

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE DE BLIDA 01**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**



## **THESE DE DOCTORAT LMD**

**En Sciences Alimentaires**

**Spécialité : Nutrition et Pathologie**

**Thème**

**Effet hépatique d'un régime enrichi en vitamines à action  
antioxydante chez l'animal traité par une formulation insecticide  
Ampligo® 150 ZC**

**Par SETTAR Amina**

Soutenue publiquement le **26 juillet 2023**, devant le jury composé de :

Mr S. MEGATLI	Professeur	U.Blida 1	Président
Mr A. BITAM	Professeur	E.N.S. A	Examineur
Mme A. DOUMANDJI	Professeur	U.Blida 1	Examinatrice
Mme S. CHARALLAH	Professeur	U.S.T.H.B	Examinatrice
Mme A. HADJ ZIANE	Professeur	U. Blida1	Examinatrice
Mme H. KHALDOUN	MCA	U. Blida 1	Directrice de thèse

Blida, 2022-2023

## Remerciements

Je tiens d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers ma directrice de thèse **Docteur Khaldoun Hassina**. Bien que ces quelques lignes ne puissent pleinement rendre honneur à tout ce qu'elle m'a apporté, je tiens à faire part ma gratitude envers elle pour sa disponibilité, son professionnalisme et ses compétences impressionnantes qui ont été essentielles à la réussite de ce projet. Sa capacité à me laisser une certaine liberté m'as permis de m'épanouir dans ce projet, tout en m'offrant une opportunité d'apprendre énormément sur la recherche grâce à notre collaboration étroite.

J'exprime mes remerciements les plus sincère au **Professeur Megatli Smain** de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de soutenance de ma thèse.

Mes remerciements les plus vifs s'adressent également aux Professeurs **Doumandji Amel, Charallah Salima, Hadj Ziane Amel**, et **Bitam Arezki** pour avoir accepté la fastidieuse tâche d'être examinateur.

Ma gratitude va à **Docteur Tarzaali Dalila** qui m'a accueillie au sein du clapier de la station expérimentale de notre université, grâce à elle j'ai appris tous ce que je sais en termes d'élevage et manipulation du lapin.

Je remercie **Professeur Djennane Nacima** pour avoir accepté de m'accueillir au sien du service Anatomopathologie de CHU Bab El Oued.

Je remercie également Messieurs, **Nehal Sofiane** et **Hamlaoui Yacine** ingénieurs au Syngenta de m'avoir gentiment aidé à trouver l'insecticide de l'étude.

Je souhaite exprimer ma sincère gratitude à Mon Père **Settar Mouloud** pour son soutien inestimable tout au long de ma thèse. Sa présence bienveillante, son encouragement constant et ses précieux conseils ont été des sources d'inspiration et de motivation pour moi. Son soutien financier et logistique a également été d'une grande aide, me permettant de me concentrer pleinement sur mes recherches. Sa présence et son implication ont été essentielles dans la réalisation de ce projet académique, et je lui suis infiniment reconnaissante pour tout ce qu'il a fait pour moi.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance envers ma famille pour leur soutien inébranlable tout au long de mon parcours de recherche et la rédaction de ma thèse, merci à ma chère mère qui ne cesse de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui. Grand merci à mes frères Oussama et Abdelhakim, ma chère sœur Safia, mes belles sœurs Yasmine et Meriem et mes nièces Bouchra et Aya, mon neveu Ibrahim Aron et également ma meilleure amie Habiba.

À l'hommage de mon oncle **Brahim Settar**.

## Liste des publications et communications

### Publications :

**Settar, A.**, Khaldoun, H., Tarzaali, D., Djennane, N., Makhlof, C., Selmani, I., Amel, K. (2023). Lambda cyhalothrin and chlorantraniliprole caused biochemical, histological, and immunohistochemical alterations in male rabbit liver: Ameliorative effect of vitamins A, D, E, C mixture. *Toxicology*, 487, 153464.

**SETTAR, A.**, Khaldoun Oularbi, H., Tarzaali, D., Selmani, I., Oularbi, Y., & Makhlof, C. (2022). Evaluation of the Effects of lambda cyhalothrin insecticide formulation “Ampligo 150 ZC” and vitamins C and E on rabbit liver: Biochemical, Histological and Morphometrical study. *Egyptian Journal of Histology*.

### Communications :

**Settar A.**, Khaldoun Oularbi H., Tarzaali D., Mekhaldi F., 2021. Ameliorative effect of vitamins A, E, D & C on Ampligo a synthetic insecticide inducing toxicity on rabbit adrenal gland. Proceedings 12th World Rabbit Congress - November 3-5 2021 - Nantes, France, Communication BP-27, 4pp. + presentation, ISSN 2308-1910.

Khaldoun Oularbi H. Makhlof C., Bokreta S., **Settar A.**, Tarzali D., Zitouni G., Hamadou D., Kais S., Daoudi-Zerrouki N., 2021. Ampligo® insecticide induces injuries on the testes of rabbit *Oryctolagus cuniculus* : alleviating effects of vitamins C and E (ascorbate/ $\alpha$ -tocopherol). Proceedings 12th World Rabbit Congress - November 3-5 2021 - Nantes, France, Communication R-13, 5 pp. +presentation, ISSN 2308-1910.

**Settar A.**, Khaldoun Oularbi H., Boudjema N., Tarzaali D. , “Beneficial effect of vitamins A, D, E & C association in patients with coronavirus-19 similarly to Ampligo- treated rabbits «1 st international seminar Impact of Covid 19 on the environment» , December 30 th -31 st 2020, université Saad Dahlab Blida 1, Algérie.

**Settar A.**, Khaldoun Oularbi H., Tarzaali D., Makhlof C., Bokreta S., Oularbi Y., « Impact d’une formulation insecticide Ampligo 150 ZC sur les testicules du lapin *Oryctolagus Cuniculus*, « 1 er séminaire international perturbateurs endocriniens environnement & reproduction », 07-08 Juillet 2021, université Saad Dahlab Blida 1, Algérie.

**Settar A.**, Khaldoun Oularbi H., Tarzaali D., Makhlof C., Bokreta S., Oularbi Y., « Effet hépato protecteur d’une association vitaminique chez le lapin male *Oryctolagus Cuniculus* traité par un insecticide l’Ampligo 150 ZC », « 1 er séminaire international perturbateurs endocriniens environnement & reproduction », 07-08 Juillet 2021, université Saad Dahlab Blida 1, Algérie.

**Settar A.**, Khaldoun Oularbi H., « Intérêt nutritionnel de la viande de lapin en alimentation humaine », « La 3<sup>ème</sup> édition des journées scientifiques nationales sur l'agroalimentaire », 10-11 décembre 2021, université Saad Dahlab Blida 1, Algérie.

**Settar A.**, Khaldoun Oularbi H., Tarzaali D., «Beneficial effect of vitamins A, D,E & C association on the kidney of Ampligo - treated rabbits» ,«1<sup>st</sup> International Conference of Environmental Biotechnology and Biodiversity», 14<sup>th</sup> -15<sup>th</sup> December 2021, Ecole Normale Supérieure Kouba, Algérie.

**Settar A.**, Khaloudn Oularbi H., Tarzaali D., Effet correcteur des vitamines C et E contre l'hépatotoxicité induite par une formulation insecticide chez le lapin male « *Oryctolagus cuniculus* », séminaire nationale « Alimentation et Santé », 05 décembre 2022, université de Relizane, Algérie.

**Settar A.**, Khaldoun Oularbi H., Tarzaali D., Lattef M., Haya K., Évaluation de l'effet toxique d'Ampligo 150 ZC sur le duodénum du lapin male : rôle protecteur d'un complexe vitaminique 2<sup>èmes</sup> Journées Internationales sur la Santé et la Production Animales (2<sup>èmes</sup> JISPA): "La Production Cunicole, Développement et Perspectives" 16 Novembre 2022, École National Supérieur Vétérinaire, Algérie.

## Résumé

Ce projet de thèse a pour but d'explorer l'effet amélioratif possible des vitamines à action antioxydante sur l'hépatotoxicité induite par l'insecticide Ampligo 150 ZC (AP) chez le lapin male *Oryctolagus cuniculus*. Pour cela, deux études ont été menées, la première a pour objectif d'évaluer l'effet de l'association des vitamines C et E contre une toxicité subaiguë d'AP pendant 21 jours. La deuxième étude vise à évaluer l'effet d'un complexe vitaminique (A, D, E, C) contre une toxicité subaiguë d'AP pendant 28 jours. Les résultats indiquent que l'insecticide a réduit le gain pondéral et la consommation d'aliment, augmente les taux plasmatiques d'ALAT, de PAL de CT et de glucose, et diminue les taux de la bilirubine totale et direct, ainsi provoque des lésions tissulaires hépatiques telles que la dilatation et la congestion de la veine centro-lobulaire, une dilatation sinusoidale, une infiltration de cellules inflammatoires et un dépôt de collagène avec une déplétion en glycogène hépatique. L'immunomarquage hépatique a montré une augmentation de l'expression tissulaire de l'AFP, Bcl2, Ki67 et P53 et une diminution significative ( $p < 0,05$ ) de l'expression de la E-cadhérine. En revanche, la supplémentation en vitamines a atténué les altérations observées précédemment. L'ensemble de ces résultats suggèrent qu'une supplémentation en vitamines peut prévenir les dysrégulations métaboliques, les lésions tissulaires hépatiques ainsi que réduit l'intensité de la prolifération tumorale.

**Mots clés :** Ampligo ®150 ZC ; Vitamines ; Foie ; Lapin ; Histopathologie ; Immunohistochimie.

## Abstract

The aim of this thesis project was to explore the possible ameliorative effect of antioxidant vitamins on the hepatotoxicity induced by the insecticide Ampligo 150 ZC (AP) in male rabbits *Oryctolagus cuniculus*. To this end, two studies were carried out: the first aimed to assess the effect of vitamins C and E association against subacute AP toxicity for 21 days. The second study assessed the effect of a vitamin complex (A, D, E, C) against sub-acute AP toxicity for 28 days. Results indicate that the insecticide reduced weight gain and feed intake, increased plasma levels of ALAT, ALP, TC and glucose, and decreased total and direct bilirubin levels, as well as inducing hepatic tissue damage such as centrilobular vein dilatation and congestion, sinusoidal dilatation, inflammatory cell infiltration and collagen deposition as well as a depletion in the hepatic glycogen. Liver immunostaining showed increased tissue expression of AFP, Bcl2, Ki67 and P53, and a significant ( $p < 0.05$ ) decrease in E-cadherin expression. In contrast, vitamin supplementation mitigated the previously observed alterations. Taken together, these results suggest that vitamin supplementation can prevent metabolic dysregulation and liver tissue damage, as well as reduce the rate of tumor proliferation.

**Key words:** Ampligo 150 ZC ; Vitamins; Liver; Rabbit; Histopathology; Immunohistochemistry.

## ملخص

تهدف هذه الأطروحة إلى تقييم التأثير الايجابي المحتمل للفيتامينات ذات التأثير المضاد للأكسدة على السمية الكبدية لمبيد الحشرات Ampligo 150 ZC (AP) في ذكور الأرانب. لهذا الغرض، أجريت دراستان، الأولى كانت لتقييم تأثير الفيتامينات C و E ضد السمية فوق الحد الأدنى لمدة 21 يومًا بينما تألفت الدراسة الثانية من تقييم تأثير مركب فيتاميني (A ، D ، E ، C) ضد سمية فوق الحد الأدنى لمدة 28 يومًا. تشير النتائج إلى أن المبيد الحشري AP قد أدى إلى تقليل زيادة الوزن واستهلاك الطعام، وزيادة مستويات انزيمات الكبد ALAT و PAL و الجليكوز و الكوليسترول في البلازما، إضافة إلى انخفاض في مستوى البيليروبين، وتسبب أيضا في تلف أنسجة الكبد مثل توسع واحتقان في الوريد المركزي للفصيص الكبدى، وتمدد الجيوب الكبدية، وتسلل الخلايا الالتهابية، وترسب الكولاجين مع نضوب الغليكوجين الكبدى . أظهرت دراسة الكيمياء المناعية النسيجية زيادة في تعبير الأنسجة عن AFP و Bcl2 و Ki67 و P53 وانخفاض كبير ( $p < 0.05$ ) في التعبير عن E-cadherin. في المقابل ، خففت مكملات الفيتامينات من التغيرات التي لوحظت سابقًا. في الختام تشير كل هذه النتائج إلى أن مكملات الفيتامينات يمكن أن تمنع خلل التمثيل الغذائي وتلف أنسجة الكبد وتقليل معدل انتشار الورم.

**الكلمات المفتاحية:** Ampligo 150 ZC ; فيتامينات ; الكبد ; الارنب ; التشريح المرضي ; الكيمياء النسيجية المناعية.

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b>	Aperçu général sur l'insecticide Ampligo® 150 ZC	<b>27</b>
<b>Tableau II</b>	Principales propriétés physico-chimiques de l'insecticide Ampligo® 150 ZC	<b>27</b>
<b>Tableau III</b>	Principales sources alimentaires de vitamines et leur dose journalière admissible (DJA)	<b>34</b>
<b>Tableau IV</b>	Variation du poids corporel et le pourcentage de prise de poids (% PP) des lapins témoins et traités durant les périodes d'acclimatation et d'expérimentation	<b>64</b>
<b>Tableau V</b>	Variation de la consommation d'aliment et de l'Indice de Conversion alimentaire (IC) des lapins témoins et traités durant les périodes d'acclimatation et d'expérimentation.	<b>65</b>
<b>Tableau VI</b>	Variation de la consommation de boisson des lapins témoins et traités durant les périodes d'acclimatation et d'expérimentation.	<b>66</b>
<b>Tableau VII</b>	Effet du traitement sur le poids absolu (g) et relatif des foies des lapins témoins et traités.	<b>67</b>
<b>Tableau VIII</b>	Paramètres biochimiques du profil hépatique des lapins témoins et traités. Le prélèvement est réalisé au 21ème jour de l'expérimentation.	<b>68</b>
<b>Tableau IX</b>	Effet du traitement sur les paramètres morphométriques du tissu hépatique chez les quatre groupes de l'étude	<b>74</b>
<b>Tableau X</b>	Variation du poids corporel et le pourcentage de prise de poids (% PP) des lapins témoins et traités durant les périodes d'acclimatation et d'expérimentation.	<b>75</b>
<b>Tableau XI</b>	Variation de la consommation d'aliment et de l'Indice de Conversion alimentaire (IC) des lapins témoins et traités durant les périodes d'acclimatation et d'expérimentation	<b>76</b>
<b>Tableau XII</b>	Effet du traitement sur le poids absolu (g) et relatif des foies des lapins témoins et traités	<b>77</b>
<b>Tableau XIII</b>	Tableau récapitulatif des paramètres biochimiques à J14 et J28 de la fonction hépatique des lapins témoins et traités	<b>90</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b>	<b>A :</b> Anatomie et distribution des lobes hépatique chez l'homme, <b>B :</b> Position et distribution des lobes hépatique chez le lapin	<b>5</b>
<b>Figure 2.</b>	Structure du lobule hépatique et les différents types cellulaires hépatiques	<b>6</b>
<b>Figure 3.</b>	Régulation de l'homéostasie métabolique hépatique selon l'état nutritionnel	<b>8</b>
<b>Figure 4.</b>	Les phases de métabolisme des xénobiotiques au niveau hépatocytaire	<b>17</b>
<b>Figure 5.</b>	Spectre pathologique de la NAFLD avec l'aspect histologique de chaque stade	<b>20</b>
<b>Figure 6.</b>	Structure chimique de chlorantraniliprole	<b>28</b>
<b>Figure 7.</b>	Mode d'action de chlorantraniliprole	<b>29</b>
<b>Figure 8.</b>	Structure chimique de lambda cyhalothrine	<b>30</b>
<b>Figure 9.</b>	Mode d'action neurotoxiques des insecticides y compris les pyréthriinoïdes	<b>31</b>
<b>Figure 10.</b>	Lapin male <i>Oryctolagus cuniculus</i>	<b>39</b>
<b>Figure 11.</b>	Répartition des lots des lapins dans des cages métalliques	<b>41</b>
<b>Figure 12.</b>	Représentation schématique des éléments d'une immunoréaction direct et indirect	<b>61</b>
<b>Figure 13.</b>	Coupes histologiques du parenchyme hépatique des lapins témoins observées au microscope photonique	<b>69</b>
<b>Figure 14.</b>	Coupes histologiques du parenchyme hépatique des lapins supplémentés par les vitamines C et E observées au microscope photonique	<b>70</b>
<b>Figure 15.</b>	Coupes histologiques du parenchyme hépatique des lapins traités par AP observées au microscope photonique	<b>72</b>
<b>Figure 16.</b>	Coupes histologiques du parenchyme hépatique des lapins traités par AP et supplémentés par les vitamines C et E observées au microscope photonique	<b>73</b>
<b>Figure 17.</b>	Variation des taux plasmatiques d'ASAT au J 14 et J 28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude	<b>78</b>
<b>Figure 18.</b>	Variation des taux plasmatiques d'ALAT au J14 et J28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude	<b>78</b>
<b>Figure 19.</b>	Variation des taux plasmatiques de PAL au J14 et J 28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude	<b>79</b>

<b>Figure 20.</b>	Variation des taux plasmatiques de $\gamma$ GT au J14 et J28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude	<b>80</b>
<b>Figure 21.</b>	Variation des taux plasmatiques de la glycémie au J14 J28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude	<b>80</b>
<b>Figure 22.</b>	Variation des taux plasmatiques de la bilirubine totale au J 14 et J28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude	<b>81</b>
<b>Figure 23.</b>	Variation des taux plasmatiques du cholestérol total au J14 et J28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude	<b>83</b>
<b>Figure 24.</b>	Variation des taux plasmatiques des triglycérides au J14 et J28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude	<b>83</b>
<b>Figure 25.</b>	Variation des taux plasmatiques d'HDL-C à J14 et J 28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude	<b>84</b>
<b>Figure 26.</b>	Variations du rapport CT/HDL-C au J14 et J 28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude	<b>84</b>
<b>Figure 27.</b>	Variations de l'IAP au J14 et J 28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude	<b>85</b>
<b>Figure 28.</b>	Aspect histologique du parenchyme hépatique chez le lapin témoin	<b>86</b>
<b>Figure 29.</b>	Aspect histologique du parenchyme hépatique chez le lapin traité par AP, coloration H & E.	<b>87</b>
<b>Figure 30.</b>	Aspect histologique du parenchyme hépatique chez le lapin traité par AP, coloration trichrome de Masson	<b>88</b>
<b>Figure 31.</b>	Aspect histologique du parenchyme hépatique chez le lapin traité avec AP et supplémenté par les vitamines ADEC	<b>89</b>
<b>Figure 32.</b>	Aspect tissulaire et répartition en glycogène dans le foie des lapins après coloration à l'acide périodique de Schiff (PAS).	<b>92</b>
<b>Figure 33.</b>	Aspect histologique du parenchyme hépatique des lapins témoins et traités, coloration histochimique bleu alcian	<b>93</b>
<b>Figure 34.</b>	Pourcentage de zone d'expression tissulaire de l'alpha foetoprotéine (AFP) chez les trois groupes de l'étude	<b>94</b>
<b>Figure 35.</b>	Expression immunohistochimique de l'alpha foetoprotéine (AFP) au niveau du tissu hépatique chez les trois groupes de l'étude.	<b>95</b>

<b>Figure 36.</b>	Pourcentage de zone d'expression tissulaire de Bcl2 chez les trois groupes de l'étude	<b>96</b>
<b>Figure 37.</b>	Expression immunohistochimique de Bcl2 au niveau des tissus hépatiques chez les trois groupes de l'étude	<b>97</b>
<b>Figure 38.</b>	Pourcentage de zone d'expression membranaire de E-cadhérine chez les trois groupes de l'étude	<b>98</b>
<b>Figure 39.</b>	Expression immunohistochimique de E-cadhérine au niveau des tissus hépatiques chez les trois groupes de l'étude	<b>99</b>
<b>Figure 40.</b>	Pourcentage de zone d'expression tissulaire de Ki67 chez les trois groupes de l'étude	<b>100</b>
<b>Figure 41.</b>	Expression immunohistochimique de Ki67 au niveau des tissus hépatiques chez les trois groupes de l'étude	<b>101</b>
<b>Figure 42.</b>	Pourcentage de zone d'expression tissulaire de P53 chez les trois groupes de l'étude	<b>102</b>
<b>Figure 43.</b>	Expression immunohistochimique de P53 au niveau des tissus hépatiques chez les trois groupes de l'étude	<b>103</b>

## Liste des abréviations

**%PP** : Pourcentage de prise de poids

**ABC** : ATP binding cassette

**ADEC** : vitamines A, D, E et C

**AFP** : Alpha foetoprotéine

**AIP** : Indice athérogène du plasma

**ALAT** : Alanine Aminotransférase

**ALD** : Alcoholic Liver Disease

**AP** : Ampligo® 150 ZC

**ASAT** : Aspartate Aminotransférase

**Bax** : Bcl-2-associated X protein

**Bcl2** : B-cell leukemia/lymphoma 2 protein

**BID** : BH3 Interacting Domain

**CAP** : Chlorantraniliprole

**CHC** : Carcinome Hépatocellulaire

**CS** : Concentré Soluble

**CT** : Cholestérol Total

**CYP 450** : Cytochrome P450

**DDT** : Dichlorodiphényltrichloroéthane

**DJA** : Dose Journalière Admissible

**EP** : Espace porte

**ERO** : Espèces Réactives de l'Oxygène

**γGT** : Gamma Glutamyl Transférase

**GSH** : Glutathion

**GST** : Glutathionne S-Transférases

**H&E** : Hématoxyline Éosine

**HDL** : Hight Density Lipoproteins

**IC** : Indice de Conversion alimentaire

**IHC** : Immunohistochimie

**ITELV** : Institut Technique des Élevages

**Ito** : Cellules stellaires

**LCT** : Lambda cyhalothrine

**LDL** : Low Density Lipoproteins

**MAPK** : Mitogen-activated protein kinases

**MRP2** : Mutlidrug Resistance Associated Proteins

**N/C** : Rapport nucléo-cytoplasmique

**NAFLD** : Nonalcoholic Fatty Liver Disease

**NASH** : Non Alcoolic Steato Hepatitis

**P53** : Tumor protein P53

**PAL** : Phosphatase Alcaline

**PAS** : Periodic Acid Schiff

**SA** : Substance active

**SC** : Suspension Concentrée

**SOD** : Super Oxyde Dismutase

**TG** : Triglycérides

**TNFR1**: Tumor necrosis factor receptor 1

**TNF $\alpha$**  : Tumor Necrosis Factor  $\alpha$

**UGT** : Uridine 5'-diphospho-Glucuronosyltransferases

**VCL** : Veine centrolobulaire

**VLDL** : Very Low Density Lipoproteins

**ZC** : CS + SC

# Table des matières

## Liste des publications et communications

## Résumé

## Abstract

## ملخص

## Liste des tableaux

## Liste des figures

## Liste des abréviations

## Introduction

1

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

### I. Foie organe du métabolisme des xénobiotiques

4

#### 1. Généralités sur le foie

4

##### 1.1. Anatomie macroscopique

6

##### 1.2. Anatomie microscopique

7

##### 1.3. Fonctions

7

##### 1.3.1. Homéostasie métabolique

9

##### 1.3.2. Fonction immunitaire

9

##### 1.3.3. Autres fonctions du foie

9

#### 2. Marqueurs de la fonction hépatique

9

##### 2.1. Marqueurs biochimiques

10

##### 2.1.1. Transaminases (ASAT & ALAT)

10

##### 2.1.2. Gamma Glutamyl Transférase (GGT)

11

##### 2.1.3. Phosphatase alcaline (PAL)

11

##### 2.1.4. Bilirubine plasmatique

11

##### 2.1.5. Marqueurs liés au métabolisme énergétique

11

##### 2.2. Marqueurs tissulaires & moléculaires

12

##### 2.2.1. Alpha fœtoprotéine (AFP)

12

2.2.2. E- cadhérine	12
2.2.3. Ki-67	13
2.2.4. Bcl-2	14
2.2.5. p53	14
<b>3. Métabolisme hépatique des xénobiotiques « détoxification »</b>	<b>15</b>
3.1. Phase 0	15
3.2. Phase I	16
3.3. Phase II	16
3.4. Phase III	16
<b>4. Hépatotoxicité liée aux xénobiotiques</b>	<b>17</b>
4.1. Mort cellulaire	18
4.2. Atteintes sinusoidales	18
4.3. Cholestase	19
4.4. Maladies du foie gras	19
<b>II. Insecticides, xénobiotiques hépatotoxiques</b>	<b>21</b>
<b>1. Généralités</b>	<b>21</b>
1.1. Définition	21
1.2. Formulations des insecticides	23
1.3. Classification des insecticides	23
1.3.1. Classification des insecticides selon leur origine	23
1.3.2. Classification des insecticides selon la nature chimique	24
1.3.3. Classification des insecticides selon le mode d'action	24
1.4. Voies d'exposition humaine aux insecticides	25
<b>2. Hépatotoxicité des insecticides</b>	<b>25</b>
<b>3. Ampligo 150 ZC, insecticide de l'étude</b>	<b>27</b>
3.1. Présentation	27
3.2. Substances actives de l'Ampligo 150 ZC	27
3.2.1. Chlorantraniliprole (CAP)	28
3.2.1.1. Mode d'action	29
3.2.1.2. Toxicité de CAP	29
3.2.2. Lambda cyhalothrine (LCT)	30
3.2.2.1. Mode d'action	31

3.2.2.2. Toxicité de LCT	32
3.3. Effets de mélange des insecticides	32
<b>III. Les vitamines, défense et prévention face aux xénobiotiques</b>	<b>33</b>
<b>1. Généralités</b>	<b>33</b>
1.1. Définition	33
1.2. Sources	33
<b>2. Stress oxydant induit par les xénobiotiques</b>	<b>35</b>
2.1. Stress oxydant	35
2.2. Insecticides et stress oxydant	36
<b>3. Vitamines à action antioxydante</b>	<b>37</b>
3.1. Vitamine A	37
3.2. Vitamine D	37
3.3. Vitamine E	38
3.4. Vitamine C	38

## **Chapitre II : Matériel et Méthodes**

<b>1. Matériel</b>	<b>39</b>
1.1. Modèle animal	39
1.2. Insecticide à tester	40
<b>2. Méthodes</b>	<b>40</b>
2.1. Préparation des animaux et conditions expérimentales	40
2.2. Prélèvement sanguin	42
2.3. Analyses biochimiques	42
2.3.1. Dosage des marqueurs sériques du foie	42
2.3.2. Dosage des paramètres lipidiques	47
2.4. Étude histologique	49
2.5. Étude morphométrique	51

### **Partie 1. Effet des vitamines C et E sur la toxicité subaiguë induite par**

#### **Ampligo 150<sup>®</sup> ZC**

1.1. Objectif	52
1.2. Animaux	52
1.3. Produits chimiques à testés	53
1.4. Protocole expérimental	54

1.5. Prélèvement sanguin et analyse biochimique	55
1.6. Examen histologique et histo-morphométrique	55
1.7. Étude statistique	55

## **Partie 2. Effet des vitamines A, D, E et C sur la toxicité subaiguë induite par Ampligo 150<sup>®</sup> ZC**

2.1. Objectif	57
2.2. Animaux	57
2.3. Produits chimiques à testés	58
2.4. Protocole expérimental	58
2.5. Prélèvement sanguin & analyse biochimique	59
2.6. Étude histologique et histo-morphométrique	60
2.7. Étude histochimique	60
2.8. Étude immunohistochimique	61
2.9. Étude statistique	62

## **Chapitre III : Résultats**

### **Partie 1. Effet des vitamines C et E sur la toxicité subaiguë induite par Ampligo 150<sup>®</sup> ZC**

1.1. Évolution du poids corporel et pourcentage de prise de poids	64
1.2. Variation de la consommation de l'aliment et l'indice de conversion alimentaire	65
1.3. Variation de la consommation d'eau	66
1.4. Variations du poids absolu et relatif du foie	66
1.5. Effet des traitements sur les paramètres biochimiques de la fonction hépatique	67
1.6. Effet des traitements sur l'aspect histologique et la morphométrie du foie	69
1.6.1. Histologie du foie des lapins témoins	69
1.6.2. Histologie du foie des lapins traités par les vitamines C et E	70
1.6.3. Histologie du foie des lapins traités par l'insecticide AP	71
1.6.4. Histologie du foie des lapins traités par l'insecticide AP+ vitamines CE	73
1.6.5. Résultats histo-morphométriques	74

## **Partie 2. Effet des vitamines A, D, E et C sur la toxicité subaiguë induite par Ampligo 150 ® ZC**

2.1. Évolution du poids corporel et pourcentage de prise de poids	75
2.2. Variation de la consommation de l'aliment et l'indice de conversion alimentaire	76
2.3. Variations du poids absolu et relatif du foie	76
2.4. Effet des traitements sur les paramètres biochimiques	77
2.4.1. Variations des taux sériques de transaminases (ASAT & ALAT)	77
2.4.2. Variations des taux sériques de PAL et $\gamma$ GT	78
2.4.3. Variations des taux de glucose dans le sang (glycémie)	80
2.4.4. Variations des taux sériques de la bilirubine totale	81
2.4.5. Variations des taux sériques du profil lipidique	82
2.5. Effet des traitements sur l'aspect histologique et la morphométrie du foie	85
2.5.1. Histologie du foie des lapins témoins	85
2.5.2. Histologie du foie des lapins traités par l'Ampligo 150 ZC	87
2.5.3. Histologie du foie des lapins traités par l'Ampligo 150 ZC et supplémentés avec les vitamines ADEC	89
2.5.4 Résultats histo-morphométriques	90
2.6. Résultats histochimiques	91
2.6.1. Aspect histochimique après coloration avec l'acide périodique de Schiff (PAS)	91
2.6.2. Aspect histochimique après coloration avec le bleu alcian	93
2.7. Résultats immunohistochimiques	94
2.7.1. Expression hépatique de Alpha-fœtoprotéine (AFP)	94
2.7.2. Expression hépatique de Bcl2	96
2.7.3. Expression hépatique de E-cadhérine	98
2.7.4. Expression hépatique de Ki 67	100
2.7.5. Expression hépatique de P53	102
<b>Discussion générale</b>	<b>104</b>
<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>115</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>117</b>

---

# Introduction

---

### Introduction

Alors que la population humaine ne cesse de croître, la pression sur les systèmes agricoles pour répondre à la demande alimentaire est devenue de plus en plus importante. Les estimations de la croissance démographique mondiale au XXI<sup>e</sup> siècle soulèvent des questions quant à la capacité de nos systèmes agricoles à répondre aux besoins alimentaires. L'enjeu de la sécurité alimentaire nécessite non seulement une offre alimentaire adéquate en terme de quantité, de sécurité sanitaire et de valeur nutritive, mais également un accès équitable en terme de quantité à cette offre alimentaire (**Ngo-Samnack et Fournier, 2015**).

En contrepartie, les insectes et ravageurs rentrent en concurrence avec l'homme sur les ressources alimentaires causant ainsi des dommages à l'industrie agro-alimentaire (**Oliveira et al., 2014; Scudder, 2017**). Pour faire face à ce problème, de nombreuses méthodes ont été développées pour gérer les pertes agricoles. Les produits phytosanitaires font partie de ces méthodes, et ils sont utilisés de façon intensive depuis plus d'une cinquantaine d'années afin de maintenir, voire accroître, le niveau de production agricole (**Pussemier et Steurbaut, 2004**). Néanmoins, l'utilisation intensive de ces produits engendre également divers effets indésirables, tels que des impacts sur la santé des agriculteurs, la dégradation de l'environnement, l'émergence de résistance chez les insectes et la présence de résidus dans les denrées alimentaires (**Sun et al., 2021**).

Selon les déclarations de l'association algérienne de protection de l'environnement, l'Algérie présente une consommation importante de pesticides, avec une utilisation annuelle de 30 000 tonnes (**Djahra et al., 2020**). Par conséquent, l'intoxication causée par les pesticides en Algérie arrive en deuxième position après les intoxications dues aux médicaments (**Omran et Negm, 2020**).

Cette exposition aux pesticides induits de nombreux problèmes de santé, notamment le cancer, les lésions neurologiques, et hépatiques, les risques pour la reproduction, l'immunotoxicité et les perturbations endocriniennes (**Khaldoun-Oularbi et al., 2013; Khaldoun Oularbi et al., 2017; Al Malahi et al., 2022; Lopez-Torres et al., 2022**).

Ampligo 150 ® ZC (AP) est un insecticide commercial formulé à partir d'une combinaison de lambda cyhalothrine (LCT) 4,6% et de chlorantraniliprole (CAP) 9,3%. La LCT est un insecticide pyréthrianoïde de synthèse de type II, largement utilisé pour lutter contre une série d'insectes nuisibles dans l'agriculture. Cependant, il a été démontré que la LCT est nocive pour la santé humaine et animale (**Fetoui *et al.*, 2010; Khaldoun Oularbi, 2014; Al-Amoudi, 2018; El-Bialy *et al.*, 2020**). D'autre part, le chlorantraniliprole (CAP) est un insecticide à base de diamide anthranilique avec un nouveau mode d'action activateur du récepteur de la ryanodine (**Wang et Wu, 2012**). Cet insecticide a également fait l'objet des recherches affirmant son effet toxique sur les organismes non cibles (**Bentley *et al.*, 2010; Bokreta *et al.*, 2021; Omar *et al.*, 2022**). Par ailleurs, La combinaison de deux substances actives de AP (CAP + LCT) n'a pas été l'objet d'une recherche précédente concernant son effet toxique sur l'organisme et ses fonctions vitales. Pour cela, l'évaluation de la combinaison, représente une des originalités de notre travail de recherche. De plus, afin de mieux comprendre les effets toxiques engendrés par l'insecticide, la variation des doses administrées est cruciale dans le but d'évaluer la relation dose-effet de l'Ampligo 150ZC, ceci était parmi les objectifs établis durant la réalisation de cette thèse.

Afin de prévenir la toxicité de ces xénobiotiques, la nutrition pourrait être une solution efficace. En effet, les vitamines jouent un rôle important dans le contrôle de la toxicité des pesticides chez les organismes exposés (**Shokrzadeh *et al.*, 2012; Khaldoun-Oularbi *et al.*, 2015; Oladele *et al.*, 2020; Rajak *et al.*, 2022**), faisant de celles-ci une cible de choix pour de nouvelles stratégies thérapeutiques dans le contexte de perturbations métaboliques, du stress oxydant ainsi que dans la prévention du développement tumoral. Cependant, le rôle précis des vitamines dans le contrôle et la stimulation immunitaire pour affronter ces xénobiotiques demeure complexe et pas encore complètement élucidé.

Cette piste prometteuse de recherche, nous a permis de définir notre objectif principal qui est de faire paraître l'efficacité de différentes associations vitaminiques dans la correction des altérations induite par l'insecticide Ampligo 150 ZC.

Pour cela le travail a été devisé en deux parties :

- **Partie 1** : Investiguer l'effet bénéfique des vitamines C et E sur la toxicité subaiguë induite par Ampligo 150<sup>®</sup> ZC.
- **Partie 2** : Étudier l'effet bénéfique des vitamines A, D, E et C sur la toxicité subaiguë induite par Ampligo 150<sup>®</sup> ZC.

Ce document est divisé en quatre chapitres : le premier chapitre présente une synthèse bibliographique qui commence par l'anatomie, l'histologie et la fonction biologique du foie, ensuite un rappel bibliographique sur les insecticides et l'AP est mis en évidence, et se termine par des généralités sur les vitamines et son action antioxydante. Un deuxième chapitre qui comporte une description du matériel utilisé et les méthodes suivies durant l'expérience. Par la suite, un troisième chapitre qui traite les résultats obtenus suivis de leurs discussions dans le chapitre quatre. Faisant suite à la discussion, la conclusion et les perspectives sont données à la fin de cette thèse.

---

# Synthèse bibliographique

---

## I. Foie organe du métabolisme des xénobiotiques

Le foie est l'organe le plus volumineux et métaboliquement le plus important du corps d'un vertèbre ; il peut être considéré comme « l'usine métabolique » essentielle du corps (Tortora et Derrickson, 2018). Cette volumineuse glande assure une multitude de fonctions cruciales à savoir : le maintien de l'homéostasie métabolique et énergétique, immunitaire ainsi que la détoxification et l'élimination des xénobiotiques.

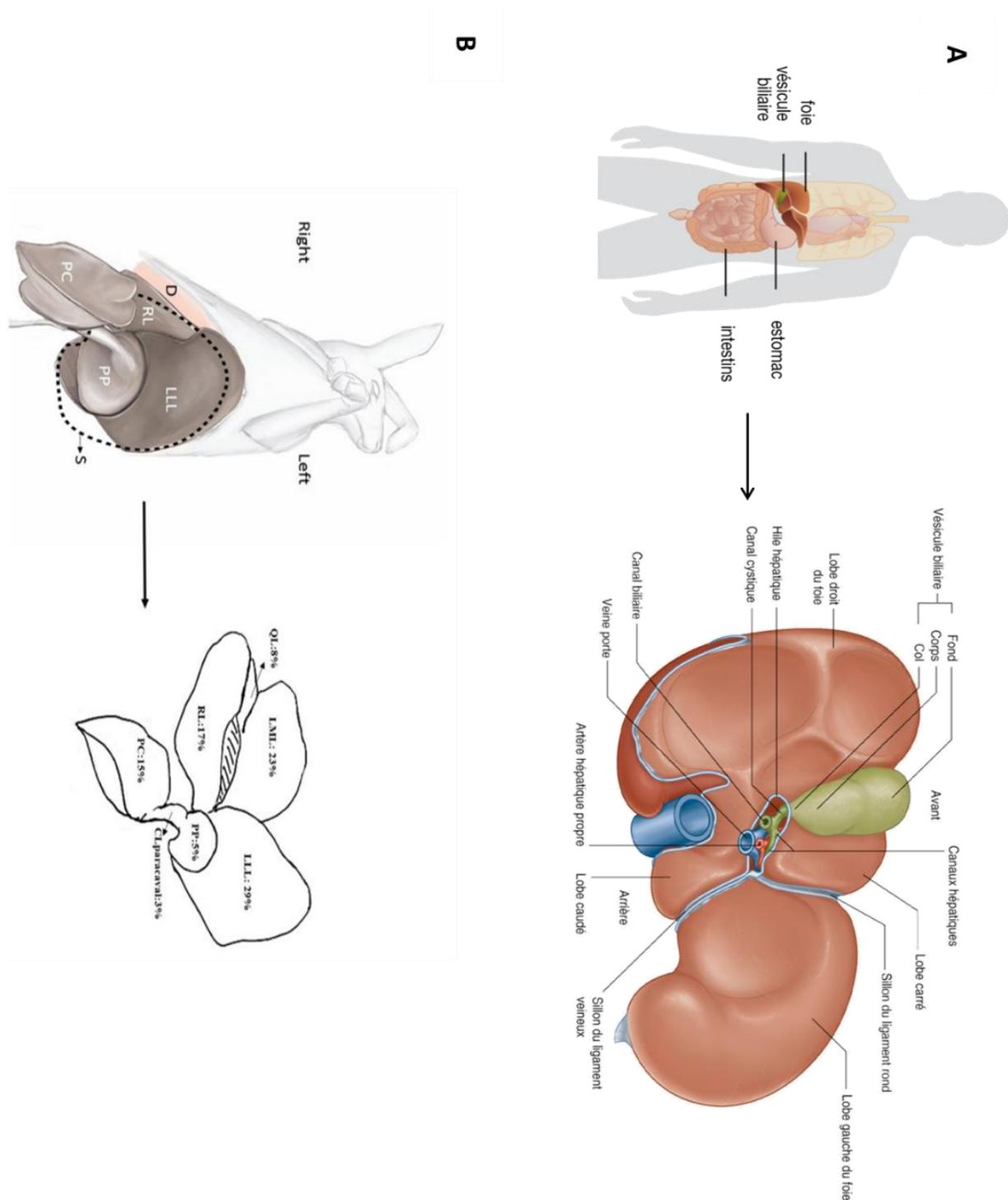
### 1. Généralités sur le foie

#### 1.1. Anatomie macroscopique

Le foie humain est situé dans le quadrant supérieur droit de l'abdomen, juste en dessous du diaphragme à droite de l'estomac, au-dessus de la vésicule biliaire (**figure 1**). Il s'agit d'un organe intrapéritonéal composé de quatre lobes de différentes tailles : un lobe gauche et lobe droit principaux et deux lobes inférieurs plus petits, carré et caudé (Anthony, 2013). La face viscérale du foie est attachée à la paroi abdominale par une capsule de péritoine viscéral appelée capsule de Lænnec, qui recouvre l'organe. La seule partie de l'organe qui n'est pas recouverte de péritoine est la face diaphragmatique, ou *area nua*, qui se trouve contre le diaphragme. La capsule de Glisson, deuxième capsule située sous la première, recouvre le foie (Oliviero, 2021).

