

**République Algérienne Démocratique Et Populaire**  
**Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique**  
**Université De Blida 1**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie et Physiologie Cellulaire**  
**Laboratoire de biotechnologie, environnement et santé**  
**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme**  
**De MASTER en Biologie**  
**Option : BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE**  
**Thème**

**Evaluation du stress oxydatif induit par un insecticide de la famille des  
Avermectines**

**Présenté par :**

**M<sup>elle</sup> : HAMLAOUI WISSEM**

**Soutenu Le : 15/09/2020**

**Devant Les Jurys Composé De :**

<b>M<sup>me</sup> MATMOURA A.</b>	<b>MAA</b>	<b>USDB1</b>	<b>PRESIDENTE</b>
<b>M<sup>me</sup> BOUAZA M.</b>	<b>Assistante</b>	<b>USDB1</b>	<b>EXAMINATRICE</b>
<b>M<sup>me</sup> BOKRETA S.</b>	<b>MAA</b>	<b>USDB1</b>	<b>PROMOTRICE</b>

**Année Universitaire : 2019 /2020**

## REMERCIEMENTS

Ce mémoire de fin d'étude vient finaliser 5 ans de mon parcours universitaire.

Je tiens à remercier en quelques lignes tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à ce travail.

Je remercie en premier lieu ALLAH le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il m'a donné pour l'achèvement de cette mémoire, il a été et sera toujours

à côté de moi pour réussir à terminer n'importe quel travail.

Je tiens à remercier chaleureusement ma promotrice « Madame BOKRETA.S», pour

m'avoir dirigée et guidée tout le long de ce travail. Ses conseils et ses remarques constructifs étaient très bénéfiques pour mon travail. Son soutien permanent ainsi

que sa disponibilité pour l'achèvement de ce travail m'a été très favorables.

je lui témoigne mon gratitude pour sa patience et surtout sa gentillesse.

Madame MATMOURA d'avoir bien voulu me faire l'honneur de présider ce jury.

Madame BOUAZA .M pour avoir bien voulu examiner ce travail et être membre de jury.

## Dédicaces

C'est avec plein d'amour et de fierté que je dédie ce travail, fruit de longues années d'études

À mes très chers parents surtout ma mère RABHI FATIHA tous les mots du monde ne saurait exprimer l'immense amour que je te porte Mama, ni la profonde gratitude que je te témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que tu n'as jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. Aussi je dédie ce travail à mon bras droit mon chère frère IMED EDDIN.

A mes chères copines Nardjes et Meriem

Et une spéciale dédicace pour ma chère professeur Mme SAIDI. L et pour

Ma très chère Promotrice Mme BOUKRETA .S

Enfin Pour celles et ceux qui ont partagé mes joies et mes peines, qui m'ont tant aidé et soutenu.

Madame MATMOURA d'avoir bien voulu me faire l'honneur de présider ce jury.

Madame BOUAZA .M pour avoir bien voulu examiner ce travail et être membre de jury.

## Résumé

Les avermectines sont des lactones macrocycliques dotés de puissants propriétés anthelminthiques et insecticides. Cette étude vise à explorer le profil du stress oxydant (la vitamine C, le malondialdéhyde (MDA), l'activité de la catalase (CAT), le glutathion réduit (GSH) et les protéines carbonylées) induit par un insecticide de la famille des avermectines chez le lapin male d'une population locale.

L'analyse de l'ensemble de données collectées des études antérieures nous a permis de suggérer les résultats attendus pour notre étude. L'exposition subaiguë aux avermectines pourrait causer une diminution significative des taux plasmatiques de la vitamine C et de l'activité enzymatique antioxydante CAT chez les lapins traités par rapport aux témoins. Le traitement des lapins par l'ivermectine pourrait provoquer une baisse significative de la concentration de GSH érythrocytaire. L'exposition subaiguë aux avermectines pourrait aussi induire la formation d'un excès des protéines carbonylées plasmatiques et érythrocytaires et une augmentation significative de taux de MDA chez les lapins traités par rapport aux témoins démontrant ainsi une peroxydation lipidiques. Ces perturbations des paramètres de stress oxydatif pourraient être dose et temps dépendante.

A la lumière des résultats attendus, nous pouvons conclure que l'exposition subaiguë à l'ivermectine peut entraîner un déséquilibre de la balance «pro-oxydants/antioxydants » en faveur des oxydants.

**Mots Clés :** Stress Oxydatif, Avermectines, Insecticide, Lapin.

## **Abstract**

Avermectins are macrocyclic lactones with potent anthelmintic and insecticidal properties. This study aims to explore the profile of oxidative stress (vitamin C, malondialdehyde (MDA), catalase activity (CAT), reduced glutathion (GSH) and carbonylated proteins) induced by an insecticide of the family of avermectins in male rabbits from a local population.

Analysis of all the data collected from previous studies allowed us to suggest the expected results for our study. Subacute exposure to avermectins could cause a significant decrease in plasma's vitamin C levels and antioxidant enzyme activity (CAT) in treated rabbits compared to controls. Treatment of rabbits with avermectin could cause a significant decrease in the level of erythrocyte's GSH. Subacute exposure to avermectins could also induce the formation of an excess of plasma's and erythrocyte's carbonyl proteins and a significant increase in MDA levels in treated rabbits compared to controls, thus indicating lipid peroxidation. These disturbances in oxidative stress parameters could be dose and time dependent.

In the light of the expected results, we can conclude that subacute exposure to avermectin can lead to an imbalance of the "pro-oxidant / antioxidant" balance in favor of oxidants.

**Keywords:** Oxidative Stress, Avermectins, Insecticide, Rabbit.

## الملخص

Avermectins هي لآكتونات كبيرة الحلقات لها خصائص طاردة للديدان ومبيدات الحشرات. تهدف هذه الدراسة إلى استكشاف خصائص الإجهاد التأكسدي (فيتامين ج ، مالونديالدهيد (MDA) ، نشاط الكاتالاز (CAT) ، الجلوتاثيون المنخفض (GSH) والبروتينات الكربونية) الناجم عن مبيد حشري من عائلة avermectins في ذكور الأرانب المحليين.

سمح لنا تحليل جميع البيانات التي تم جمعها من الدراسات السابقة باقتراح النتائج المتوقعة لدراستنا. يمكن أن يتسبب التعرض تحت الحاد لـ avermectins في انخفاض كبير في مستويات فيتامين C في البلازما والنشاط الأنزيمي CAT المضاد للأكسدة في الأرانب المعالجة مقارنةً بالمجموعة الضابطة. يمكن أن يؤدي علاج الأرانب مع avermectin إلى انخفاض كبير في مستوى كريات الدم الحمراء GSH. كما يمكن أن يؤدي التعرض تحت الحاد لـ avermectins أيضًا إلى تكوين فائض من البروتينات الكربونية للبلازما وكريات الدم الحمراء وزيادة كبيرة في مستويات MDA في الأرانب المعالجة مقارنةً بالمجموعة الضابطة ، مما يشير إلى بيروكسيد الدهون. يمكن أن تتبع هذه الاضطرابات في معاملات الإجهاد التأكسدي على الجرعة والوقت.

في ضوء النتائج المتوقعة ، يمكننا أن نستنتج أن التعرض تحت الحاد لمادة avermectin قد يؤدي إلى اختلال التوازن "المؤيد للأكسدة / مضادات الأكسدة" لصالح المؤكسدات.

