

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA
TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2020

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

M^{lle}. AOUN Lilia & M^{lle}. HAMZA Imane

Thème

**Etude de l'effet du thé vert sur le stress oxydatif
induit par le thiabendazole chez le rat de laboratoire
Rattus norvegicus. Dosage de MDA plasmatique.**

Soutenu le: 15 /07/2021.

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
Mr. LEKBAL Farouk	MAA	Univ. de Bouira	Président
Mr. HAMDIS Nacim	MAA	Univ. de Bouira	Promoteur
Mr. NOURI Allaoua	MAA	Univ. de Bouira	Examineur

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

Nous tenons à remercier Allah qui nous a donné la force, la santé et la volonté de mener à bien ce travail.

*Nous tenons à remercier notre encadreur Monsieur **Hamdis Nacim** pour ces précieux conseils, sa disponibilité, la confiance qu'il nous a toujours témoigné et la sollicitude prodiguée à notre rencontre, et ce tout au long de l'élaboration du présent travail.*

*Nous remercions également les membres du jury Monsieur **Lekbal Farouk** et Monsieur **Nouri Allaoua** pour avoir accepté d'évaluer notre travail de recherche.*

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et nous ont jamais oublié dans leurs prières.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Dédicace

♥ *Tout d'abord la grande dédicace à ma cher maman **Nadia** . Toutes les paroles du monde ne peuvent pas exprimer l'immense amour que j'ai pour vous, et je ne peux pas non plus vous remercier profondément pour tous les efforts, votre énorme sacrifice à m'offrir le repos et le bonheur, pour mon éducation que vous m'avez inculquée, pour votre entier engagement à être mes cotés à chaque fois que j'ai besoin d'un soutien moral et matériel.*

Très cher maman je ne vous remercierai jamais assez pour vos actes J'espère que les espoirs que vous avez placés en moi ont été exaucés

♥ *A ma colonne mon père **Yucef**
Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime le dévouement et le Respect que j'ai toujours eu pour vous
Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être*

♥ *A mon cher frère **Ziad** je suis très fier de toi.*

♥ *A mes chères amies : **Ourida, Amira ,Imen, Khadidja et Radhia***

♥ *A chaque personne que je connais et qui me connaît de près ou de loin.*

Lilia Aoun

Dédicace

♥ *Je dédie ce mémoire*

A mes chers parents ma mère et mon père pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement.

♥ *A ma sœur*

♥ *A ma famille.*

♥ *A mes amies et mes camarades*

♥ *Sans oublier tout les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.*

Hamza Imène.

Liste des figures

Numero	Titre	page
Figure 1	La plante <i>camellia sinensis</i>	4
Figure 2	Les étapes de la préparation du thé vert	5
Figure 3	Classification des polyphénols	7
Figure 4	La structure de base des flavonoïdes	8
Figure 5	Structure de base des catéchines	9
Figure 6	Structure des flavonols	9
Figure 7	Structures des bases puriques de thé	10
Figure 8	Piégeage des ERO (R [•]) par transfert d'un hydrogène (exemple de flavonoïdes, Fl) ou par transfert d'un électron (a) et les sites de chélation des ions métalliques (Men ⁺) par les composés phénoliques (Ph) (b)	13
Figure 9	La structure chimique du thiabendazole	17
Figure 10	Le métabolisme du thiabendazole	22
Figure 11	Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant	27
Figure 12	L'origine des radicaux libres	29
Figure 13	Origines endogènes des ERO	30
Figure 14	Mécanisme de génération des ERO par la XO dans les tissus lors du processus d'ischémie	31
Figure 15	La NADPH oxydase (Nox-2) des phagocytes	31
Figure16	Synthèse des ERO par la chaine respiratoire mitochondriale	32
Figure17	Conséquences de stresse oxydative	35
Figure18	L'activité de balayage radical de SOD, CAT et GPx	38
Figure19	rat de laboratoire (<i>Rattus norvegicus</i>)	42
Figure20	Les étapes d'extraction de <i>camellia senensis</i> par infusion	43

Liste des figures

Figure20	Evaluation du MDA chez les <i>Rattus norvegicus</i> témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT).	47
Figure21	Le mécanisme de la quantification de la réaction de TBARS	45

Liste des tableaux

	Titre	Page
Tableau 1	Classification systématique de la plante <i>Camellia sinensis</i>	2
Tableau 2	Composition chimique des feuilles de thé fraîches	6
Tableau 3	Identification du thiabendazole	17
Tableau 4	Propriétés physicochimiques du thiabendazole	18
Tableau 5	les principales espèces réactives	27
Tableau 6	Classification systématique du rat <i>Rattus norvegicus</i>	41
Tableau 7	les valeurs moyennes du MDA plasmatique chez les <i>Rats</i> wistartémoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)	47

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique.

ATP : adénosine tri-phosphate.

CAT : catalase.

CYP1A2 : Le cytochrome P450 1A2.

DCI : Dénomination commune internationale.

EPA : Environmental Protection Agency.

ERN : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

FSH : Follicule Stimulating Hormone.

GSH : S-glutathiolation.

GST : glutathion S-transférase.

GPX : glutathion peroxydase.

H:heurs.

HAT: H-atom transfer.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HOCL: l'acide hypochloreux.

LH : L'hormone lutéinisante.

Log KOW : est une mesure de la solubilité différentielle de composés chimiques dans deux solvants (coefficient de partage).

Liste des abréviations

1O₂: l'oxygène singulet.

MDA : Malondialdéhyde.

NADPH: Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

NOEL : La dose sans effet observable.

NO°: monoxyde d'azote.

ONOO⁻: peroxydinitrite.

OH°: radical hydroxyle.

O₂^{°-} : radical anion superoxyde.

5-OHTBZ: 5-hydroxythiabendazole.

POD: La peroxydase.

PPO: Polyphénol oxydase.

PUFA : lipides gras polyinsaturés (polyunsaturated fatty acids).

RED : La décision d'éligibilité de réenregistrement.

RNS : Reactive nitrogen species.

ROS : Reactive oxygen species.

SOD : Superoxyde dismutase.

TBZ: Thiabendazole.

UV : ultra violet.

Sommaire

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Le thé vert	
I.1. Thé vert (<i>Camellia sinensis</i>).....	2
I.2. Classification systématique.....	2
I.3 Description botaniques	3
I. 3.1. La plante.....	3
I.3.2. Les feuilles.....	4
I.4. La fabrication du thé.....	4-5
I. 5.Composition chimique.....	5-6
I. 5.1.Les composés polyphénols.....	7
I.5.1.1.Flavonoïdes	8
I.5.1.2. Les flavanols.....	8-9
I.5.1.3. Les flavonols.....	9
I. 5.1.4.Les acides phénoliques.....	10
I.5.1.5.Tanins.....	10
I.5.1.6. Les bases puriques.....	10
I.5.1.7.Acides aminés.....	10-11
I.5.1.8. Les vitamines et minéraux.....	11
I.6. Utilisation thérapeutique de thé vert.....	11
I.6.1. Agit comme un antioxydant	11-12
I.6.2. L'activité antibactérienne, antifongique et antivirale.....	13
I.6.3. Polyphénols et maladies cardiovasculaires.....	13
I.6.4. Activité anticancéreuse	14

I. 7.Toxicité.....	14-15
Chapitre II : Le thiabendazole	
II.1. Généralités sur les pesticides	16
II.2.Le thiabendazole	16
II. 2.1.Histoire	16
II.2.2. La définition	16-17
II. 2.3.Identification du thiabendazole	17
II. 2.4.Propriétés physico-chimiques du thiabendazole	18
II.2.5. Usage du thiabendazole	19
II. 2.5.1.Activité antihelminthique	20
II. 2.5.2.Activité anti-cancérogène	20-21
II. 2.6.Le mode d'action du Thiabendazole.....	21
II. 2.7.Le métabolisme	21
II. 2.8.La toxicité du Thiabendazole	23
II. 2.8.1.Toxicité chronique	23-24
II. 2.8.2.Toxicité aigüe	24-25
II.2.8.3.Toxicité subaigüe	25
Chapitre III : Le stress oxydatif	
III. stress oxydatif.....	26
III.1. La définition de stress oxydatif	26
III.2.Les espèces réactives de l'oxygène.....	26
III.3. Le mécanisme de production des ERO.....	28
III. 3.2.L'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$	28
III. 3.3.Peroxyde d'hydrogène H_2O_2	28
III. 3.4.Le radical hydroxyle.....	28
III.3.4.L'oxygène singulet 1O_2	28-29
III.4.Origines des espèces réactives de l'oxygène.....	29

III.4.1.Sources endogène.....	29
III.4.1.1.Sources enzymatiques.....	30
III.4.1.1.1. Xanthine oxydase.....	30
III.4.1.1.2. NADPH oxydase.....	31
III.4.1.2. Sources non enzymatiques.....	32
III.4.1.2.1 Mitochondrie	32
III.4.1.2.2. Peroxysome.....	32-33
III.4.1.2.3. Réticulum endoplasmique.....	33
III.4.2. Les sources exogènes.....	33
III.4.2.1. Les rayonnement UV.....	33
III.4.2.2. Le monoxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO2).....	33
III.4.2.3. L'alimentation.....	33
III.4.2.4. Les médicaments.....	34
III.5. Rôles physiologiques des espèces réactives de l'oxygène.....	34
III.6. Rôles pathologiques des espèces réactives de l'oxygène.....	34
III.7. Dommages biologiques causés par le stress oxydatif	34
III.7.1.Les dommages d'ADN.....	35
III.7.2.Oxydation des proteïns.....	35-36
III.7.3. Peroxydation lipidique.....	36
III.8. Les antioxydants et système de défense.....	36
III.8.1.Définition.....	36
III.8.2.Systèmes de défense enzymatique	36
III.8.2.1. Super oxyde dismutase (SOD).....	36-37
III.8.2.2. La catalase.....	37
III.8.2.3. Les glutathion peroxydases et réductases.....	37-38
III.8.3.Système de défense non enzymatique	38
II.8.3.1. Glutathion	38

III.8.3.2. Oligoéléments.....	39
III.8.3.3. Vitamine C.....	39
III.8.3.4. Vitamine E.....	39
III.8.3.5. Les caroténoïdes.....	39
III.8.3.6. Les polyphénols.....	40
III.9. Le malondialdéhyde plasmatique.....	40
DEUXIÈME PARTIE : Partie pratique	
I. Matériels et méthodes biologiques.....	41
I.1. Matériels biologiques.....	42
I.1.1. Classification systématique du rat <i>Rattus norvegicus</i>	42
I.1.2. Conditions d'élevage.....	43
I.2. Extrait de thé vert.....	44-45
I.3. Le protocole expérimental.....	43
I.4. Dosage de la Malondialdéhyde plasmatique (MDA) plasmatique.....	44
I.4.1. Méthode de dosage des Malondialdéhyde (MDA) plasmatique.....	44
I.4.2. principe de dosage de MDA plasmatique.....	44
I.4.3. Protocole d'évaluation de MDA plasmatique.....	45
I.4.3.1. Réactif.....	45
I.4.3.2. Mode opératoire.....	45
I.4.4. La concentration de MDA plasmatique.....	46
I.5. Résultat.....	47
I.6. Discussion.....	48
Conclusion	51
Référence bibliographique	52
Résumé et mots clés	

Introduction



Introduction

Le thiabendazole (TBZ) est un antihelminthique à large spectre, utilisé pour le traitement des infections parasitaires chez les animaux et les humains et comme fongicide agricole pour le traitement post-récolte des fruits et légumes. Cette molécule est responsable d'une toxicité et de lésions hépatiques et rénales (**Keeffe, 2005**) par l'induction d'un stress oxydatif en générant des radicaux libres et une diminution des enzymes anti oxydantes (**Mizutani, 1990**).

Le stress oxydatif est le résultat de déséquilibre entre les oxydants (ERO), et les antioxydants. Ces derniers peuvent être la superoxydedismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx), le glutathion réduit (GSH), et la catalase (CAT) qui bloquent le développement de plusieurs processus pathologiques comme la cancérogenèse (**Badraoui et al., 2007**), en piégeant les ERO.

L'alimentation joue un rôle très important dans l'apport en antioxydants exogènes qui vont venir soutenir l'effet des antioxydants endogènes. En effet, les antioxydants sont principalement apportés par les végétaux. (**Guillouty, 2016**). La plupart des plantes contiennent des molécules antioxydantes naturellement présentes dans les cellules, qui inhibent et neutralisent les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène (**Panda, 2012**).

Le thé est la deuxième boisson la plus consommée sur terre après l'eau. Les effets médicaux du thé ont une histoire qui remonte à près de 5000 ans. Les composants chimiques du thé vert comprennent principalement des polyphénols, de la caféine et des acides aminés qui présentent des propriétés antioxydantes piégeant des radicaux libres (**Sharangi, 2009 ;Crespy et Gary,2004**).

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet toxique induit par le thiabendazole en générant le stress oxydatif d'une part et d'autre part identifier les effets protecteurs du thé vert contre la toxicité du thiabendazole chez le rat de laboratoire *Rattus norvegicus*.

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Thé vert

I.1. Le thé vert

Le thé est le deuxième liquide le plus consommé au monde après l'eau. Il est obtenu à partir de théier *Camellia sinensis* appartient à la famille des Théacées (Namita *et al.*, 2012). C'est une source riche en molécules pharmacologiquement actives qui sont les polyphénols. Il existe de nombreuses preuves issues de cultures cellulaires et d'études animales que les polyphénols du thé ont des effets bénéfiques contre plusieurs maladies pathologiques, notamment le cancer, le diabète et les maladies cardiovasculaires (Khan et Mukhtar, 2019).

I.2. Classification systématique

Tableau 1: Classification systématique de la plante *Camellia sinensis* (Namita *et al.*,2012).

Règne	Plantae
Sous-Règne	Viridiplantae
Super-Division	Embryophyta
Division	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Super-Ordre	Asteranae
Ordre	Ericales
Famille	Theaceae
Genre	<i>Camellia</i>
Espèce	<i>Camellia sinensis</i> (L.) O. Kuntze

Le thé vert, *Camellia Sinensis* fait partie de la famille des Theaceae. Les botanistes identifient le théier comme un camélia d'une espèce particulière : *Camellia sinensis* (L.) O Kuntze signifiant Camellia chinois. Il existe trois variétés de *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze var. *sinensis* (thé de Chine, à petites feuilles, présent à Java, au Japon et au Tibet) var.

assamica (thé à grandes feuilles, originaire de l'Etat de l'Assam, en Inde mais aussi Pakistan, Sri Lanka, et Afrique) et var.cambodiensis (originaire du Cambodge) (Namita *et al*, 2012).

I.3.Description botanique

I.3.1. La plante

Le théier est un arbre de 5 à 15 mètres à l'état naturel, et d'environ 1,50 mètre lorsqu'il est cultivé (Fillon, 2014). Il est composé des fleurs parfumées, de 2,5 à 4cm de diamètre. Elles sont trouvées en solitaire ou en grappes de deux ou quatre (Mahmood *et al.*, 2010), composées de cinq pétales qui sont indépendants entre eux, bisexuées, et actinomorphe (l'arrangement des pièces florales est symétrique par rapport à l'axe de la fleur) (Kriepps *et al*., 2009).

Le calice est formé de cinq sépales (Kriepps *et al.*, 2009), qui sont libres ou légèrement soudés à la base (Fillon, 2014), est également spiralé (Kriepps *et al.*, 2009).

Les pétales sont de couleur blanche, légèrement soudés à la base et forment une corolle spiralée (Kriepps *et al.*, 2009).

L'androcée polyadelphie est composé de nombreuses étamines jaunes (jusqu'à 200) qui sont soudées en faisceaux à leur base (Kriepps *et al.*, 2009).

Le gynécée est composé de trois carpelles uniloculés, chaque loge contient quelques ovules qui sont bitégumentés et anatropes (ovule retourné tel que son ouverture ou micropyle se rapproche du funicule, tige reliant la graine au placenta) (Kriepps *et al.*, 2009).

L'ovaire de cette plante est supère (les pièces florales sont insérées en-dessous de l'ovaire) (Kriepps *et al.*, 2009).

Le fruit est une capsule à déhiscence loculicide ne contenant que peu de graines (Kriepps *et al.*, 2009).



Figure 1 : La plante *camellia sinensis* (Ashida *et al.*, 2004).

I.3.2. Les feuilles

Les feuilles sont rigides, mates, et persistantes (Lassed et Zama, 2017) qui peuvent atteindre une longueur de 5 à 14 cm et une largeur de 1,9 à 5 cm (Kriepps *et al.*, 2009).

Elles sont isolées, coriaces, alternes, à pétiole court, lancéolées, et à bord très dentelé (Kriepps *et al.*, 2009).

Elles sont de couleur vert vif, lisse et coriace lorsqu'elles sont matures, et sont pubescentes lorsqu'elles sont jeunes (Mahmood *et al.*, 2010).

Les dents sont sous forme de griffes, se terminant par des hydatodes. Ces derniers sont composés d'un stomate aquifère, associé à une chambre sous-stomatique remplie de cellules parenchymateuses gorgées d'eau ou épithème, accueillant les extrémités terminales des nervures de la feuilles (Kriepps *et al.*, 2009).

Le parenchyme des feuilles est pourvu de nombreuses sclérites (Kriepps *et al.*, 2009).

I.4. La fabrication du thé

La première étape de fabrication de thé vert est la torréfaction qui consiste à chauffer les feuilles pendant 30s à 5 minutes 100 °C en atmosphère humide pour inhiber les enzymes responsables de l'oxydation (Delmas et Minet, 2007). Ensuite, l'étape suivante est le roulage pour donner une forme bâtonnet aux feuilles. Puis, on fait une dessiccation qui consiste à sécher les feuilles avec de l'air chaud durant 2 à 3 minutes (figure 2) (Mossio, 2007).

