mères sans abus d'éthanol autodéclaré (**Goodwin, 1988**). Ces anomalies sont similaires à celles du syndrome d'alcoolisme fœtal et comprennent des déficits de croissance, une microcéphalie, des troubles de l'attention, des retards de développement (p. oreilles attachées, diamètre bifrontal étroit, micrognathie, bouts des doigts émoussés, petits ongles) (**Arnold et al., 1994 ; Pearson et al., 1994**).

9.4) Effets sur la reproduction

Chez l'homme deux études cas témoin menées dans 2 industries suédoises (impression en héliogravure) montrent l'influence du toluène sur les niveaux des hormones de LH, FSH et de testostérone lors d'expositions professionnelles à des concentrations de 36 ppm (138 mg.m⁻³) (valeur moyenne) ou comprises entre 5 et 45 ppm (**Svensson et al., 1992 a ; Svensson et al., 1992 b**). Ces résultats montrent que le toluène à faible dose induit un effet sur l'axe hypothalamo-hypophysaire avec une diminution secondaire de la sécrétion de testostérone. Une action du toluène sur les mécanismes de la régulation endocrine est donc possible mais ne permet pas l'établissement d'une relation dose-effet. Toutefois, les études de fertilité ne rapportent aucun effet pour des expositions à faible dose (**Plenge-Bonig et Karmaus, 1999**).

Cependant, chez la femme les expositions quotidiennes à de faibles niveaux (< 10 mg.m⁻³) de toluène puissent provoquer une diminution de la fertilité chez la femme (**Plenge-**

Bonig et Karmaus, 1999). Concernent les animaux, Une étude récente, menée chez le rat Long-Evans, montre une probable diminution de la synthèse et de la sécrétion de testostérone, par une diminution statistiquement significative de l'ARN messager de certains enzymes responsables comme : bêta 3-hydroxystéroïde désydrégénase (**Tsukahara et al., 2009**).

❖ *Rôle des hormones sexuelles et hypothalamo-hypophysaires*

Les hormones sexuelles sont sécrétées par les gonades, testicules et ovaires. Ce sont des hormones stéroïdes. Leur sécrétion est régulée par le complexe hypothalamo-hypophysaire (figure 06), libérant des stimulines qui sont de nature chimique, des polypeptides (**Pillon, 2012**).

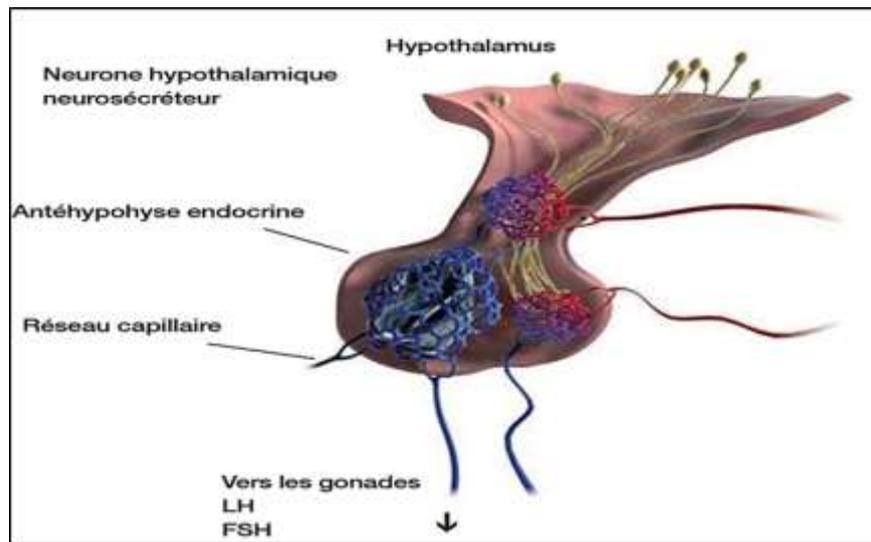


Figure 5 : Complexe hypothalamo hypophysaire (**Pillon, 2012**).

La gonadoréline, l'hormone hypothalamique : L'hypothalamus libère la gonadoréline ou Gonadotrophin releasing hormone (GnRH) (**Pillon, 2012**).

La GnRH atteint ainsi l'hypophyse antérieure, où elle stimule la libération des gonadotrophines, Les hormones hypophysaires à effet sexuel : lutéinisante (LH) et l'hormone folliculo-stimulante (FSH), responsables de la production par les gonades (testicules ou ovaires) des gamètes (spermatozoïdes ou ovocytes) et des hormones sexuelles (testostérone ou œstrogènes et progestérone). Ces dernières exercent un rétrocontrôle sur l'hypothalamus et l'hypophyse pour contrôler finement la libération de la GnRH (**Herbison, 2016**).

- *Chez la femme* : la FSH favorise la croissance folliculaire et la sécrétion d'œstrogènes. La LH agit en synergie avec la FSH dans la sécrétion d'œstrogènes et de progestérone, ainsi que dans l'ovulation. La gonadotrophine chorionique a une activité de type LH et

assure le maintien de la grossesse. À partir du 3^e mois de grossesse, c'est le placenta qui sécrète les estrogènes et la progestérone.

- *Chez l'homme* : la FSH intervient dans la spermatogenèse via une action gamétogénique. Quant à la LH, elle stimule la synthèse et la sécrétion de testostérone par le testicule (**Pillon, 2012**).

9.5) Effets sur le système nerveux central

Une vaste base de données sur l'exposition humaine au toluène indique que le dysfonctionnement du SNC est la principale préoccupation. Les perturbations présentées dans le fonctionnement neurocomportemental ont été considérées comme des précurseurs de plus graves indications de toxicité pour le SNC (**Stinson, 1995 ; World Health Organization, 1981**).

L'abus de toluène implique généralement une exposition aiguë ou chronique à des niveaux élevés inconnus. Le Cognitif dysfonctionnement peut être la caractéristique la plus invalidante et de l'abus chronique de toluène (**Hormes et al., 1986**). Les types d'effets cliniques observés dans les cas d'abus violent incluent l'atrophie cérébrale, cérébelleuse et du tronc cérébral, ataxie, incoordination musculaire, neuronale dégénérescence et troubles de la personnalité (**World Health Organization, 1985**). Imagerie par résonance magnétique ou informatisée la tomographie a été un outil utile pour examiner les zones touchées du cerveau des personnes qui abusent du toluène (**Kojima et al., 1993**), Des lésions du SNC ont également été observées chez les personnes qui consomment du toluène de façon chronique (**Rosenberg et al., 1988**).

➤ Mode d'action

Les effets neurologiques, comme la dépression du système nerveux central et la narcose, découlent, au moins en partie, d'interactions réversibles entre le toluène (lui-même et non ses métabolites) et les composants membranaires (lipides et protéines) des cellules nerveuses cérébrales ; le prétraitement des quelque animaux par le phénobarbital augmente le métabolisme du toluène et réduit la durée de la narcose. Avec cela cette interaction, si elle est répétée, pourrait moduler l'activité de certains enzymes impliqués dans la synthèse et/ou la dégradation des neurotransmetteurs ; le taux de ces derniers à certains endroits du cerveau est responsable des effets neurologiques produits (**Campo et al., 1997**).

- ❖ Le phénobarbital a été utilisé en première intention dans le traitement des crises d'épilepsie néonatales pendant des décennies, et c'est le médicament le plus

fréquemment utilisé par les prestataires de soins dans le monde entier (**Ahmad et al., 2017 ; Holmes et Riviello, 1999 ; Van Den Broek et al., 2015**).

L'effet inverse le plus courant du phénobarbital est la dépression du système nerveux central (SNC) et le risque de dépression respiratoire nécessitant un soutien supplémentaire. De plus, de nombreuses études sur des animaux ont montré que le phénobarbital provoque l'apoptose dans les neurones des rongeurs. Cette apoptose concerne le cortex, l'hypothalamus, le thalamus, ainsi que la matière blanche en développement (**Van Den Broek et al., 2012 ; Bittigau et al., 2002**).

9.6 Effets sur les reins et le foie

L'acidose tubulaire rénale distale est fréquente chez les personnes qui abusent le toluène (**Kamajima et al., 1994**) et chez les nourrissons nés de mères ayant abusé du toluène (**Lindemann, 1991**). Les signes cliniques comprennent une faiblesse musculaire, des nausées vomissements et sont censés être le résultat d'un déséquilibre électrolytique précipité par le rein acidose (**Marjot et Mcleod, 1989**). Récemment, on a observé que la violence aiguë au toluène a provoqué une faiblesse musculaire et complications des lésions tubulaires rénales avec métabolisme acidose (**Kamajima et al., 1994**).

9.7 Effets immunologiques

Une étude de toxicité sub-chronique par l'exposition respiratoire a été indiquée lors de l'exposition à 0 ou 50 ppm, pendant 6 ou 12 semaines (**Fujimaki et al., 2007**). A la dose de 50 ppm, il est noté une augmentation significative du nombre total de lymphocytes et de macrophages dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire. Une diminution significative de la production d'interféron-gamma et de substance P est constatée. L'accroissement de la production de neurotrophine-3 dans le fluide broncho-alvéolaire n'a été constatée que lors de l'exposition pendant 12 semaines. Cette étude affirme qu'une exposition à long terme au toluène modifie la réponse inflammatoire des voies aériennes via une signalisation neurologique. Une interaction entre les systèmes immunitaire et neurologique est possible au niveau de la zone du système limbique du cerveau qui particulièrement associée à l'apprentissage et à la mémoire (l'hippocampe) via les neurotrophines et leurs récepteurs (**Win-Shwe et Fujimaki, 2010**) qui jouent un rôle crucial dans la neurogenèse au niveau du système nerveux central et périphérique (**Maisonpierre et al., 1990**).

Des expositions à de relativement faibles niveaux de toluène pourraient altérer les fonctions de l'hippocampe en modulant les gènes dépendant des neurotrophines et leurs signaux (Win-Shwe et Fujimaki, 2010).

- ❖ Les neurotrophines sont des facteurs de croissance initialement découverts dans le système nerveux, ayant pour fonction de contrôler la croissance, la prolifération et la survie des cellules neuronales et gliales (Cassiman et *al.*, 2001; Kerschensteiner et *al.*, 1999 ; Kanaka – Gantenbein et *al.*, 1995).

Chapitre 2 :

Thé vert

1. Historique

Le thé est la deuxième boisson la plus consommée après l'eau à l'échelle mondiale, et il est cultivé et utilisé par l'homme dans sa vie quotidienne depuis des milliers d'années (**Harbowy et Balentine, 1997**).

L'histoire du thé a commencé dans la Chine ancienne il y a plus de 5 000 ans (vers 2737 av. J.-C.). Selon la légende, l'empereur chinois Shen Nong était un dirigeant légendaire de la Chine, un érudit créatif et un mécène des arts. Bien qu'il ait pu ou non être un véritable personnage historique, il est considéré comme le fondateur de la phytothérapie chinoise. La légende dit que ses édits clairvoyants exigeaient entre autres que toute l'eau potable soit bouillie par mesure de précaution hygiénique. Un jour d'été, alors qu'il visitait une région éloignée de son royaume, lui et son entourage s'arrêtèrent pour prendre une pause. Conformément à sa décision, les serviteurs ont commencé à faire bouillir de l'eau pour l'entourage à boire. Les feuilles séchées du buisson voisin sont tombées dans l'eau bouillante et un liquide brun a été infusé dans l'eau. Le monarque toujours curieux a pris une gorgée de la boisson et a été agréablement surpris par sa saveur et ses propriétés réparatrices. Une autre copie de la légende dit que l'empereur a testé sur lui les propriétés médicales de diverses herbes. Certains étaient toxiques, mais ont trouvé que le thé fonctionnait comme un antidote. Shen Nong est également mentionné dans «Cha Jing» ou livre de thé de Lu Yu, un des premiers travaux célèbres sur le sujet. En tant que scientifique, l'empereur s'est intéressé au nouveau liquide, en a bu et l'a trouvé très rafraîchissant. Par conséquent, selon la légende, le thé a été créé (**Jagan Mohan Rao et Ramalakshmi, 2011**).

2. Généralité

Le thé, boisson la plus populaire au monde (**Wachira et al., 2001**). Dès le 3^{ème} siècle, il était utilisé comme plante médicinale qui a des bénéfices pour la santé humaine (**Hu et al., 2012**).

Botanistes ont longtemps affirmé une double origine botanique pour le thé, c'est à dire qu'il existe deux principaux types de thé :

- *Camellia sinensis* (*var. assamica*) : est originaire de la région de la province du Yunnan en Chine à la région nord du Myanmar et l'état de l'Assam en Inde, cultivé et utilisé essentiellement pour la production de thé noir.

- *Camellia sinensis* (var. *sinensis*) : est originaire de l'est et du sud-est de la Chine. cultivé essentiellement en Chine et au Japon pour la production de thé vert (**Jagan Mohan Rao et Ramalakshmi 2011**).



Figure 6.a : *Camellia Sinensis* var. *Sinensis* (Schweikart, 2011).



Figure 6.b : *Camellia Sinensis* var. *Assamica* (Schweikart, 2011).

Le thé, est exploitez-le sous trois formes de base ; thé vert (non fermenté), thé noir (totalement fermentée) et thé Oolong (partiellement fermentés) (**Wachira et al., 2001**).



Thé vert



Thé noir



Thé Oolong

Figure 7 : Les trois types de thé (<https://www.envouthecom>).

Le thé vert est une boisson préparée avec des feuilles séchées de *Camellia sinensis* (**Suzuki et al., 2007**), est originaire de Chine, mais sa production est répandue dans de nombreux pays d'Asie. Plusieurs variétés de thé vert existent, qui diffèrent considérablement

en raison de conditions de croissance, d'horticulture, de la production, et du temps de récolte des feuilles (Zaiter, 2017).

Ces dernières années il y a eu un intérêt croissant dans la compréhension des avantages cardiovasculaires et métaboliques de flavonoïdes poly phénoliques dans le thé (Wachira et al., 2001) ; et on sait que le thé vert est connu pour contenir des quantités relativement importantes de polyphénols (Suzuki et al., 2007). Qui peut être utilisé comme complément alimentaire pour les patients et a été prescrit pour traiter de nombreuses conditions pathologiques, par exemple : l'hypertension artérielle, l'athérosclérose, le diabète, l'hypercholestérolémie et l'obésité (Wachira et al., 2001), et est principalement attribué aux antioxydants dans de nombreuses fonctions biologiques, y compris anti-inflammatoires (Suzuki et al., 2007) et anti-oxydantes pour le cancer (Hirai et al., 2007).

3. Nomenclature et Taxonomie : *Camellia sinensis*

Le nom signifie *sinensis chinois* en Amérique. *Camellia* est tiré du nom latin de Re Georg Kamel, SJ (1661-1706), un d'origine tchèque prêtre qui devient à la fois un botaniste éminent et un missionnaire à l'philippine. Bien que Kamel n'ait pas découvert le nom de l'usine, CARL VO N LINNE a choisi son nom pour le genre d'honorer les contributions de Kamel à la science. Âgées noms de l'usine de thé comprennent *BOUEA Théa*, *Théa sinensis* et *Théa viridis* (Wachira et al., 2001).

4. Classification de *Camellia sinensis*

Tableau 05 : Classification botanique de *Camellia sinensis* (Mahmood et al., 2010) :

Règne	Plantea
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Theales
Genre	Theaceae
Famille	<i>Camellia</i>
Espèce	<i>Camellia sinensis</i>

5. Description botanique

C. sinensis, un membre de la famille des theaceae, est un arbre ou arbuste à feuillage persistant qui atteint une hauteur de 10 à 15 m dans la nature et 0,6 à 1,5 m lorsqu'il est cultivé (Mahmood et al., 2010). Les fleurs sont odorantes, axillaires et solitaires. Leur taille varie et peut aller jusqu'à 2.5 à 4 cm. Les fleurs portent de nombreuses étamines dont la partie jaune porte le pollen et produit des capsules de couleur rouge brunâtre (Ross, 2005). Les feuilles sont persistantes, molles et duveteuses si elles sont jeunes, et deviennent glabre lorsqu'elles sont âgées, elles sont isolées, alternes, oblongues, ovales ou lancéolées, vert foncé, brillantes, à bord très dentelé et non stipulées (Coves, 2000), sa longueur est variant de 5 - 30 cm et environ 4 cm de largeur (Ross, 2005).

Le calice spiralé, est formé également de cinq sépales (Sanchez et al., 2007). Le nombre d'étamines, jaunes, peut aller jusqu'à 200. Elles sont polyadelphes, C'est-à-dire soudées en faisceau par la base de leurs filets. L'ovaire de *Camellia sinensis* est supère, c'est-à-dire que les pièces florales sont insérées en dessous de l'ovaire. Le fruit est une capsule loculicide trigone (avec trois loges uniséminée), ne renfermant qu'une ou deux graines oléagineuses, exalbuminées, entourées d'un tégument sans arille (Kenna et al., 2002 ; Spichiger et al., 2002), de la taille d'une petite noix (Biswas , 2006).



Figure 8 : La plante *Camellia sinensis* (Krieps, 2009 ; Parmar et al., 2012 ; <https://www.gardenia.net/plant/camellia-sinensis>).

6. Fabrication et consommation du thé vert

(dans ce chapitre, nous ne nous intéressons qu'au processus de fabrication du thé vert).

Une considération utile des effets physiologiques et pharmacologiques du thé nécessite des informations de fond concernant la production, la composition des feuilles, la disponibilité des différents types de thé et, surtout, les changements chimiques qui se produisent au cours de la fabrication des différents produits commerciaux (Graham, 1992).

Il existe trois principaux types de thé (voir Figure 7 + figure 9) (Khan et Mukhtar, 2007).

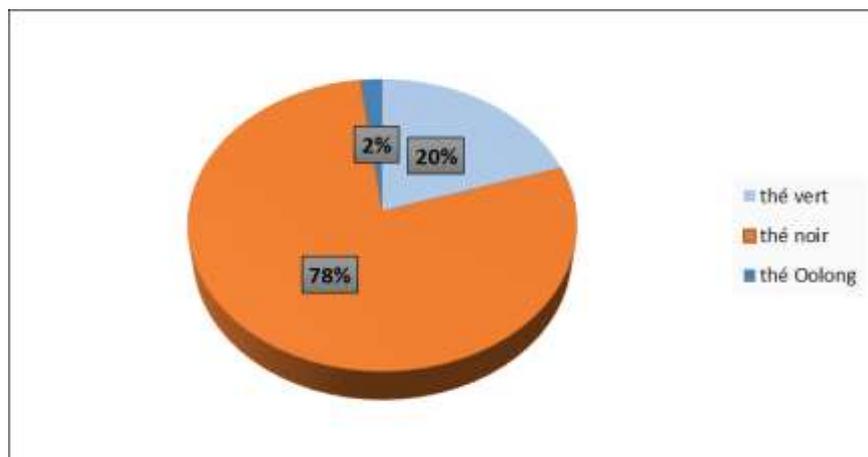


Figure 9 : Types de thé en termes de pourcentage de la production mondiale en 2005.

Ces trois catégories de thé se distinguent par leurs procédés de fabrication (figure 10), par leurs goûts et la différence de leurs compositions chimiques (Coves S, 2000 ; Krieps, 2009).

À l'exception du processus de fermentation, qui dépend des étapes d'oxydation de divers produits chimiques polyphénoliques trouvés dans les feuilles de thé, les procédures fondamentales de fabrication de différents types de thé sont identiques. Le terme thé vert désigne le produit fabriqué à partir des feuilles fraîches de l'usine de thé par la vapeur et le séchage à des températures élevées, avec soin d'éviter l'oxydation et la polymérisation des composants polyphénoliques (Mukhtar et Ahmad, 2000).

Après la récolte, les feuilles de thé (généralement le bourgeon accompagné de deux ou trois jeunes feuilles.) sont apportées aux usines situées près des jardins de thé pour la fabrication (le processus de fabrication détermine le type de thé produit) (Harbowy et Balentine 1997).

Les étapes de base pour obtenir du thé vert sont :

- ✓ **La torréfaction**, dans laquelle les feuilles sont chauffées à 100 °C en atmosphère humide pendant une durée allant de 5 à 30 minutes. Cette étape permet l'inhibition des enzymes responsables de l'oxydation (Delmas et al., 2007, https://chathe.fr/THE_Types_1.html).
- ✓ **Le roulage** : Les feuilles sont roulées ou pliées à la main pour leur donner une forme idoine. Il est principalement destiné à donner aux feuilles une forme de bâton (https://chathe.fr/THE_Types_1.html).
- ✓ **Le séchage** (Dessiccation) consiste à sécher les feuilles avec de l'air chaud pendant 2 à 3 min avec alternance de périodes de 30 min de repos pour atteindre 5 à 6 % d'eau (Laurens et al., 1998). Enfin, un produit sec et stable est obtenu.

Les théés verts sont généralement produits dans deux catégories : « thé blanc » et « thé jaune », ce dernier est desséché (flétri), ce qui donne un petit degré de fermentation. Il y a une certaine variété de terminologie entre la fabrication de thé vert chinois et japonais, et avec l'augmentation de la popularité du thé vert dans le monde entier, la production pilote de thé vert dans d'autres régions, comme Darjeeling en Inde, de variétés de thé traditionnellement noir ont conduit à une grande variété de produits de thé vert sur le marché (Katiyar et al., 2000).

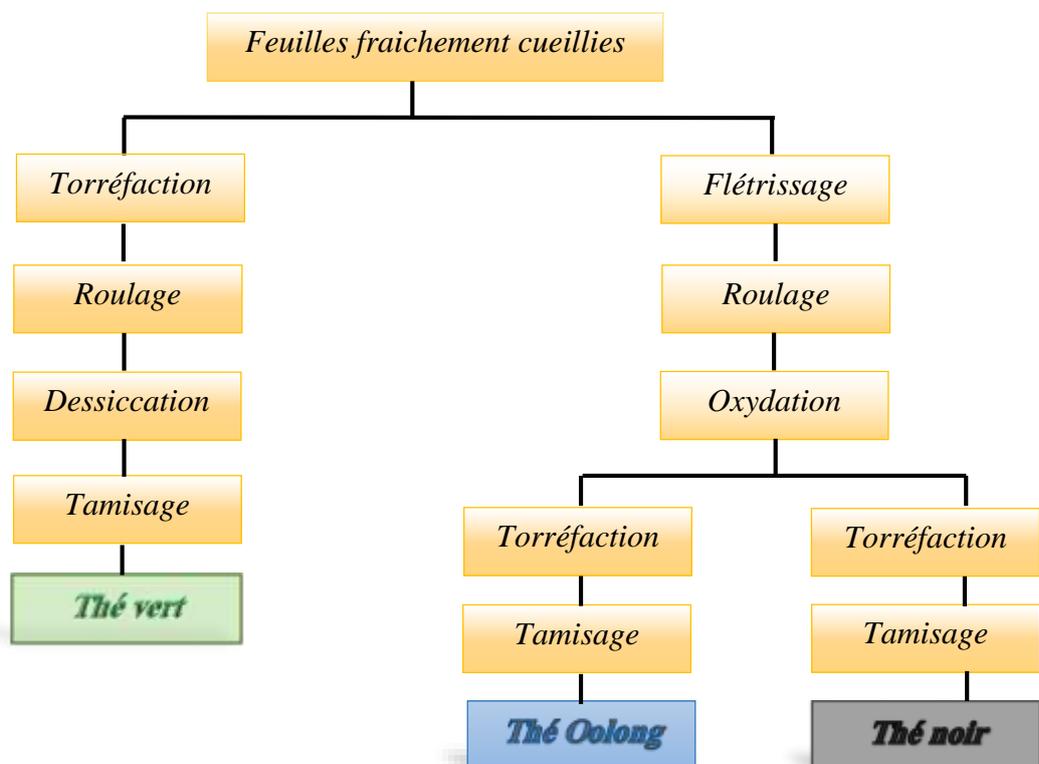


Figure 10 : Principales étapes du traitement des feuilles de théier après récolte (Krieps, 2009 ; Monograph, 2000).

7. Constituants chimiques de thé vert

Depuis plus de 3.000 ans, les feuilles de thé sont couramment utilisées par la phytothérapie chinoise, et au début du 8^{ème} siècle, le thé vert a été transféré de la Chine au Japon pour usage médical en raison de ses propriétés thérapeutiques (Yamamoto et al., 1997).

De nombreuses études ont montré que la composition chimique du thé vert varie selon la situation géographique, le climat, la saison, les pratiques horticoles, le type et l'âge de la plante etc... (Mukhtar et Ahmad, 2000). Il se caractérise par contenir une grande quantité des substances actives qui favorisent la santé de l'organisme, On trouve notamment: catéchines, flavonols, protéines, acides gras, vitamines, minéraux, oligoéléments, acides aminés, caféine, huiles essentielles, chlorophylle et de nombreuses autres substances végétales secondaires (Graham, 1992).

Les composants chimiques des feuilles de thé vert sont classés en deux catégories principales, la première étant les composés chimiques insolubles dans lesquels les glucides occupent la plus grande proportion, suivie par les fibres de cellulose et les protéines. Le second est composé avec des poids moléculaires relativement faibles qui sont submergés dans l'eau chaude pour donner un goût et une saveur spéciale à la boisson de thé et comprennent des polyphénols, caféine, théanine et vitamines... etc (Yamamoto et al., 1997).