**الكلمات المفتاحية:** الإجهاد التأكسدي ، أفيرمكتين ، مبيد حشري ، أرنب.

## Liste des abréviations

**ADN** : Acide désoxyriboncléique

**AGPI** : Les acides gras polyinsaturés

**CAT** : Catalase

**CI<sub>Glu</sub>** : glutamate

**DL50** : Dose létale 50.

**EAA** : Espèce azotées actives

**EAR** : Espèce réactive de l'azote

**EDTA** : éthylène diamine tétra-acétique.

**EOR** : Espèce réactive de l'oxygène

**ER** : Espèce réactive

**GABA** : récepteur de l'acide gamma-amin butyrique.

**GP<sub>x</sub>** : Glutathion peroxydase

**GSH** : Glutathion réduit

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**HPLC** : La chromatographie en phase liquide à haute performance

**HO•**: Radical hydroxyle

**HOCl**: Acide hypochloreux

**LDL**: Low density lipoprotein

**LO•**: Radicaux alkoxyles d'AG

**LOO•**: Radical peroxyde d'AG

**LPO**: Lipoperoxyde

**MDA:** Malondialdehyde

**N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>:** Trioxyde d'azote

**NO:** Monoxyde d'azote

**NO<sub>2</sub><sup>-</sup>:** Ion nitrate

**O<sub>2</sub>:** Oxygène singulet 1

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>:** Radical superoxyde

**ONOO<sup>-</sup>:** peroxydinitrite

**RL:** radical libre

**RO<sup>•</sup>:** Radical secondaire alkoxyde

**RO<sub>2</sub><sup>•</sup>:** Radical peroxyde

**SOD:** Superoxyde dismutase

**SNC:** système nerveux central



## Liste des figures

- Figure 1** : Oxydation au sens large du glucose ou « Glycosoxydation », selon les 2 voies principales (Halliwell et Gutteridge, 2007). .....28
- Figure 2**: Stratégies de lutte des antioxydants contre les causes et les conséquences du stress oxydant (Grandjean, 2005). .....29
- Figure 3** : Effets du CAPE (10  $\mu$ mol / kg i.p) et du BET (250 mg / kg de poids corporel par voie orale), seuls et en association, sur les taux d'oxydant/paramètres antioxydants chez les rats mâles, recevant ABM (2 mg /kg de poids corporel pendant 5 jours) (Mohamed., Suhair A.2018).....42
- Figure 4**. LPO (A), teneur en GSH (B) et activité GPx (C) dans le tissu hépatique de souris mâles traitées avec abamectine (3,8 mg / kg) (Mohamed., Suhair A.2018).....43

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.</b> Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organique. <b>(djafal, (Mac Laren, 2007))</b> .....	25
--	----

# Sommaire

## Introduction

## I Chapitre I: Etude bibliographique

### 1. Généralités sur les pesticides .....16

#### 1.1. Définition du terme « pesticide » .....16

#### 1.2. Classification des pesticides .....16

#### 1.3. Impact des pesticides sur la santé humaine.....18

### 2 .AVERMECTINES.....

#### 2.1. Définition.....18

#### 2.2 Classification .....19

#### 2.3 Mode d'action .....20

#### 2.4 Toxicité des avermectines.....20

### 3. STRESS OXYDATIF.....

#### 3.1. Définition du stress oxydatif.....21

#### 3.2. Espèces réactives oxydantes (ERO) .....21

### 4. ANTIOXYDANTS.....28

## Chapitre II : Matériel et Méthodes

### II. Matériel et Méthodes (Protocole Expérimental Prévu).....

#### 1. Matériel.....32

#### 2. Méthodes .....33

##### 2.1. Expérimentation.....33

##### 2.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des échantillons.....34

2.3. Détermination du statut oxydant /antioxydant.....	34
2.3.1. Dosage de la vitamine C.....	
2.3.2. Détermination du malondialdéhyde.....	
2.3.3. Détermination de l'activité enzymatique antioxydante de la catalase CAT .....	
2.3.4. Dosage du glutathion réduit.....	
2.3.5. Détermination des protéines carbonylées.....	
<b>3. Analyse statistique.....</b>	<b>36</b>

### **III. Résultats Attendus et discussion**

1. Résultats attendus de l'effet de l'ivermectine sur la Vitamine C.....	38
2. Résultats attendus de l'effet de l'ivermectine sur le Malondialdéhyde...	38
3. Résultats attendus de l'effet de l'ivermectine sur l'activité enzymatique antioxydante de la catalase (CAT).....	39
4. Résultats attendus de l'effet de l'ivermectine sur le glutathion réduit (GSH).....	40
5. Résultats attendus de l'effet de l'ivermectine sur les protéines carbonylées.....	41

### **Conclusion**

### **Références bibliographiques**

## INTRODUCTION

Les pesticides sont des produits chimiques utilisés largement dans l'agriculture, afin d'améliorer la production alimentaire et utilisée également dans la santé publique pour lutter contre la transmission des vecteurs des maladies (**Iyer, 2010, Parronet al., 2011**).

Les intoxications aiguës par les pesticides sont responsables d'une lourde mortalité mondiale et de pronostic variable selon le mode d'absorption (inhalation, ingestion, ou passage transcutané), la nature des produits et les quantités absorbées et bien sûr selon la qualité et la quantité ou la dose du pesticide utilisé (**Landier et al., 2013**). Il est estimé que 99 % de ces intoxications mortelles sont enregistrées dans les pays en développement qui sont particulièrement touchés par ce fléau en raison d'un manque de réglementation et de systèmes de surveillance (**Achour et al., 2014**). L'Algérie est n'est pas loin de ce risque en utilisant environ 6000 à 10 000 tonnes de pesticides par an (**Moussaoui, 2001**).

Les avermectines sont des lactones macrocycliques obtenues par fermentation naturelle de *Streptomyces avermitilis*. Les avermectines sont actuellement utilisée comme agent antiparasitaire dans le bétail et comme principe actif de nématocides et d'insecticides à usage agricole (**Castanha et al. 2012**). Les avermectines ont été largement utilisée dans le monde entier et sont toujours couramment utilisés en Algérie.

La toxicité induites par les pesticides peuvent être associées à une production accrue d'oxygène réactif espèces (ROS), qui expliquent les multiples types de réponses toxiques (**Zama et al. 2007**). La production de ROS est causée par un mécanisme dans lequel les xénobiotiques, les substances toxiques et les conditions pathologiques peuvent produire un stress oxydatif et induire

divers dommages tissulaires. Les cellules ont différents mécanismes pour atténuer le stress oxydatif et réparer les macromolécules endommagées. La défense principale est offerte par les antioxydants enzymatique et non enzymatique. Les antioxydants peuvent empêcher la formation incontrôlée de radicaux libres ou inhibent leur réaction avec les sites biologiques, la destruction de la plupart des radicaux libres repose également sur l'oxydation d'antioxydants endogènes principalement par piégeage et réduction des molécules (**Zama et al., 2007**).

Des études récentes indiquent que l'exposition aux pesticides produit le stress oxydant par la génération des radicaux libres et induit la peroxydation lipidique dans les tissus des mammifères et des autres organismes (**Mishra, 2013**). Le stress oxydatif est le résultat de déséquilibre entre les oxydants (malondialdéhyde (MDA), les hydroperoxydes(ROOH), les protéines carbonylées), et les antioxydants qui neutralisent ROS tels que la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, le glutathion réduit, et la catalase (**Badraoui et al. 2007**).

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressées à explorer le profil du stress oxydant (la vitamine C, le malondialdéhyde (MDA), l'activité de la catalase (CAT), le glutathion réduit (GSH) et les protéines carbonylées) induit par un insecticide de la famille des avermectines chez le lapin male.

Notre travail comporte trois chapitres. Dans le premier, nous rapportons des rappels bibliographiques sur les pesticides, les avermectines et le stress oxydatif. Nous décrivons le protocole expérimental prévu dans le deuxième chapitre. Les résultats attendus sont rapportés et discutés dans le troisième chapitre. A la fin, une conclusion et des perspectives sont présentées.

# **Chapitre 1**

## **Recherche bibliographique**

# **1. GENERALITES SUR LES PESTICIDES**

## **1.1. Définition du terme « pesticide »**

Etymologiquement, le mot « pesticide » est formé du mot français "peste" (fléau, maladie) et de suffixe "-cide" provenant du latin caedere (tuer). Littéralement, un pesticide est donc un « tueur de fléaux » (Cotonat, 1996 ; Couteux et Salaün, 2009). L'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définissent le terme pesticide comme : « Toute substance prévenant ou contrôlant toute espèce de plantes ou animaux indésirables, incluant aussi les substances utilisées comme régulateur de croissance végétale, désherbage ou desséchant » (FAO/WHO, 1998).

## **1.2. Classification des pesticides**

La classification de toutes les matières actives dépend de divers critères. L'hétérogénéité de ce vaste ensemble de produits rend difficile toute classification, certains auteurs séparent les pesticides minéraux de pesticides organiques (organochlorés et organophosphorés), d'autres préfèrent classer les produits selon la cible visée (insecticides, herbicides, fongicides, etc.), le domaine d'utilisation, leur toxicité, il y a alors plusieurs possibilités de classification, mais les deux systèmes de classification les plus utilisés sont le groupe chimique auquel le pesticide appartient ou le parasite sur lequel il agit, il s'ajoute à ces deux, la classification en fonction de leur usage.