Les feuilles sont ensuite tamisées et regroupées en trois catégories : feuilles entières, brisées ou broyées (Mossio, 2007).

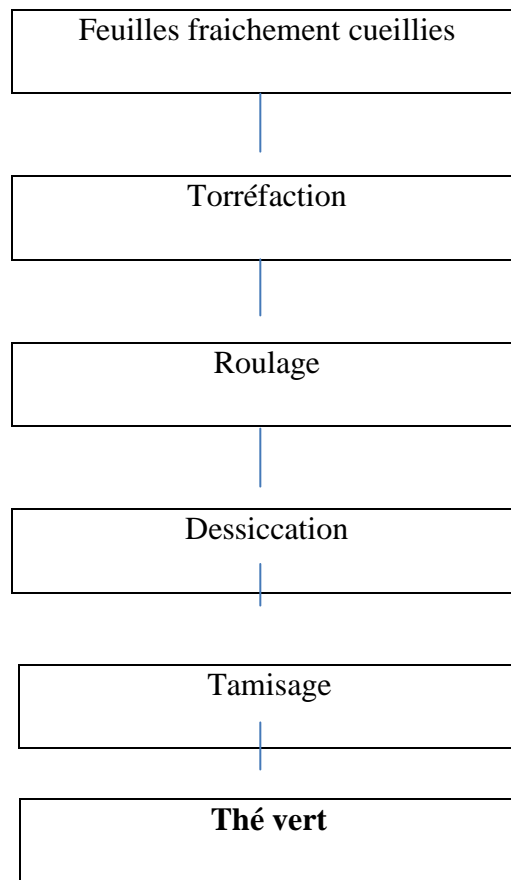


Figure 2: Les étapes de la préparation du thé vert (Mossio, 2007).

I.5. Composition chimique de thé vert

Il est très intéressant de connaître quels sont les composants organiques et minéraux de thé vert, car mille vertus sont attribuées à la consommation de cette plante (Krieps *et al.*, 2009). Les feuilles de thé sont constituées de plusieurs molécules (près de 4000 molécules) et sont particulièrement riche en polyphénols (Tsao, 2010).

Contrairement aux autres types de thé, la composition chimique de thé vert est similaire à celle des feuilles fraîches de la plante (Lassed et Zama, 2017). Ces dernières contiennent en générale 36% de composés polyphénoliques, 25% de glucides, 15% de protéines, 6,5% de lignines, 4% d'acides aminés, 2% de lipides, 3% des éléments minéraux, 1,5 d'acides organique, 0,5 de chlorophylles et de caroténoïdes, et en fin moins de 0,1% de substances volatiles (tableau 2) (Luczaj et Skrzydlewska, 2005).

En effet, la composition chimique varie selon le climat, la saison, l'âge des feuilles. Durant la fabrication du thé vert, les feuilles sont chauffées afin d'inactiver les enzymes responsables de l'oxydation des polyphénols et séchées pour garder leurs composants (**Lassed et Zama, 2017**).

Tableau 2 : Composition chimique des feuilles de thé fraîches (**Kriepps et al., 2009**).

Composés	Pourcentages de la matière sèche
Polyphénols	20% à 30%
Flavonols	25%
Acides phénols	3%
Bases puriques	
Caféine	2 à 4% ou plus
Théophylline	0,02 à 0,04%
Théobromine	0,15 à 0,2%
Glucides	25%
Protéines	15%
Acides aminés	3 à 4%
Lipides	2 à 3%
Minéraux	3 à 5%
Celluloses	7%
Caroténoïdes	<0,1%
Chlorophylle	0,5%
Composés volatils	0,01 à 0,02%
Cendres	5%

I.5.1. Les composés polyphénoliques

Les polyphénols sont considérés comme les composés les plus abondants et les plus bénéfiques de thé vert, ils sont présents en grande proportion dans les bourgeons et en faible quantité dans la tige (Krieps *et al.*, 2009). Ces derniers sont définis comme des molécules qui appartiennent à un groupe chimique très vaste qui est un ensemble de dérivés non azoté contenant au moins un cycle aromatique substitué par un groupement hydroxyle (libre ou lié avec une autre fonction) (Fillon, 2014).

Les polyphénols constituent une famille importante d'antioxydants qui est très répandue dans le monde des végétaux, leur activité antioxydante est principalement attribuable à leurs propriétés redox, qui leur permettent d'agir comme agents réducteurs (Gülçin *et al.*, 2010).

Trois familles de polyphénols sont retrouvées en quantité notable dans la feuille de thé : les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins (figure 3) (Fillon, 2014).

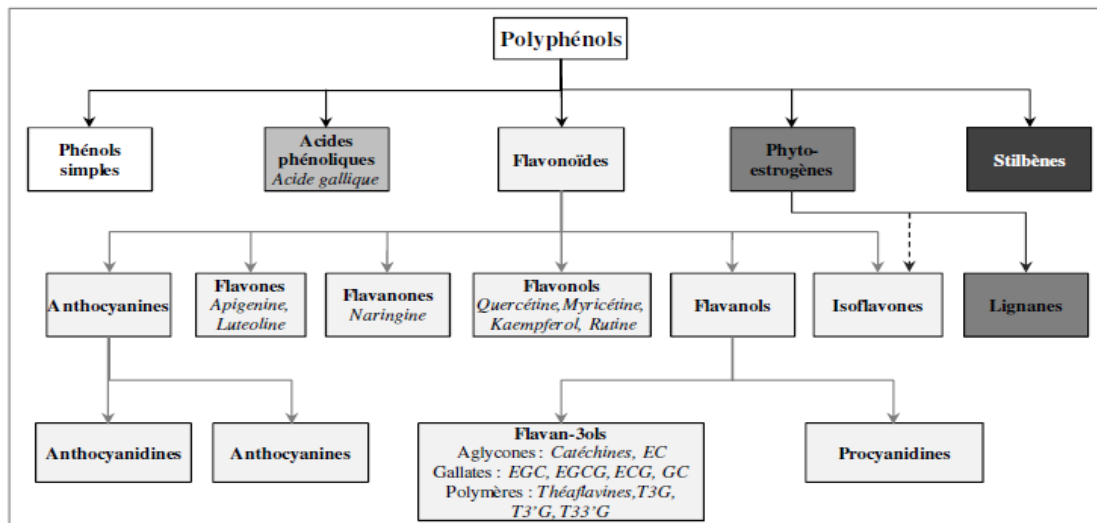


Figure 3 : Classification des polyphénols (Fillon, 2014).

EC: Epicatéchine; EGC: Epicatéchine gallate; EGCG: Epigallocatechine gallate; ECG: Epicatéchine gallate; GC: Gallocatechine; T3G: Théaflavine-3-gallate; T3'G: Théaflavine-3'-gallate; T33'G: Théaflavine-33'-gallate.

I.5.1.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments hydrosolubles retrouvés dans l'épiderme des feuilles et des fleurs des végétaux, ils ont un rôle de protection des feuilles et de coloration des fruits (Fillon, 2014).

Leur structure est dérivée d'un squelette de base le 2-phénylbenopyrane, composé de deux cycle aromatique, ainsi que d'un noyau pyrane (figure 04). Le degré d'oxydation du cycle pyrane varie en fonction des sous familles. Seulement deux sont présentes dans la feuille de thé vert : les flavanols et les flavonols (Kriepps *et al.*, 2009).

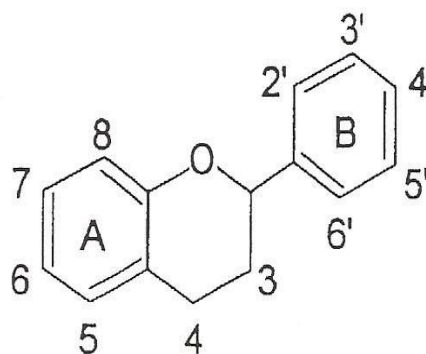


Figure 4 : La structure de base des flavonoïdes (Kriepps *et al.*, 2009).

I.5.1.2. Les flavanols (flavan-3-ol)

Celles-ci sont appelées les catéchines de thé. Ce sont des composés incolores et solubles dans l'eau, responsables de l'astringence et de l'amertume de thé (Mahmood *et al.*, 2010). Différentes substitutions sur le squelette de base sont à l'origine des quatre principales épicatechines: l'épicatechine (EC), l'épicatechine gallate (ECG), l'EGCG et l'épigallocatechine (EGC) (Lassed et Zama, 2017).

La structure des catéchines, ou flavan-3-ols, est caractérisée par la substitution du 2-phénylchromane par cinq groupements hydroxyle en position 3 α , 5, 7, 3' et 4' (figure 05).

- ❖ La modification de la conformation 3 α en 3 β donne des épicatechines.
- ❖ L'ajout d'un hydroxyle en position 5' permet de former des galloécatechines.
- ❖ L'estérification de l'hydroxyle en 3 par l'acide gallique crée des gallates de catéchine (Fillon, 2014).

Grace aux groupements hydroxyle, les flavan-3-ols ont la capacité de piéger les espèces oxygénées réactives (ROS) et les radicaux libres par des réactions d'oxydoréduction. Cette activité est due au groupement ortho-dihydroxycatéchol en permettant la formation d'un radical phénoxy stable grâce à une délocalisation électronique efficace (Fillon, 2014).

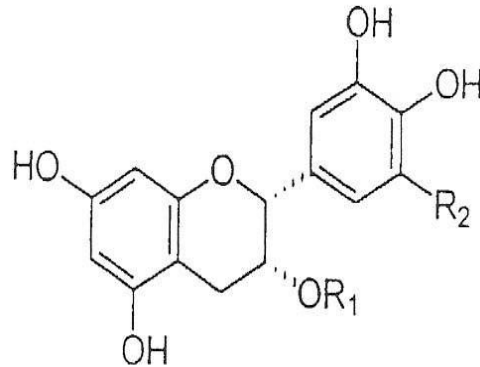


Figure 5 : Structure de base des catéchines (Krieps *et al.*, 2009).

I.5.1.3. Les flavonols

Les flavonols ne représentent que 3% des composants de la feuille de thé, ils sont principalement sous forme glucosidique car les formes non glucosidiques sont insolubles dans l'eau (Mahmood *et al.*, 2010). Il existe 03 flavonols dans le thé: le kaempférol, la quercétine, la myricétine. Ils ont une structure proche de celle des catéchines, caractérisée par :

- Une cétone en position 4, donnant la 2-phénylchromone.
- Une double liaison en C2-C3.
- La substitution de la 2-phénylchromone par quatre groupements hydroxyle en position 3, 5, 7 et 4.
- Une possible glycosylation du cycle pyrane en 3, augmentant l'hydrosolubilité (Fillon, 2014)

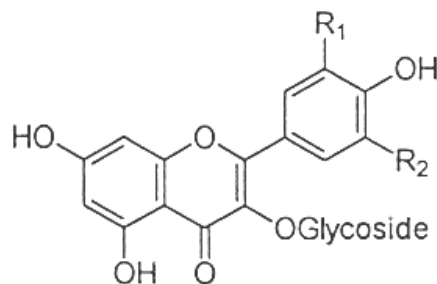


Figure 6: Structure des flavonols (Krieps *et al.*, 2009).

I.5.1.4 Les acides phénoliques

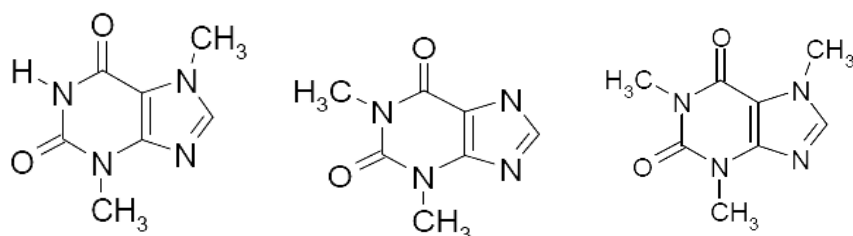
L'acide gallique et son ester d'acide quinique (la théogalline) sont les principaux acides phénoliques trouvés dans le thé. Il existe également : l'acide chlorogénique, l'acide 4-coumarylquinique, l'acide cinnamique et caféoylquinique . Ils sont composés d'un hydroxyle phénolique et d'une fonction carboxylique (**Fillon, 2014**).

I.5.1.5. Les tanins

C'est une famille chimique qui regroupe certains polyphénols qui ont la propriété de secondenser avec un sucre ou une autre molécule à fort poids moléculaire. Ces derniers (thèse thé vert les composés). Deux types de tanins peuvent être distingués selon leur structure : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Fillon, 2014**).

I.5.2. Les bases puriques

Sont des structures bi-cycliques azotées, constituées d'une pyrimidine associée à un cycle amidazole (figure 07). Leur classification comme des alcaloïdes est due à leurs propriétés pharmacologiques (actions sur les systèmes nerveux et cardiovasculaire) : il s'agit de la caféine, de la théobromine et de la théophylline (**Fillon, 2014**).



Theobromine

Theophylline

Caféine

Figure 7 : Structures des bases puriques de thé (Fillon, 2014).

I.5.3. Les acides aminés

Le thé vert est caractérisé par la présence de la theanine qui caractérise la saveur de thé et module les effets stimulants de la caféine (**Lassed et Zama, 2017**). Parmi les autres acides aminés isolés on peut citer : l'acide γ -aminobutyrique, l'acide aspartique, la sérine, l'asparagine, l'arginine, l'acide glutamique, la lysine, l'histidine, la leucine, la valine, la

glutamine, la cytidine, la thréonine, l'alanine, le tryptophane, l'isoleucine, la phénylalanine, des traces de proline et de glycine (**Banerjee et chaudhuri, 2005**).

I.5.4. Les vitamines et minéraux

Le thé est une source riche en potassium, fluor, aluminium, et aussi il contient en faible quantité : le calcium, le magnésium, le fer (**McKenna et al., 2012**).

Les feuilles de thé est aussi une source importante des vitamines, la vitamine A est présente en grande quantité et aussi les vitamines E et C, ainsi que plusieurs vitamines du groupe B comme la thiamine (B1), la riboflavine (B2), la niacine (B3), l'acide pantothénique (B5), l'inositol (B7), la biotine (B8) ou encore l'acide folique (B9) (**Fillon, 2014**).

I.6. Utilisation thérapeutique de thé vert

En raison des effets préventifs contre certaines maladies humaines, la consommation de thé est plus élevée ces dernières années. Les polyphénols de thé ont un rôle prouvé dans un certain nombre de maladies (**Mahmood et al., 2010**).

I.6.1. Agit comme un antioxydant

Les composés phénoliques de thé vert et plus particulièrement les flavonoïdes sont très connus par leur propriété antioxydante qui est fréquemment cité comme la propriété clé de la prévention et/ou la réduction du stress oxydatif (**Na et Surh, 2008**). Ces derniers peuvent neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui ont un rôle d'oxyder des macromolécules, protéines, les acides nucléiques, lipides, lipoprotéines, et d'endommager l'ADN (**Cruz-Correa, 2006**).

En effet, l'activité antioxydante des composés phénoliques peut s'effectuer par plusieurs mécanismes

- ❖ Ils peuvent piéger directement les radicaux libres selon deux mécanismes principaux : le premier est basé sur le transfert d'hydrogène à un radical libre. Grace à ce mécanisme, un radical aryloxy (ph-o) est formé (**Siddiqui et al., 2011**). Ce dernier peut réagir avec un autre ERO pour former une structure quinone stable (**Sandoval-Acuña et al., 2014**). Le deuxième mécanisme est basé

sur le transfert d'un seul électron d'un composé phénolique à un radical libre avec formation d'un cation radicalaire stable (**Quideau *et al.*, 2011**).

- ❖ Chélater et/ou réduire les ions métalliques comme le cuivre et le fer qui sont responsable de la production des ERO (réaction de Fenton) (**Craft *et al.*, 2012**). Le succès de ce processus dépend du pH du milieu et du nombre de groupes hydroxyle (**Olszowy, 2019**). Le site de liaison proposé pour les ions métalliques aux flavonoïdes est le fragment 3', 4'-di OH dans le cycle B. Et aussi, les groupes OH en C-3 et C-5 et le groupe 4-carbonyle contribuent également à la chélation des ions métalliques (**Belščak-Cvitanović *et al.*, 2018**).
- ❖ Ils jouent également un rôle important dans le processus d'inhibition des enzymes génératrices des ERO. Certains flavonoïdes comme par exemple, l'apigénine, la lutéoline et le kaempférol peuvent agir comme des inhibiteurs compétitifs de la xanthine oxydase qui est impliqué dans la lésion oxydative des tissus en empêchant la fixation de son substrat spécifique qui est la xanthine. D'autres flavonoïdes comme l'épicatéchine ont un pouvoir d'inhiber l'activité du NADPH oxydase en inhibant l'expression de ses différentes sous-unités. Il existe aussi la monoamine oxydase (liée aux mitochondries) qui est une autre enzyme productrice des ERO et qui est sensible à l'action inhibitrice de certains polyphénols comme par exemple la cyanidine (**Sandoval-Acuña *et al.*, 2014**).
- ❖ Ils peuvent stimuler des enzymes antioxydantes comme la catalase et la superoxydedismutase (**Kumar et Pandey, 2013**).