Le tableau suivant résume la composition chimique de la feuille de thé vert,

Tableau 06 : Composition chimique des feuilles de thé vert (Sinija et Mishra et 2008) :

composants chimiques contenus dans le thé vert	pourcentage de la matière sèche
<i>Polyphénols</i>	37%
<i>Caféine</i>	2 à 4%
<i>Carbohydrates</i>	25%
<i>Protéines</i>	15 à 20%
<i>Acide aminé</i>	3 à 4%
<i>Lipides</i>	2 à 3%
<i>Caroténoïdes</i>	<0.1%
<i>Chlorophylle</i>	0.5%
<i>Minéraux</i>	3 à 5%
<i>Composés volatils</i>	0.01 - 0.02% (Traces)

Parmi les principaux constituants de la feuille de thé vert, on retrouve :

7.1) Les polyphénols

Les polyphénols constituent le groupe le plus intéressant (Cabrera et al., 2006) et l'un des composants notables de la feuille de thé vert, qui sont presque infusés d'eau chaude ou extraits avec de l'acétate d'éthyle de la solution aqueuse. Le léger goût astringent et amer de l'infusion de thé vert est attribué aux polyphénols (Yamamoto et al., 1997).

❖ Les différentes familles chimiques des polyphénols

Les polyphénols de thé vert sont composés de polyphénols simples et complexes. La grande majorité des polyphénols dans le thé vert sont des monomères flavonoïdes appelés catéchines et flavonols (Harbowy et Balentine, 1997).

La classification des différentes familles de polyphénols est basée sur la complexité du squelette de base (Mossion, 2007).

A. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont le sous-groupe le plus large et la classe dominante des polyphénols de thé vert (Harbowy et Balentine, 1997), sont des composés phénoliques d'origine essentiellement végétale (Cermak et al., 2001).

Les flavonoïdes se divisent en plusieurs sous-familles chimiques. Tous sont dérivés d'un squelette de base, le 2-phénylbenzopyrane, assemblage de deux cycles aromatiques, ainsi que d'un noyau pyrane (figure 11) (Balentine et al., 2000).

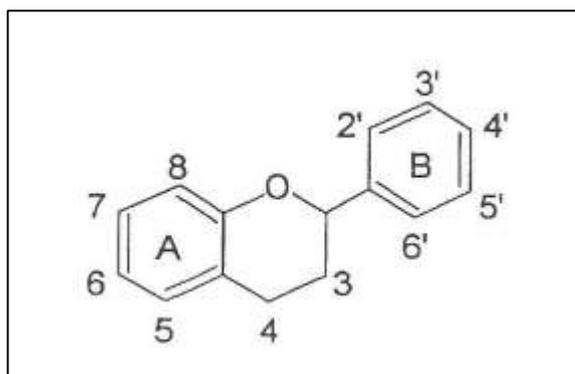


Figure 11 : Structure de base des flavonoïdes (Balentine et al., 2000).

○ Les flavanols ou les catéchines

Représentent le principal composant polyphénolique du thé vert, également appelé catéchines ou flavan-3-ols (Harbowy et Balentine, 1997).

Les catéchines sont incolores, astringentes, solubles dans l'eau. Elles sont facilement oxydables, bien que leurs potentiels d'oxydation varient. Cette propriété a été exploitée par leur utilisation comme antioxydants alimentaires (**Graham, 1992**). Les catéchines sont stockées dans des vacuoles cellulaires (**Banerjee et Chaudhuri, 2004**).

Dans une infusion typique de thé vert préparée par 2.5 g de thé vert dans 250 ml d'eau chaude infusée pendant 3 min, les catéchines représentent 30 à 42% de l'ensemble des composés (**Harbowy et Balentine, 1997**).

Les quatre principaux flavonoïdes du thé vert sont les catéchines, l'épicatéchin (EC), l'épigallocatechine (EGC), l'épicatéchin gallate (ECG) et l'épigallocatechine gallate (EGCG) (figure 12). L'épigallocatechine gallate est considérée comme la composante active la plus importante (**Sinija et Mishra et 2008**).

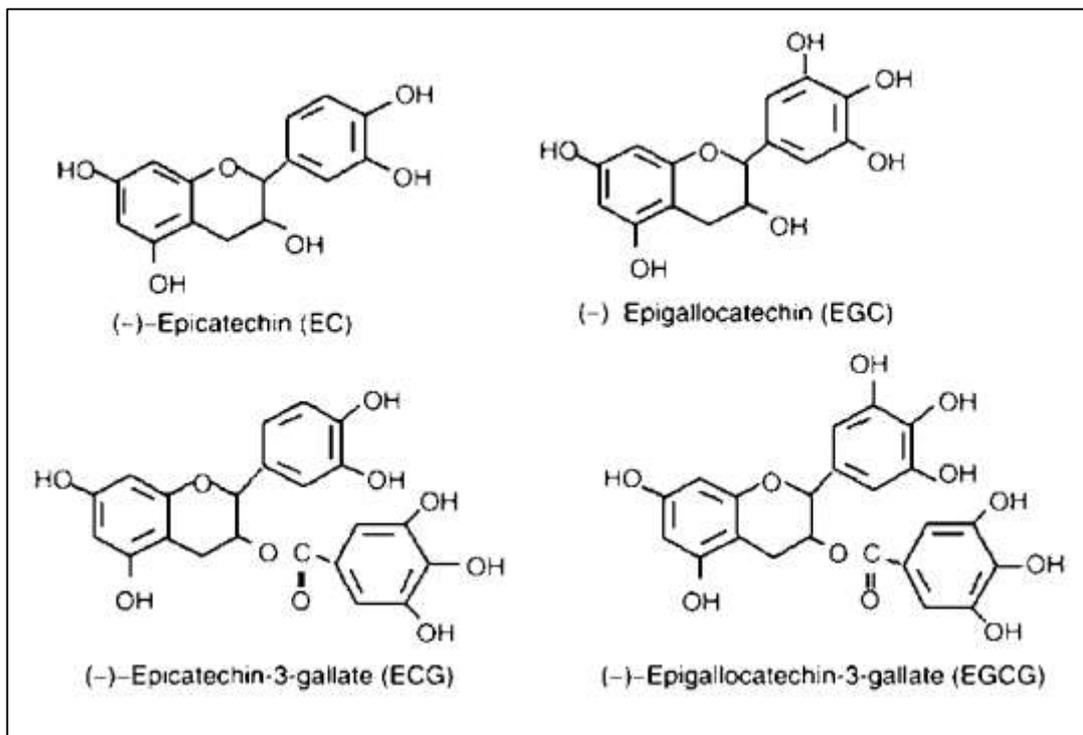


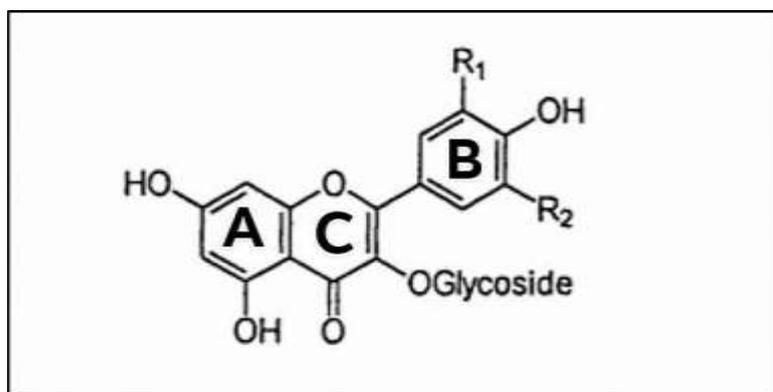
Figure 12 : Les principales catéchines du thé vert (**Sinija et Mishra et 2008**).

o Les flavonols

Les flavonols [kaempferol, quercitine et myricitine] et leurs glycosides (mono-, di- et tri-) (figure 13) n'ont été reconnus que récemment comme composants importants dans le thé, bien que leur présence en tant que constituants traces ait toujours été reconnue (0.5 à 2.5% d'extrait dans les infusions) (**Harbowy et Balentine, 1997**).

Les flavonols ont une structure chimique proche des flavanols ; seul le cycle pyrane est substitué par un cycle carboné 4-oxo-3-hydroxy (**Balentine et al., 2000**).

Le glycoside est greffé au niveau de l'hydroxyle en position 3 du cycle C. Par leur plus forte hydrosolubilité, les glycosides des flavonols sont plus abondants au niveau de l'infusé (Krieps, 2009).



		R_1	R_2
Kaempferol Glycoside	KaG	H	H
Quercetin Glycoside	QuG	OH	H
Myricetin Glycoside	MyG	OH	OH

Figure 13 : Les glycosides de flavonol (Harbowy et Balentine, 1997).

B. Les acides-phénols

Ce sont des composés organiques rencontrés chez les plantes possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ces acides phénoliques sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxy-benzoïque et de l'acide hydroxy-cinnamique (Chira et al., 2008).

- Les acides hydroxy-benzoïques : On trouve l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gentisique et l'acide gallique (Chira et al., 2008).
 - Les acides hydroxy-cinnamiques : On trouve les acides caféiques, p-coumarique, férulique et sinapique (Chira et al., 2008).
- Dans le thé vert a été identifiés L'acide gallique (figure 14), l'acide caféique et l'acide chlorogénique (Sinija et Mishra et 2008).

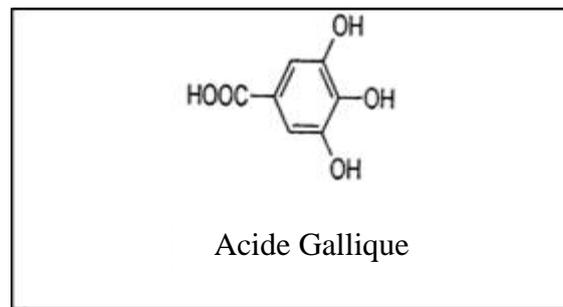


Figure 14 : structure chimique d'acide gallique (Krieps, 2009).

C. Les tanins

Les tanins sont des formes phénoliques condensées avec un sucre ou une autre molécule à fort poids moléculaire, utilisés depuis l'antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (Macheix *et al.*, 2005).

✓ Premièrement, les tanins hydrolysables :

Sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique. Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (Macheix *et al.*, 2005). L'acide gallique se lie à une molécule de glucose pour former un tanin gallique (Ross, 2005).

Tous les tanins hydrolysables uniques dans le thé sont généralement des tanins « hybrides » comme la camelliatannine A (figure 15.A), qui est un dérivé de la galloylglucose avec des catéchines suspendues (Harbowy et Balentine, 1997).

✓ Deuxièmement, les tannins condensés ou les proanthocyanidines :

Les tanins condensés sont responsables de l'astringence caractéristique des fruits avant maturité et de certaines boissons comme le thé et de l'amertume du chocolat (Macheix *et al.*, 2005).

La feuille de thé contient des procyanidols ou proanthocyanidols (figure 15.B), des tanins composés de dimères dont la structure chimique centrale est un catéchol ou flavane-3-ol (Ross, 2005).

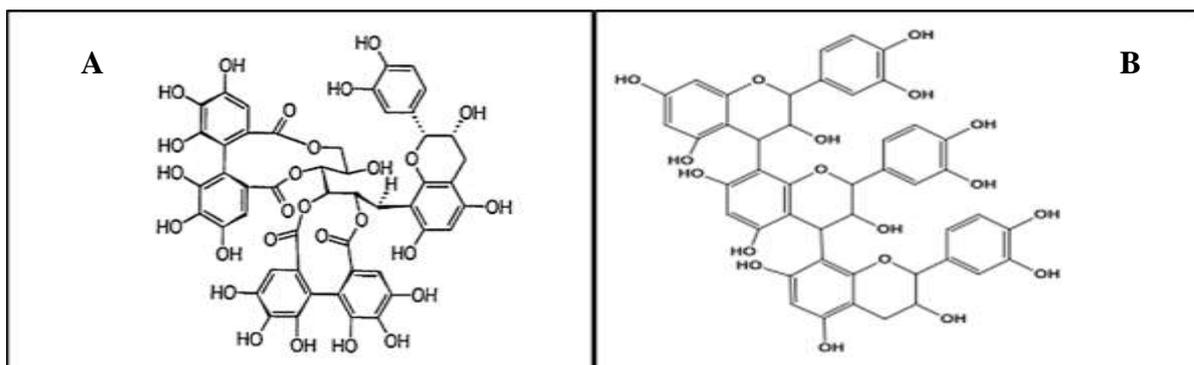


Figure 15 : Structure chimique des tanins dans le thé vert (**A** : Camelliatannine A (Harbowy et Balentine, 1997). **B** : Proanthocyanidol (Macheix et al., 2005)).

7.2) Les Méthylxanthines

Dans le thé vert, il y a trois xanthines méthyliques :

A. La caféine :

Les espèces végétales qui contiennent de la caféine sont rares, mais la plupart des plantes contenant de la caféine ont été utilisées comme aliments ou boissons préférés depuis les temps anciens. La caféine ou 1, 3,7-triméthylxanthine, est principalement synthétisée dans les feuilles de thé, et est responsable de leur goût distinctif et souhaitable. La teneur en caféine des grains de café est généralement de 1,5 %, tandis que celle des feuilles de thé vert atteint 5 % au maximum (Yamamoto et al., 1997).

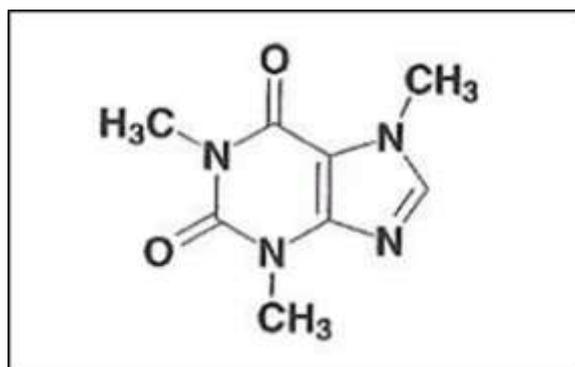


Figure 16 : Structure chimique de caféine (Bruneton, 1999).

B. La théophylline et la théobromine

La théophylline (1,3-diméthylxanthine) et la théobromine (3,7-diméthylxanthine) ne sont présentes qu'en très faible quantité ! dans les feuilles de thé vert (figure 17), La teneur varie de 0.2-0.4 % et 0.02 % respectivement (Balentine et al., 1998 ; Krieps, 2009).

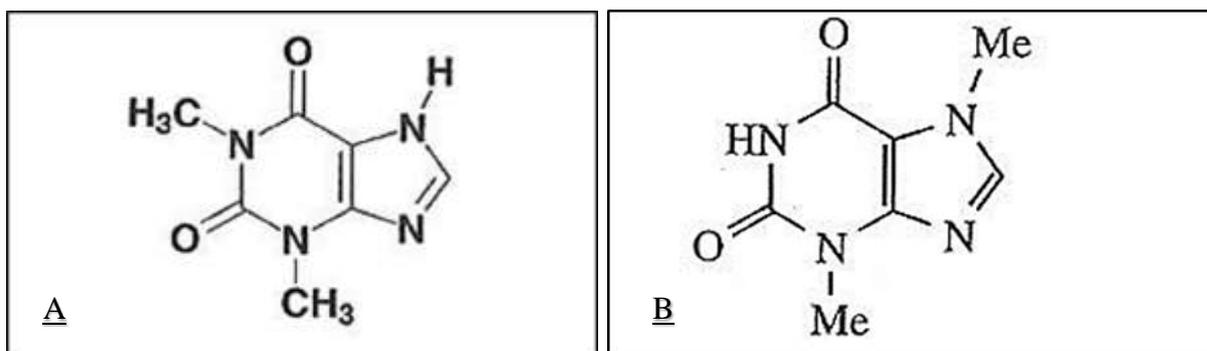


Figure 17 : A. structure chimique de Théophylline (Krieps, 2009)

B. structure chimique de Théobromine (Krieps, 2009).

7.3) Les vitamines

La feuille de thé vert est plus riche en vitamines que celle du thé noir, parmi ces vitamines on peut citer la vitamine C ou acide ascorbique, la vitamine E, ainsi que certaines vitamines du groupe B (tableau 7) (Krieps, 2009).

La vitamine C ou l'acide ascorbique est une substance hydrosoluble essentielle connue pour ses propriétés antioxydantes (Barbosa et al., 2014).

Tableau 07 : Composition de la feuille de thé en vitamines du groupe B (Krieps, 2009) :

Quantité en microgrammes (µg) par 100 g de feuille de thé noir, vert et oolong	
Thiamine (vitamine B1)	135
Riboflavine (vitamine B2)	1266
Niacine (vitamine B3)	7500
Acide panthoténique (vitamine B5)	1260
Inositol (vitamine B7)	1000
Biotine (vitamine B8)	82.5
Acide folique (vitamine B9)	76

7.4) Les Composés Minéraux

La composition chimique du thé vert comprend des métaux et des oligo-éléments à 5 % de poids sec, se compose principalement de grandes quantités de calcium, de magnésium, de fluorure et d'aluminium, ainsi que de petites quantités de manganèse, de fer, de phosphore, de cuivre, de nickel, de sodium, de zinc et de soufre (Cabrera et al., 2006 ; Lassed , 2017).

7.5) Les acides aminés et les protéines

Dix-huit acides aminés sont identifiés dans le thé vert (**Lassed, 2017**) comme la théanine ou la 5-N-éthylglutamine, l'acide glutamique, le tryptophane, la glycine, la sérine, l'acide aspartique, la tyrosine, la valine, la leucine, la thréonine, l'arginine, la lysine ; Ils constituent environ 1 à 4 % de poids sec (**Cabrera et al., 2006**).

En plus des acides aminés courants, la théanine (figure 18) est un acide aminé identifié uniquement dans le thé (**Lassed, 2017**). Il constitue environ la moitié de la teneur totale en acides aminés. Sa présence dans le thé vert serait en corrélation avec la qualité des boissons (**Graham, 1992**).

Les peptidiques sont également identifiés dans le thé vert et ils constituent environ 6% d'extrait solide (**Lassed, 2017**).

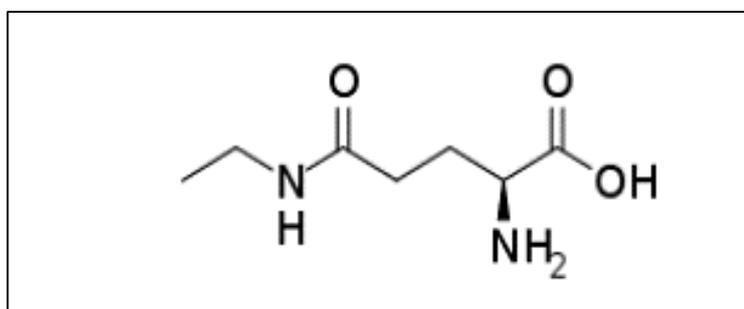


Figure 18 : Théanine (**Krieps M, 2009**).

7.6) Les Glucides, Les Pectines et Les Fibres

Les feuilles de thé contiennent des résidus de sucre libres en plus des substances pectiques, des polysaccharides et des fibres (**Lassed, 2017**). La présence de glucides tels que la cellulose, les pectines, le glucose, le fructose et le saccharose, qui représentent environ 5 à 7 % du poids sec des feuilles de thé vert, est fréquente (**Bansal et al., 2012**).

7.7) Les Lipides, Les Chlorophylles et Les Caroténoïdes

Les chlorophylles et les caroténoïdes sont les principaux pigments des feuilles fraîches de thé, sont présents à de faibles niveaux, mais ils sont des précurseurs importants de l'arôme et le goût du thé (**Graham, 1992 ; Lassed, 2017**).

En général, les lipides représentent environ 3 à 4 % du poids d'une feuille de thé. Dans le thé vert on trouve par exemple les acides linoléiques, α -linoléique, et des stérols sous forme de stigmastérols (**Bansal et al., 2012**).

7.8) Les Composés Volatils

Les composés volatils des feuilles fraîches n'ont pas été étudiés aussi soigneusement que ceux des thés verts et noirs. Dans le thé vert, plus de 75 substances volatiles ont été identifiées, dont : le linalol, l'oxyde de trans-linalol, et le néridol. L'huile essentielle joue un rôle primordial dans le développement de l'arôme et du goût du thé, et aussi les triterpènes participent à côté de l'huile essentielle à l'arôme du thé (**Graham, 1992 ; Krieps, 2009**).

8. Bienfaits du thé vert pour la santé des êtres humains

Le thé en général et le thé vert en particulier ont longtemps été appréciés par les êtres humains à travers le monde pour leurs propriétés médicinales. De nombreuses recherches animales et humaines ont montré que les composants chimiques du thé ont un impact significatif sur la santé humaine en général. Les bienfaits du thé vert pour la santé sont résumés ci-dessous (**Sharangi, 2009**) :

➤ Réduire le risque de maladies cardiovasculaires.

La maladie cardiovasculaire est un trouble complexe qui comporte de multiples facteurs. Parmi ces facteurs figurent l'inflammation, le stress oxydatif, l'agrégation plaquettaire et le métabolisme lipidique... De nombreuses recherches ont examiné la relation entre la consommation de thé vert et le risque de MCV au fil des ans (**Wanda, 2017**).

Un stress oxydatif accru et un dysfonctionnement de l'endothélium (cellules tapissant le cœur, les vaisseaux sanguins et lymphatiques et diverses autres cavités) entraînent une maladie coronarienne (**Sharangi, 2009**). La consommation de thé vert a été inversement associée au développement et à la progression de l'athérosclérose et il a été signalé que la consommation de thé vert alimentaire préserve et améliore la conformité artérielle et la fonction endothéliale (**Khan et Mukhtar, 2007**).

D'autres études réalisées au Japon à l'aide d'extrait de thé vert ont révélé qu'après 12 semaines, les gens avaient une réduction de 10 % de la graisse corporelle, de la pression artérielle (6,5 %) et des niveaux de lipoprotéines de faible densité (LDL) (2,6 %). Deux mois plus tard, les personnes atteintes de diabète ont également développé une diminution de la glycémie à jeun de 135 à 128,8 mg/dl (**Wanda, 2017**). L'ingestion continue d'un extrait de thé vert riche en catéchines a conduit à une réduction de la graisse corporelle, SBP, et le cholestérol LDL, suggérant que l'ingestion d'un tel extrait contribue à une diminution de l'obésité et les risques de maladies cardiovasculaires des êtres humains (**Sharangi, 2009**).

➤ **Prévention contre le cancer**

Le thé vert est réputé pour son rôle dans la prévention du cancer, car il a été démontré que les catéchines du thé inhibent la prolifération des cellules tumorales et favorisent la destruction des cellules leucémiques. Des études en laboratoire sur des cultures de cellules tumorales et de souris ayant reçu des produits chimiques cancérigènes ont montré que le thé vert pouvait inhiber la croissance des cellules cancéreuses. Une étude portant sur 8552 résidents, représentatifs de la population du Japon, a permis de déterminer si le thé vert était efficace contre le cancer, les résultats indiquent une diminution du risque relatif d'incidence du cancer chez les personnes qui consomment plus de dix tasses de thé vert par rapport à celles qui en consomment moins de trois par jour, les risques ont diminué de 57 % pour les femmes, 54 % pour les hommes et 59 % pour les deux sexes. La consommation de thé vert aide à protéger contre le cancer colorectal, une étude de modèles animaux a également montré que le thé vert et EGCG peuvent inhiber la cancérogenèse à tous les stades (**Namita et al., 2012**).

➤ **Agir comme un antioxydant**

Le thé vert est un nutraceutique populaire comme antioxydant. Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules contre les effets néfastes des espèces réactives de l'oxygène, telles que l'oxygène singulet, superoxyde, radicaux peroxy, hydroxyle radicaux et peroxy-nitrite. Un déséquilibre entre les antioxydants et les espèces réactives de l'oxygène entraîne stress oxydatif, entraînant des dommages cellulaires. Les catéchines sont de puissants antioxydants *in vitro* et *in vivo*. En outre, sa teneur en certains minéraux et vitamines augmente le potentiel antioxydant du thé vert (**Jayakeerthana, 2016**). *In vivo* des études ont montré que les catéchines du thé vert augmentent la totale activité antioxydant plasmatique (**Yokozawa et al., 2002 ; Skrzydlewska et al., 2002**). Un déséquilibre entre les antioxydants et l'oxygène réactif l'espèce entraîne un stress oxydatif, entraînant un dommage (**Jayakeerthana, 2016**). Les catéchines sont supposées aider à protéger contre ces maladies en contribuant, avec vitamines antioxydants (c.-à-d. vitamines C et E) et enzymes (c.-à-d. superoxyde dismutase et catalase), au total système de défense antioxydant (**Abdel-raheim et al., 2009**).

Chapitre 3 :

Les Lapins

1. Identification de l'animal

Les lapins *Oryctolagus cuniculus*

A. Généralités

Le lapin domestique est un lapin européen qui a été domestiqué. Issus du «lapin de garenne» sauvage (*Oryctolagus cuniculus*). Son but premier est la production de viande, mais il permet également la production de poils et de fourrures, L'ensemble de ces particularités fait du lapin *Oryctolagus cuniculus* un animal d'intérêt comme modèle dans les laboratoires (Taib, 2018).

B. Définition de lapin

Le lapin est un animal couvert d'une fourrure assez épaisse de couleur variable. Pour la majorité des races, à l'exception des races naines, l'allure générale du corps est différente selon le sexe (Muriel, 2010). Une tête large et forte, un thorax développé, des membres relativement épais et une musculature bien extériorisée sont généralement caractéristiques du mâle (Taib, 2018).



Les lapins domestique de l'espèce *Oryctolagus cuniculus*, à l'origine semi-liberté de vastes espaces, est à l'origine de multiples races de lapins domestiques dans le monde entier, son élevage appelé cuniculture s'est développé à partir moyen âge. Par ailleurs, les lapins sont aujourd'hui utilisé comme animale de laboratoire (Taib, 2018).

Figure 19 : Lapin de Garenne (*Oryctolagus cuniculus*) (www.flickr.com).

2. Classification zoologique (Taxonomie)

Le lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* appartient à l'ordre des Lagomorphes aux côtés du lièvre (*Lepus*). La classification du lapin domestique s'établit donc comme suit (**Tableau 8**).