### **1.2.1. Classification chimique**

En se basant sur le premier critère, on peut distinguer trois catégories de pesticides :

#### **a - Pesticides inorganiques**



Ils sont peu nombreux mais certains sont utilisés en très grande quantité comme le soufre ou le cuivre. Ce sont des pesticides très anciens dont l'emploi est apparu bien avant la chimie organique de synthèse. De cette époque ne subsistent aujourd'hui aucun insecticide, un seul herbicide employé en tant que désherbant total (chlorate de sodium) et quelques fongicides à base de soufre et cuivre comme la bouillie bordelaise ( $[Cu(OH)_2]_x, CaSO_4$ ) (Fillatre, 2011).

### **b - Pesticides organo-métalliques**

Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe fait d'un métal comme le zinc ou le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate (Fillatre, 2011).

### **c - Pesticides organiques**

Ils sont très nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques (Tomlin, 2006). Il existe actuellement plus de 80 familles ou classes chimiques dont les plus connues sont : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes, les triazines et les benzimidazoles (Bazzi, 2010).

#### **1.2.2. Classification biologique**

En se basant sur le deuxième critère qui est son action sur le parasite, on peut classer les pesticides en : insecticides, acaricides, fongicides, antibiotiques à usage agricole, herbicides, molluscicides, rodenticides, nematicides ou corvicides (Bazzi, 2010).

#### **1.2.3. Classification selon l'usage**

Les pesticides sont utilisés dans plusieurs domaines d'activités pour lutter contre des organismes vivants nuisibles. Il existe six catégories de pesticides selon leur destination de traitement, à savoir : les cultures, les bâtiments d'élevage, les locaux de stockage des produits végétaux, les zones non agricoles, les bâtiments d'habitation, l'homme et les animaux. L'agriculture est de loin

l'activité la plus consommatrice de pesticides. L'usage non agricole ne représente en effet que 12% du marché global (Fillatre, 2011).

### **1.3. Impact des pesticides sur la santé humaine**

L'exposition aux produits phytosanitaires peut occasionner deux types de dangers sur la santé humaine : effets aigus ou effets chroniques (Margoum, 2003). Les effets aigus et leurs conséquences sont le plus souvent immédiats, alors que les effets chroniques se développent sur une période plus longue et peuvent persister longtemps après le fait (Ould Kankou, 2004).

Les manifestations peuvent se limiter à des signes locaux : irritations cutanéomuqueuses, réactions allergiques cutanées ou oculaires, vomissements, toux, gêne respiratoire ou bien traduire l'atteinte d'un ou plusieurs organes ou systèmes : foie, rein, système nerveux central... On parle alors d'effets systémiques. L'intoxication massive peut avoir des conséquences graves, parfois mortelles. Les effets peuvent être de nature cancérigène : d'ordre neurologique, causant ainsi des troubles psychologiques, en particuliers des syndromes dépressifs ; ou bien se traduisent par l'atteinte de la reproduction, du développement et du système endocrinien (Kersante, 2003)

## **2. AVERMECTINES**

### **2.1. Définition**

Les avermectines (A : anti, Verm : ver, Ect : ectoparasite, IN : produit pharmaceutique) (Kolar et al. 2006), sont des composés organiques macrocycliques dotés de puissantes propriétés anthelminthiques et insecticides (Jennifer et David, 2005), produites à partir d'un bouillon de fermentation de la bactérie *Streptomyces avermitilis* (Shoop et Soll, 2002).

La famille des avermectines comporte deux groupes, A et B, à l'intérieur desquels il existe deux sous-groupes, appelés 1 et 2, consistant en deux homologues a et b. ces composants se combinent pour former huit variétés d'ivermectines : A1a, A2a, B1a et B2a ; A1b, A2b, B1b et B2b (*Pitterna et al. 2009*)

## **2.2 Classification**

Parmi les molécules avermectines issue de la fermentation *S. avermitilis* on cite :

### **2.2.1. L'ivermectine (22,23-dihydro-ivermectine B1)**

A été la première avermectine commercialisée. Elle est obtenue par hydrogénation sélective de la double liaison 22-23 de l'ivermectine B1, sa DL50 est estimée à 30 mg/kg chez la souris.

### **2.2.2 L'abamectine (ivermectine B1)**

Est aussi un produit de fermentation de *S. avermitilis*. Sa production est plus simple que celle de l'ivermectine. Elle est plus active sur les nématodes que l'ivermectine mais un peu moins efficace sur quelques arthropodes, bien que son utilisation en protection des cultures soit en relation avec son activité acaricide et insecticide.

### **2.2.3 La doramectine (25-cyclohexyl-ivermectine B1)**

Est un produit de fermentation d'une souche mutante de *S. avermitilis* en présence de l'acide cyclohexanecarboxylique, il est très lipophile et sa demi-vie tissulaire est beaucoup plus longue.

### **2.2.4 L'éprinomectine [4'-(épiacétylamino)-4'-désoxy-ivermectine B1]**

Elle a été sélectionnée parmi plus de 500 lactones macrocycliques en vue d'obtenir le spectre et la marge de sécurité les plus larges avec, en particulier, les

concentrations les plus faibles dans le lait, permettant ainsi son emploi chez les vaches laitières en production.

### **2.3 Mode d'action**

Les avermectines agissent en interférant avec la fonction des synapses neuromusculaires. Les effets antiparasitaires connus des avermectines sont :

- la paralysie des muscles pharyngiens.
- la paralysie des muscles somatiques.

Les effets paralysants sur les muscles pharyngiens sont associés à l'interaction des avermectines et des récepteurs des canaux de chlorure dépendants du glutamate (ClGlu), le rôle physiologique du ClGlu dans le pharynx est de régulariser l'action du glutamate libéré par les motoneurons pharyngiens, le glutamate exogène inhibe le pompage du pharynx, qui est imité par l'ivermectine. Par contre, la paralysie des muscles somatiques est associée aux récepteurs des canaux de chlorure dépendants de l'acide 4-aminobutanoïque, l'action des avermectines est qu'elles accroissent la perméabilité des muscles aux ions chlorure, ce qui à son tour réduit le potentiel excitateur et la résistance à la pénétration des tissus. En présence d'ivermectines, l'acide 4-aminobutanoïque est libéré, se lie aux membranes musculaires, et comme résultat, les canaux de chlorure demeurent ouverts. Cette charge négative est maintenue au motoneurone, et la membrane devient hyperpolarisée, bloquant les signaux pour une réaction excitatrice ou Inhibitrice ( **Sebbag, Lionel ;2011**)

### **2.4 Toxicité des avermectines**

Divers impacts létaux et sublétaux ont été observés sur des organismes non visés exposés aux avermectines. Le risque principal est celui de la neurotoxicité, qui chez la plupart des espèces de mammifères peut se manifester par une dépression du système nerveux central (SNC), avec pour conséquence une

ataxie, comme on aurait pu s'y attendre du fait de la potentialisation des synapses inhibitrices du système GABA-ergique. En général on utilise les pesticides sous forme de spécialités contenant plusieurs substances, ces préparations sont classées par l'Agence de protection de l'environnement des États-Unis comme toxiques de catégorie IV, c'est-à-dire très faiblement toxiques. Ceci signifie que bien que fortement toxiques pour les insectes, Les préparations de pesticides contenant de l'ivermectine ne devraient généralement pas avoir d'effet nuisible pour les mammifères en mode normal d'utilisation. Par exemple, on peut déterminer pour une telle préparation une DL50 par voie orale de 650 mg/kg chez le rat (toxicité classée en catégorie III : basse toxicité **(Sebbag, Lionel ; 2011)** Extrapolé à l'homme pour un poids de 80 kilogrammes, la DL50 est de 52 g correspondant à une faible toxicité **(Sebbag, Lionel ; 2011)**).

### **3. STRESS OXYDATIF**

#### **3.1. DEFINITION DU STRESS OXYDATIF**

Le stress oxydatif, dénommé également stress oxydant, résulte d'un déséquilibre de la balance « pro-oxydants/antioxydants » en faveur des oxydants, ce qui se traduit par 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 (Sergent *et al.* 2000).