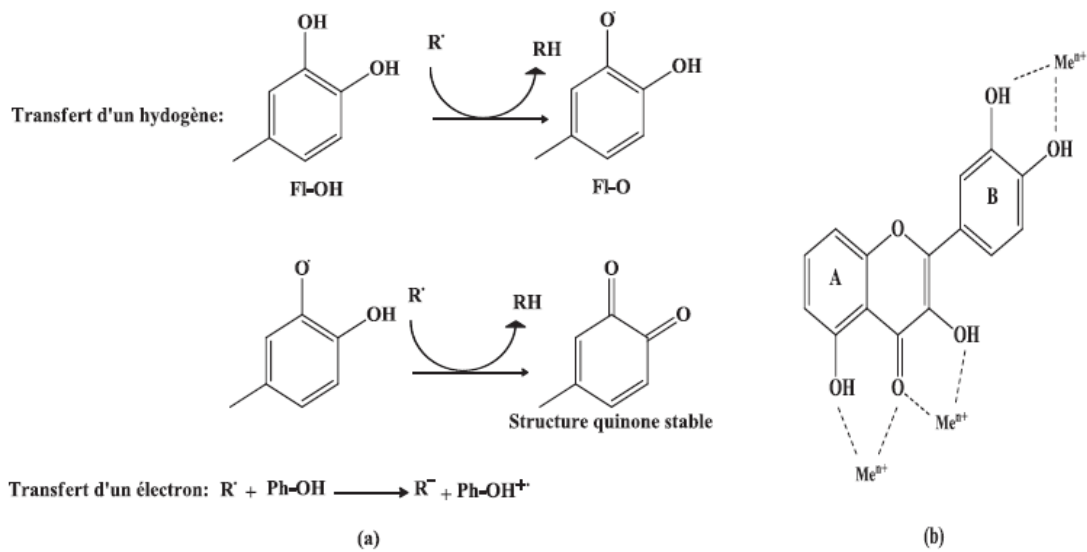


Figure 8 : Piégeage des ERO (R^\cdot) par transfert d'un hydrogène (exemple de flavonoïdes, Fl) ou par transfert d'un électron (a) et les sites de chélation des ions métalliques (Me^{n+}) par les composés phénoliques (Ph) (b)(Lassed et Zama, 2017).

I.6.2. L'activité antibactérienne, antifongique et antivirale

Les polyphénols du thé présentent une activité antibactérienne, leur mode d'action est peut être lié à leur capacité de former des complexes avec des protéines par des forces non spécifiques. Il a été montré que les polyphénols peuvent réduire la résistance à la chaleur des spores de *Bacillus stearotherophilus* et de *Clostridium thermoaceticum* (Khan et Mukhtar, 2019). Les catéchines peuvent inhiber le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). En plus, ils ont présentés un effet synergique avec les antibiotiques (Mahmood *et al.*, 2010).

I.6.3. Polyphénols et maladies cardiovasculaires

Grace aux polyphénols, le thé possède un effet protecteur dans les maladies cardiovasculaires. Ces composés sont capables d'abaisser la pression artérielle, d'empêcher l'oxydation des lipoprotéines à basse densité (LDL) (Arts et Hollman, 2005). Leurs propriétés sont liés à la modulation de l'activité de nombreuses protéines intracellulaires (les protéines kinases, les phospholipases, l'adénylate cyclase, les ATPases, les cyclo-oxygénases (COX) et le cytochrome P450) (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

I.6.4. Activité anticancéreuse

Le cancer est une maladie associée à une prolifération cellulaire incontrôlée. Au cours des dernières années, des études ont montré que la consommation des polyphénols à une relation inverse avec la progression de plusieurs types de cancer. Ils peuvent exercer les effets anticancéreux via plusieurs mécanismes (**Abbas *et al.*, 2017**):

- ❖ L'élimination des agents cancérigènes.
- ❖ La modulation de la signalisation des cellules cancéreuses.
- ❖ La progression du cycle cellulaire.
- ❖ La promotion de l'apoptose et la modulation des activités enzymatiques.

I.7. La toxicité

Malgré que le thé vert possède des effets positifs sur la santé à un certain dosage, des doses plus élevées peuvent entraîner des effets indésirables inattendus (**Yoshida *et al.*, 2011**).

L'épigallocatechine gallate d'extrait du thé vert peut devenir cytotoxique, et la consommation élevée de ce dernier peut devenir toxique dans les cellules de foie. Une étude a montré que qu'une grande consommation de thé vert peut causer des dommages oxydatifs sur l'ADN du pancréas et du foie de hamster (**chandra *et al.*, 2010**).

Des études montrent sur des cultures d'hépatocytes de rat, qu'une concentration de l'ordre de 500 µg/ml de l'EGCG contribue à une hépatotoxicité qui résulte d'une atteinte mitochondriale avec phénomène de gonflement, infiltration leucocytaire, et présence de gouttelettes lipidiques. Une mort cellulaire s'ensuit, accompagnée de production de formes réactives de l'oxygène et d'une déplétion de glutathion (GSH) (**El Daly, 2011**).

Chez la souris, il a été rapporté que l'alanine aminotransférase augmentait significativement lorsqu'une dose unique de 1500 mg/kg ou deux doses de 750 mg/kg (**Lambert *et al.*, 2010**). Chez le chien, les changements cinétiques précédemment rapportés après la prise d'extrait de thé vert à jeun se traduisent par une élévation des biomarqueurs (aspartateaminotransférase (ASAT, ALAT, BIL totale) et la nécrose des cellules hépatiques sont très importantes (**Chan *et al.*, 2010**).

De toutes ces études, chez l'animal, des NOAEL très différentes vont de 45 mg/kg/j à 1250 mg/kg/jour chez le rat, jusqu'à ce que la NOAEL soit absente chez la souris et le chien à jeun. L'Efsa est basée sur une NOAEL de 50 mg/kg/j et une DJA de 0,5 mg/kg/j d'EGCG en appliquant un facteur de sécurité de 100 (**Chan *et al*, 2010**).

Chapitre II

Thiabendazole

II.1. Généralités sur les pesticides

Les pesticides sont des composés chimiques qui ont des propriétés toxicologiques (**El Habib, 2013**). Ce terme désigne toutes les substances chimiques naturelles ou de synthèse utilisées pour prévenir, contrôler, attirer, détruire ou combattre les organismes (animaux, plantes, champignons, bactéries) jugés nuisibles (**Ménard et al., 2014**).

Les pesticides disponibles aujourd'hui sont caractérisés par une variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activités ce qui rend leur classification complexe (**Merhi, 2008**). D'une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre (herbicides, fongicides, insecticides) (le premier système de classification), mais également en fonction de la nature chimique de la principale substance active (le deuxième système de classification) (**Ayad-Mokhtari, 2012**).

II.2. Le thiabendazole

II.2.1. Historique

Le thiabendazole a été utilisé pour la première fois comme pesticide par Merck et Company, Inc. aux États-Unis en 1969 (**Dumancas et al., 2014**). Merck et Company, Inc. conservent l'enregistrement technique du produit jusqu'en 1998. Ensuite, ce produit a été transféré à Syngenta Crop Protection, Inc. Et a conservé son nom de fongicide (**EPA/RED, 2002**).

Selon l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA), 62 produits pesticides à base de thiabendazole sont actuellement enregistrés (**Dumancas et al., 2014**). En 1991, des chercheurs ont fait des études sur la chimie du produit, la toxicité, le devenir environnemental et l'impact écologique.

II.2.2. La définition

Le thiabendazole ou 2-(thiazol-4-yl) benzimidazole est une molécule mise sur le marché dans les années 1970. C'est une molécule qui sert de fongicide post-récolte dans les fruits et les légumes. Il est également utilisé comme un agent anthelminthique à large spectre chez plusieurs espèces animales et employé aussi pour lutter et traiter les infections

parasitaires au niveau de l'homme. De plus, le thiabendazole est autorisé en tant qu'un additif alimentaire (Traore, 2005).

Il est moins toxique pour l'homme que les autres pesticides, mais une quantité plus élevée accélère la mort des cellules hépatiques par apoptose, cause des dommages au foie et induit également un déséquilibre des hormones thyroïdiennes et entraîne de graves lésions rénales. En outre, il a un effet très toxique sur les animaux aquatiques (Dumancas *et al.*, 2014).

L'Environmental Protection Agency (EPA) des États-Unis a classé le TBZ comme un cancérigène possible (Dalvie, 2006).

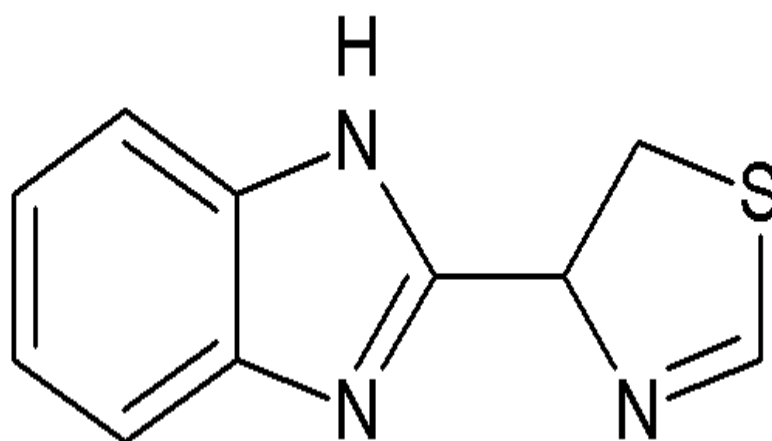


Figure 9 : La structure chimique du thiabendazole (Dumancas *et al.*, 2014).

II.2.3. Identification du thiabendazole

Tableau 3 : Identification du thiabendazole (Dumancas *et al.*, 2014).

Nom	Thiabendazole.
Synonymes	2- (4-Thiazolyl) -1H-benzimidazole, 4- (2-Benzi-midazolyl) thiazole, 2- (Thiabendazol-4-yl) benzimidazole.

Le thiabendazole

Formule moléculaire	C ₁₀ H ₇ N ₃ S ₁ .
Masse moléculaire	201,25 g/mol.
Pureté minimale de la substance active telle que fabriquée	985g/kg.

II.2.4. Propriétés physico-chimiques du thiabendazole

Le thiabendazole est un solide cristallisé. Il se caractérise par trois formes acido-basiques, il peut se trouver à l'état de monoacide ou de diacide. Ainsi, cette molécule a deux valeurs de pKa : 4,73 et 12. Sa solubilité dans l'eau est très limitée (0,03 à 0,16 g/l selon le pH), mais il se dissout plus aisément dans les solvants organiques et moyennement dans les lipides (Cazet, 2007).

Le thiabendazole n'est pas considéré comme hautement inflammable, explosif ou oxydant. Il n'a aucune propriété pyrophorique, il ne dégage aucun gaz inflammable au contact de l'eau ou de l'air humide. Il ne s'enflamme pas en dessous de son point de fusion (tableau 04) (Burkhard *et al.*, 2008).

Tableau 4 : Propriétés physicochimiques du thiabendazole (Samir, 2018).

Propriétés physico-chimiques	
Solubilité dans l'eau	0,03 à 20°C ; pH=7

Le thiabendazole

Point de fusion (°C)	304 - 305
Coefficient de dissociation (pKa)	2,39 à 20°C ; pH=7
Pression de vapeur (Pa)	4,73 à 25°C
Constante de Henry	$3,7 \times 10^{-6}$ à 25°C
Coefficient de partage actanol/eau (log P)	2,39 à 20°C ; pH=7

II.2.5. Les usages du thiabendazole

Le thiabendazole à plusieurs utilisations, telles qu'un parasiticide et un anthelminthique. Des travaux récents de scientifiques de l'Université du Texas à Austin ont montré que le thiabendazole inhibe puissamment l'angiogenèse dans les modèles animaux et les cellules humaines. Le thiabendazole montre également la capacité de ralentir la croissance tumorale.

Il agit également comme agent chélatant pour lier un certain nombre de métaux, y compris le fer, et est utilisé en médecine dans le traitement des empoisonnements aux métaux, tels que l'empoisonnement au plomb, au mercure ou à l'antimoine.

II.2.5.1 Activité antihelminthique

L'introduction du thiabendazole contre les infections parasitaires de l'homme et des animaux a constitué une percée majeure (**Anand et Wakod, 2017**).

Le thiabendazole est le premier benzimidazole qui été commercialisé il y a plus de 50 ans pour combattre les infections helminthiques. L'efficacité de ce dernier comprennent des troubles de la reproduction et un effet néfaste sur les ovocytes avec la perturbation de processus nécessitant des microtubules intégraux (**Driscoll et al., 1989**).

II.2.5.2. Activité anti-cancérogène

Des études récentes révèlent que de nombreux médicaments antihelminthiques sur le marché sont considérés comme des agents anti-mitotiques. Parmi ceux-ci, il existe le thiabendazole qui est en cours de développement pour le traitement du cancer (**Zhang, 2015**).

La Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis a approuvé que l'utilisation systémique du TBZ en tant qu'un antimicrobien entraîne des perturbations vasculaires et que le TBZ constitue donc une thérapie complémentaire potentielle à utiliser en combinaison avec les thérapies anti-angiogéniques actuelles (**Zhang, 2015**). Il peut inhiber la prolifération cellulaire du mélanome malin par l'induction de l'apoptose et l'inhibition d'expression de gène responsable de cette tumeur (VEGF) (**Zhang et al., 2013**) et diminue la densité vasculaire dans les cas précliniques de fibrosarcome (**Cha et al., 2012**).

II.2.6. Mode action

Le thiabendazole est un antihelminthique polyvalent particulièrement actif contre les nématodes du tube digestif. Ce Médicaments est actif sur les adultes larves des nématodes. Le thiabendazole provoque d'importantes modifications biochimiques chez les nématodes, en particulier l'inhibition de la fumarate réductase mitochondriale et la malate déshydrogénase, la réduction du transport du glucose et une atteinte de la phosphorylation oxydative (**Bohand et al., 2004**).

Cependant, il est maintenant établi que le thiabendazole se lie sélectivement avec une grande affinité à la β -tubuline parasitaire et inhibe la polymérisation des microtubules (**Abongwa et al., 2017**). Il est la cause d'une mutation du gène codant la β -tubuline, la résistance serait associée à une modification des récepteurs nicotiques GABA impliqués

dans la réponse ou de surexpression de la glycoprotéine P impliquée dans la détoxification cellulaire. Cela entraîne la destruction de la structure cellulaire et la mort du parasite (Abongwa *et al.*, 2017).

II.2.7. La relation entre le stress oxydant et le thiabendazole

II.2.7.1. Le métabolisme de thiabendazole

Le métabolisme de TBZ a été étudié dans des microsomes hépatiques humains et de souris avec une comparaison du profil métabolique du composé dans les deux espèces.

Le thiabendazole est rapidement absorbé après administration orale à partir du tractus gastro-intestinal et est éliminé principalement par les voies urinaires. Le composé est rapidement distribué dans les tissus avec les niveaux les plus élevés trouvés dans le cœur, les poumons, la rate, les reins et le foie (Burkhard *et al.*, 2008).

Le TBZ est largement métabolisé chez les animaux et les humains. Le principal métabolite est formé par l'hydroxylation de l'anneau aromatique catalysée par le CYP1A2 aboutissant au 5-hydroxythiabendazole (5-OHTBZ), qui est ensuite converti en un glucuronide et un conjugué sulfate et est éliminé dans l'urine et la bile (figure 2) (Dalvie, 2006). D'autres métabolites tels que le 4-hydroxythiabendazole, 2-acétylbenzimidazole, N-méthylthiabendazole, benzimidazole ont également été détectés.

Il se produit également l'époxydation de la double liaison (C=C) de l'anneau thiazole du thiabendazole et suite à son hydrolyse subséquente, l'époxyde obtenu se décompose pour former le thioformamide et le benzimidazol-2-ylglyoxal (Seide, 2008).