Tableau 08 : Classification des lapins *Oryctolagus cuniculus* selon (**Taib, 2018**) :

Nom commun : Lapin de garenne

Règne	Animaux
Embranchement	Chordata
Classe	Mammifères
Ordre	Lagomorphes
Famille	Léporidés
Genre	<i>Oryctolagus</i>
Espèce	<i>cuniculus</i>

3. Utilisation du lapin dans le domaine scientifique et toxicologique



Les mammifères de laboratoire ont de nombreux liens de parenté avec l'espèce humaine ; ainsi l'anatomie, la physiologie et la pathologie comparées mettent en évidence de nombreuses applications pratiques pour l'homme. L'étude des vitamines ou celle des interactions hormonales par exemple n'aurait pu se réaliser sans expérimentation animale (**Taib, 2018**).

Parmi ces mammifères, le lapin occupe une place importante. Sa taille, son élevage facile et sa docilité sont autant d'atouts qui font de lui un animal très sollicité au laboratoire. Le lapin est de routine utilisé pour : les travaux de sérologie, le dépistage de substances

embryotoxiques et tératogènes, l'expérimentation des contraceptifs ainsi que l'élevage des glossines (**Taib, 2018**).

L'étude de l'hypertension artérielle, la pathologie infectieuse, la virologie, l'embryologie, la toxicologie, la tératologie expérimentale, l'étude de l'artériosclérose, la génétique, les études sur la reproduction, la chirurgie cardiaque sont également des domaines parmi tant d'autres qui font appel au lapin comme animal de laboratoire (**Taib, 2018**).

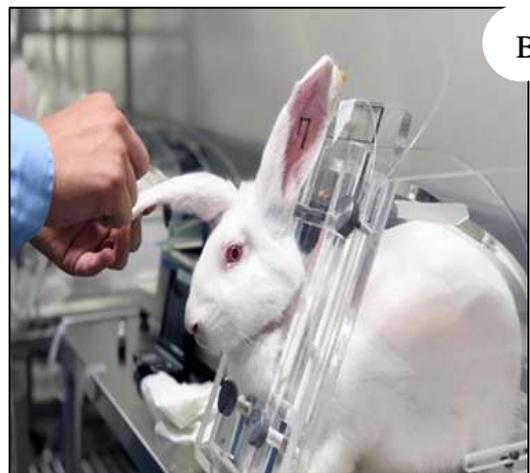


Figure 20 : Les lapins de laboratoire (A ; B) (www.flickr.com).

D'autre côté, n'oublions pas que les lapins sont hypersensibles aux agents tératogènes et sa réponse à ces agents est très semblable à celle de l'homme car leur physiologie générale est similaire à celle de l'Homme. Tout comme les souris et les rats. De nombreux types de tests dermatologiques ont été réalisés sur le lapin : évaluation de l'irritation ou de la corrosion dermique d'un produit, tests de phototoxicité pour évaluer les interactions entre un produit à tester et les ultraviolets ...etc (**Anderson et Henck, 1994**).

4. Physiologie générale

Les principaux paramètres physiologiques du lapin sont présentés dans le tableau suivant

Tableau 09 : Principaux paramètres physiologiques du lapin (**Gidenne et al., 2015**) :

Paramètre physiologique	Valeur optimale
Température rectale	38,5 – 40°C
Fréquence cardiaque	180 à 250 battements par minute
Fréquence respiratoire	30-60 respirations par minute
Volume sanguin	55-70 millilitres par kilogramme

5. L'anatomie physiologique de l'appareil digestif

Cet appareil assure la préhension des aliments et de l'eau, leur digestion, l'absorption des nutriments et enfin le rejet des déchets sous forme de crottes et de déchets du métabolisme protéique (urée). Il est donc formé du tube digestif constitué de différentes parties et des glandes annexes (foie, pancréas) (Boucher et Nouaille, 2002).

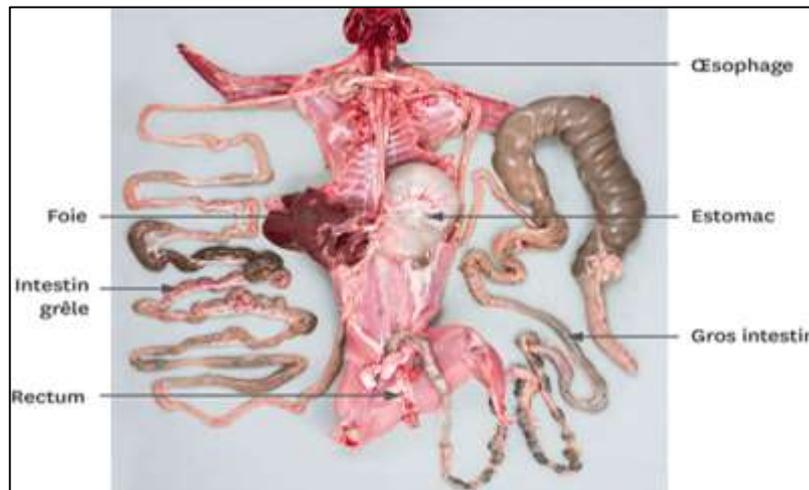


Figure 21 : Dissection de l'appareil digestif du lapin (www.lelivrescolaire.fr).

▪ La bouche

Elle comprend la langue qui a pour rôle de faire avancer les aliments vers le pharynx. Le lapin possède quatre incisives supérieures (deux grandes et deux petites situées derrière) et deux incisives inférieures à croissance continue. Une malposition empêcherait leur usure et favoriserait l'installation des dents d'éléphant. Les molaires et prémolaires, également à croissance continue, peuvent aussi pousser de travers et gêner la mastication.

La bouche est le carrefour des voies respiratoires et digestives. Les glandes salivaires libèrent la salive qui lubrifie les aliments et débute la digestion (Boucher et Nouaille, 2002).

▪ Œsophage

L'œsophage mesure 12 à 14 cm chez un lapin adulte d'environ 2,5 kg de poids vif (Suckow et al., 2012). L'œsophage fait suite au pharynx. C'est un tube qui assure le transport des aliments et de l'eau jusqu'à l'estomac (Boucher et Nouaille, 2002).

▪ L'estomac

C'est une poche qui assure la digestion mécanique et une partie de la digestion chimique (Boucher et Nouaille, 2002). Elle sécrète 4 types de produits qui vont plus ou moins

se mélanger à l'aliment et commencer à le modifier , De l'acide chlorhydrique acide HCL, ce qui maintient le pH moyen entre 1,2 et 2,0 (très acide) , de la pepsine qui commence à hydrolyser les protéines, de la lipase qui sépare les acides gras à chaîne courte et moyenne des triglycérides (valable surtout pour le lait). Elle est beaucoup moins active que la lipase pancréatique, du mucus qui protège les parois stomacales des ulcérations (**Lebas ,2006**).

- **Intestin**

Le duodénum entoure le pancréas très diffus. Il produit des hormones (insuline, glutathion) qui régulent le taux de sucres dans le sang et des sucs pancréatique capables de digérer des lipides (en concordance avec les sels biliaires), des protéines et de l'amidon (**Boucher et Nouaille, 2002**).

Le duodénum reçoit aussi les sels biliaires sécrétés par le foie et stockés dans une vésicule et qui entrent dans les phénomènes de digestion. Ils facilitent la digestion des lipides et de l'amidon (**Boucher et Nouaille, 2002**).

- **Intestin grêle (IG)**

L'intestin grêle est la plus longue partie du tube digestif : il mesure environ 3m chez le lapin. Il est composé de trois parties distinctes : le duodénum, c'est l'endroit où se déversent les sucs pancréatiques et la bile qui va permettre la dégradation des aliments en nutriments. Le jéjunum et l'iléon sont deux lieux d'absorption des nutriments vers le système sanguin. Les aliments ingérés mettent environ 1h30min pour parcourir l'intestin grêle (**Fromont et Tanguy, 2001**). Le contenu de l'intestin grêle est liquide (5 à 12 % de MS), surtout dans le duodénum. Le pH est légèrement alcalin dans la première partie (pH 7,2-7,5) et s'acidifie progressivement pour atteindre 6,2-6,5 dans l'iléon (**Garreau et al., 2015**).

- **Le colon**

Réabsorbe l'eau et stocke les excréments qui seront expulsés par l'anus (**Boucher et Nouaille, 2002**).

- **Le foie**

Son rôle de producteur de sels biliaires, stocke des réserves (lipides et glycogène), détoxifie certaines substances (en particulier les médicaments) et intervient dans de nombreuses réactions métaboliques (**Boucher et Nouaille, 2002**).

- **Le pancréas**

Le pancréas produit des sucs pancréatiques qui sont déversés dans l'intestin où ils favorisent la digestion chimique des aliments (**Fromont et Tanguy, 2001**).

- **Le cæcum**

C'est un gros diverticule replié très important. Il renferme une flore et une faune indispensables à une bonne digestion. En cas de perturbations de l'équilibre écologique, il se crée souvent une diarrhée.

Le lapin par ailleurs ingère deux fois ses aliments. Une première fois, en l'état, et une seconde fois, le matin en général, sous forme de cæcotrophes (petits amas de crottes molles, verdâtres et entourées de mucus), directement à l'anus, afin d'en exprimer les quelques nutriments restants (vitamine B notamment) (**Boucher et Nouaille, 2002**).

6. Rôle du foie dans le métabolisme des toxiques

Le foie est un organe annexe du tube digestif, il remplit de nombreuses fonctions indispensables à la vie humaine et animale. Les principales voies d'élimination des toxiques sont les voies hépatobiliaires et les voies rénales. Le foie transforme les toxiques en métabolites eux-mêmes parfois très agressifs pour l'organisme. Les substances industrielles responsables d'action toxique sur le foie peuvent exercer leurs effets directement sur la cellule hépatique et entraînent alors des lésions dans les régions péri portales des lobules hépatiques ou le plus souvent elles seront toxiques après oxydation par le système microsomial et les lésions débiteront alors dans les zones Centro lobulaires (**Barka et Nacer, 2018**).



Figure 22 : Foie de lapin.

D'une part, le foie participe au processus de la digestion par la sécrétion biliaire et d'autre part, il transforme l'apport discontinu des substances absorbées par le tube digestif en un flux continu de substances nutritives qui assurent une fourniture suffisante de principes nutritifs à l'organisme. Toutes les substances introduites dans l'organisme et atteignant le torrent circulatoire, y transitent et y subissent des transformations plus ou moins complexes de leurs structures avant d'être excrétées. **(Barka et Nacer, 2018).**

7. Caractéristiques Générales

A. Alimentation en élevage

L'alimentation des lapins est souvent exclusivement composée des granulés fabriqués à partir de diverses céréales, qui permettent d'avoir une très bonne croissance et de contrôler au mieux la qualité sanitaire des produits ingérés par les animaux **(Taib, 2018)**, Chez les éleveurs traditionnels, les lapins sont nourris avec du foin, des choux fourragers, des betteraves, de graines de céréales germées, des tourteaux, des pommes de terre, des fruits et bien d'autres aliments à disposition des éleveurs **(Taib, 2018)**. Lorsque les apports du milieu naturel ne sont pas suffisants, il peut occasionner des dégâts considérables aux cultures et plantations forestières, **(Muriel, 2010 ; Nchare, 1990)**.

Le lapin de garenne présente une digestion particulière avec un comportement de caecotrophie. La première digestion produit des crottes molles, riches en protéines et vitamines synthétisées par la flore caecale. Ces caecotrophes sont ingérées par le lapin et leur digestion permet l'assimilation des nutriments d'origine bactérienne **(Muriel, 2010)**.

- ❖ Le comportement de caecotrophie du lapin produit deux types d'excréments : les crottes dures et les crottes molles appelées **(Taib, 2018)** caecotrophes. Les caecotrophes sont riches en protéines, vitamine K et B et en minéraux, tandis que les crottes dures sont majoritairement constituées de fibres. Les caecotrophes constituent 9 à 15% de l'ingéré journalier soit 15-20% des apports azotés journaliers **(Michelland et al., 2012)**

B. Communication

Le lapin est un animal relativement silencieux, il peut néanmoins émettre des soufflements et des grognements en prélude à une attaque, en cas de panique extrême ou des douleurs importantes, il peut pousser un cri aigu d'une intensité surprenante.

Il dépose également de posture pour faire comprendre, en cas d'inquiétude il frappe brutalement le sol de ses postérieurs **(Drogoul et al., 2004; Taib, 2018)**.

C. Reproduction

Les lapins domestiques peuvent se reproduire toute l'année, la fertilité est maximale au printemps, quand les jours sont plus longs, les femelles sont en général fécondes jusqu'à quatre ans, les mâles jusqu'à cinq à six ans (**Bradley et al., 2009**).

D. Digestion et efficacité alimentaire

C'est un processus de transformation des aliments en nutriments. Elle est extracellulaire et fait intervenir des forces mécaniques, des actions chimiques (HCl), enzymatiques (amylase, protéases, lipases...) et fermentaires. Les nutriments ainsi formés traversent la muqueuse intestinale (absorption) rejoignent la circulation sanguine pour être véhiculés aux cellules (**Gidenne et Lebas, 1987**).

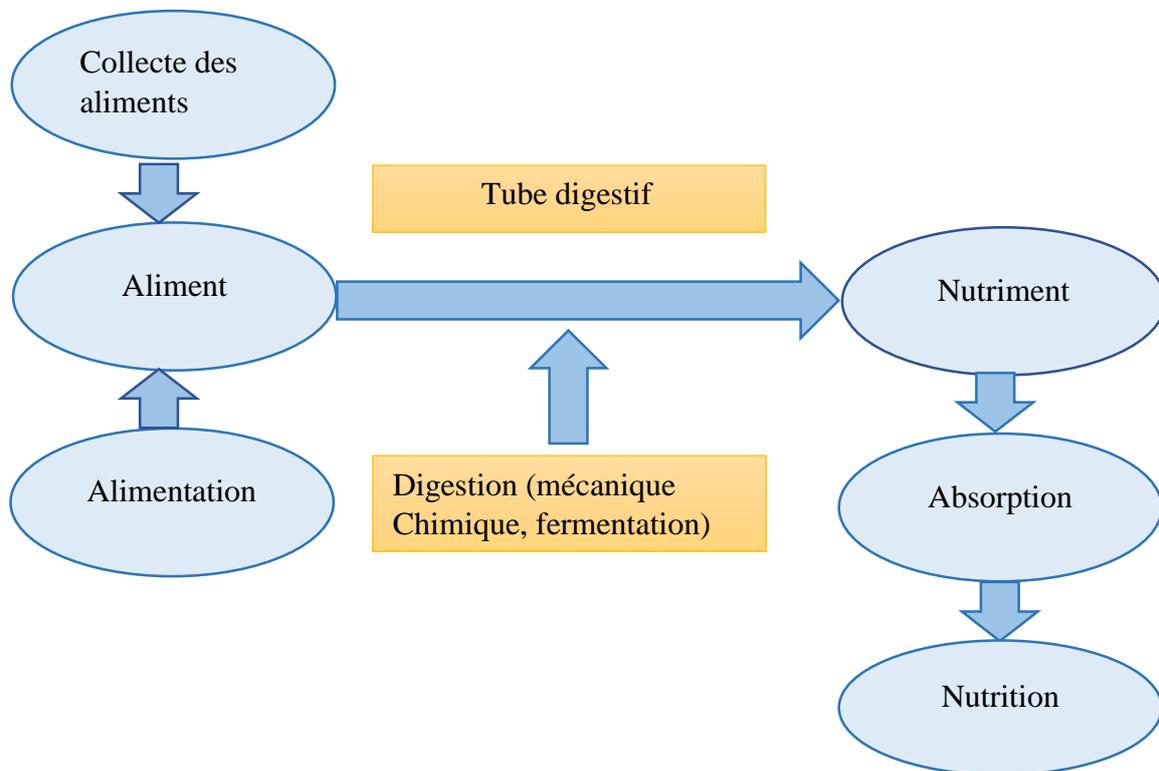


Figure 23 : La collecte des aliments et leur transformation (**Amroune 2020**).

Partie II :

Partie Pratique

Chapitre 4 :

Matériels et méthodes

I. Matériels

1. Matériel biologique

Les animaux utilisés à cette étude sont composés de 15 lapins mâles à sept (7) mois (*Oryctolagus cuniculus*). Ce sont des mammifères, Âge à partir de six mois et plus à leur arrivée 2400 g \pm 400 g, de taille moyenne ; il mesure de 30 à 50 cm et son poids varie de 1,2 à 2,5 kg. Utilisée dans divers domaines de recherche biologiques et scientifiques.

Les animaux sont placés dans des cages 50x 60 x 53cm. Ces cages ont été suspendues à un dispositif formant une batterie des cages ; pendant une période d'acclimatation avec d'une période de traitement. L'élevage est réalisé dans l'animalerie du département de SNV de la faculté des Sciences de Centre Universitaire Mila sous des conditions naturelles de température et d'humidité. Les lapins sont nourris trois fois par jour avec une alimentation équilibrée. L'eau est fournie dans des abreuvoirs et renouvelée chaque jour.

➤ Conditions d'élevage

L'élevage des animaux a été réalisé dans l'animalerie du département de Biologie Animale de la faculté des Sciences de Mila. Les lapins ont été maintenus à leur arrivée pendant toute la période de l'élevage (15 jours) et du traitement (15 jours) sous des conditions naturelles (température 18°- 25°C, humidité 30% - 70% et photopériode naturelle).

Au début de l'expérimentation, les animaux ont été répartis en 03 groupes de 05 lapins/groupe (n=5). Ils ont été placés dans des cages métalliques de (50 x 60 x 53 cm³), avec mangeoires et abreuvoirs.

La nourriture distribuée aux lapins, durant toute la période d'expérimentation est composée d'un mélange de salades, de carottes et du pain rassasié. L'eau est fournie aux animaux et renouvelée quotidiennement.

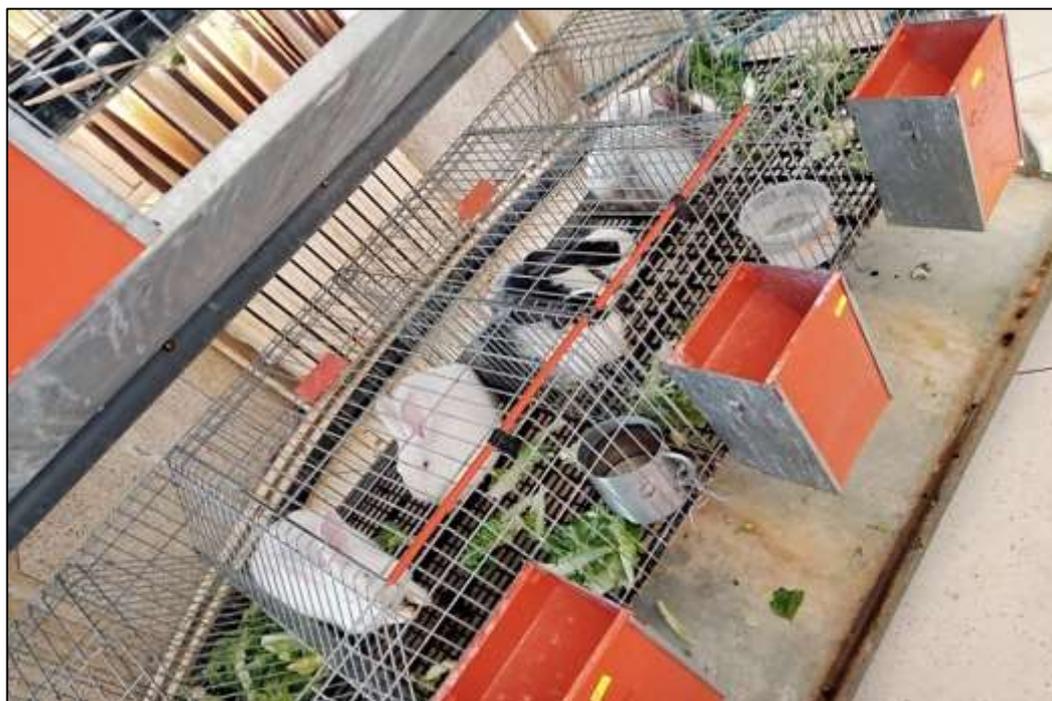


Figure 24 : Les lapins dans les cages (Animalerie de centre universitaire de Mila).

2. Matériel chimique

Le solvant utilisé dans cette expérimentation est le toluène à raison d'une dose de 500 mg/kg/j.

Toluène est un liquide, faiblement soluble dans l'eau, est principalement utilisé comme solvant pour la fabrication du benzène, comme intermédiaire de synthèse, solvant (peinture, encre, produits pharmaceutiques) ou additif (produits cosmétiques). Il est retrouvé dans l'air à des concentrations proches de $0,2 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$.

La substance est classée selon les données de l'INRS :

H225 : Liquide et vapeurs très inflammables

H304 : Peut être mortel en cas d'ingestion et de pénétration dans les voies respiratoires

H315 : Provoque une irritation cutanée

H336 : Peut provoquer somnolence ou vertiges

H361d : Susceptible de nuire au fœtus

H373 : Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée (**Fiche INRS, 2021**).

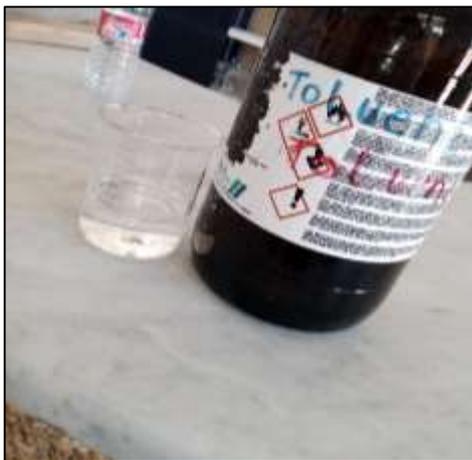


Figure 25 : Toluène (photo personnelle).

3. Matériel végétal

Dans notre expérimentation, nous avons utilisé la plante thérapeutique le thé vert (*Camellia sinensis*).



Figure 26 : Le thé vert (*Camellia sinensis*) (photo personnelle).

II. Méthodes

➤ Protocole expérimental

Quinze lapins (15) a été répartie en trois groupes, l'expérimentation consiste à diviser les lapins en trois sections. La première c'est les lapins témoins qui ne prenaient que de l'eau et de la nourriture. La deuxième section a pris une dose de (5 ml) de toluène. La troisième a pris (5 ml) de toluène plus une autre dose de thé vert qui est 4 g par 100 ml d'eau distillée.

1. Préparation de thé vert

Quatre grammes (4g) de feuilles sèches de thé vert (*Camellia sinensis*) ont été trempés dans 100 ml d'eau distillée pendant 5 minutes. Et laissez refroidir à température ambiante, a été fourni aux lapins comme une source de boisson.



Figure 27 : Préparation de thé vert (Photos personnelles).

2. Préparation de toluène

Toluène est préparé dans le l'eau distillée (100 ml de toluène dans 200 ml d'eau distillée) et administratif par voie orale.



Figure 28 : Préparation de solvant (toluène) (Photos personnelles).

- Les traitements ont été effectués comme suite :



Groupe 01 : Les cinq lapins témoins

Figure 29 : Les témoins sains (Photo personnelle).



Groupe 02 : 5 ml de toluène par voie orale une fois par jour.

Figure 30 : Traitement par toluène (Photo personnelle).



Groupe 03 : 5ml de toluène après 40 minutes en ajoute 5ml de thé vert par voie orale une fois par jour.

Figure 31 : Traitement par le thé vert et le toluène (Photo personnelle).

- Le traitement se fait une fois (1) chaque jour pendant 2 semaines successives.

Tableau 10 : Répartition des groupes et traitement des lapins :

Groupe	Groupe 01 (Témoin)	Groupe 02	Groupe 03
Nombre de groupe	05	05	05
Dose	Eau distillée	Traité par 5 ml de toluène	Traité par 5 ml de toluène et 5 ml de thé vert

3. Préparation des prélèvements

L'abattage des lapins a été effectué dans la matinée.

A. Prélèvement sanguin

Après 2 semaines de traitement, les 3 groupes ont été abattus par décapitation. Le sang est alors recueilli immédiatement dans deux tubes : Soit à EDTA, pour le dosage des paramètres hématologiques (nombres de globules blanc et rouges, hémocrite, hémoglobine), Soit Sec. Les tubes ont été centrifugés à 5000 tours/min pendant 15 minutes. Le sérum obtenu est divisé en 3 fractions dans des tubes Eppendorf puis conservé à -20°C jusqu' au moment du dosage biochimique.

- Tube EDTA : pour le dosage des paramètres hématologiques (nombres des globules blancs et rouges, hémocrite, hémoglobine, les constantes hématologiques (VGM, CCMH, TGMH)).
- Tube Lithium Héparine : anticoagulant pour le dosage des paramètres biochimiques (Glucose, Cholestérol et Triglycéride)



Figure 32 : Les prélèvements du sang (Photos personnelles).