#### **3.2. ESPECES REACTIVES OXYDANTES (ERO)**

##### **3.2.1. Définition**

Un radical libre (RL) est une entité chimique (atome, molécule ou fragment de molécule) capable d'exister sous forme indépendante, contenant au moins un électron célibataire ou non apparié sur sa couche électronique externe (ou contenant deux électrons de même spin dans une case quantique), ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003 ; Finaud *et al.*, 2006). Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelque nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (Goto *et al.* 2008). Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés :

1. Addition d'un électron libre à un non radical ( $\text{NR} + e^- \rightarrow \text{R}^\cdot$ ) ;
2. Perte d'un électron par un non radical ( $\text{NR} - e^- \rightarrow \text{R}^\cdot$ ) ;
3. Scission homolytique d'une liaison covalente ( $\text{A:B} \rightarrow \text{A}^\cdot + \text{B}^\cdot$ ) (Bonfont-Rousselot *et al.* 2003).

Il existe majoritairement deux grandes familles d'espèces réactives :

- **Les espèces réactives oxygénées** (ERO ou ROS Reactive Oxygen Species) ; également désignées dans la littérature de dérivés réactifs de l'oxygène ou d'espèces réactives de l'oxygène. Elles peuvent être définies comme des molécules qui contiennent de l'oxygène mais qui sont plus réactives que l'oxygène présent dans l'air. Les ERO incluent les radicaux libres comme l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) et le radical hydroxyle ( $\cdot\text{OH}$ ) et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ) et l'ozone ( $\text{O}_3$ ).

- **Les espèces réactives azotées** (ERA ou RNS Reactive Nitrogen Species) sont définies comme un sous-groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote ( $\cdot\text{NO}$ ). Ceci a poussé certains auteurs à parler de RONS

(Reactive Oxygen and Nitrogen Species) au lieu de ROS pour désigner l'ensemble des espèces réactives oxydantes radicalaires ou non radicalaires (Mac Laren, 2007), que nous désignons par l'abréviation ERO (Tableau 1).

**Tableau I.** Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organique. (djafal, (Mac Laren, 2007)

ERO	Abréviations
Espece oxygénées active	EOA
Radical ion anion su peroxyde	O <sub>2</sub>
Radical Hydro peroxyde	H <sub>2</sub> O
Peroxyde d'hydrogène	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Radical hydroxyle	OH
Singulet oxygène	O <sub>2</sub>
Ozone	O <sub>3</sub>
Espece azotées actives	EAA
Oxyde Nitrique ou monoxyde d'azote	NO
Dioxyde d'azote	NO <sub>2</sub>
Peroxyde nitrite	ONOO-

### 3.2.2. Rôle physiologique des espèces réactives oxydantes

De façon physiologique, les ERO existent dans les cellules et dans les tissus à des concentrations faibles mais mesurables (Halliwell et Gutteridge, 1989 ; Sies, 1991). Elles protègent, régulent la cellule et permettent de maintenir une certaine homéostasie de l'état redox de l'organisme. Lorsqu'elles sont produites dans un compartiment cellulaire spécifique, elles peuvent participer au fonctionnement de certaines enzymes, intervenir dans la défense immunitaire,

agir en tant que second messenger cellulaire, intervenir dans les voies de transduction du signal et réguler les fonctions cellulaires (Dikalov et al. 2007).

### 3.2.3. Mécanisme d'action des espèces réactives oxydantes

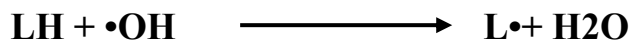
Les ERO réagissent avec les premières molécules qu'elles rencontrent. Elles ont comme cible les lipides, les protéines, les glucides et les acides nucléiques (Beckman et Ames, 1998).

#### 3.2.3.1. Cibles lipidiques

Les acides gras polyinsaturés (AGPI) sont les cibles privilégiées des ERO radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allylique facilement oxydable. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé, c'est-à-dire dégradé par un processus oxydant non enzymatique. Le mécanisme radicalaire comporte trois étapes successives : l'initiation, la propagation et la terminaison (Halliwell et Gutteridge, 1989).

-La phase d'initiation débute par une cassure homolytique d'une liaison sous l'arrachement d'un hydrogène (création d'un radical d'acide gras (R•) à partir d'un acide gras (RH)). Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que le •OH et le HOO•.

#### Phase d'initiation : (formation d'un radical lipidique)



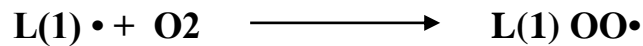
-Le radical lipidique R• subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical avec une structure de diène conjugué, plus stable. La propagation est réalisée par la fixation d'une molécule d'O<sub>2</sub> et formation un radical peroxyde (ROO•) (Esterbauer et al. 1992). Ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un hydrogène à un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction. L'hydroperoxyde lipidique (ROOH) formé



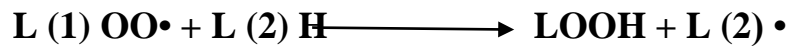
peut être oxydé en présence de métaux de transition divalents Fe<sup>2+</sup> ou Cu<sup>2+</sup> et entraîner la formation d'alcalanes et d'aldéhydes toxiques.

### **Phase de propagation**

#### **Réaction 1**



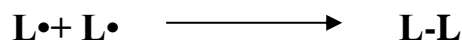
#### **Reaction 2**



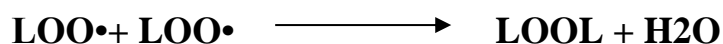
-La réaction en chaîne peut être interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante (Delattre et al. 2005).

### **Phase de terminaison : (Formation de composés stables)**

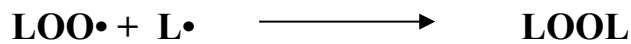
#### **Reaction 1**



#### **Reaction 2**



#### **Reaction 3**



L'attaque des lipides concerne les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires. Dans le premier cas, l'oxydation des lipides ou des lipoprotéines circulants aboutit à la formation des LDL oxydés qui peuvent être captés par les macrophages et former des dépôts lipidiques de la plaque d'athérome. Dans le second cas, l'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité de la membrane et perturbe le fonctionnement des récepteurs et des transporteurs se trouvant à leur surface (Favier, 2003). La peroxydation lipidique fournit ainsi une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malonyldialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonénal (4-HNE) ont été étudiés comme marqueur de la peroxydation lipidique (Bonfont-Rousselot et al. 2003).

### **3.3. Cibles non lipidiques**

#### **a - Oxydation des protéines**

A cause de leur abondance dans l'organisme, les protéines sont une cible importante des ERO. Les modifications oxydatives des protéines provoquent l'introduction d'un groupement carbonyle dans la protéine (formation de protéines carbonylées « PC ») (Levine, 2002). Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les métaux de transition (Bloomer et al. 2004). Elles peuvent être classées en deux catégories : d'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique (Levine, 2002). Il s'ensuit plusieurs types de modifications : fragmentation de la protéine, oxydation des chaînes latérales des acides aminés

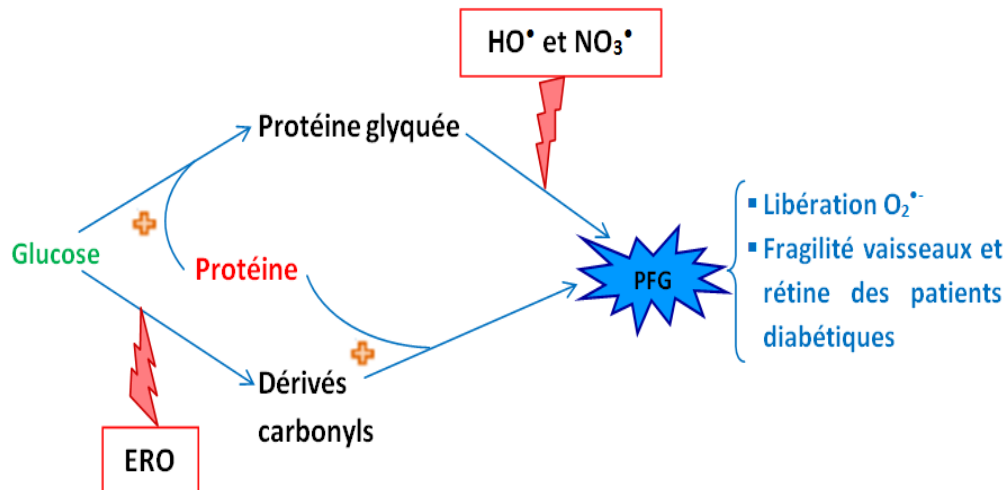
et formation de liaisons croisées entre deux protéines (Bonfont-Rousselot et al., 2001). Ces modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées (Levine, 2002) et deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées. L'oxydation de la cystéine est réversible mais peut également perturber les fonctions biologiques du glutathion (GSH) ou de certaines protéines. Le rôle des protéines dans la cellule est tel que leur dysfonctionnement peut bouleverser le fonctionnement cellulaire (enzymes et protéines structurales) (Delattre et al., 2005). L'accumulation des protéines oxydées est souvent mesurée par leurs contenus en carbonyles ou en nitrotyrosines (tyrosine oxydé). La détermination des protéines carbonylées (PC) se fait par spectrophotométrie et la détermination des nitrotyrosines peut se faire par HPLC.