Le lapin étant un animal mammifère, possède une architecture hépatique similaire à l'être humain avec quelques différences anatomique. En effet, la segmentation hépatique chez le lapin est composée de 5 lobes : lobe droit, lobe gauche qui se subdivise en lobes latéral et médian, carré et caudé (**Figure 1, B**). De plus, la capsule de Glisson qui s'invagine pour diviser ces lobes hépatiques est moins épaisse chez le lapin que chez l'homme (Al-Hamdany, 2019).

Contenant 10% du volume sanguin total, le foie est l'organe le plus densément vascularisé. Il est composé de deux vaisseaux sanguins majeurs : la veine porte et l'artère hépatique, ce dernier assure l'apport principal en oxygène avec 25 à 30% du flux sanguin hépatique total. La veine porte à son tour est responsable de 70 à 75% du flux hépatique et garantit l'apport de nutriments absorbés par l'intestin (Anthony, 2013). Ces deux vaisseaux se divisent en plusieurs branches pour irriguer les différentes régions hépatiques.

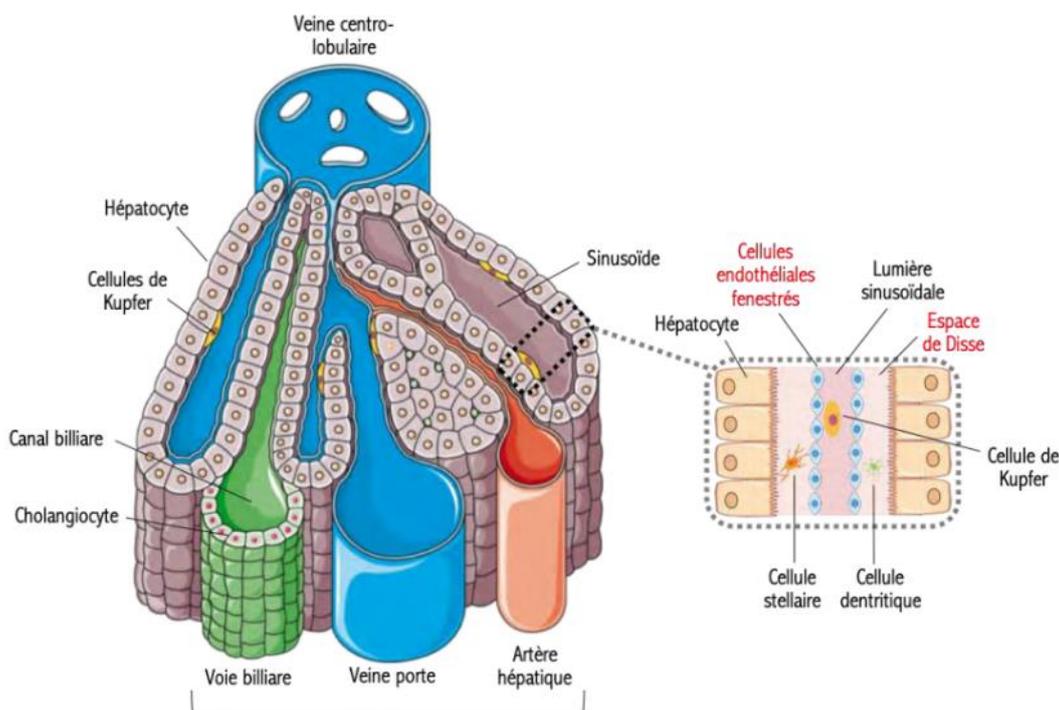


**Figure 1.** **A** : Anatomie et distribution des lobes hépatiques chez l’homme, **B** : Position et distribution des lobes hépatiques chez le lapin (Lucidarme, 2017; Kilimci, 2020).

*D* : diaphragme ; *LLL* : lobe latéral gauche ; *RL* : lobe droit ; *CP* : processus caudé ; *PP* : processus papillaire ; *QL* : lobe carré.

## 1.2. Anatomie microscopique

Le foie est constitué de centaines de milliers d'unités anatomiques répétitives, appelé lobules hépatiques qui représente l'unité fonctionnelle de l'organe, possédant généralement une forme hexagonale avec à chacun de ses coins une triade portale composée d'une veine porte, une artère hépatique et d'un canal biliaire (Sherwood et al., 2016). La base des lobules est formée de cellules parenchymateuses polygonales, les hépatocytes, qui s'organisent en travées autour desquelles va circuler le sang grâce aux canaux sanguins appelés sinusoides (Figure 2).



**Figure 2.** Structure du lobule hépatique et les différents types cellulaires hépatiques (Oliviero, 2021)

Les sinusoides forment des tubes enveloppés de lignes de cellules endothéliales fenêtrées permettant d'agir comme un filtre entre le sang et les hépatocytes, à l'intérieur des canaux sinusoidales, il existe d'autres types cellulaires tels que les cellules de Kupffer qui sont des macrophages avec un noyau fusiforme situées à la surface luminale des cellules endothéliales, également, on trouve les cellules stellaires, anciennement appelées cellules de Ito. Les cellules stellaires sont localisées dans l'espace de Disse, formé entre les cellules endothéliales et les hépatocytes (Kietzmann, 2017).

### 1.3. Fonctions

#### 1.3.1. Homéostasie métabolique

Pour mieux contrôler les fluctuations des apports énergétiques, le foie joue un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie glucido-lipidique. C'est un acteur de liaison entre les différents organes engagés dans le métabolisme. En effet, lorsque les taux de glucose et d'insuline sont élevés (état postprandiale), les hépatocytes stockent le glucose sous forme de glycogène dans des granules cytoplasmiques ou l'utilise pour synthétiser des acides gras (**Figure 3**).

Les acides gras sont également absorbés par le sang, estérifiés avec du glycérol 3-phosphate pour générer des triglycérides (TG), ou avec du cholestérol pour produire des esters de cholestérol et les stockés dans les gouttelettes lipidiques cytoplasmiques qui servent de réserves d'énergie pendant les périodes de jeûne ou bien emballés dans des particules de lipoprotéines de très faible densité (VLDL) pour être acheminés vers le tissu adipeux ou d'autres tissus extra hépatiques (**Rui, 2014**).

À l'état de jeûne, lorsque les niveaux de glucagon sont élevés, le foie fournit du glucose par glycogénolyse et gluconéogenèse pour maintenir l'euglycémie, ce qui représente jusqu'à 90 % de la production totale de glucose endogène après un jeûne prolongé (**Petersen et al., 2017**).

Bien que le cholestérol soit un composant important dans la formation des membranes cellulaires les hormones stéroïdiennes et la vitamine D, il est également nocif en cas d'excès. Le foie est la principale source de la biosynthèse du cholestérol endogène *de novo*, qui est estérifié et stocké dans des gouttelettes lipidiques, ou sécrété dans le sang en tant que constituants des lipoprotéines, ou converti en acides biliaires (**Luo et al., 2020**).

Le parenchyme hépatique est particulièrement important en raison de sa capacité unique à absorber l'excès de cholestérol à partir des tissus périphériques et des macrophages artériels dans un processus connu sous le nom de transport inverse du cholestérol et de l'éliminer par transformation en acides biliaires ou par l'excrétion directe du cholestérol libre dans la bile (**Nemes et al., 2016**).

Les protéines alimentaires sont dégradées en acides aminés au niveau intestinal puis sont absorbées pour être transporter par le sang vers différents organes pour permettre d'assurer le renouvellement de ces substrats. Une synthèse protéique a également lieu au niveau du foie, à l'origine de l'albumine, une protéine cruciale pour le transport de plusieurs molécules et médicaments.



### 1.3.2. Fonction immunitaire

Le foie occupe une position unique à l'interface entre le système digestif et le sang pour former un mur vasculaire pour capturer tous les micro-organismes envahissants qui ont traversé la barrière intestinale (**Balmer *et al.*, 2014**).

En effet, cet organe contient d'abondantes populations de cellules immunitaires innées comme les cellules de Kupffer, les cellules dendritiques et les lymphocytes NK (Naturel killer). En outre, le foie est constamment exposé à des millions d'antigènes et xénobiotiques, mais si chaque contact avec eux stimulait le système immunitaire, cela conduirait à une inflammation chronique du foie. C'est pourquoi, l'une des fonctions clés du système immunitaire hépatique et la promotion de la tolérance active (**Sendensky et Dufour, 2011**).

### 1.3.3. Autres fonctions du foie

Le foie est responsable de la sécrétion de la bile, un savon moléculaire complexe composé principalement d'acides biliaires, de phospholipides et de cholestérol (**Anthony, 2013**). Synthétisée et sécrétée par les hépatocytes puis transportée à travers la membrane apicale dans les canalicules biliaires, la bile facilite l'émulsification, la solubilisation et l'absorption des graisses alimentaires dans la lumière intestinale. C'est également par la sécrétion de la bile que le foie élimine les sous-produits métaboliques potentiellement nocif ainsi que les xénobiotiques (**Schulze *et al.*, 2019**).

Les cellules de Kupffer catabolisent l'hème des globules rouges vieillis en bilirubine qui subit une glucorono-conjugaison par les hépatocytes puis secrétée dans la bile. En tant que principal site d'absorption et de stockage, le foie régule également l'homéostasie de la vitamine A (**Blaner, 2019**).

## 2. Marqueurs de la fonction hépatique

Le foie est un véritable carrefour de métabolisme, de filtration et de neutralisation dans l'organisme. En tant que tel, évaluer sa fonction en utilisant des marqueurs spécifiques est primordial pour diagnostiquer et surveiller les maladies hépatiques, ainsi que pour estimer les effets potentiels de diverses substances sur la santé de l'organe. Les marqueurs biochimiques, moléculaires et tissulaires sont couramment utilisés pour évaluer cette fonction.

---

Bien que les marqueurs biochimiques sériques soient les plus évalués puisqu'ils fournissent des informations sur l'état de foie en termes de synthèse de protéines, fonction de transport et de métabolisme des substances. Les marqueurs moléculaire et tissulaire peuvent refléter la prolifération cellulaire, la réponse immunitaire, l'apoptose, et la transformation maligne dans le foie. L'utilisation combinée de ses marqueurs peut fournir une évaluation plus complète de la fonction hépatique et de l'état pathologique de cet organe. Dans cette partie, on va se focaliser que sur les marqueurs utilisés dans la partie expérimentale.

## 2.1. Marqueurs biochimiques

### 2.1.1. Transaminases (ASAT et ALAT)

L'aspartate-aminotransférase (ASAT) et l'alanine-aminotransférase (ALAT) sont des enzymes qui catalysent le transfert des groupement  $\alpha$ -amine de l'aspartate et l'alanine au groupement  $\alpha$ -céto du céto-glutarate pour générer respectivement de l'oxaloacétate et du pyruvate, qui sont des éléments essentiels du cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs) (**Fontem, 2022**). Ces enzymes libérées dans la circulation, donnent une bonne indication du fonctionnement du foie puisque leurs taux sont augmentés en cas de lésions cellulaires (**Berthélémy, 2015**).

L'ASAT est une enzyme ubiquitaire, en plus de sa localisation hépatique, elle est présente également dans le cœur, les muscles squelettiques, les reins, le cerveau et les cellules sanguines. Par contre, l'ALAT se trouve majoritairement dans le foie et ses concentrations sont faibles au niveau rénal et muscles squelettiques. De ce fait, une augmentation des taux sériques d'ALAT est plus spécifique d'une atteinte hépatique (**Fontem, 2022**).

### 2.1.2. Gamma Glutamyl Transférase ( $\gamma$ GT)

La  $\gamma$ GT est une enzyme à activité trans-glutaminase de la membrane hépatocytaire et des cellules des voies biliaires. Elle est souvent utilisée comme marqueur de la fonction hépatique car elle augmente au cours des cholestases, de la cytolyse hépatique, du cancer hépatocellulaire et de la stéatose hépatique (**Baudin, 2017**).

### 2.1.3. Phosphatase alcaline (PAL)

La PAL est une enzyme présente dans plusieurs tissus de l'organisme notamment le foie, les os, les reins et le placenta. Cette enzyme est impliquée dans le métabolisme des phosphates, et sa concentration est mesurée dans le sang pour évaluer la fonction hépatique.

### 2.1.4. Bilirubine plasmatique

La sécrétion de la bile est un paramètre important de la fonction hépatique. En effet, les concentrations plasmatiques de bilirubine fournit des informations indirectes sur les capacités hépatiques de production biliaire. Un taux de bilirubine élevé est un signe de lésions et une altération de fonctions hépatiques (**Fontem, 2022**).

La bilirubine est présente sous deux formes principales :

- Bilirubine indirecte (non conjuguée) : c'est la forme de bilirubine produite par la dégradation de l'hémoglobine. Elle est transportée dans le sang, liée à l'albumine jusqu'au foie où elle est captée par les hépatocytes.
- Bilirubine directe (conjuguée) : après avoir été captée par les hépatocytes, la bilirubine indirecte est métabolisée en bilirubine directe par conjugaison avec l'acide glucuronique. La bilirubine directe est ensuite excrétée dans la bile.

Il est important aussi de mesurer le niveau de bilirubine totale (directe et indirecte), afin de diagnostiquer des pathologies hépatiques telle que l'hépatites ou la cirrhose.

### 2.1.5. Marqueurs liés au métabolisme énergétique

Comme précédemment décrit, le foie est un acteur principal dans le métabolisme des substrats énergétiques (glucides, lipides et protéines), d'où l'intérêt d'estimer leurs concentrations sanguines. À titre d'exemple, des indicateurs lipidique (cholestérol, TG, HDL, LDL et VLDL), glucidique (glycémie) et protéique (protéines totales) peuvent être évalués afin de diagnostiquer d'éventuelle atteinte hépatocellulaire.

## 2.2. Marqueurs tissulaires et moléculaires

### 2.2.1. Alpha foetoprotéine (AFP)

L'alpha foetoprotéine est une glycoprotéine dérivée de cellules du tissu endodermique embryonnaire, elle est produite par le foie et la poche vitelline au cours du premier trimestre de la grossesse, agissant comme équivalent à l'albumine (Wang et Wang, 2018; Galle *et al.*, 2019). Découverte par Bregstand et Czar dans le sérum fœtal humain en 1956, l'AFP intervient comme un transporteur de nombreux ligands, tel que la bilirubine, les acides gras et éventuellement certains médicaments (Mizejewski, 2001; Hu *et al.*, 2022).

De plus, cette glycoprotéine exerce des effets immunosuppresseurs sur les cellules NK et les cellules dendritiques et également sur les lymphocytes limitant donc l'auto-immunité fœtale (Munson *et al.*, 2022).

Physiologiquement, l'AFP est diminuée fortement après la naissance jusqu'à atteindre des faibles concentrations vers l'âge adulte. Cette diminution en teneur chez l'adulte, est due principalement à la perte de la capacité à synthétiser l'AFP par les hépatocytes matures. Cependant, cette capacité peut être restaurée lorsque les hépatocytes se transforment en cellules cancéreuses ce qui renforce le pouvoir anti-apoptotique de ces derniers (Wang et Wang, 2018). En effet, depuis qu'elle a été identifiée comme biomarqueur oncofœtal, l'AFP est utilisée pour le dépistage, le diagnostic, le pronostic et l'évaluation thérapeutique du carcinome hépatocellulaire (CHC) (Hu *et al.*, 2022).

D'autres pathologies que le CHC, sont également associées à des taux élevés d'AFP, tels que la cirrhose et l'hépatite virale. Bien que l'estimation des taux de AFP pour diagnostiquer le CHC est majoritairement faite par un test sanguin, l'évaluation de cette glycoprotéine est également possible par un test immunohistochimique (IHC) afin d'estimer son expression hépatocellulaire (Behne et Copur, 2012; Badwei, 2023).

### 2.2.2. E- cadhérine

Les cadhérines sont une grande famille des glycoprotéines transmembranaires qui jouent un rôle de médiateur dans le processus d'adhésion  $Ca^{2+}$  dépendant. Cette famille est composée de cinq sous familles majeures à savoir, cadhérines classique de type I, les cadhérines étroitement associées de type II, les cadhérines desmolases, protocadhérines, et une variété de molécules apparentées aux cadhérines (Van Roy et Berx, 2008).

L'E-cadhérine est une cadhérine de type I considérée comme un marqueur classique des cellules épithéliales et impliquée dans les jonctions cellule-cellule jouant un rôle important dans l'adhésion des cellules épithéliales et le maintien de l'architecture des tissus (**Xiao et al., 2015; Niknami et al., 2020**).

Elle se lie avec les caténines, des glycoprotéines cytoplasmiques, pour former le complexe E-cadhérine/  $\beta$ -caténine/ $\alpha$ -caténine qui interagit avec le cytosquelette d'actine (**Christofori et Semb, 1999**), pour assurer ces fonctions citées.

Par conséquent, la perturbation de la fonction d'E-cadhérine entraîne une altération de la jonction intercellulaire et augmente par la suite la capacité de migration des cellules, l'invasion des tumeurs et les métastases (**Corso et al., 2020**).

En effet, la perte d'E-cadhérine est utilisée pour le diagnostic et le pronostic des cancers épithéliaux (**Van Roy, 2014**). Dans le foie, l'E-cadhérine est exprimée par les hépatocytes et il a été démontré que sa perte accélère le développement de l'inflammation periportale, de la fibrose périportale ainsi que le cancer de foie (**Gonzalez-Sanchez et al., 2015**).

### 2.2.3. Ki-67

Le Ki 67 est une protéine nucléaire non-histone qui a été découverte pour la première fois en 1983 par Gerdes en utilisant l'anticorps monoclonal Ki-67 qui a été généré en immunisant des souris avec les noyaux de la lignée cellulaire de lymphome hodgkinien L428 (**Scholzen et Gerdes, 2000**).

Le Ki67 est exprimé dans toutes les phases du cycle cellulaire, à l'exception de G0 donc liée à la prolifération cellulaire active. En fait, il a été suggéré que l'évaluation de Ki67 dans l'indice de prolifération des cellules hépatiques est un moyen efficace pour analyser les processus de régénération du foie et de carcinogenèse (**Youssef et al., 2012**). L'expression de Ki67 est classiquement détectée par IHC afin d'évaluer la prolifération cellulaire dans le tissu hépatique.

#### 2.2.4. Bcl-2

La famille des Bcl-2 est une famille des protéines pro-apoptotiques (Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-W...) et anti apoptotiques (Bax, Bak, Bid...) permettant de réguler la perméabilisation de la membrane externe des mitochondries qui libère le cytochrome c et d'autres facteurs apoptotiques dans le cytosol ; ceci présente l'étape clé de l'apoptose considérée comme le point de non-retour de la cellule à mourir (**García-Sáez, 2012**).

En plus de sa fonction anti apoptotique, la Bcl2 est reconnue également pour sa fonction proliférative (**Hata et al., 2015; Hu et al., 2020**). En outre, il a été montré que cette protéine est essentielle pour promouvoir la survie et la prolifération des cellules de l'hépatocarcinome (**Zhu & Thompson, 2019; Hu et al., 2020**). De ce fait, l'évaluation de la Bcl2 peut fournir une approche diagnostique complémentaire de la fonction hépatique.

#### 2.2.5. P 53

La protéine p53 est une protéine de liaison à l'ADN spécifique d'une séquence qui régule la transcription. Elle se compose de deux domaines de transactivation N-terminaux suivis d'un domaine riche en proline conservé, d'un domaine central de liaison à l'ADN et d'une extrémité C codant pour ses signaux de localisation nucléaire et un domaine d'oligomérisation nécessaire à l'activité transcriptionnelle (**Kastenhuber et Lowe, 2017**).

Cette protéine est exprimée à des faibles niveaux dans des conditions normales. Cependant, la surexpression de la p53 est soit le résultat d'un stress cellulaire qui altère la progression normale du cycle cellulaire ; soit après des mutations du génome conduisant à la transformation d'une cellule normale en cellule cancéreuse (**Bourdon, 2007**). La p53 est souvent nommée comme le gardien du génome puisque elle empêche la multiplication des cellules endommagées qui sont plus susceptibles de contenir des mutations et de présenter une croissance cellulaire anormale (**Lane, 1992**). En conséquence, l'évaluation de l'expression de la p53 peut être utile pour estimer les risques du développement tumoral et surveiller la réponse des cellules au stress.

### 3. Métabolisme hépatique des xénobiotiques « détoxification »

En plus de son rôle majeur dans le métabolisme énergétique précédemment décrit, le foie possède une autre fonction principale à savoir la détoxification des xénobiotiques. Le terme xénobiotique désigne toute substance étrangère à l'organisme vivant, ce terme regroupe les polluants environnementaux, des contaminants alimentaires, et les composés synthétiques y compris les pesticides (**Bequet, 2018**).

La majorité de ces xénobiotiques, de faible poids moléculaire et de nature hydrophobe, traversent librement les membranes biologiques et s'accumulent dans les cellules provoquant ainsi une cytotoxicité.

Le foie intervient pour faciliter l'élimination de ces substances toxiques par la conversion de ces derniers en dérivées hydrophiles. C'est pour cela, le foie est sujet à de nombreuses études toxicologiques afin de comprendre les différentes étapes du devenir des xénobiotiques ou toxicocinétique à savoir l'absorption de la molécule toxique, sa distribution et son métabolisme dans l'organisme et enfin son élimination ou son stockage.

Le métabolisme des xénobiotiques se déroule en quatre phases (**Figure 4**), phase 0 correspond à l'étape d'entrée du xénobiotique dans la cellule, les phases I et II permettant de réaliser des réactions enzymatiques pour rendre la molécule plus facile à éliminer donc hydrosoluble, et enfin la phase III d'élimination de la molécule à l'extérieur de l'organisme via la bile ou l'urine.

#### 3.1. Phase 0

C'est la phase qui permet de transporter et faire entrer l'influx des composés xénobiotiques de la circulation sanguine vers les cellules hépatiques (**Febvre-James, 2019**). Cette entrée est assurée soit par diffusion passive, facilitée ou active, via des transporteurs membranaires spécifiques exprimés au pôle basolatéral des hépatocytes.

Les SLC ou « *solute carriers* », sont les transporteurs impliqués dans cette phase et qui se différencient par la nature du xénobiotique qu'ils transportent. Il s'agit des transporteurs OATs (*organic anion transporters*) et OCTs (*organic cations transporters*) qui appartiennent à la famille SLC22A, et OATPs de la famille SLCO qui sont responsable du transport des xénobiotiques (**Discov et Consortium, 2010**).

### 3.2. Phase I

C'est la phase de fonctionnalisation des xénobiotiques, permettant la formation de métabolites plus hydrophile par la fixation du groupement hydroxyle (OH), amino (NH<sub>2</sub>) ou carboxyle (COOH) grâce à des réactions de fonctionnalisation regroupant l'oxydation, la réduction et l'hydrolyse. Toutefois, la réaction d'oxydation est la principale réaction, réalisée majoritairement par les enzymes Cytochrome P450 (CYP450) et plus particulièrement ceux appartenant aux familles 1, 2 et 3 catalysant des réactions de mono-oxygénation.

Dans le cas où les métabolites de la phase I obtiennent suffisamment des propriétés hydrophiles, ils peuvent directement être éliminés. Dans le cas contraire les enzymes de la phase II vont assurer l'augmentation de leur caractère hydrophile.

Cependant, dans certains cas, les CYP peuvent générer des métabolites réactifs possédant une forte réactivité chimique donnant des produits plus toxiques que le substrat initial. Cette réactivité peut engendrer des effets nocifs sur les fonctions cellulaires s'ils ne sont pas suffisamment contrôlés par les enzymes de la phase II (**Roth et Lee, 2017**).

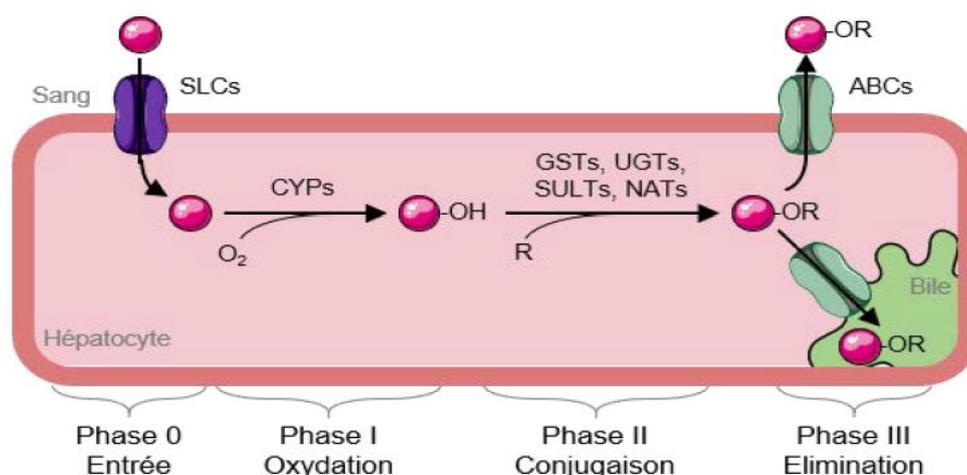
### 3.3. Phase II

C'est la réaction de conjugaison qui consiste à remplacer les groupements réactifs des métabolites de la phase I par un groupement moins réactif et rendant la molécule plus hydrophile. Les enzymes catalysant ces réactions sont les SLUTs (sulfotransférases) qui assurent la sulfatation des groupements ; les UGTs (uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransférases) qui assurent la glucuronidation des xénobiotiques ; les NATs (N-acétyltransférases) qui catalysent des réactions d'acétylation et permettent la biotransformation de composés aromatiques ; et les GSTs (glutathionne S-transférases) qui sont les principales enzymes de la phase II qui peuvent catalyser les réactions de métabolisation des xénobiotiques, et assurent également une défense primordiale contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Roth et Lee, 2017; Allard, 2020**).

### 3.4. Phase III

Les métabolites issus de la phase I et/ou II rendus hydrophiles peuvent maintenant être transportés hors de l'hépatocyte pour qu'ils soient éliminés via la circulation sanguine puis les fèces, l'urine ou la bile. Ce processus implique les transporteurs actifs membranaires de la superfamille des *ATP binding cassette* (ABC) qui sont répartis en 2 groupes :

Les transporteurs de la phase IIIa, qui sont localisés au pôle canaliculaire des hépatocytes et permettant une élimination biliaire. Cette élimination est assurée par les MDR1 (*multidrug- resistance proteins*), BSEP (*bile salt export pump*), et MRP2 (*mutlidrug resistance-associated proteins*). Les transporteurs de la phase IIIb, qui se retrouvent au pôle apical assurant l'efflux des composés xénobiotiques des hépatocytes vers la circulation sanguine afin de l'éliminer par voie rénale. Parmi ces transporteurs se trouvent MPR4, OST $\alpha/\beta$  (*organic solute transporter*), MRP3 et MRP5 qui sont également 2 transporteurs de phase IIIb mais peu décrits (Köck et Brouwer, 2012; Allard, 2020).



**Figure 4.** Les phases de métabolisme des xénobiotiques au niveau hépatocytaire (Febvre-James, 2019).

#### 4. Hépatotoxicité liée aux xénobiotiques

L'hépatotoxicité est définie comme une lésion hépatique corrélée à une altération de la fonction de cet organe en réponse à une exposition suffisante à un xénobiotique ou à tout autre agent non infectieux (Alarcan *et al.*, 2020). Cette réponse hépatique aux agressions chimiques dépend de l'intensité de l'agression, de la population de cellules affectées et de l'exposition aiguë ou chronique. Les agresseurs xénobiotiques altèrent le foie selon plusieurs mécanismes induisant différents types de lésions hépatiques :

#### 4.1. Mort cellulaire

D'après leur morphologie, les cellules hépatiques peuvent mourir selon deux modes différents, la nécrose ou l'apoptose. Le mode naturel qui est l'apoptose se caractérise par un rétrécissement de la cellule, fragmentation nucléaire, la formation de corps apoptotiques et l'absence d'inflammation. Il s'agit toujours d'un événement unicellulaire dont l'objectif principal est d'éliminer les cellules devenues inutiles au cours du développement ou d'éliminer les cellules vieillissantes.

En revanche, la nécrose se caractérise par un gonflement des cellules, une fuite membranaire, une désintégration nucléaire (caryolyse) et un influx de cellules inflammatoires. Lorsque la nécrose se produit dans les hépatocytes, la fuite de la membrane plasmique associée peut être détectée biochimiquement par le dosage sériques des enzymes dérivées du cytosol hépatique (ASAT, ALAT,  $\gamma$ GT) (**Jaeschke, 2008**).

La mort cellulaire hépatiques est programmée suite aux mécanismes des lésions induites par les xénobiotiques dans lequel on note, la peroxydation des lipides membranaire, la liaison aux macromolécules cellulaires, les lésions mitochondriales, la perturbation du cytosquelette et les influx massifs de calcium.

Indépendamment de l'agression initiale, le port de transition de perméabilité de la membrane mitochondriale s'ouvre, entraînant un effondrement du potentiel membranaire et un épuisement des ressources de l'ATP cellulaire. La perte d'ATP inhibe les pompes ioniques dans la membrane plasmique, ce qui entraîne la perte de l'homéostasie ionique cellulaire et provoque le gonflement caractéristique de la nécrose oncotique (**Jaeschke, 2008**).

#### 4.2. Atteintes sinusoidales

L'intégrité fonctionnelle de la sinusoiide peut être compromise soit par dilatation ou l'obstruction de sa lumière lorsque la circulation sanguine hépatique est empêchée, soit par la destruction progressive de sa paroi endothéliale (**Alarcan et al., 2020 ; Jaeschke, 2008**).

### 4.3. Cholestase

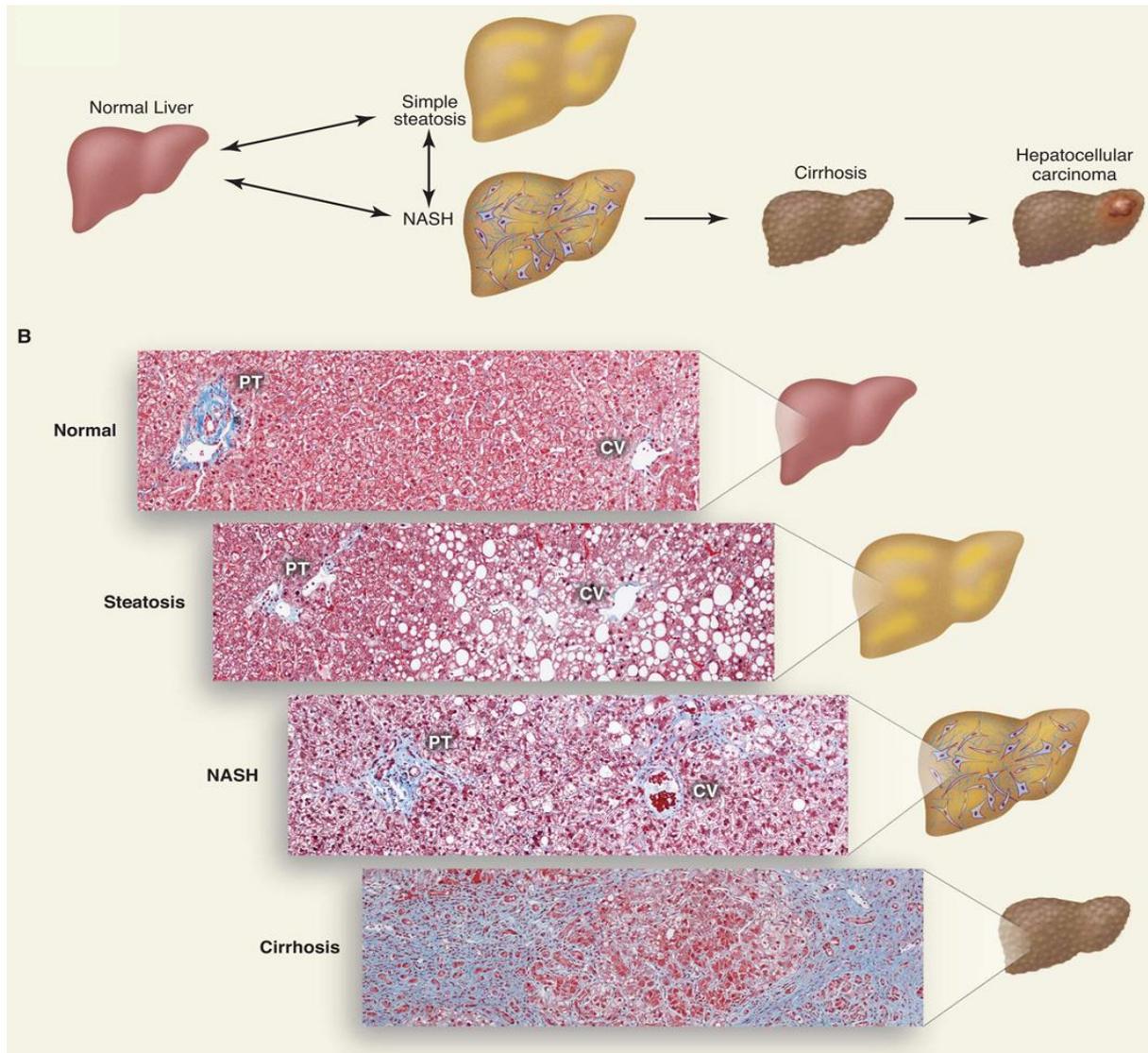
Définie physiologiquement comme une diminution du volume de bile formé ou un défaut de sécrétion de solutés spécifiques dans la bile, la cholestase se caractérise biochimiquement par des taux sériques élevés de composés normalement concentrés dans la bile, en particulier les sels biliaires et la bilirubine. La cholestase induite par les xénobiotiques peut être transitoire ou chronique, lorsqu'elle est importante, elle est associée à la mort cellulaire et à l'inflammation (**Onofrio et Hirschfield, 2020**).

### 4.4. Maladies du foie gras

Les lésions hépatiques suite à une accumulation anormale du gras peuvent être regroupées en deux termes ; en cas de consommation excessive et/ou continue d'alcool, ces lésions peuvent être classées sous le terme ALD (*Alcoholic Liver Disease*). Le terme NAFLD (*Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*) est utilisé lorsqu'il n'y a pas de consommation d'alcool. Le sous-groupe de la NAFLD lié à l'obésité et aux maladies métaboliques qui l'accompagnent a récemment été appelé MAFLD (*Metabolic Associated Fatty Liver Disease*) (**Eslam et al., 2020**).

La NAFLD se divise en quatre stades (**Figure 5**), dont le premier est la « stéatose » hépatique simple, généralement considérée comme une lésion bénigne et liée à une accumulation aberrante de TG dans les hépatocytes. La « stéatohépatite », le deuxième stade, se distingue par la présence d'une inflammation en plus de la stéatose. Par la suite, le foie développe un tissu cicatriciel à la suite d'une inflammation persistante, ce qui constitue le troisième stade appelé « fibrose » de l'architecture hépatique et qui est généralement associée avec une insuffisance hépatique.

Le quatrième stade de la maladie hépatique est « la cirrhose », caractérisée par une nécros-inflammation, entraînant une altération de l'architecture hépatique et une insuffisance de sa fonction. Dans certains cas rares, cette cirrhose peut évoluer vers un carcinome hépatocellulaire (**Starley et al., 2010; Ullah et al., 2019**).



**Figure 5.** Spectre pathologique de la NAFLD avec l’aspect histologique de chaque stade (Cohen *et al.*, 2011).

*CV* : veine centrale ; *PT* : triade portale ; *NASH* : stéato-hépatite non alcoolique.

---

---

## II. Insecticides, xénobiotiques hépatotoxiques

Les xénobiotiques font partie intégrante de notre vie quotidienne. Ils sont présents dans l'environnement, dans notre alimentation, dans les médicaments que nous prenons, dans les produits de beauté et d'hygiène, etc. Les activités humaines ont considérablement augmenté la production et l'exposition aux xénobiotiques ces dernières années, ce qui a entraîné une augmentation de leur toxicité et de leur impact sur la santé humaine et l'environnement. C'est pourquoi il est important de comprendre comment les xénobiotiques interagissent avec notre corps, notamment avec le foie qui joue un rôle central dans leur métabolisme et leur élimination.

Les insecticides constituent une classe majeure de xénobiotiques avec différentes formulations mises sur le marché d'agriculture. Pour cela, la deuxième partie de ce chapitre se concentrera sur l'impact des insecticides sur la santé du foie et les mécanismes sous-jacents à leur hépatotoxicité. Ainsi que sur la formulation insecticide **Ampligo150 ZC** qui a fait l'objet de mon travail.

### 1. Généralités

#### 1.1. Définition

Les insecticides sont des produits chimiques utilisés pour tuer ou contrôler les populations d'insectes considérées comme nuisibles, tels que les ravageurs des cultures, les insectes vecteurs de maladies, les parasites des animaux domestiques et d'autres insectes qui causent des dommages aux biens ou à l'environnement.

Ils sont souvent utilisés dans l'agriculture, les jardins, les maisons et les lieux publics pour prévenir ou réduire les infestations d'insectes. Les insecticides peuvent être appliqués directement sur les plantes, les animaux ou les surfaces, ou utilisés sous forme d'aérosols ou de fumigènes pour traiter des zones spécifiques (Oberemok *et al.*, 2015).

#### 1.2. Formulations des insecticides

À l'exception de quelques insecticides tels que les fumigènes, les insecticides sont rarement utilisés sous leur forme pure. Les produits chimiques de qualité technique doivent d'abord être formulés sous forme de mélanges avant d'être appliqués. Il est important donc de comprendre les principes impliqués dans la formulation, car ils influencent l'utilisation et le comportement du produit (Yu, 2014).

Les insecticides sont formulés en mélangeant des substances actives (SA) avec des ingrédients inertes ou excipients pour obtenir une combinaison efficace et sûre. Les formulations des insecticides peuvent varier en fonction des SA et des excipients utilisés pour les formuler. Les substances actives sont les ingrédients qui ont des propriétés insecticides et qui sont responsables de l'efficacité du produit, tandis que les excipients sont des substances utilisées pour améliorer la stabilité, la dispersion, l'adhésion et d'autres propriétés physiques et chimiques du produit. Les formulations courantes d'insecticides comprennent des liquides (solutions et émulsions), des poudres, des granulés, des aérosols, des appâts, des pastilles, des microcapsules et des fumigènes (Yu, 2014).

Les formulations des insecticides peuvent être classées en plusieurs catégories en fonction de leur composition physique et chimique :

- **Les formulations liquides :** Ce sont des solutions ou des suspensions liquides qui sont diluées dans de l'eau ou d'autres solvants avant l'application. Les exemples incluent les concentrés émulsionnables (CE), les concentrés solubles (CS), les suspensions concentrées (SC) et les solutions (SL), une formulation combinée de CS et SC est une suspension stable (ZC).
- **Les formulations solides :** Ce sont des poudres ou des granulés qui sont appliqués tels quels ou dilués dans de l'eau ou d'autres solvants avant l'application. Les exemples incluent les poudres mouillables (WP), les granulés dispersables dans l'eau (WG) et les microgranulés dispersables dans l'eau (WDG).
- **Les formulations gazeuses :** Ce sont des gaz ou des aérosols qui sont utilisés pour fumer ou pulvériser les cultures. Les exemples incluent les aérosols et les fumigènes.
- **Les formulations biologiques :** Ce sont des formulations à base de micro-organismes tels que les bactéries, les virus ou les champignons, qui sont utilisées pour lutter contre les ravageurs. Les exemples incluent les produits à base de *Bacillus thuringiensis* (BT) et les nématodes entomopathogènes.
- **Les formulations phéromonales :** Ce sont des formulations à base de phéromones, des substances chimiques produites naturellement par les insectes pour communiquer entre eux. Les formulations phéromonales sont utilisées pour attirer ou repousser les insectes en fonction de leurs besoins.