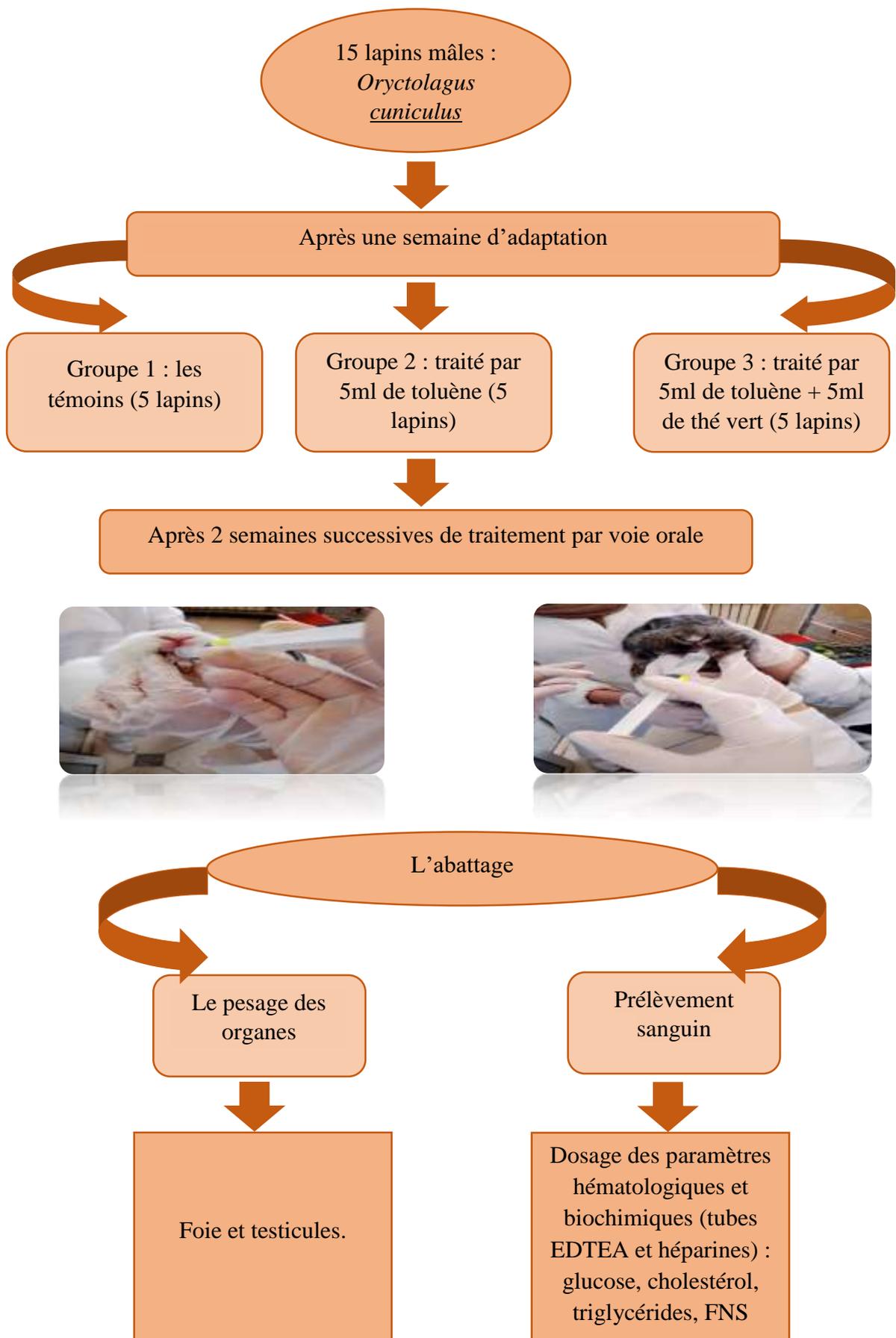


Figure 33 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

B. Dissection et prélèvement des organes

Après la dissection des animaux, certains organes ont été récupérés dont les reins, les poumons, le cœur, la rate, le foie et les testicules avec leurs épидидymes. Ces deux derniers sont prélevés et débarrassés de leurs tissus adipeux, rincés dans une solution de chlorure de sodium à 0,9 % puis pesés à l'aide d'une balance de précision. À la fin, le poids absolu des organes est calculé.



Figure 34 : La dissection des lapins (Photos personnelles).



Figure 35 : Prélèvement des organes (Photo personnelle).



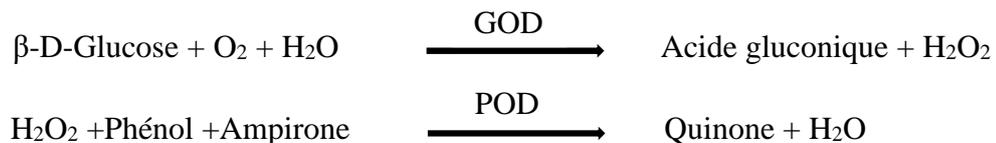
Figure 36 : Le pesage des organes (Le foie et les testicules) (Photos personnelles).

4. Dosage des paramètres biochimiques

4.1 Dosage plasmatique du glucose : Selon la fiche technique Spinreact.

- **Principe**

Le glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique. Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit, se détache au moyen d'un accepteur chromo-génique d'oxygène, de phénol-ampirone en présence de peroxydase (POD) :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de glucose présente dans l'échantillon testé (Kaplan, 1984 ; Trinder, 1969).

- **Réactifs utilisés**

Réactif	Composition	Concentration
R1 Tampon	TRIS pH 7,4 Phénol	92 mmol/L 0,3mmol/L
R 2 Enzyme	Peroxydase (POD) Glucose oxydase (GOD) 4 - Aminophénazone (4-AF)	1000 U/L 15000 U/L 2,6 mmol/L
Glucose Cal	Patron primaire de détection du glucose	100mg/dL

- **Echantillon**

- Sérum ou plasma, sans hémolyse (Kaplan et al., 1984) ni LCR .

Le sérum doit être séparé dès que possible du caillot.

Stabilité : Le glucose dans le sérum ou le plasma est stable 3 jours à 2-8°C.

- **Procédure**

- Conditions de test :
 - Longueur d'ondes : 505 nm (490 – 550)
 - Cuvette : 1 cm d'éclairage
 - Température : 37°C
 - Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
 - Pipetter dans une cuvette :

	Blanc	Modèle	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µL)	--	10	--
Echantillon (µL)	--	--	10

- Mélanger et incuber pendant exactement 5 minutes à 37°C or 20 minutes à température ambiante (15-25°C).
 - Lire l'absorption (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes
- **Préparation des réactifs du travail**
 - Dissoudre le contenu d'une capsule D'enzymes R 2 dans un flacon de tampon R1.
 - Fermer et mélanger doucement jusqu'à dissoudre le contenu.

Ce réactif de travail est Stable 1 mois au réfrigérateur (2-8°C) ou 7 jours à température ambiante (15-25°C).

- **Calcule**

La concentration du glucose dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\frac{(A)Echantillon}{(A) Mod\grave{e}le} \times 100 (mod\grave{e}le conc.) = mg/dL \text{ de glucose dans l'échantillon}$$

- La concentration de l'étalon = 100 mg/dl.
- Facteur de conversion : mg/dL x 0,0555= mmol/L.

4.2 Dosage plasmatique des protéines totales : Selon la fiche technique Spinreact

- **Principe**

En milieu alcalin, les protéines donnent une couleur violette/bleue en présence de sels de cuivre ; ces sels contiennent du iodure qui agit comme un antioxydant.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon testé (Koller, Kaplan et al., 1984 ; Burtis et al., 1999).

- **Réactifs utilisés**

Réactif	Composition	Concentration
R Biuret	Tartrate de potassium de sodium	15 mmol/L
	Iodure de sodium	100 mmol/L
	Iodure de potassium	5 mmol/L
	Sulfate de cuivre (II)	5 mmol/L
	Hydroxyde de sodium	1000 mmol/L
T Protéine Cal	Patron primaire d'albumine bovine	7 g/dL

- **Echantillon**

- Sérum ou plasma hépariné (Koller, Kaplan et al., 1984).

Stabilité de l'échantillon : 1 mois au réfrigérateur (2-8°C).

- **Procédure**

- Conditions de test :
 - Longueur d'ondes : 540 nm (530-550)
 - Cuvette : 1 cm d'éclairage
 - Température : 37°C/15-25°C
 - Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
 - Pipetter dans une cuvette :

	Blanc	Étalon	Echantillon
R (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	-	25	-
Echantillon (µl)	-	-	25

- Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à la température de 25°C.
- Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 540 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

- **Préparation des réactifs du travail**

- Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

- **Calcule**

La concentration de la protéine dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\frac{(A)Échantillon - (A)Blanc}{(A)Étalon - (A)Blanc} \times 7(Étalon\ conc.) = g/dL\ de\ protéines\ totales$$

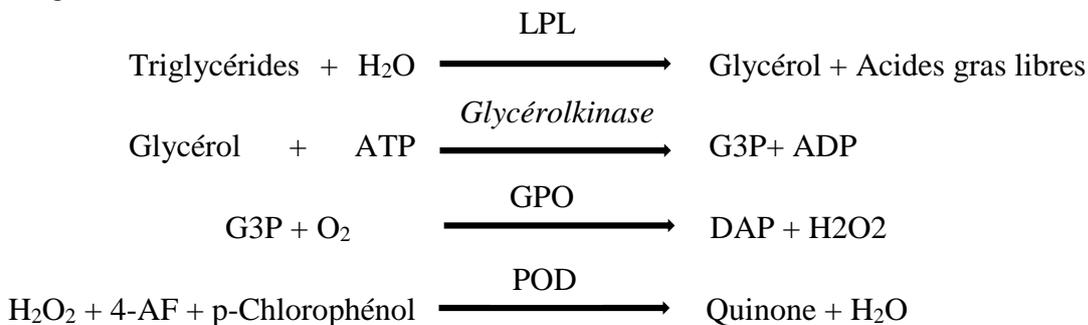
- Concentration des protéines = (A) échantillon/ (A) étalon × 7.
- La concentration de l'étalon = 7 (g/dl).

4.3 Dosage plasmatique des triglycérides : Selon la fiche technique Spinreact.

- **Principe**

Les triglycérides incubés avec de la lipoprotéinlipase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres. Le glycérol est phosphorylé par du glycérophosphate déshydrogénase (GPO) et de l'ATP en présence de glycérol kinase (GK) pour produire du glycérol-3-phosphate (G3P) et de l'adénosine-5-diphosphate (ADP). Le G3P est alors transformé en dihydroxiacétone phosphate(DAP) et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par le GPO.

Au final, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) réagit avec du 4-aminophénazone (4-AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l'échantillon testé (Buccolo et al., 1973 ; Fossati et al.,1982 ;Kaplan et al.,1984).

- **Réactifs utilisés**

Réactif	Composition	Concentration
R1	GOOD PH 7,5	50 m mol/l
Tampon	P- chlorophénol	2 m mol/l
R2	Lipoprotéine lipase (LPL)	150000 U/L
Enzymes	Glycérol kinase (GK)	500 U/L
	Glycérol-3-oxydase (GPO)	2500 U/L
	Peroxydase(POD)	440 U/L
	4 – Aminophénazone (4-AF)	0,1 mmol/L
	ATP	0,1 mmol/L
Triglycérides cal	étalon de triglycérides aqueux primaire	200 mg / dl

- **Echantillon**

- Sérum ou plasma hépariné ou EDTA (Buccolo et al., 1973).

Stabilité de l'échantillon : 5 jours à 2-8°C.

- **Procédure**

- Conditions de test :
 - Longueur d'ondes : 505 nm (490-550)
 - Cuvette : 1 cm d'éclairage
 - Température : 37°C/.15-25°C
 - Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
 - Pipetter dans une cuvette :

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	--	10	--
Echantillon (µl)	--	--	10

- Mélanger et incubé 5 minutes à 37°C ou 10 min. à température ambiante.
 - Lire l'absorbation (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.
- **Préparation des réactifs du travail**
 - Dissoudre le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 et un flacon de tampon R 1.
 - Reconstituer le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans 10 ml de tampon R1.
 - Refermer et agiter doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout.
 - Stabilité du Réactif 6 semaines au réfrigérateur (2-8°C) ou une semaine à 15-25°C.

- **calcul**

La concentration des triglycérides dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

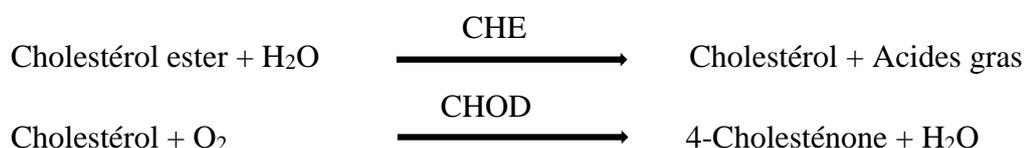
$$\frac{(A)Echantillon}{(A) Mod\grave{e}le} \times 200 \text{ (mod\grave{e}le conc.)} = \text{mg/dL de triglyc\grave{e}ride dans l'\acute{e}chantillon}$$

- La concentration de l'étalon = 200 mg/dl.
- Facture de conversion : mg/dl x 0.011 = m mol/l.

4.4 Dosage plasmatique du cholestérol : Selon la fiche technique Spinreact.

- **Principe**

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon la réaction suivante :





L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon (Naito, Kaplan *et al.*, 1984 ; Meiattini *et al.*, 1978).

- **Réactifs utilisés**

Réactif	Composition	Concentration
R1	PIPES PH 6.9	90 mmol/l
Tampon	Phénol	26 m mol/l
R2	Cholestérol estérase (CHE)	300 U/l
Enzymes	Cholestérol oxydase (CHOD)	300U/l
	Peroxydase (POD)	1250 mmol/l
	4- Aminophenazone (4- AP)	0.4 mmol/l
Cholestérol Cal	Étalon de cholestérol aqueux primaire	200 mg/dl

- **Echantillon**

- Sérum ou plasma (Naito, Kaplan *et al.*, 1984 ; Meiattini *et al.*, 1978).

Stabilité de l'échantillon : 7 jours à 2-8°C et 3 mois si L'échantillon est congelé (-20°C).

- **Procédure**

- Conditions de test :
 - Longueur d'ondes : 505 nm (500-550)
 - Cuvette : 1 cm d'éclairage
 - Température : 37°C/15-25°C
 - Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
 - Pipetter dans une cuvette

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	--	10	--
Echantillon (µl)	--	--	10

- Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à la température de 25°C.
- Lire l'absorbation (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 60 minutes.

- **Préparation de réactif de travail (RT)**

- Dissoudre le contenu d'une capsule D'enzymes R 2 dans un 1 flacon de tampon R 1.

- Refermer et mélanger doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout.
- Stabilité (RT) : 4 mois au réfrigérateur (2-8°C) ou 40 jours à 15-25°C.
- Conserver à l'abri de la lumière.

• **Calcule**

La concentration du cholestérol dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

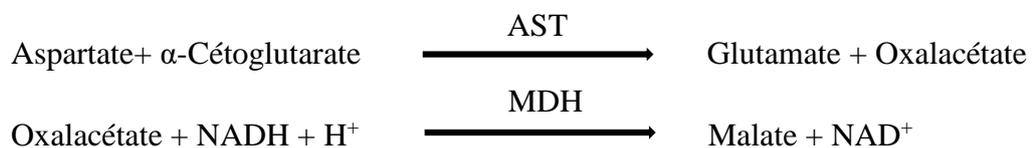
$$\frac{(A)Échantillon - (A)Blanc}{(A)Étalon - (A)Blanc} \times 200(\text{Étalon conc.}) = \text{mg/dL du cholestérol}$$

- La concentration de l'étalon = 200 mg/dl.
- Facture de conversion : mg/dl x 0.025 = m mol/l.

4.5 Dosage plasmatique d'Aspartate-Aminotransférase (ASAT/ TGO) : Selon la fiche technique Spinreact.

• **Principe**

L'aspartate amino-transférase (AST), initialement appelée transaminase glutamate oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amonique de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit est réduit en malate en présence de déshydrogénase (MDH) et NADH :



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans l'échantillon (Murray, Kaplan et al., 1984).

• **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1 Tampon	TRIS pH 7,8 L-aspartate	80 mmol/L. 200 mmol/L
R2 Substrats	NADH Lactate déshydrogénase (LDH) Malate déshydrogénase (MDH) α-cétoglutarate	0,18 mmol/L 800 U/L 600 U/L 12 mmol/L

• **Echantillon**

- Sérum ou plasma (Murray, Kaplan et al., 1984).

Stabilité de l'échantillon : 7 jours à 2-8°C.

- **Procédure**

- Conditions de test :
 - Longueur d'ondes : 340 nm
 - Cuvette : 1 cm d'éclairage
 - Température : 25°C/30°C/37°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée ou de l'air.
- Pipetter dans une cuvette :

RT (ml)	1,0
Echantillon (µl)	100

- Mélanger et incuber pendant 1 minute.
- Lire l'absorption (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbance à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorbance par minute ($\Delta A/\text{min}$).
- **Préparation de réactif de travail (RT)**
 - Dissoudre une tablette de substrats R2 dans une dose (ampoule) R1.
 - Dissoudre une tablette de substrats R2 dans 15 mL de R1.
 - Dissoudre une tablette de substrats de R2 dans 50 mL de R1.
 - Refermer et mélanger doucement, jusqu'à ce que le contenu soit totalement dissous.
 - Stabilité : 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à température ambiante (15-25°C).
- **Calcule**

La concentration d'ASAT dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

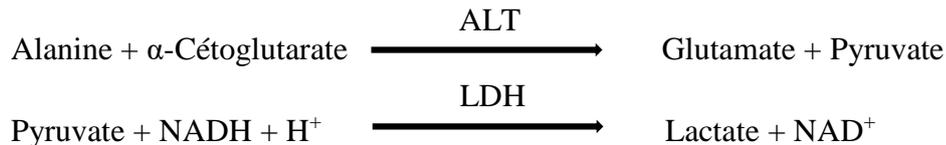
$$\frac{\Delta A}{\text{min}} \times 1750 = \text{U/L de AST}$$

Unités : L'unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes qui convertit 1 µmol de substrats par minute, dans des conditions standard. La concentration est exprimée en unité/litre (U/L).

4.6 Dosage de l'Alanine-Aminotransférase (ALAT/GPT) : Selon la fiche technique Spinreact.

• **Principe**

L'alanine amino- transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe animique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et NADH :



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon (Murray, Kaplan et al., Louis,1984).

• **Réactifs utilisés**

Réactif	Composition	Concentration
R 1 Tampon	TRIS pH 7,8 Lactate déshydrogénase (LDH) L-Alanine	100 mmol/L 1200 U/L 500 mmol/L
R 2 Substrats	NADH α -Cétoglutarate	0,18 mmol/L 15 mmol/L

• **Echantillon**

- Sérum ou plasma (Murray, Kaplan et al., Louis,1984) .

Stabilité de l'échantillon : 7 jours à 2-8°C.

• **Procédure**

- Conditions de test :
 - Longueur d'ondes : 340 nm
 - Cuvette : 1 cm d'éclairage
 - Température : 25°C/30°C/37°C
 - Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée ou air.
 - Pipetter dans une cuvette :

RT (ml)	1,0
Echantillon (µl)	100

- Mélanger et incubé pendant 1 minute.
- Lire l'absorption (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbance à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorbance par minute ($\Delta A/\text{min}$).
- **Préparation de réactif de travail (RT)**
 - Mélanger : 1 vol de (R2) Substrats + 4 vol (R1) Tampon.
 - Stabilité : 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à température ambiante (15-25°C).
- **Calcule**

La concentration d'ASAT dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\frac{\Delta A}{\text{min}} \times 1750 = \text{U/L d'ALT}$$

Unités : L'unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes qui convertit 1 μ mol de substrats par minute, dans des conditions standard. La concentration est exprimée en unité/litre (U/L).

5. Dosage des paramètres hématologiques

- ❖ **Numérotation de la formule sanguine (FNS)**
- **Principe**

La numération de la formule sanguine (NFS) ou Hémogramme est l'examen biologique le plus prescrit toutes pathologies confondues. Il permet de comptabiliser tous les éléments du sang : globules rouges, blancs et plaquettes. Il est également permis d'apprécier des paramètres qualitatifs du sang (VGM, TCMH, CCMH).

- **Echantillons**
 - Sang prélevé dans un tube EDTA.
- **Procédure**
 - Le tube doit être agité bien pour éviter la formation de micro caillots.
 - Passer le tube sur l'automate d'hématologie muni trois réactifs : détergent, rincés et la lyse.
 - Observation des résultats.

L'examen doit être réalisé rapidement d'une période inférieure de 2 heures après le prélèvement.



Figure 37 : Le test du FNS (Photo personnelle).

6. Traitement statistique des résultats

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins ($\text{Moy} \pm \text{SEM}$) l'écart type moyen, les moyennes ont été comparées par un test de *t*-Student. L'analyse statistique des données a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (Version : 16).

Les différences sont considérées comme :

- Significatives lorsque ($P \leq 0,05$).
- Non significative lorsque ($P \geq 0,05$).
- Hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).
- Très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).

(P : Seuil de signification).

Chapitre 5 :

Résultats et Discussion

I. Résultats

1. Étude des paramètres biochimiques

1.1. Glucose

Nos résultats montrent une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du taux de glucose chez le lot traité par le toluène (DI) par rapport au lot témoin, et une diminution non significative ($P \geq 0,05$) chez le lot DII (toluène plus le thé vert) par rapport au lot témoin (tab : 11, fig : 38).

Tableau 11 : Variation de la concentration du glucose chez le témoin (T) et les Lots traités DI/DII (n=5) :

Paramètre	Les lots expérimentaux		
	Témoins (T)	DI (traité par toluène)	DII (traité par toluène + thé vert)
Glucose (g/l)	1,52 ± 0,23	1,55 ± 0,09 *	1,49 ± 0,26

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

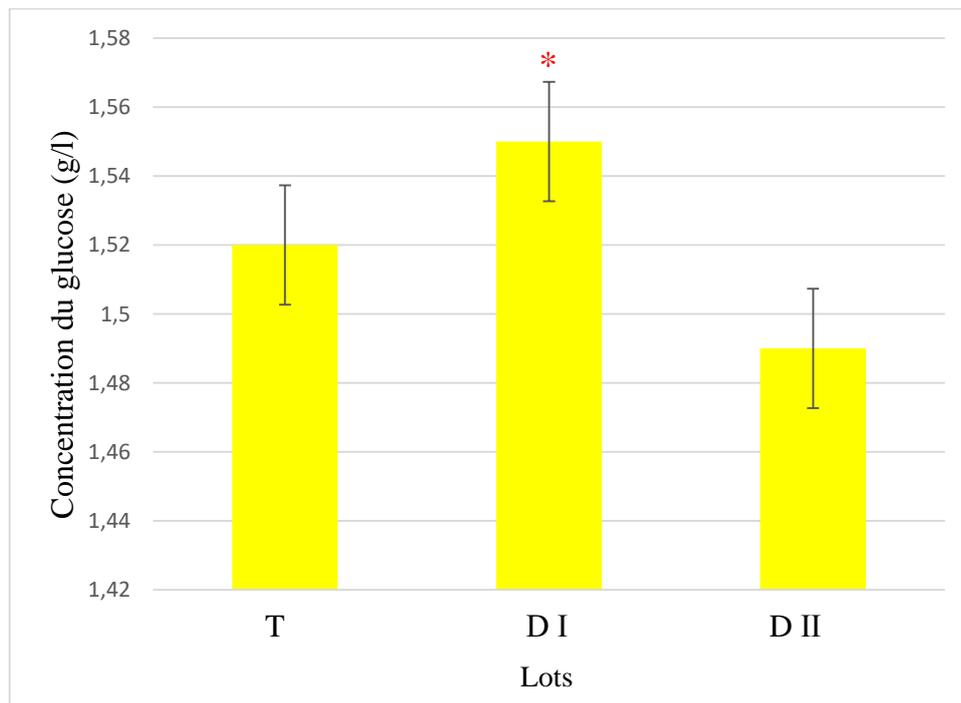


Figure 38 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique du glucose chez le lot témoin et les lots traités (n=5).

1.2. Protéines totale

Nos résultats illustrent une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) du taux de protéines totale chez le lot DI (traités par le toluène) par rapport au témoin, et une augmentation non significative ($P \leq 0,05$) chez le lot DII (toluène plus le thé vert) par rapport au lot témoin (tab : 12, fig : 39).

Tableau 12 : Variation de la concentration des protéines totales chez le témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5) :

Paramètre	Les lots expérimentaux		
	Témoins (T)	DI (traité par toluène)	DII (traité par toluène + thé vert)
Protéines totale (g/l)	66,4 ± 4,5	70,8 ± 4,8 **	68,5 ± 2,8

** : Différences hautement significative par rapport au témoin ($p \leq 0,001$)

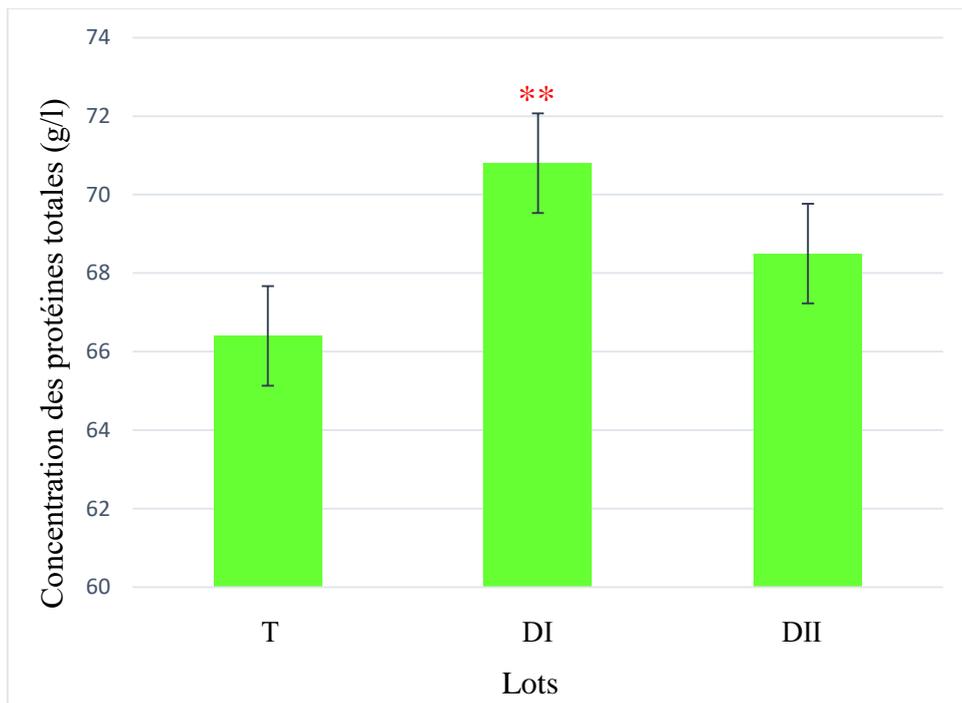


Figure 39 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique des protéines totales chez le lot témoin et les lots traités (n=5).