### **b - Oxydation des glucides**

Les cibles glucidiques sont essentiellement le glucose et les protéoglycanes du cartilage. L'oxydation au sens large du glucose est aussi appelée « glycosoxydation » et regroupe en fait 2 mécanismes possibles (figure 1) ;(Halliwell et Gutteridge, 2007) :

- Soit oxydation au sens strict du glucose, donnant des dérivés carbonyles susceptibles de réagir avec une protéine, pour aboutir à la formation de « produits finaux de glycosylation » ou PFG (AGEs en anglais pour « advanced glycation end-products ») ;

- Soit formation d'une liaison covalente entre un ose et les groupements aminés libres d'une protéine : on parle de « glycosylation non-enzymatique des protéines ». Cela forme une protéine glyquée, qui peut être attaquée par des ERO telles que HO• ou NO<sub>3</sub><sup>-</sup> pour former des PFG.



**Figure 1** : Oxydation au sens large du glucose ou « Glycosoxydation », selon les 2 voies principales (Halliwell et Gutteridge, 2007).

### c - Altérations des acides nucléiques

Les ADN nucléaires et mitochondriaux constituent une cible cellulaire importante. Les bases qui composent l'ADN sont sensibles à l'oxydation. Ces attaques sont essentiellement causées par le HO•. Ainsi, ces dommages peuvent participer à une mutagenèse, à un arrêt des divisions cellulaires par blocage des mécanismes de réplication, à un arrêt de la synthèse protéique par blocage des mécanismes de transcription/traduction, et enfin à une mort cellulaire (Cadet et al., 2002). Selon McMichael (2007), les ERO pourraient même être impliquées dans l'initiation et la progression d'un cancer.

## 4. ANTIOXYDANTS

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell, 1990).

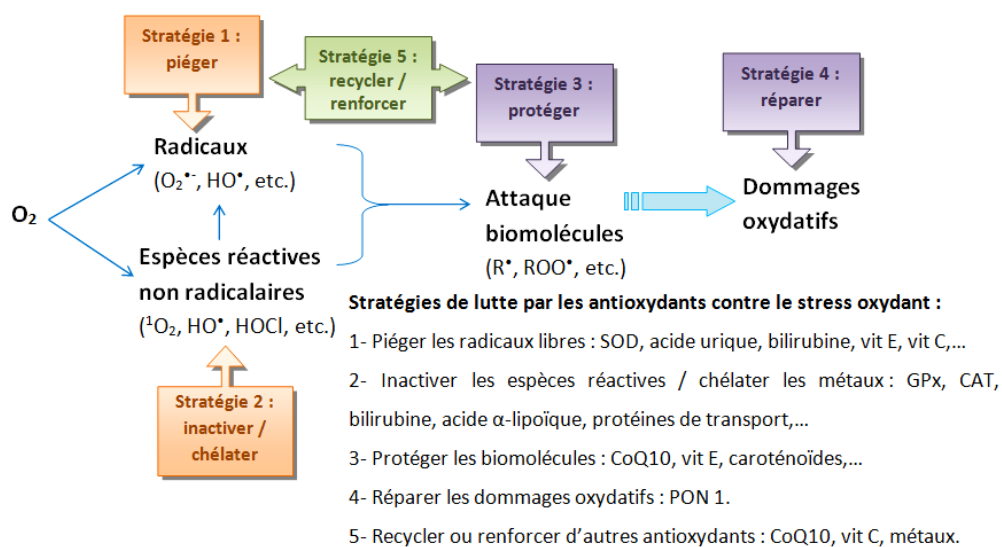
Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Delattre et al. 2005).

On distingue classiquement 2 catégories d'antioxydants :

- **les antioxydants enzymatiques** ; comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques. Les trois enzymes antioxydantes majeures sont les superoxydes dismutases (SOD), les glutathions peroxydases (GPx) et la catalase (CAT).

- **les antioxydants non enzymatiques** ; pour lesquels nous différencierons ceux qui sont liposolubles et donc répartis dans les membranes biologiques (tel que la vitamine E, les caroténoïdes et l'ubiquinol), de ceux qui sont hydrosolubles et donc plutôt répartis dans le cytosol, le milieu extracellulaire et le plasma (tel que la vitamine C, le glutathion, l'acide urique, la bilirubine et l'acide alpha-lipoïque).

Les stratégies de défense vis-à-vis du stress oxydant sont variées (figure 2).



**Figure 2:** Stratégies de lutte des antioxydants contre les causes et les conséquences du stress

Oxydant (Grandjean, 2005).

## 4.2. Risques des antioxydants

Un antioxydant peut devenir prooxydant et avoir l'effet contraire de celui escompté à partir du moment où la dose ingérée est trop importante, ainsi lors des suppléments, il ne faut pas dépasser les doses indiquées. Par exemple, La vitamine C est principalement anti-oxydante, mais en doses trop élevées et dans le processus de défense immunitaire, elle peut exercer un action pro-oxydante au travers de son habilité à réduire l'ion ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en ion ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) qui est un puissant catalyseur de plusieurs réaction redox comme la réaction de Fenton/Haber-Weiss. En augmentant la disponibilité du fer ferreux, la vitamine C pourrait favoriser les dommages causés à l'ADN (Duarte et *al.* 2007) et paradoxalement stimuler la réparation de l'ADN oxydé (Duarte et *al.* 2009). En excès la vitamine A pourrait agir comme pro-oxydants, et favoriser l'oxydation de l'ADN (van Helden et *al.* 2009).

# **Chapitre 2**

## **Matériel et méthode**

## II. Matériel et Méthodes (Protocole Expérimental Prévu)

Notre étude vise à explorer le profil du stress oxydant (la vitamine C, le malondialdéhyde (MDA), l'activité de la catalase (CAT), le glutathion réduit (GSH) et les protéines carbonylées) induit par un insecticide de la famille des avermectines.

En effet, suite à la propagation de la pandémie liée au COVID-19 dans le monde entier et en Algérie, tous les stages pratiques ont été annulés ce qui a répercuté négativement sur notre projet de fin d'études. Nous étions dans l'obligation donc de présenter un mémoire bibliographique dont le chapitre matériel et méthodes est théorique ainsi que pour les résultats attendus.

### 1. Matériel

#### 1.1. Modèle animal

Le modèle animal choisi dans la présente étude est le lapin d'une souche locale « *Oryctolagus cuniculus* ». Les différentes espèces de lapin sont des modèles expérimentaux très utiles dans diverses sphères de recherche biomédicale (embryologie, toxicologie, virologie, ect) et ils sont fréquemment utilisés dans des tests de toxicité (**Dewree et Drion, 2006**).

Notre étude est réalisée sur 20 lapins males, âgés de 3 à 4 mois et ayant un poids moyen de 2kg500 à 3kg. Durant la période d'expérimentation, ces animaux reçoivent chaque jour une alimentation standard et équilibré et de l'eau ad libitum. L'administration de l'insecticide (Avermectine) est faite par voie orale, à l'aide d'une sonde de gavage.