### 1.3. Classification des insecticides

Les insecticides peuvent être classés selon leur origine, leur nature chimique, et selon leur mode d'action :

#### 1.3.1. Classification des insecticides selon leur origine

Les insecticides sont divisés en deux groupes, ceux d'origine naturelle comme les avermectines, le spinosad, la roténone, et le pyrethrum et ceux d'origine synthétique tels que les organochlorés, les organophosphorés, les néonicotinoïdes, les pyréthrinoïdes de synthèse, et les carbamates (Marrs, 2012).

#### 1.3.2. Classification des insecticides selon la nature chimique

Les insecticides peuvent être classés selon leur nature chimique en plusieurs catégories, notamment (Hassaan et El Nemr, 2020):

- **Les organochlorés** : Ce sont des insecticides qui contiennent du chlore dans leur composition. Ils ont été largement utilisés dans le passé, mais leur usage a été restreint en raison de leur persistance dans l'environnement et de leur toxicité pour les êtres vivants. Exemples : DDT, lindane.
- **Les organophosphorés** : Ils agissent en inhibant une enzyme impliquée dans la transmission des signaux nerveux chez les insectes. Ils sont plus toxiques que les organochlorés et ont une durée de vie plus courte dans l'environnement. Exemples : Malathion, chlorpyrifos.
- **Les carbamates** : Ils agissent également en inhibant une enzyme nerveuse chez les insectes, mais leur effet est temporaire. Ils sont moins toxiques que les organophosphorés. Exemples : Carbaryl, propoxur.
- **Les pyréthrinoïdes** : Ce sont des insecticides synthétiques dérivés des pyréthrines, des substances naturelles extraites des fleurs de chrysanthèmes. Ils sont peu toxiques pour les mammifères, mais peuvent être nocifs pour les insectes bénéfiques tels que les abeilles. Exemples : Permethrine, cyperméthrine.
- **Les néonicotinoïdes** : Ils agissent en ciblant les récepteurs de l'acétylcholine dans le système nerveux des insectes, ce qui entraîne leur mort. Ils ont été largement utilisés ces dernières années, mais leur usage a été restreint en raison de leur impact sur les abeilles et autres insectes bénéfiques. Exemples : Imidaclopride, thiaméthoxame.

- **Les diamides** : sont une classe relativement nouvelle d'insecticides qui agissent en ciblant les canaux ioniques Ryanodine sur les muscles des insectes. Les diamides peuvent être utilisées pour contrôler une variété de ravageurs, notamment les larves de lépidoptères et les coléoptères.

### 1.3.3. Classification des insecticides selon le mode d'action

Les insecticides peuvent être classés en fonction de leur mode d'action sur les insectes cibles.

Voici les principales classes d'insecticides selon leur mode d'action (**Sparks et Nauen, 2015**) :

- **Les insecticides à action neurologique** : ces insecticides interfèrent avec le système nerveux des insectes, entraînant une paralysie et la mort. Exemples : les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes.
- **Les insecticides à action sur les canaux ioniques** : ces insecticides agissent sur les canaux ioniques des membranes cellulaires des insectes, provoquant une perturbation de leur fonctionnement et entraînant la mort. Exemples : les néonicotinoïdes, les avermectines.
- **Les insecticides à action sur les hormones de croissance** : ces insecticides interfèrent avec la synthèse, la libération ou l'activité des hormones de croissance des insectes, ce qui entraîne une altération de leur développement et de leur reproduction.
- **Les insecticides à action sur la respiration** : ces insecticides agissent sur les voies respiratoires des insectes, entraînant une perturbation de leur fonctionnement et la mort. Exemple : les pyréthriinoïdes de type II.
- **Les insecticides à action sur la digestion** : ces insecticides agissent sur le système digestif des insectes, entraînant une perturbation de leur fonctionnement et la mort. Exemple : les insecticides à base de *Bacillus thuringiensis*.

Certains insecticides peuvent avoir des effets sur plusieurs cibles et peuvent donc être classés dans plusieurs catégories. De plus, certains insecticides peuvent avoir des effets indirects sur les insectes, tels que la perturbation de leur habitat ou de leur comportement alimentaire.

#### 1.4. Voies d'exposition humaine aux insecticides

Il existe plusieurs voies d'exposition aux pesticides et insecticides, notamment la voie respiratoire, cutanée et par ingestion de poussières ou d'aliments contaminés (**Damalas et Eleftherohorinos, 2011**). Les professionnels exposés aux insecticides sont principalement les travailleurs de l'industrie phytosanitaire, de l'industrie du bois, les agriculteurs, les jardiniers et le personnel d'entretien de la voirie, cette exposition est souvent cutanée (**MacFarlane et al., 2013**).

Quant à la population générale, son exposition dépend de l'utilisation des insecticides dans les foyers pour l'entretien des jardins, le traitement des plantes, du bois, ou pour lutter contre les parasites comme les poux. Elle dépend également de la pollution environnementale intérieure et extérieure ainsi que de l'ingestion d'aliments contenant des résidus d'insecticides. La voie orale est la principale source d'exposition pour la population générale (**Damalas et Eleftherohorinos, 2011**).

En tant que classe, les insecticides ont une toxicité élevée pour les espèces non ciblées par rapport à d'autres pesticides. Certains d'entre eux, notamment les organophosphorés, sont impliqués dans un grand nombre d'empoisonnements de décès chaque année (**Jaeschke, 2008**).

Cette exposition aux insecticides peut se présenter sous deux formes :

- **Toxicité aiguë** : Elle se manifeste rapidement après une exposition à un produit toxique et peut entraîner des effets graves voire mortels. Par exemple, l'ingestion d'une grande quantité de pesticide en une seule fois peut causer une intoxication aiguë.
- **Toxicité chronique** : Elle se développe lentement et progressivement après une exposition répétée ou prolongée à un produit toxique. Les effets peuvent se manifester après des semaines, des mois ou même des années. Par exemple, l'exposition chronique aux pesticides peut causer des maladies chroniques telles que la maladie de Parkinson ou certains types de cancer (**Alengebawy et al., 2021**).

#### 2. Hépatotoxicité des insecticides

L'hépatotoxicité des insecticides est une préoccupation majeure en raison de l'importance de l'exposition humaine et animale à ces produits chimiques.

Puisqu'il assure de nombreuses fonctions vitales, le foie a fait l'objet de plusieurs études pour évaluer sa réponse vis-à-vis les insecticides.

En effet, des études ont confirmé l'effet toxique de ces substances dans le tissu hépatique (Fetoui *et al.*, 2009; Khaldoun *et al.*, 2013; Magdy *et al.*, 2016; El-Bialy *et al.*, 2020; Aoiadni *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2023). Les principaux mécanismes de l'hépatotoxicité des insecticides sont la perturbation du métabolisme des lipides et des glucides, la perturbation de l'équilibre oxydant/antioxydant résultant un stress oxydatif, l'induction de l'apoptose et de l'inflammation par conséquence l'élévation du taux des enzymes hépatiques. De plus de ces perturbations cliniques, une forte dégénérescence du tissu hépatique est associée.

Les insecticides organochlorés, organophosphorés, carbamates et pyréthrinoides ont été largement étudiés pour leur hépatotoxicité (Sarwar, 2015). Il est important de noter que l'hépatotoxicité des insecticides dépend de nombreux facteurs, tels que la dose, la durée d'exposition et la sensibilité individuelle, et que tous les insecticides ne présentent pas le même niveau de toxicité hépatique.

En effet, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a établi une classification des pesticides en fonction de leur toxicité. Cette classification est basée sur la DL50, qui est la dose létale pour 50% des individus exposés, exprimée en milligrammes de pesticide par kilogramme de poids corporel. Les pesticides sont classés en quatre catégories, allant de la plus dangereuse à la moins dangereuse par voie orale (OMS, 2019) :

- **Catégorie Ia** : extrêmement dangereux (DL50 < 5 mg/kg)
- **Catégorie Ib** : très dangereux (DL50 de 5 à 50 mg/kg)
- **Catégorie II** : modérément dangereux (DL50 de 50 à 2000 mg/kg)
- **Catégorie III** : légèrement dangereux (DL50 > 2000 mg/kg)
- **Catégorie U** : peu susceptible de présenter un danger aigu (DL50 > 2000 mg/kg)

Cette classification est utilisée pour évaluer le niveau de risque pour la santé humaine et l'environnement associé à l'utilisation d'un pesticide donné. Elle sert également à guider la réglementation et l'étiquetage des pesticides pour assurer une utilisation sûre et appropriée.

### 3. Ampligo 150 ZC, insecticide de l'étude

#### 3.1. Présentation

Ampligo 150<sup>®</sup> ZC (AP) est un insecticide systémique à large spectre d'action, utilisé pour le contrôle des insectes ravageurs dans diverses cultures, y compris les cultures légumières, fruitières et céréalières. Il s'agit d'un mélange concentré de deux principes actifs : le chlorantraniliprole (9,3% w/w) appartenant à la classe des diamides, et le lambda-cyhalothrine (4,6% w/w), appartenant à la classe des pyréthriinoïdes de synthèse.

**Tableau I.** Aperçu général sur l'insecticide Ampligo<sup>®</sup> 150 ZC (syngenta, 2019).

<b>Formulation</b>	ZC (mélange de CS et SC)
<b>Composition</b>	100 g/l de Chlorantraniliprole 50 g/l de Lambda-Cyhalothrine
<b>N° d'homologation en Algérie</b>	11 51 004
<b>Firme productrice</b>	Syngenta Crop Protection AG
<b>Dos</b>	0,2 à 0,3 l/ha
<b>Délai avant récolte (DAR)</b>	3 jours
<b>Insecte cible</b>	<i>Tuta absoluta</i>
<b>Toxicité (OMS)</b>	Catégorie II
<b>DL50 orale (rate)</b>	550 mg/kg

Il est important de connaître les propriétés physico-chimiques d'un insecticide, car ces propriétés sont un facteur clé déterminant son comportement dans l'environnement. Le tableau I représente les principales propriétés physico-chimiques d'Ampligo<sup>®</sup> 150 ZC.

**Tableau II.** Principales propriétés physico-chimiques de l'insecticide Ampligo<sup>®</sup> 150 ZC (Syngenta, 2019).

<b>Apparence</b>	Suspension liquide
<b>Couleur</b>	Beige clair au marron
<b>Odeur</b>	Aromatisée
<b>pH</b>	4 – 8 Concentration : 1 % w/v
<b>Densité</b>	1,08 g/cm <sup>3</sup>
<b>Viscosité dynamique</b>	41,7 - 286 mPa.s (40 °C)
<b>Température d'auto-inflammation</b>	> 650 °C
<b>Propriétés oxydantes</b>	Non-oxydant
<b>Propriétés explosives</b>	Non-explosif

### 3.2. Substances actives de l'Ampligo 150 ZC

#### 3.2.1. Chlorantraniliprole (CAP)

Le chlorantraniliprole ( $C_{18}H_{14}BrCl_2N_5O_2$ ) est le premier insecticide commercialisé issu d'une nouvelle classe chimique, les diamides anthraniliques. Le CAP est un activateur puissant et sélectif des récepteurs de la ryanodine (RyR) chez les insectes, qui sont essentiels à la contraction musculaire (Wang et Wu, 2012).

La ryanodine est un alcaloïde naturel toxique isolé de la plante *Ryania speciosa* et est utilisée comme insecticide. Les composés chimiques synthétiques de la ryanodine, tels que le CAP, sont des insecticides diamides qui ouvrent les canaux calciques musculaires (Omar et al., 2022).

Du point de vue de l'histoire des insecticides, la tendance au développement passe des organophosphorés, des carbamates, des pyréthroïdes et des néonicotinoïdes aux insecticides diamides, qui constituent l'une des nouvelles classes d'insecticides les plus prometteuses (Li et al., 2022). Pour cela, cet insecticide présente à la fois des propriétés ovicides et larvicides, et agit sur les insectes nuisibles de différentes familles, telles que les lépidoptères, diptères, coléoptères, blattidés (termitidés) et hémiptères (Hannig et al., 2009).

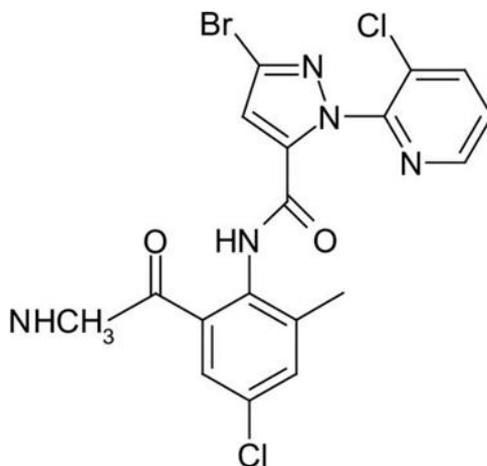


Figure 6. Structure chimique de chlorantraniliprole (Tkach et al., 2021).

### 3.2.1.1. Mode d'action

Le CAP se lie spécifiquement aux récepteurs de la ryanodine (RyR) dans les muscles des insectes, ce qui entraîne une libération incontrôlable de calcium à partir des réserves internes du réticulum sarcoplasmique et une altération de la régulation de la contraction musculaire, qui induit un arrêt de l'alimentation, une léthargie, une paralysie et la mort des organismes cibles (Cordova *et al.*, 2006; Ngegba *et al.*, 2023).

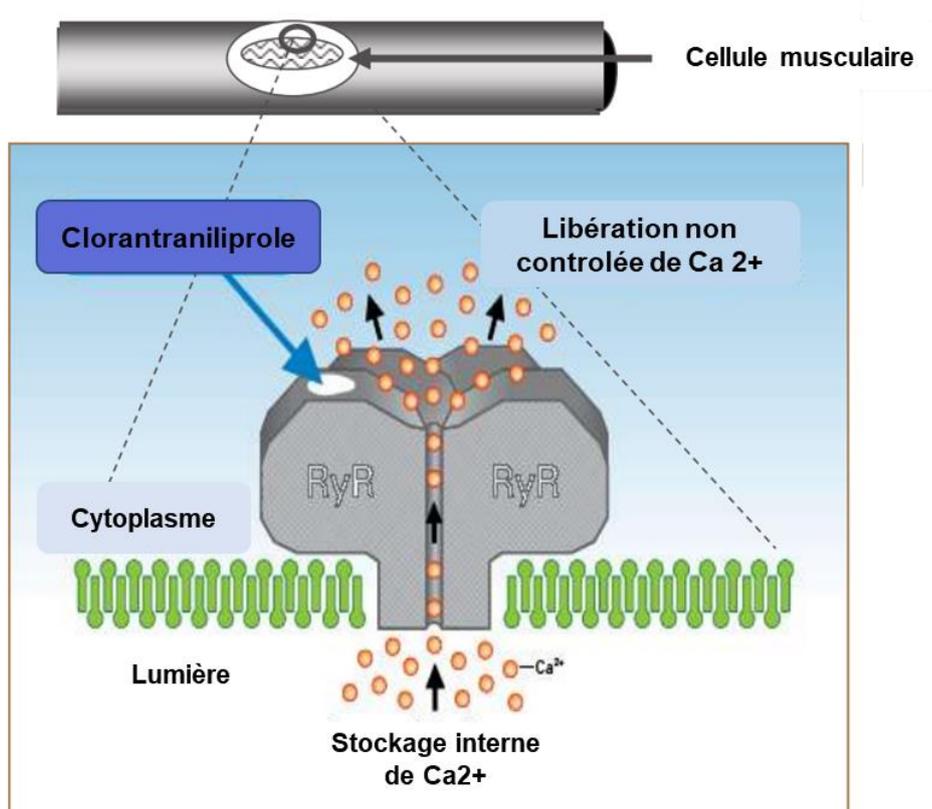


Figure 7. Mode d'action de chlorantraniliprole (IRAC, 2010).

### 3.2.1.2. Toxicité de CAP

En effet, le CAP est censé être très sélectif pour les récepteurs de ryanodine des insectes seulement, ce qui constitue un facteur important pour la sécurité des mammifères (Bentley *et al.*, 2010). D'après les études menées sur les animaux par la firme productrice, aucune manifestation toxique spécifique liée à l'exposition au CAP chez l'humain n'a été identifiée.

De plus, les tests ont montré que ce composé n'est pas considéré comme dangereux par voie orale (DL50 = 550 mg/kg), cutanée (DL50 > 5000mg/kg) ou par inhalation (LC50 = 2,91mg/L) (Syngenta, 2019).

Cependant, en raison de sa large utilisation et de sa contamination persistante, le CAP suscite de plus en plus d'inquiétudes quant aux problèmes de sécurité alimentaire. Il peut facilement se lier aux aliments gras et s'accumuler tout au long de la chaîne alimentaire. Après ingestion par l'humain, le CAP se lie à l'albumine sérique humaine et déploie sa structure secondaire dans une certaine mesure (Li *et al.*, 2022).

D'autres études aient révélé que le CAP provoque une toxicité hématologique et des comportements perturbateurs chez les rats Charles Foster (Kumar *et al.*, 2013), une toxicité intra-utérine et génétique chez les rats albinos (Omar *et al.*, 2022), ainsi que des changements physiologiques et histopathologiques dans les reins et les testicules des rats mâles (Bokreta *et al.*, 2021; Hassan *et al.*, 2021).

### 3.2.2. Lambda cyhalothrine (LCT)

Lambda cyhalothrine (C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>C<sub>1</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>) est un insecticide appartenant à la famille des pyréthrinoïdes synthétique de type II. Les pyréthrinoïdes sont des analogues chimiques synthétiques des pyréthrines, qui sont des composés insecticides naturels produits dans les fleurs de chrysanthèmes (*Chrysanthemum cinerariaefolium*).

LCT est largement utilisé pour lutter contre une série d'insectes nuisible dans l'agriculture. Il est également utilisé pour lutter contre les mouches domestiques, en particulier à l'intérieur des bâtiments (Ghramh *et al.*, 2022).

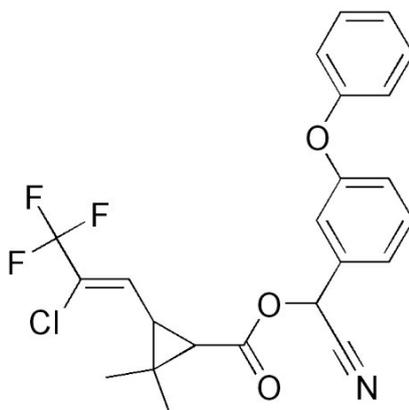


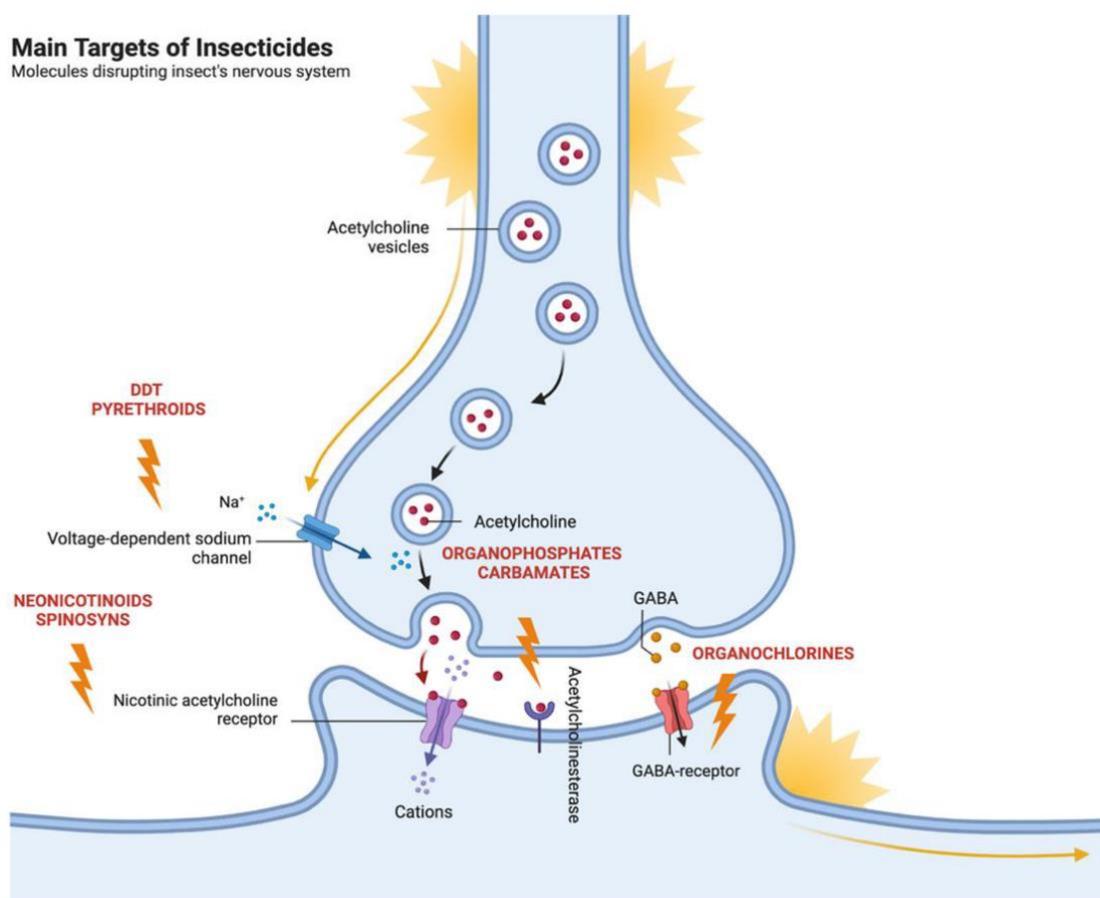
Figure 8. Structure chimique de lambda cyhalothrine (Greenshields *et al.*, 2016).

### 3.2.2.1. Mode d'action

LCT comme toute la famille des pyréthrinoïdes de synthèse sont des insecticides responsables de l'hyperexcitation du système nerveux. Leur principal site d'action est les canaux sodiques des cellules ce qui permet une libération d'acétylcholine au niveau synaptique (**figure 8**), mais ils affectent également les canaux chlorure et calcium (**Gupta et al., 2019**).

De plus, en raison de la nature lipophile des pyréthrinoïdes, les membranes et les tissus biologiques les absorbent facilement.

La LCT pénètre la cuticule de l'insecte, perturbe la conduction nerveuse en quelques minutes, ce qui entraîne l'arrêt de l'alimentation, la perte du contrôle musculaire, la paralysie et finalement la mort. Une protection supplémentaire de la culture est assurée par le puissant effet répulsif de l'insecticide sur les insectes (**He et al., 2008**).



**Figure 9.** Mode d'action neurotoxiques des insecticides y compris les pyréthrinoïdes  
(**Araújo et al., 2023**)

### 3.2.2.2. Toxicité de LCT

Bien que la LCT a prouvé son efficacité pour lutter contre les insectes nuisibles, elle est de même nocif pour la santé humaine et animale. la LCT est classée dans la catégorie Ib comme très dangereuse par l'OMS puisque sa DL50 orale est : 56mg/L chez la rate et 79mg/L chez le rat ; 416 mg/L chez le lapin comme reporté par **Adam *et al.*(2019)**.

En effet, plusieurs études ont démontré que le LCT induit des lésions structurelles rénales graves et une hépatotoxicité (**Khaldoun Oularbi, 2014; Wang *et al.*, 2014; El-Bialy *et al.*, 2020**), engendre une reprotoxicité chez le lapin et la souris (**Yousef, 2010; Al Malahi *et al.*, 2022**), et provoque une neurotoxicité chez le rat (**Lopez-Torres *et al.*, 2022**).

De même, il a été prouvé que le LCT générerait un stress oxydatif cytotoxique en altérant les mécanismes de défense antioxydants et en augmentant la peroxydation des lipides par la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans différents organes de lapins et de rats (**El-Demerdash, 2007; Fetoui *et al.*, 2009; Al-Amoudi, 2018; Ali *et al.*, 2022**).

### 3.3. Effets de mélange des insecticides

L'utilisation des insecticides dans des formulations combinées permet des interactions additives et synergiques entre leurs ingrédients actifs. Cependant, ces mélanges produisent des effets résiduels durables et prolongés. À titre d'exemple, les organophosphorés peuvent prolonger l'action des pyréthrinoïdes lorsqu'ils sont utilisés dans un mélange. Ils contribuent à ralentir l'activité des enzymes estérases responsables de la détoxification métabolique de la molécule de pyréthroïde ce qui a pour effet de bloquer son hydrolyse et son excrétion dans l'urine (**Khan *et al.*, 2013; El-Bialy *et al.*, 2020**).

---

### III. Les vitamines, défense et prévention face aux xénobiotiques

#### 1. Généralités

##### 1.1. Définition

À l'origine, le terme "vitamine" a été utilisé pour décrire la "amine vitale" qui est plus tard devenue la thiamine. Par la suite, le terme "vitamine" a été employé pour décrire tous les composés organiques des aliments distincts des graisses, des glucides et des protéines qui ne peuvent être synthétisés par l'organisme hôte. Ces composés sont essentiels, généralement en quantités infimes, pour les fonctions physiologiques normales et la prévention de syndrome de carence spécifiques (**Combs et McClung, 2022**).

Les vitamines peuvent être classées en deux groupes principaux : les vitamines liposolubles et les vitamines hydrosolubles. Les vitamines liposolubles comprennent la vitamine A, la vitamine D, la vitamine E et la vitamine K, tandis que les vitamines hydrosolubles comprennent la vitamine C et les vitamines B (B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9 et B12) (**Tableau III**).

##### 1.2. Sources

La plupart des vitamines proviennent de l'alimentation, mais certaines sont acquises par d'autres moyens : par exemple, les micro-organismes de la flore intestinale fabriquent de la biotine et de la vitamine K ; une forme de vitamine D est synthétisée dans les cellules de la peau lorsqu'elles sont exposées à certaines longueurs d'onde de la lumière UV présente dans la lumière du soleil (**Godswill *et al.*, 2020**).

**Tableau III.** Principales sources alimentaires de vitamines et leur dose journalière admissible (DJA) (Maqbool *et al.*, 2017).

Vitamine	Sources	DJA
<b>Vitamine A</b>	Beurre, jaune d'œuf, carottes, patate douce, épinards, feuillet de chou et navet, courge, brocoli...	Homme : 900µg Femme : 700 µg Enfant : 300µg
<b>Vitamine D</b>	Jaune d'œufs, thon, saumon, sardines, champignons, lait de vache, jus d'orange...	15µg
<b>Vitamine E</b>	Grains de tournesol, épinards, grains de moutarde, olives, huile d'olive, haricot vert.	Adulte : 15mg Enfant : 5mg
<b>Vitamine K</b>	Viande, poisson, le chou frisé, les épinards, les feuilles de moutarde, les feuilles de chou vert, feuilles de betterave, concombre.	Homme : 120µg Femme : 90 µg Enfant : 55µg
<b>Vitamine B1</b>	Brocolis, haricot vert, laitue, épinards, champignons, patate douce	Homme : 1,2mg Femme : 1 mg
<b>Vitamine B2</b>	Épinards, betteraves, asperges, algues, œufs, lait de vache, feuilles de chou, brocolis, bette à carde, légumes verts.	Homme : 1,3mg Femme : 1 mg
<b>Vitamine B3</b>	Poulet, dinde, champignons, saumon, agneau, bœuf, asperges, tomates, poivrons, sardines, cacahuètes, crevettes, riz brun.	16mg
<b>Vitamine B5</b>	Champignons, chou-fleur, patate douce, brocoli, poivrons, concombre, céleri, lentilles, pois secs, poulet, dinde, yaourt, saumon, seigle, bœuf, œufs, pommes de terre	10mg
<b>Vitamine B6</b>	Thon, épinards, choux, poivrons, navets, ail, choux-fleurs, dinde, bœuf, poulet, légumes verts.	Homme : 1,3mg Femme : 1,2 mg
<b>Vitamine B7</b>	Tomates, amandes, œufs, oignons, carottes, laitue romaine, chou-fleur, patate douce, avoine, cacahuètes, noix, saumon, yaourt, banane.	30µg
<b>Vitamine B9</b>	Lentilles, asperges, épinards, feuilles de navet, brocolis, betteraves, laitue romaine, chou-fleur, persil, haricots, papaye.	400µg
<b>Vitamine B12</b>	Sardines, saumon, thon, morue, agneau, crevettes, bœuf, yaourt, lait de vache, œufs, dinde, poulet, fromage, champignons.	2,4µg
<b>Vitamine C</b>	Papaye, poivrons, brocolis, fraises, ananas, oranges, kiwis, cantaloup, chou-fleur, chou pamplemousse, persil, feuilles de navet, tomates, blettes, les citrons et les limes.	75mg

## 2. Stress oxydant induit par les xénobiotiques

### 2.1. Stress oxydant

Le terme "stress oxydant" est défini comme une perturbation de l'équilibre cellulaire en pro-oxydant – antioxydant (équilibre redox) conduisant à des dommages cellulaires potentiels. Ce déséquilibre résulte suite à une production excessive des radicaux libres comme les ERO, combinée à une défense antioxydante insuffisante (**Pisoschi *et al.*, 2021**).

En effet, les ERO sont générés dans l'organisme en quantités limitées et sont nécessaires pour le maintien de l'homéostasie cellulaire, la transduction des signaux, l'expression des gènes, l'activation des récepteurs, la reconnaissance des pathogènes, ainsi en assurant la viabilité des cellules, leur prolifération, migration, et différenciation (**Torres *et al.*, 2006; Ray *et al.*, 2012; Hussain *et al.*, 2016; Pisoschi *et al.*, 2021**). Les ERO regroupent les dérivés non radicalaires et les radicaux libres oxygénés. Les plus répandus sont :

- **Le radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ )** : une forme instable de l'oxygène qui est produite lors de la respiration cellulaire.
- **Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ )** : une molécule stable produite par l'action de l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) qui peut traverser les membranes cellulaires
- **Le radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ )** : une molécule très réactive qui peut être produite par la réaction du radical superoxyde et du peroxyde d'hydrogène. C'est l'ERO le plus réactif et le plus dangereux pour les cellules.
- **Le peroxyde lipidique** : une molécule produite par l'oxydation des acides gras insaturés dans les membranes cellulaires.

Il existe d'autres types d'ERO, tels que le radical nitrique ( $NO^{\bullet}$ ), le dioxyde d'azote ( $NO_2^{\bullet}$ ), le chlore singulet ( $Cl_2$ ), etc.

Ces éléments hyperactifs ont des électrons non appariés dans leur couche externe de molécules et peuvent donc se lier à d'autres biomolécules et les modifier. En cas d'une production excessive, ces radicaux libres peuvent oxyder les protéines, les lipides et les acides nucléiques et produire des sous-produits toxiques entraînant un dysfonctionnement des tissus. Ils altèrent également les structures des molécules biologiques et peuvent même les briser (**Sies *et al.*, 2017**). De plus, la rupture de l'ADN est un effet connu du stress oxydatif, qui affecte l'expression de la plupart des gènes et la survie des cellules (**Halliwell et Gutteridge, 2015; Yaribeygi *et al.*, 2020**).

## 2.2. Insecticides et stress oxydant

L'un des principaux moyens par lesquels de nombreux pesticides exercent leurs effets néfastes est le stress oxydant qu'ils génèrent. En effet, l'exposition des animaux de laboratoire à certains pesticides, y compris les insecticides, a été démontrée comme étant capable de générer le déséquilibre redox (Fetoui *et al.*, 2010; Aouey *et al.*, 2017; Nantia *et al.*, 2018; El-Saad et Abdel-Wahab, 2020; Wang *et al.*, 2022).

En effet, les pesticides augmentent les niveaux de NADPH oxydases (NOX) et de superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), ce qui entraîne une augmentation de la signalisation des ERO dans la cellule. L'augmentation de ces derniers peut induire l'oxydation des lipides, des protéines et de l'ADN, ce qui entraîne diverses toxicités. Ces facteurs de stress entraînent l'activation des voies TNFR1/TNF- $\alpha$ , MAPK, NF- $\kappa$ B et de l'apoptose mitochondriale. La poursuite du stress conduit à l'apoptose cellulaire et à l'inflammation (Sule *et al.*, 2022).

Les cellules disposent de réseaux antioxydants endogènes tels que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, la glutathion peroxydase (GPx), et le glutathion (GSH) pour éliminer les ERO produites de manière excessive tout en lui permettant de jouer leur rôle utile dans la signalisation cellulaire et la régulation redox (Halliwell, 2011). Cependant, ces antioxydants endogènes peuvent être épuisés par la forte production des ERO suite à l'exposition répétée aux xénobiotiques.

Pour compenser la carence en antioxydant endogène, une supplémentation avec des antioxydants d'origine alimentaire comme les vitamines semble être une solution efficace pour combattre le mécanisme pathologique des insecticides. Effectivement, plusieurs études ont montré l'effet bénéfique de l'ajout des vitamines antioxydantes pour combattre le stress oxydant et les dommages causés par les insecticides (Yousef *et al.*, 2006; Kalender *et al.*, 2007; Fetoui *et al.*, 2008; Kalender *et al.*, 2010; Shokrzadeh *et al.*, 2012; Khaldoun *et al.*, 2015; Khaldoun *et al.*, 2017).

### 3. Vitamines à action antioxydante

#### 3.1. Vitamine A

La vitamine A est un micronutriment liposoluble dont les dérivés métaboliques, naturels ou leurs analogues synthétiques (le rétinol, le rétinal, l'acide rétinoïque et le phosphate de rétinyl), sont regroupés dans la famille des rétinoïdes. Elle ne peut être synthétisée de *novo* dans le règne animal et doit être apportée via l'alimentation directement ou sous forme de précurseurs. Si elle est d'origine animale, elle est dite préformée, comprenant le rétinol, le rétinaldéhyde et l'acide rétinoïque. Elle peut également s'agir de pro-vitamine A qui comprend des caroténoïdes (principalement le  $\beta$ -carotène) d'origine végétale, qui se transforment en rétinal dans l'organisme (**Kontogiorgos, 2021**). La carence en vitamine A est un des plus étendus désordres nutritionnels notamment chez les enfants des pays en voie de développement (**Napoli, 2017**).

La vitamine A est un facteur important dans le fonctionnement normal du système immunitaire et dans l'amélioration du système de défense antioxydant contre le stress oxydatif (**Jin et al., 2014**). En effet, la vitamine A est responsable de la neutralisation des singulet d'oxygène, de l'anion superoxyde, de peroxy-nitrites, et les radicaux lipidiques dans les milieux lipidiques. Elle agit sur les ERO en formant un radical de vitamine A qui s'associe aux radicaux peroxyyles avant que ceux-ci ne puissent propager la peroxydation aux composants lipidiques cellulaires et générer des hydroperoxydes (**Stahl, 2000**). À noter que le  $\beta$ -carotène d'origine végétal possède une activité antioxydante cinq fois supérieure à celle du rétinol (**Nogueira et al., 2009**).

#### 3.2. Vitamine D

La vitamine D est un micronutriment métabolisé en hormone stéroïde qui peut être synthétisé dans la peau lors de l'exposition aux rayons ultraviolets, en plus de son absorption digestive par l'alimentation (**Verkaik-Kloosterman et al., 2017**). Les deux formes principales de la Vit D sont la D3 (cholécalférol) qui est synthétisée par l'homme et la D2 (ergocalciférol) provenant de l'alimentation, ces deux formes se différencient par la structure de leurs chaînes latérales. La vitamine D est connue pour son rôle majeur dans le métabolisme phosphocalcique, elle favorise également la différenciation cellulaire induit l'apoptose, et limite la propagation, l'angiogenèse et la métastase des tumeurs (**Karami et al., 2013; Filipović et al., 2020; Arapović et al., 2021**).

En outre, la vitamine D favorise le contrôle de redox cellulaires en maintenant des fonctions mitochondriales normales, protégeant ainsi les cellules du stress oxydant. Elle augmente l'expression de la glutathion peroxydase qui convertit la molécule  $H_2O_2$  (ERO) en eau. La vitamine D a également un effet sur la formation de glutathion par l'activation de l'enzyme glucose-6-phosphate déshydrogénase ce qui réduit l'oxyde d'azote ( $NO_x$ ), un puissant précurseur de ERO qui convertit  $O_2^-$  en  $H_2O_2$  et augmente la SOD (**Liu *et al.*, 2014; Wimalawansa, 2019**).

### 3.3. Vitamine E

La vitamine E est un groupe de composés liposolubles constitué de quatre tocophérols ( $\alpha$ -,  $\beta$ -  $\gamma$ -, et  $\delta$ - tocophérol) et de quatre tocotriénols ( $\alpha$ -,  $\beta$ -  $\gamma$ -, et  $\delta$ - tocotriénols) dont l' $\alpha$ -tocophérol est le plus abondant (**Kontogiorgos, 2021**). En raison de sa nature hydrophobe, la vitamine E a la capacité de se loger dans les membranes biologiques qui contiennent des acides gras polyinsaturés.

Dans ce contexte, elle exerce un rôle protecteur essentiel en prévenant la propagation de la peroxydation lipidique causée par les ERO et en régulant la production de ces derniers (**Traber et Atkinson, 2007; Lee et Han, 2018**). L' $\alpha$ -tocophérol subit une oxydation qui forme un radical tocophéryl relativement stable en raison de sa structure chromanol. Ce radical peut ensuite être régénéré en présence de vitamine C ou d'autres substances réductrices qui agissent comme donneurs d'hydrogène, notamment les thiols et en particulier le glutathion (**Bowry *et al.*, 1992; Landrier, 2011**).

### 3.4. Vitamine C

La vitamine C ou acide L-ascorbique est un micronutriment hydrosoluble très connu pour son rôle antioxydant. En raison de sa nature hydrophile, la vitamine C a un accès très facile à tous les fluides des cellules et organes avec un potentiel de réaction rapide. Par conséquent, la vitamine C est supérieure à d'autres vitamines antioxydantes liposolubles telles que la vitamine A et la vitamine E pour ce qui est de prévenir les dommages oxydatifs dans l'organisme (**Lee, 2019**).

Son action est à la fois directe et indirecte : elle agit directement sur les ERO et indirectement en régénérant la vitamine E et le glutathion. La structure spatiale de la vitamine C lui permet de se lier à la phase aqueuse de la vitamine E oxydée dans la membrane cellulaire et de lui transmettre rapidement son électron. Ensuite, la vitamine C se transforme en un radical peu réactif, qui sera converti de nouveau en vitamine C par une enzyme réductase, qui utilise le glutathion (**Bleys *et al.*, 2006; Fisher-Wellman et Bloomer, 2009**).

---

Matériel  
&  
Méthodes

---

Le dispositif expérimental mis en œuvre dans le cadre de ce projet de thèse englobe un matériel et les méthodes communs aux deux parties de l'étude (expérimentation 1 et 2) et concerne l'analyse biochimique, l'étude histopathologique et morphométrique.

## 1. Matériel

### 1.1. Modèle animal

Les expérimentations animales ont été menées conformément aux règles d'éthiques et de protection des animaux régissent par la Direction de la Recherche Scientifique et du Développement Technologique.

Le modèle animal utilisé dans cette étude est le lapin de souche synthétique (*Oryctolagus cuniculus*), nommé ITELV2006, provenant de l'animalerie de l'Institut Technique des Élevages (ITELV) de Baba Ali, Alger. Cette souche est un génotype obtenu par le croisement des lapins males de souche (INRA TOULOUSE 2666) qui est plus productive avec des lapines femelles de population blanche locale qui est plus résistante aux conditions climatiques, élevée en confinement et en milieu contrôlé à l'ITELV d'Alger.

#### 1.1.1. Systématique

**Règne :** Animal

**Phylum :** Vertébrés

**Sous-phylum :** Gnathostomes

**Super-classe :** Tétrapodes

**Classe :** Mammifères

**Sous-classe :** Euthériens

**Ordre :** Lagomorphes

**Famille :** Léporidés

**Genre :** *Oryctolagus*

**Espèce :** *Oryctolagus cuniculus*



**Figure 10.** Lapin male *Oryctolagus cuniculus*.

Le choix de cet animal est fondé sur plusieurs critères, en effet, ce modèle animal est relativement bien adapté aux expérimentations, car les travaux conduits sur cette espèce sont parfois directement comparables et généralisables à l'Homme (Gidenne, 2015). Sa manipulation est facile, et sa taille permet d'obtenir des échantillons tissulaires, et sanguins de masse importante.