1.3. Triglycérides

En note d'après nos résultats une diminution hautement significative ($p \leq 0,01$) des triglycérides chez les lapins traités par le toluène par rapport au témoin, et une diminution non significative ($p \geq 0,05$) chez les lapins traité par le toluène et le thé vert par rapport au groupe témoin (tab : 13, fig : 40).

Tableau 13 : Variation de la concentration sérique des triglycérides chez le témoin (T) et les Lots traités DI/DII (n=5) :

Paramètre	Les lots expérimentaux		
	Témoins (T)	DI (traité par toluène)	DII (traité par toluène + thé vert)
Triglycérides (g/l)	1,28 ± 0,8	0,98 ± 0,02 **	1,23 ± 1,02

** : Différences hautement significative par rapport au témoin ($p \leq 0,001$)

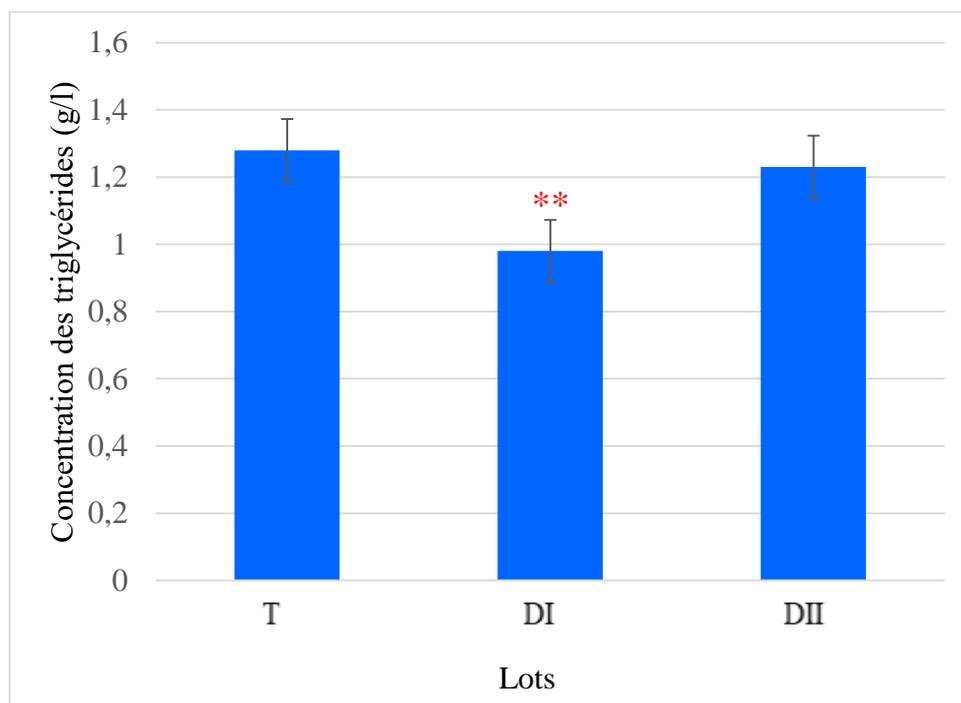


Figure 40 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique des Triglycérides chez le lot témoin et les lots traités (n=5).

1.4. Cholestérol

Les résultats illustrent une diminution significative ($p \leq 0,05$) du taux de cholestérol chez le lot DI traité par le toluène par rapport au témoin, et une diminution non significative ($p \leq 0,05$) chez les lapins traités par le toluène et le thé vert par rapport au groupe témoin (tab : 14, fig : 41).

Tableau 14 : Variation de la concentration du cholestérol chez le témoin (T) et les lots traités

DI/DII (n=5) :

Paramètre	Les lots expérimentaux		
	Témoins (T)	DI (traité par toluène)	DII (traité par toluène + thé vert)
Cholestérol (g/l)	0,35 ± 0,4	0,25 ± 0,01*	0,34 ± 0,02

* : Différence significative par rapport au témoin ($p \leq 0,05$)

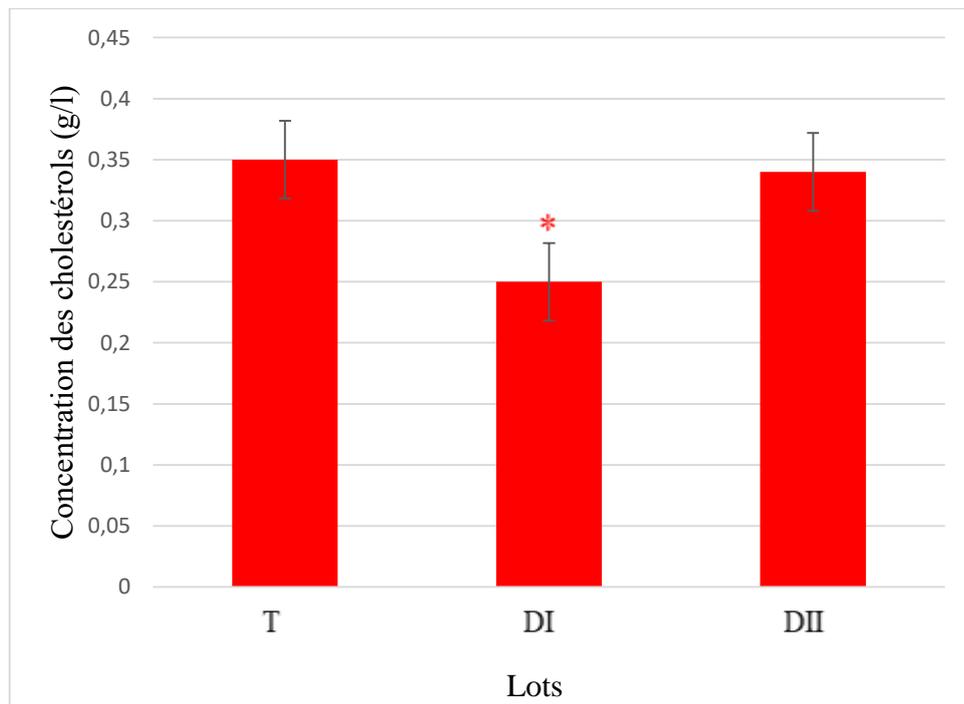


Figure 41 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique des cholestérols chez le lot témoin et les lots traités (n=5).

1.5. L'Alanine-Aminotransférase (ALAT/GPT)

On note une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) du dosage enzymatique de l'enzyme ALAT chez le lot DI (traités par toluène) comparé au groupe témoin, et une diminution non significative ($p \leq 0,05$) chez le lot DII (toluène et le thé vert) par rapport au groupe témoin (tab : 15, fig : 42).

Tableau 15 : Variation de la concentration de l'Alanine-Aminotransférase chez le témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5) :

Paramètre	Les lots expérimentaux		
	Témoins (T)	DI (traité par toluène)	DII (traité par toluène + thé vert)
ALAT (GPT) (g/l)	42 ± 0,7	55 ± 0,11 **	40 ± 0,18

** : Différences hautement significative par rapport au témoin ($p \leq 0,001$).

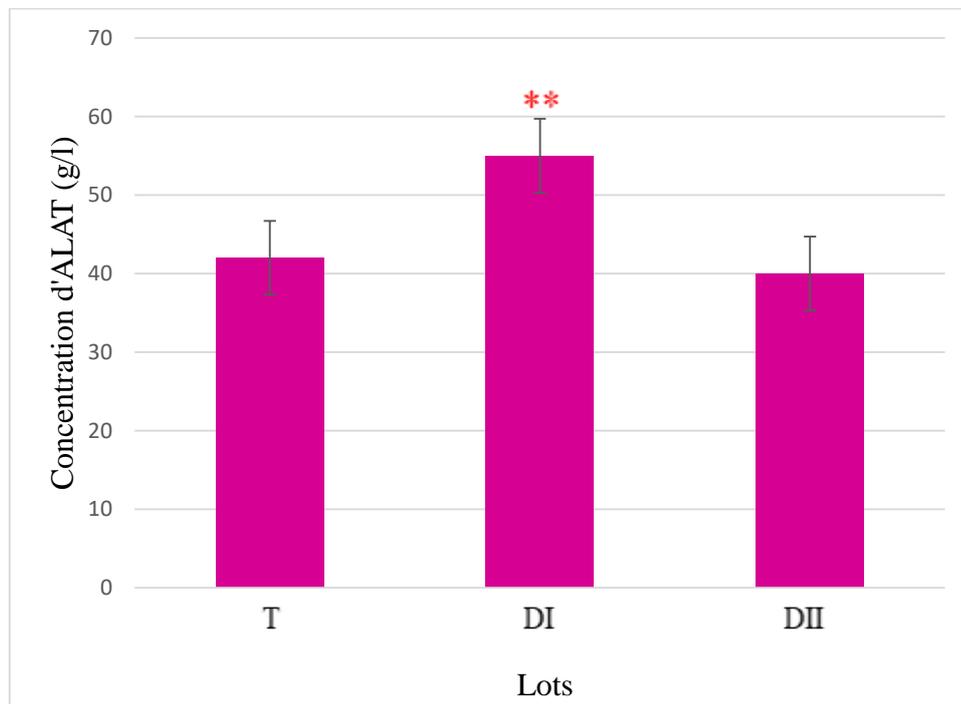


Figure 42 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique des Alanine-Aminotransférase chez le lot témoin et les lots traités (n=5).

1.6. Aspartate-Aminotransférase (ASAT /TGO)

On note une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) de dosage enzymatique de l'enzyme ASAT chez le lot DI (traités par toluène) comparé au groupe témoin, et une augmentation non significative ($p \leq 0,05$) chez le lot DII (traités par le toluène et le thé vert) par rapport au groupe témoin (tab : 16, fig : 43).

Tableau 16 : Variation de la concentration d'Aspartate-Aminotransférase chez le témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5) :

Paramètre	Les lots expérimentaux		
	Témoins (T)	DI (traité par toluène)	DII (traité par toluène + thé vert)
ASAT (TGO) (g/l)	30 ± 0,8	43 ± 0,02 **	31 ± 0,22

** : Différences hautement significative par rapport au témoin ($p \leq 0,001$)

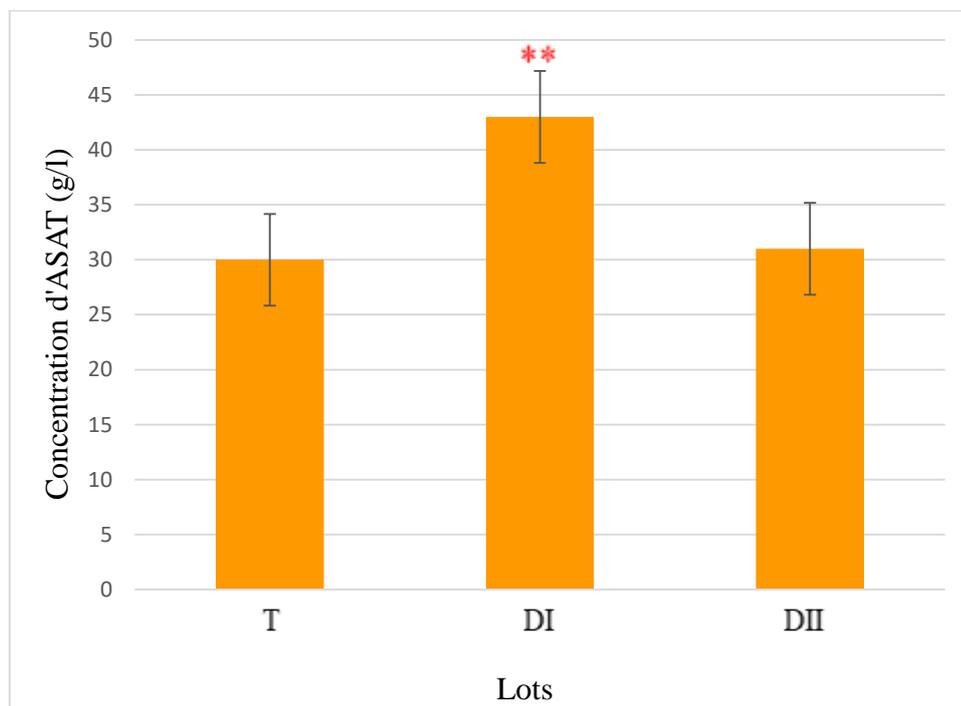


Figure 43 : Variation moyenne ($X \pm SD$) de la concentration sérique des d'Aspartate-Aminotransférase chez le lot témoin et les lots traités (n=5).

2. Étude des paramètres hématologiques

Les résultats de la deuxième étude sont résumés dans le Tableau 17.

Les résultats concernant le nombre des globules rouges (RBC) et de l'hématocrite, révèlent que les lapins traités avec la dose (500 mg/kg/j) du toluène présentent une diminution significative ($p \leq 0,05$) versus les témoins. Pour le taux des globules rouges et l'hématocrite, il diminue non significativement ($p \geq 0,05$) chez le groupe DII (toluène et thé vert). Le taux de l'hémoglobine diminue hautement significativement ($P \leq 0,01$) chez le lot DI et diminue non significativement chez le groupe DII par rapport au témoin. Par contre, il y a une augmentation significative ($p \leq 0,05$) de taux des globules blancs chez le lot DI traité uniquement par le toluène et chez le lot DII traité par le toluène et le thé vert par rapport au groupe témoin.

Tableau 17 : Les variations des paramètres sanguins chez les lapins témoins traités par doses du toluène et par doses du toluène et thé vert après 2 semaines successives :

Paramètres	témoin	Toluène	Toluène + thé vert
RBC ($10^{12}/l$)	6,51 ± 0,6	5,73 ± 0,2*	6,31 ± 0,53
HB (g/dl)	118,6 ± 5,1	90 ± 2,9**	105 ± 1,8
HT (%)	36,9 ± 2,01	34,1 ± 1,5*	36,29 ± 1,8
WBC ($10^9/l$)	12,29 ± 0,4	13 ± 0,6*	12,73 ± 0,5
PL ($10^9/l$)	432,8 ± 6,4	433,6 ± 6,6	434,4 ± 62
MCV (fl)	57,6 ± 2,07	55 ± 1,58	56,8 ± 1,92
MCH (pg)	20,2 ± 1,04	19,16 ± 1	19,62 ± 0,74
MCHC (g/dl)	414 ± 11,4	337,2 ± 9,6	422 ± 14,8

3. État pondéral des organes

Nous avons pesé les organes suivants : les testicules et le foie chez les lapins témoins, les lapins recevant le toluène et les lapins recevant le toluène et le thé vert après la dissection.

3.1. Testicules

On note une diminution significative ($P \leq 0,05$) du poids des testicules du groupe DI recevant de toluène comparant au groupe témoin, et une diminution non significative ($p \geq 0,05$) du poids des testicules du groupe DII recevant de toluène et de thé vert comparativement au groupe témoin (tab : 18, fig : 44).

Tableau 18 : Variation du poids (P) des testicules chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII (n=5) :

Organe	Les lots expérimentaux		
	Témoins (T)	DI (traité par toluène)	DII (traité par toluène + thé vert)
Testicule (g)	3,25 ± 0,22	2,1 ± 0,03 *	3,12 ± 0,28

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

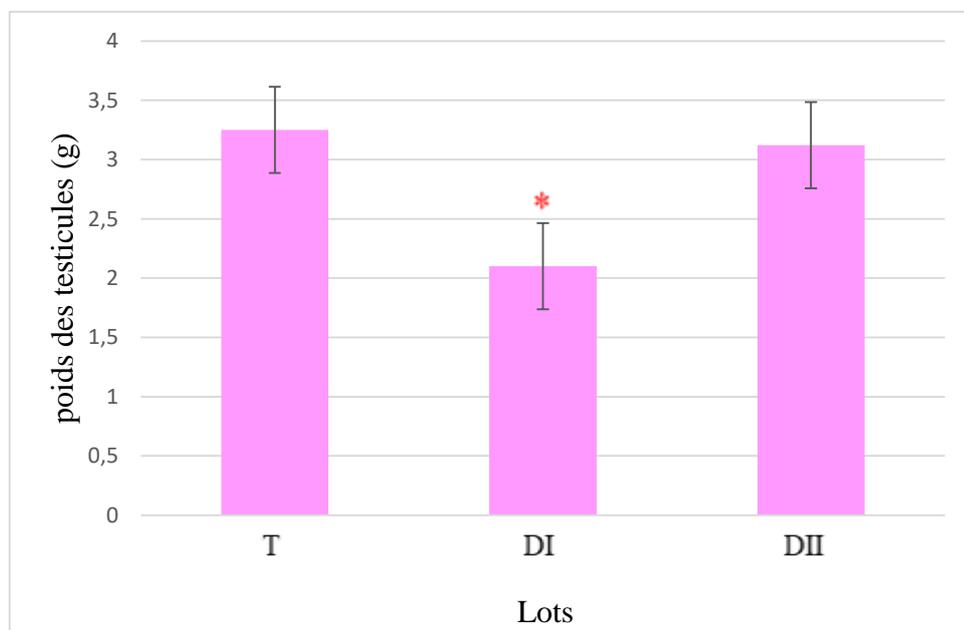


Figure 44 : Variation moyenne ($X \pm SD$) du poids (P) des testicules chez le lot témoin et les lots traités (n= 5).

3.2. Foie

Les résultats illustrent une augmentation significative ($P \leq 0,05$) du poids de foie de groupe traité par le toluène comparant au groupe témoin et une augmentation non significative ($p \leq 0,05$) du poids de foie chez les lapins traités par le toluène et le thé vert (tab : 19, fig : 45).

Tableau 19 : Variation du poids (p) de foie chez le lot témoin (T) et les lots Traités DI/DII (n=5) :

Organe	Les lots expérimentaux		
	Témoins (T)	DI (traité par toluène)	DII (traité par toluène + thé vert)
Foie (g)	3,01 ± 0,04	3,83 ± 0,01 *	3,22 ± 0,24

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

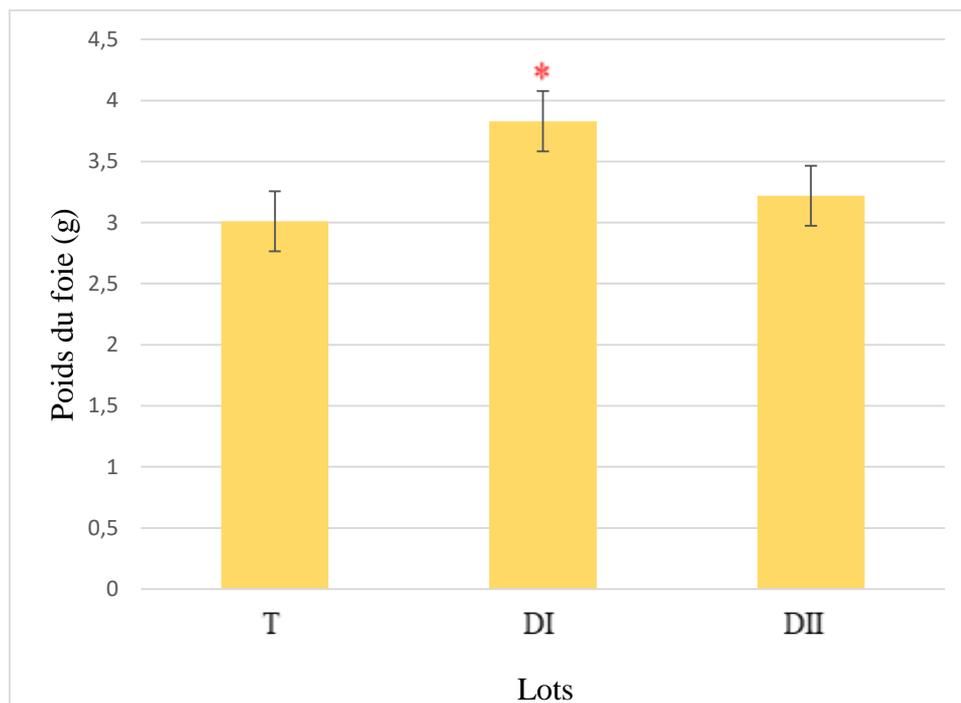


Figure 45 : Variation moyenne ($X \pm SD$) du poids (P) de foie chez le lot témoin et les lots traités (n= 5).

II. Discussion

La plupart des solvants organiques destinés à être utilisés dans les domaines industriels et les recherches scientifiques et biologiques, ces solvants ont des effets toxiques sur les paramètres biochimiques et hématologiques chez l'homme et l'animal à la fois.

Le toluène est un hydrocarbure aromatique utilisé en mélange avec le benzène et le xylène pour améliorer l'indice d'octane de l'essence automobile. Il est utilisé isolément pour la fabrication du benzène, comme intermédiaire de synthèse, comme solvant dans les peintures, les adhésifs, les encres, les produits pharmaceutiques, et comme additif dans les produits cosmétiques (Fiche INERIS, 2016).

Dans le cadre de notre étude, nous avons essayé d'évaluer l'impact de ce produit toxique (toluène) sur le métabolisme et certains paramètres biochimiques et hématologiques chez les lapins *Oryctolagus cuniculus*. Ainsi l'effet protecteur de l'extrait de thé vert sur ces paramètres. La discussion s'agit essentiellement autour de notre résultat par rapport aux travaux publiés dans plusieurs études précédentes.

Dans la présente étude des effets hématologiques, biochimiques ont été rapportés après une exposition chronique chez les lapins mâles *Oryctolagus cuniculus* à une dose 500 mg/kg par jour pendant deux (2) semaines successives par la voie orale.

Notre étude pondérale des testicules et du foie chez les lapins traités uniquement au toluène a mis en évidence des altérations importantes traduites par une diminution significative de poids des testicules. Ces résultats ont été confirmés par **Chung et al. (1999)** qui ont constaté que les rats mâles recevant des solvants par gavage quotidiennement ont montré une atrophie testiculaire. Ainsi, les résultats de **Yamada (1993)** ont montré que l'exposition au xylène des rats *Wistar* était associée à une réduction du poids des testicules et de l'épididyme.

Les altérations du poids absolu des testicules et des épидидymes peuvent être expliqués par la pénétration du toluène à la barrière hémato- testiculaire et en particulier leur effet sur le tissu testiculaire, qui conduit à la destruction des cellules germinales (spermatogonie) entraînant une diminution de la concentration des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères (**Xiao et al., 2001; ATSDR, 2005**). L'atrophie des tubes séminifères et la diminution des cellules spermatogéniques étaient des indicateurs morphologiques de l'échec de la spermatogenèse. En plus, la diminution de la densité des spermatozoïdes épидидymaires est corrélée avec l'arrêt de la spermatogenèse au niveau des testicules (**Park et al., 2002**).

En ce qui concerne le poids du foie, on note une augmentation significative de ce dernier.

Plusieurs hypothèses pourraient expliquer l'hypertrophie du foie après l'administration de toluène, dans lequel on a trouvé lors d'une exposition des organismes à ces produits chimiques évoque un ensemble de réponses qui incluent, une hypertrophie hépatocellulaire, hyperplasie et induction des enzymes métaboliques dans le foie des rongeurs (**Lock et al., 1989**). Ces résultats sont confirmés par une autre étude qui indique qu'une augmentation du volume du foie et des reins a aussi été observée chez des rats ayant reçu l'xylène à 750 mg/kg p.c.par gavage pendant 90 jours consécutifs (**Condie et al., 1988**).

D'autres études ont montré que l'exposition au toluène induit principalement la teneur des cytochromes hépatiques P-450. Ainsi, il provoque une augmentation au niveau des activités enzymatiques du foie. (**Elovaara et al., 1980 ; Patel et al., 1979 ; Toftgard et Nilsen, 1982 ; Rydzynski et al., 1992 ; Selgrade et al., 1993 ; Toftgard et Nilsen, 1991 ; 1989**). Différentes activités enzymatiques et une hypertrophie du foie ont été observées dans une étude dans laquelle des rats ont été soumis à 4750 mg m-3 o -xylène pendant 1 an (**Tatrai et al., 1981**). Aussi l'ingestion aiguë ou subchronique de xylène a provoqué une élévation du cytochrome b5, du poids hépatique et des enzymes hépatiques (**Pykkö, 1980 ; Condie et al., 1988; Elovaara et al., 1989 ; Ungváry et al., 1979**). Une autre étude a constaté que l'exposition au toluène pendant quatre-vingt-dix (90) jours entraîne une augmentation de 13 à 27 % du poids du foie chez le rat (**Pykkö, 1980**).

- ❖ Ces cytochromes P450 (CYP450) sont des enzymes ubiquitaires responsables du métabolisme oxydatif de molécules très diverses, comprenant aussi bien des substances endogènes (hormones stéroïdiennes, acides gras, vitamines D...) que les xénobiotiques (médicaments, pesticides polluants, toxiques, cancérigènes, carcinogènes...). Les réactions de biotransformation des xénobiotiques catalysées par les CYP s'inscrivent en effet dans un processus de détoxification évitant l'accumulation de substances potentiellement toxiques dans l'organisme. Ce sont d'ailleurs ces mêmes substrats qui auto induisent leurs propres réactions de détoxification. Paradoxalement, les CYP peuvent parfois catalyser l'activation chimique de certains composés et produire des métabolites toxiques, mutagènes voir cancérogènes. Cette ambivalence et les conséquences majeures qui en découlent ont conduit à s'intéresser aux cytochromes P450, tant du point de vue structural que fonctionnel (**Thiën-Ân, 2007**).