#### ➤ Taxonomie du Lapin

La position taxonomique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est la suivante (**Grasse., 1949 ; Lebas et al. 1984**) :

- Règne : Animalia



- **Embranchement** : Mammifères
- **Classe** : Mammifères
- **Super Ordre** : Glires
- **Ordre** : Lagomorphes
- **Famille** : Léporides (lièvre et lapin)
- **Sous-famille** : Leporinae
- **Genre** : *Oryctolagus*
- **Espèce** : *Oryctolagus cuniculus*

## 1.2. Matériel non biologique

La molécule testée (Avermectine) dans la présente étude est une formulation d'un insecticide composé de la matière active : l'abamectine, commercialisé par SYNGENTA.

L'ensemble du matériel non biologique est représenté par les instruments, les appareillages et les réactifs.

## 2. Méthodes

### 2.1. Expérimentation

Après la période d'acclimatization, l'ensemble des animaux (20 lapins) sont répartis en 04 lots de 5 lapins chacun:

- **lot 1**: Lot témoin recevant 1 ml/lapin/jour de l'eau distillée par gavage.

- **lot 2** : Lot traité recevait pendant 28 jours par gavage 5 mg/kg/jour d'Avermectine (1/100 DL50).

•**Lot 3** : Lot traité recevait pendant 28 jours par gavage 10 mg/kg/jour d’Avermectine (1/50 de la DL50).

•**Lot 4** : Lot traité recevait pendant 28 jours par gavage 25 mg/kg/jour d’Avermectine (1/20 de la DL50).

## **2.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des échantillons**

Les animaux ont été maintenus à jeun 24 heures avant le sacrifice, ce dernier est effectué au 29<sup>ème</sup> jour de l’expérimentation.. Le sang prélevé est recueilli sur des tubes EDTA puis centrifugés à 3000tr/min pendant 15min. Le plasma est conservé pour le dosage de certains paramètres de stress oxydative comme l’activité de la catalase plasmatique. Le culot est récupéré, lysé avec 2 volumes d’eau distillée glacée puis incubé pendant 15min au réfrigérateur (2-8°C). Celui-ci est ensuite centrifugé à 4000tr/min pendant 10min afin d’éliminer les débris cellulaires. Le surnageant récupéré constitue le lysat érythrocytaire qui servira pour le dosage des marqueurs érythrocytaires du statut oxydant/antioxydant.

## **2.3. Détermination du statut oxydant /antioxydant**

### **2.3.1. Dosage de la vitamine C**

#### **❖ Principe**

La vitamine C plasmatique est dosée selon la méthode de **JACOTA et DANI (1982)** utilisant le réactif de Folin et une gamme d’acide ascorbique. Après précipitation des protéines plasmatiques par l’acide trichloroacétique (10%) et centrifugation, le réactif de Folin est ajouté au surnageant. La vitamine C présente dans le surnageant réduit le réactif de Folin donnant une coloration jaune. L’intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en vitamine C à une longueur d’onde de 769 nm présente dans l’échantillon. La

concentration est déterminée à partir de courbe étalon obtenu grâce à une solution d'acide ascorbique.

### **2.3.2. Détermination du malondialdéhyde**

#### **❖ Principe**

Le malondialdéhyde (MDA) plasmatique et érythrocytaire est mesuré selon la méthode de **NOUROOZ-ZADEH *et al.*, (1996)**. Il représente le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et la sensibilité de la méthode de dosage. Après traitement par l'acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogénique consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à une longueur d'onde de 532 nm. La concentration du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ( $\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$  à 532 nm).

### **2.3.3. Détermination de l'activité enzymatique antioxydante de la catalase (CAT)**

#### **❖ Principe**

Le taux de l'activité de la catalase est mesuré au niveau du plasma et du lysat érythrocytaire. Cette activité enzymatique est mesurée par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène selon la méthode **d'AEBI (1974)**. En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en fonction du temps. Le milieu réactionnel contient la source enzymatique (plasma ou lysat), le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, et le tampon phosphate (50 mmol/l, pH 7,0). Après incubation de 5 min, le réactif Titanium oxyde sulfate (TiOSO<sub>4</sub>) est ajouté. La lecture se fait à 420 nm. Les concentrations du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à des concentrations de 0,5 à

2 mmol/l. Le calcul d'une unité d'activité enzymatique est :  $A = \log A_1 - \log A_2$ .  $A_1$  est la concentration de  $H_2O_2$  de départ  $A_2$  est la concentration de  $H_2O_2$  après incubation (au bout de 5 min). L'activité spécifique est exprimée en U/min/ml de lysat érythrocytaire.

#### **2.3.4. Dosage du glutathion réduit**

##### **❖ Principe**

Le dosage du glutathion réduit (GSH) érythrocytaire est réalisé par la méthode colorimétrique par le réactif d'Ellman (DTNB) (ELLMAN, 1959). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB). Le thionitrobenzoïque (TNB) à pH (8-9) alcalin présente une absorbance à 412 nm avec un coefficient d'extinction égal à  $13,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

#### **2.3.5. Détermination des protéines carbonylées**

##### **❖ Principe**

Les protéines carbonylées du plasma et du lysat érythrocytaire (marqueurs de l'oxydation protéique) sont mesurées par la réaction au 2,4-dinitrophénylhydrazine, selon Levine et al. (1990). La réaction aboutit à la formation de la dinitrophénylhydrazone colorée. Les concentrations des groupements carbonylés sont déterminées par lectures à 350 et 375 nm et calculées selon un coefficient d'extinction ( $\epsilon = 21,5 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).

### **3. Analyse statistique**

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes est réalisée par Le test «t» de student pour les différents groupes. Les différences sont considérées significatives à  $P < 0.05$ .

# **Chapitre 3**

## **Résultat et discussion**

### III. Résultats Attendus et discussion

#### 1. Résultats attendus de l'effet de l'ivermectine sur la Vitamine C

Récemment, *Jaballi et al.*, (2017) ont démontré que les concentrations plasmatiques de la vitamine C diminuent significativement chez les souris mâles adultes après une exposition subaiguë de 7 jours au Maneb, un pesticide appartenant à la famille de dithiocarbamates, des lots traités avec 1/6, 1/4 et 1/2 de la dose létale 50.

En effet, la vitamine C est considérée comme l'antioxydant le plus important dans les fluides extracellulaires. Ce composant est un piègeur très efficace des ions superoxyde, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hypochlorite, hydroxyle et peroxyde. Le rôle antioxydant de la vitamine C est en fonction de sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueux et les produits formés sont les radicaux ascorbyles. En piégeant les radicaux peroxydes dans la phase aqueuse, dont ils sont prêts pour initier la peroxydation, la vitamine C protège les biomembranes et lipoprotéines (*Delattre et al.*, 2005). Donc, on suggère que le traitement par l'insecticide ivermectine provoquera une diminution significative des taux plasmatiques de la vitamine C par rapport aux témoins.

#### 2. Résultats attendus de l'effet de l'ivermectine sur le Malondialdéhyde

D'après les résultats obtenus par *Abdel-Daim et Abdellatif*, (2018), l'ivermectine, un insecticide de la famille des ivermectines, a induit une augmentation significative de taux de MDA dans le foie et les reins des rats traités par rapport au groupe témoin ( $p < 0.05$ ).

De plus, *Liu et al.*, (2014) ont montré que après exposition sub-chronique des pigeons à l'ivermectine, les taux de MDA ont augmenté avec l'augmentation de la concentration d'AVM dans la rate. Le taux de MDA a augmenté ( $P < 0,05$ ) après les traitements et atteint leur pic au jour 90 dans le groupe à dose élevée.

De plus, les taux des MDA ont changé dans un temps-dose-effet après exposition à AVM. En outre, d'autres études antérieures (**Ahmed et al. 2016; Celik-Ozenci et al., 2011; Nasr et al., 2016**), ont aussi enregistré une élévation significative du taux de MDA après l'administration de l'abamectine. En conséquence, on peut suggérer que l'exposition subaigüe des lapins males à l'ivermectine dans notre étude va induire une augmentation significative des taux plasmatiques et érythrocytaires de MDA.

En fait, le stress oxydatif résulte de la modification de l'équilibre entre la génération d'oxydants et d'antioxydants. Les radicaux libres attaquent et se lient de manière covalente aux lipides et protéines microsomaux, provoquant la peroxydation des lipides et des altérations indésirables des composants cellulaires, y compris les protéines et l'ADN (**Valko et al. 2006**).