Le nombre d'animaux utilisés dans les deux études est de 42 lapins du sexe male uniquement, dont 24 lapins dans la première étude et 18 lapins pour la seconde. L'âge et le poids des animaux sont donnés et ils sont spécifiques à chacune des expérimentations réalisées.

L'administration de l'insecticide Ampligo® 150 ZC est faite par voie orale, à l'aide d'une sonde de gavage. Afin de déterminer la dose correspondante de chaque lot, le poids corporel des lapins est estimé avant chaque administration de l'insecticide. Le produit toxique est dilué dans de l'eau distillée avant l'administration et le volume administré est de 1ml/lapin/jour. Durant la période expérimentale, des pesées quotidiennes des animaux et de la nourriture sont effectuées pour le suivi de l'évolution pondérale et du gain de poids.

## 1.2. Insecticide à tester

L'insecticide étudié au cours de ces travaux de thèse est : **Ampligo® 150 ZC** (AP) qui est un insecticide de synthèse obtenu à partir d'un mélange de chlorantraniliprole (CAP) 9,3% « C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>BrCl<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> », et de lambda cyhalothrine (LCT) 4,6% « C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>C<sub>1</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>3</sub> ». Cette formulation est importée et commercialisée en Algérie pour le contrôle de la mineuse de la tomate (*Tuta absoluta*) par la firme productrice Syngenta (annexe de Kouba, Alger).

## 2. Méthodes

### 2.1. Préparation des animaux et conditions expérimentales

Les deux études expérimentales se sont déroulées au niveau du bâtiment cunicole de la station expérimentale de l'Université de Blida1. Les lapins ont été logés individuellement dans des cages métalliques, sous contrôle de la température ambiante ( $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), de l'humidité (45-65%), et sous éclairage naturel maintenu 12 heures sur 24 heures.

Les animaux étaient nourris par un régime alimentaire standard et équilibré à base d'un aliment granulé distribué chaque matin dans des mangeoires métalliques qui équipent chacune des cages d'élevage. L'aliment spécial pour lapins provenait de l'unité de fabrication de l'aliment de bétail de SIM SANDERS ALGERIE (SPA), et qui composé de :

- Luzerne
- Mais
- Tiges de Soja
- Tiges de tourne sol
- Son de blé
- Mélasse de canne
- Huile de Soja
- Sel et acides aminés
- Carbonate de calcium
- Bicarbonate de sodium

L'eau distribuée aux lapins provient du réseau local d'eau potable. Elle est disponible *ad libitum* grâce à un système de conduits en PVC munis de tétines automatiques.



**Figure 11.** Répartition des lots des lapins dans des cages métalliques.

## 2.2. Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin a toujours eu lieu le matin, à jeun, par la veine centrale de l'oreille. Le sang est récupéré dans des tubes héparinés, avec un volume qui varie entre 3ml à 5ml.

Les prélèvements obtenus sont immédiatement centrifugés à 3000 tours/minute pendant 15 minutes. Le plasma obtenu est recueilli dans des tubes Eppendorf et il est transporté dans une glacière au laboratoire d'analyse médicale pour le dosage des paramètres biochimiques.

## 2.3. Analyses biochimiques

Le sérum du sang recueilli dans les tubes a été utilisé pour le dosage des marqueurs biochimiques de la fonction hépatique : l'aspartate aminotransférases (ASAT), l'alanine aminotransférases (ALAT), la glycémie, le  $\gamma$ -Glutamyl Transférase ( $\gamma$ -GT), Phosphatase Alcaline (PAL), Bilirubine totale et direct, les protéines totales ainsi que des paramètres du bilan lipidique : le cholestérol total (CT) ; les triglycérides (TG), les lipoprotéines à haute densité (HDLc).

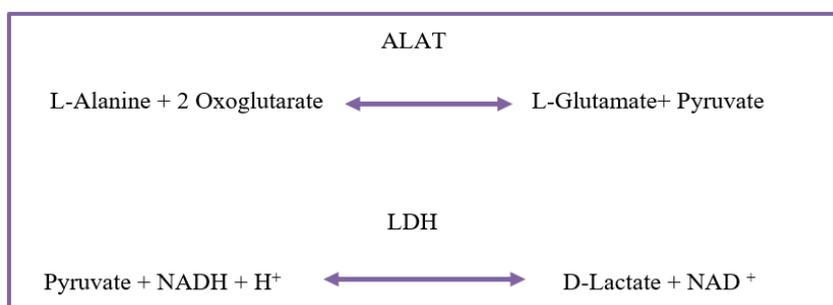
Le dosage des paramètres biochimiques a été réalisé à l'aide des kits enzymatiques spectrophotométriques disponible dans Biolabo (France) en utilisant l'automate Hitachi 912 (Roche Diagnostics, Mannheim, Allemagne) selon les principes et méthodes suivants :

### 2.3.1. Dosage des marqueurs sériques du foie

#### ➤ Dosage de l'activité de l'Alanine Aminotransférase (ALAT)

##### Principe

L'alanine aminotransférase appelée aussi pyruvate de glutamate transaminase (TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au 2-oxoglutarate formant la L-glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par le lactate déshydrogénase (LDH) et le NADH, H<sup>+</sup> (Henry *et al.*, 1960; Bergmeyer *et al.*, 1978), selon le schéma réactionnel suivant :



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD<sup>+</sup>, mesurée pendant un temps donné à 340 nm, est proportionnelle à la concentration en ALAT dans l'échantillon.

### Calcul des concentrations :

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

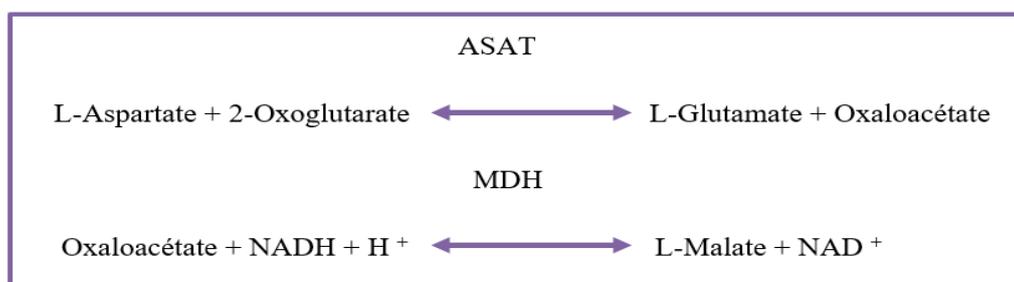
$$\text{ALAT (UI/L)} = \Delta\text{DO}/\text{min} \times 1746$$

NB : la procédure de lecture et calcul se font par l'analyseur automatique.

### ➤ Dosage de l'activité de l'Aspartate Aminotransférase (ASAT)

#### Principe

L'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi oxaloacétate de glutamate transaminase (TGO) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au 2-oxoglutarate formant le L-glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H<sup>+</sup> (**Henry *et al.*, 1960**), selon le schéma réactionnel suivant :



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD<sup>+</sup>, mesurée pendant un temps donné à 340 nm, est proportionnelle à la concentration en ASAT dans l'échantillon.

### Calcul des concentrations :

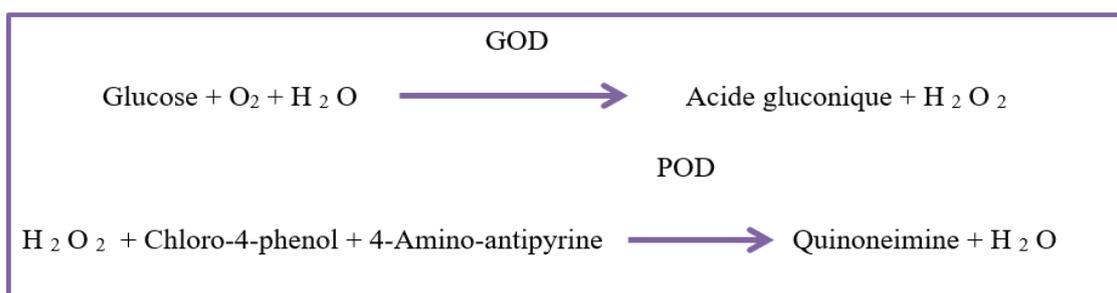
Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

$$\text{ASAT (UI/l)} = \Delta\text{DO}/\text{min} \times 1746$$

➤ **Dosage de la glycémie**

**Principe**

Le glucose est oxydé par le glucose oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Ce dernier, en présence de peroxydase (POD), réagit avec le chloro-4-phenol et le chromogène incolore 4-amino antipyrine pour former une quinonéimine (composé coloré en rouge) (Trinder, 1969), Le schéma réactionnel du dosage du glucose se résume comme suivant :



**Calcul des concentrations**

Le calcul de la concentration du glucose dans les échantillons est réalisé selon la formule suivante :

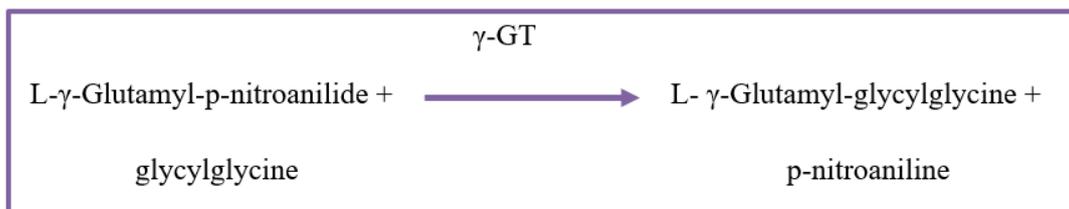
$$\text{Glucose (mg/dL)} = \frac{\text{Abs échantillon}}{\text{Abs étalon}} \times \text{Concentration de l'étalon (100 mg/L)}$$

L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration du glucose dans le spécimen. La lecture se fait à une longueur d'onde de 500 nm.

➤ **Dosage de  $\gamma$ -Glutamyl Transférase ( $\gamma$ GT)**

**Principe**

La  $\gamma$ GT présente dans l'échantillon catalyse le transfert du groupe glutamyl du substrat vers la glycylglycine pour former la glutamyl-glycylglycine et le p-nitroaniline. L'activité de la  $\gamma$ -Glutamyl Transférase est déterminée selon le schéma réactionnel suivant (**Szasz, 1969**) :



l'activité de la  $\gamma$ -GT présente dans l'échantillon et peut se mesurer cinétiquement à 405nm.

**Calcul des concentrations**

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

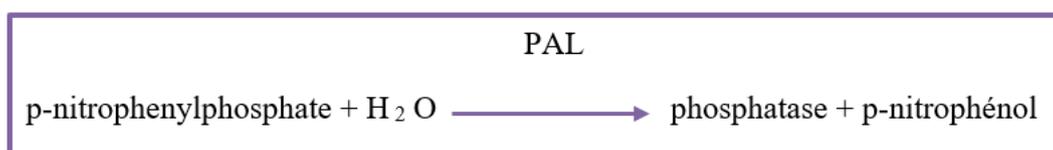
$$\gamma\text{-GT (UI/l)} = \Delta\text{DO}/\text{min} \times 2121$$

NB : la procédure de lecture et de calcul se fait par l'analyseur automatique.

➤ **Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)**

**Principe**

La phosphatase alcaline (PAL) catalyse l'hydrolyse de p-nitrophenylphosphate à pH 10.4, en libérant p-nitrophénol et le phosphate. Le p-nitrophenylphosphate est scindé par les phosphatases alcalines en phosphatase et en p-nitrophénol. La concentration en p-nitrophenyl libérée est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline et est mesurée par la photométrie à une longueur d'onde de 405 nm (**Rosalki et al., 1993**), selon la formule suivante :



### ➤ Dosage de la bilirubine

La bilirubine est le produit de dégradation de la biliverdine qui est produite à partir de l'hémoglobine à la suite de la destruction des globules rouges. Au moins quatre sortes de bilirubines coexistent dans le sérum : la bilirubine directe (BD) correspond à la bilirubine dite mono et di-conjuguée ( $\beta$  et  $\gamma$  Bilirubine) ainsi qu'à la fraction  $\delta$  qui est liée très fortement à l'albumine ; la bilirubine  $\alpha$ , non conjuguée ou bilirubine indirecte, qui est transportée par l'albumine. La bilirubine totale (BT) est la somme de ces différentes formes.

### Principe

La bilirubine est dosée selon la réaction entre la bilirubine et l'acide sulfanilique di-azoté qui conduit à un composé, l'azobilirubine, coloré en milieu très acide ou basique. Principe de **Walters *et al.*(1970)** en solution aqueuse, seule la BD réagit. Pour doser la BT il est nécessaire de rompre la liaison entre la bilirubine indirecte et l'albumine. Cette étape est réalisée par l'addition de diméthyle sulfoxyde (DMSO). L'absorbance de l'azobilirubine ainsi produite est proportionnelle à la concentration en bilirubine et est mesurée à 550 nm (530-580).

### Calcul des concentrations

L'expression des résultats est donnée par l'équation suivante :

$$\text{Concentration de bilirubine totale (mg/l)} = \frac{\text{DO échantillon} - \text{DO blanc échantillon} \times n}{\text{DO étalon} - \text{DO blanc étalon}}$$

Avec  $n$  = Concentration de l'étalon bilirubine en mg/L.

### ➤ Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines totales est réalisé selon la méthode de Biuret (**Doumas *et al.*, 1981**), la solution protéique est traitée à l'aide d'ions de cuivre  $\text{Cu}^{2+}$  dans un milieu très alcalin. L'addition du tartrate de sodium, de potassium et de l'iodure de potassium permet d'empêcher respectivement la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'auto-réduction du cuivre. Les ions  $\text{Cu}^{2+}$  réagissent en créant des liens peptides entre les atomes d'oxygène carbonyle et d'azote amidé afin de former un complexe coloré Cu-protéine.

### Calcul des concentrations

La densité optique a été lue à une longueur d'onde  $\lambda = 540$  nm contre le blanc composé par la solution enzymatique. Le taux des protéines totales est calculé à l'aide de la formule suivante :

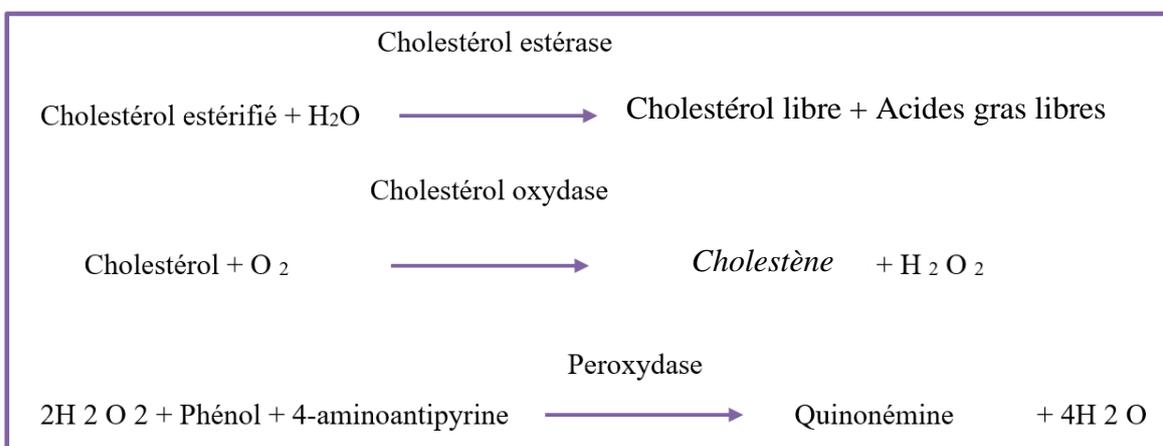
$$\text{Taux des protéines totales (g/L)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO standard}} \times \text{Concentration standard (g/L)}$$

### 2.3.2. Dosage des paramètres lipidiques

#### ➤ Dosage du cholestérol total (CT)

#### Principe

La détermination colorimétrique enzymatique du cholestérol suit les réactions suivantes (Allain *et al.*, 1974).



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon.

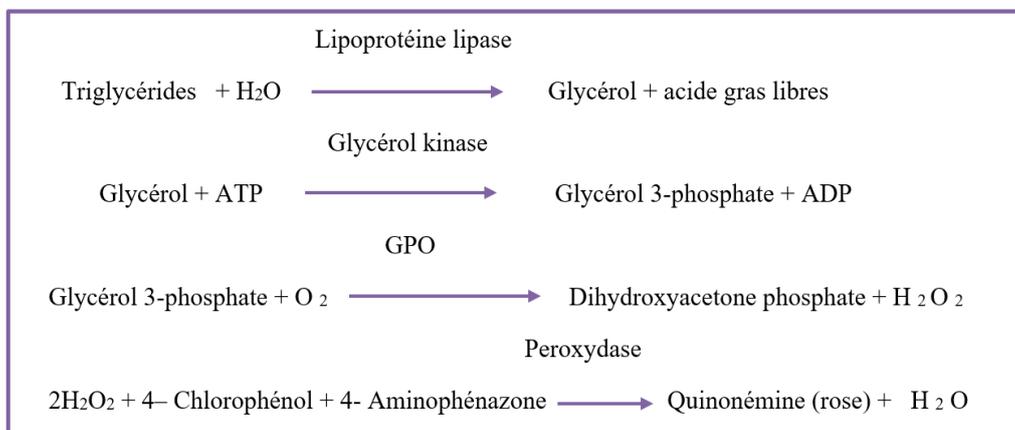
### Calcul des concentrations

$$\text{Cholestérol total (mg/dl)} = \frac{\text{Abs Dosage}}{\text{Abs Étalon}} \times \text{Concentration de l'étalon (200 mg/l)}$$

➤ **Dosage des triglycérides (TG)**

**Principe**

Les triglycérides présents dans l'échantillon forment un complexe coloré selon la réaction suivante (Fossati & Prencipe, 1982):



L'intensité de la couleur mesurée à 505 nm est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

**Calcul des concentrations**

$$\text{Triglycérides (mg/dl)} = \frac{\text{Abs Dosage}}{\text{Abs Étalon}} \times \text{Concentration de l'étalon (200 mg/l)}$$

NB : la procédure de lecture et calcul se font par l'analyseur automatique.

➤ **Dosage du HDL- cholestérol (HDL-C)**

Les chylomicrons, lipoprotéines de très haute densité (HDLc), et lipoprotéine de faible densité (LDL) sont précipités par l'addition d'acide phosphotungstique et de magnésium. Le surnageant obtenu après centrifugation contient les lipoprotéines de hautes densité (HDLc) qui sont dosés à 600nm à l'aide de réactif du dosage de cholestérol. Leur concentration en cholestérol est donnée en suivant les mêmes étapes que ceux pour le dosage de cholestérol.

## 2.4. Étude histologique

À la fin du traitement, les lapins ont été sacrifiés par décapitation puis leurs foies ont été pesés et puis soumis aux techniques histologiques courantes. La méthode utilisée est la technique de l'inclusion à la paraffine et a été réalisée en plusieurs étapes successives (**Houlot, 1984**):

### ➤ **Fixation**

Cette étape est indispensable à la bonne conservation des constitutions cellulaires et tissulaires qui doivent rester dans un état aussi proche que possible de celui de l'organisme vivant. La fixation des organes a été faite dans le formol 10% pendant une durée de 48 heures. Les organes ont été retirés du formol puis coupés à l'aide de couteaux tranchant afin de réaliser des prélèvements pour l'étude histologique avec une surface de 1 à 2 cm<sup>2</sup> et une épaisseur proche de 1.5 mm. Les prélèvements réalisés ont été disposés dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

### ➤ **Déshydratation, éclaircissement et imprégnation**

La déshydratation permet d'éliminer graduellement l'eau contenue dans les tissus afin de le remplacer par un solvant de paraffine. Les organes contenus dans les cassettes passent par des bains d'alcool à concentration croissante 70°, 90°, 95° et 100° respectivement pour réaliser une déshydratation en douceur. Ils subissent par la suite l'éclaircissement dans deux bains de xylène afin d'éliminer les traces d'alcool et de préparer les organes à l'imprégnation. Cette dernière étape consiste à faire passer les prélèvements dans 2 bains de paraffine fondue à 56 C° pendant 2 heures chacun.

### ➤ **Inclusion et coupe au microtome**

L'inclusion à la paraffine consiste à faire pénétrer le tissu par la paraffine qui donne la résistance mécanique lors de la réalisation des coupes au microtome. La paraffine fondue est versée dans des moules métalliques légèrement préchauffés (45°C). La pièce à inclure est orientée et disposée dans la paraffine ; la cassette correspondante est déposée sur le moule. Le bloc n'est démoulé qu'après refroidissement total sur une plaque refroidie au congélateur.

La coupe des blocs a été faite au microtome de marque Leica RM2125 RTS (Allemagne) avec une épaisseur de 3 à 5  $\mu\text{m}$ .

➤ **Montage et déparaffinage des coupes**

Les rubans ainsi formés sont déposés sur de l'eau à environ 37°C puis montés sur les lames porte objets. Les lames ont été placées à l'étuve entre 60 et 73°C pendant 30 minutes pour être déparaffinées.

➤ **Coloration des coupes à l'hématoxyline-éosine**

La coloration à l'hématoxyline-éosine (H&E) est la méthode de coloration la plus courante pour matériel histologique. Dans un premier temps, le colorant du noyau chargé positivement (hématoxyline) se fixe sur les groupes phosphates chargés négativement des acides nucléiques du noyau cellulaire. Les noyaux prennent alors une couleur variante entre le bleu foncé et le violet foncé. La seconde étape réside dans la contre-coloration à un colorant xanthène anionique (éosine) chargé négativement ; le colorant se fixe aux protéines plasmatiques chargées positivement. Le cytoplasme et les éléments cellulaires basiques se colorent en rose à rouge.

Les coupes de tissus ont été déparaffinées dans deux bains de xylène pendant 10 min, puis réhydratées dans trois bains d'éthanol de degrés décroissants (100°, 90° et 70°) pendant 5 min chacun. Après rinçage à l'eau courante, les sections ont été colorées à l'hématoxyline de Harris pendant 6 min. Après un lavage à l'eau courante, une coloration à l'éosine pendant 1 min a été effectuée, suivi d'un autre lavage. Par la suite, les sections ont été déshydratées dans un bain d'éthanol (90°), éclaircies dans le xylène, puis monté à l'aide d'une résine synthétique (l'eukitt). Les lames ont été observées sous microscope photonique (Optika 183, Italie).

➤ **Coloration des coupes au trichrome de Masson**

C'est une coloration histologique, topographique, trichromique, associant à une coloration nucléaire (hématoxyline), une coloration cytoplasmique par un mélange de colorants acides (Fuchsine Ponceau) et une coloration élective du collagène (vert lumière). Elle est utilisée pour différencier les fibres de collagène et musculaires sur des coupes tissulaires.

Les sections ont été colorées à l'hématoxyline de Groat pendant 2 min. Après lavage à l'eau courante, une coloration à la fuchsine Ponceau a été effectuée pendant 5 min, suivie d'un lavage puis une coloration à l'orange G phosphomolybdique pendant 5 min. Après rinçage, une coloration au vert lumière a été réalisée durant 5 min.

Les sections ont par la suite été déshydratées dans un bain d'éthanol (100°), éclaircies dans du xylène, puis montées à l'aide d'une résine synthétique. Après séchage, les lames ont été observées sous microscope photonique.

### **2.5. Étude morphométrique**

Pour notre étude morphométrique, des lames histologiques du foie colorées ont été photographiées à l'aide d'un appareil photo numérique connecté à un microscope Olympus (Optika B 183, Italie). Les diamètres des noyaux, du cytoplasme, de la veine centro-lobulaire (VCL), la distance entre la VCL et les triades portales, ainsi que l'épaisseur de la membrane de la VCL ont été mesurés à l'aide du logiciel Image View V 64. Un total de 60 mesures pour chaque paramètre a été pris au grossissement x100 et x 400, puis les données ont été exprimées statistiquement.

---

**Partie 1. Effet des vitamines C et E sur la toxicité subaiguë induite par Ampligo 150<sup>®</sup> ZC****1.1. Objectif**

Cette étude a pour but d'évaluer l'effet de l'insecticide de synthèse Ampligo<sup>®</sup> 150 ZC (AP) sur les paramètres biochimique et histologique de la fonction hépatique après une exposition subaiguë chez le lapin de souche synthétique *Oryctolagus cuniculus* et d'estimer l'effet amélioratif possible d'une supplémentation vitaminique C et E.

Les effets ont été observés sur les paramètres suivants :

- Évolution pondérale.
- Variation de la prise d'aliment et de boisson.
- Dosage des paramètres biochimiques de la fonction hépatique : ASAT, ALAT, Glucose,  $\gamma$ -GT, PAL, bilirubine totale, bilirubine directe, protéines totales.
- L'observation histopathologique du tissu hépatique.
- Évaluation morphométrique du tissu hépatique.

**1.2. Animaux**

Vingt-quatre (24) lapins mâles *Oryctolagus cuniculus* âgés de 4 mois ayant un poids initial moyen de 2,7 kg provenant de l'institut technique d'élevage (ITLEV Baba Ali, Algérie) sont transférés au bâtiment cunicole de l'université Saad Dahlab Blida 1. Les animaux ont eu un accès libre à la nourriture et à l'eau *ad libitum*, logés dans des cages à  $23 \pm 2$  C° sur un cycle lumière/obscurité de 12h/12h pendant toute la période d'expérimentation. Les animaux ont été pesés quotidiennement à l'aide d'une balance électronique. Les apports en nourriture et en eau ont été mesurés quotidiennement tout au long de l'étude.

Une acclimatation de 3 semaines a été réalisée pour permettre une bonne adaptation des animaux à l'environnement et aux manipulateurs.

- Le calcul du pourcentage de la prise du poids corporel a été estimé comme suit :

$$\%PP = \frac{\text{Poids final} - \text{Poids initial}}{\text{Poids final}} \times 100$$

- Le calcul de l'indice de conversion alimentaire (ICA) a été estimé comme suit :

$$IC = \frac{\text{Consommation finale}}{\text{Poids corporel final} - \text{Poids corporel initial}}$$

### 1.3. Produits chimiques à testés

L'insecticide étudié est **L'Ampligo 150<sup>®</sup> ZC**, obtenu de la firme productrice Syngenta (annexe de Kouba, Alger). **La vitamine E** ( $\alpha$ -tocophérol) et **C** (acide ascorbique) provenant de source commerciale (Sigma Chemical Co St. Louis, France) ont été utilisés dans notre expérimentation.

### 1.4. Protocole expérimental

Les animaux ont été répartis au hasard en quatre lots de six lapins chacun (**n=6**), en fonction de leur poids corporel moyen homogène. Les lapins étaient identifiés par un marquage au niveau de l'oreille, où chaque lapin est caractérisé par un numéro individuel. La durée de l'expérimentation proprement dit est de **21 jours**.

---

Les doses de AP et des vitamines C & E ont été administrées, par gavage comme suit :

**Lot 1 :** Témoin négatif : les lapins recevaient de l'eau distillée par gavage chaque jour (1ml/lapin /jour).

**Lot 2 :** Témoin positif : les lapins recevaient

- **Jour 1 :** Gavage de 1ml/lapin de l'eau distillée.
- **Jour 2 :** Gavage d'une concentration de 200 mg/kg de pc vitamine C + 20 mg/kg de pc de vitamine E sous forme d'une solution à raison de 1ml/lapin.

**Lot 3 :** Traité par l'insecticide AP : les lapins recevaient

- **Jour 1 :** Gavage de 4 mg/kg de pc de l'insecticide Ampligo 150 ZC sous forme d'une solution à raison de 1ml/lapin.
- **Jour 2 :** Gavage de 1ml/lapin de l'eau distillée.

**Lot 4 :** Traité par l'insecticide AP et supplémenté par les vitamines C&E : les lapins recevaient

- **Jour 1 :** Gavage de 4 mg/kg de pc de l'insecticide Ampligo 150 ZC sous forme d'une solution à raison de 1ml/lapin.
- **Jour 2 :** Gavage d'une concentration de 200 mg/kg de pc vitamine C + 20 mg/kg de pc de vitamine E sous forme d'une solution à raison de 1ml/lapin.

### 1.5. Prélèvement sanguin et analyse biochimique

Pour les analyses biochimiques, des échantillons de sang ont été prélevés à partir de la veine marginale et centrale de l'oreille à **J 21** (fin de l'expérimentation). Le sang est récupéré dans des tubes héparinés, le volume collecté est d'environ 3ml. Les prélèvements obtenus sont immédiatement centrifugés à 3000 tours/min pendant 15 minutes.

Le plasma obtenu, est recueillis dans des tubes Eppendorfs, transportés dans une glacière au laboratoire d'analyse médicale pour le dosage des paramètres biochimiques suivants : ALT (alanine transaminase), AST (aspartate transaminase),  $\gamma$ GT (gamma-glutamyl transférase), PAL (phosphatase alcaline), glucose, bilirubine et protéines totales. Ces paramètres ont été évalués à l'aide de kits commerciaux Biolabo (France) et analysés par un instrument auto-analyseur (Hitachi 912) (Roche Diagnostics, Mannheim, Allemagne).

### **1.6. Examen histologique et histo-morphométrique**

Pour chaque animal, le foie est fixé entièrement dans du formol à 10%. Les échantillons sont inclus en paraffine puis les blocs sont conservés. Les lames histologiques sont préparées et colorées à l'hématoxyline -éosine pour l'évaluation histopathologique et à trichrome de Masson pour l'observation des fibres de collagène. Ensuite, les lames sont photographiées à l'aide d'un appareil photo numérique connecté à un microscope optique pour l'évaluation morphométrique des différents paramètres du tissu hépatique.

### **1.7. Étude statistique**

La représentation des données, ainsi que les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de logiciel XLSTAT version 16 (Addinsoft Inc., New York, États-Unis) et Statistica version 10.0 (stat soft Inc., Tulsa, 129 Oklahoma, USA). Les résultats obtenus sont présentés en moyenne  $\pm$  erreur standard à la moyenne (SEM). La comparaison des moyennes de chaque paramètre entre les différents groupes étudiés a été effectuée par l'analyse unidirectionnelle de variance (one-way ANOVA) pour les paramètres sans répétition de mesures, et l'analyse unidirectionnelle de variance ANOVA à mesures répétées pour les paramètres évalués à plusieurs reprises, le test ANOVA est suivi par un test post-hoc « Duncan's post-hoc test ». Une valeur p est considérée comme statistiquement significatif lorsqu'elle est  $< 0.05$ .



24 lapins males  
"Oryctolagus cuniculus"

Témoin  
n=6

CE  
n=6

AP  
n=6

AP+CE  
n=6

21 Jours :  
Acclimatation

Estimation journalière de poids, aliment, eau

21 Jours :  
Administration des produits par gavage

Estimation journalière de poids, aliment, eau

1ml d'eau distillée

1ml de vitamines C&E  
(200mg/Kg pc+ 20mg/kg pc)

1ml de Ampligo 150 ZC  
(4 mg/Kg pc)

1 ml de Ampligo  
+  
1ml de vitamines  
C&E

Après 21 Jours :  
Sacrifice des animaux

Etude  
macroscopique

Analyse biochimique  
Bilan hépatique

Étude histologique  
Coloration H&E et trichrome  
de Masson

Étude  
morphométrique



Organigramme de la première expérimentation

---

---

## Partie 2. Effet des vitamines A, D, E et C sur la toxicité subaiguë induite par Ampligo 150® ZC

### 2.1. Objectif

La présente étude consiste à estimer l'effet amélioratif d'une supplémentation vitaminique composée de vitamines A, D, E et C contre la toxicité induite par l'insecticide de synthèse Ampligo® 150 ZC (AP) sur le foie du lapin mâle *Oryctolagus cuniculus*.

Les effets ont été observés sur les paramètres suivants :

- Évolution pondérale des lapins.
- Variation de la prise alimentaire.
- Dosage des paramètres biochimiques de la fonction hépatique : ASAT, ALAT, Glucose,  $\gamma$ -GT, PAL, bilirubine totale ; et les variations du profil lipidique : CT, TG, HDL, et les indices d'athérogénicité.
- L'observation histopathologique et histochimique du tissu hépatique.
- Évaluation morphométrique du tissu hépatique.
- Observation immunohistochimique du tissu hépatique.

### 2.2. Animaux

Dix-huit (18) lapins mâles de souche synthétique *Oryctolagus cuniculus* âgés de 5 mois et ayant un poids corporel initial de 2,5 kg, issu de l'institut technique d'élevage (ITLEV Baba Ali, Alger). Les lapins ont été logés individuellement dans des cages métalliques, sous température ambiante contrôlée ( $22\pm 2^\circ\text{C}$ ), humidité (45-65%), et éclairage naturel (cycle jour/nuit 12h/12h). Les animaux ont reçu 300g/jour de granulés pour lapins produits par SIM Sandres Algérie Spa. L'apport en eau était assuré *ad libitum* et la période d'acclimatation a duré 2 semaines. Durant la période d'acclimatation et la période expérimentale, tous les lapins sont pesés quotidiennement le matin pour suivre l'évolution de leurs poids corporels chez les différents lots étudiés, ainsi la consommation de l'aliments a été mesurée.

- Le calcul du pourcentage de la prise du poids corporel a été estimé comme suit :

$$\%PP = \frac{\text{Poids final} - \text{Poids initial}}{\text{Poids final}} \times 100$$

- Le calcul de l'indice de conversion alimentaire (ICA) a été estimé comme suit :

$$IC = \frac{\text{Consommation finale}}{\text{Poids corporel final} - \text{Poids corporel initial}}$$

### 2.3. Produits chimiques à testés

La même formulation insecticide (**Ampligo 150<sup>®</sup> ZC**) est testée dans notre deuxième expérimentation (Syngenta, Alger). Une solution injectable commerciale de vitamine **AD3E** appelée "**ADECON**" (FATRO S.p.A-Ozzano Emilia, Bologne, Italie) a été utilisée dans cette étude. **La vitamine C** a été obtenue auprès de Sigma Chemical Co. (St. Louis, France).

### 2.4. Protocol expérimental

Les dix-huit lapins ont été répartis en trois groupes de six lapins chacun (**n=6**), en fonction de leur poids corporel moyen. Le traitement a duré **28 jours**, les produits ont été administrés selon chaque lot comme suit :

**Lot 1 :** lapins témoins recevant l'eau distillée par gavage chaque jour (1ml/lapin /jour).

**Lot 2 :** lapins traités par l'insecticide AP :

- **Jour 1 :** Gavage de 20mg/kg de pc de l'insecticide Ampligo 150 ZC sous forme d'une solution à raison de 1ml/lapin.
- **Jour 2 :** Gavage de 1ml/lapin de l'eau distillée.

**Lot 3 :** lapins traités par l'insecticide AP et supplémentés par les vitamines ADEC comme suit :

- **Jour 1 :** Gavage de 20mg/kg de pc de l'insecticide Ampligo 150 ZC sous forme d'une solution à raison de 1ml/lapin.
- **Jour 2 :** Injection intramusculaire de 0,5ml de la solution vitaminique AD3E + gavage de 200 mg/kg de pc de vitamine C sous forme d'une solution à raison de 1ml/lapin après 1 heure de l'injection.

## 2.5. Prélèvement sanguin et analyse biochimique

Deux prises de sang ont été effectuées pour chaque animal tout au long de l'expérience. Le premier prélèvement a été effectué le **14eme jour**, et le second à la fin de l'expérimentation **28eme jour**. Un analyseur de chimie clinique Hitachi 912 a été utilisé pour évaluer l'activité de des transaminases (ASAT, ALAT), ALP, GGT, de la bilirubine et le glucose (Kit BIOLABO S.A., France).

Les niveaux plasmatiques du profil lipidiques, notamment le cholestérol total (CT), les triglycérides (TG) et le cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDLc), ont été déterminés par des méthodes enzymatiques standardisées. L'indice athérogène du plasma (IAP) a été calculé comme  $\text{Log}_{10} [ \text{TG} ] / [ \text{HDL} ]$  (**Chahrazed et al., 2021**). Un autre facteur athérogène a été déterminé qui est le rapport TC/ HDL.

## 2.6. Étude histologique et histo-morphométrique

Pour chaque animal, le foie est fixé entièrement dans du formol à 4%. Les échantillons sont inclus en paraffine puis les blocs sont conservés. Les lames histologiques sont préparées et colorées à l'hématoxyline -éosine pour l'évaluation histopathologique et à trichrome de Masson pour l'observation des fibres de collagène. Ensuite, les lames sont photographiées à l'aide d'un appareil photo numérique connecté à un microscope optique pour l'évaluation morphométrique des différents paramètres du tissu hépatique.

## 2.7. Étude histochimique

### ➤ Coloration par l'acide périodique de Schiff (PAS)

#### Principe

La coloration PAS est utilisée pour la mise en évidence de glycogène. La méthode consiste à oxyder par l'acide périodique les glucides, qui libèrent un groupement aldéhyde – CHO. Ces groupements ont la propriété de se combiner avec le réactif de Schiff, qui prend une teinte rouge vif. Une contre-coloration à l'hématoxyline permet le marquage des noyaux (McManus, 1948).

L'identification du glycogène nécessite la comparaison entre des coupes ayant subi la réaction normale (PAS positif) et des coupes soumises préalablement à une digestion enzymatique (contrôle négatif) c.a.d la spécificité de la réaction est contrôlée sur des coupes témoins traitées par l'amylase salivaire.

### ➤ Coloration par le bleu alcian

Les coupes ont été traitées avec du bleu Alcian à pH 2,5 pendant 20 min, lavées dans l'eau, contre-colorées avec de l'éosine à 0,5 pendant 1 minute, lavées à l'eau, déshydratées dans de l'alcool, éclaircies au xylène et montées au DPX (Mowry, 1956). Les mucines acides, les protéoglycanes et acide hyaluronique sont colorées en bleu, les noyaux et les autres composants tissulaires en rouge.

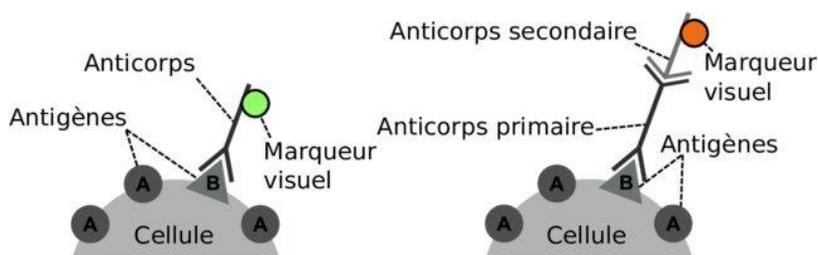
## 2.8. Étude immunohistochimique

### Principe

C'est une méthode qui rassemble à la fois les techniques d'histologie et d'immunologie, elle permet la localisation *in situ* d'antigènes dans les cellules des coupes tissulaires, via les interactions entre les anticorps mono et polyclonaux marqués et des épitopes de la molécule cible observable au microscope. La réaction est visualisée grâce à un traceur (molécule fluorescente, enzyme...) fixé directement (immunohistochimie direct) ou indirectement (immunohistochimie indirect) sur cet anticorps via un anticorps secondaire.

Une immunoréaction est composée de trois éléments principaux :

- La préparation contenant l'antigène à étudier (tissu, cellule, organe...).
- Un anticorps primaire dirigé contre l'antigène recherché.
- Le système révélateur qui permet de visualiser l'immunoreaction.



**Figure 12.** Représentation schématique des éléments d'une immunoréaction direct (à gauche indirect (à droite).

Afin d'évaluer les effets des traitements utilisés sur les marqueurs tumoraux, des fragments hépatiques sont fixés au formol tamponné à 10% et inclus en paraffine. Des coupes de 5µm sont confectionnées et étalées sur des lames chargées positivement dite silanisées «X-tra Adhésive » pour une adhésion maximale du tissu, les coupes étalées sont séchées à l'étuve pendant une nuit à 40°C pour éliminer tout excès de paraffine.