Etant donné que le toluène est un similaire à xylène, les deux solvants sont très toxiques pour le foie, ils conduiraient à une apoptose due à la production élevée de caspase-3 et de caspase-9 menant à l'apoptose (Al-Ghamdi et al., 2004 ; Al-Ghamdi et al., 2003). D'autres études ont proposé l'hypothèse du phénomène d'apoptose (mort cellulaire programmée), l'exposition aiguë au xylène et toluène conduit à l'activation de CYP2E1, ce qui provoque l'assemblage de substances oxydantes intermédiaires et la nécrose subséquente. La diffusion du xylène dans la cellule conduit à la destruction de l'ADN, ce qui entraîne finalement la mort cellulaire en raison d'une exposition directe et élevée (Rogers et al., 2001).

- ❖ L'apoptose est un mode ubiquitaire de mort cellulaire qui joue un rôle opposé à celui de la mitose dans la régulation des populations cellulaires animales (Kerr et al., 1972). Elle intervient, par exemple, dans le développement embryonnaire et fœtal, dans l'élaboration du système immunitaire et dans l'homéostasie des tissus hormono-dépendants. D'une façon générale, le « suicide » cellulaire est activé pour éliminer sélectivement les cellules devenues indésirables (Raft, 1992). L'apoptose est induite suite à l'activation de certains membres des caspases, une famille particulière de protéases, qui découpent leurs substrats spécifiquement après des résidus aspartate. (Earnshaw et al., 1999 ; Nicholson, 1999). Ces clivages engendrent les événements biochimiques et cellulaires caractéristiques de l'apoptose : la cellule se ratatine (Bortner et Cidlowski, 1998), le noyau se condense et se fragmente (Clarke, 1998), la cellule se scinde en corps apoptotiques et des marqueurs indiquant aux macrophages qu'il faut phagocyter la cellule mourante sont exprimés à la surface membranaire (Danial et Korsmeyer, 2004).

En outre, Adenuga et al. (2014b) et Dunnick (1991) ont révélé que l'exposition aux solvants hydrocarburés et au n-hexane induit une augmentation du poids relatif du foie, des reins et des poumons. Donc l'augmentation du poids des organes peut être due à l'accumulation du toluène dans les organes (Lock et al., 1989).

Toutes ces études sont en accord avec nos résultats et confirment l'effet toxique du toluène sur le poids du foie et des testicules.

Le traitement des lapins par thé vert a entraîné une amélioration du poids des organes (foie et testicules) par rapport au groupe traité par le toluène uniquement. Cette amélioration est due à l'effet protecteur du thé vert qui joue un rôle miraculeux sur la santé. Ceci pourrait être expliqué par l'effet antioxydant du thé vert (l'epigallocatechine gallate) capable de réprimer les effets cytotoxiques de toluène (Mizoi et al., 2005).

Soussi et al. (2013) a également montré que les polyphénols de thé vert induisent une amélioration du poids des testicules chez des rats traités par le vanadium.

L'ensemble de ces résultats montrent que le thé vert a un effet correctif qui peut protéger le foie et les testicules vis-à-vis de la toxicité au toluène.

En ce qui concerne les résultats des paramètres biochimiques, nous avons noté une diminution du taux de cholestérol et du taux des triglycérides chez les lots traités au toluène par rapport au lot témoin. Ces variations peuvent être expliquées par l'effet du toluène sur l'activité des enzymes peptidase, protéase et lipases et certainement sur le métabolisme et la synthèse de ces paramètres.

Aussi une diminution significative du taux de cholestérol dans notre travail chez les lapins traités par le toluène par rapport au témoin. Le cholestérol total se synthétise surtout dans le foie et les intestins (**Pearson et al., 2004**). Le changement au niveau du taux de cholestérol est dû aux dommages du foie, ce changement peut être dû à un déséquilibre dans les enzymes responsables de la transformation du cholestérol aux hormones sexuelles (**Husmann, Mephaul, 1991**).

Il a été présumé que la réduction du taux de cholestérol sérique peut être expliquée par un dysfonctionnement dans le métabolisme et la production de l'enzyme lipases (**Rihani, 2014**).

Nos résultats montrent également une diminution non significative de cholestérol chez le lot traité par le toluène avec l'extrait butanolique de thé vert par rapport au lot témoin. Ces résultats correspondent aux résultats de Muramatsu et Chisaka et *al.* qui ont montré que la consommation de thé vert, de catéchine diminuait les taux de cholestérol sériques chez des rats et des souris nourris avec un régime athérogène (**Muramatsu et al., 1986 ; Valsa et al., 1995**). Les catéchines alimentaires à des taux de 1 à 2 g/100 g d'aliment inhibent l'absorption du cholestérol alimentaire (**Muramatsu et al., 1986 ; Chisaka et al., 1988**). Cet effet peut être dû à la précipitation du cholestérol en micelles mixtes en présence de taux élevés de catéchines (**Ikeda et al., 1992**).

Ainsi, nos résultats confirment ceux de **Bursil et al. (2007)** qui ont montré que les polyphénols du thé vert inhibent la synthèse du cholestérol et de plus augmentent l'expression du récepteur des LDL qui peuvent aussi contribuer à faire baisser le cholestérol plasmatique.

Notre résultat indique une diminution hautement significative du taux de triglycéride chez les lapins traités par le toluène. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par **NTP (1995)** qui ont trouvé que chez le rat adulte, l'administration la dose 353 mg/kg/j du DBP par gavage pendant 13 semaines, déclenche l'action enzymatique des peroxysomes (acyl-CoA oxydase). Cette induction est derrière la diminution du taux de triglycéride et de cholestérol. Toujours chez le rat, des études ont montré, que la prolifération des peroxysomes et l'augmentation des enzymes peroxysomales dans les hépatocytes se produisait à des doses de 2131 mg/kg/j du DBP et cela pendant 21 jours (**Birba, 1986 ; Murakami et al., 1986**).

La diminution du taux de triglycéride et observée durant notre étude, serait peut être associée à la prolifération des peroxysomes, comme révélé dans d'autres résultats réalisés notamment chez le rat. Cette réponse peut contribuer à l'augmentation du poids du foie (**Murakami et al., 1986**), chose observée chez nos groupes expérimentaux. Bien que le glucose soit la première source d'énergie, de même les triglycérides sont considérés comme une réserve d'énergie. Ces derniers proviennent d'aliments et du foie (**Dzoyem et al., 2014**). La diminution du taux des triglycérides peut être due à son utilisation comme source énergétique (**Pigneret et al., 2016**).

Nous enregistrons aussi une diminution non significative de la concentration des triglycérides chez le lot traité par toluène et thé vert par rapport au groupe témoin. Nos résultats ont été confirmés par une étude qui suggère que chez les rats mâles traités quotidiennement par gavage oral avec 600 mg/kg de d'extrait de *P. granatum*. La valorisation thérapeutique des produits naturels dans les troubles hépatiques a été remarquée au cours des dernières années, et divers produits naturels et synthétiques ont été testés par des chercheurs pour réduire les dommages hépatiques (**Li et al., 2015**).

L'analyse phytochimique des extraits *Camellia sinensis* a révélé l'existence de composés bioactifs : les flavonoïdes. Des flavonoïdes de concentration 21.491 mg/g ont été trouvées dans les extraits de plantes. Les flavonoïdes peuvent inhiber la croissance tumorale et la protection contre les infections gastro-intestinales (**Khalil, 2013**). Les flavonoïdes riches en la quercétine ont un pouvoir antioxydant et anti-enzymatique, neutralisant l'effet des radicaux libres et limitant la réaction inflammatoire dans les différents tissus (**Hertel, 2003**).

Par contre, l'analyse de nos résultats montre une augmentation hautement significative du taux sérique en protéine totale chez le groupe traité par toluène. Nos résultats sont en accord avec les résultats obtenus par **Ogunneye et al. (2014)** qui ont révélé une

augmentation du taux des protéines totales chez trente (30) travailleurs exposés à des émissions de pétrole et dix (10) personnes comme témoins, une enquête qui a été réalisée au Nigéria.

Les protéines totales sont constituées de deux grandes classes de protéines, 60 % d'albumine qui est synthétisées par le foie et 40 % de globulines. Les protéines existent dans presque toutes les cellules animales. Il est important de montrer que toute atteinte de produits chimiques peut libérer des molécules biochimiques pour des raisons défensives. Les protéines contiennent des groupements thiols (-CH₂-SH) qui ont un rôle de défense dans l'organisme (**Haleng et al., 2007**). Selon **Sahu et al. (1982)** l'augmentation du taux de protéines totales chez les groupes traités par le n-hexane, comparé au groupe témoin, suggère que le n-hexane a provoqué des lésions cellulaires, qui jouent un rôle dans la production et le stockage des substances de maintien. En revanche, après le traitement par le thé vert nous avons n'indiqué aucune différence significative concernant le taux de protéines totales chez les lapins traités par le thé vert comparant au groupe témoin.

Le foie est un organe cible des xénobiotiques et joue un rôle principal dans le processus de détoxification des toxines. Son endommagement et son dysfonctionnement induisent une hépato-toxicité (**Achliya et al., 2004**). La caractérisation des dommages hépatiques repose essentiellement sur des critères biologiques et des critères cliniques. Les principaux marqueurs biologiques utilisés en pratique actuelle sont : l'alanine aminotransférase (ALAT), l'aspartate amino-transférase (ASAT). Grâce à ces biomarqueurs simples, on peut définir l'existence d'une atteinte hépatique, son type et sa sévérité selon les recommandations internationales (**Fontana et al., 2010 ; Aithal et al., 2011**).

Dans le foie les transaminases, l'ALAT et l'ASAT jouent un rôle nécessaire dans le métabolisme hépatique (**Zohra et al., 2010**). L'alanine aminotransférase (ALAT) est présente essentiellement dans le foie. Alors que, l'aspartate aminotransférase (ASAT) est une enzyme présente dans plusieurs organes.

Les résultats obtenus lors de cette étude montrent une augmentation hautement significative dans l'activité enzymatique de l'ALAT, l'ASAT. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans l'étude de **Neghab et al. (2015)** qui ont rapporté que les taux d'ALAT, d'ASAT étaient significativement plus élevés dans le groupe des travailleurs exposés au BTX (benzène, toluène et xylène) que dans le lot témoin. D'autre côté **Ketan et al. (2013)** ont également signalé des niveaux élevés des transaminases hépatiques (ALAT et ASAT) avec une augmentation du poids du foie chez les souris exposés aux mélanges de toluène, de xylène et de benzène. En outre, nos résultats sont conformes à celles de **Yoon et Lee (2010)** qui ont

montré une augmentation significative du taux d'ALAT, d'ASAT et de LDH lorsque des rats ont été soumis au xylène. Plusieurs recherches ont indiqué que l'augmentation des activités enzymatiques d'ALAT et d'ASAT indiquant une nécrose hépatique (**Ann et al., 2001**). De même, **Rahman et al. (2000)** ont suggéré que les niveaux plasmatiques élevés de la PAL pourraient être due à l'augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique ou à la nécrose cellulaire. Lors des lésions hépatocellulaires, ces enzymes sont sécrétées dans le sang, et leur taux sérique s'augmente par conséquence (**Kalender et al., 2005**). Tandis que la différence est non significative chez les lapins traités par le toluène et le thé vert (*Camellia sinensis*) par rapport au groupe témoin. Nos résultats sont en accord avec les investigations d'Elberry et al sur des rats intoxiqués et non traités qui signalent une augmentation de la concentration sérique de TGP. Cette augmentation est moins accrue chez les sujets intoxiqués et traités (**Elberry et al., 2010**).

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

En outre, l'administration de l'extrait de thé vert avec le toluène montre une diminution non significative du taux de glucose par rapport au lot témoin. Ce qui est en accord avec les résultats d'autres études qui ont montré que le traitement des rats par l'extrait de thé vert restaure le taux du glucose. Cet effet est dû aux polyphénols du thé vert qui peut entraîner une augmentation importante de l'activité de certaines enzymes impliqués dans la dégradation du glucose dans le foie, l'intestin et les reins ; et inhiber la production hépatique du glucose dans le sang (**Khan et al., 2007**). Ceci suggère que le thé vert a un effet hypoglycémiant.

À propos des résultats des paramètres hématologiques, nous avons enregistré une diminution des globules rouges, hématocrites et hémoglobine et une augmentation des globules blancs chez les lots traités au toluène par rapport aux lapins témoins.

Les globules rouges ont la capacité de détecter les manques cellulaires en oxygène par des médiateurs vasodilatateurs qui régulent le flux sanguin dans le cas d'une hypoxie (diminution d'oxygène) (**Jensen, 2009**).

En revanche, d'autres études antérieures ont rapporté dans leurs résultats une anémie chez les espèces exposées au n-hexane et à l'essence. Dans lequel **Egeli et al. (2000)** ont observé une baisse dans le nombre des globules rouges, des hémoglobines, d'hématocrite et de volume globulaire moyen chez des rats albinos suisses qui ont été exposés au n-hexane par voie intrapéritonéale à des doses de 0.125 ml/kg et 0.250 ml/kg pendant vingt-quatre (24) semaines. D'autre part **Amarnath et Valentine** ont constaté que la 2,5-hexanedione (2,5-HD) le métabolite du n-hexane, altère les protéines de la membrane axonale des globules rouges (**Amarnath et al., 1991; Valentine et al., 1993**). Une autre étude similaire sur les rats exposés au xylène confirme une chute des érythrocytes (globules rouges), et une diminution significative de l'hémoglobine (**Korsak et al., 1994**).

Cette réduction observée peut être attribuée à l'interaction entre les constituants de xylène ou le toluène ou leurs métabolites avec les tissus/organes hématopoïétiques comme la moelle osseuse provoquant une inhibition du rythme à laquelle certaines cellules souches hématopoïétiques spécifiques ou généralisées sont synthétisées par ces tissus (**ATSDR, 2007 ; Uboh et al., 2012**). Les solvants expriment ces effets toxiques sur les systèmes hématopoïétiques par la génération des ERO qui se sont avérées induire des dommages cellulaires par l'augmentation du niveau de peroxydation lipidique, la diminution des activités des enzymes antioxydants et la génération de radicaux libres (**Valko et al., 2007**). La peroxydation lipidique des constituants membranaires des érythrocytes à des lourdes conséquences et peut mener à une hémolyse oxydative grave, qui peuvent contribuer à l'anémie (**Gallo et al., 2013**). La mort cellulaire programmée (apoptose) est un autre mécanisme important impliqué dans l'hémato- toxicité (**Glantz et al., 2006**).

Un système de protection complexe se déclenche face aux substances exotiques qui attaquent et menacent notre corps notamment les globules blancs, les lymphocytes, les granulocytes et les éosinophiles qui jouent un rôle important dans l'activation de la réponse inflammatoire (**Kamal et Malik, 2012 ; Wirth et al., 2017**).

Les globules blancs sont des cellules de défenses dans l'organisme contre les corps étrangers. L'augmentation du taux de globules blancs chez les groupes traités constatés dans notre travail est en accord avec les résultats d'**Akpan et al. (2014)** qui ont déclaré que l'exposition des souris à l'essence pendant soixante (60) jours a provoqué une

hyperleucocytose. Même, autre étude sur les rats exposés au xylène montre qu'il y a des modifications au niveau des leucocytes et des différents globules (**Korsak et al., 1992**) ; l'élévation en globules blancs est expliquée par le déclenchement du système immunitaire face aux xénobiotiques (**Akpan et al., 2014**). Cela peut être dû à certains syndromes inflammatoires.

Par ailleurs, on ne note aucune différence significative chez les lapins traités par toluène et thé vert comparant au groupe témoin. L'anémie provoquée par le toluène est corrigée chez le groupe traité par la combinaison (toluène/ thé vert) après deux semaines successives de traitement. Il semble donc que le thé vert agit comme un antioxydant grâce à la présence de polyphénols flavonoïdes qui permettent de lutter efficacement contre les radicaux libres qui sont les principaux responsables, des différentes maladies et par conséquent, diminuer l'effet toxique de l'arsenic (**Mizoi et al., 2005 ; Shen et al., 2009**).

Notre étude indique une augmentation significative des globules blancs chez les groupes traités par le toluène et le thé vert par rapport témoin, Ces résultats montrent la présence d'une inflammation. Notre résultat est en accord avec l'étude de **Closa Folch (2004)** qui a montré que l'oxyde de fer conduit à l'activation et la stimulation de la prolifération des lymphocytes et la production de cytokines dans les cellules spléniques humaines et de rat. Parce que des lymphocytes et des monocytes, les cellules effectrices de la réponse inflammatoire aiguë, libèrent de grandes quantités de superoxyde extracellulaire et le superoxyde dismutase, pourrait être d'importants médiateurs du processus inflammatoire (**Shah et al., 2007**).

On peut donc conclure que la boisson millénaire qu'est le thé vert, présente un intérêt certain pour le maintien de notre état de santé.

Conclusion

et

Perspectives

Conclusion et Perspectives

Grâce aux résultats disponibles, nous avons confirmé que l'exposition par le toluène à raison de 500 mg/kg /j par la voie orale chez les lapins mâles adultes (*Oryctolagus cuniculus*) pendant deux semaines successives a provoqué des perturbations dans la plupart des paramètres étudiés qui peuvent être résumés dans les points suivants :

D'une part, sur le système hépatique, le solvant toxique le toluène a provoqué des altérations nocifs sur les lapins exposés à ce dernier aux niveaux des paramètres biochimiques notamment une augmentation significative du taux de protéines totale, le glucose, l'enzyme ALAT et l'enzyme ASAT. Par contre, on a noté une diminution significative du taux de triglycéride, cholestérol. Tandis que, nous avons noté des changements pondéraux des organes (testicules et foie), cela a donc entraîné une hypertrophie du foie et une atrophie des testicules.

D'autre part, sur le profil hématologique nous avons indiqué une diminution significative du nombre de globules rouges, l'hématocrite et le taux de l'hémoglobine. Ainsi une augmentation significative du taux de globules blancs chez les lapins traités par toluène.

Notre résultat montre que le thé vert a un effet correctif et bénéfique vis-à-vis l'effet de toxicité du toluène sur les paramètres biochimiques et hématologiques, ce qui a été confirmé par les résultats du traitement des lapins par voie orale (gavage).

On conclut que le thé vert a des avantages importants sur la santé à travers la prévention des nombreuses maladies (prévention contre le cancer, réduire le risque de maladies cardiovasculaire...) et il agit comme un antioxydant qui peut diminuer la toxicité du toluène. A partir de ces résultats, il serait important de dégager les perspectives suivantes :

- ✓ On vous conseille d'éviter tout possible contact direct ou indirect avec le toluène.
- ✓ Il est recommandé d'utiliser des équipements de protection tels que des gants, une blouse et un masque pour couvrir le nez et la bouche.
- ✓ Faire plus d'études de toxico-cinétique et de métabolisme de toluène.
- ✓ Une interdiction définitive de cette substance dans de nombreux produits cosmétiques et industriels par l'OMS.
- ✓ Sensibiliser la communauté aux dangers du toluène sur la santé humaine, animale et environnementale.
- ✓ Réduire l'usage de toluène et contrôler leur utilisation pour limiter son effet tératogène.
- ✓ Il est recommandé de boire du thé vert pour réduire le risque de toluène et les autres solvants.

Référence Bibliographiques

(A)

Abdel-raheim, M., Meki, A., Hamed, E. A., Ezam, K. A. (2009). Effect of green tea extract and vitamin C or antioxidant status of rheumatoid arthritis rat model. *Indian Journal of Clinical biochemistry*. **24** (3) : 280.

Achliya, G. S., Wadodkar, S. G., Dorle, A. K. (2004). Evaluation of hepatoprotective effect of Amalkadi Ghrita against carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **90** (2-3) : 229-232.

Aftalion, F. (2001). A history of the international chemical industry. *Chemical Heritage Foundation*.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2000). Prepared by clement international corp., under contract. **205** : 88- 608.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2005). Toxicological profile for xylenes. Draft for public comment Atlanta. (Resource électronique). *Microscopy Research & Technique*. **20** (1) : 50-72.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2007). Toxicological profile for Xylenes. Atlanta, GA : U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2017). Toxicological profile for Toluene. Atlanta, GA : U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. (<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiledocs/index.html>).

Ahmad, K. A., Desai, S. J., Bennett, M. M., Ahmad, S. F., Ng, Y. T., Clark, R. H., et al. (2017). Changing antiepileptic drug use for seizures in US neonatal intensive care units from 2005 to 2014. *Journal of Perinatology*. **37** (3) : 296-300.

Aithal, G. P., Watkins, P. B., Andrade, R. J., Larrey, D., Molokhia, M., Takikawa, H., Daly, A. K. (2011). Case definition and phenotype standardization in drug-induced liver injury. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. **89** (6) : 806-815.

Akpan, K. V., Sogbanmu, T. O., Otitolaju, A. A. (2014). Effects of volatile organic solvents inhalation on hematological and histological indices of *Mus musculus*. *Curr Advanc Environ Sci*. **2** (2) : 46-51.

Al-Ghamdi, S. S., Raftery, M. J., Yaqoob, M. M. (2003). Toxicité des cellules tubulaires proximales induite par un solvant organique via l'activation de la caspase-3. *Clin Toxicol*. **41**: 941-945.

Al-Ghamdi, S. S., Raftery, M. J., Yaqoob, M. M. (2004). Apoptose des cellules tubulaires proximales induite par un solvant organique via l'activation de la caspase-9. *Environ Toxicol Pharmacol*. **16**: 147-152.

Amarnath, V., Anthony, D. C., Valentine, W. M., Graham, D. G. (1991). The molecular mechanism of the carbon disulfide mediated crosslinking of proteins. *Chemical research in toxicology*. **4** (2) : 148-150.

Amroune, N. (2020). Alimentation du lapin : valorisation de l'Azolla dans l'alimentation des lapins étude bibliographique. Mémoire de fin d'étude (Master). Spécialité : Production et Nutrition Animale. *Université de Bouira. Algérie.*

Andersen, I., Lundqvist, G. R., Mølhav, L., Pedersen, O. F., Proctor, D. F., Væth, M., et al. (1983). Human response to controlled levels of toluene in six-hour exposures. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*. 405-418.

Anderson, J. A., Henck, J. W. (1994). Toxicity and safety testing. In *The biology of the laboratory rabbit*. *Academic Press* : 449-466.

Ann, C. Y., Lee, K. J., Park, J. B., Jang, J. Y., Kim, M. J. (2001). The association of exposure to organic solvents with liver function. *Korean Journal of Occupational and Environmental Medicine*. **13** (1) : 64-74.

Anses. (2012). Profil toxicologique du Toluène. Rapport d'expertise collective. *Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.*

Anzenbacherova, E., Hudecek, J., Murgida, D., Hildebrandt, P., Marchal, S., Lange, R., Anzenbacher, P. (2005). Active sites of two orthologous cytochromes P450 2E1 : Differences revealed by spectroscopic methods. *Biochemical and biophysical research communications*. **338** (1) : 477-482.

Api. (1985). Two-generation inhalation reproduction/fertility study on petroleum derived hydrocarbon with toluene. Washington. *American Petroleum Institute.1.*

Arnold, G. L., Kirby, R. S., Langendoerfer, S., Wilkins-Haug, L. (1994). Toluene embryopathy : clinical delineation and developmental follow-up. *Pediatrics*. **93** (2) : 216-220.

Assessment, R. (2008). Tris [2-Chloro-1-(Chloromethyl) Ethyl] Phosphate (TDCP). *European Union Risk Assessment Report.*

(B)

Bælum, J., Døssing, M., Hansen, S. H., Lundqvist, G. R., Andersen, N. T. (1987). Toluene metabolism during exposure to varying concentrations combined with exercise. *International archives of occupational and environmental health*. **59** : 281-294.

Balentine, D.A., Harbowy, M.E., and Graham, H.N. (1998). Tea : The plant and its manufacture ; chemistry and consumption of the beverage. In *Caffeine*. Spiller, G.A., *CRC Press* : Boca Raton, FL, 35–68.

Balentine, D. A., Wiseman, S. A., Bouwens, L., Malvy, D. (2000). Chimie des flavonoïdes du thé. *Cahiers de Nutrition et de Dietétique*. **35** : 1S13- 1S21.

- Balster, R. L. (1998).** Neural basis of inhalant abuse. *Drug and alcohol dependence*. **51** (1-2) : 207-214.
- Banerjee, B., Chaudhuri, T.C. (2005).** Therapeutic Effects of Tea. *Science Publishe, Inc.* 206 p.
- Bänfer, W. (1961).** Investigation of the Effect of Pure Toluene on the Blood Picture of Rotogravure Printers and Auxiliary Workers. *Zentralblatt fur Arbeitsmedizin und Arbeitsschutz*. **11** (2) : 35-40.
- Bansal, S., Syan, N., Mathur, P., Choudhary, S. (2012).** Pharmacological profile of green tea and its polyphenols : a review. *Medicinal Chemistry Research*. **21** (11) : 3347-3360.
- Barbosa, N. S., Kalaaji, A.N. (2014).** CAM use in dermatology. Is there a potential role for honey, green tea and vitamine C ?. *Complementary therapies in clinical practice*. **20** (1) : 11-15.
- Barka, B., Nacer, D. (2018).** Effet protecteur de la quercetine contre la toxicité hépatique d'un pesticide deltamethrine chez le lapin (*Oryctolagus cuniculus*). Doctoral dissertation, *Universite laarbi tebessi- tebessa*.
- Battig, K., Grandjean, E. (1964).** Industrial Solvents and Avoidance Conditioning In Rats : A Comparison of the Effects of Acetone, Ethyl Alcohol, Carbon Disulfide, Carbon Tetrachloride, Toluene, and Xylene on Acquisition and Extinction. *Archives of Environmental Health : An International Journal*. **9** (6) : 745-749.
- Bauchinger, M., Schmid, E., Dresp, J., Kolin-Gerresheim, J., Hauf, R., Suhr, E. (1982).** Chromosome changes in lymphocytes after occupational exposure to toluene. *Mutation Research/Genetic Toxicology*. **102** (4) : 439-445.
- Benignus, V. A., Muller, K. E., Graham, J. A., Barton, C. N. (1984).** Toluene levels in blood and brain of rats as a function of toluene level in inspired air. *Environmental research*. **33** (1) : 39-46.
- Benoit, F. M., Davidson, W. R., Lovett, A. M., Nacson, S., Ngo, A. (1985).** Breath analysis by API/MS—human exposure to volatile organic solvents. *International archives of occupational and environmental health*. **55** : 113-120.
- Bibra. (1986).** Effects of the DBP on the liver and liver lipids. Report to Chemical Manufacturers Association. *The British Industrial Biological Research Association*. P : 28.
- Biswas K. P. (2006).** Description of tea plant. *In Encyclopaedia of Medicinal Plants*. P : 964-966.
- Bittigau, P., Sifringer, M., Genz, K., Reith, E., Pospischil, D., Govindarajalu, S., et al. (2002).** Antiepileptic drugs and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **99** (23) : 15089-15094.