### **3. Résultats attendus de l'effet de l'ivermectine sur l'activité enzymatique antioxydante de la catalase (CAT)**

L'administration orale d'ivermectine (2 mg / kg de poids corporel) pendant 5 jours a provoqué une baisse significative ( $p < 0,05$ ) de sur l'activité enzymatique antioxydante de la CAT chez les rats traités par rapport aux rats témoins (**Abdel-Daim et Abdellatif, 2018**). De plus, l'activité CAT a été significativement réduite de 24,9% dans le rein de rat et de 30,5% dans le cerveau de rat de rats mâles traités avec l'ivermectine par rapport au témoin (**Nasr et al. 2016**).

En accord avec les résultats d'**Abdel-Daim et Abdellatif, (2018)** et ceux de **Nasr et al. (2016)**, **El-demerdash, (2011)** a rapporté qu'une réduction significative de l'activité enzymatique antioxydante CAT a été observée en raison des dommages oxydatifs induits par un mélange d'insecticides organophosphorés et pyréthrinoïdes. En outre, **Li et al. (2013)** ont démontré que l'activité de la CAT dans le cervelet et le lobe optique des groupes de traitement

étaient réduites avec l'augmentation de la concentration d'ivermectine. En conséquence, on peut suggérer que l'exposition subaiguë des lapins mâles à l'ivermectine dans notre étude va induire une réduction significative de l'activité enzymatique antioxydante CAT.

Les insecticides produisant des ROS excessifs, l'effet contre-équilibrant des enzymes antioxydantes est perdu (**Banerjee *et al.* 1999; Seth *et al.* 2001**). Ainsi, l'inhibition de l'enzyme CAT impliquée dans l'élimination des radicaux libres conduit à l'accumulation de superoxyde, qui favorise la peroxydation lipidique et modulation de l'ADN, modification de l'expression des gènes et décès (**Calviello *et al.* 2006**).

Les enzymes antioxydantes jouent un rôle essentiel dans la détoxification des xénobiotiques (**Basu, 2003**). CAT est l'un des mécanismes de défense les plus importants contre les effets toxiques du métabolisme de l'oxygène. La SOD catalyse la conversion du radical superoxyde en peroxyde d'hydrogène tandis que CAT convertit ce dernier en eau. Cette enzyme antioxydante peut donc atténuer les effets toxiques des ROS (**Mansour et Mossa 2009; Abdel-Daim *et al.* 2015**).

#### **4. Résultats attendus de l'effet de l'ivermectine sur le glutathion réduit (GSH)**

Une diminution significative ( $p < 0,05$ ) des taux hépatique et rénal tissulaires de la concentration de GSH ont été notés chez des rats intoxiqués par l'ivermectine (**Abdel-Daim et Abdellatif, 2018**). De plus, **Nasr et al. (2016)** a démontré qu'une réduction significative a été observée dans la teneur en GSH chez les rats exposés à l'ivermectine. Donc, comme résultat attendu le traitement des lapins par l'ivermectine pourraient provoquer une baisse significative de la concentration de GSH érythrocytaire.

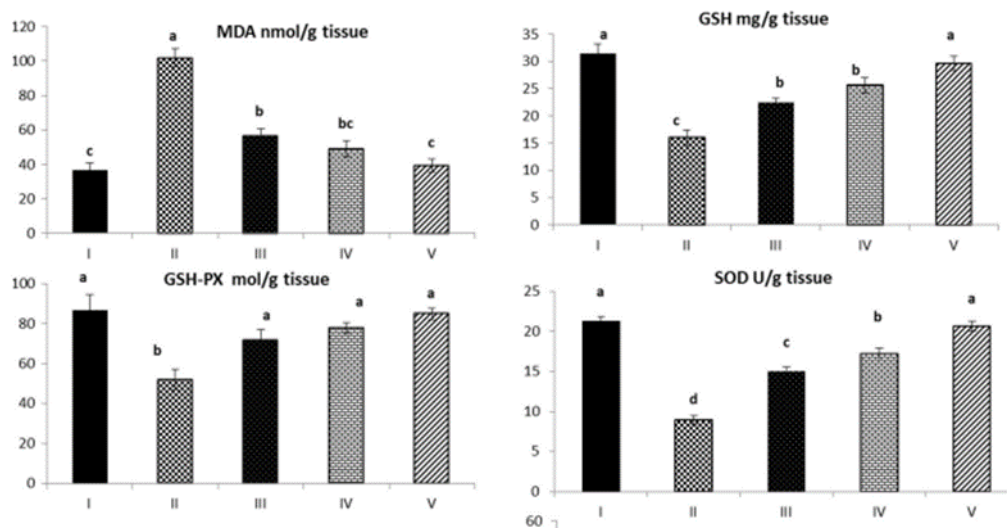


Le glutathion réduit agit comme un antioxydant non enzymatique qui élimine les radicaux libres résultant de métabolisme oxydatif et échappant à la décomposition par les enzymes antioxydantes (**Leve De et Kaplowitz, 1991**). Au cours de l'action métabolique du GSH, son groupe sulfhydryle est oxydé en composé disulfure (**Meister et Anderson, 1983**). L'épuisement du GSH est un biomarqueur important du stress oxydatif en raison de son utilisation pour la conjugaison et / ou de sa participation comme antioxydant à la neutralisation des radicaux libres produits par les insecticides et au maintien de l'équilibre redox intracellulaire dans les cellules de mammifères (**Lu, 1999**). Ces effets ont déjà été observés par d'autres auteurs in vitro et in vivo (**Banerjee et al. 1999; Maran et al., 2009; El-Shenawy, 2010; El-Demerdash, 2011**). De plus, le GSH participe également à la détoxification des xénobiotiques comme substrat de l'enzyme GST. **Fetoui et coll, (2009)** ont démontré que l'épuisement des groupes sulfhydryles intracellulaires par les insecticides est la condition préalable à la génération de ROS. Ainsi, la diminution significative de la teneur en GSH pourrait conduire à une sensibilité accrue aux dommages des radicaux libres.

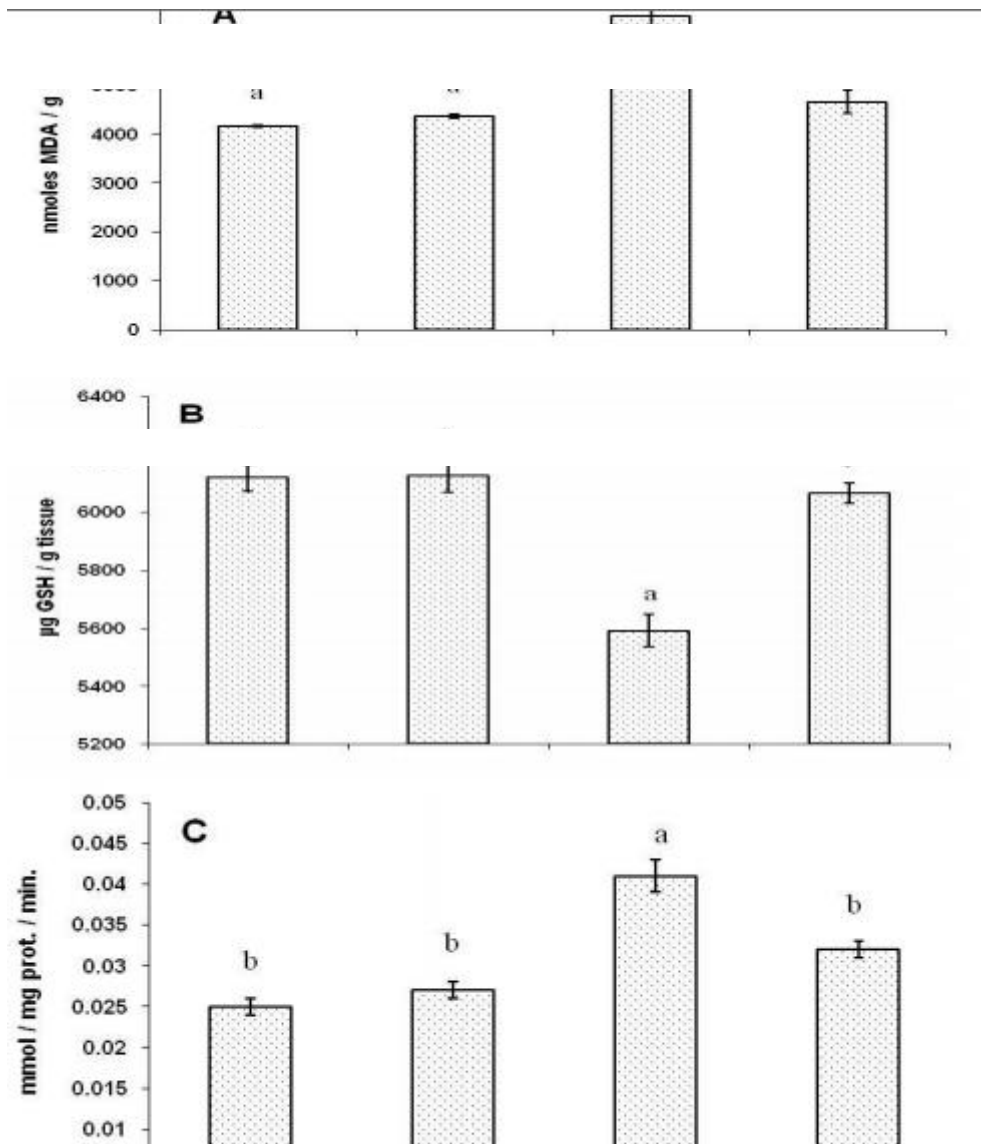
## **5. Résultats attendus de l'effet de l'ivermectine sur les protéines carbonylées**