Le processus d'immunomarquage de l'alpha-foetoprotéine (APF), de la Bcl-2, de l'E-cadhérine, de la Ki67 et de la p53 a été réalisé à l'aide d'un appareil automatisé pour l'immunohistochimie et l'hybridation in situ (Benchmark ULTRA ; Ventana Medical Systems, Tucson, AZ).

L'appareil suit les mêmes étapes de l'étude immunohistochimique manuelle : restauration antigénique (démasquage), inhibition des molécules endogènes, application de l'anticorps primaire, application de l'anticorps secondaire, révélation, contre coloration.

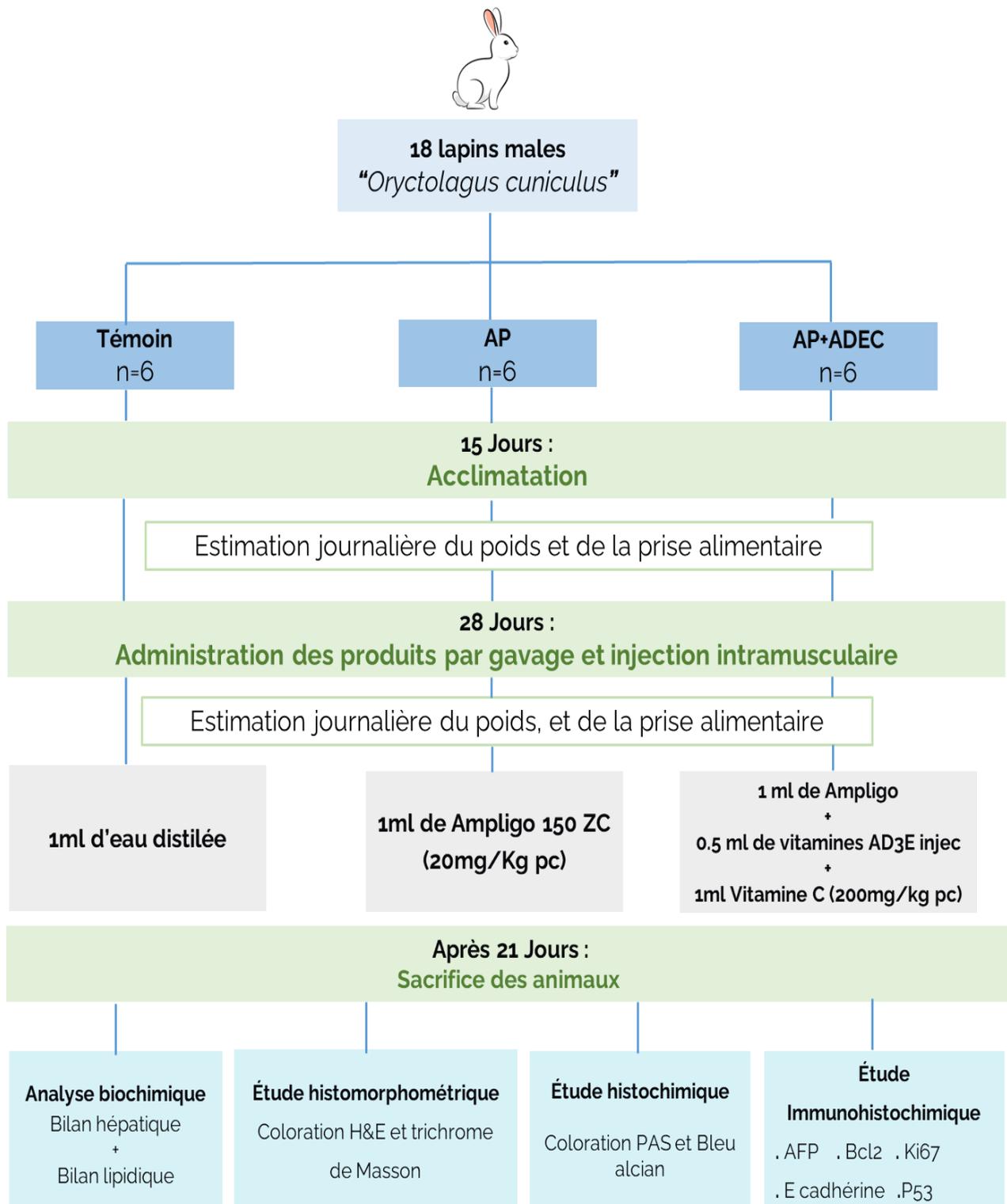
En suivant le protocole du fabricant, Les anticorps primaires utilisés sont les suivants : APF (clone polyclonal, Ventana, cat# 760-2603), Bcl-2 (clone SP66, Ventana, cat# 790-4604), E-cadhérine (clone EP700Y, Ventana, cat# 760-4440), Ki-67 (clone 30-9, Ventana cat# 790-4286), p53 (clone Bp-53-11, Ventana, cat# 760-2542).

### ➤ Évaluation de l'immunomarquage

Des images ont été prises, puis les lames ont été transférées au logiciel QuPath V 0.3.2. L'immunomarquage a été estimé en pourcentage % de la zone d'expression dans un cadre de mesure standard de chaque animal des groupes au grossissement x400. Toutes les zones immunomarquées avec la couleur brune sont considérées comme positives et prises en compte pour l'évaluation quelle que soit l'intensité de la coloration.

## 2.9. Étude statistique

Toutes les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM et la comparaison entre les groupes de l'étude a été effectuée par le test unidirectionnel Anova suivi du test post hoc de Duncan pour les mesures non répétées et Anova à mesures répétées suivi par le Duncan test pour les paramètres biochimiques. Une valeur  $p < 0,05$  a été considérée comme statistiquement significative. L'analyse statistique a été réalisée avec XLSTAT version 16 (Addinsoft Inc., New York, États-Unis) et Statistica version 10.0 (stat soft Inc., Tulsa, 129 Oklahoma, USA).



*Organigramme de la deuxième expérimentation*

---

# Résultats

---

## Partie 1. Effet des vitamines C et E sur la toxicité subaiguë induite par Ampligo 150® ZC

### 1.1. Évolution du poids corporel et pourcentage de prise de poids

Le tableau IV présente l'évolution du poids corporel pendant la période d'acclimatation (21 jours) et la période du traitement (21 jours). Aucune mortalité n'a été observée chez les animaux tout au long de l'étude.

Pendant la période de l'acclimatation, une prise de poids homogène a été remarqué également le pourcentage de prise de poids (% PP) dans les quatre groupes inclus dans cette étude avec une légère variation entre les quatre lots qui reste non significative.

Durant la période de l'expérimentation, une progression continue du poids corporel des lapins a été constatée durant les 3 semaines chez tous les groupes expérimentaux. Cependant, une diminution significative comparativement au groupe témoin a été observé chez les lapins traités uniquement par l'insecticide Ampligo 150 ZC. L'administration de l'insecticide a résulté une diminution en gain pondéral (3,94%) par rapport aux autres groupes de l'étude. En revanche, le traitement avec une combinaison d'AP et de vitamines CE a révélé une amélioration significative en poids corporel et en pourcentage de prise de poids (6,36%).

**Tableau IV.** Variation du poids corporel et le pourcentage de prise de poids (% PP) des lapins témoins et traités durant les périodes d'acclimatation et d'expérimentation.

Période	Poids (kg) /semaine	Témoin	CE	AP	AP+CE
Acclimatation	Semaine 1	2,48 ± 0,02	2,45 ± 0,05	2,44 ± 0,04	2,49 ± 0,02
	Semaine 2	2,47 ± 0,09	2,46 ± 0,04	2,45 ± 0,04	2,58 ± 0,02
	Semaine 3	2,69 ± 0,02	2,66 ± 0,04	2,67 ± 0,04	2,72 ± 0,02
	% PP	7,8%	7,8%	8,3%	8,4%
Expérimentation	Semaine 1	2,84 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,75 ± 0,03 <sup>a</sup>	<b>2,68 ± 0,04<sup>b</sup></b>	<b>2,94 ± 0,01<sup>c</sup></b>
	Semaine 2	2,89 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,95 ± 0,02 <sup>a</sup>	<b>2,7 ± 0,04<sup>b</sup></b>	<b>3,07 ± 0,02<sup>c</sup></b>
	Semaine 3	3,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,98 ± 0,04 <sup>a</sup>	<b>2,79 ± 0,04<sup>b</sup></b>	<b>3,14 ± 0,03<sup>ab</sup></b>
	%PP	8,09 %	7,81%	3,94 %	6,36 %

a,b,c : moyennes dans les colonnes avec des indices sont significativement différentes à  $p < 0,05$ .

## 1.2. Variation de la consommation de l'aliment et l'indice de conversion alimentaire

Le tableau V présente la variation en consommation de l'aliment pendant la période d'acclimatation (21 jours) et la période du traitement (21 jours).

Une consommation alimentaire normale avec une augmentation progressive chaque semaine, a été remarqué chez les lapins des quatre groupes pendant le période d'acclimatation.

Durant la période expérimentale, une diminution significative de la consommation d'aliment chez l'ensemble des lapins traités par l'insecticide AP par rapport aux autres lots a été notée pendant la 3-ème semaine de l'expérimentation (159,22 g  $\pm$  10,65). Ceci, a résulté une augmentation significative de l'indice de conversion alimentaire IC (1,44  $\pm$  0,27). En revanche, une augmentation accentuée a été constatée dans le groupe CE au cours des trois semaines de l'expérimentation. La Co-administration des vitamines CE et l'insecticide AP a permis de constater une consommation alimentaire comparable au groupe témoin durant les 3 semaines de l'expérimentation (**tableau V**).

**Tableau V.** Variation de la consommation d'aliment et de l'Indice de Conversion alimentaire (IC) des lapins témoins et traités durant les périodes d'acclimatation et d'expérimentation.

Période	Quantité (g)/ semaine	Témoin	CE	AP	AP+CE
Acclimatation	Semaine 1	32,71 $\pm$ 0,07	32,89 $\pm$ 1,43	33,38 $\pm$ 2,42	37,57 $\pm$ 1,45
	Semaine 2	49,49 $\pm$ 4,03	55,31 $\pm$ 3,98	61,6 $\pm$ 4,38	54,11 $\pm$ 3,81
	Semaine 3	138,04 $\pm$ 5,06	128,38 $\pm$ 5,35	121,96 $\pm$ 7,55	121,66 $\pm$ 6,21
	IC	0,65 $\pm$ 0,01	0,59 $\pm$ 0,12	0,51 $\pm$ 2,12	0,52 $\pm$ 1,65
Expérimentation	Semaine 1	136,64 $\pm$ 3,20 <sup>a</sup>	125,71 $\pm$ 4,32 <sup>a</sup>	126,97 $\pm$ 4,37 <sup>a</sup>	145,87 $\pm$ 2,42 <sup>b</sup>
	Semaine 2	159,85 $\pm$ 4,61	168,88 $\pm$ 7,91	155,65 $\pm$ 9,23	165,08 $\pm$ 10,02
	Semaine 3	175,14 $\pm$ 4,40 <sup>a</sup>	<b>185,68 <math>\pm</math> 11,97<sup>b</sup></b>	<b>159,22 <math>\pm</math> 10,65<sup>c</sup></b>	<b>179,8 <math>\pm</math> 13,17<sup>ab</sup></b>
	IC	0,7 $\pm$ 2,12 <sup>a</sup>	0,80 $\pm$ 1,23 <sup>a</sup>	<b>1,44 <math>\pm</math> 0,27<sup>b</sup></b>	0,89 $\pm$ 1,34 <sup>a</sup>

a,b : moyennes dans les colonnes avec des indices sont significativement différents à  $p < 0,05$ .

### 1.3. Variation de la consommation d'eau

La moyenne de prise d'eau en ml durant la période d'acclimatation et la période d'expérimentation par semaine est représentée dans le tableau VI.

Durant la période d'acclimatation, une progression continue de la consommation d'eau a été noté chez les quatre groupes de l'étude.

L'administration des différents traitements durant la période d'expérimentation a provoqué une diminution non significative de la consommation hydrique chez les quatre groupes dans la première semaine. À partir de la deuxième semaine, une augmentation non significative de la consommation d'eau est estimée chez tous les lapins de l'étude.

**Tableau VI.** Variation de la consommation de boisson des lapins témoins et traités durant les périodes d'acclimatation et d'expérimentation.

Période	Volume (ml)/ semaine	Témoin	CE	AP	AP+CE
Acclimatation	Semaine 1	96,4 ± 4,54	88,67 ± 3,42	100,25 ± 2,34	109,82 ± 8,04
	Semaine 2	130,4 ± 1,05	126,78 ± 5,17	135,98 ± 15,3	132,87 ± 3,79
	Semaine 3	164,52 ± 4,81	174,33 ± 9,73	173,22 ± 7,82	169,55 ± 5,46
Expérimentation	Semaine 1	135,85±2,01	129,57±4,28	123,74±6,27	134,71±2,88
	Semaine 2	149,4±4,03	146,68±7,05	138,51±8,17	157,11±3,68
	Semaine 3	161,35±4,3	165,25±8,66	169,3±7,55	179,05±6,05

### 1.4. Variations du poids absolu et relatif du foie

Les valeurs absolues et relatives du poids moyen des foies obtenues à la fin de la période expérimentale pour les différents lots étudiés sont présentées dans le tableau VII.

Selon le tableau, on remarque une diminution non significative du poids absolu du foie chez les lapins traités avec l'insecticide AP.

Cependant la Co-administration de AP avec les vitamines CE, a entraîné une augmentation non significative du poids absolu hépatique chez le groupe AP+CE.

Une diminution significative ( $p < 0,05$ ) du poids relatif a été estimée chez les lapins traités par l'insecticide AP comparativement avec le témoin et les autres groupes de l'expérimentation.

**Tableau VII.** Effet du traitement sur le poids absolu (g) et relatif des foies des lapins témoins et traités.

Poids organe	Témoin	CE	AP	AP+CE
<b>Poids absolu (g)</b>	79,70 ± 1,38	72,01 ± 2,95	62,19 ± 0,99	82,72 ± 1,12
<b>Poids relatif (g)</b>	2,57 ± 0,05 <sup>a</sup>	2,41 ± 0,21 <sup>a</sup>	<b>2,22 ± 0,12<sup>b</sup></b>	2,65 ± 0,14 <sup>a</sup>

a,b,c : moyennes dans les colonnes avec des indices sont significativement différents à  $p < 0,05$ .

### 1.5. Effet des traitements sur les paramètres biochimiques de la fonction hépatique

L'évaluation biochimique de la fonction hépatique réalisée à la fin de l'expérimentation est présentée dans le tableau VIII. Les concentrations plasmatiques d'ASAT, ALAT,  $\gamma$ GT, et PAL montrent une variation homogène chez les quatre groupes de l'étude. Cependant, nous observons une diminution significative de la bilirubine totale chez les lapins traités par l'insecticide AP comparativement aux témoins. En effet, la concentration plasmatique moyenne de ce paramètre s'est diminuée à  $2,14 \pm 0,87$  mg/L chez le groupe AP, en revanche, la supplémentation en vitamines C et E chez le quatrième groupe (AP+CE) a résulté une concentration de  $5,19 \pm 2,21$  mg/L qui est relativement similaire au groupe témoin (tableau VIII).

Dans le même contexte, les concentrations plasmatiques de la bilirubine directe augmentent de manière significative chez le groupe traité par l'insecticide AP ( $0,83 \pm 0,65$  mg/L), sans perturbation observée chez les autres groupes de l'étude.

Les concentrations plasmatiques du glucose chez les lapins supplémentés avec les vitamines C et E ne semblent pas être affectées. Alors que chez les lapins traités uniquement par l'insecticide AP, le taux du glucose sanguin a augmenté significativement par rapport aux témoins (**tableau VIII**).

En ce qui concerne les concentrations plasmatiques des protéines totales, nous estimons des valeurs homogènes qui varient entre 63 et 65 g/L chez les quatre groupes de l'expérimentation sans différence statistique entre eux.

**Tableau VIII.** Paramètres biochimiques du profil hépatique des lapins témoins et traités.

Le prélèvement est réalisé au 21ème jour de l'expérimentation.

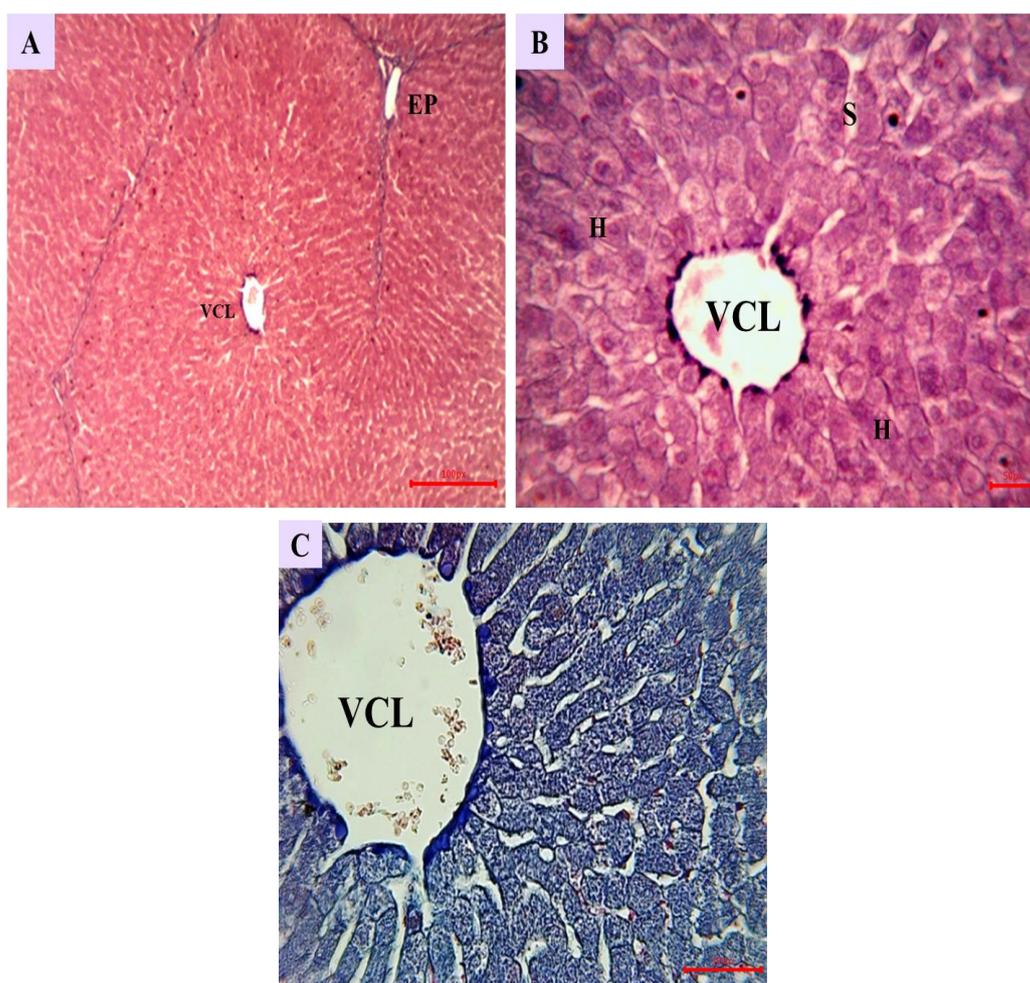
	Témoin	CE	AP	AP + CE
<b>ASAT (IU/L)</b>	31,36 ± 3,03	29,33 ± 2,08	33,46 ± 1,56	30,7 ± 1,72
<b>ALAT (IU/L)</b>	34,4 ± 4,06	28,3 ± 3,6	31,68 ± 3,09	28,63 ± 2,33
<b>GGT (IU/L)</b>	31,05 ± 0,87	31,5 ± 8,54	31,83 ± 3,11	32,72 ± 7,79
<b>PAL (IU/L)</b>	8,35 ± 0,46	10,73 ± 3,02	9,61 ± 0,70	12,65 ± 5,32
<b>Bilirubine totale (mg/L)</b>	5,68 ± 3,74 <sup>a</sup>	4,35 ± 4,10 <sup>a</sup>	<b>2,14 ± 0,87<sup>b</sup></b>	5,19 ± 2,21 <sup>a</sup>
<b>Bilirubine directe (mg/L)</b>	0,47 ± 1,52 <sup>a</sup>	0,45 ± 1,67 <sup>a</sup>	<b>0,83 ± 0,65<sup>b</sup></b>	0,6 ± 0,90 <sup>a</sup>
<b>Glucose (mg/dL)</b>	1,34 ± 0,00	1,3 ± 0,03	<b>1,41 ± 0,06<sup>b</sup></b>	1,29 ± 0,03
<b>protéines totales (g/l)</b>	63,54 ± 1,28	65,79 ± 1,53	65,38 ± 1,46	64,96 ± 1,18

a,b,c : moyennes dans les colonnes avec des indices sont significativement différents à  $p < 0,05$ .

## 1.6. Effet des traitements sur l'aspect histologique et la morphométrie du foie

### 1.6.1. Histologie du foie des lapins témoins

Les lapins témoins montrent une structure histologique normale avec une architecture lobulaire conservée, centrée par une veine centro-lobulaire (VCL) et limitée par des espaces portes (EP). Une structure cellulaire préservée des hépatocytes en travées qui sont séparés par des capillaires sinusoides et un cytoplasme granuleux avec un noyau central. La coloration par le trichrome de Masson montre un tissu conjonctif normal présenté en couche fine de fibres de collagène dans la paroi de la VCL et les EP (Figure 13).

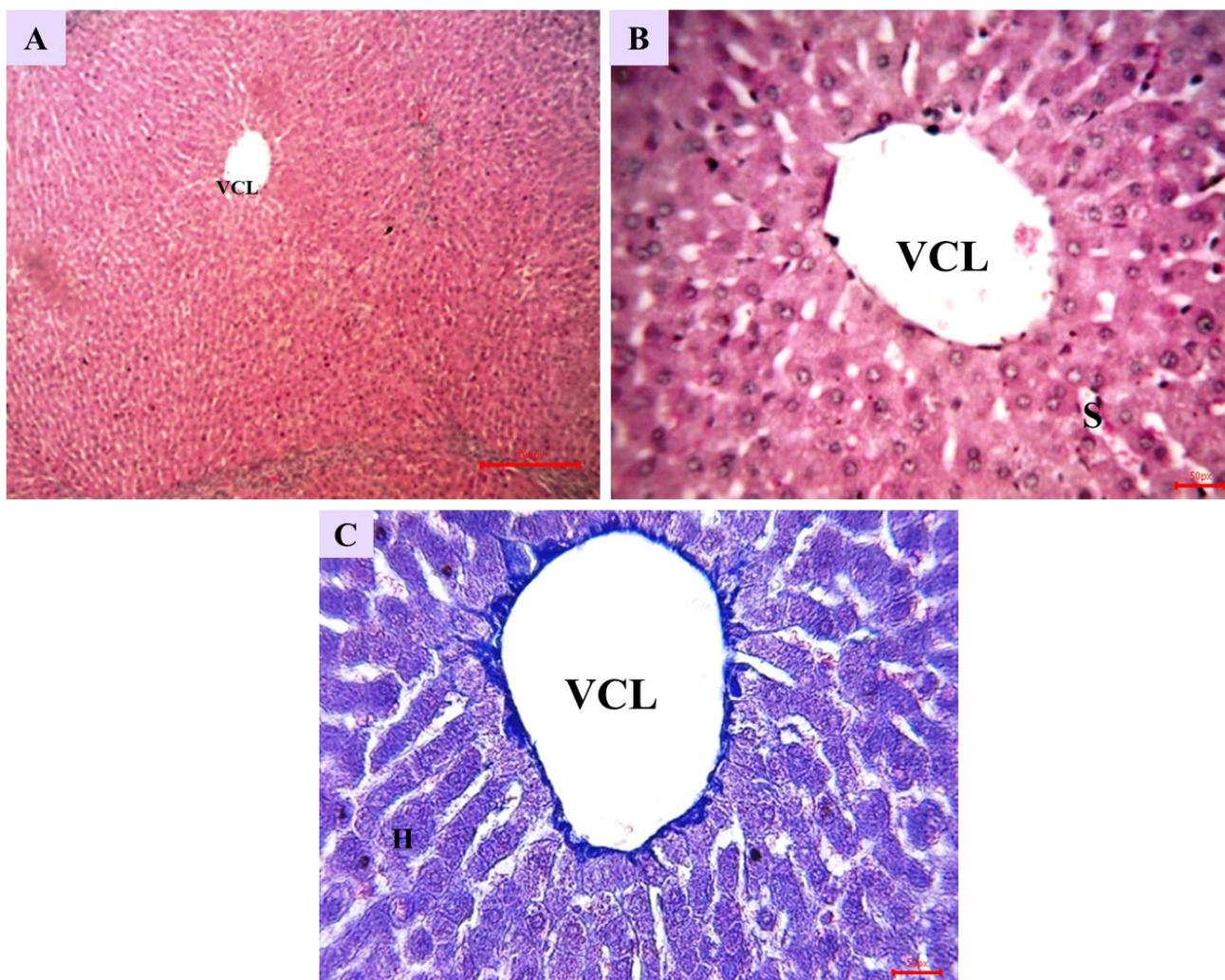


**Figure 13.** Coupes histologiques du parenchyme hépatique des lapins témoins observées au microscope photonique. (A) : X100, (B) : X400 coloration H&E ; (C) : X400 coloration trichrome de Masson.

*EP* : espace porte ; *H* : hépatocyte ; *S* : sinusöide ; *VCL* : veine centro lobulaire.

### 1.6.2. Histologie du foie des lapins traités par les vitamines C et E

La structure du parenchyme hépatique chez les lapins supplémentés par les vitamines C et E, présente un aspect similaire à la structure histologique observée chez les lapins témoins sans différence architecturale (Figure 14).



**Figure 14.** Coupes histologiques du parenchyme hépatique des lapins supplémentés par les vitamines C et E observées au microscope photonique. (A) : X100, (B) : X400 coloration H&E ; (C) : X400 coloration trichrome de Masson.

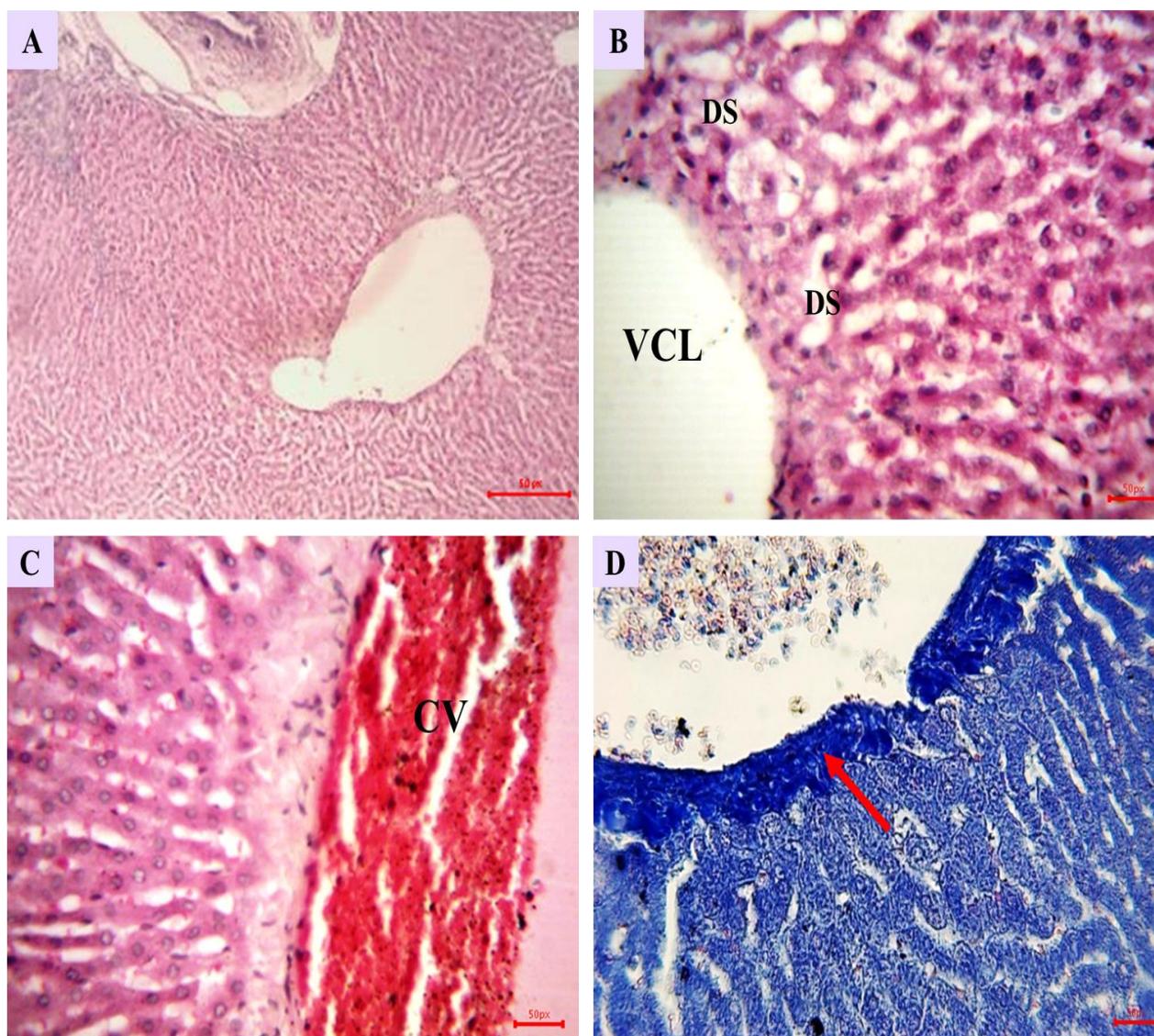
*H* : hépatocyte ; *S* : sinusöide ; *VCL* : veine centro lobulaire.

---

### 1.6.3. Histologie du foie des lapins traités par l'insecticide AP

Les coupes histologiques des foies de lapins sous insecticide AP montrent une architecture plus au moins désorganisée des lobules hépatiques. Cette désorganisation est marquée par la présence des lésions hépatiques, une dilatation et congestion de la VCL, une dilatation sinusoidale avec la présence de l'infiltrat des cellules inflammatoires (Figure 15).

L'observation des coupes des sections de foie colorés au trichrome de Masson a permis de mettre en évidence un épaissement de la paroi de la VCL ainsi que l'EP indiquant une accumulation des fibres de collagène au niveau de ces parois (Figure 15).

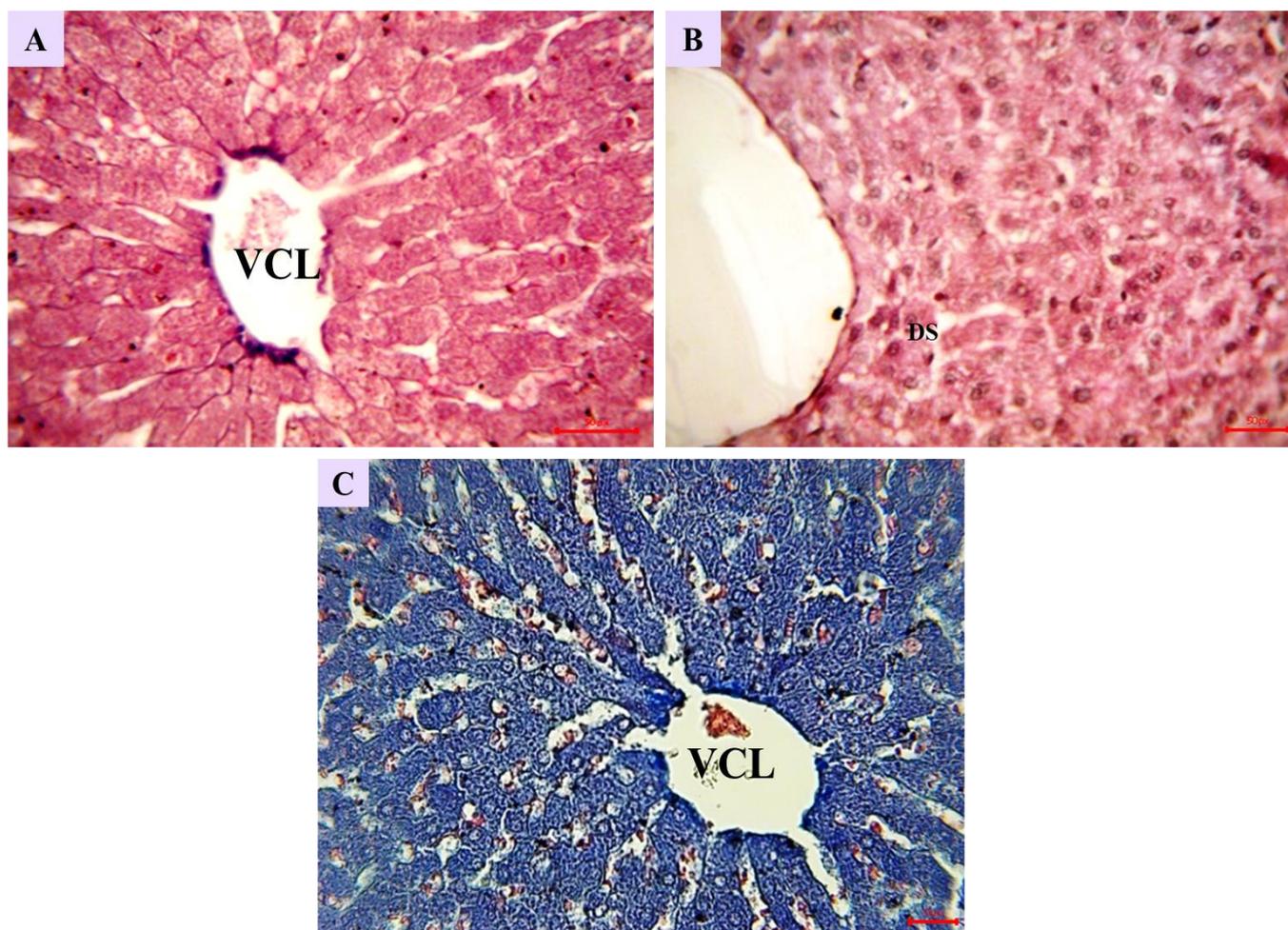


**Figure 15.** Coupes histologiques du parenchyme hépatique des lapins traités par AP observées au microscope photonique. (A) : X100, (B ; C) : X400 coloration H&E ; (D) : X400 coloration trichrome de Masson.

*CV* : congestion vasculaire ; *DS* : dilatation des sinusoides ; *VCL* : veine centro lobulaire ; *Flèche* : épaissement de la paroi de la VCL.

#### 1.6.4. Histologie du foie des lapins traités par l'insecticide AP+ vitamines CE

La structure du parenchyme hépatique chez les lapins traités par AP et supplémentés par les vitamines C et E, montrent une restauration de l'organisation tissulaire marquée par une diminution du diamètre et l'épaississement de la VCL. Tandis que nous observons la dilatation de quelques capillaires sinusoides (Figure 16).



**Figure 16.** Coupes histologiques du parenchyme hépatique des lapins traités par AP et supplémentés par les vitamines C et E observées au microscope photonique. (A) : X100, (B ; C) : X400 coloration H&E ; (D) : X400 coloration trichrome de Masson.

*DS : dilatation des sinusoides ; VCL : veine centro lobulaire.*

### 1.6.5. Résultats histo-morphométriques

Le tableau IX représente les résultats de l'analyse morphométrique par le logiciel Image View V64. Le traitement avec les vitamines CE dans le groupe CE a permis d'augmenter significativement le diamètre du noyau comparativement aux témoins. En conséquence, une diminution du diamètre du cytoplasme a été observée dans le groupe CE ( $p < 0,05$ ). Ainsi, le rapport entre le noyau et le cytoplasme était significativement plus élevé dans le même groupe (CE). Une augmentation hautement significative du diamètre de la VCL chez les lapins traités par AP ( $p < 0,001$ ) a été observé, conduisant à une diminution significative de la distance entre la VCL et l'EP au sein du même groupe. De plus, un fort épaississement de la VCL est estimé chez le groupe traité par l'insecticide AP comparativement aux témoins (Tableau IX).

La supplémentation avec les vitamines C et E après le traitement par l'insecticide AP chez les lapins du groupe AP+CE a induit une réduction importante du diamètre de la VCL, comparable à celle du témoin. En outre, un épaississement moins accentué de la paroi de VCL est apprécié après la supplémentation en vitamines CE (Tableau IX).

**Tableau IX.** Effet du traitement sur les paramètres morphométriques du tissu hépatique chez les quatre groupes de l'étude.

	Témoin	CE	AP	AP+CE
<b>Noyau (N) Grx400</b> ( $\mu\text{m}$ )	43,29 $\pm$ 0,57 <sup>a</sup>	<b>46,11 <math>\pm</math> 0,62<sup>b</sup></b>	43,91 $\pm$ 0,63 <sup>a</sup>	44,85 $\pm$ 0,56 <sup>b</sup>
<b>Cytoplasme (C)</b> <b>Grx400</b> ( $\mu\text{m}$ )	136,37 $\pm$ 3,12 <sup>a</sup>	<b>110,43 <math>\pm</math> 2,11<sup>b</sup></b>	140,96 $\pm$ 4,23 <sup>a</sup>	142,33 $\pm$ 4,13 <sup>a</sup>
<b>N/C Grx400</b> ( $\mu\text{m}$ )	0,32 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup>	<b>0,42 <math>\pm</math> 0,008<sup>b</sup></b>	0,32 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,31 $\pm$ 0,008 <sup>a</sup>
<b>Diamètre de VCL</b> <b>Grx100</b> ( $\mu\text{m}$ )	232,49 $\pm$ 9,58 <sup>a</sup>	212,41 $\pm$ 5,30 <sup>a</sup>	<b>1209,32 <math>\pm</math> 41,41<sup>b</sup></b>	<b>302,9 <math>\pm</math> 38,44<sup>c</sup></b>
<b>Épaisseur de la</b> <b>paroi de VCL Grx400</b> ( $\mu\text{m}$ )	35,58 $\pm$ 1,64 <sup>a</sup>	29,52 $\pm$ 2,33 <sup>a</sup>	<b>253,44 <math>\pm</math> 9,56<sup>b</sup></b>	<b>89,35 <math>\pm</math> 4,004<sup>c</sup></b>
<b>Distance entre VCL</b> <b>et EP Grx100</b> ( $\mu\text{m}$ )	687,91 $\pm$ 18,54 <sup>a</sup>	678,08 $\pm$ 20,16 <sup>a</sup>	<b>462,36 <math>\pm</math> 25,26<sup>b</sup></b>	712,82 $\pm$ 18,26 <sup>a</sup>

a,b,c : moyennes dans les colonnes avec des indices sont significativement différents à  $p < 0,05$ .

## Partie 2. Effet des vitamines A, D, E et C sur la toxicité subaiguë induite par Ampligo 150<sup>®</sup> ZC

### 2.1. Évolution du poids corporel et pourcentage de prise de poids

Le tableau X présente l'évolution du poids corporel pendant la période d'acclimatation (15 jours) et la période du traitement (28 jours).

Aucun décès n'a été observé au cours de l'expérimentation.

Les résultats donnés dans le Tableau 8, montrent une évolution normale du poids corporel, et de la prise de poids chez tous les lapins pendant la période d'acclimatation (2 semaines).

Au cours de la période d'expérimentation, le poids corporel final et le % PP sont significativement ( $p < 0.05$ ) diminués chez le groupe traité par l'AP. Cependant, la Co-administration des vitamines ADEC avec l'insecticide AP a nettement corrigé cette diminution voire a augmenter le % PP comparativement au groupe témoin.

**Tableau X.** Variation du poids corporel et le pourcentage de prise de poids (% PP) des lapins témoins et traités durant les périodes d'acclimatation et d'expérimentation.

Période	Paramètre / groupes	Témoin n=6	AP n=6	AP+ADEC n=6
Acclimatation	Poids initial (kg)	2,15 ± 0,08	2,19 ± 0,06	2,20 ± 0,08
	Poids Final (kg)	2,43 ± 0,11	2,51 ± 0,08	2,47 ± 0,11
	%PP	11,52 %	12,74 %	10,93 %
Expérimentation	Poids initial (kg)	2,63 ± 0,08	2,64 ± 0,11	2,72 ± 0,15
	Poids final (kg)	2,90 ± 0,05 <sup>a</sup>	<b>2,83 ± 1,02<sup>b</sup></b>	3,02 ± 0,7 <sup>a</sup>
	%PP	9,31 %	<b>6,71 %</b>	9,93 %

a,b : moyennes dans les colonnes avec des indices sont significativement différents à  $p < 0,05$ .