De plus, il a été rapporté que le thiabendazole se lie de manière irréversible aux protéines tissulaires via un mécanisme par le CYP1A2, ce qui indique la présence d'intermédiaires de réaction électrophile, mais sa structure n'a pas été déterminée. La formation de l'intermédiaire de réaction est attribuée à l'activation métabolique de 5 OHTbz en quinone-imine par l'oxydation du système CYP450 ou de la peroxydase. En effet, le 5OHTbz va d'abord subir une oxydation monoélectronique pour générer des espèces de radicaux libres, puis se disproportionner ou s'oxyder en plus pour donner de la quinone-imine. Cela provoquera un stress oxydatif et une toxicité hépatique (Dalvie, 2006)

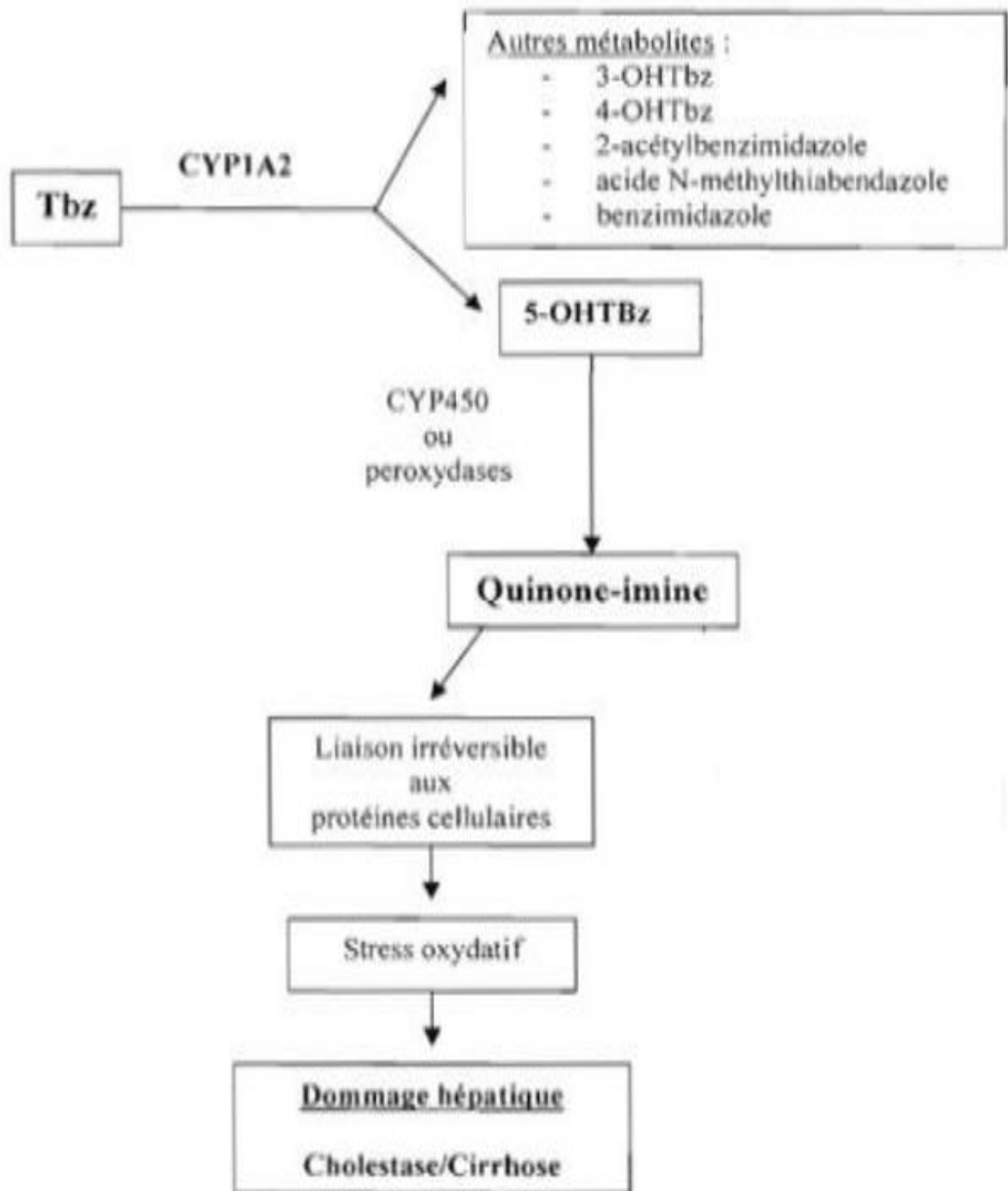


Figure 10 : Le métabolisme du thiabendazole (Séide, 2008).

II.2.8.La toxicité

Le thiabendazole est un produit nocif pour l'homme, les animaux et les plantes. La thyroïde et le foie sont les organes fondamentaux cibles de ce produit. La dose létale (DL50) est fixée à 3100 mg/kg par ingestion et supérieure à 2000 mg/kg par voie cutanée chez le rat. La dose journalière admissible (DJA) est estimée à 0,1mg/kg/J (**Roger et al, 2001**).

Des études chez le rat ont montré qu'il pouvait entraîner des dommages dans le développement des testicules et affectait la production de spermatozoïdes. Des effets tératogènes ont été constatés chez la femelle du rat et les souris gestantes (**Burkhard, 2008**).

Plusieurs études effectuées sur des bactéries n'ont montré aucun effet mutagène dû au thiabendazole.

Des études menées sur le rat n'ont pas permis de déceler des effets de cancérogenèse provenant du thiabendazole. Il a été signalé qu'en Floride, plusieurs enfants dont les mères avaient été exposées au thiabendazole pendant leur grossesse sont nés sans yeux. La relation de cause à effet n'est cependant pas établie. Sous forme d'aérosol, il s'agirait d'une substance irritante pour la peau, l'œil et les muqueuses des voies aériennes supérieures (nez et gorge) (**Roger et al. 2001**).

II.2.8.1.. Toxicité chronique

La toxicité chronique regroupe l'ensemble des effets délétères qui touchent un organisme vivant suite à une exposition ou à une administration habituelle d'un toxique à des doses multiples –non létales (**Bensakhria, 2018**).

Les principaux effets d'une exposition chronique au thiabendazole chez les animaux de laboratoire comprennent une toxicité thyroïdienne, une toxicité hépatique/biliaire, une anémie et une thrombose auriculaire à des doses de 0, 20, 100 ou 200 mg/kg/pc/jour pendant 104 semaines (**Roger et al, 2001**).

Dans une étude chez les souris mâles sont observées une thrombose auriculaire à 278 mg/kg/jour, avec un NOEL de 92 mg/kg/jour, mais il n'y a eu aucune indication d'oncogénicité liée au thiabendazole.

L'administration orale de thiabendazole chez le chien a entraîné une réduction du poids corporel, du nombre de globules rouges, des hématocrites et de l'hémoglobine à des

doses de 0, 20, 100 ou 200 mg/kg /pc/jour pendant 104 semaines. Avec une dose sans effet toxique pour les modifications hépatiques inflammatoires, l'épuisement du glycogène hépatique, l'hémosside-rose et les modifications histopathologiques du tractus urogénital des chiens étaient déterminés à 10 mg/ kg/jour.

Chez l'homme le thiabendazole peut provoquer une toxicité hépatique/biliaire d'après l'injections de quatre doses orales de 25 mg /kg pendant une période de 8 jours pour traiter une infestation helminthique, et peut également provoquer une cholestase intrahépatique sévère à long terme, liée à des nausées, des démangeaisons sévères et des éruptions cutanées sur tout le corps (**Dumancasetal, 2014**).

I.2.8.2.Toxicité aigüe

Le thiabendazole présente une faible toxicité aigüe locale ou sur les organes cibles après administration par voie orale, cutanée ou par inhalation chez l'animal.

Une diminution de la prise alimentaire et de la prise de poids a été mise en évidence chez les souris mâles à 600 et 900 mg/kg/pc/jour respectivement et chez les lapins à 800 mg/kg/pc pendant 30 jours. La DL50 a été déterminé à 2400-3810 mg/kg/pc, 150 et 430 mg/kg/pc respectivement chez les souris mâles et femelles par voies orale.

Il peut causer aussi chez les moutons et les chèvres une narcose et la mort est survenue en raison d'une insuffisance respiratoire. Les valeurs aiguës ont été déterminées de DL50 à 3850 mg/kg/pc chez le lapin par voie orale et à 2000 mg/kg/pc cutanée (**Dumancaset al, 2014**).

Dans une étude cutanée de 27 jours a été menée chez le lapin, aucun effet toxicologique systémique significatif n'a été observé à la dose la plus élevée de 1000 mg/kg de poids corporel/jour. Par conséquent, la NOEL est supérieure à 1000 mg/kg de poids corporel/jour (**Burkhard, 2008**).

Chez l'homme la projection et l'inhalation d'une dose supérieure à 397 mg/kg, apparaissent des irritations des yeux, la peau, et des muqueuses, avec possibilité de fièvre des métaux. En cas d'ingestion apparée des vomissements et diarrhée surviennent avec

possibilité d'atteinte rénale et des globules rouges, à une dose orale unique de 250 mg de thiabendazole (**Batsch, 2011**).

II.2.8.3. Toxicité subaigue

Chez l'animal les principaux organes cibles après l'administration du thiabendazole dans les études à doses répétées étaient le foie, les reins et la glande thyroïde. Une augmentation des érythrocytes de la moelle osseuse a été observée chez les rats femelles et un gain de poids relatif du foie et de la glande thyroïde avec une hyperplasie folliculaire et folliculaire, respectivement, était spécifique au rat.

Après l'administration par voie oral du thiabendazole, la dose sans effet est de 25 mg/kg/jour basé sur l'hépatotoxicité et les changements hématologiques pendant 98 jours de 10 mg/kg/jour basé sur l'hépatotoxicité et la thyrotoxicose pendant 14 semaines et de 35 mg/kg/jour pendant 90 jours chez le chien.

Aucune toxicité subaiguë n'est observé pour l'homme dans des études cancérogénicité et de mécanisme. (**Roger *et al.* 2001**).

Chapitre III

Stress oxydatif

III. Le stress oxydant

III.1. La définition

La notion de stress oxydant cellulaire ou encore le stress oxydatif cellulaire a été utilisé depuis la découverte des espèces radicalaires dans les années 1930 (**Lenzi, 2011**). Le stress oxydant a été défini comme un déséquilibre dans la production des espèces réactives de l'oxygène dans les cellules et les tissus et la capacité de l'organisme à détoxifier ces réactifs (**Pizzino et al., 2017**).

Ce déséquilibre entraîne des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides avec perturbations des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation. Un stress oxydatif peut donc se développer suite à une surproduction des oxydants comme les espèces activées de l'oxygène et/ou à une diminution des systèmes de défense antioxydants (**Tremellen, 2008**).

III.2. Les espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène sont des produits d'activation de l'oxygène moléculaire par le biais du métabolisme cellulaire normal (**Preiser, 2012**). Elles sont divisées en deux groupes : radicalaire et non radicalaire.

La forme radicalaire regroupe les radicaux libres qui sont des molécules ou atomes qui ont un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. Ils sont instables et peuvent agir avec d'autres molécules pour atteindre sa stabilité. Ainsi, la molécule attaquée perd son électron et devient elle-même un radical libre, déclenchant une cascade de réactions en chaîne qui endommage finalement la cellule vivante (**Liguori et al., 2018**).

Parmi les formes radicalaires il existe : l'anion superoxyde, le radical hydroxyle et le radical peroxyde. Et les formes non radicalaires sont : l'oxygène singlet, le peroxyde d'hydrogène, le peroxydinitrite (**Senguttuvan et al., 2014**).

Tableau 5 : les principales espèces réactives (Mimouni, 2020).

Radicaux libres (RL)	Espèces réactives non radicalaires
Anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$)	Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
Hydroxyle (OH°)	Acide hypochlorique ($HClO$)
Hydroperoxyde (HO_2°)	Ozone (O_3)
Peroxyde (RO_2°)	Oxygène singulet (1O_2)
Alcoxyde (RO°)	Hydroperoxyde ($ROOH$)

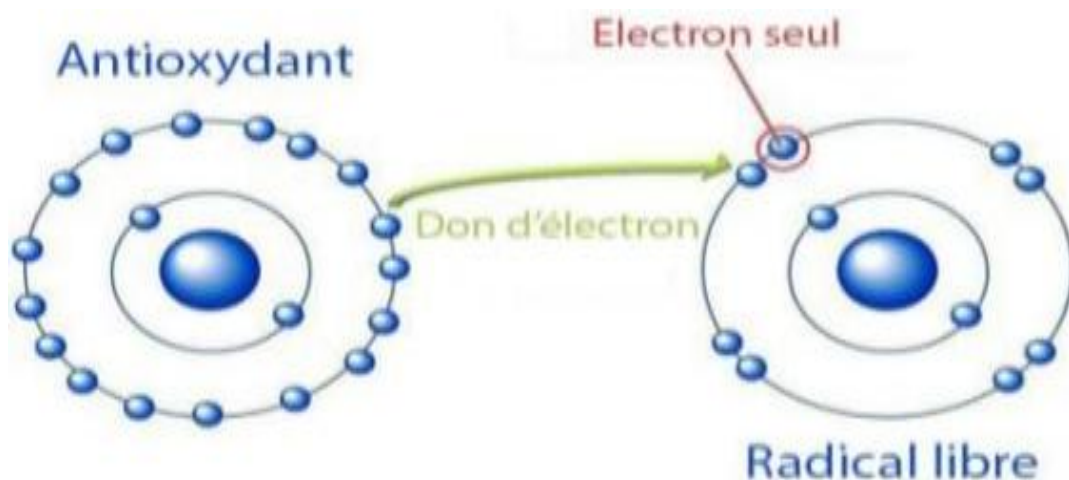


Figure 11 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (Carange, 2010).

III.3. Le mécanisme de production des ERO

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

C'est l'espèce la plus générée par la cellule, par une réduction d'une molécule d' O_2 . Il constitue le précurseur de la plus part des ERO (Abele *et al.*, 2002). A l'état fondamental, l' O_2 est une molécule formée de deux atomes qui présentent deux électrons non appariés sur leurs couches externes. En présence d'énergie suffisante, cette molécule peut acquérir un électron et former l'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$ (Eddhima, 2019).



III.3.2. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Il est formé par l'ajout d'un second électron sur l' $O_2^{\bullet -}$ donnant l'anion peroxyde O_2^{2-} qui se protone pour donner H_2O_2 (Badouard, 2006).

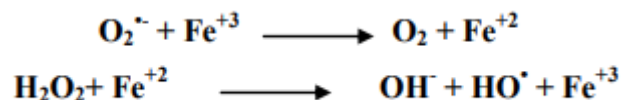


III.3.3. Le radical hydroxyle HO^{\bullet}

Le radical hydroxyle est produit par la réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'anion superoxyde (réaction d'Haber-Weiss), produire ensuite un ion OH^- inoffensif et un radical hydroxyle HO^{\bullet} :



En présence de métaux de transition, l' H_2O_2 donne naissance in vivo via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle HO^{\bullet} hautement réactif (Comhair et Erzurum, 2002).

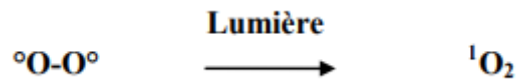


III.3.4. L'oxygène singulet 1O_2

L'oxygène singulet n'est pas un radical libre parce qu'il ne possède pas d'électrons non appariés, mais formé dans certaines réactions radicalaires. C'est un agent oxydant très puissant

qui peut oxyder des protéines, l'ADN et des lipides et causer des dommages tissulaires (Halliwell, 2006).

Lorsque de l'énergie est transférée à l'oxygène, ce dernier passe à l'état singulet qui est la forme activée qui est une forme très énergétique. Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante (Kumar, 2011):



III.4.Origines des espèces réactives de l'oxygène

Les ER peuvent être produits à partir des sources endogènes et/ou exogènes.

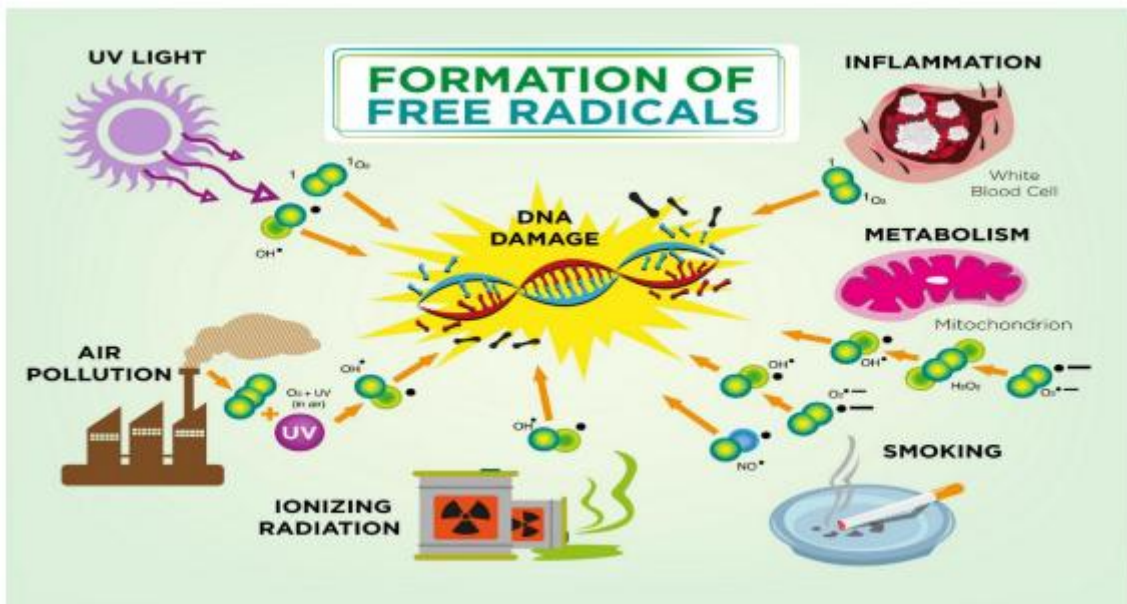


Figure 12 : L'origine des radicaux libres(Drogue, 2002).

III.4.1.Sources endogènes

Ils peuvent avoir deux sources enzymatique et non enzymatique. La source enzymatique comprend les enzymes qui stimulent les réactions génératrices d'ERO comme la xanthine oxydase et le NADPH oxydase, tandis que la source non enzymatique inclus les organes cellulaires tels que la mitochondrie, le peroxysome (Bhattacharyya *et al.*, 2014).