Boor, J. W., Hurtig, H. I. (1977). Persistent cerebellar ataxia after exposure to toluene. *Annals of Neurology : Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society.* **2** (5) : 440-442.

Bortner, C. D., Cidlowski, J. A. (1998). A necessary role for cell shrinkage in apoptosis. *Biochemical pharmacology.* **56** (12) : 1549-1559.

Boucher, S., Nouaille, L. (2002). Maladies des lapins. *France Agricole Editions.* P : 10.

Boudia, S., Jas, N. (2013). Toxicants, health and regulation since 1945. *Pickering & Chatto.* 256 P.

Bradley T., Linghtpool T. et Mayer G. (2009). Comprendre le comportement de NAC oiseaux, reptiles et petits mammifères, Masson : 30-40.

Brozovsky, M. (1965). Glue sniffing in children and adolescents. *NY State J Med.* **65** : 1984-1989.

Brugnone, F., Gobbi, M., Ayyad, K., Giuliani, C., Cerpelloni, M., Perbellini, L. (1995). Blood toluene as a biological index of environmental toluene exposure in the “normal” population and in occupationally exposed workers immediately after exposure and 16 hours later. *International archives of occupational and environmental health.* **66** : 421-425.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales ,3^e édition. Paris : Éd. Tec & doc ; Cachan : Éd. médicales internationales. **I** :1120 P.

Bucolo, G., David, H. (1973). Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clinical chemistry.* **19** (5) : 476-482.

Bursill, C. A., Abbey, M., Roach, P. D. (2007). A green tea extract lowers plasma cholesterol by inhibiting cholesterol synthesis and upregulating the LDL receptor in the cholesterol-fed rabbit. *Atherosclerosis.* **193** (1) : 86-93.

Burtis, C. A., Ashwood, E. R., Tietz, N. W. (1999). *Tietz textbook of clinical chemistry. (No Title).*

(C)

Cabrera, C., Artacho, R., Giménez, R. (2006). Beneficial effects of green tea—a review. *Journal of the American College of Nutrition.* **25** (2) : 79-99.

Campo, P., Lataye, R., Cossec, B., Placidi, V. (1997). Toluene-induced hearing loss : a mid-frequency location of the cochlear lesions. *Neurotoxicology and teratology.* **19** (2) : 129-140.

Campo, P., Lataye, R., Cossec, B., Villette, V., Roure, M., Barthelemy, C. (1998). Combined effects of simultaneous exposure to toluene and ethanol on auditory function in rats. *Neurotoxicology and teratology.* **20** (3) : 321-332.

Condle, L. W., Hill, J. R., Borzelleca, J. F. (1988). Études de toxicologie orale avec des isomères de xylène et des xylènes mixtes. *Drug ChemToxicol.* **11** : 329–354.

Carlsson, A. (1982). Exposure to toluene : uptake, distribution and elimination in man. *Scandinavian journal of work, environment & health.* 43-55.

Cassiman, D., Deneff, C., Desmet, V. J., Roskams, T. (2001). Human and rat hepatic stellate cells express neurotrophins and neurotrophin receptors. *Hepatology.* **33** (1) : 148-158.

Cermak, R., Vujcic, Z., Scharrer, E., Wolfram, S. (2001). The impact of different flavonoid classes on colonic CI- secretion in rats. *Biochemical pharmacology.* **62** (8) : 1145-1151.

Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., Teissèdre, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie.* **6** (2) : 75-82.

Chisaka, T., Matsuda, H., Kubomura, Y., Mochizuki, M., Yamahara, J., Fujimura, H. (1988). The effect of crude drugs on experimental hypercholesteremia : mode of action of (-)-epigallocatechin gallate in tea leaves. *Chemical and pharmaceutical bulletin.* **36** (1) : 227-233.

Chung, W. G., Yu, I. J., Park, C.S., Lee, K. H., Roh, H. K., Cha, Y.N. (1999). *Lettres de toxicologie.*

Clarke, P. G. H. (1998). Apoptosis Versus Necrosis. How Valid a Dichotomy for Neurons ? In, **Koliatsos, V. E., Ratan, R. R. (Eds.) (1999).** Cell death and diseases of the nervous system. *Totowa, NJ : Humana Press.* 3-28.

Closa, D., Folch-Puy, E. (2004). Oxygen free radicals and the systemic inflammatory response. *IUBMB life.* **56** (4) : 185-191.

Condie, L. W., Hill, J. R., Borzelleca, J. F. (1988). Oral toxicology studies with xylene isomers and mixed xylenes. *Drug Chem Toxicol.* **11** (4) : 329-354.

Coves, S. (2000). Le thé : de la feuille à la tasse. *Cahiers de nutrition et diététique.* **35**: 1-9.

Cruz, S. L., Mirshahi, T., Thomas, B., Balster, R. L., Woodward, J. J. (1998). Effects of the Abused Solvent Toluene on Recombinant N-Methyl-d-Aspartate and non-N-Methyl-d-Aspartate Receptors Expressed in *Xenopus* Oocytes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* **286** (1) : 334-340.

(D)

Danial, N. N., Korsmeyer, S. J. (2004). Cell death : Critical control points. *Cell.* **116** (2) : 205-219.

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

Donald, J. M., Hooper, K., Hopenhayn-Rich, C. (1991). Reproductive and developmental toxicity of toluene : a review. *Environmental health perspectives.* **94** : 237-244.

Drogoul, C., Gadoud, R., Joseph, M. M. (2004). Nutrition et alimentation des animaux d'élevage. *Educagri Editions.* **2** : 50-52.

Djabber, Y. (2019-2020). Pharmacologie du système rénineangiotensine, Université Ferhat Abbas Sétif, Faculté de médecine, Département de pharmacie, Module de pharmacologie, 3^{ème} année pharmacie.

Dunnick, J. K. (1991). Toxicity Studies of n-Hexane in B6C3F1 (Inhalation Studies) National Toxicology Program. Research Triangle Park, NC : US Department of Health and Human Services. *Public Health Service, National Institutes of Health*.

Dzoyem, J. P., Kuete, V., Eloff, J. N. (2014). Biochemical parameters in toxicological studies in Africa : significance, principle of methods, data interpretation, and use in plant screenings. In *Toxicological survey of African medicinal plants*. 659-715. Elsevier.

(E)

Earnshaw, W. C., Martins, L. M., Kaufmann, S. H. (1999). Mammalian caspases : Structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annual review of biochemistry*. **68** (1) : 383-424.

Echeverria, D., Fine, L., Langolf, G., Schork, A., Sampaio, C. (1989). Acute neurobehavioural effects of toluene. *Occupational and Environmental Medicine*. **46** (7) : 483-495.

ECHA (European Chemicals Bureau) European Union. (2003). Risk Assessment Report Toluene. 30, ECHA.

Egeli, Ü., Tunca, B., Tuncel, P., Kahraman, M., Sevinir, B., Çeçener, G., Bilaloglu, R., et al. (2000). Genotoxic, hematotoxic, pathological, and biochemical effects of hexane on Swiss albino rats. *Teratogenesis, carcinogenesis, and mutagenesis*. **20** (6) : 329-340.

Elberry, A. A., Abdel-Naim, A. B., Abdel-Sattar, E. A., Nagy, A. A., Mosli, H. A., Mohamadin, A. M., et al. (2010). Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Food and chemical toxicology*. **48** (5) : 1178-1184.

Elovaara, E., Collan, Y., Pfäffli, P., Vainio, H. (1980). La toxicité combinée du xylène de qualité technique et de l'éthanol chez le rat. *Xénobiotique*. **10** : 435-445.

Elovaara, E., Engström, K., Häyri, L., Hase, T., Aitio, A. (1989). Métabolisme de l'antipyrine et du mxyène chez le rat après un prétraitement prolongé avec du xylène seul ou du xylène avec de l'éthanol, du phénobarbital ou du 3-méthylcholanthrène. *Xénobiotique*. **19** (9) : 945-960.

Engelke, M., Tähti, H., Vaalavirta, L. (1996). Perturbation of artificial and biological membranes by organic compound of aliphatic, alicyclic and aromatic structure. *Toxicology in vitro*. **10** (2) : 111-115.

(F)

Fontana, R. J., Seeff, L. B., Andrade, R. J., Björnsson, E., Day, C. P., Serrano, J., Hoofnagle, J. H. (2010). Standardization of nomenclature and causality assessment in drug-

induced liver injury : summary of a clinical research workshop. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. **52** (2) : 730-742.

Fujimaki, H., Yamamoto, S., Hojo, R., Sato, F., Kunugita, N., Arashidani, K. (2007). Effect of long-term exposure to low-level toluene on airway inflammatory response in mice. *Toxicology letters*. **168** (2) : 132-139.

Fabre, A. (1946). Dosage du benzène et du toluène-étude comparative de la localisation du benzène et du toluène dans l'organisme. *Bulletin de La Société De Chimie Biologique*. **28** (10-1) :764-766.

Fossati, P., Prencipe, L. (1982). Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical chemistry*. **28** (10) : 2077-2080.

Fromont, A., Tanguy, M. (2001). Elevage du lapin Tome 1, Edition actualisée, *Educagri* .P : 177.

(G)

Gallo, G., Martino, G., Carino, A. (2013). Spinning, oxidative damage and hemolysis in athletes. *Free Radicals and Antioxidants*. **3** (2) : 61-66.

Gamberale, F., Hultengren, M. (1972). Toluene exposure II. Psychophysiological functions. *Work, Environment, Health*. 131-139.

Garreau, H., Theau-Clément, M., Gidenne, T. (2015). Anatomie, taxonomie, origine, évolution et domestication. *Gidenne. T. Le lapin, de la biologie à l'élevage. Versailles, Quae*, 13-32.

Gidenne, T., Lebas, F. (1987). Estimation quantitative de la caecotrophie chez le lapin en croissance : variations en fonction de l'âge. *In Annales de zootechnie*. **36** (3) : 225-235.

Gidenne T., Lebas F., Savietto D., Dorchie P., Duperray J., Davoust C., Lamothe L. (2015). Chapitre 5 : Nutrition et alimentation. . In GidenneT., Le Lapin : de la biologie à l'élevage, *Editions Quae Versailles, France* : 139-184.

Glantz, L. A., Gilmore, J. H., Lieberman, J. A., & Jarskog, L. F. (2006). Apoptotic mechanisms and the synaptic pathology of schizophrenia. *Schizophrenia research*. **81** (1) : 47-63.

Glaser, H. H., Massengale, O. N. (1962). Glue-sniffing in children : Deliberate inhalation of vaporized plastic cements. *JAMA*. **181** (4) : 300-303.

Goodwin, T. M. (1988). Toluene abuse and renal tubular acidosis in pregnancy. *Obstetrics and gynecology*. **71** (5) : 715-718.

Graham, H. N. (1992). Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Preventive Medicine*. **21** (3) : 334-350.

Grandjean, P., Landrigan, P. J. (2006). Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *The Lancet*. **368** (9553) : 2167-2178.

(H)

- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*. **62** (10) : 628-638.
- Harabuchi, I., Kishi, R., Ikeda, T., Kiyosawa, H., Miyake, H. (1993).** Circadian variations of acute toxicity and blood and brain concentrations of inhaled toluene in rats. *Occupational and Environmental Medicine*. **50** (3) : 280-286.
- Harbowy, M. E., Balentine, D. A. (1997).** Tea chemistry. *Critical Review Plant Science*. **16** (5) :415–480.
- Hass, U., Lund, S. P., Hougaard, K. S., Simonsen, L. (1999).** Developmental neurotoxicity after toluene inhalation exposure in rats. *Neurotoxicology and teratology*. **21** (4) : 349-357.
- Herbison, A. E. (2016).** Control of puberty onset and fertility by gonadotropin-releasing hormone neurons. *Nature Reviews Endocrinology*. **12** (8) : 452-466.
- Hertel, J. M. (2003).** Plantes médicinales et diabète. *Phytomania*. P : 01-09.
- Hinchman, C. A., Ballatori, N. (1990).** Glutathione-degrading capacities of liver and kidney in different species. *Biochemical pharmacology*. **40** (5) : 1131-1135.
- Hirai, M., Hotta, Y., Ishikawa, N., Wakida, Y., Fukuzawa, Y., Fumitaka, I., et al. (2007).** Protective effects of EGCg or GCg, a green tea catechin epimer, against postischemic myocardial dysfunction in guinea-pig hearts. *Life Sciences*. **80** :1020-1032.
- Holmes, G. L., Riviello Jr, J. J. (1999).** Midazolam and pentobarbital for refractory status epilepticus. *Pediatric neurology*. **20** (4) :259-264.
- Hormes, J. T., Filley, C. M., Rosenberg, N. L. (1986).** Neurologic sequelae of chronic solvent vapor abuse. *Neurology*. **36** (5) : 698-698.
- Hougaard, K. S., Hass, U., Lund, S. P., Simonsen, L. (1999).** Developmental neurotoxicity after toluene inhalation exposure in rats. *Neurotoxicology and teratology*. **21** (4) : 349-357.
- Hu, J., Chen, Y., Ni, D. (2012).** Effect of superfine grinding on quality and antioxidant property of fine green tea powders. *LWT- Food Science and Technology*. **45**: 8-12.
- Huff, J. (1990).** NTP (Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Toluene (CAS No. 108-88-3) in F33/N Rats and B6C3F1 Mice (Inhalation Studies). Draft Report, NTP TR371, NIH Publication No. 90-2826, National Toxicology Program. *U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC*, 253 p.
- Husmann, D. A., Mc Phaul, M. J. (1991).** Time-specific androgen blockade with flutamide inhibits testicular descent in the rat. *Endocrinology*. **129** (3) : 1409-1416.

(I)

- INRS. (2023).** Fiche toxicologique .Risques chimiques. Effets sur la santé et la sécurité : Effets sur la santé et la sécurité. <http://www.inrs.fr/risques/chimiques>.

INRS. (2021). Fiche toxicologique n°74 : Toluène. <http://www.inrs.fr/fichetox>.

INERIS. (2016). Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Toluène. 103 P.

INRS (2012a). Fiche toxicologique n° 74- Toluène. Institut National de Recherche et de Sécurité. http://www.inrs.fr/dms/ficheTox/FicheFicheTox/FICHETOX_742/FicheTox_74.pdf.

Ikeda, K. (1987). Visual toxicity of toluene--an experimental study. *Nippon Ganka Gakkai zasshi.* **91** (10) : 903-910.

Ikeda, I., Imasato, Y., Sasaki, E., Nakayama, M., Nagao, H., Takeo, T., Sugano, M. (1992). Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-lipids and lipid Metabolism.* **1127** (2) : 141-146.

Izquierdo-Vega, J. A., Soto, C. A., Sanchez-Peña, L. C., De Vizcaya-Ruiz, A., Del Razo, L. M. (2006). Diabetogenic effects and pancreatic oxidative damage in rats subchronically exposed to arsenite. *Toxicology letters.* **160** (2) : 135-142.

(J)

Jagan Mohan Rao.L., K. Ramalakshmi. (2011). Recent Trends in Soft Beverages : Introduction to tea. *WPI India.* 65-85.

Jayakeerthana, S. (2016). Benefits of Green Tea : A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* **8** (10) : 1184.

Jensen, R. L. (2009). Brain tumor hypoxia : tumorigenesis, angiogenesis, imaging, pseudoprogression, and as a therapeutic target. *Journal of neuro-oncology.* **92** : 317-335.

(K)

Kalender, S., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Açikgoz, F., Durak, D., Ulusoy, Y., Kalender, Y. (2005). Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology.* **211** (3) : 197-206.

Kamal, A., Malik, R. N. (2012). Hematological evidence of occupational exposure to chemicals and other factors among auto-repair workers in Rawalpindi, Pakistan. *Osong public health and research perspectives.* **3** (4) : 229-238.

Kamijima, M., Nakazawa, Y., Yamakawa, M., Shibata, E., Hisanaga, N., Ono, Y., et al. (1994). Metabolic acidosis and renal tubular injury due to pure toluene inhalation. *Archives of Environmental Health : An International Journal.* **49** (5) : 410-413.

Kanaka-Gantenbein, C., Dicou, E., Czernichow, P., Scharfmann, R. (1995). Presence of nerve growth factor and its receptors in an in vitro model of islet cell development: implication in normal islet morphogenesis. *Endocrinology.* **136** (7) : 3154-3162.

Kaplan, A., et al. (1984). Tryglycerides. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto.Princeton. *Clin Chem.* 437 and *Lipids* : 1194-1206.

- Kaplan, A.** Glucose. **Kaplan A., et al. (1984).** The C.V. MosbyCo. St Louis. Toronto. Princeton. *Clin Chem.* 1032-1036.
- Katiyar, S. K., Ahmad, N., Mukhtar, H. (2000).** Green tea and skin. *Archives of Dermatology.* **136** (8) : 989-994.
- Kawai, T., Yasugi, T., Mizunuma, K., Horiguchi, S. I., Ikeda, M. (1993).** Comparative evaluation of blood and urine analysis as a tool for biological monitoring of n-hexane and toluene. *International Archives of Occupational and Environmental Health.* **65** : S123-S126.
- Kendirli, Y., Uzun, N., Gündüz, A. (2008).** Volatile Substance Abuse Via Inhalation : Clinical and Demographical Findings. *Türk Nöroloji Dergisi.* **14** (1) :15-20.
- Kenna, D. J., Jones K., Hughes K., Humphrey, S. (2002)** : Botanical Medicines : The Desk Reference for Major Herbal Suppléments. 2e édition .*The Haworth Herbal Press®.* p. 597-656.
- Kerr, J. F. R, Wyllie, A. H., Currie, A. R. (1972).** Apoptosis : a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer.* **26** : 239-257.
- Kerschensteiner, M., Gallmeier, E., Behrens, L., Leal, V. V., Misgeld, T., Klinkert, W. E., et al. (1999).** Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions : a neuroprotective role of inflammation?. *The Journal of experimental medicine.* **189** (5) : 865-870.
- Ketan, V. K., Bhavyata, K., Linzbuoy, G., Hyacinth, H. N. (2015).** Renal and hepatotoxic alterations in adult mice on inhalation of specific mixture of organic solvents. *Toxicology and Industrial Health.* **31** (12) : 1158-1164.
- Khalil, A. S., Rahim, A. A., Taha, K. K., Abdallah, K. B. (2013).** Characterization of methanolic extracts of agarwood leaves. *Journal of Applied and Industrial Sciences,* **1** (3) : 78-88.
- Khan, N., Mukhtar, H. (2007).** Tea polyphenols for health promotion. *Life sciences.* **81** (7) : 519-533.
- Koemoth, P. (2010).** Les plantes médicinales en Égypte pharaonique : du mythe à la médecine. Culture Université de Liège [en ligne]. [Consulté le 25 septembre 2014].
- Kojima, S., Hirayama, K., Furumoto, H., Fukutake, T., Hattori, T. (1993).** Magnetic resonance imaging in chronic toluene abuse, and volitional hyperkinesia. *Rinsho Shinkeigaku=Clinical Neurology.* **33** (5) : 477-482.
- Koller, A.** Total serum protein. **Kaplan, A., et al. (1984).** The C.V. MosbyCo. St Louis. Toronto. Princeton. *Clin Chem.*1316-1324 and 418.
- Korsak, Z., Sikal, J. A., Wasiela, T., Swiercz, R. (1990).** Toxic effects of acute exposure to particular xylene isomers in animals. *POL. J. OCCUP. MED.* **3** (2) : 221-226.
- Korsak, Z., Wisniewska-Knypl, J., Swiercz, R. (1994).** Toxic effects of subchronic combined exposure to n-butyl alcohol and m-xylene in rats. *International journal of occupational medicine and environmental health.* **7** (2) : 155-166.

Krieps, M. (2009). Le thé : origine, actualité et potentialités –Thèse d'exercice : pharmacie, UHP - Université Henri Poincaré - Nancy I, 213 P.

Kuriyama, S., Shimazu, T., Ohmori, K., Kikuchi, N., Nakaya, N., Nishino, Y., et al. (2006). Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer, and all causes in Japan : the Ohsaki study. *Jama*. **296** (10) : 1255-1265.

(L)

Lassed, S. (2017). L'effet préventif des flavonoïdes et des phénols de thé vert (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) sur le cancer de la prostate chez une population de l'Est Algérien : étude épidémiologique et étude expérimentale *in vitro et in humaine*. Doctoral dissertation, Université de Frères Mentouri Constantine 1 : 41-45.

Lash, L. H. (1994). Role of renal metabolism in risk to toxic chemicals. *Environmental Health Perspectives*. **102** (11) : 75-79.

Laurens, A., Leboeuf, M., Cave, A. (1998). Les surprenantes vertus du thé vert : La pharmacognosie à la rescousse de la médecine chinoise traditionnelle. *Recherche (Paris, 1970) : Société d'éditions scientifiques, Paris*. **308** : 54-57.

Lebas, F. (2006). Alimentation et santé digestive chez le lapin. Une journée de Formation organisée par l'ASFC et l'AFTAA. *Cuniculture*. **33** : 63-70.

Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., Feng, Y. (2015). The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *International journal of molecular sciences*. **16** (11) : 26087-26124.

Lindemann, R. (1991). Congenital renal tubular dysfunction associated with maternal sniffing of organic solvents. *Acta Paediatrica*. **80** (8-9) : 882-884.

Lock, E.A., Mitchell, A. M., Elcombe, C.R. (1989). Biochemical mechanisms of induction of hepatic peroxisome proliferation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **29** : 145-163.

Löf, A., Wallén, M., Hjelm, E. W. (1990). Influence of paracetamol and acetylsalicylic acid on the toxicokinetics of toluene. *Pharmacology & toxicology*. **66** (2) : 138-141.

Löf, A., Hjelm, E. W., Colmsjö, A., Lundmark, B. O., Norström, A., Sato, A. (1993). Toxicokinetics of toluene and urinary excretion of hippuric acid after human exposure to 2H8-toluene. *Occupational and Environmental Medicine*. **50** (1) : 55-59.

Lowry, L. K. (1987). Review of biological monitoring tests for toluene. *Biological monitoring of exposure to chemicals*. Ed by New York, NY : John Wiley & Sons, Inc. 99-109.

(M)

Macheix, J. J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques*.

- Mahmood, T., Akhtar, N., Ali Khan, B. (2010).** The morphology, characteristics, and medicinal properties of *Camellia sinensis* tea. *Journal of Medicinal Plants Research*. **4** (19) : 2028-2033.
- Mahmoud, A. (2019).** Traitement de la douleur - de la médecine arabe à la médecine moderne, 2^{ème} édition. *Berti Editions*. P : 188 -189.
- Maisonpierre, P. C., Belluscio, L., Friedman, B., Alderson, R. F., Wiegand, S. J., Furth, M. E., et al. (1990).** NT-3, BDNF, and NGF in the developing rat nervous system : parallel as well as reciprocal patterns of expression. *Neuron*. **5** (4) : 501-509.
- Marjot, R., McLeod, A. A. (1989).** Chronic non-neurological toxicity from volatile substance abuse. *Human toxicology*. **8** (4) : 301-306.
- Mazzon, E., Muià, C., Paola, R. D., Genovese, T., Menegazzi, M., De Sarro, A., et al. (2005).** Green tea polyphenol extract attenuates colon injury induced by experimental colitis. *Free radical research*. **39** (9) :1017-1025.
- Meiattini, F et al. (1978).** The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone ChromogenicSystem. *Clin Chem*. **24** (12) : 2161-2165.
- Michelland, R., Combes, S., Monteils, V., Bayourthe, C., Cauquil, L., Enjalbert, F., et al. (2012).** Analyse comparée des écosystèmes digestifs du rumen de la vache et du caecum du lapin. *INRA Productions Animales*. **25** (5) : 395-406.
- Mihic, S. J., McQuilkin, S. J., Eger, E. 2., Ionescu, P., Harris, R. A. (1994).** Potentiation of gamma-aminobutyric acid type A receptor-mediated chloride currents by novel halogenated compound correlates with their abilities to induce general anesthesia. *Molecular Pharmacology*. **46** (5) : 851-857.
- Mizoi, M., Takabayashi, F., Nakano, M., An, Y., Sagesaka, Y., Kato, K., Yamanaka, K. (2005).** The role of trivalent dimethylated arsenic in dimethylarsinic acid-promoted skin and lung tumorigenesis in mice : tumor-promoting action through the induction of oxidative stress. *Toxicology letters*. **158** (2) : 87-94.
- Monograph. (2000).** Green tea. *Alternative Medicine Review*.**5** : 372-375.
- Mossion, A. (2007).** Etude de la composition minérale et organique des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques : Influence des paramètres physico - chimiques de l'eau. Thèse : Sciences de la Matière. *Institut National de Polytechnique de Toulouse*. 213 p.
- Mukhtar, H., Ahmad, N. (2000).** Tea polyphenols : prevention of cancer and optimizing health. *American journal of clinical nutrition*.**71** (6) :1698S–1702S.
- Murakami, K., Nishiyama, K., Higuti, T. (1986).** Toxicity of dibutyl phthalate and its metabolites in rats. *Nippon Eiseigaku Zasshi (Japanese Journal of Hygiene)*. **41** (4) : 775-781.
- Muramatsu, K., Fukuyo, M., Hara, Y. (1986).** Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *Journal of nutritional science and vitaminology*. **32** (6) : 613-622.