## 2.2. Variation de la consommation de l'aliment et l'indice de conversion alimentaire

Le tableau XI présente la variation en consommation de l'aliment pendant la période d'acclimatation (15 jours) et la période du traitement (28 jours).

Pendant le période d'acclimatation, une quantité rapprochée sans différence significative a été consommée par les trois groupes de l'étude. En conséquence, une conversion alimentaire en poids corporel (IC) est presque similaire chez tous les groupes.

Alors que pendant la période expérimentale, nous avons remarqué une diminution non significative de la quantité de nourriture consommée par le groupe AP. Cependant, une augmentation significative de l'indice de conversion alimentaire (IC) a été estimée dans les groupes AP et AP + ADEC par rapport au groupe témoin.

**Tableau XI.** Variation de la consommation d'aliment et de l'Indice de Conversion alimentaire (IC) des lapins témoins et traités durant les périodes d'acclimatation et d'expérimentation

Période	Paramètre / groupes	Témoin n=6	AP n=6	AP+ADEC n=6
Acclimatation	Consommation alimentaire (g)	106,2 ± 8,84	105 ± 6,25	104,1 ± 8,38
	IC (kg)	0,37 ± 0,17	0,35 ± 1,23	0,38 ± 0,11
Expérimentation	Consommation alimentaire (g)	178,5 ± 7,27	163,75 ± 5,14	172 ± 1,13
	IC (kg)	1,29 ± 2.52 <sup>a</sup>	<b>3.46 ± 3.43<sup>b</sup></b>	<b>2.67 ± 3.57<sup>b</sup></b>

a,b : moyennes dans les colonnes avec des indices sont significativement différents à  $p < 0,05$ .

## 2.3. Variations du poids absolu et relatif du foie

Les valeurs absolues et relatives du poids moyen des foies obtenues à la fin de la période expérimentale pour les différents lots étudiés sont présentées dans le Tableau XII.

Selon le tableau, nous observons une diminution significative ( $p < 0,05$ ) du poids absolu du foie chez les lapins traités avec l'insecticide AP.

En revanche, la Co-administration des vitamines ADEC avec l'insecticide AP, a donné un poids hépatique absolu supérieure à celui du deuxième groupe traité uniquement avec l'insecticide AP mais qui reste inférieur à celui du témoin.

Concernant le poids relatif, une diminution significative du poids relatif a été estimée chez les lapins traités par l'insecticide AP comparativement au témoin avec toujours une amélioration chez le groupe AP+ ADEC.

**Tableau XII.** Effet du traitement sur le poids absolu (g) et relatif des foies des lapins témoins et traités

Poids organe	Témoin	AP	AP+ADEC
<b>Poids absolu (g)</b>	100,38 ± 0,20 <sup>a</sup>	<b>81,51 ± 4,69<sup>b</sup></b>	90,90 ± 6,63 <sup>a</sup>
<b>Poids relatif (g)</b>	3,45 ± 0,20 <sup>a</sup>	<b>2,88 ± 0,14<sup>b</sup></b>	3.00 ± 0.17 <sup>a</sup>

a,b : moyennes dans les colonnes avec des indices sont significativement différents à  $p < 0,05$ .

## 2.4. Effet des traitements sur les paramètres biochimiques

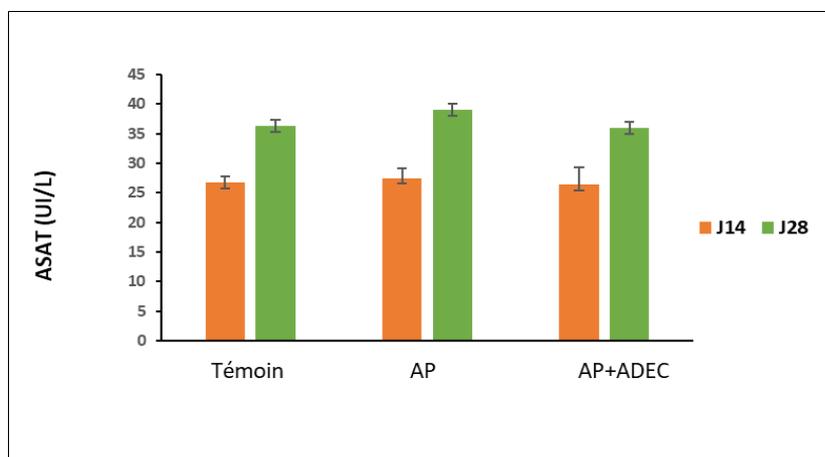
### 2.4.1. Variations des taux sériques de transaminases (ASAT et ALAT)

Les variations plasmatiques de transaminases (ASAT et ALAT) sont consignées dans les figures 17 ; 18.

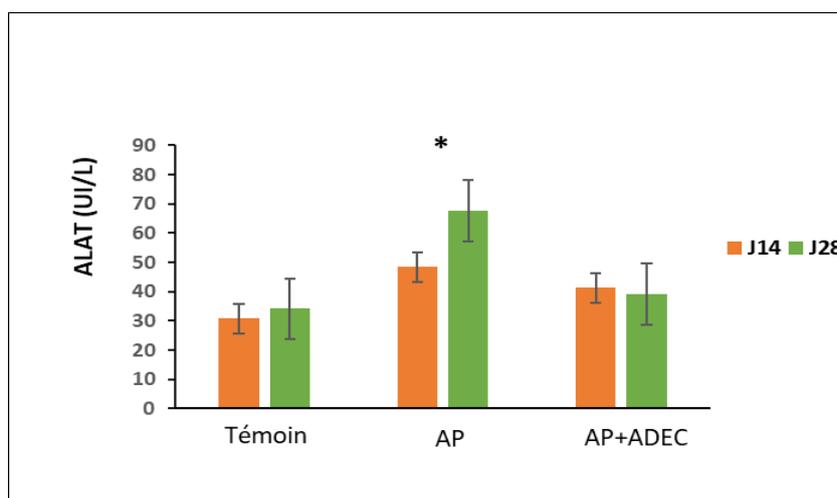
Au 14 -ème jour de l'expérimentation, les taux sériques d'ASAT était proches entre les trois groupes de l'étude. Par contre, la valeur plasmatique d'ALAT a connu une augmentation significative chez le groupe traité par l'insecticide AP ( $48,4 \pm 4,77$  UI/L). Le taux plasmatique de ce paramètre est relativement corrigé après une Co-administration des vitamines ADEC par rapport au groupe traité par l'AP ( $34,6 \pm 1,04$  UI/L).

Au 28-ème jour de l'étude, une augmentation non significative d'ASAT est estimée chez le groupe traité avec l'AP ( $39,07 \pm 3,08$  UI/L). La teneur plasmatique d'ASAT chez le groupe supplémenté par les vitamines ADEC reste relativement similaire à celle du groupe témoin (figure 1). Concernant les variations des taux sériques d'ALAT après le 2-ème prélèvement, une augmentation significative a été remarqué chez le groupe AP comparativement au groupe témoin.

Par ailleurs, le groupe traité par AP et supplémenté par les vitamines ADEC a présenté une valeur moyenne en ALAT relativement similaire au groupe témoin ( $36,55 \pm 3,067$  UI/L).



**Figure 17.** Variation des taux plasmatiques d'ASAT au J 14 et J 28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude.

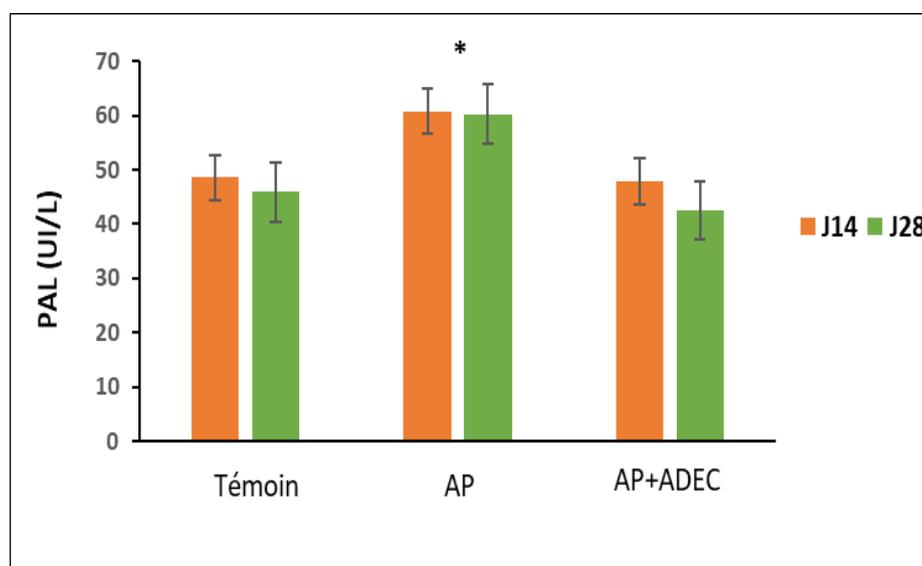


**Figure 18.** Variation des taux plasmatiques d'ALAT au J14 et J28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude, \*  $p < 0,05$ .

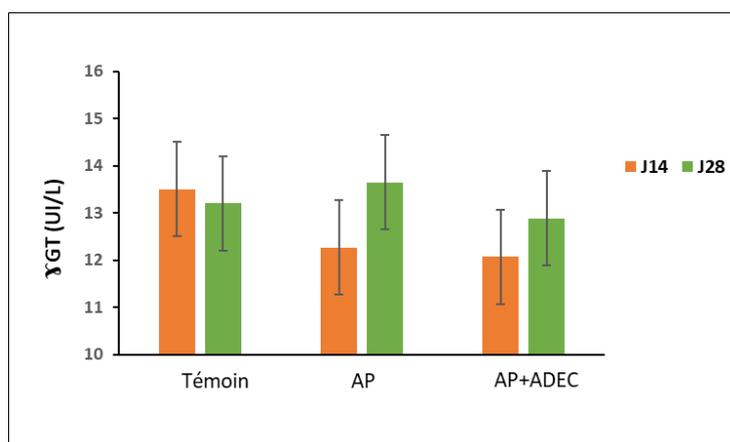
#### 2.4.2. Variations des taux sériques de PAL et $\gamma$ GT

Les lapins traités par l'insecticide AP par rapport aux témoins, montrent une augmentation significative de la PAL pour les deux prélèvements (J14 et J28). En effet, la valeur plasmatique moyenne de PAL des lapins témoins était  $48,6 \pm 2,45$  UI/L pour le 14 -ème jour, et  $45,9 \pm 3,32$  UI/L pour le deuxième prélèvement après 28 -ème jours du traitement (figure 19).

Chez les lapins traités par l'insecticide AP une augmentation significative de PAL au 14 -ème jour a été constaté ( $60,6 \pm 0,15$  UI/L), cette augmentation persiste jusqu'au 2 -ème prélèvement à la fin de l'expérimentation ( $60,22 \pm 3,04$  UI/L). Par contre, les lapins supplémentés par l'association vitaminique ADEC ne présentent aucune différence significative de l'activité de PAL par rapport aux témoins (figure 19 ; tableau XIII). D'autre part, les taux sériques de  $\gamma$ GT ne semblent pas être perturbés pour les lapins traités. En effet, les lapins traités par l'insecticide AP par rapport aux témoins, montrent une diminution non significative de  $\gamma$ GT pour le premier prélèvement du 14 -ème jour ( $12,26 \pm 3,11$ UI/L). Une augmentation de l'activité de  $\gamma$ GT a été observé au 28 -ème jour du prélèvement mais qui reste encore non significative par rapport aux témoins (figure 20). Le groupe AP+ ADEC ne présente également aucune différence significative de l'activité  $\gamma$ GT de par rapport aux témoins (figure 20).



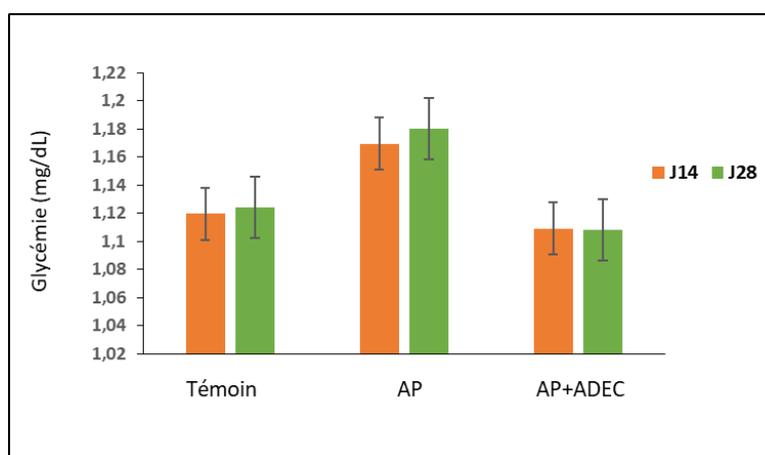
**Figure 19.** Variation des taux plasmatiques de PAL au J14 et J28 jour de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude \*  $p < 0,05$ .



**Figure 20.** Variation des taux plasmatiques de  $\gamma$ GT au J14 et J28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude.

#### 2.4.3. Variations des taux de glucose dans le sang (glycémie)

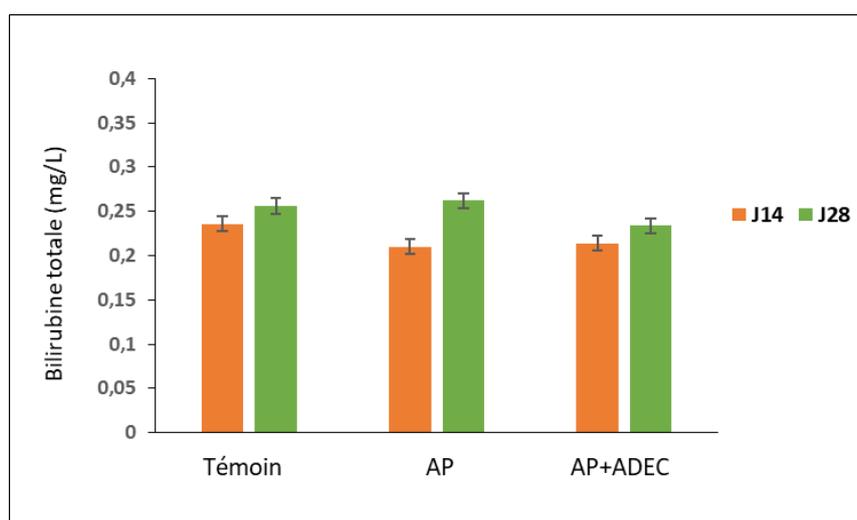
La figure 21 illustre les taux sanguins de la glycémie chez les trois groupes de l'étude où nous remarquons que les concentrations plasmatiques du glucose ne semblent pas être perturbés. Nous enregistrons par ailleurs une augmentation de la glycémie chez le groupe traité par AP avec une valeur de  $1,17 \pm 0,04$  mg/dl au J14 de l'expérimentation, et une valeur de  $1,19 \pm 0,136$  mg/dl au J28, cette augmentation reste non significative comparativement au groupe témoin. La supplémentation avec les vitamines ADEC a provoqué une régression des taux plasmatiques du glucose pour les deux prélèvements (figure 21).



**Figure 21.** Variation des taux plasmatiques de la glycémie au J14 J28 jour de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude.

#### 2.4.4. Variations des taux sériques de la bilirubine totale

En ce qui concerne les taux sériques de la bilirubine totale, l'insecticide AP et l'association vitaminique ADEC n'ont pas provoqué aucune variation significative de leur valeur chez les tous les lapins expérimentaux où les moyennes s'est variée entre 0,21 et 0,25 mg/L (figure 22).



**Figure 22.** Variation des taux plasmatiques de la bilirubine totale au J 14 et J28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude.

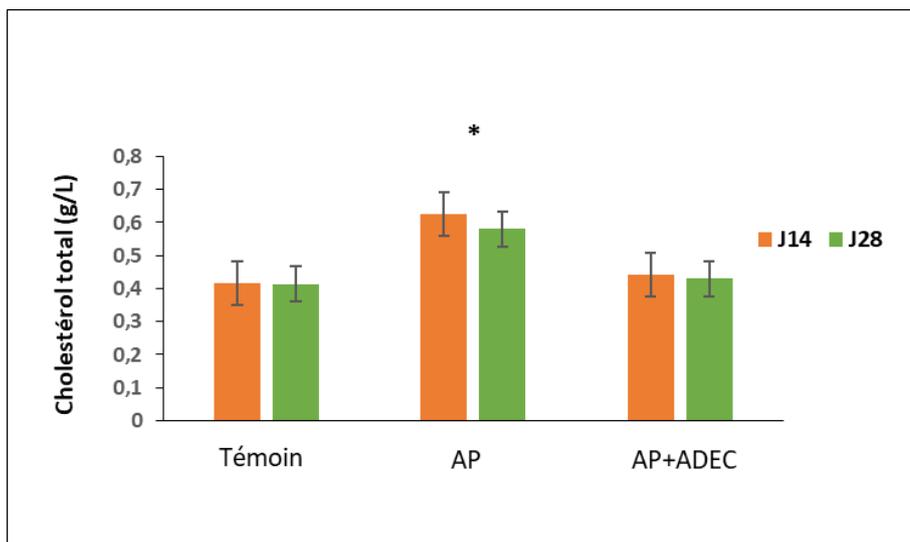
### 2.4.5. Variations des taux sériques du profil lipidique

Comme c'est représenté dans la figure 23, le traitement avec l'insecticide AP induit une augmentation significative des concentrations plasmatiques de cholestérol (CT) pour les deux prises de sang (J14 et J28). Intéressamment, la supplémentation en vitamines ADEC a réduit significativement la concentration plasmatique de cholestérol.

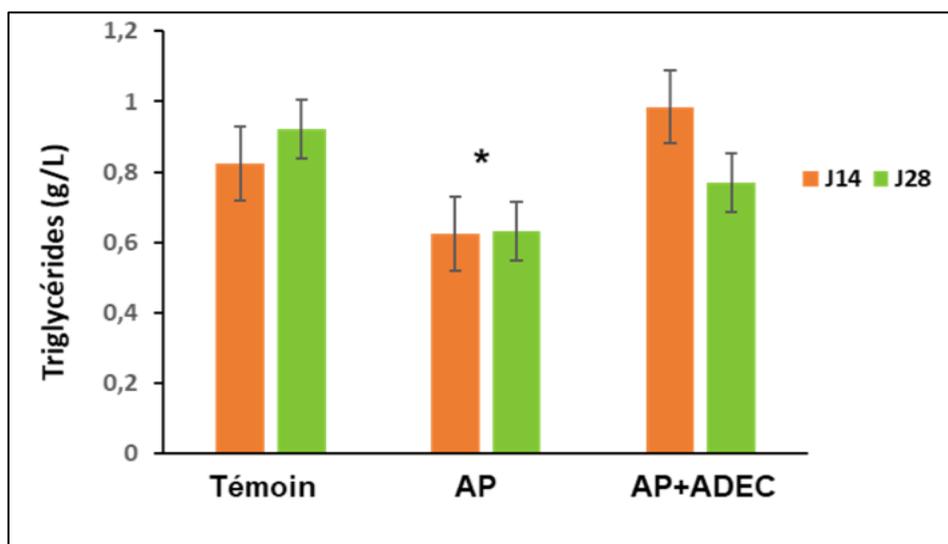
Nous avons constaté une baisse significative des concentrations plasmatiques des TG chez les lapins traités par AP pour les deux prises de sang (J14 et J28) comparativement aux témoins (figure 24). D'autre part nous observons une valeur moyenne de TG similaire au groupe témoin au 14J de l'étude chez les lapins supplémentés par l'association vitaminique ADEC, mais à la fin de l'expérimentation (J28) nous constatons une baisse significative des triglycérides.

Les lapins traités par AP montrent également une régression significative de HDLc au cours du J28 de l'expérimentation. Cependant, les lapins traités par AP et supplémentés par les vitamines ADEC ont présentés une hausse significative de HDLc au 14 -ème jour de l'expérimentation suivie par une diminution au 28 -ème jour de l'étude, proche de celle du groupe témoin (figure 25).

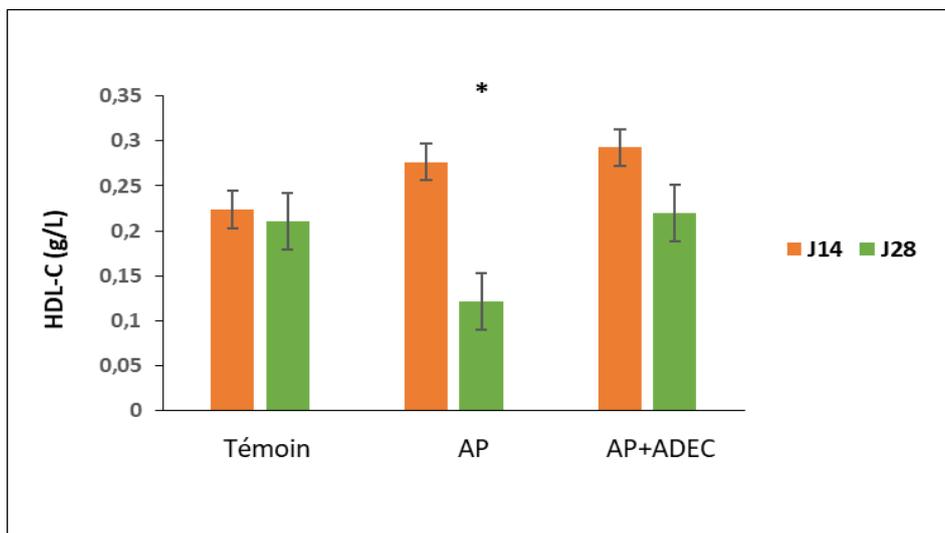
En ce qui concerne les indices athérogènes, le rapport CT/HDLc a augmenté de manière significative dans le groupe AP au J28 l'expérimentation. Ce rapport, a été diminué d'une manière non significative au cours du J14 chez les lapins traités par AP et supplémentés par les vitamines ADEC, ensuite il s'est rapproché à celui des lapins témoins au 28 -ème jour de l'étude (figure 26). Aussi, l'indice athérogène du plasma (IAP) a diminué de manière significative chez le groupe AP + ADEC après 28 -ème jours du traitement. En contrepartie, nous constatons aucun changement de IAP chez le groupe traité uniquement avec AP comparativement au groupe témoin (figure 27).



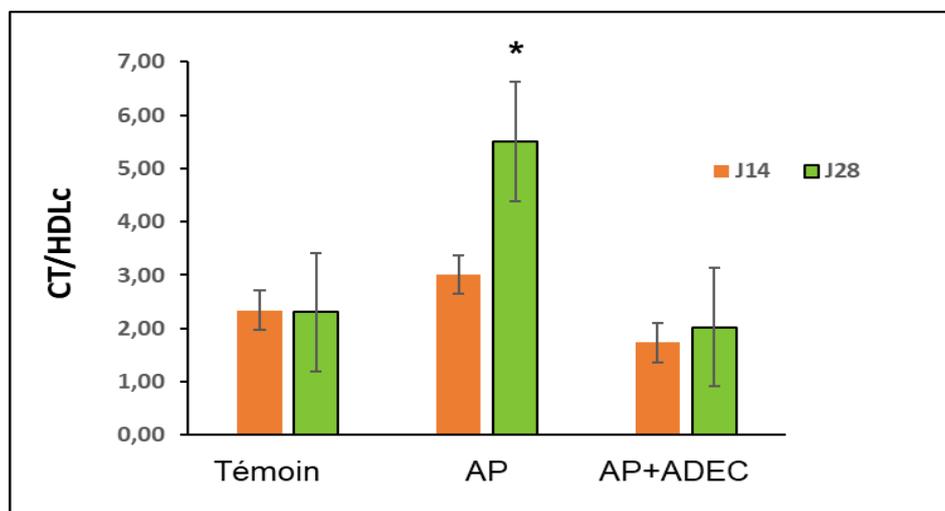
**Figure 23.** Variation des taux plasmatiques du cholestérol total au J14 et J28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude, \*  $p < 0,05$ .



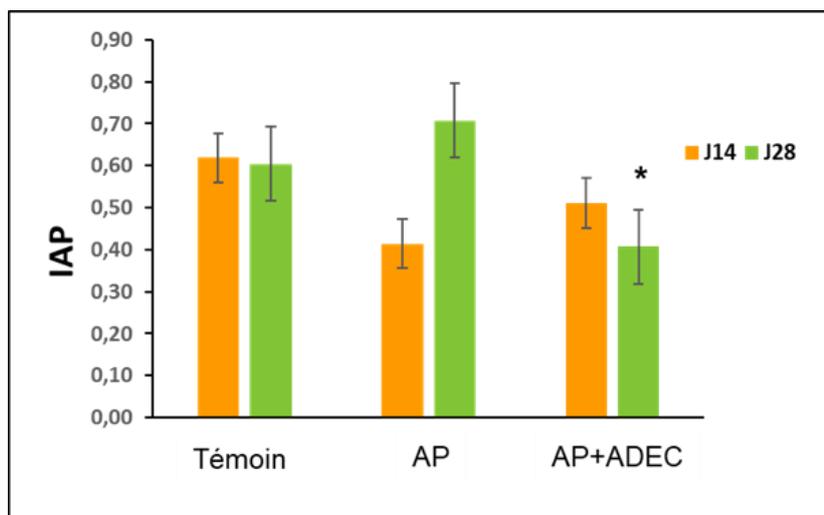
**Figure 24.** Variation des taux plasmatiques des triglycérides au J14 et J28 jour de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude, \*  $p < 0,05$ .



**Figure 25.** Variation des taux plasmatiques d'HDL-C à J14 et J 28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude, \*  $p < 0,05$ .



**Figure 26.** Variations du rapport CT/HDL-C au J14 et J 28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude, \*  $p < 0,05$ .



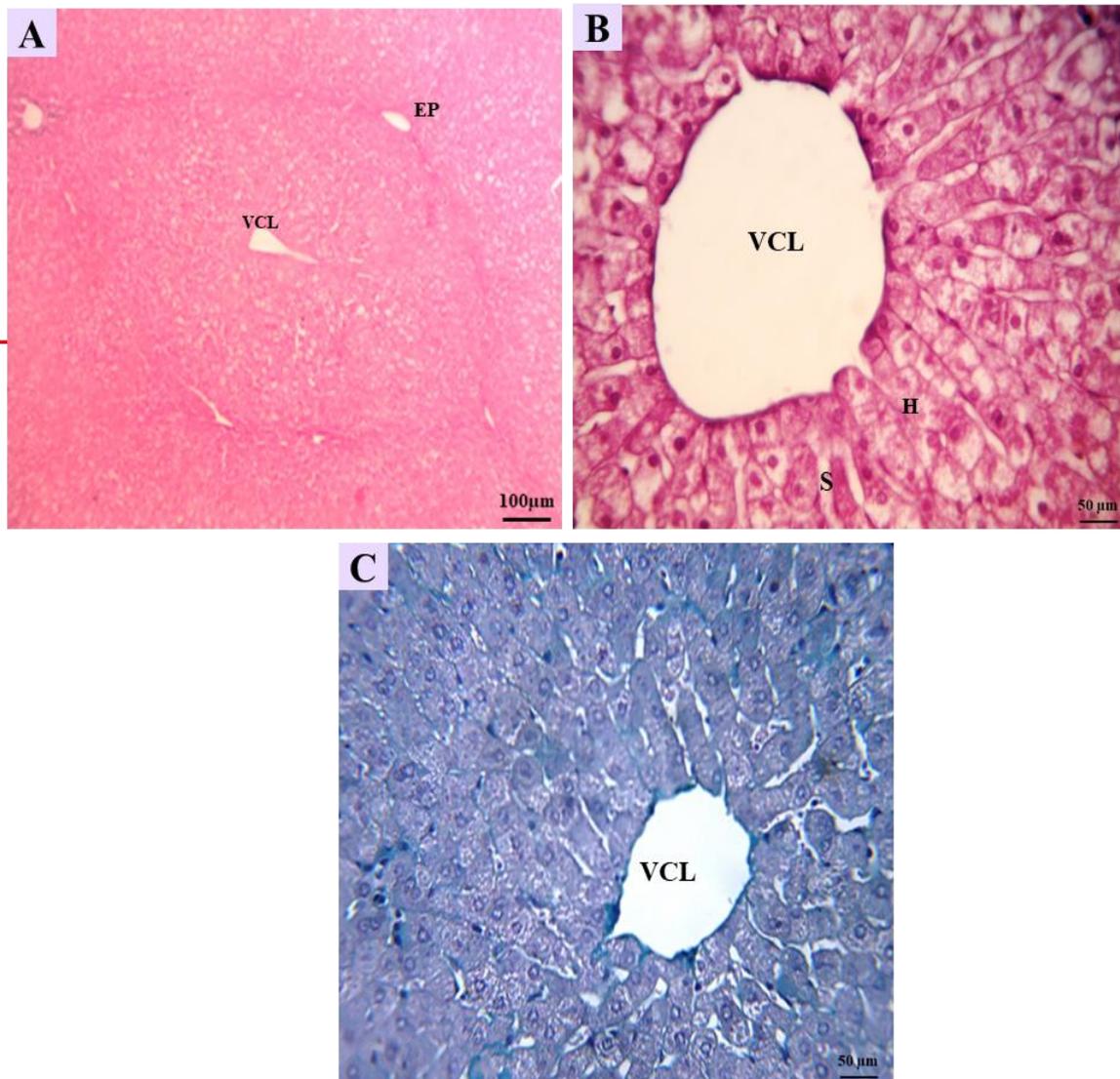
**Figure 27.** Variations de l'IAP au J14 et J 28 de l'expérimentation, chez les trois groupes de l'étude, \*  $p < 0,05$ .

## 2.5. Effet des traitements sur l'aspect histologique et la morphométrie du foie

### 2.5.1. Histologie du foie des lapins témoins

La figure 28 montre les coupes histologiques des foies des lapins témoins colorées par l'Hématoxyline éosine (H&E) et le trichrome de Masson. Le tissu hépatique du témoin présentait une architecture histologique normale de lobules avec une veine centro-lobulaire (VCL) normale, des hépatocytes normalement arrondis, un espace porte (EP) normale et des sinusoides.

La coloration par le trichrome de Masson montre le tissu conjonctif comme une fine couche de fibres de collagène dans la paroi de la VCL et les EP dans le groupe témoin (Figure 28C).



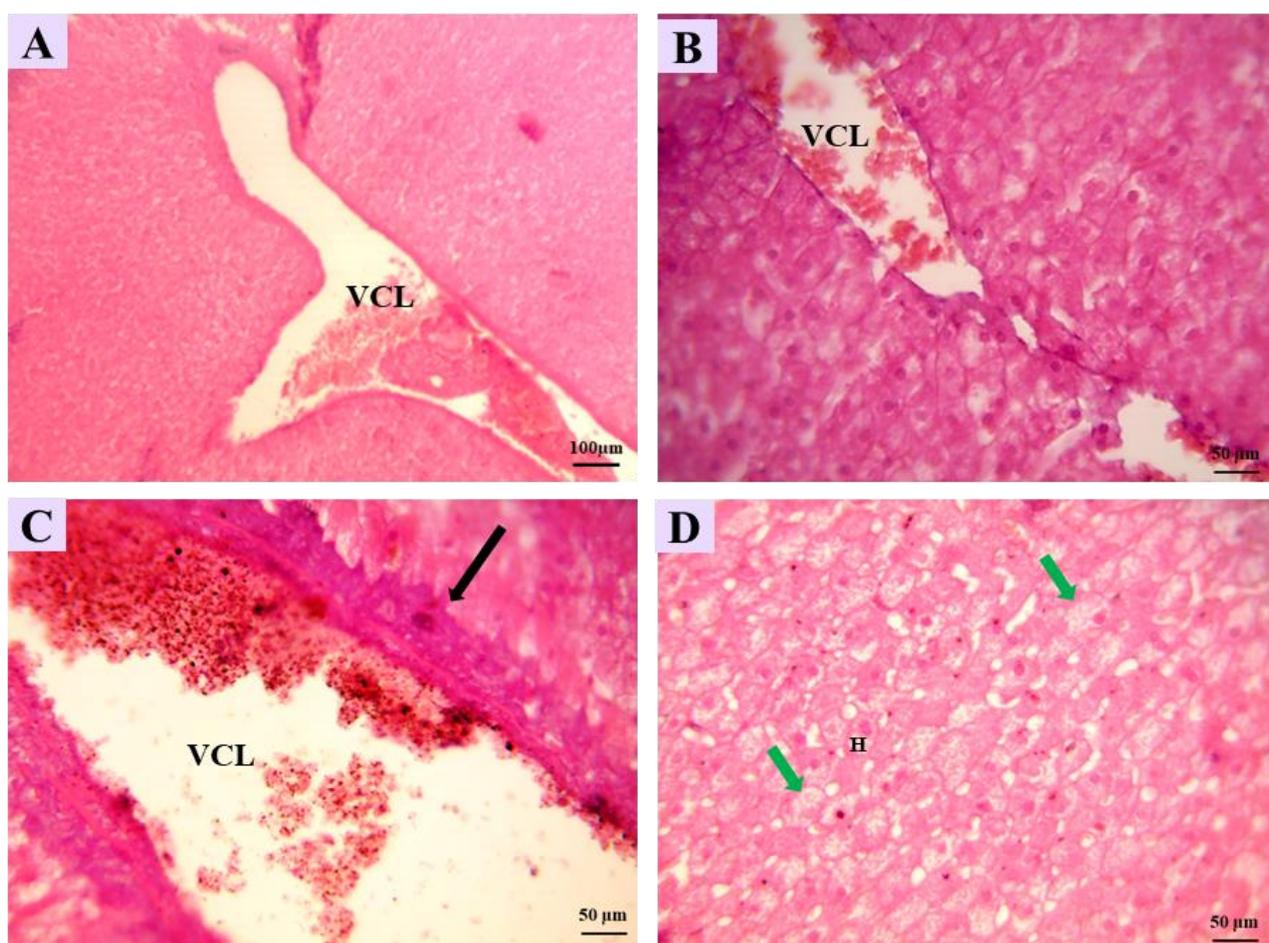
**Figure 28.** Aspect histologique du parenchyme hépatique chez le lapin témoin (A) : X 100, (B) X 400 coloration H & E, (C) : X400 coloration trichrome de Masson.

*EP* : espace porte *H* : Hépatocyte, *S* : Sinusoïde *VCL* : Veine Centro-lobulaire.

### 2.5.2. Histologie du foie des lapins traités par l'Ampligo 150 ZC

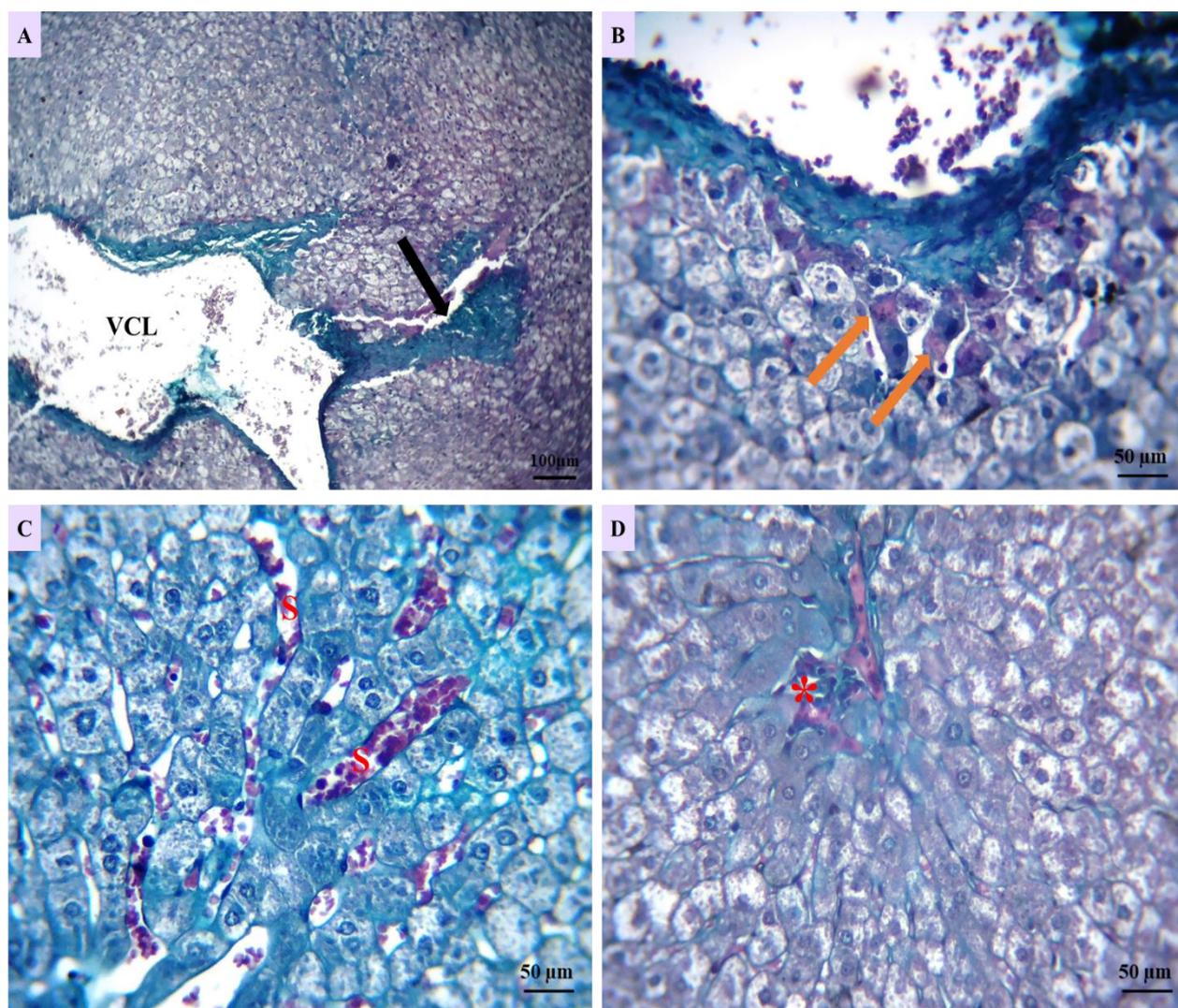
Le tissu hépatique des lapins exposés uniquement à l'insecticide AP ont révélé une architecture lobulaire désorganisée à savoir une dilatation et congestion de la VCL (figure 29A, B, D), une nécrose hépatocytaire ainsi qu'une vacuolisation cytoplasmique (figure 29D).

Nous observons également après une coloration par le trichrome de Masson, un épaissement et un dépôt de collagène sur la paroi de la VCL et l'espace porte (figure 30B, E, F) ainsi qu'une infiltration de cellules inflammatoires.



**Figure 29.** Aspect histologique du parenchyme hépatique chez le lapin traité par AP (A) : X 100, (B ; C ; D) :X 400 coloration H & E.

*H* : Hépatocyte, *VCL* : Veine Centro-lobulaire, **→** épaissement de la paroi de VCL, **→** vacuolisation hépatocytaire.