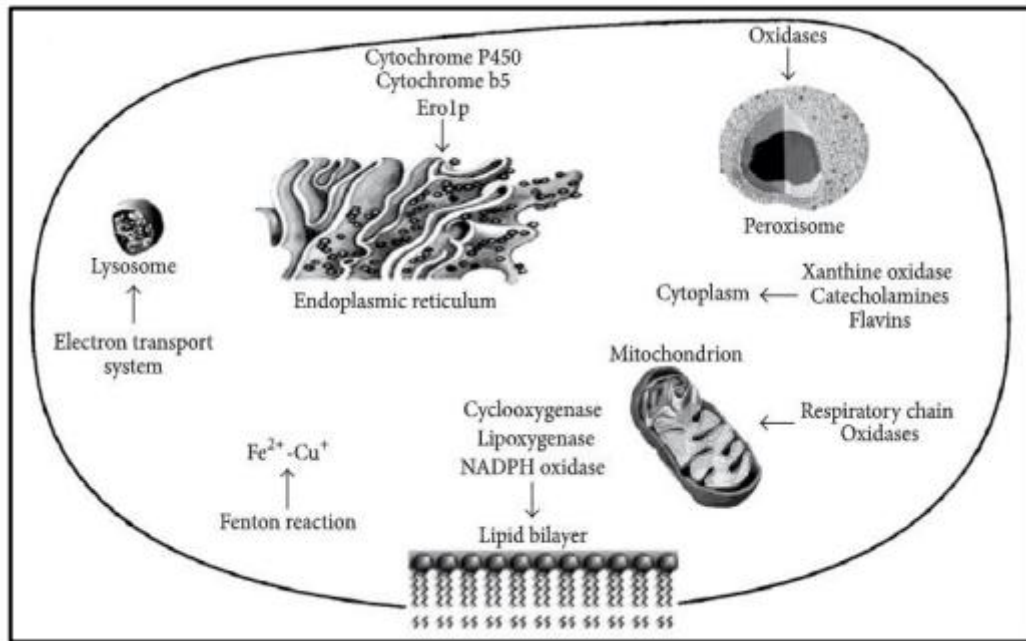


Figure 13 : Origines endogènes des ERO (Di Meo *et al.*, 2016).

III.4.1.1. Sources enzymatiques

III.4.1.1.1. Xanthine oxydase

La xanthine oxydase (XO) est une enzyme exprimée dans le foie et la muqueuse intestinale. Elle génère des ERO en réduisant l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique (Harrison, 2002).

Dans les conditions physiologiques, la xanthine oxydase déshydrogénase (XDH) est impliquée dans la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique dans le métabolisme des purines. En aérobose, la XDH utilise le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) comme accepteur d'électron et non une molécule d'oxygène. En anaérobose, la XDH est convertie en XO soit par un mécanisme réversible d'oxydation. Au cours de l'ischémie, on observe une accumulation cellulaire d'hypoxanthine et de XO (Figure 8). Lors de la reperfusion, la XO métabolise l'hypoxanthine en anion superoxyde et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Bhattacharyya *et al.*, 2014). Ces molécules sont les précurseurs du radical hydroxyle ($OH\cdot$) impliqué dans la plupart des lésions tissulaires (Tamion, 2003).

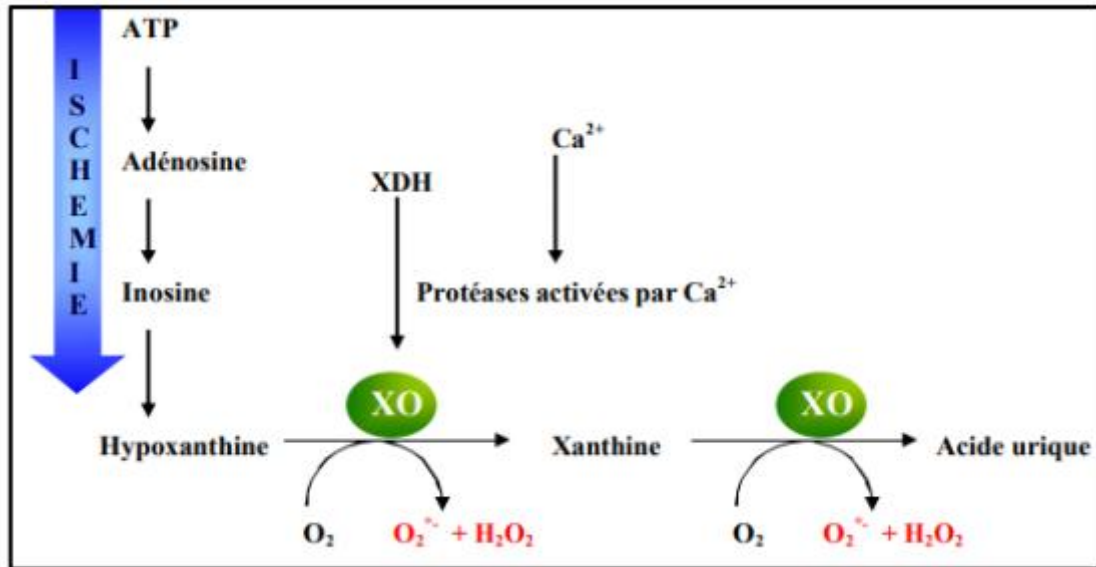


Figure 14 : Mécanisme de génération des ERO par la XO dans les tissus lors du processus d'ischémie (Tamion, 2003).

III.4.1.1.2. NADPH oxydase

Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH) oxydase est une enzyme qui a un rôle important dans la réponse immunitaire, elle lutte contre les microorganismes. Cette enzyme catalyse la production de l'anion superoxyde à partir de l'oxygène en utilisant le NADPH ou le NADH comme donneur d'électrons, selon la réaction suivante (Babior, 2004) :

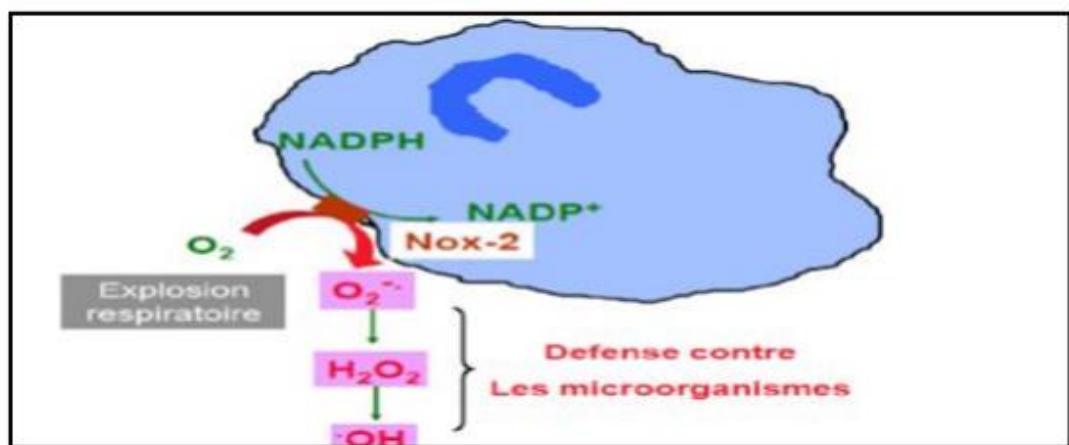


Figure 15 : La NADPH oxydase (Nox-2) des phagocytes (Babior, 2004).

III.4.1.2. Sources non enzymatiques

III.4.1.2.1 Mitochondrie

Les réactions enzymatiques d'oxydation des substrats et la chaîne du transport des électrons (chaîne respiratoire) sont les éléments clés dans le fonctionnement de la mitochondrie. Cette dernière joue un rôle important dans la cellule, elle est une source d'ATP (adénosine triphosphate) (Di Meo *et al.*, 2016).

La mitochondrie produit en effet 90% des ERO cellulaires. Au cours du transfert des électrons, dans des conditions physiologiques, il peut y avoir des fuites d'électrons et production d'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) par le complexe I et le coenzyme Q au niveau du complexe III. Le radical $O_2^{\bullet-}$ est métabolisé par la superoxydedismutase en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Celui-ci peut être décomposé en H_2O par la glutathion peroxydase (GPx), transformé en radical hydroxyle (OH^{\bullet}) par la réaction de Fenton, ou encore diffuser dans le cytoplasme et modifier l'activité de protéines cytoplasmiques ou nucléaires (Carrière *et al.*, 2006).

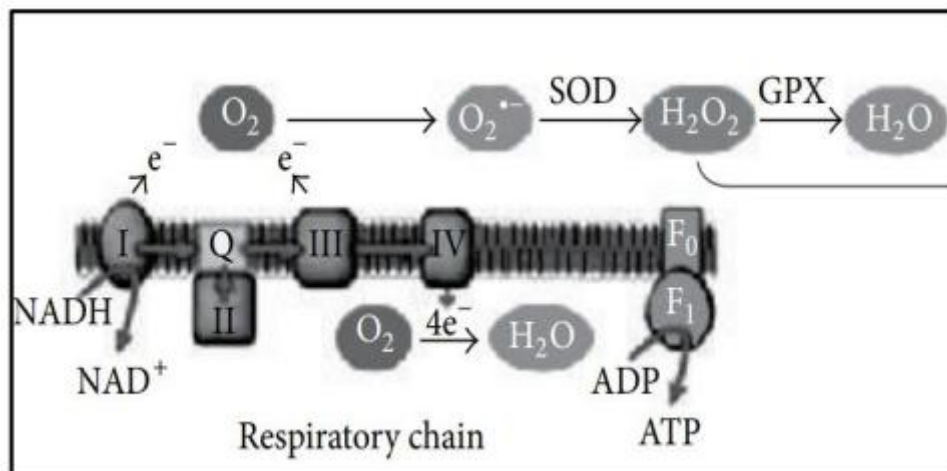


Figure 16 : Synthèse des ERO par la chaîne respiratoire mitochondriale (Di Meo *et al.*, 2016).

III.4.1.2.2. Peroxysome

Le peroxysome est un organite qui est présent dans toutes les cellules de l'organisme. Il est une importante source de production des espèces réactives de l'oxygène sur tout le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Il se caractérise par sa consommation d'oxygène et sa

génération d'ERO (H₂O₂) via l'acyl-CoA oxydase au cour du processus de la β - oxydation peroxisomal (**Bhattacharyya et al., 2014**).

III.4.1.2.3. Réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique contient des enzymes productifs des ERO qui appartiennent à la famille des cytochromes P450. Ces enzymes réduisent l'oxygène moléculaire pour former l'O²⁻ et/ou l'H₂O₂ (**Bhattacharyya et al., 2014**).

Un mauvais contrôle ou couplage au niveau du cycle catalytique P450 peut conduire à une production continue des ERO, qui affectent les voies de signalisation et d'autres fonctions cellulaires (**Zangar et al., 2004**).

III.4.2. Les sources exogènes

Les espèces réactives dans un système biologique peuvent être produites par plusieurs facteurs exogènes, lors d'une exposition à un environnement toxique (**Santos-Sánchez et al., 2019**). Les sources toxiques qui peuvent pénétrer au corps humain et induire la formation de radicaux libres sont:

III.4.2.1. Les rayonnement UV

Ils s'agissent des rayons ionisants X ou gamma, ou des rayons ultraviolets qui peuvent induire une rupture des liaisons dans les molécules réactives ce qui induit la formation des radicaux libres (**Santos-Sánchez et al., 2019**).

III.4.2.2. Le monoxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂)

Ils sont des toxiques qui peuvent produire des radicaux libres, ils sont formés par les Nitric Oxyde Synthases (NOS). Ces toxiques sont présents dans notre environnement comme par exemple : suie, goudron, tabac, polluants industriels (**Santos-Sánchez et al., 2019**).

III.4.2.3. L'alimentation

Les aliments riches en protéines et en lipides pouvant être à l'origine de la production des radicaux libres, comme par exemple : l'alcool, café (**Santos-Sánchez et al., 2019**).

III.4.2.4. Les médicaments

Certains médicaments utilisés comme un traitement contre le cancer peuvent produire des radicaux libres. Aussi, certains médicaments (Xénobiotiques) peuvent être source de radicaux libres par oxydations de ces composés au niveau du cytochrome P450.

Il existe aussi la cyclosporine, le tacrolimus, la gentamycine et la bléomycine qui sont considérées comme une source de dérivés réactifs de l'oxygène (**Bhattacharya *et al.*, 2014**).

III.5. Rôles physiologiques des espèces réactives de l'oxygène

Physiologiquement, les espèces réactives de l'oxygène existent dans les cellules et les tissus et ont de nombreuses fonctions utiles. Ils sont impliqués dans la défense immunitaire contre les agents pathogènes (phagocytose), la fonction de certaines enzymes, la transduction des signaux cellulaires, la destruction de l'apoptose des cellules tumorales, la régulation du cycle cellulaire, la différenciation cellulaire, les télangiectasies, la fonction de certains neurones, notamment la fonction des neurones de la mémoire, la fécondation des ovules, la régulation des gènes (**Favier, 2003**).

III.6. Rôles pathologiques des espèces réactives de l'oxygène

Après exposition à des facteurs de stress chroniques ou intenses, la quantité d'espèces réactives de l'oxygène produite par les cellules du corps dépasse la capacité antioxydante requise pour les neutraliser, entraînant un stress oxydatif et des effets négatifs sur diverses structures cellulaires ; lipides, protéines, et l'ADN, et provoquent un dysfonctionnement au niveau des tissus, conduisant à des pathologies, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives (**Pizzino *et al.*, 2017**).

III.7. Dommages biologiques causés par le stress oxydatif

Dans les conditions pathologiques, le stress oxydant induit la génération excessive de ROS. ces dernières sont responsables, d'une manière directe ou indirecte de la lésion oxydative au niveau moléculaire (ADN, protéines, lipides) (**Vidé, 2015**).

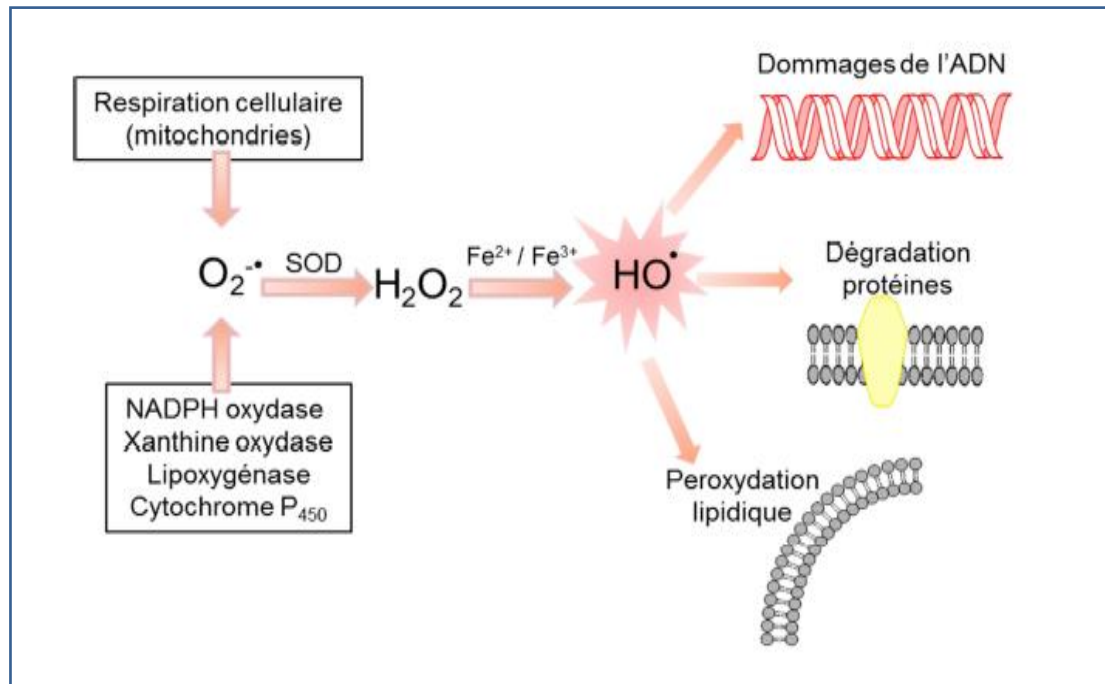


Figure 17 : Conséquences de stress oxydative (Bayrasy, 2013).

III.7.1. Dommage de l'ADN

L'oxygène activé et les agents qui génèrent des radicaux libres d'oxygène, comme les radiations ionisantes, induisent de nombreuses lésions de l'ADN qui provoquent des délétions, des mutations et d'autres effets génétiques létaux. La caractérisation de ces lésions de l'ADN a indiqué que les fragments de sucre et les bases sont susceptibles d'être oxydés, ce qui entraîne la dégradation des bases, la rupture d'un seul brin et des liaisons transversales avec les protéines (Kumar, 2011).

III.7.2. Oxydation des protéines

Les mécanismes impliqués dans l'oxydation des protéines par les ROS ont été élucidés par des études dans lesquelles des acides aminés, peptides simples et des protéines ont été exposés à des radiations ionisantes dans des conditions où des radicaux hydroxyle ou un mélange de radicaux hydroxyle/superoxyde sont formés.

Les chaînes latérales de tous les résidus d'acides aminés des protéines, en particulier les résidus de cystéine et de méthionine, sont susceptibles d'être oxydées par l'action des ROS/RNS. L'oxydation des résidus de cystéine peut conduire à la formation réversible de

disulfures mixtes entre les groupes thiol des protéines (-SH) et les thiols de faible poids moléculaire, en particulier le GSH (S-glutathionation) (Valko *et al.*, 2007).

III.7.3. Peroxydation lipidique

Les lipides membranaires, particulièrement ceux qui sont riches en acides gras poly-insaturés (AGPI) représentent une cible privilégiée pour l'agression radicalaire (Hiltenbrand, 1999). Ils sont le siège de la peroxydation lipidique qui conduit à la formation d'hydroperoxydes qui vont se dégrader en aldéhydes et altérer la membrane cellulaire pouvant entraîner une perte d'intégrité de la cellule et de ses organites. Parmi les produits finaux formés, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE) ont un potentiel mutagène et cancérigène (Valko *et al.*, 2006).

III.8. Les antioxydants et système de défense

III.8.1. Définition

L'antioxydant est une substance organique ou minérale qui peut prévenir ou réduire le stress oxydatif dans les organismes à de faibles concentrations. Il peut prévenir ou retarder considérablement les dommages oxydatifs des biomolécules (Valko, 2006).