Selon **Liu et al. (2014)**, le traitement par l'ivermectine a entraîné une augmentation significative de taux des protéines carbonylées par rapport aux témoins et cette augmentation en protéines carbonylées était dose et temps dépendante. Il existe des preuves indiquant que les xénobiotiques pourraient induire un stress oxydatif et entraîner une teneur élevée en protéines carbonylées (**Li et al., 2010**). L'étude de **Parvez et Raisuddin (2005)** a révélé que l'endosulfan, la deltaméthrine et le paraquat peuvent provoquer de stress oxydatif et induire la formation d'un excès des protéines carbonylées dans divers tissus.

Il est probable que l'exposition aux avermectine peuvent provoqué des changements sur le statut antioxydant, tels que l'augmentation des niveaux de MDA et la diminution des activités des enzymes antioxydantes, la production excessive de radicaux libres, de radicaux hydroxyles réactifs, qui pourraient attaquer les acides aminés des chaînes latérales des protéines pour produire le carbonyle (Sang et al., 2009) ou le radical hydroxyle extrêmement réactif, ce qui pourrait potentiellement endommager l'ADN.



**Figure 3 :** Effets du CAPE (10 µmol / kg i.p) et du BET (250 mg / kg de poids corporel par voie orale), seuls et en association, sur les taux d'oxydant /paramètres antioxydants chez les rats mâles, recevant ABM (2 mg / kg de poids corporel pendant 5 jours) (Garait 2006)



**Figure 4.** LPO (A), teneur en GSH (B) et activité GPx (C) dans le tissu hépatique de souris mâles traitées avec abamectine (3,8 mg / kg) (djafal, (Mac Laren, 2007))

## Conclusion et Perspectives

Notre étude vise à explorer le profil du stress oxydant (la vitamine C, le malondialdéhyde (MDA), l'activité de la catalase (CAT), le glutathion réduit (GSH) et les protéines carbonylées) induit par un insecticide de la famille des avermectines chez le lapin male d'une population locale.

A partir de l'analyse des résultats des études antérieures, nous pouvons suggérer les résultats attendus suivants :

- L'exposition subaigüe aux avermectines pourrait causer une diminution significative des taux plasmatiques de la vitamine C et de l'activité enzymatique antioxydante CAT chez les lapins traités par rapport aux témoins.
- Le traitement des lapins par l'ivermectine pourrait provoquer une baisse significative de la concentration de GSH érythrocytaire.
- L'exposition subaigüe aux avermectines pourrait aussi induire la formation d'un excès des protéines carbonylées plasmatiques et érythrocytaires et une augmentation significative de taux de MDA chez les lapins traités par rapport aux témoins témoignant ainsi une peroxydation lipidiques.
- Ces perturbations des paramètres de stress oxydatif pourraient être état dose et temps dépendante.

En perspective, ils seraient intéressants de faire l'expérimentation pour confirmer les résultats attendus et d'étudier la toxicité sub-chronique et chronique de ces insecticides sur les paramètres de stress oxydatif, en recherchant les effets périodes et dose dépendantes de ces xénobiotiques.

# **Références**

## **Bibliographiques**

- Aebi H (1984) Catalase in vitro. *Méthodes Enzymol* 105: 121–126
- Ahmed OM, Fahim HI, Boules MW, Ahmed HY (2016) Cardiac et effets de toxicité testiculaire du latex et de l'extrait éthanolique de feuilles de
- Blandine Garait, le stress oxydant induit par voie métabolique. LE STRESS OXYDANT INDUIT PAR VOIE MÉTABOLIQUE (RÉGIMES ALIMENTAIRES) Ou PAR VOIE GAZEUSE (HYPEROXIE) ET EFFET DE LA GLISODIN. HAL. 18 septembre 2006
- Calotropis procera sur des rats mâles albinos par rapport à l'abamectine. *Printemps* 5 (1): 1644
- Anion dans la réaction du méthosulfate de phénazine réduit et de la molécule ular oxygène. *Biochem Biophys Res Commun* 46 (2): 849–854
- Ahn M, Park JS, Chae S, Kim S, Lune C, Hyun JW, Shin T (2014)
- Effets hépatoprotecteurs du fruit de Lycium chinense Miller et de ses bétaine constitutive des lésions hépatiques induites par CCl<sub>4</sub> chez le rat. *Acta Histochem* 116 (6): 1104-1112
- *Environ Sci Pollut Res* 23 (2): 1852–1859
- Mohammadzadeh S, Sharriatpanahi M, HamediM, Amanzadeh Y, Sadate Ebrahimi SE, Ostad SN (2007) Pouvoir antioxydant du prop iranien extrait d'olis. *Food Chem* 103 (3): 729–733
- Murtaza G, Karim S, Akram MR, Khan SA, Azhar S, Mumtaz A, Bin Asad MHH (2014) Ester phénéthylique d'acide caféique et thérapeutique potentiels. *Biomed Res Int* 2014: 1–9
- Nasr HM, El-Demerdash FM, El-Nagar WA (2016) Neuro et rénal toxicité induite par le chlorpyrifos et l'abamectine chez le rat.
- Nishikimi M, Rao NA, Yagi K (1972) L'apparition du superoxyde
- Oktem F, Ozguner F, Sulak O, Olgar Ş, Akturk O, Yilmaz HR, Altuntas I (2005) Toxicité rénale induite par le lithium chez le rat: protection par un

nouveau ester phénéthylique d'acide caféique antioxydant. *Mol Cell Biochem* 277 (1): 109–115

- Ozturk F, Ucar M, Ozturk IC, Vardi N, Batcioglu K (2003) Carbone néphrotoxicité et effet protecteur de la bétaine induits par le tétrachlorure chez les rats Sprague-Dawley. *Urologie* 62 (2): 353–356
- Parlakpinar H, Tasdemir S, Polat A, Bay-Karabulut A, Vardi N, Ucar M, Acet A (2005) Rôle protecteur de l'ester phénéthylique d'acide caféique (cape) sur la toxicité rénale aiguë induite par la gentamicine chez le rat. *Toxicologie* 207 (2): 169-177
- Reitman S, Frankel S (1957) Une méthode colorimétrique pour la détermination des transaminases glutamiques oxalacétiques et glutamiques pyruviques sériques. *Am J Clin Pathol* 28 (1): 56–63
- Shoop WL, Mrozik H, Fisher MH (1995) Structure et activité de les avermectines et les milbémycines en santé animale. *Vétérinaire Parasitol* 59 (2): 139–156
- Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Pushkareva MA, Korshunova GV, Sumbatyan ND, Varfolomeev SD (1993) Ester phénéthylique d'acide caffique comme inhibiteur de la lipoxygénase aux propriétés antioxydantes. *FEBS Lett* 329 (1–2): 21–24