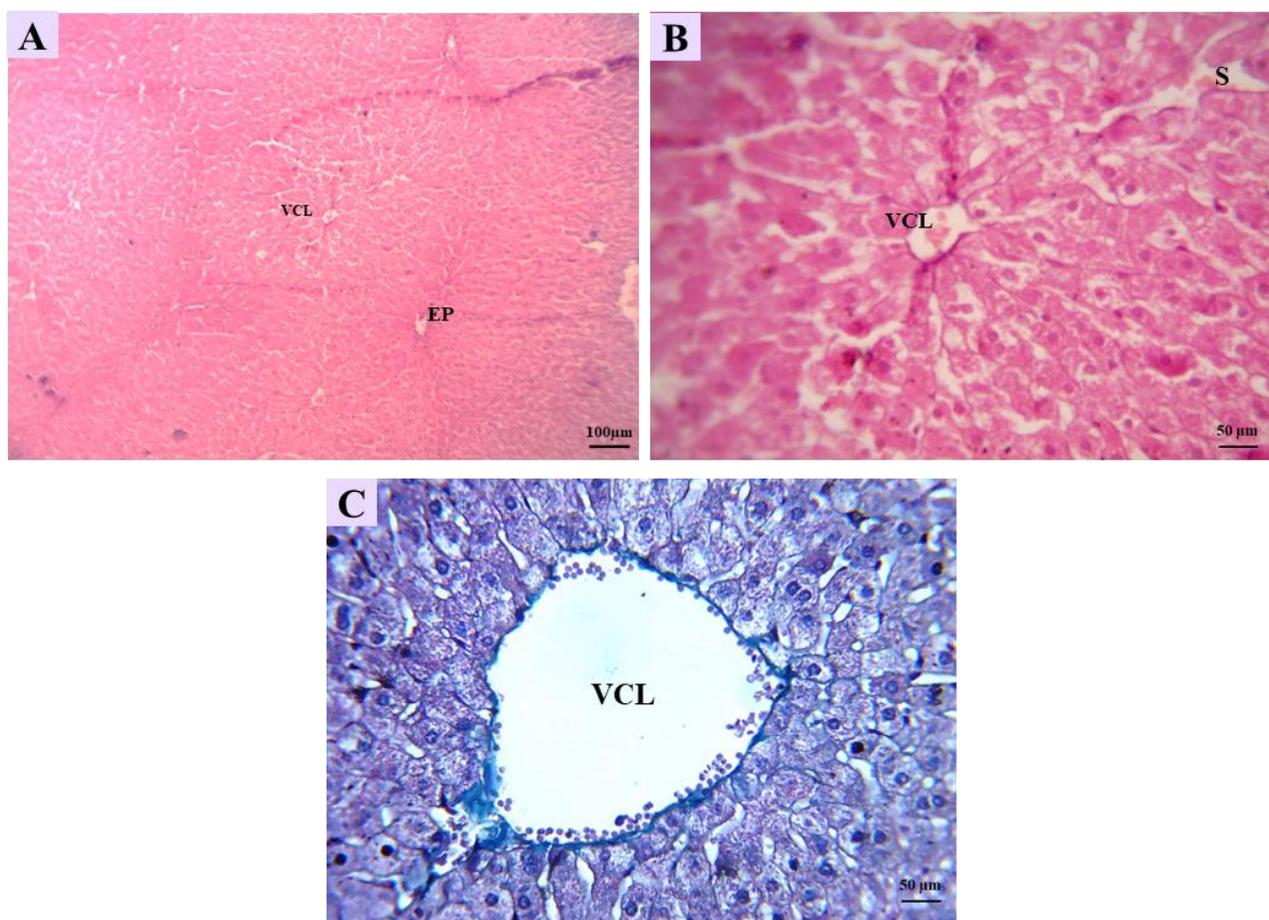
**Figure 30.** Aspect histologique du parenchyme hépatique chez le lapin traité par AP (A) : X 100, (B ; C ; D) :X 400, coloration trichrome de Masson.

*VCL* : veine centro-lobulaire, *S* : dilatation des sinusoides, **→** épaissement de la VCL,

**→** nécrose hépatocytaire, \* infiltrat de cellules inflammatoires.

### 2.5.3. Histologie du foie des lapins traités par l'Ampligo 150 ZC et supplémentés avec les vitamines ADEC

La figure 31 représente l'aspect histologique de parenchyme hépatique des lapins du troisième groupe (AP+ ADEC), où on peut clairement observer l'amélioration de la structure lobulaire notamment une veine centro-lobulaire (VCL) et des espaces portes (EP) moins dilatés avec une absence de la congestion vasculaire (CV), ainsi qu'une faible déposition des fibres de collagène au tour de la paroi de la VCL et EP.



**Figure 31.** Aspect histologique du parenchyme hépatique chez le lapin traité avec AP et supplémenté par les vitamines ADEC (A) : X 100, (B) : X 400 coloration H & E, (C) : X400 coloration trichrome de Masson.

*EP* : espace porte *H* : Hépatocyte, *S* : Sinusoïde, *VCL* : Veine Centro-lobulaire.

### 2.5.4 Résultats histo-morphométriques

Selon le tableau XIII, on remarque que le diamètre des noyaux a augmenté significativement à 56,59  $\mu\text{m}$  dans le groupe AP + ADEC ( $p < 0,05$ ). De plus, une augmentation du diamètre du cytoplasme a été remarquée dans le même groupe ( $p < 0,05$ ). Cependant, les deux paramètres précédents ont diminué de manière significative dans le groupe traité par l'insecticide AP.

En ce qui concerne le rapport nucléo-cytoplasmique (N/C), il était significativement plus élevé dans le groupe AP. Le diamètre de la VCL a subi une augmentation très significative chez les lapins traité par l'insecticide AP, en revanche, une augmentation non significative a été constaté dans le groupe AP + ADEC comparativement au lapins témoins. L'estimation de la distance entre la VCL et l'EP a permis de remarquer une diminution significative de cette distance chez le deuxième groupe AP, par contre une augmentation significative est estimée chez le groupe traité par l'insecticide AP et supplémenté avec les vitamines (AP+ADEC). Un fort épaissement de la membrane de la CV ( $p < 0,05$ ) a été remarqué dans le foie des lapins traités à l'AP comparativement aux groupes témoins et AP+ADEC.

**Tableau XIII.** Variations de différents paramètres morphométriques après traitement sur le foie des lapins de l'expérimentation.

	Témoïn	AP	AP+ADEC
<b>Noyau (N) Grx400 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	39,67 $\pm$ 0,81 <sup>a</sup>	37,64 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	<b>56,59 <math>\pm</math> 0,98 <sup>b</sup></b>
<b>Cytoplasme (C) Grx400 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	159,05 $\pm$ 4,86 <sup>a</sup>	<b>99,87 <math>\pm</math> 3,48 <sup>b</sup></b>	<b>221,47 <math>\pm</math> 7,87 <sup>c</sup></b>
<b>N/C Grx400 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	0,25 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	<b>0,39 <math>\pm</math> 0,01 <sup>b</sup></b>	<b>0,31 <math>\pm</math> 0,09 <sup>c</sup></b>
<b>Diamètre de VCL Grx100 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	165,82 $\pm$ 10,84 <sup>a</sup>	<b>1101,18 <math>\pm</math> 107,88 <sup>b</sup></b>	312,24 $\pm$ 9,82 <sup>a</sup>
<b>Épaisseur de la paroi VCL Grx400 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	24,48 $\pm$ 1,78 <sup>a</sup>	<b>296,20 <math>\pm</math> 16,18 <sup>b</sup></b>	25,31 $\pm$ 0,76 <sup>a</sup>
<b>Distance entre VCL et EP Grx100 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	834,819 $\pm$ 31,07 <sup>a</sup>	<b>494,82 <math>\pm</math> 33,57 <sup>b</sup></b>	<b>1063,56 <math>\pm</math> 34,69 <sup>c</sup></b>

a,b,c : moyennes dans les colonnes avec des indices sont significativement différents à  $p < 0,05$ .

---

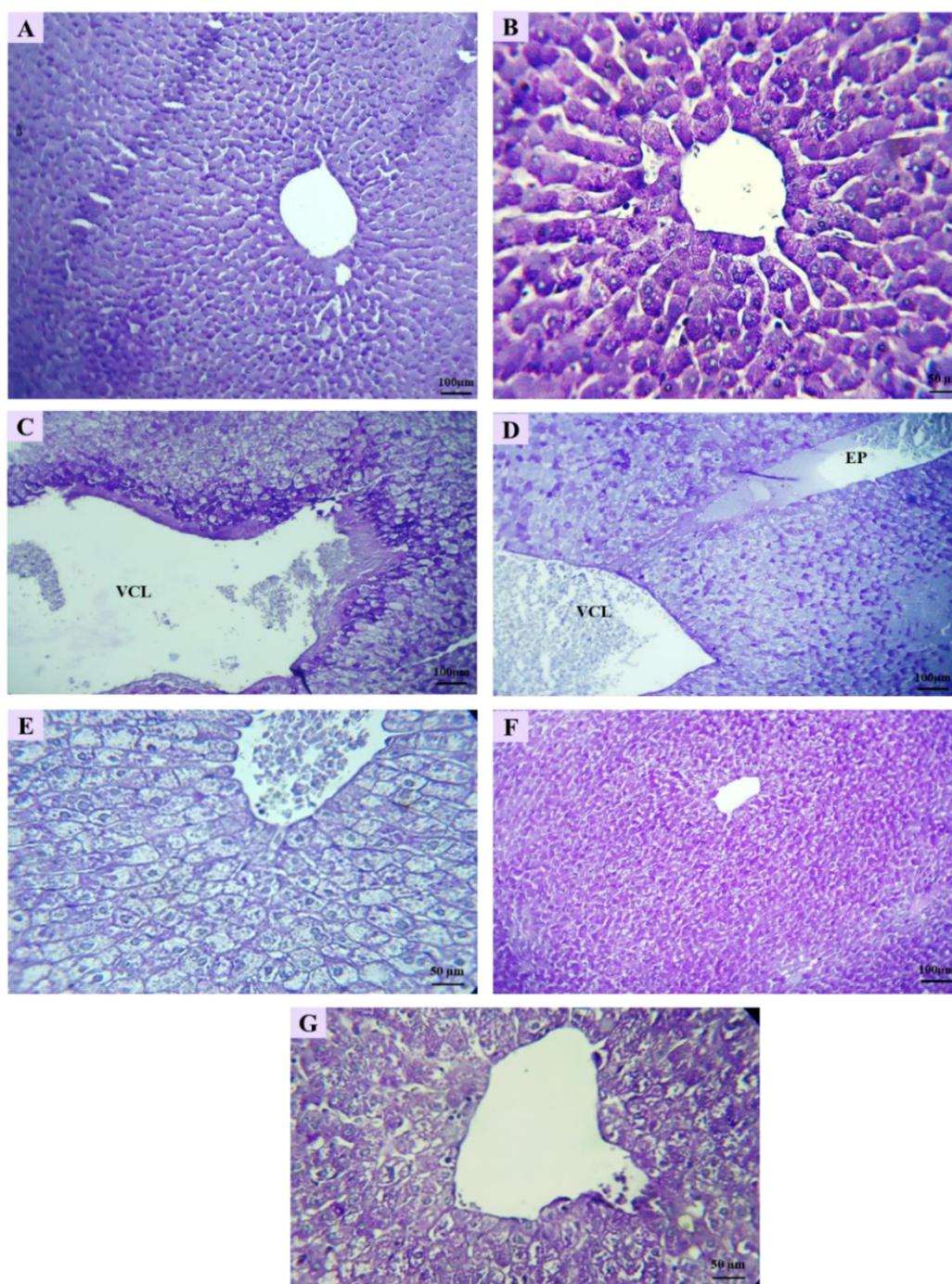
## 2.6. Résultats histochimiques

### 2.6.1. Aspect histochimique après coloration avec l'acide périodique de Schiff (PAS)

La coloration periodic acid Schiff (PAS) nous a permis d'étudier la présence de glycogène dans le cytoplasme des hépatocytes. Pour cela, l'examen des sections du foie des lapins témoins a montré un parenchyme hépatique normal avec une forte couleur rose violacée dans le cytoplasme des hépatocytes représentant le glycogène stocké à l'intérieur de ces derniers (figure 32A ; B).

Les observations microscopiques chez les rats exposés au Ampligo 150 ZC (AP) ont montré une apparence négative de la coloration PAS dans les hépatocytes périverseaux et périportales, déterminée par une dégranulation cellulaire et la déplétion des pigments roses violacés témoignant d'une pauvreté apparente du foie en glycogène (figure 32 C ; D ; E).

Par contre, chez le groupe traité par AP et supplémenté par les vitamines (AP+ADEC), le glycogène se répartit sous forme d'agrégats de façon plus abondante et diffuse dans tout le cytoplasme par rapport au groupe traité uniquement avec l'insecticide, mais qui reste encore moins abondant comparativement au groupe témoin (figure 32 F ; G).



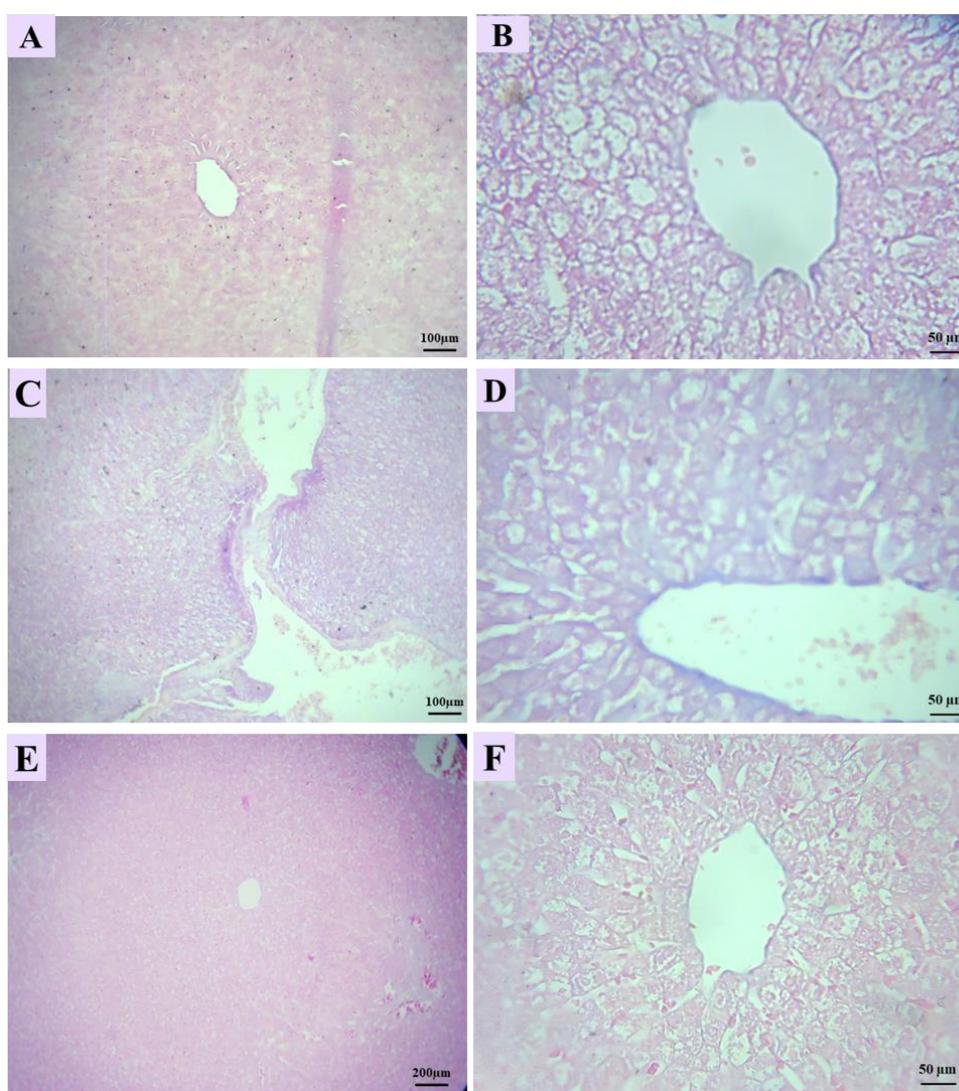
**Figure 32.** Aspect tissulaire et répartition en glycogène dans le foie des lapins après coloration à l'acide périodique de Schiff (PAS). Le glycogène est réparti d'une manière homogène chez le lapin témoin (A) : x100, (B) : x400. Une déplétion en glycogène hépatocytaire chez le lapin traité par AP (C ; D) : x100, (E) : x400. Une répartition plus dense et homogène chez le lapin traité par AP et supplémenté par ADEC (F) x100, (G) : x400.

*EP* : espace porte, *VCL* : veine centro-lobulaire.

### 2.6.2. Aspect histochimique après coloration avec le bleu alcian

La coloration avec le bleu alcian est utilisée pour la mise en évidence des mucopolysaccharides acides et des mucines acides en bleu, et pour la détection d'éventuelles tumeurs dans les organes cibles.

L'interprétation des coupes histochimiques colorées par le bleu alcian était négative chez la totalité des lapins utilisés pour cette étude quel que soit le type de traitement. Cela, indique l'absence de mucine dans le tissu hépatique chez tous les groupes de l'étude (figure 33).



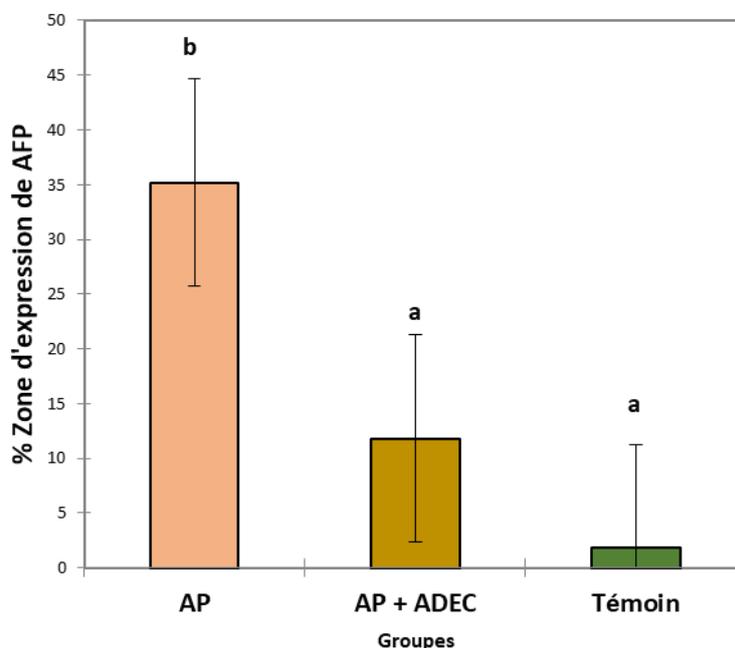
**Figure 33.** Aspect histologique du parenchyme hépatique des lapins témoins et traités, coloration histochimique bleu alcian. Témoin : (A, B) ; traité AP : (C, D) ; supplémenté AP+ADEC (E, F). Gr x100 et x400.

## 2.7. Résultats immunohistochimiques

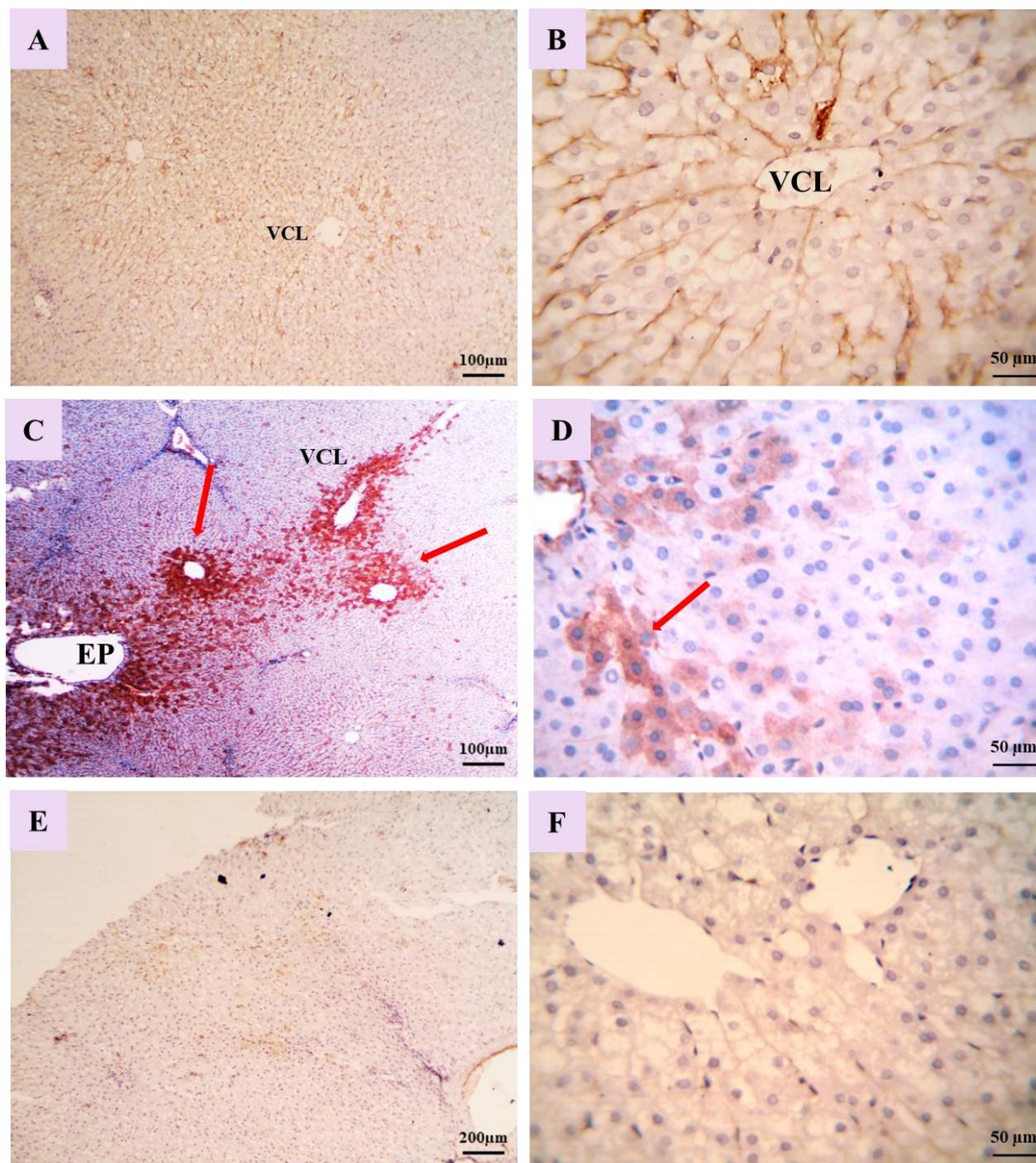
### 2.7.1. Expression hépatique de Alpha-fœtoprotéine (AFP)

La figure 35 illustre l'expression tissulaire du marqueur protéique AFP dans le foie des lapins expérimentaux. Chez le groupe témoin, un faible marquage immunohistochimique en AFP a été observé. Cependant, le parenchyme hépatique des lapins du groupe traité avec AP a montré un immunomarquage cytoplasmique positive qui est plus accentué au niveau de la VCL et l'EP. La Co-administration de l'AP et les vitamines ADEC nous a permis d'observer un faible immunomarquage de AFP chez les lapins de ce groupe.

L'estimation du pourcentage d'expression de AFP tissulaire a révélé une différence significative entre le groupe AP et les groupes témoin et AP+ADEC. En effet, le groupe témoin présentait une expression de base estimé à 1,8%, cependant le groupe traité par l'insecticide AP a connu une augmentation significative en % d'expression de AFP qui est estimé à 35,2%. Le pourcentage de cellules immuno-marquées a diminué de manière significative (11,8%) chez le groupe AP+ ADEC (figure 34).



**Figure 34.** Pourcentage de zone d'expression tissulaire de l'alpha foetoprotéine (AFP) chez les trois groupes de l'étude.



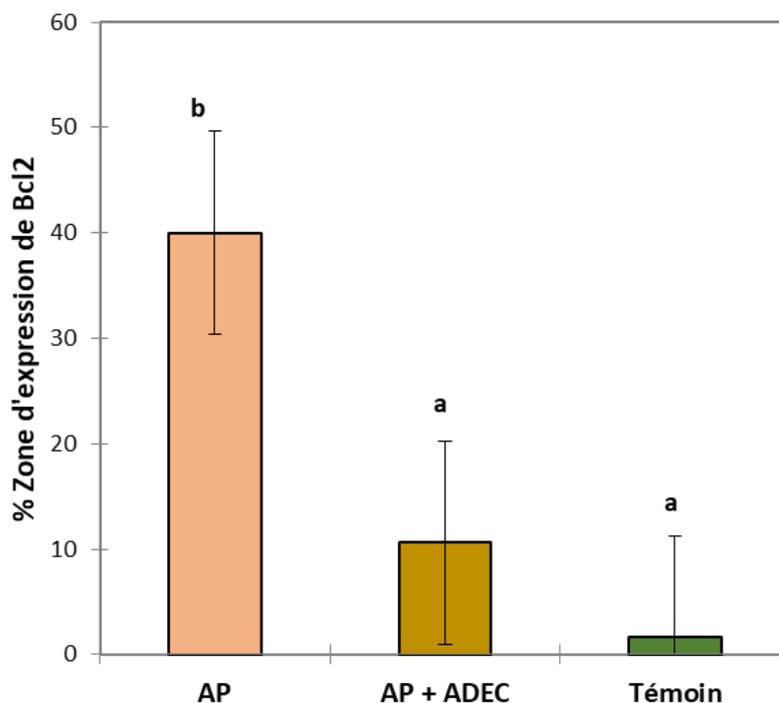
**Figure 35.** Expression immunohistochimique de l'alpha foetoprotéine (AFP) au niveau du tissu hépatique chez les trois groupes de l'étude. (A ; B) : témoin, (C ; D) : traité AP, (E ; F) : supplémenté AP+ADEC. Gr x 100 et x400.

*EP* : espace porte, *VCL* : veine centro-lobulaire, **→** immunomarquage positif de AFP.

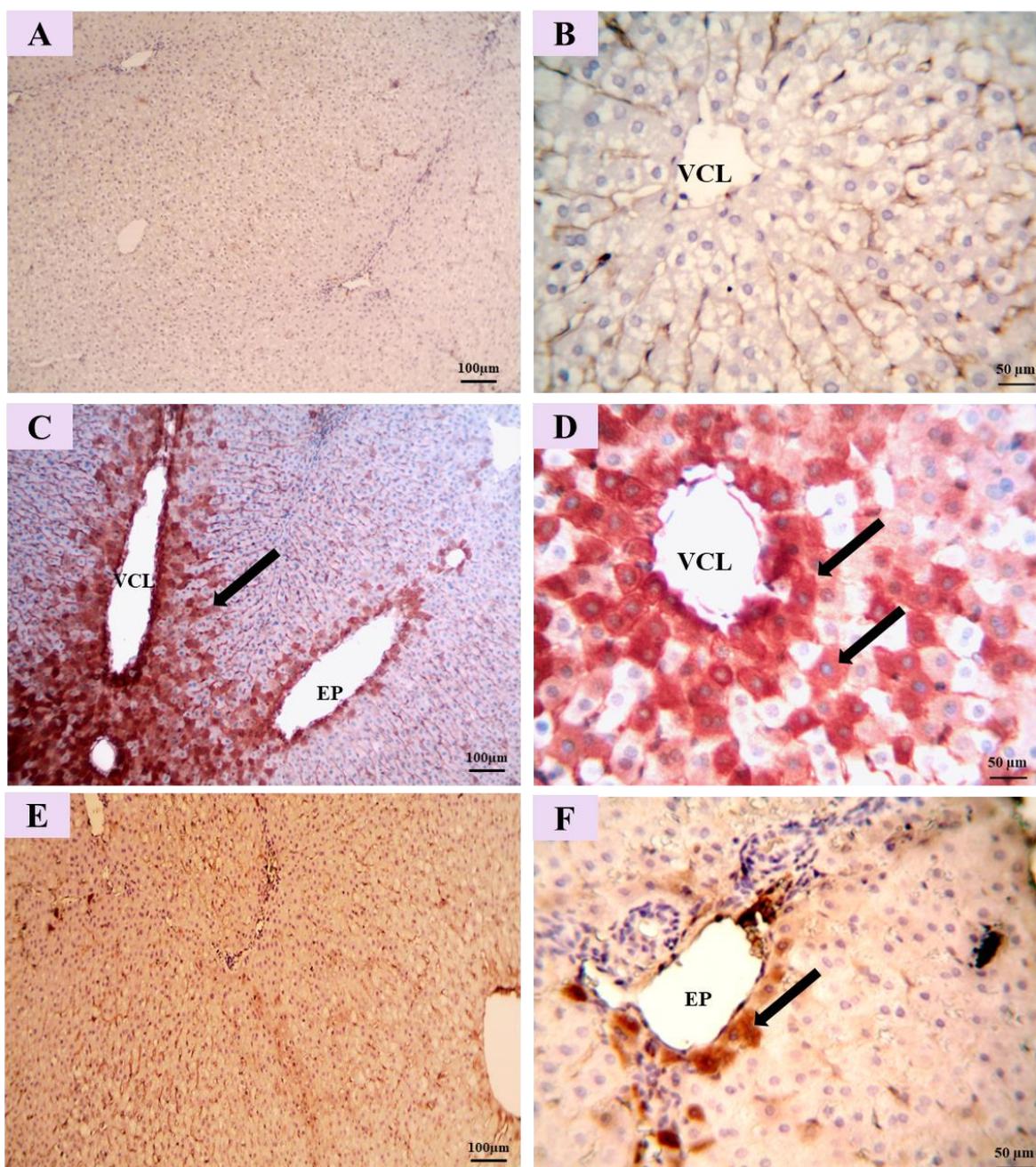
### 2.7.2. Expression hépatique de Bcl2

L'observation microscopique après l'évaluation immunohistochimique du marqueur apoptotique Bcl2 au niveau du tissu hépatique, montre une expression très faible à négative de Bcl2 chez lapins témoins. Ceci, a été confirmé après une quantification sur des zones d'expression chez le même groupe et a été estimé à 1,6%. Cependant, une expression abondante au niveau cytoplasmique de Bcl2 (40 %) était observée dans le groupe expérimental AP (figure 36).

Par ailleurs, le groupe AP+ADEC a montré une faible expression cytoplasmique en Bcl2 qui reste non significative comparativement au groupe témoin (10,6%).



**Figure 36.** Pourcentage de zone d'expression tissulaire de Bcl2 chez les trois groupes de l'étude.



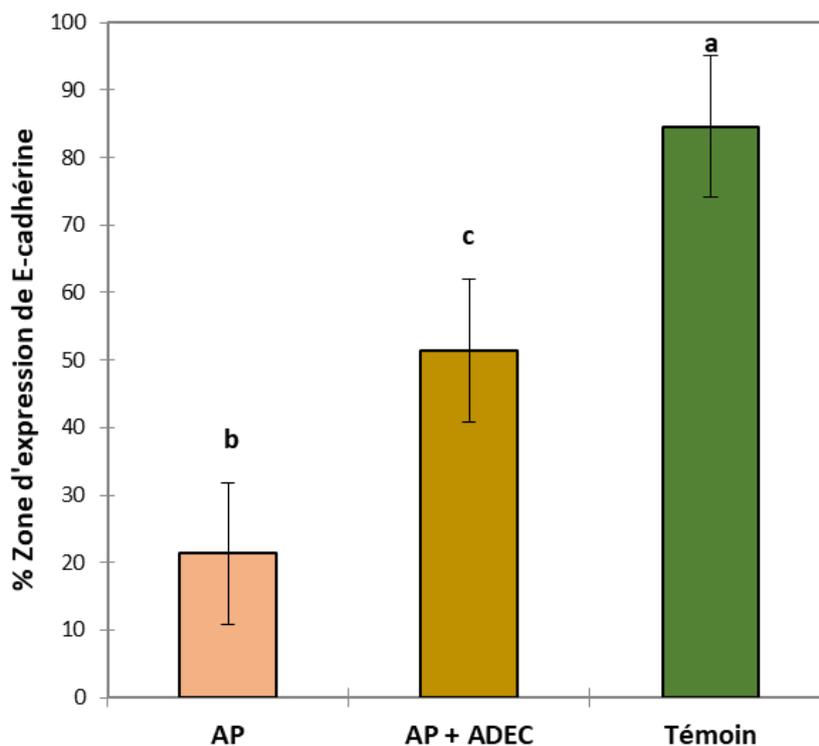
**Figure 37.** Expression immunohistochimique de Bcl2 au niveau du tissu hépatique chez les trois groupes de l'étude. (A ; B) : témoin, (C ; D) : traité AP, (E ; F) : supplémenté AP+ADEC. Gr x 100 et x400.

*EP* : espace porte, *VCL* : veine centro-lobulaire, **➔** immunomarquage positif de Bcl2.

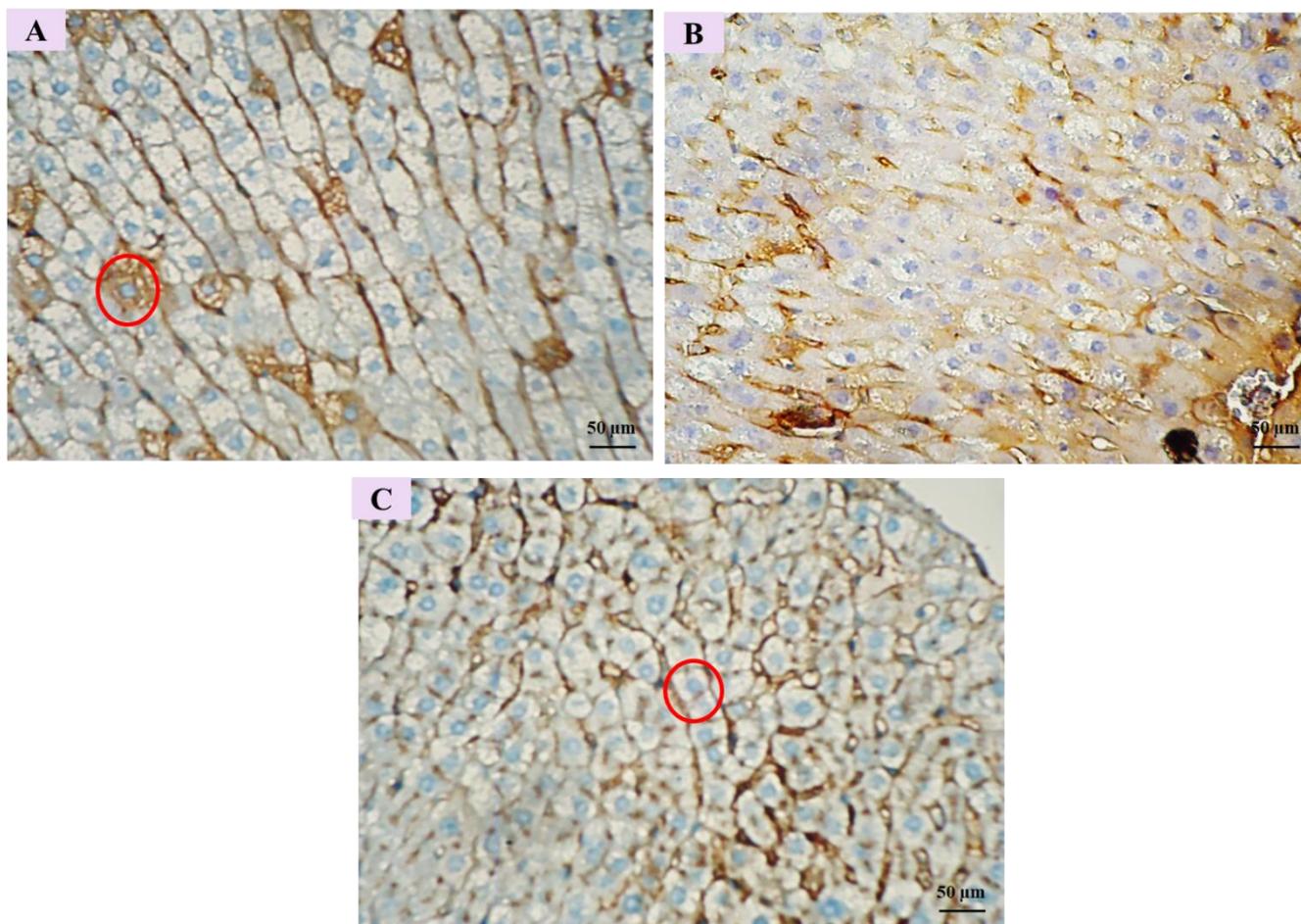
### 2.7.3. Expression hépatique de E-cadhérine

L'immunomarquage du tissu hépatique par l'E-cadhérine a montré une expression positive au niveau membranaire des hépatocytes du groupe témoin avec un % d'expression estimé à 84,6 %. En revanche, une diminution significative de l'expression membranaire de la protéine E-cadhérine est observée chez le groupe traité avec l'insecticide AP avec % d'expression estimé à 21,4% (figures 38 ; 39).

Un immunomarquage plus intense est remarqué au niveau membranaire des hépatocytes du groupe traité par AP et supplémenté par les vitamines ADEC (AP+ADEC) avec un % d'expression qui est estimé à 51% (figure 38).



**Figure 38.** Pourcentage de zone d'expression membranaire de E-cadhérine chez les trois groupes de l'étude.

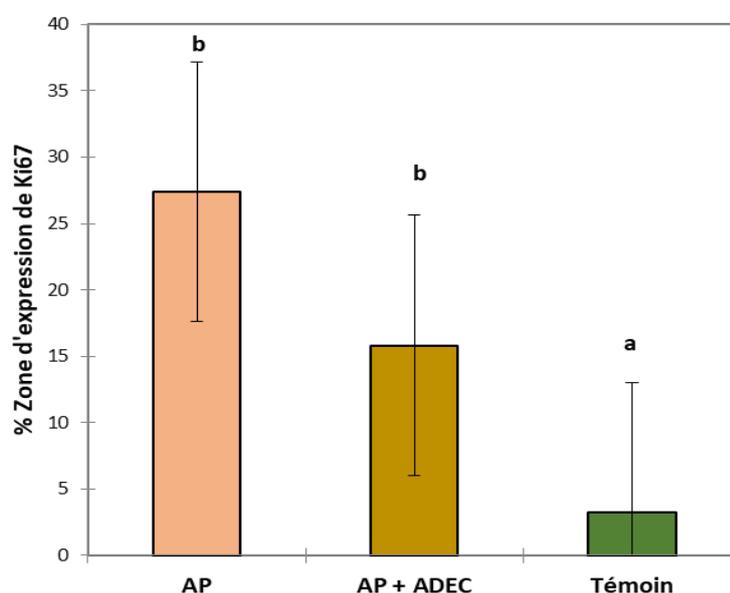


**Figure 39.** Expression immunohistochimique de E-cadhérine au niveau du tissu hépatique chez les trois groupes de l'étude. (A) : témoin, (B) : AP, (C) : AP+ADEC. Gr x400.

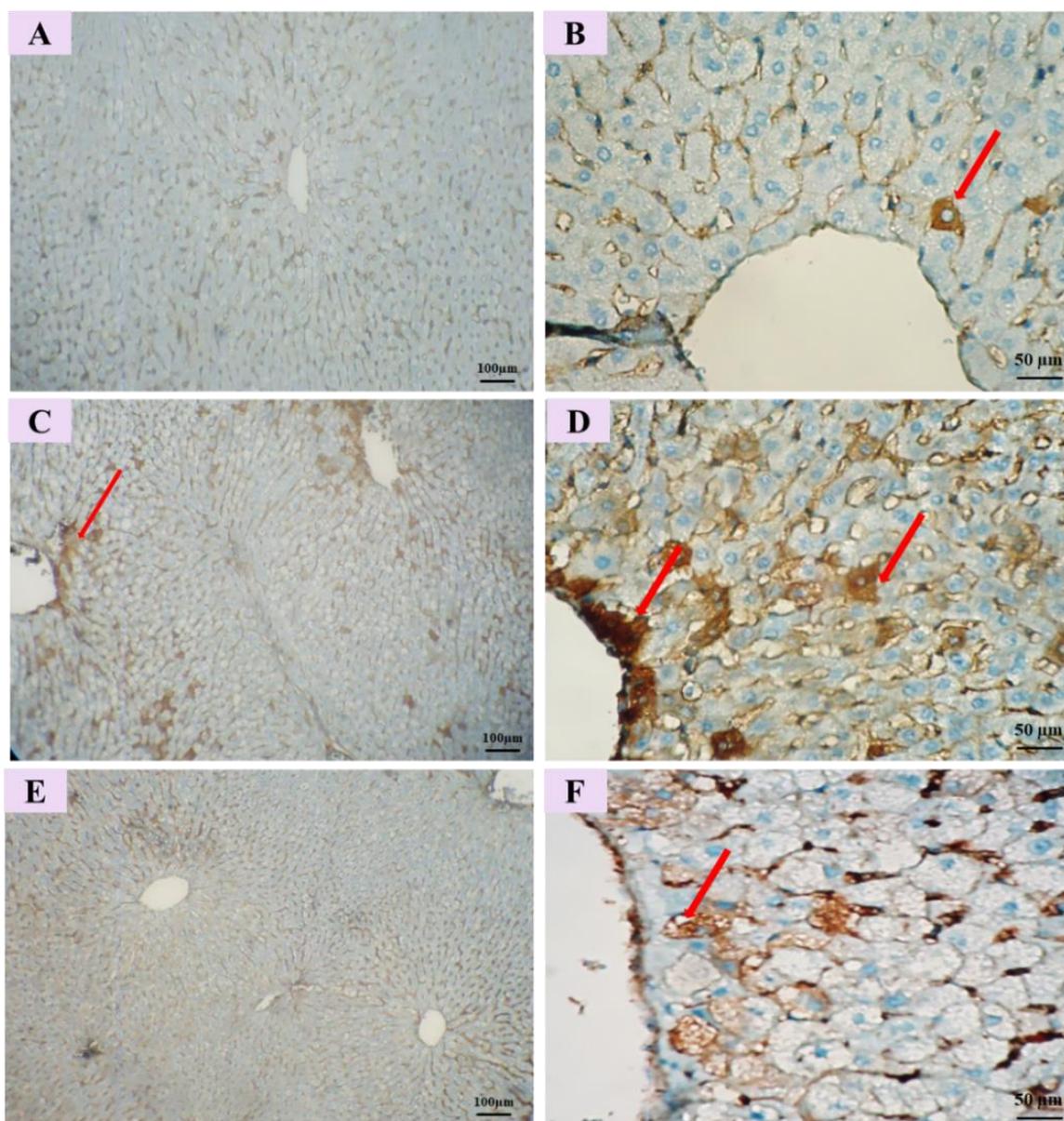
○ Exemple d'immunomarquage positif par l'E-cadhérine.