III.8.2. Systèmes de défense enzymatique

Pour le contrôle de la production des ROS, les organismes vivants possèdent des systèmes de défense qui les protègent contre les dommages des ROS. Ces défenses permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal (homéostasie physiologique). En effet, elles possèdent une grande affinité pour les ROS, avec lesquelles elles réagissent très rapidement pour les neutraliser. Ces systèmes sont composés d'enzymes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la peroxydase, capables d'éliminer les radicaux libres et d'autres espèces réactives (Gueye, 2007).

III.8.2.1. Super oxyde dismutase (SOD)

Les superoxyde dismutases sont capables d'éliminer l'anion superoxyde en produisant une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène (Gueye, 2007). Il existe quatre types de SOD qui diffèrent par leur cofacteur métallique (Cu/Zn, Mn, Fe ou Ni) ainsi

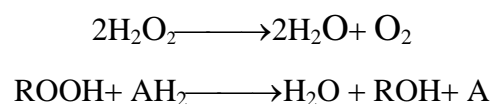
que par leur localisation cellulaire. Les SOD à Mn sont présentes dans le cytosol des bactéries, dans les mitochondries des organismes supérieurs, les chloroplastes et également dans le cytosol de certaines cellules eucaryotes. Les SOD à Fe sont présentes chez les bactéries, chez certains protozoaires comme *Trypanosomacruzi* et quelques plantes. Les SODs à Cu/Zn se trouvent dans le cytoplasme, le noyau, les mitochondries, les lysosomes et les peroxysomes des cellules eucaryotes ainsi que dans le périplasmecertaines bactéries à gram négatif (Oueslati, 2017).

Les superoxyde-dismutasesont utilisées en thérapeutique: dans les maladiesinflammatoires chroniques, les anions superoxyderelargués par les phagocytes activés stimulent et amplifient la réponse inflammatoire. L'administration de SOD peut prévenir les lésions tissulaires dues à l'anion superoxyde. Les SOD semblent également réduire l'étendue de l'infarctus du myocarde (Hadi, 2004).

III.8.2.2. La catalase

La catalase (CAT) est une enzyme responsable de la dégradation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène et réagit très efficacement avec des donneurs d'hydrogène (méthanol, éthanol, acide formique ou phénols) avec une activité peroxydase. Il s'agit d'une enzyme de protection présente dans presque toutes les cellules animales (Sáez G T et Están-Capell, 2017).

La réaction de la CAT se déroule en deux étapes. Une molécule de peroxyde d'hydrogène oxyde l'hème en une espèce oxyferryle. Un radical cationique de porphyrine est généré lorsqu'un équivalent d'oxydation est retiré du fer et un du cycle de la porphyrine. Une deuxième molécule de peroxyde d'hydrogène agit comme un agent réducteur pour régénérer l'enzyme au repos,produisant une molécule d'oxygène et d'eau (El-Missiry, 2012).



III.8.2.3. Les glutathion peroxydases et réductases

Le système glutathion comprend la glutathion réductase, la glutathion peroxydase et la glutathion S-transférase. Ce système existe chez les animaux, les plantes et les micro-

organismes. La glutathion réductase (GR) est une oxydoréductase NADPH-dépendante qui agit en synergie avec la glutathion peroxydase. Il catalyse la conversion du glutathion oxydé (GSSG) en glutathion réduit (GSH) (Csiszár *et al.*, 2016). La glutathion peroxydase (GPX) convertit le glutathion (GSH) (un tripeptide composé d'acide glutamique, de cystéine et de glycine) en glutathion oxydé, où dans le processus, H₂O₂ est réduit en H₂O et l'hydroperoxyde lipidique (ROOH) est réduit en alcool stable. La réaction GPX se combine avec la glutathion réductase (GSSG-R) pour maintenir un certain niveau de glutathion (GSH) (Asima *et al.*, 2014). GPX joue également un rôle important dans la régulation de l'état redox intracellulaire des cellules vasculaires (Wassmann *et al.*, 2004).

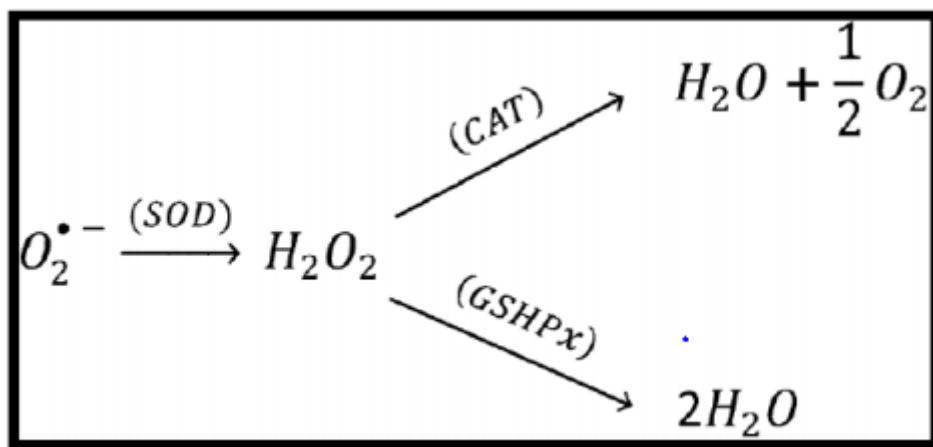


Figure 18 :L'activité de balayage radical de SOD, CAT et GPx (Wassmann *et al.*, 2004).

III.8.3.Système de défense non enzymatique

II.8.3.1. Glutathion

Le glutathion (GSH) est un antioxydant abondant dans l'organisme où il joue un rôle de protection des tissus et de protéines (comme l'hémoglobine, la ferrine ou l'albumine). Il est fourni par l'alimentation (brocolis, avocats, choux, carottes...) (Richard, 2013).

Le GSH est la source de thiol non protéique la plus abondante dans les cellules, principalement synthétisé dans le foie et transporté vers les tissus par la circulation, il joue de multiples rôles dans la défense antioxydante cellulaire. Tout d'abord, le GSH interagit facilement avec une variété de radicaux, y compris les radicaux hydroxyles et le carbone, en donnant un atome d'hydrogène. Deuxièmement, l'une des fonctions antioxydantes les plus importantes du GSH est d'éliminer l'hydrogène et les peroxydes organiques au cours d'une réaction catalysée par la GPX, formant de l'eau et de l'alcool (Powers *et al.*, 2000).

III.8.3.2. Oligoéléments

Le cuivre(Cu), le zinc(Zn),le manganèse (Mn),le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la catalase de fer et la GPx de sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite,peuvent avoir une action pro-oxydante (réaction de Fenton ,d'Harber-Weiss) (**Bouitrir, 2010**).

III.8.3.3. Vitamine C

La Vitamine C(L'acide ascorbique) est l'un des antioxydants non enzymatiques. Il a la capacité de réduire ou minimiser l'effet nocif des ROS. Il peut donner des électrons pour de nombreuses réactions enzymatiques et non enzymatiques et protéger les membranes en réduisant directement les superoxydes et les radicaux hydroxyles et ainsi qu'en réduisant le peroxyde d'hydrogène en eau par la réaction de l'ascorbite(**AL-Aloosy et al.,2019**).

III.8.3.4. Vitamine E

La vitamine E est produite dans les chloroplastes des plantes. Elle réagit directement avec les ROS ou d'autres molécules radicalaires et devient elle-même une espèce radicalaire avant d'être de nouveau réduite de manière non-enzymatique par les caroténoïdes (**Béguel, 2012**).

III.8.3.5. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont classés comme des colorants lipidiques naturels solubles, ainsi que les composés isoprénoïdes ou terpénoïdes. On les trouve dans les plantes et lesmicro-organismes .Ils protègent le système de photosynthèse en inhibant la tri-chlorophylle (Chl3) et les ROS, en particulier le l'oxygène simple ($1O_2$) produit naturellement pendant le processus de photosynthèse (**AL-Aloosy et al.,2019**).

III.8.3.6. Les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes qui ont des propriétés oxydatives et inflammatoires. Ils aident à protéger les maladies chroniques des dommages causés par les radicaux libres. Les polyphénols sont un grand groupe de composés que l'on trouve largement dans les aliments et les boissons d'origine végétale, tels que le thé, le café, le vin, les fruits, les légumes, les grains de blé entier et le cacao. Ce sont les antioxydants les plus abondants dans l'alimentation humaine (Desmier, 2016).

III.9. Malondialdéhyde plasmatique (MDA)

Les radicaux libres d'oxygène sont très réactifs et attaquent presque tous les composants cellulaires et causent des dommages aux tissus environnants. L'impact le plus délétère du stress oxydatif est la peroxydation lipidique, qui a été impliquée dans la pathogenèse de nombreuses maladies (Bhale D V et al, 2014). Le malondialdéhyde est un produit de dégradation de la peroxydation des acides gras polyinsaturés à longue chaîne (au moins trois doubles liaisons) qui peut s'accumuler lorsque la peroxydation des lipides est active (Ceconi C et al, 1992).

Le dosage de la MDA dans le sérum est la méthode la plus utilisée car c'est un composé hautement réactif, qui pénètre facilement dans les tissus et est capable de former une liaison covalente avec les protéines et les acides nucléiques, ce qui permet de modifier leur structure (Hardiany N S et al, 2019).

Deuxième partie

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

I. Matériels et méthodes biologiques

Ce présent travail a pour but d'étudier l'effet protecteur du thé vert sur le stress oxydatif induit par le thiabendazole, chez le rat de laboratoire *Wistar Rattus norvegicus*. Il est constitué de deux parties :

- La première est consacrée à : l'étude de l'effet du thiabendazole et l'extrait de thé vert chez le rat de laboratoire *Rattus norvegicus* sur le stress oxydatif.
- La deuxième est consacrée à : dosage de la Malondialdéhyde plasmatique.

I.1. Matériels biologiques

L'expérimentation est réalisée sur les rats *Wistar Rattus norvegicus* dans l'animalerie de faculté des sciences de l'Université M' Hamed Bougara de Boumerdes.

I.1.1. Classification systématique du rat *Rattus norvégicus* (Morgane et Doumerc, 2004):

Règne:	animal
Embranchement:	vertébré
Classe:	mammifère
Sous classe:	placentaire
Ordre :	rongeur
Famille:	muridé
<u>Genre</u> :	Rattus.
<u>Espèce</u> :	Rattus Norvegicus

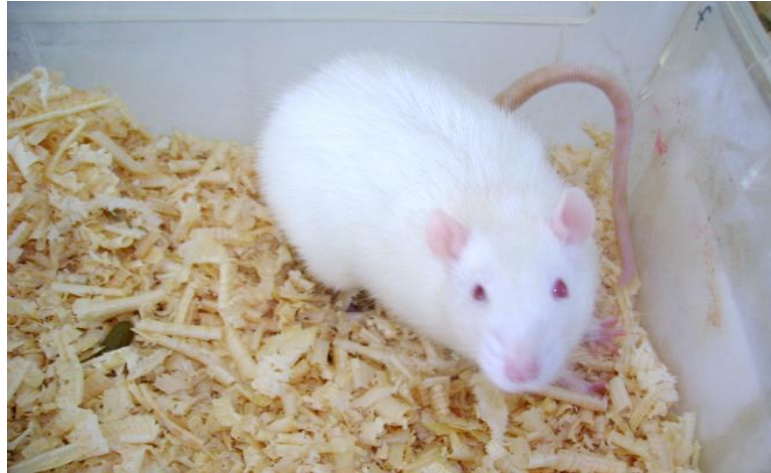


Figure 19 : rat de laboratoire (*Rattus norvegicus*).

I-1.2. Conditions d'élevage

L'élevage est réalisé dans l'animalerie de l'Université de M'Hamed Bougara à Bomerdes, où les rats sont hébergés dans des cages en plastique de 43x28x18 cm avec des couvertures en grillage métallique pour une période d'adaptation de 7 jours. Le couvercle contient deux espaces dont l'un sert à stocker les aliments d'une entreprise de production locale située à Bouzaréah Alger. Sa composition est : protéine (23,03 %), lipide (9%), glucides (48%) et complexe vitamino-minéral (3%) et autres introductions eau en bouteille ou thé. Le fond de la cage est rempli d'une couche de sciure et doit être renouvelé deux à trois fois par semaine. Après une période d'adaptation d'une semaine, les animaux ont été répartis en quatre lots dont deux témoins (témoin et témoin-thé) et deux lots ont reçu une alimentation complémentaire (thé plus thiabendazole et thiabendazole).

I.2.Extrait de thé vert

20g de feuilles sèches de thé vert *camellia senensis* sont infusées dans un litre d'eau bouillante pendant 10 minutes. Le filtrat obtenu représente l'extrait de thé vert à 2% qui sont donné comme boisson aux rats.

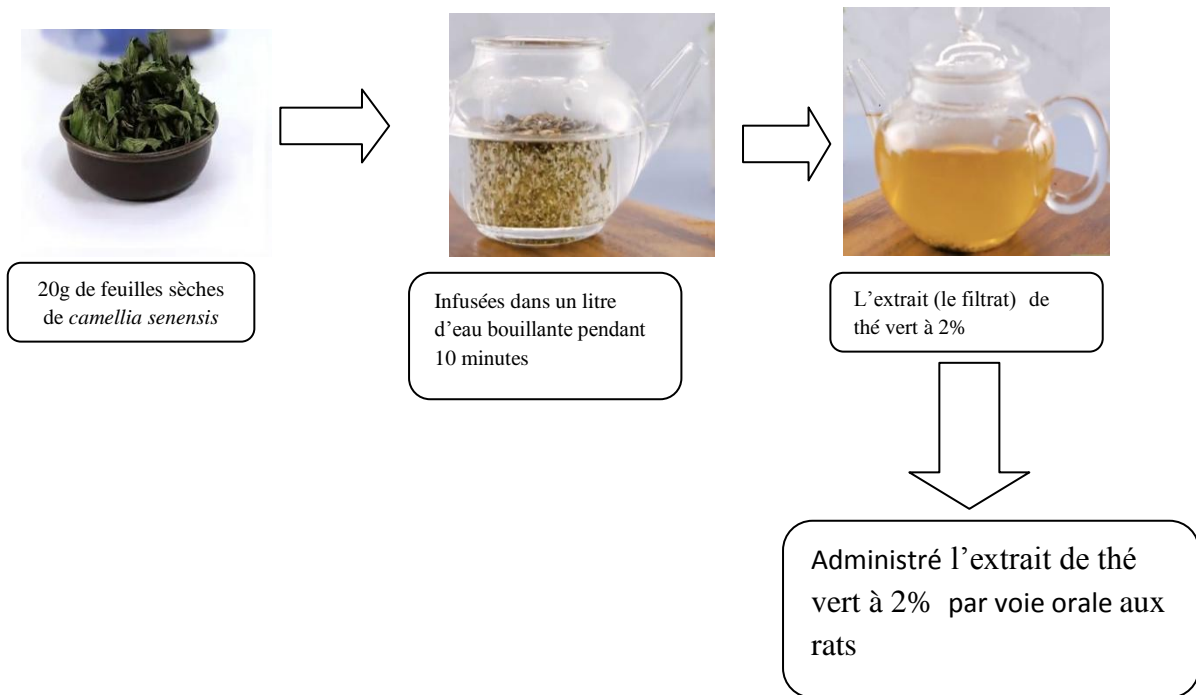


Figure 20: Les étapes d'extraction de *camellia senensis* par infusion.

I.3. Le protocole expérimental

Notre expérimentation a duré un mois et a été portée sur 30 rats *Rattus norvegicus* provenant de l'Institut Pasteur d'Alger (IPA) qui sont repartis en quatre lots

❖ **Lot témoin (T)**

Les animaux au nombre de cinq reçoivent de l'eau et de l'aliment *ad libitum*.

❖ **Lot témoin-thé vert (TT)**

Les animaux au nombre de Cinq reçoivent chaque jour par voie orale une dose de 2% de thé vert et de l'aliment normal.

❖ **Lot Thiabendazole (D)**

Dans ce lot, les animaux sont au nombre de dix et reçoivent chaque jour pendant un mois de l'eau et une alimentation préparée à partir d'un mélange d'aliment auquel nous rajoutons du thiabendazole (500mg/kg de p.c).

❖ Lot thiabendazole-thé vert (TD)

Les animaux de ce lot sont au nombre de dix, reçoivent chaque jour du thé vert (2%) et un aliment préparé à partir de l'aliment auquel nous rajoutons du thiabendazole à raison de 500mg/kg de p.c.

I.4. Dosage de la Malondialdéhyde plasmatique (MDA) plasmatique

Notre dosage sera réalisé au niveau de laboratoire de l'Université Houari Boumediene Bab Ezzouar (USTHB).

I.4.1. Méthode de dosage des Malondialdéhyde (MDA) plasmatique

Le stress oxydant peut être évalué par la mesure du produit terminal de la peroxydation lipidique, le malonodialdéhyde (MDA) (Terrier-Lenglet, 2011). par la méthode d'Ohkawa et al., (1979). Cette méthode permet la quantification de la peroxydation lipidique qui constitue le marqueur majeur du stress oxydant à l'aide du TBA (Matsunami, 2010).

I.4.2. Principe de dosage

La notion de dosage du MDA est substituées à la notion de TBARS substance réagissent avec l'acide thiobarbiturique. En milieu acide et à chaud (pH 2 à 3, 100 °C) une molécule de MDA est condensée avec deux molécules de thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose (lecture à 530 nm) (Kebieche M .2009).