Murata, M., Tsujikawa, M., Kawanishi, S. (1999). Oxidative DNA damage by minor metabolites of toluene may lead to carcinogenesis and reproductive dysfunction. *Biochemical and biophysical research communications*. **261** (2) : 478-483.

Muriel C., Catherine. (2010). Les maladies transmissibles des lapins de garenne. *Ecole nationale vétérinaire de Lyon*.

Murray, R. Alanine aminotransferase. **Kaplan, A et al. (1984).** The C.V. MosbyCo. St Louis. Toronto. Princeton. *Clin Chem*. 1088-1090.

Murray, R. Aspartate aminotransferase. **Kaplan, A., et al. (1984).** The C.V. MosbyCo. St Louis. Toronto. Princeton. *Clin Chem*. 1112-1116.

(N)

Naito, H.K. Cholesterol. **Kaplan, A., et al. (1984).** The C.V. MosbyCo. St Louis. Toronto. Princeton. *Clin Chem*. 1194-11206 and 437.

Namita, P., Mukesh, R., Vijay, K. J. (2012). Camellia sinensis (green tea) : a review. *Global journal of pharmacology*. **6** (2) : 52-59.

National Toxicology Program (NTP). (1995). Toxicity studies of Dibutyl Phthalate (CAS No. 84-74-2) administered in feed F344/N rats and B6C3F1 mice. *Tox-30*.

Nchare A., (1990). Les organes thoraciques des lapins domestiques, anatomie.

Neghab, M., Hosseinzadeh, K., Hassanzadeh, J. (2015). Early liver and kidney dysfunction associated with occupational exposure to sub-threshold limit value levels of benzene, toluene, and xylenes in unleaded petrol. *Safety and health at work*. **6** (4) : 312-316.

Nise, G., Högstedt, B., Bratt, I., Skerfving, S. (1991). Cytogenetic effects in rotogravure printers exposed to toluene (and benzene). *Mutation Research/Genetic Toxicology*. **261** (3) : 217-223.

Nguyen, T. Â. (2007). Relations structure-fonction dans la superfamille des Cytochromes P450 : études Bioinformatiques. Doctoral dissertation, Paris 7.

Nicholson, D. W. (1999). Caspase structure, proteolytic substrates, and function during apoptotic cell death. *Cell Death & Differentiation*, **6** (11) : 1028-42.

NIOSH, U. (1973). NIOSH criteria documents, criteria for a recommended standard : occupational exposure to toluene. (73-11023). *The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)*

(O)

Ogata, M., Tomokuni, K., Takatsuka, Y. (1970). Urinary excretion of hippuric acid and m-or p-methylhippuric acid in the urine of persons exposed to vapours of toluene and m-or p-xylene as a test of exposure. *Occupational and Environmental Medicine*. **27** (1) : 43-50.

Ogunneye, A. L., Banjoko, O. O., Jabr, J. M., Shomoye, O. F. (2014). Extraction and characterization of oil from *Thevetia peruviana* seeds (yellow oleander) using nhexane as a solvent. In *Proceedings of the International Conference of Science, Technology, Education, Arts, Management and Social Sciences, isteams Research Nexus, Afe Babalola University, Ado Ekiti, Nigeria.* 195-202.

Ouyang, P., Peng, W. L., Lai, W. Y., Xu, A. L. (2004). Green tea polyphenols inhibit low-density lipoprotein-induced proliferation of rat vascular smooth muscle cells. *Di I jun yi da xue xue bao= Academic Journal of the First Medical College of PLA.* **24** (9) : 975-979.

(P)

Paraf, F., Lewis, J., Jothy, S. (1993). Acute fatty liver of pregnancy after exposure to toluene : A case report. *Journal of clinical gastroenterology.* **17** (2) : 163-165.

Park, J.D., Habeebu, S.S., et Klaassen, C.D. (2002). Testicular toxicity of di-(2- ethylhexyl) phthalate in young Sprague-Dawley rats. *Toxicology.* **171** : 105-115.

Parmar N., Rawat M., Kumar J.V. (2012). *Camellia Sinensis* (Green Tea) : A Review. *Global Journal of Pharmacology.* **6** (2) : 52-59.

Patel, J. M., Harper, C., Gupta, B. N., Drew, R. T. (1979). Modifications des enzymes sériques après exposition par inhalation de p-xylène. *Bull Environ Contam Toxicol.* **21** : 17-24.

Pearson, M. A., Rimsza, M. E., Hoyme, H. E., Seaver, L. H. (1994). Toluene embryopathy : delineation of the phenotype and comparison with fetal alcohol syndrome. *Pediatrics.* **93** (2) : 211-215.

Pearson, A., Budin, M., Brocks, J. J. (2004). Phylogenetic and biochemical evidence for sterol synthesis in the bacterium *Gemmata obscuriglobus*. *Proceeding of the National Accademy of Science of the United State of America.* **101** (11) : 15352-15357.

Pelclová, D., Rössner, P., Picková, J. (1990). Chromosome aberrations in rotogravure printing plant workers. *Mutation Research Letters.* **245** (4) : 299-303.

Pigneret, M., Mermillod-Blondin, F., Volatier, L., Romestaing, C., Maire, E., Adrien, J., et al. (2016). Urban pollution of sediments : Impact on the physiology and burrowing activity of tubificid worms and consequences on biogeochemical processes. *Science of the Total Environment.* **568** : 196-207.

Pillon, F. (2012). Rôle des hormones sexuelles et hypothalamo-hypophysaires, et stérilité. *Actualités Pharmaceutiques.* **51** (512) :12-15.

Plenge-Bönig, A., Karmaus, W. (1999). Exposure to toluene in the printing industry is associated with subfecundity in women but not in men. *Occupational and environmental medicine.* **56** (7) : 443-448.

Poon, R., Chu, I. H., Bjarnason, S., Potvin, M., Vincent, R., Miller, R. B., et al. (1994). Inhalation toxicity study of methanol, toluene, and methanol/toluene mixtures in rats : effects of 28-day exposure. *Toxicology and Industrial Health*. **10** (3) : 231-245.

Press, E., Done, A. K. (1967). SOLVENT SNIFFING : Physiologic Effects and Community Control Measures For Intoxication From the Intentional Inhalation of Organic Solvents. I. *Pediatrics*. **39** (3) : 451-461.

Pyykkö, K., Tähti, H., Vapaatalo, H. (1977). Toluene concentrations in various tissues of rats after inhalation and oral administration. *Archives of toxicology*. **38** : 169-176.

Pyykkö, K. (1980). Effets des méthylbenzènes sur les enzymes microsomiales dans le foie, les reins et les poumons de rat. *BiochimBiophys Acta*. **633** : 1-9.

(R)

Raff, M. C. (1992). Social controls on cell survival and cell death. *Nature*. **356** (6368) : 397-400.

Rahman, M. F., Siddiqui, M. K. J., Jamil, K. (2000). Acid and alkaline phosphatase activities in a novel phosphorothionate (RPR-11) treated male and female rats. Evidence of dose and time-dependent response. *Drug and chemical toxicology*. **23** (3) : 497-509.

Reygaert, W. C. (2017). An update on the health benefits of green tea. *Beverages*. **3** (1) : 6.

Richer, C. L., Chakrabarti, S., Senecal-Quevillon, M., Duhr, M. A., Zhang, X. X., Tardif, R. (1993). Cytogenetic effects of low-level exposure to toluene, xylene, and their mixture on human blood lymphocytes. *International archives of occupational and environmental health*. **64** : 581-585.

Rihani, L. (2014). Effet du Di-n-Butyl Phthalate (DBP) sur les paramètres hématologiques, biochimiques et les paramètres de la reproduction chez le lapin mâle *Oryctolagus Cuniculus* (Doctoral dissertation). *Université de Annaba-Badji Mokhtar*. P : 124.

Rogers, J. V., Gunasekar, P. G., Garrett, C. M., Mc Dougal, J. N. (2001). Dermal exposure to m- xylene leads to increasing oxidative species and low molecular weight dna levels in rat skin. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. **15** (4) : 228-230.

Ron, M. A. (1986). Volatile substance abuse : a review of possible long-term neurological, intellectual and psychiatric sequelae. *The British Journal of Psychiatry*. **148** (3) : 235-246.

Rosenberg, N. L., Spitz, M. C., Filley, C. M., Davis, K. A., Schaumburg, H. H. (1988). Central nervous system effects of chronic toluene abuse—clinical, brainstem evoked response and magnetic resonance imaging studies. *Neurotoxicology and teratology*. **10** (5) : 489-495.

Ross, I. A. (2005). Medicinal Plants of the World 3rd Vol : Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses. *New Jersey : Humana Press*, P : 1-27.

Ross, B., Amter, S. (2010). The pollutants : the making of our chemically altered environment. *Oxford University Press*.

Rydzynski, K., Korsak, Z., Jedlinska, U., Sokal, J. A. (1992). The toxic effects of combined exposure of toluene and m-xylene in animals. IV. Liver ultrastructure after sub chronic inhalatory exposure. *Int J Occup Med Environ Health*. **5**: 35–42.

(S)

Sahu, S. C., Lowther, D. K., Jones, S. L. (1982). Biochemical response of rat lung to inhaled n-hexane. *Toxicology Letters*. **12** (1) : 13-17.

Sanchez-Alonso, I., Jimenez-Escrig, A., Saura-Calixto, F., et Borderias, A. J. (2007). Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish : Evaluation by different methodologies *.J. FoodChem*, **101** : 372-378.

Sang, S., Lambert, J. D., Ho, C. T., Yang, C. S. (2011). The chemistry and biotransformation of tea constituents. *Pharmacological research*. **64** (2) : 87-99.

Sano, K., Ikegami, Y., Uesugi, T. (2001). Initial intraorgan formation of mercapturic acid. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. **24** (11) : 1324-1328.

Sato, A., Nakajima, T. (1978). Differences following skin or inhalation exposure in the absorption and excretion kinetics of trichloroethylene and toluene. *Occupational and Environmental Medicine*. **35** (1) : 43-49.

Satran, R., Dodson, V. N. (1963). Toluene habituation : Report of a case. *New England Journal of Medicine*. **268** (13) : 719-721.

Schweikart, J. (2011). Thevert.com. Disponibles sur : l'URL : <https://www.thevert.com>.

Selgrade, M. K., Daniels, M. J., Jaskot, R. H., Robinson, B. L., Allis, J. W. (1993). Augmentation de lamortalité et des lésions hépatiques chez les souris infectées par le virus exposées au p-xylène. *J.Toxicol Environ Santé*. **40**:129–144.

Shah, S. V., Baliga, R., Rajapurkar, M., Fonseca, V. A. (2007). Oxidants in chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology*. **18** (1) : 16-28.

Sharangi, A. B. (2009). Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.)–A review. *Food research international*. **42** (5-6) : 529-535.

Shen, C. L., Yeh, J. K., Cao, J. J., Wang, J. S. (2009). Green tea and bone metabolism. *Nutrition research*. **29** (7) : 437-456.

Shiomi, S., Kuroki, T., Kuroda, T., Ueda, T., Nishiguchi, S., Kobayashi, K., et al. (1993). Absence of hepatic uptake of Tc-99m phytate in a man with chronic toluene hepatotoxicity. *Clinical nuclear medicine*. **18** (8) : 655-656.

Sinija, V. R., Mishra, H. N. (2008). Green tea : Health benefits. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*. **17** (4) : 232-242.

Skrzydowska, E., Ostrowska, J., Farbiszewski, R., Michalak, K. (2002). Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and the brain. *Phytomedicine*. **9** (3) : 232-238.

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

Spichiger, R. E., Savolainen V., Figeat M., Jeanmonod, D. (2002) .Botanique systématique des plantes à fleurs : Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. 2e édition, *Lausanne : Presses Polytechniques et Universitaires romandes*. P : 296-297.

Stinson, S. C. (1995). Fine and Intermediate-Chemicals Makers Emphasize New Product and Processes (**73** : 10). *Chemical & Engineering News*. **73** (36) : 4-4.

Suckow, M. A., Stevens, K. A., Wilson, R. P. (Eds.). (2012). The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents. *Academic Press*. 157-735.

Suzuki. J-I., Ogawa. M., Maejima. Y., Isobe. K., Tanaka. H., Yuko. M. Sagesaka., et al. (2007). Tea catechins attenuate chronic ventricular remodeling after myocardial ischemia in rats. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. **42** : 432-440.

Svensson, B. G., Nise, G., Englander, V., Attewell, R., Skerfving, S., Möller, T. (1990). Deaths and tumours among rotogravure printers exposed to toluene. *Occupational and Environmental Medicine*. **47** (6) : 372-379.

Svensson, B. G., Nise, G., Erfurth, E. M., Olsson, H. (1992). Neuroendocrine effects in printing workers exposed to toluene. *Occupational and Environmental Medicine*. **49** (6) : 402-408.

Svensson, B. G., Nise, G., Erfurth, E. M., Nilsson, A., Skerfving, S. (1992). Hormone status in occupational toluene exposure. *American journal of industrial medicine*. **22** (1) : 99-107.

(T)

Taib, C. (2018). Neurotoxicité des nanoparticules d'oxyde de fer et l'effet protecteur de selenium chez les lapins *Oryctolagus Cuniculus*. Doctoral dissertation, *Université laarbi tebessi- tebessa*.

Tamie, N., Rui-Sheng, W. (1994). Induction of cytochrome P450 by toluene. *International journal of biochemistry*. **26** (12) : 1333-1340.

Tardif, R., Plaa, G. L., Brodeur, J. (1992). Influence of various mixtures of inhaled toluene and xylene on the biological monitoring of exposure to these solvents in rats. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. **70** (3) : 385-393.

Tardif, R., Truchon, G., Brodeur, J. (1998). Comparison of hippuric acid and o-cresol in urine and unchanged toluene in alveolar air for the biological monitoring of exposure to toluene in human volunteers. *Applied occupational and environmental hygiene*. **13** (2) : 127-132.

Tassaneeyakul, W., Birkett, D. J., Edwards, J. W., Veronese, M. E., Tukey, R. H., Miners, J. O. (1996). Human cytochrome P450 isoform specificity in the regioselective metabolism of

toluene and o-, m- and p-xylene. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **276** (1) : 101-108.

Tatrai, E., Ungvary, G., Cseh, I.R., Mányai, S., Szeberényi, S., Molnár, J., et al. (1981). L'effet de l'inhalation à long terme d'ortho-xylène sur le foie. Dans : Gut I, et al. Éditeurs. Xénobiotiques industriels et environnementaux. *Berlin : Springer-Verlag*. 293-300.

Taylor, J., Fay, M., Williams, R. L., Wilbur, S. B., McClure, P. R., Zaccaria, K., et al. (2017). Toxicological profile for toluene. *US Department of Health and Human Services. Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA, (P)*.

Tillar, R., Shafer, T. J., Woodward, J. J. (2002). Toluene inhibits voltage-sensitive calcium channels expressed in pheochromocytoma cells. *Neurochemistry international*. **41** (6) : 391-397.

Toftgard, R., Nilsen, O. G. (1981). Induction du cytochrome P-450 dans le foie de rat après inhalation de solvants organiques aromatiques. Dans : Gut I, et al. Éditeurs. Xénobiotiques industriels et environnementaux. *Berlin : Springer-Verlag*. 307-317.

Toftgard, R., Nilsen, O. G. (1982). Effets du xylène et des isomères du xylène sur le cytochrome p-450 et les activités enzymatiques in vitro dans le foie, les reins et les poumons durat. *Toxicologie*. **23** :197-212.

Trinder, P. (1969). Enzymatic methods for glucose determination. *Ann Clin Biochem*. **6** : 24-33.

Tsukahara, S., Nakajima, D., Kuroda, Y., Hojo, R., Kageyama, S., Fujimaki, H. (2009). Effects of maternal toluene exposure on testosterone levels in fetal rats. *Toxicology letters*. **185** (2) : 79-84.

Turkall, R. M., Skowronski, G. A., Abdel-Rahman, M. S. (1991). Differences in kinetics of pure and soil-adsorbed toluene in orally exposed male rats. *Archives of environmental contamination and toxicology*. **20** :155-160.

Toluene. In : Gestis-databank on hazardous substances. BGIA (<https://gestis-database.dguv.de/search>).

Toxicity summary for toluene. Toxicity profiles, Risk Assessment Information System ; 1994 (https://rais.ornl.gov/tox/profiles/toluene_c_V1.html).

Toluene - European Union Risk Assessment Report. Vol 30. European Chemical Bureau, 2003 (<https://echa.europa.eu/fr/informationon-chemicals>).

Toluene. - In : PubChem. US NLM (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

(U)

Uboh, F. E., Usuh, I. F., Nwankpa, P., Obochi, G. O. (2012). Effect of oral exposure to nitrocellulose thinner on haematological profiles of male albino wistar rats. *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology.* **2** : 227-234.

Ungváry, G. (1989). L'effet de l'exposition au xylène sur le foie. *Acta Morphol Hung.* **38** : 245-258.

Ungváry, G., Cseh, J., Mányai, S., Molnár, A., Szeberényi, S., Tátrai, E. (1979). Enzyme induction by oxylene inhalation. *Acta Med Acad Sci Hung.* **37** :115–120.

Ungvary, G., Tatrai, E. (1985). On the embryotoxic effects of benzene and its alkyl derivatives in mice, rats and rabbits. In *Receptors and Other Targets for Toxic Substances : Proceedings of the European Society of Toxicology.***8** :425-430.

(V)

Valentine, W. M., Graham, D. G., Anthony, D. C. (1993). Covalent cross-linking of erythrocyte spectrin by carbon disulfide in vivo. *Toxicology and applied pharmacology.* **121** (1) : 71-77.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology.* **39** (1) : 44-84.

Valsa, A. K., Ushaumari, B., Vijayalakshmi, N. P. (1995). Effect of catechin on lipid metabolism. *Journal of clinical biochemistry and nutrition.* **19** (3) : 175-182.

Van Den Broek, M. P. H., Groenendaal, F., Toet, M. C., Van Straaten, H. L. M., Van Hasselt, J. G. C., Huitema, A. D. R., et al. (2012). Pharmacokinetics and clinical efficacy of phenobarbital in asphyxiated newborns treated with hypothermia : a thermopharmacological approach. *Clinical pharmacokinetics.* **51** : 671-679.

Van Den Broek, M. P., Van Straaten, H. L., Huitema, A. D., Egberts, T., Toet, M. C., De Vries, L. S., et al. (2015). Anticonvulsant effectiveness and hemodynamic safety of midazolam in full-term infants treated with hypothermia. *Neonatology.* **107** (2) : 150-156.

Van Doorn, R., Leijdekkers, C. M., Bos, R. P., Brouns, R. M. E., Henderson, P. T. (1981). Alcohol and sulphate intermediates in the metabolism of toluene and xylenes to mercapturic acids. *Journal of Applied Toxicology.* **1** (4) : 236-242.

Von Euler, G. (1994). Toluene and dopaminergic transmission. In *The vulnerable brain and environmental risks.* *Plenum Press New York.* **3** : 301-321.

(W)

Wachira. F.N., Tanaka. J., Takeda. Y. (2001). Genetic variation and differentiation in tea germplasm revealed by RAPD and AFLP variation. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology.* **76** (5) : 557-563.

- Walton, F. S., Harmon, A. W., Paul, D. S., Drobná, Z., Patel, Y. M., Styblo, M. (2004).** Inhibition of insulin-dependent glucose uptake by trivalent arsenicals : possible mechanism of arsenic-induced diabetes. *Toxicology and applied pharmacology*. **198** (3) : 424-433.
- Waniusiow, D. (2009).** Effets ototoxiques du toluène et ses spécificités métaboliques (phase I et II) chez le rat et le cobaye. Doctoral dissertation, *Université Henri Poincaré-Nancy 1*.
- Win-Shwe, T. T., Fujimaki, H. (2010).** Neurotoxicity of toluene. *Toxicology letters*. **198** (2) : 93-99.
- Winneke, G. (1982).** Acute behavioral effects of exposure to some organic solvents : Psychophysiological aspects. *Acta Neurologica Scandinavica*.
- Wirth, M. D., Sevoyan, M., Hofseth, L., Shivappa, N., Hurley, T. G., Hébert, J. R. (2018).** The Dietary Inflammatory Index is associated with elevated white blood cell counts in the National Health and Nutrition Examination Survey. *Brain, behavior, and immunity*. **69** : 296-303.
- Woiwode, W., Wodarz, R., Drysch, K., Weichardt, H. (1979).** Metabolism of toluene in man : gas-chromatographic determination of o-, m-and p-cresol in urine. *Archives of Toxicology*. **43** : 93-98.
- Woiwode, W., Drysch, K. (1981).** Experimental exposure to toluene : further consideration of cresol formation in man. *Occupational and Environmental Medicine*. **38** (2) : 194-197.
- Wood, R. W., Colotla, V. A. (1990).** Biphasic changes in mouse motor activity during exposure to toluene. *Fundamental and Applied Toxicology*. **14** (1) : 6-14.
- Wood, R. W., Cox, C. (1995).** A repeated measures approach to the detection of the acute behavioral effects of toluene at low concentrations. *Fundamental and Applied Toxicology*. **25** (2) : 293-301.
- World Health Organization. (1985).** Toluene. *World Health Organization*. **52**
- World Health Organization. (1981).** Recommended health-based limits in occupational exposure to selected organic solvents : report of a WHO study group [meeting held in Geneva from 17 to 23 June 1980]. *World Health Organization*.
- Wrighton, S. A., Stevens, J. C. (1992).** The human hepatic cytochromes P450 involved in drug metabolism. *Critical reviews in toxicology*. **22** (1) : 1-21.

(X)

- Xiao, G., Pan, C., Cai, Y., Lin, H., Fu, Z. (2001).** Effect of benzene, toluene, xylene on the semen quality and the function of accessory gonad of exposed workers. *Industrial Health*. **39** : 206-210.

(Y)

Yamada, K. (1993). Influence of lacquer thinner and some organic solvents on reproductive and accessory reproductive organs in the male rat. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. **16** (4) : 425-427.

Yamamoto, T., Juneja, L. R., Kim, M. (1997). Chemistry and applications of green tea. *CRC-press*. P : 13.

Yokozawa, T., Nakagawa, T., Kitani, K. (2002). Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **50** (12) : 3549-3552.

Yoon, I. S., Lee, H. J. (2010). Effect of liver damage by combined administration of ethanol and xylene in rats. *The Journal of the Korea Contents Association*. **10** (7) : 259-267.

(Z)

Zaiter, A. (2017). Étude de la phytochimie de 12 plantes de la région Lorraine en fonction de la granulométrie de poudres super fines. *Agronomie. Université de Lorraine, Français* : 82-147.

Ziegler-Sylakakis, K., Fabri, J., Graeser, U., Simo, T. A. (2000). Toluene. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. 1-12.

Zohra, B. A. F., Merzouk, H., Bouanane, S., Benkalfat, N. B., Merzouk, S. A., Mulengi, J. K., et al. (2010). Évaluation de la toxicité aiguë de la 2-hydroxy-méthyl-1 (N-phtaloyltryptophyl) aziridine chez le rat Wistar. In *Annales de toxicologie analytique*. **22** (3) : 115-121.

Annexes

Annexe 1 : Conditions d'Abattage**➤ Annonce des animaux / déclaration sanitaire**

- Les animaux qui sont abattus dans des locaux d'abattage autorisés doivent être annoncés en vue de leur contrôle avant l'abattage et du contrôle des viandes.
- Ils doivent être par ailleurs accompagnés d'une déclaration sanitaire par laquelle le producteur atteste qu'ils n'ont pas été malades ni traités dans les 10 jours qui précèdent l'abattage.
- Le producteur atteste par ailleurs qu'ils n'ont pas reçu d'aliments contenant des principes actifs susceptibles de laisser des résidus dans la viande dans des concentrations non autorisées (Les déclarations sanitaires doivent être remises aux organes du contrôle des viandes).
- Tous les lapins transportés de leur exploitation de provenance vers un autre lieu pour y être abattus doivent être accompagnés d'une déclaration sanitaire.

➤ Contrôles des animaux vivants avant l'abattage

- Les animaux de boucherie doivent en principe être contrôlés avant l'abattage. Cependant, lorsque les abattages sont occasionnels, les contrôles ne se font que par sondage (concertation avec les organes du contrôle des viandes). Le contrôle des lapins domestiques peut être effectué par un vétérinaire officiel dans le troupeau de provenance.

➤ Protection des animaux

- Si la personne responsable de la réception des animaux constate qu'ils n'ont pas été bien soignés (mauvaise alimentation, saleté, longues griffes), ou que les caisses sont trop exigües / insuffisamment aérées (l'organisation « Rassenkaninchen Schweiz » recommande pour les ouvertures d'aération une surface totale équivalente à 1/3 de la surface du sol), et que par conséquent une infraction à la législation sur la protection des animaux a été commise, elle doit informer l'autorité cantonale
- (Les animaux achetés sont soumis aux mêmes dispositions que dans les abattoirs autorisés).

➤ Abattage

- Age minimum d'abattage : 100 jours.
- La distance et le temps de transport sont limités au maximum.
- Le choix de l'éleveur se porte sur les abattoirs les plus proches et le transport s'effectue sans halte.
- L'abattage doit avoir lieu dans la journée de l'enlèvement sur l'exploitation.