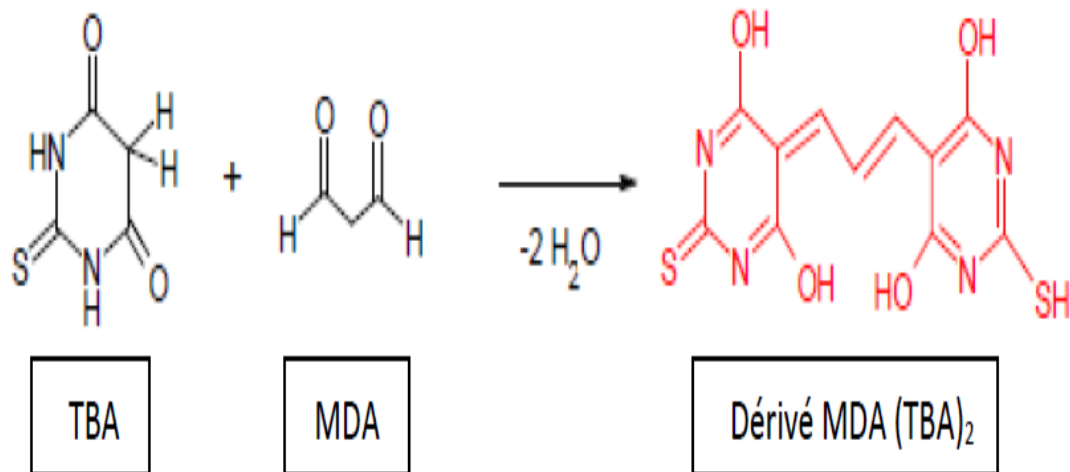


Figure 21: Le mécanisme de la quantification de la réaction de TBARS (Jeuge et Carlier , 2012)

I.4.3. Protocole d'évaluation de MDA

Le prélèvement d'un échantillon du plasma des rats s'effectue dans des tubes héparines

I.4.3.1. Réactif

- 50 μL d'une solution de SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) concentrée à 8,1%.
- 375 μL d'une solution d'acide acétique concentrée à 20,0% (pH 3,5)
- 375 μL d'une solution de TBA (Thio-barbiturique Acid) concentrée à 0,8%

I.4.3.2. Mode opératoire

Une fraction aliquote de 100 μL du plasma des rats ajoutée: 50 μL d'une solution de SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) concentrée à 8,1%, 375 μL d'une solution d'acide acétique concentrée à 20,0% (pH 3,5), et 375 μL d'une solution de TBA (Thio-barbiturique Acid) concentrée à 0,8% ont été introduit dans un bécher. Le tout est mélangé au vortex puis mis au bain marie 1h à 95 °C jusqu'à dissolution complète du TBA. Une centrifugation à 3000xg pendant 10 min est réalisée afin de collecter le surnageant. L'absorbance du surnageant est mesurée à 532 nm.

I.4.4. La concentration de MDA

La teneur en MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert et est exprimée en $\mu\text{mol/L}$ dans le plasma par la formule suivante:

$$A(\lambda) = \epsilon(\lambda) \cdot L \cdot C$$

Avec :

$A(\lambda)$ est l'absorbance. C'est une grandeur positive, sans unité.

$\epsilon(\lambda)$ est le coefficient d'extinction molaire. Son unité est le litre par mole et par centimètre ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

$\epsilon(\lambda)_{\text{MDA}} = 1,56 \times 10^5 \text{ mmol} / \text{L} / \text{cm}$.

L : est la longueur du trajet parcouru par le rayonnement dans la solution, son unité est le centimètre (cm).

$L=1\text{cm}$.

C : est la concentration de l'espèce chimique dissoute responsable de l'absorption du rayonnement, elle s'exprime en mole par litre ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$).

Résultats et discussion

II.1.Résultat

Les résultats de l'évaluation de dosage du MDA plasmatique chez les différents groupes de rats après administration de thiabendazole a raison de 500mg/kg de p.c/J et d'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* à 2% pendant 30 jours sont illustrés dans la figure 21.

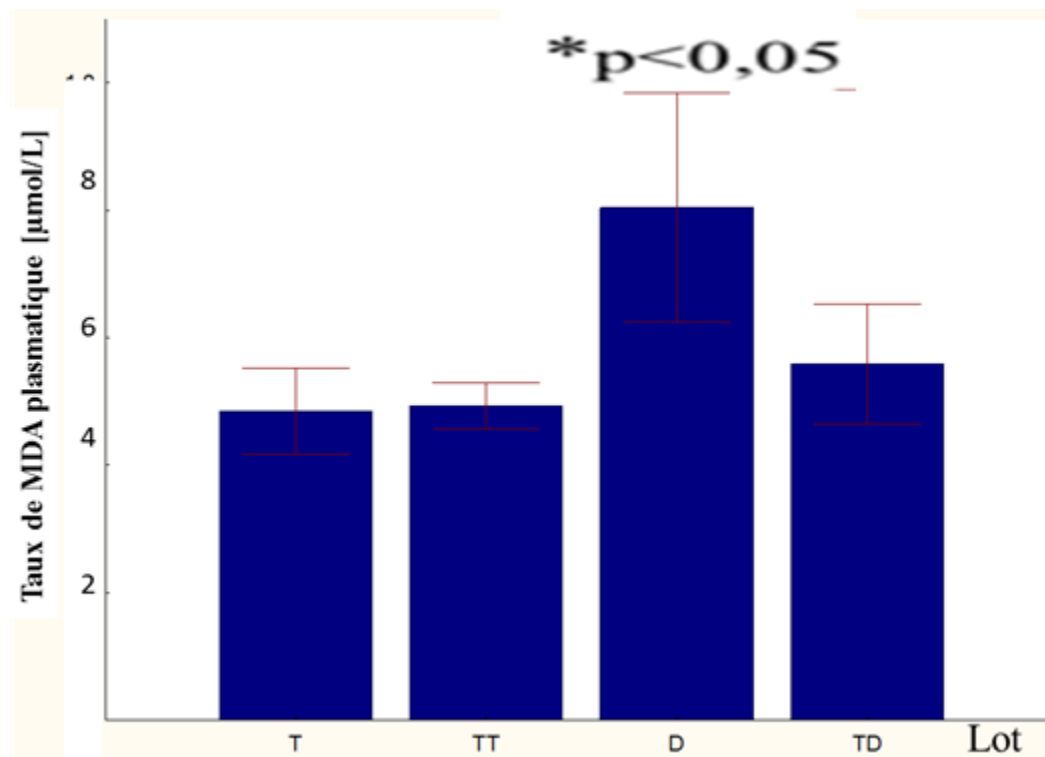


Figure21: Evaluation du MDA chez les *Rattus norvegicus* témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT).

Tableau 6: représente les valeurs moyennes du MDA plasmatique chez les *Rats wistar* témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)

	Lot T	Lot TT	Lot D	Lot TD
MDA [mol/L]	^a 0,49±0,03	^b 0,49±0,01	^c 0,80±0,21 ^{*a,b,d}	^d 0,56±0,09

a : représente la valeur moyenne du MDA plasmatique du Lot T.

b : représente la valeur moyenne du MDA plasmatique du Lot TT.

c : représente la différence significative de la valeur moyenne du MDA plasmatique du Lot D par rapport au trois autre Lots (T), (TT), (TD).

d : représente la valeur moyenne du MDA plasmatique du Lot TD.

Les résultats sont exprimés en moyen \pm écart type, n=3. La comparaison des moyens par rapport au témoin réalisé par le test de turby avec le logiciel (statistica).les résultats sont considérée comme :

*significative lorsque ($p < 0.05$).

D'après les résultats effectués au niveau du MDA plasmatique nous constatons qu'une augmentation significative ($P < 0.05$) chez les rats traités par le thiabendazole avec une valeur de $(0,80 \pm 0,21)$ comparativement au groupes des 03 lots (T), (TT), (TD). Par contre le lot TD traités par le thiabendazole et l'extrait de thé vert du taux de MDA plasmatique n'enregistre aucune différence du taux de MDA par rapport aux lots T et TT avec une valeur $(0,56 \pm 0,09)$. Aucun résultat significative du taux de MDA plasmatique avec une valeur de : $(0,49 \pm 0,01)$ Chez les rats traités par l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* comparativement au groupe témoin.

II.2.Discussion

Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer les effets oxydants d'un traitement par le thiabendazole a raison de 500mg/kg de p.c et l'effet antioxydant de l'extrait polyphénolique de *Cammellia sinensis* à 2%, pendant 30 jours. Pour cela le dosage du malondialdehyde est réalisé au niveau plasmatique.

Nos résultats montrent que la consommation thiabendazole à la dose de 500 mg/kg/j *per os* a induit une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de MDA chez le lot D par rapport aux rats des 03 autres lots. Par contre le lot TD n'enregistre aucune différence du taux de MDA par rapport aux lots T et TT. Ce qui indique un l'effet protecteur des composants phénoliques du thé vert.

Ces résultats sont en accord avec ceux de l'équipe de **Zama (2007)** sur des rates gestantes et ayant reçues 20 mg/kg de chlorpyrifos (un insecticide organophosphoré qui exerce son activité pharmacologique principalement par la liaison de l'enzyme acétylcholinestérase par phosphorylation conduisant à inhibition de l'activité enzymatique (**Cochran, 1995**) a montré une augmentation significative de MDA plasmatique. et en accord avec les résultats d'étude de **Chiali et al., (2013)** qui montre une augmentation de la concentration de MDA tissulaire chez des rats exposées à de faibles doses de la métribuzine.

Ce qui confirme l'effet peroxydatif des lipides en tant qu'un des mécanismes moléculaires impliqués dans la toxicité induite par le thiabendazole (**Hrelia et al., 2002**). Elle a été employée comme une mesure de stress oxydatif induit par ce fongicide, responsable de la production de ROS et de RNS, dont certains organes peuvent déclencher la peroxydation lipidique (**Migdal et Serres, 2011**). La principale source de ces ROS est la chaîne de transport d'électrons mitochondriale. Les peroxydes lipidiques peuvent endommager d'importantes fonctions mitochondriales, telles que la respiration et la phosphorylation oxydative (**Garait, 2006**).

Par ailleurs, la consommation de *Cammellia sinensis* à 2% par voie orale a induit une diminution significative de MDA plasmatique après l'administration de thiabendazole par rapport à celle des rats témoins. Ce résultat est en accord avec les résultats de ceux de **Raofi et ses collaborateurs., 2016** montre une baisse significative du taux de malondialdéhyde (MDA) et la capacité d'oxydation totale (TOC) des groupes traitées avec du malathion et de l'extrait de thé vert à des doses de 100, 200 et 400 mg/kg par rapport au groupe Malathion ($p < 0,05$), tandis que le niveau de Capacité Antioxydante Totale (TAC) a montré une augmentation significative avec diverses doses de thé vert et de Malathion par rapport au groupe Malathion ($p < 0,05$).

En raison de fortes propriétés antioxydantes de thé vert des substances polyphenoliques qu'il contient, on pourrait améliorer les effets destructeurs du thiabendazole sur le foie du rat.

Ces substances polyphénoliques y compris les catéchines, qui sont les substances les plus efficace du thé vert, et l'ECGC (un antioxydant très puissant et efficace qui joue un rôle majeur dans la prévention de diverses maladies) (**Raofi, R et al., 2016**).

Les polyphénols, les flavonoïdes présentent des propriétés antioxydantes et des activités de piégeage importantes sur les radicaux libres impliqués dans la toxicité de thiabendazole comme les antioxydants (enzymatiques et non enzymatiques) offrent une protection contre les attaques des radicaux libres.

Conclusion

Conclusion

Notre étude vise à évaluer l'effet de thiabendazole qui induit le stress oxydatif à une dose de 500mg/kg/pc et le potentiel antioxydant des polyphénols de l'extrait de thé vert à 2% chez les rats de laboratoire *Rattus norvegicus*.

Pour cela, nous avons évalué le taux de MDA plasmatique. Ce paramètre révèle l'effet toxique de thiabendazole à partir de l'augmentation de taux de MDA plasmatique qui provoque une peroxydation lipidique conduisant à une perturbation de la structure membranaire des cellules.

Nous avons constaté un effet protecteur de l'extrait polyphénolique du thé vert à 2% contre les radicaux libres responsable de l'apparition d'un stress oxydatif qui est induite par le thiabendazole, cette protection est due aux propriétés antioxydantes des molécules polyphénoliques de thé vert (Guillouty,2016).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F. M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M. S., ... & Suleria, H. A. R. (2017). Natural polyphenols: An overview. *International Journal of Food Properties*, 20(8), 1689-1699.

Abele, D., Heise, K., Portner, H. O., & Puntarulo, S. (2002). Temperature-dependence of mitochondrial function and production of reactive oxygen species in the intertidal mud clam *Mya arenaria*. *Journal of Experimental Biology*, 205(13), 1831-1841.

Abongwa, M., Martin, R. J., & Robertson, A. P. (2017). A brief review on the mode of action of antinematodal drugs. *Acta veterinaria*, 67(2), 137.

AL-Aloosy, Y. A. M., AL-Tameemi, A. J. et Jumaa S. S. (2019). The role of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in facing the environmental stresses of plant. *Plant Archives*, 19(1):1057-1060.

Anand, K et Wakod. (2017). Development of drugs based on Benzimidazole Heterocycle: Recent advancement and insights. *International Journal of Chemical Studies*, 5(2): 350-362.

Arts, I. C., & Hollman, P. C. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 317S-325S.

Ashida, H., Furuyashiki, T., Nagayasu, H., Bessho, H., Sakakibara, H., Hashimoto, T., & Kanazawa, K. (2004). Anti-obesity actions of green tea: possible involvements in modulation of the glucose uptake system and suppression of the adipogenesis-related transcription factors. *Biofactors*, 22(1- 4), 135-140.

Ayad-Mokhtari, N. (2012). Identification et dosage des pesticides dans l'Agriculture et les problèmes d'environnement liés. *Magister Thesis, University of Oran, Oran, 87p.*

B

Babior, B. M. (2004). NADPH oxidase. *Current opinion in immunology*, 16(1), 42-47.

Badraoui R., Sahnoun Z., Bouayed A., Hakim A., Fki M., et Rebaï T. (2007). Peut état des antioxydants épuisement par Tetradifon induire génotoxicité secondaire chez les rats Wistar femelles par le stress oxydatif. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88, P: 149–155.

Badouard, C. (2006). *Les lésions des acides nucléiques: détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation* [thèse de doctorat, Université Joseph-Fourier-Grenoble I, France]. 229.

Banerjee, B., & Chaudhuri, T. C. (Eds.). (2005). *Therapeutic effects of tea*. Science publishers, P.101.

Batsch D. (2011). L'impact des pesticides sur la santé humaine. *Sciences pharmaceutiques*. 63-66.

Bayrasy C.(2013). *Influence de la lipophilisation de l'acide rosmarinique sur ses propriétés antioxydants*, [thèse de doctorat, Université Montpellier II, France].12.

Béguel, J P.(2012). *Étude de la capacité antioxydante en lien avec la reproduction chez l'huître creuse Crassostrea gigas*, [thèse de doctorat, Université Montpellier II, France].28.

Belščak-Cvitanović, A., Durgo, K., Huđek, A., Bačun-Družina, V., & Komes, D. (2018). Overview of polyphenols and their properties. In *Polyphenols: Properties, recovery, and applications* .3-44.

Ben saad, H., Ben Abdallah F., Bkhairia, I., Boudawara, O., Nasri M., Hakim A., Ben amara I. (2020). Efficacy of Essential Trace Elements Supplementation on Mineral Composition, Sperm Characteristics, Antioxidant Status, and Genotoxicity in Testis of Tebuconazole-treated Rats. *Biomed Environ Sci*. 33(10): 760-770.

Bensakhria, A.(2018). *Le stress oxydatif*, [mémoire de maîtrise, Université Católica San Antonio , Murcia].14.

Références bibliographiques

Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S., & Crowe, S. E. (2014). Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological reviews*, 94(2):329-354.

Bohand, X., Edouard, B., & Maslin, J. (2004). Médicaments antihelminthiques. *EMC-Maladies infectieuses*, 1(3), 221-233

Boutbir, J. (2010). *Etude des effets des statines sur la fonction mitochondriale des muscles cardiaque et squelettique*, [thèse de doctorat, Université de Strasbourg, France].30.

Burkhard N., Stulz J., Boos R N., Pigeon O. (2008). Thiabendazole Product-type 8 (Wood preservatives). Finalised in the Standing Committee on Biocidal Products. 7-10.

C

Carange, J. (2010). *Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection* ([thèse de doctorat, Université du Québec à Trois-Rivières, Canada] .38.

Carrière, A., Galinier, A., Fernandez, Y., Carmona, M. C., Pénicaud, L., & Casteilla, L. (2006). Les espèces actives de l'oxygène: le yin et le yang de la mitochondrie. *médecine/sciences*, 22(1), 47-53.

Cazet, L. D. M. (2007). Bilan du taux de contamination et étude préparatoire au dosage de résidus de produits phytosanitaires dans le lait de grand mélange bovin. *Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine vétérinaire*. 127.

Cha, HJ., Byrom, M., Mead, PE., Ellington, AD., Wallingford, JB. et al. (2012). Evolutionarily Repurposed Networks Reveal the Well-Known Antifungal Drug Thiabendazole to Be a Novel Vascular Disrupting Agent. *PLoS Biol.* 10(8): e1001379.

Chan, P. C., Ramot, Y., Malarkey, D. E., Blackshear, P., Kissling, G. E., Travlos, G., & Nyska, A. (2010). Fourteen-week toxicity study of green tea extract in rats and mice. *Toxicologic pathology*, 38(7), 1070-1084.

Chandra, A. K., & De, N. (2010). Goitrogenic/antithyroidal potential of green tea extract in relation to catechin in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8-9), 2304-2311.

Chiali, F. Z., Merzouk, H., Merzouk, S. A., Medjdoub, A., & Narce, M. (2013). Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 106(1-2), 38-44.

Cochran, R. C., Kishiyama, J., Aldous, C., Carr Jr, W. C., & Pfeifer, K. F. (1995). Chlorpyrifos: hazard assessment based on a review of the effects of short-term and long-term exposure in animals and humans. *Food and chemical toxicology*, 33(2), 165-172.

Comhair, S. A., & Erzurum, S. C. (2002). Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. P238

Craft, B. D., Kerrihard, A. L., Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2012). Phenol- based antioxidants and the in vitro methods used for their assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2),:148-173.

Crespy, V et Gary, W. (2004). Effect of green tea catechins in vivo animal models. *International research council on food, nutrition and cancer*. 134:3431-3440.

Cruz–Correa, M., Shoskes, D. A., Sanchez, P., Zhao, R., Hyland, L. M., Wexner, S. D., & Giardiello, F. M. (2006). Combination treatment with curcumin and quercetin of adenomas in familial adenomatous polyposis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 4(8): 1035-1038.

Csiszár, J., Horváth, E., Bela, K., & Gallé, Á. (2016). Glutathione-related enzyme system: glutathione reductase (GR), glutathione transferases (GSTs) and glutathione peroxidases (GPXs). In *Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses* (137-158). Springer, Cham.

D

Dalvie D., Smith E., Deese A., Bowlin S. (2006). in vitro metabolic activation of thiabendazole via 5-hydroxythiabendazole : identification of a glutathione conjugate of 5-hydroxythiabendazole. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*. p :709.

Références bibliographiques

Desmier, T.(2016).*Les antioxydants de nos jours :definition et application*,[thèse de doctorat, Université deLimoges,France].

Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., & Victor, V. M. (2016). Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxidativemedicine and cellular longevity*, 2016. P44.

Driscoll, M., Dean, E., Reilly, E., Bergholz, E., et Chalfie ,M. (1989).Genetic and molecularanalysis of a *Caenorhabditiselegans*beta-tubulinthatconveysbenzimidazolesensitivity. *J. CellBiol.* 109:2993–3003.

Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cellfunction. *Physiologicalreviews*, 82(1), 47-95.

Dubrana, L.(2020). *Modèles poisson zèbre de l'intoxication aux organophosphorés cholinergiques et neuropathiques et évaluation de l'efficacité d'antidotes* , [thèse de doctorat, , Bordeaux, France)p :1-211.

Dumancas G G., HikkaduwaKoralege R S., Mojica E R., Murdianti B S., Pham P J.(2014). Thiabendazole. *Encyclopedia of Toxicology*, 4 :533-536.

E

Eddhima, Z.(2019).Les radicaux libres :*Effets ,mécanismes et approches thérapeutiques*, [thèse de doctorat, Université Mohammed V- Rabat, Maroc].4.

El Azzouzi El Habib, E. H. (2013). Les processus physico-chimiques de l'élimination des pesticides dans l'environnement: cas de l'herbicide Imazethapyr, P.138.

El Daly, A. A. (2011). Effect of Green TeaExtract on the Rat Liver; Histo-architectural, Histochemical and UltrastructuralStudies. *Journal of American Science*, 7(5), 65-73.

El-Missiry, M A .(2012). AntioxidantEnzyme .IntechOpen.Rijeka.

EPA/RED. (2002). Thiabendazole and Salts. Prevention Pesticides And Toxic Substances. United States Environmental Protection Agency. p :2.

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

Keeffe, E B. (2005). Acute liver failure. *Rev. Gastroenterol. Mex.* 70: 56-62.

Fillon, L. (2014). Le thé et le syndrome métabolique, P. 181.

Frédéric, L. E. N. Z. I. (1985). *Contribution à l'étude du stress oxydant cellulaire chez le chien de traineau en course de sprint*, [thèse de doctorat, VETAGRO SUP, France].132.

G

Garait, B. (2006). *Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®*, [thèse de doctorat Université Joseph-Fourier-Grenoble I, France]. 1-132.

Gueye, P M.(2007). *Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge*, [thèse de doctorat, l'Université Louis Pasteur ,france].14.

Guillouty, A.(2016). *Plantes médicinales et antioxydants*, [thèse de doctorat, l'Université Louis Pasteur ,france].p :37-80.

Gülçin, İ.,Huyut, Z., Elmastaş, M., &Aboul-Enein, H. Y. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(1), 43-53.

H

Hadi, M. (2004). *La quercitrine et ses dérivés: molécules à caractère pro oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques*, [Thèse de Doctorat ,Université Louis Pasteur, France]. 20.

Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant physiology*, 141(2), 312-322.

Harrison, R. (2002). Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now?. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(6), 774-797.

Hilenbrand, V.(1999).*Place de la peroxydation lipidique dans les effets délétères des UV-A : mise en évidence des haptènes amino-imino-propène : intérêts potentiels des antioxydants lipophiles en cosmétologie*, [thèse de doctorat, Université Joseph Fourier ,Grenobel, France].24.

Hrelia, S., Bordoni, A., Angeloni, C., Leoncini, E., Toschi, T. G., Lercker, G., & Biagi, P. L. (2002). Green tea extracts can counteract the modification of fatty acid composition induced by doxorubicin in cultured cardiomyocytes. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 66(5-6): 519-524.

K

Khan, N., & Mukhtar, H. (2019). Teapolyphenols in promotion of human health. *Nutrients*, 11(1), 39.

Kriepps, M. (2009). *Le thé: Origine, Actualité et potentialités* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré), P. 215.

Kumar, S. (2011). Free radicals and antioxidants: human and food system. *AdvApplSciRes*, 2(1):129-135.

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*, 2013, P. 16.

L

Lambert, J. D., Kennett, M. J., Sang, S., Reuhl, K. R., Ju, J., & Yang, C. S. (2010). Hepatotoxicity of high oral dose (-)-epigallocatechin-3-gallate in mice. *Food and chemical toxicology*, 48(1), 409-416.

Lassed, S., & Zama, D. (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* (Doctoral dissertation, جامعة الإخوة منتوري قسنطينة), P. 143.

LENZI, F. (2011). Contribution à l'étude du stress oxydant cellulaire chez le chien de traineau en course de sprint.

Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., ... & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging, 13*, 757.

Łuczaj, W., & Skrzydlewska, E. (2005). Antioxidative properties of black tea. *Preventive medicine, 40*(6), 910-918.

M

Mahmood, T., Akhtar, N., & Khan, B. A. (2010). The morphology, characteristics, and medicinal properties of *Camellia sinensis* tea. *Journal of Medicinal Plants Research, 4*(19), 2028-2033.

Matsunami, T., Sato, Y., Sato, T., & Yukawa, M. (2010). Antioxidant status and lipid peroxidation in diabetic rats under hyperbaric oxygen exposure. *Physiological Research, 59*(1).

Martin, S., & Andriantsitohaina, R. (2002, December). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* .. 51(6): 304-315 .

McKenna, D. J., Jones, K., Hughes, K., & Tyler, V. M. (2012). *Botanical medicines: the desk reference for major herbal supplements*. Routledge, P. 175.

Ménard, C., Beck, F., & Peretti-Watel, P. (2014). Cancer et environnement: perceptions de la population à partir des enquêtes de l'Institut national de prévention et d'éducation pour la santé. *Environnement, Risques & Santé, 13*(4), 312-317.

Merhi, M. (2008). *Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses: caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin* (Doctoral dissertation), P.140.

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences, 27*(4), 405-412.

Mimouni, I. (2020). *Le processus oxydatif et les antioxydants en pathologie humaine*, [thèse de doctorat, L'Ecole Royale du Service de Santé Militaire - Rabat, Maroc], P.152.

Morgane G., Doumerc S.(2004).Elevage et reproduction des rongeurs myorphes domestiques en France. *La faculté de médecine de Cretiel*. p : 23.

Mizutani, T., I. K., Nomura, H., Nakanishi, K. (1990). Nephrotoxicity of thiabendazole in mice depleted of glutathione by treatment with DL-buthioninesulphoximine. *Food Chem. Toxicol.* 28: 169-177.

Mossion, A. (2007). Étude de la composition minérale et organique des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques: influence des paramètres physico-chimiques de l'eau (Doctoral dissertation), P. 204.

N

Na, H. K., &Surh, Y. J. (2008). Modulation of Nrf2-mediated antioxidant and detoxifying enzyme induction by the green teapolyphenol EGCG. *Food and Chemical Toxicology*, 46(4), 1271-1278.

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

O

Olszowy, M. (2019). What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants?. *Plant Physiology and Biochemistry*, 144, 135-143.

Oueslati, K.(2017). *Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton dans un milieu mimétique de la viande* ,[thèse de doctorat, Université Clermont Auvergne ,France].p:12.

P

Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., ... &Bitto, A. (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, p.13.

Powers, S. K., & Sen, C. K. (2000). Physiological antioxidants and exercise training. In *Handbook of oxidants and antioxidants in exercise* (pp. 221-242). Elsevier Science BV.

Preiser, J. C. (2012). Oxidative stress. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 36(2), 147-154.

Q

Quideau, S., Deffieux, D., Douat- Casassus, C., & Pouységu, L. (2011). Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 586-621.

R

Ragan, N B. (2007). Some evidence of effects of environmental chemicals on the endocrine system in children. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 210(5): 659-667.

Raofi, R., Jahromi, H. K., Jahromi, Z. K., Abedi, H. A., Sameni, H., & Pourahmad, M. (2016). Antioxidant effects of green-tea on biochemical and histopathological changes of liver in male rats poisoned by malathion insecticide. *Int J Med Res Health Sci*, 5(5), 361-70.

Richard, W.(2013). *Nouvelle stratégie de fonctionnalisation de surfaces d'électrodes à base de sels de diazonium : application aux capteurs à antioxydants*, [thèse de doctorat, l'Université Paul-Sabatier de Toulouse, France].43

Roger, C., Charles, A., Tareq, A.(2001). thiabendazole. Medical Toxicology and Worker Health and Safety Branches Department of Pesticide Regulation California Environmental Protection Agency. 24-25.

S

Sáez, GT., et Están-Capell, N (2017). Antioxidant enzymes. In: Schwab M (ed) *Encyclopedia of cancer*. Springer, Berlin Heidelberg. 288–294.

Samir, B. (2018). *Dégradation électrochimique du thiabendazole et l'imazalil. Étude de réactivité atmosphérique des composés aromatiques hétérocycliques azotés* (Doctoral dissertation, Reims). p : 72.

Sandoval-Acuna, C., Ferreira, J., & Speisky, H. (2014). Polyphenols and mitochondria: an update on their increasingly emerging ROS-scavenging independent actions. *Archives of biochemistry and biophysics*, 559, 75-90.

Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). *Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism* (pp. 1-28). London, UK: IntechOpen.

Seide, M. (2008). *Étude de la toxicité des médicaments posicor et en culture primaire*, [thèse de doctorat, Université Laval, Québec, Canada].43.

Senguttuvan, J., Paulsamy, S., & Karthika, K. (2014). Phytochemical analysis and evaluation of leaf and root parts of the medicinal herb, *Hypochoeris radicata* L. for in vitro antioxidant activities. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4, S359-S367. P9

Sharangi, A B. (2009). Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.). *Food Research International* .42 :529–535

Siddiqui, I. A., Asim, M., Hafeez, B. B., Adhami, V. M., Tarapore, R. S., & Mukhtar, H. (2011). Green tea polyphenol EGCG blunts androgen receptor function in prostate cancer. *The FASEB Journal*, 25(4), 1198-1207.

T

Tamion, F., Clabault, K., & Bonmarchand, G. (2003). Ischémie–reperfusion mésentérique lors des états de choc: principaux aspects physiopathologiques. *Réanimation*, 12(6), 441-448.

Traore S K., Dembele A., Mamadou K., Baba S D., Mazellier P., Legube B., Houenou P. (2005). Dégradation photochimique d'un Fongicide de la famille des Benzimidazoles. *Editorial Advisory Board* .19(1), 162-173.

Terrier-Lenglet, A., Nollet, A., Liabeuf, S., Barreto, D. V., Brazier, M., Lemke, H. D., ... & Massy, Z. A. (2011). Le malondialdéhyde est-il un facteur prédictif de mortalité chez les patients ayant une maladie rénale chronique?. *Néphrologie & thérapeutique*, 7(4), 219-224.

Tremellen, K. (2008). Oxidative stress and male infertility—a clinical perspective. *Human reproduction update*, 14(3), 243-258.

Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.

V

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M., Mazur, M. et Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 39, P:44–84.

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

Vidé, J. (2015). *Effets potentiels et mécanismes d'action antioxydant et anti-inflammatoire d'un apport nutritionnel de spirulines enrichies en silicium*, [thèse de doctorat, Université Montpellier, France]. 38.

W

Wassmann, S., Wassmann, K., & Nickenig, G. (2004). Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*, 44(4), 381-386.

Y

Yoshida, M., Takahashi, M., Inoue, K., Nakae, D., & Nishikawa, A. (2011). Lack of chronic toxicity and carcinogenicity of dietary administered catechin mixture in Wistar Hannover GALAS rats. *The Journal of toxicological sciences*, 36(3), 297-311.

Z

Références bibliographiques

Zama, D., Meraihi, Z., Tebibel, S., Benayssa, W., Benayache, F., Benayache, S., & Vlietinck, A. J. (2007). Chlorpyrifos-induced oxidative stress and tissue damage in the liver, kidney, brain and fetus in pregnant rats: The protective role of the butanolic extract of *Paronychia argentea* L. *Indian Journal of Pharmacology*, 39(3), 145.

Zangar, R. C., Davydov, D. R., & Verma, S. (2004). Mechanisms that regulate production of reactive oxygen species by cytochrome P450. *Toxicology and applied pharmacology*, 199(3), 316-331.

Zhang, C., Zhong, B., Yang, S., Pan, L., Yu, S., Li, Z., Li S., Su B. et Meng X. (2015). Synthesis and Biological Evaluation of Thiabendazole Derivatives as Anti-angiogenesis and Vascular Disrupting Agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. (15):00292-8.

Résumé :

Depuis longtemps, le thiabendazole est utilisé comme une bonne solution pour la lutte contre les infections parasitaires chez l'homme et l'animal, bien que son utilisation est bénéfique, possède une toxicité sur la santé à l'apparition de diverses pathologies considérées comme étant complexes, et la prévention de ces risques est par l'utilisation des substances naturelles résultantes du métabolisme secondaire de plusieurs végétaux comme les polyphénols. La présente étude avait pour objectifs d'évaluer le rôle protecteur de l'extrait de thé vert *Camellia sinensis* contre l'effet toxique de thiabendazole chez des rats de laboratoire *Rattus norvegicus*. La toxicité de TBZ a été évaluée chez les rats par administration d'une dose de 500mg/kg en présence et en absence de l'extrait du thé vert à 2% pendant 30 jours. Les résultats obtenus montrent une intoxication au niveau des paramètres du stress oxydant, ainsi la présence de l'effet préventif de l'extrait polyphénolique de thé vert contre les dommages oxydatifs induites par la TBZ.

Mots clés : Thiabendazole, *Camellia sinensis*, polyphénols, Effet toxique, effet préventif, stress oxydant.

Abstract :

For a long time, thiabendazole is used as a good solution for the control of parasitic infection in humans and animals, although are beneficial use, possess a toxicity on the health to the appearance of various pathologies considered complex, for the prevention of these risks is through the use of natural substances resulting from the secondary metabolism of several plants as polyphenols. The present study aimed to evaluate the protective role of the green tea extract *Camellia sinensis* against the toxic effect of thiabendazole in laboratory rats *Rattus norvegicus*. The toxicity of TBZ was evaluated in rats by administering a dose of 500mg/kg in the presence and absence of the green tea extract at 2% for 30 days. The results obtained show an intoxication at the level of the parameters of the oxidative stress, as well as the presence of the preventive effect of the polyphenolic extract of green tea against the oxidative damage induced by TBZ.

Mots clés: Thiabendazole, *Camellia sinensis*, polyphénols, effet toxique, effet preventif, stress oxydant.

ملخص:

لفترة طويلة ، يستخدم الثيابندازول كحل جيد للسيطرة على العدوى الطفيلية لدى البشر والحيوانات ، على الرغم من أنها مفيدة الاستخدام ، إلا أنها تمتلك سمية على الصحة لظهور أمراض مختلفة تعتبر معقدة ، والوقاية من هذه المخاطر تتح من خلال استخدام المواد الطبيعية الناتجة عن التمثيل الغذائي الثانوي للعديد من النباتات مثل البوليفينولات. هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم الدور الوقائي لمستخلص الشاي الأخضر *Camellia sinensis* ضد التأثير السام للثيابندازول في فئران التجارب *Rattus norvegicus*. تم تقييم سمية TBZ في الفئران عن طريق إعطاء جرعة مقدارها 500 مجم / كجم في وجود وغياب مستخلص الشاي الأخضر بنسبة 2٪ لمدة 30 يومًا. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها حدوث تسمم على مستوى معايير الإجهاد التأكسدي ، وكذلك وجود التأثير الوقائي لمستخلص البوليفينول للشاي الأخضر ضد الضرر التأكسدي الذي يسببه TBZ.

الكلمات المفتاحية: الثيابندازول، البوليفينول، الشاي الاخضر، التأثير السام، التأثير الوقائي، الإجهاد التأكسدي.