### 2.7.4. Expression hépatique de Ki 67

Chez les lapins témoins nous avons observé une très faible activité proliférative de la protéine Ki67 au niveau hépatocytaire avec un % de zone d'expression estimé à 3,2%. Par ailleurs, une expression positive était remarquée au niveau cytoplasmique des hépatocytes du groupe traité avec l'insecticide AP, avec une différence significative en % de zone d'expression (27,4%). La supplémentation avec les vitamines ADEC dans le troisième groupe a permis de diminuer l'activité proliférative de Ki67 avec un % de zone d'expression estimé à 15,8% (figure 40).



**Figure 40.** Pourcentage de zone d'expression tissulaire de Ki67 chez les trois groupes de l'étude.

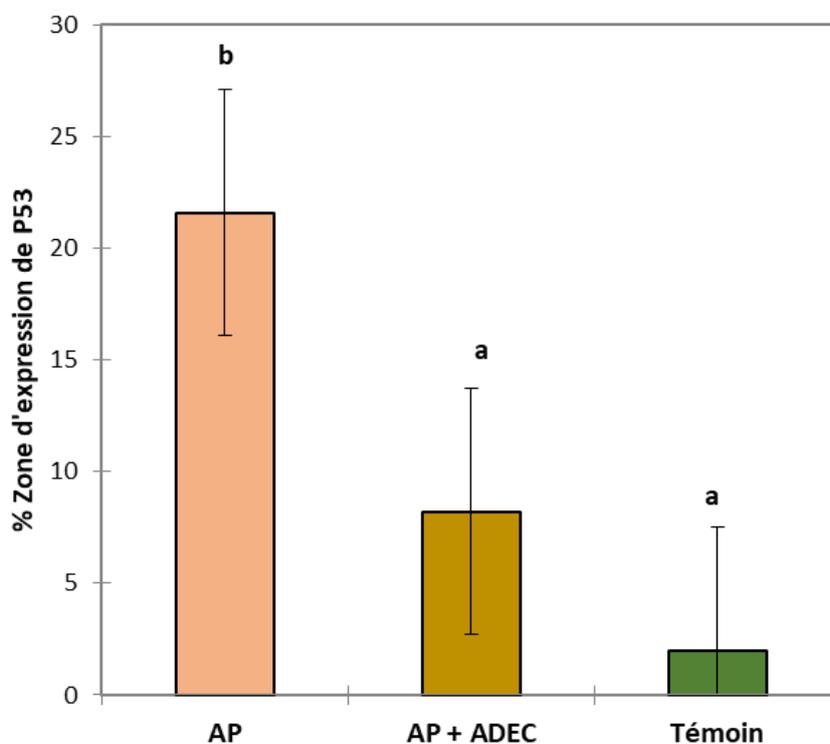


**Figure 41.** Expression immunohistochimique de Ki67 au niveau du tissu hépatique chez les trois groupes de l'étude. (A ; B) : témoin, (C ; D) : AP, (E ; F) : AP+ADEC. Gr x 100 et x400.

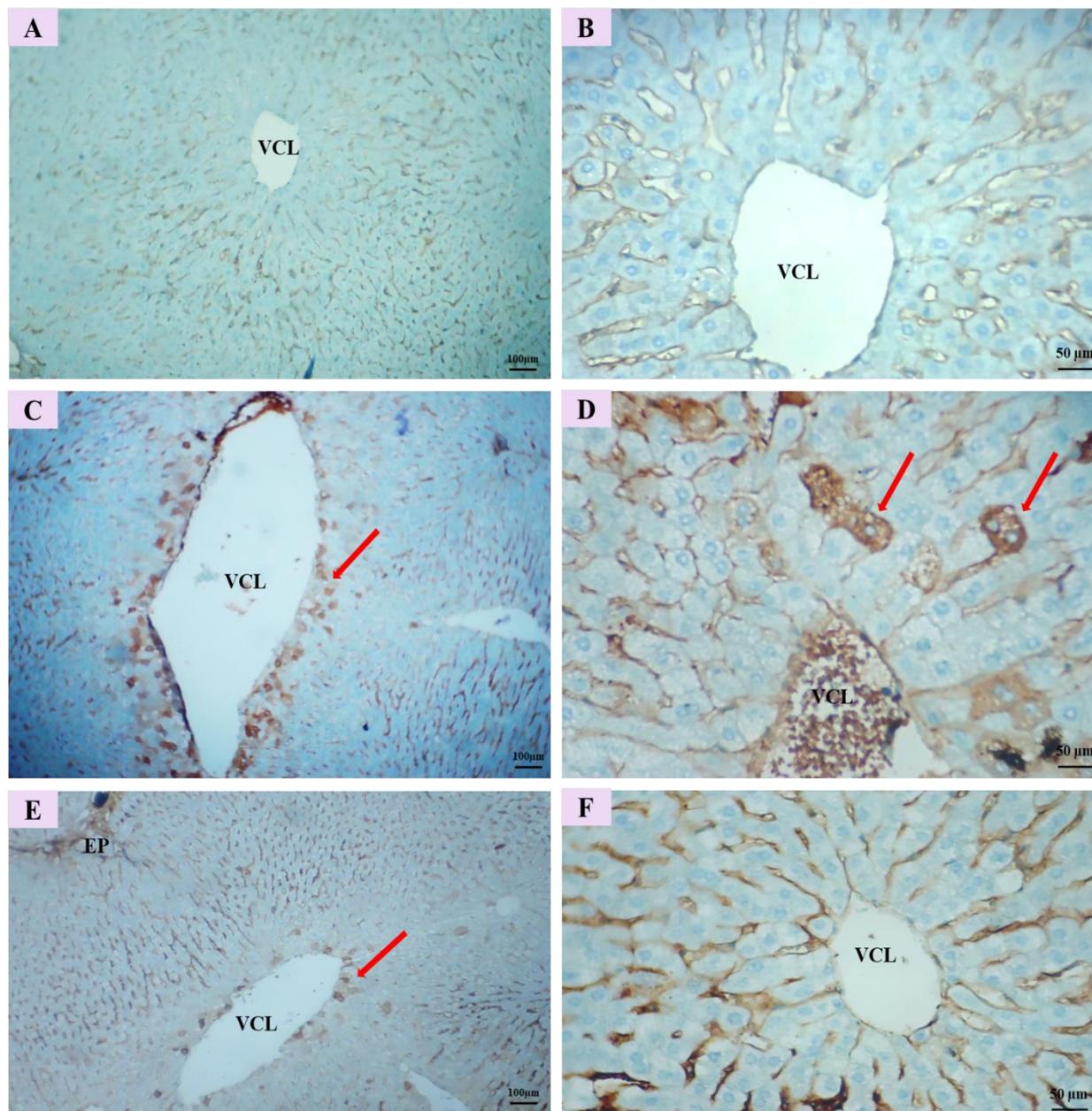
→ Immunomarquage de Ki67 positif

### 2.7.5. Expression hépatique de P53

L'évaluation immunohistochimique du marqueur apoptotique P53 au niveau du tissu hépatique, montre une expression très faible voir négative de ce marqueur chez lapins témoins avec un % de zone d'expression estimé à 2%. Cependant, une expression plus accentuée de P53 au niveau cytoplasmique a été observée dans le groupe traité avec l'insecticide AP (21,6%). D'autre part une diminution significative du % de zone d'expression est estimée chez le groupe AP+ ADEC (8,2%), ce qui reflète un faible signal protéique de P53 au niveau tissulaire de ce groupe par rapport au groupe traité uniquement avec AP (figures 42 ; 43).



**Figure 42.** Pourcentage de zone d'expression tissulaire de P53 chez les trois groupes de l'étude.



**Figure 43.** Expression immunohistochimique de P53 au niveau du tissu hépatique chez les trois groupes de l'étude. (A ; B) : témoin, (C ; D) : AP, (E ; F) : AP+ADEC. Gr x 100 et x400.

*EP* : espace porte, *VCL* : veine centro-lobulaire, **→** immunomarquage positif de P53.

---

# Discussion Générale

---

L'utilisation des pesticides doit tenir compte de l'équilibre entre les avantages et les risques possibles d'atteinte à la santé humaine ou de dégradation de la qualité de l'environnement. Bien que les insecticides aient joué un rôle important dans le contrôle des vecteurs qui représente une menace majeure pour la qualité de vie humaine. Ils ne sont pas toujours sélectifs pour les espèces cibles, et des effets néfastes sur la santé peuvent se produire chez les espèces non cibles, y compris l'homme. En effet, les préoccupations vont de l'empoisonnement humain aiguë à une association possible entre l'exposition aux pesticides et un risque accru de cancer, de reprotoxicité et de développement embryonnaire (Costa, 2008). Ce qui nous emmène à chercher des solutions pour prévenir la toxicité des insecticides et leurs complications. Les vitamines se positionnent comme des alliées prometteuses dans la lutte contre les effets néfastes de ces produits chimiques sur la santé. Cependant, les mécanismes par lesquels ces vitamines exercent leurs effets bénéfiques demeurent partiellement compris.

La sélection de l'insecticide utilisé dans cette étude a été un élément crucial de notre recherche. Tout d'abord, nous avons opté pour un insecticide Ampligo 150 ZC largement utilisé dans l'agriculture notamment dans notre pays, ce qui reflète les conditions réelles d'exposition des populations et permet de mieux appréhender les implications de son utilisation sur la santé humaine et l'environnement. Cela nous a permis d'obtenir des résultats plus applicables et de mieux évaluer les risques potentiels associés à l'utilisation de cet insecticide. Un aspect important de notre choix de l'insecticide Ampligo 150ZC pour cette étude était lié à sa composition en tant que mélange de deux substances actives (LCT et CAP). Il est intéressant de noter que ces deux substances actives n'avaient pas fait l'objet d'études de toxicité en tant que combinaison. Cette lacune dans les connaissances existantes soulignait l'importance de notre recherche pour évaluer les effets potentiels de ce mélange sur la santé humaine.

Le choix d'utiliser le lapin comme modèle animal dans notre étude présente des justifications solides en termes de similarité avec les êtres humains, de sensibilité aux substances chimiques, de comparabilité avec d'autres études et de conformité aux réglementations éthiques et également une originalité du travail puisque l'utilisation des rats est plus répandue dans les études toxicologiques par voie orale. Ce choix nous a permis d'obtenir des données précieuses sur les effets des insecticides sur la santé, en particulier sur le foie, contribuant ainsi à une meilleure compréhension de la toxicité de ces substances et à l'élaboration de mesures de prévention et de gestion plus efficaces.

## I. Effet hépatotoxique de l'insecticide Ampligo 150 ZC

Notre travail consistait en premier lieu à évaluer l'effet toxique de l'Ampligo 150 ZC sur le foie du lapin male. Dans cette perspective, nous avons opté pour deux expérimentations de toxicité subaiguë avec des doses différentes dont la deuxième est cinq fois plus forte que la première (20mg/kg de pc, 4 mg/kg de pc respectivement). Cette variation de doses à été motivée par la volonté d'évaluer la relation dose-effet de l'insecticide de l'étude et de déterminer l'Endpoint de ce produit. Le lien entre la dose du produit et la gravité des effets observés est fondamental dans la toxicologie. En effet, Une dose plus forte entraîne une concentration plus élevée du toxique autour des biomolécules et, par conséquent, des symptômes plus graves, car davantage de biomolécules réagissent avec le toxique et à une vitesse plus élevée (**Stenersen, 2004**). À cet égard, nous avons observé les effets sur la variation du poids corporel des lapins, la consommation alimentaire, les paramètres biochimiques de la fonction hépatique et l'aspect histopathologique et immunohistochimique.

### 1.Effet sur le poids corporel et la consommation alimentaire de lapin

Le poids corporel et la consommation alimentaire sont des paramètres importants dans l'évaluation de la toxicité des pesticides. Les changements de poids corporel peuvent indiquer une toxicité systémique, des altérations métaboliques ou des perturbations de la croissance et du développement. Le suivi de la consommation alimentaire nous permet d'évaluer l'impact des insecticides sur l'appétit, le comportement alimentaire et l'apport en nutriments (**Mossa et al., 2013**). Ces paramètres jouent un rôle crucial dans la détermination de la relation dose-réponse, l'identification des effets néfastes et l'établissement de niveaux d'exposition sûrs pour les humains et les animaux. Nos résultats indiquent une diminution significative du poids corporel, du pourcentage de prise pondérale et à la consommation de nourriture chez les lapins traités avec l'insecticide AP durant les deux expérimentations. Par conséquence, le traitement avec AP a induit une augmentation significative de l'indice de conversion alimentaire (ICA). Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par des études antérieures qui évaluent la toxicité du LCT et du CAP séparément (**Fetoui et al., 2009; Yousef, 2010; Ben Abdallah et al., 2013; Al Malahi et al., 2022**). Ce mélange de substances actives a provoqué un effet similaire, donc on peut dire que ces deux matières ont un effet synergique entre elles.

L'ICA est une mesure utilisée en élevage animal pour évaluer l'efficacité avec laquelle les animaux convertissent leur alimentation en poids corporel. Un ICA plus faible indique une meilleure conversion alimentaire, c'est-à-dire que les animaux utilisent l'alimentation de manière plus efficace pour produire de la croissance ou de la production. Dans notre cas, sa diminution pourrait être due à l'état de stress induit par l'exposition à l'insecticide, qui entraîne une mauvaise conversion de l'apport alimentaire en poids vif.

Malgré la différence de doses dans les deux expérimentations, les résultats de variation du poids corporel et consommation alimentaire étaient similaires. Ceci est expliqué à ce niveau par la différence d'âge et de poids initial des lapins utilisés pour les deux études.

## 2. Effet sur le poids absolu et relatif du foie

Dans le cadre des expérimentations toxicologiques la comparaison des poids des organes entre les groupes d'animaux traités et non traités a longtemps été une méthode utilisée pour évaluer les effets toxiques de la substance testée. De même, l'évaluation du poids de foie est la plus répandue et a été jugée utile par 81% des répondants de l'industrie pharmaceutique et 100% des répondants dans d'autres secteurs (Michael *et al.*, 2007). Comme décrit précédemment dans le premier chapitre le foie est un organe essentiel dont les principaux rôles sont la dégradation des substances xénobiotiques et le soutien du système immunitaire (Bürgisser *et al.*, 2021). Par conséquent, le foie peut être utilisé comme indicateur de la toxicité des pesticides (Magdy *et al.*, 2016). Nous avons estimé une diminution significative du poids absolu et relatif des foies de lapins traités uniquement avec l'AP dans les deux expérimentations. Ceci a été déjà prouvé en utilisant LCT et CAP séparément sur les lapins et les rats expérimentaux (Fetoui *et al.*, 2009; Boumezrag *et al.*, 2021). Par contre d'autres études ont constaté une augmentation de la masse hépatique après le traitement avec une des substances actives (Al Malahi *et al.*, 2022; Omar *et al.*, 2022). Cette augmentation a été expliquée par la hausse de la circulation sanguine suite à la demande accrue de détoxification ainsi qu'une prolifération du cytochrome P 450 afin de maintenir la capacité fonctionnelle normale du foie (Ambali *et al.*, 2007). Dans notre étude, la diminution du poids hépatique peut être expliquée par la diminution de poids corporel induite par la perte d'appétit ainsi qu'une mort cellulaire et tissulaire au niveau microscopique.

### 3. Effet sur les paramètres biochimiques de la fonction hépatique

L'insecticide AP qui a fait l'objet de notre étude, entraîne une hausse significative d'ALAT, de PAL, de CT, de TG et une diminution significative de HDLc dans la deuxième expérimentation. Cependant, une augmentation significative en glucose et une diminution des taux sériques de bilirubine totale a été remarqué dans la première expérimentation. Cette différence de résultats entre les deux expérimentations confirme l'effet dose-dépendant du produit, indiquant qu'une administration d'une dose plus forte de l'insecticide provoque plus de perturbations. À ce niveau on peut dire que l'AP induit une hépatotoxicité puisque les niveaux sériques d'ALAT et de PAL ont augmenté de manière significative. Ces résultats sont en accord avec des études précédentes affirmant que le LCT et le CAP induisent une augmentation des niveaux sériques d'AST et de PAL chez les rats et les lapins (**Basir et al., 2011; Kumar et al., 2013; Abdel-Mobdy et al., 2017; Abdul-Hamid et al., 2020; Omar et al., 2022; Yang et al., 2023**). En effet, l'ALAT est considérée comme un indicateur plus précise et plus sensible des lésions hépatocellulaires que l'ASAT. En outre, la PAL et la bilirubine totale sont également suggérées pour évaluer les lésions hépatobiliaires (**Ramaiah, 2007**). L'augmentation significative de l'activité des transaminases hépatiques et de l'enzyme PAL suggère la présence de lésions au niveau tissulaire. En effet, ces enzymes sont libérées dans la circulation sanguine en cas de dommages aux hépatocytes (**Gulati et al., 2018**). De plus, ces taux sériques élevés hépatiques dans le sérum reflètent une perméabilité accrue de la membrane hépatocellulaire, résultant une possible nécrose hépatique (**Lozano-Paniagua et al., 2021**). Cette nécrose pourrait être causée par une production accrue d'ERO induite par l'administration répétée de la substance toxique (**Contreras-Zentella et Hernández-Muñoz, 2016**).

Le traitement avec l'insecticide AP a également provoqué une élévation des taux des TG et CT associée à une diminution du taux sérique de HDLc. Ces résultats sont en partie en accord avec ceux obtenus par **Moustafa et Hussein. (2016)** qui ont observé que la LCT augmente les taux sériques de TC et TG et diminue les niveaux sériques de HDLc chez les rats albinos mâles ; et ceux obtenus par **Boumezrag et al. (2021)** qui ont remarqué une augmentation des niveaux sériques de TC chez les lapins. La hausse du taux de CT dans le sang peut résulter de l'obstruction des voies biliaires hépatiques, ce qui peut entraîner une diminution ou un arrêt de la sécrétion biliaire vers le duodénum. Cette augmentation du cholestérol sérique peut également être un indicateur de dommage hépatique potentiels (**Meligi et Hassan, 2017**). Ce qui explique la diminution en bilirubine totale dans la première expérimentation.

Le HDLc est principalement produit par le foie et les cellules intestinales, et il joue un rôle crucial dans l'élimination du cholestérol des tissus en le transportant vers le foie, où il est éliminé sous formes d'acides biliaires (**Shakoori et al., 1988**). Des travaux ont démontré que des taux élevés de HDLc dans le sang sont associés à une réduction du risque de maladies cardiovasculaires (**Meligi et Hassan, 2017**). En revanche, des niveaux réduits de HDLc sont liés à une augmentation de l'incidence de la maladie (**Liu et al., 2020**).

Le taux de glucose dans le sang a été significativement supérieur par rapport aux autres groupes dans la première expérimentation, ceci est probablement due à la destruction hépatocellulaire par l'insecticide empêchant le stockage de glucose et perturbant son métabolisme. Des études similaires ont affirmé que les pyréthriinoïdes de type II notamment la LCT induit une hyperglycémie comme une complication initiale chez le lapin et le rat (**Shakoori et al., 1992; Kim et al., 2015; Elhalwagy et al., 2015**).

#### 4. Effet sur l'histologie hépatique

L'observation histologique des tissus hépatiques dans les groupes traités uniquement par AP a montré de nombreuses altérations pour les deux expérimentations. Ces altérations consistent essentiellement en une désorganisation architecturale du tissu hépatique avec une congestion et une dilatation de la VCL, une nécrose hépatocytaire, une dilatation sinusoidale et une infiltration des cellules inflammatoires. Celles-ci ont également été observées dans l'étude précédente de **Boumezrag et al. (2021)** qui a évalué l'effet du LCT sur le foie des lapins, ainsi que l'étude de **Omar et al. (2022)** évaluant l'effet de CAP sur le foie des rats albinos.

**Wanamaker et Grimm (2004)** suggèrent que la dilatation de la VCL peut être causée par une congestion hépatique passive, qui est due à un drainage veineux hépatique altéré. Dans notre expérimentation, la congestion a été observé également dans les groupes traités uniquement avec l'insecticide. Ceci est peut-être expliquer par l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux hépatiques afin de faire passer les cellules inflammatoires, ce qui a entraîné une augmentation de la pression dans la VCL. Cette pression veineuse peut compromettre la circulation sanguine normale dans le foie, entraînant une accumulation de sang et une dilatation des vaisseaux dans la zone centrolobulaire.

Effectivement, il a été prouvé que le stress oxydant généré par les pesticides perturbe l'intégrité de la membrane cellulaire par la peroxydation des lipides, ce qui entraîne une élévation des niveaux des transaminases dans le sérum, stimule les cellules stellaires à produire du collagène et active la voie de signalisation TNF- $\alpha$  qui favorise l'inflammation et l'apoptose (**Gokcimen et al., 2007; Jebur et al., 2021; Radic et al., 2019; Shao et al., 2020**).

Dans, notre étude, l'administration de l'insecticide AP a également induit un épaissement au niveau des membranes de la VCL et l'EP. Cet épaissement indique l'accumulation des fibres de collagène autour des canaux. En réalité, les cellules stellaires produisent les fibres de collagène qui représentent 3% du poids hépatique. Par contre, à l'état nécrotique cette teneur en collagène augmente de trois à dix fois plus que la normale, indiquant une éventuelle fibrose. Cette dernière peut se manifester en plusieurs motifs au niveau hépatique, parmi eux on note la fibrose centro-lobulaire par développement de septa fibreux autour de la VCL en conséquence d'une congestion vasculaire (**Lee et Friedman, 2020**), et c'est ce que nous avons remarqué dans notre étude.

Les résultats de l'étude morphométrique sont en corrélation avec l'observation histopathologique du foie des lapins traités avec l'insecticide. Cette méthode est utile pour comprendre les changements morphologiques qui se produisent dans les tissus en réponse à différents stimuli, tels que les maladies, les traitements médicaux ou les interventions chirurgicales (**Hamilton and Allen, 1995**).

### 5. Effet sur le stockage de glycogène

Nos résultats histochimiques montrent une déplétion glycogénique importante dans le foie des lapins traités avec l'insecticide AP en plus d'une augmentation significative en glucose sanguin. Cette diminution glycogénique peut résulter d'une inhibition de l'activité enzymatique de la glycogène synthétase et/ou d'une hyperactivité de la glycogène phosphorylase (**Baltaci et al., 2003**). De plus, on peut dire qu'en cas d'une exposition subchronique à l'insecticide peut conduire, à un diabète associé à une glycogénolyse augmentant les niveaux de glucose dans le sang. Ceci a été déjà constaté par **Elhalwagy et al. (2015)** qui ont exposé des rats albinos au LCT pendant 3 mois. Un appauvrissement en glycogène a également été constaté dans le foie du poisson chat africain *Clarias gariepinus* après une exposition à un mélange d'insecticides contenant le CAP (**Mohamed et al., 2022**).

## 6. Effet sur la sécrétion hépatique de mucine

La coloration histochimique des foies des lapins par le bleu alcian n'a révélé aucune différence entre les groupes de l'étude. Cette coloration a été faite pour mettre en évidence une éventuelle sécrétion de substances mucopolysaccharidiques. Nos résultats indiquent que l'insecticide AP n'induit pas une sécrétion de mucopolysaccharide dans le foie des lapins.

## 7. Effet sur les marqueurs tissulaires de la fonction hépatique

L'étude immunohistochimique a révélé l'activation des marqueurs apoptotiques et tumoraux dans le tissu hépatocellulaire du groupe traité par l'insecticide AP. En effet, les marqueurs les plus exprimés sont l'AFP et la Bcl2 avec une diminution hautement significative de l'expression de l'E-cadhérine. La Ki 67 et la P53 ont été également exprimés significativement dans le tissu hépatique des lapins traités par AP comparativement aux lapins témoins, mais avec des pourcentages plus faibles que l'AFP et la Bcl2.

Le choix de ces marqueurs était basé sur l'aspect prolifératif, apoptotique et précancéreux, étant donné que les pesticides présentent un risque accru jusqu'à 73% de générer un CHC (**Abdi et al., 2017**). Ces protéines agissent en étroite coordination les unes avec les autres, cependant le mécanisme dans lequel elles interfèrent entre elles reste méconnu. Pour cela, le mécanisme d'action synergique de l'alpha-fœtoprotéine, de Bcl2, de Ki67, de p53 et d'E-cadhérine peut être compris en considérant leurs rôles individuels dans divers processus cellulaires, voici un récapitulatif sur le rôle principal de chaque marqueur déjà abordé dans le premier chapitre.

AFP est un marqueur souvent associé à la croissance tumorale et est impliqué dans la promotion de la prolifération cellulaire et l'inhibition de la mort cellulaire (**Galle et al., 2019**). On pense qu'elle joue un rôle dans le développement et la progression des tumeurs en modulant les voies de signalisation cellulaire (**Galle et al., 2019; Głowska-Ciemny et al., 2023**). De plus, AFP joue un rôle crucial dans l'induction de la croissance et de la progression du carcinome hépatocellulaire (CHC) et est responsable de l'environnement immunosuppresseur autour de cette tumeur (**Xu et al., 2021**).

La Bcl2 est une protéine qui régule la mort cellulaire programmée (apoptose) en inhibant (anti-apoptotique) ou en induisant (pro-apoptotique) l'apoptose (**Kaloni et al., 2023**). Sa surexpression peut conduire à une augmentation de la survie cellulaire et à une résistance à l'apoptose, favorisant ainsi la croissance et la survie des cellules tumorales (**Nabar et al., 2018**).

Ki67 est un marqueur de la prolifération cellulaire et est exprimé pendant les phases actives du cycle cellulaire. Il est couramment utilisé comme mesure de la prolifération cellulaire et a été associé à la croissance et à l'agressivité des tumeurs (**Li et al., 2015**). Ki67 constitue un marqueur pronostique précieux dans les premiers stades du cancer du sein et offre une méthode économique pour évaluer la prolifération cellulaire par rapport à d'autres approches (**Lashen et al., 2023**). Mais également, l'expression de Ki67 est associée au pronostic chez les patients atteints de CHC (**King et al., 1998; Luo et al., 2015**). En fait, il a été suggéré que l'évaluation de Ki67 dans l'indice de prolifération des cellules hépatiques est un moyen efficace d'analyser les processus de régénération du foie et de carcinogenèse (**Youssef et al., 2012**). La détection immunohistochimique de Ki 67 est généralement localisée au niveau nucléaire, cependant, la détection cytoplasmique et membranaire a été récemment décrite dans plusieurs types de cancer (**Faratian et al., 2009**). Dans notre étude, l'immunomarquage cytoplasmique de Ki67 était plus abondant que l'expression nucléaire.

P53 est une protéine suppresseur de tumeur qui joue un rôle crucial dans le maintien de la stabilité du génome et dans la prévention du développement du cancer. Elle agit en tant que facteur de transcription et régule l'expression de gènes impliqués dans l'arrêt du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN et l'apoptose (**Hientz et al., 2017**). Des mutations répétées dans le gène p53 peuvent perturber ces fonctions, entraînant une croissance cellulaire non contrôlée et la formation de tumeurs (**Mantovani et al., 2019**).

La E-cadhérine est une molécule d'adhésion cellulaire qui joue un rôle crucial dans le maintien de l'intégrité tissulaire et de l'adhésion cellulaire (**Zali et al., 2009**). Elle est impliquée dans la régulation de la migration cellulaire et de l'invasion et est souvent régulée à la baisse ou altérée dans les cellules cancéreuses. La dysrégulation de l'E-cadhérine peut contribuer au potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales (**Burandt et al., 2021**).

Bien que chaque marqueur ait son rôle spécifique dans les processus cellulaires, leurs effets combinés peuvent créer un impact synergique sur la croissance tumorale, la progression et les métastases. Les interactions entre ces marqueurs et leurs voies de signalisation respectives peuvent influencer le comportement cellulaire et contribuer au phénotype global des cellules cancéreuses. Pour cette raison, nous avons étudié l'expression de ces biomarqueurs afin d'évaluer la toxicité de l'insecticide dans le tissu hépatique. Effectivement, la régulation de l'apoptose par P53 et Bcl2, ainsi que la régulation de la prolifération cellulaire par Ki67 et P53 sont fortement liées (**Ayed *et al.*, 2014**). Il a été démontré que l'effet combiné de p53 et de Bcl-2 peut avoir un impact significatif sur les voies de signalisation de l'apoptose et peut être utilisé pour surmonter la résistance à l'apoptose dans certains types de cancer (**Pan *et al.*, 2017**; **Carter *et al.*, 2023**).

Nos résultats immunohistochimiques indiquent que l'exposition à l'insecticide AP active les biomarqueurs tumoraux dans le foie des lapins. En effet, plusieurs études ont démontré les effets apoptotique et antiprolifératif des insecticides sur les cellules. Certains types d'insecticides comme les pyréthroïdes et organophosphorés peuvent inhiber la prolifération cellulaire et induire l'apoptose dans les cellules humaines (**Raszewski *et al.*, 2015**; **Wang *et al.*, 2021**; **Ayisha Banu et Manogem, 2022**). De plus, la voie moléculaire par laquelle les pesticides interfèrent est l'élévation des EOR et la peroxydation des lipides résultant d'un stress oxydatif, ce qui déclenche les marqueurs tumoraux (**Silva *et al.*, 2022**).

Comme il a été sus-cité précédemment, les résultats affichent une augmentation des quatre marqueurs (AFP, P53, Bcl2 et ki67), confirmé par l'effet apoptotique combiné à l'effet antiprolifératif dans les cellules hépatiques. Néanmoins, une réduction significative de l'expression de la E-cadhérine a été observée. Cette dernière joue un rôle clé dans le maintien des jonctions cellule-cellule, ce qui fait qu'une diminution engendre forcément un changement cellulaire. En fait, l'expression réduite de la E-cadhérine est caractérisée par la transition épithélio-mésenchymateuse qui est associée à la motilité et l'invasion cellulaire (**Liu *et al.*, 2014**; **Li *et al.*, 2017**). De plus, il a été observé un changement de E-cadhérine en N-cadhérine protéine impliquée dans la migration cellulaire et cela durant l'activation des cellules stellaires hépatiques (**Lim *et al.*, 2007**). En effet, la perte de la protéine E-cadhérine est observée dans le processus de la fibrose hépatique, avec l'activation des cellules stellaires responsable de la libération du collagène hépatique (**Urushima *et al.*, 2021**).

## II. Effet hépatique des vitamines sur la toxicité induite par Ampligo 150 ZC

La supplémentation en vitamines C et E dans la première étude et A, D, E et C dans la deuxième étude a clairement atténué toutes les altérations observées dans notre expérimentation. En fait, l'effet d'atténuation des vitamines antioxydantes contre la toxicité des pesticides a été prouvé précédemment par des chercheurs (**Verma et al., 2007; Fetoui et al., 2008; Khaldoun-Oularbi et al., 2015; Mishra et Srivastava, 2015; Magdy et al., 2016**). Ces vitamines agissent en neutralisant les radicaux libres produits par le stress oxydatif induit par les insecticides.

Dans notre projet de thèse, nous avons évalué en premier lieu l'effet hépatique des vitamines C et E. Cette combinaison a prouvé son efficacité à combattre l'effet toxique des insecticides notamment la LCT (**El-Demerdash, 2007; Ali, 2012; Ben Abdallah et al., 2013; Oladele et al., 2020; Rajak et al., 2022**). Cependant, aucune étude à notre connaissance a évalué l'effet de cette combinaison sur l'AP (LCT+CAP). Le mécanisme par lequel ces deux vitamines agissent est le piégeage des radicaux peroxy lipidiques par la vitamine E et les ERO par la vitamine C (**Esterbauer et al., 1992; Skřivan et al., 2012**). La vitamine C agirait comme un agent de capture des radicaux libres dans l'espace extracellulaire, tandis que la vitamine E liposoluble capturerait efficacement les radicaux libres à l'intérieur de la cellule où les métabolites réactifs sont produits (**Uzunhisarcikli et al., 2007**). En outre, la vitamine C régénère la forme active de la vitamine E en stabilisant les radicaux tocophéryl qui se forment lors de l'élimination des ERO (**Fetoui et al., 2008**).

Au sien de la deuxième étude, l'utilisation du mélange de vitamines a créé une corrélation efficace entre les quatre vitamines, car chaque vitamine est connue pour renforcer le système immunitaire de la cellule afin de lutter contre la toxicité des xénobiotiques. Auparavant, la combinaison des vitamines antioxydantes A, E et C a permis d'améliorer de manière significative les lésions causées par les pesticides (**Verma et al., 2007; Shokrzadeh et al., 2012; Ojha et Srivastava, 2012; Mishra et Srivastava, 2015**). Dans cette expérimentation, l'ajout de la vitamine D au mélange précédent a probablement renforcer davantage l'effet amélioratif. En effet, il a été suggéré que la carence en vitamine D est associée à l'exposition aux pesticides lipophiles comme les organochlorés (**Yang et al., 2012**). Par contre, l'implication de cette vitamine dans le contrôle de redox cellulaire est réellement prouvée (**Wimalawansa, 2019**).

De plus, des études récentes ont évalué l'effet protecteur de la vitamine D sur la fonction testiculaire chez le rat (**Keles et al., 2022**), sur la fonction rénale (**El-Hossary et al., 2009**), et sur l'activité neuroprotectrice (**Favarin et al., 2023**).

La supplémentation vitaminique utilisée dans cette étude a permis de non seulement d'atténuer les perturbations biochimiques et les lésions tissulaires, mais elle a également amélioré le pronostic des maladies cardiovasculaires. En effet, la supplémentation en vitamines ADEC a permis de diminuer significativement de l'indice athérogène du plasma (AIP). Dans l'évaluation des maladies cardiovasculaires, l'AIP est considéré comme un meilleur indicateur que la concentration en lipoprotéines individuelles (**Króliczewska et al., 2018; Chahrazed et al., 2021**).

L'évaluation immunohistochimique du tissu hépatique des lapins supplémentés par les vitamines ADEC a intéressamment montrée une protection significative du parenchyme tissulaire contre les dommages induits par l'insecticide AP. Les résultats ont révélé une diminution marquée de l'expression des marqueurs apoptotique et prolifératif ainsi qu'une augmentation du marqueur d'adhésion cellulaire.

Parmi les nombreux effets biologiques des vitamines antioxydantes figurent l'activation immunologique et la modification du métabolisme des substances cancérigènes (**Verma et al., 2007**). Par exemple, il existe une forte relation dans l'ADN entre la protéine de liaison de la vitamine D et de l'AFP (**Guan et al., 1996**). Par conséquent, il a été trouvé qu'une carence en vitamine D est associée à la mortalité chez les patients atteints de cirrhose hépatique avec un taux élevé en AFP (**Buonomo et al., 2019**).

D'autre part, il existe des preuves que la vitamine C peut diminuer l'expression de gènes pro-apoptotiques tels que Bcl2 (**Ferrada et al., 2021**). En outre, il est apparu que la vitamine C stabilise le p53 et augmente la réponse chimiothérapeutique des cellules du carcinome cervical en stabilisant le p53, ce qui est associé à une augmentation de Bax et à une diminution de Bcl-2 et de l'activité de la télomérase (**Reddy et al., 2001**).

En ce qui concerne la E-cadhérine, la vitamine D participe à maintenir cette protéine de jonction par la favorisation de leur expression et la suppression de la transition épithélio-mésenchymateuse (**Fischer et al., 2016; Oh et al., 2019**).

---

# Conclusion et perspectives

---

Cette thèse a exploré la toxicité de l'insecticide Ampligo ®150 ZC sur le foie de lapin male et l'effet protecteur des vitamines à action antioxydante. Les résultats obtenus ont démontré que l'insecticide induit plusieurs altérations au niveau hépatique, à savoir :

- Une diminution de poids corporel, de consommation d'aliment et de IC.
- Une augmentation des ALAT, PAL, glucose, CT, TG.
- Une diminution des TG, HDLc et de bilirubine totale.
- Une désorganisation architecturale du tissu hépatique associée à une dilatation et une congestion de la VCL, une nécrose cellulaire, un épaississement de la membrane de la VCL et l'EP, une dilatation sinusoïdale, ainsi qu'une infiltration des cellules inflammatoires.
- Une déplétion en glycogène.
- Une surexpression tissulaire des marqueurs tumoraux : AFP, Bcl2, Ki67, et P53
- Une diminution de l'expression protéique de l'E-cadhérine au niveau cellulaire.

Ces altérations observées étaient variables en fonction de la dose administrée dans les deux expérimentations ce qui confirme l'effet dose-dépendant de l'insecticide AP.

Par ailleurs, l'administration concomitante de vitamines, a atténué ces effets toxiques. Les vitamines utilisées au sien des travaux de cette thèse sont les vitamines C et E dans la première partie et les vitamines ADEC dans la deuxième. Ces vitamines ont montré des effets bénéfiques sur les marqueurs hépatiques, tels que l'amélioration du poids hépatique, diminution des transaminases hépatiques et la préservation de l'intégrité de la membrane hépatocellulaire, ainsi qu'une régression dans l'expression des marqueurs tumoraux. Ces effets sont attribués à la capacité des vitamines à réguler l'activité enzymatique et à prévenir le stress oxydant induit par l'insecticide.

Notre travail fournit des nouvelles informations sur les dommages biochimique et immunohistochimique causés par l'insecticide et le rôle protecteur des vitamines en particulier celles ayant une action antioxydante, dans la réduction de la toxicité hépatique induite par l'Ampligo 150 ZC. L'ensemble des résultats suggèrent que l'administration adéquate de ces vitamines peut représenter une approche prometteuse pour atténuer les effets néfastes des pesticides sur le foie.

Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes d'action spécifique et de déterminer les doses optimales des vitamines pour une protection efficace contre la toxicité des insecticides.

De plus, les perspectives de cette étude peuvent s'articuler autour des points suivants :

- Il serait important de comprendre en détail les mécanismes par lesquels l'insecticide induit le stress oxydant dans le foie, pour cela une exploration des marqueurs du stress est essentielle.
- Il serait pertinent d'approfondir les mécanismes moléculaires par les vitamines utilisées dans ce travail, exercent leur effet protecteur sur le foie.
- Dans nos jours, la tendance de prendre les compléments alimentaires oraux ne cesse de s'installer. Il serait donc intéressant de tester des régimes enrichis en vitamines antioxydante afin de combattre les effets indésirables des insecticides.
- Il convient également de reprendre cette étude sur une période prolongée afin d'évaluer l'effet chronique de l'insecticide AP.
- Il serait intéressant de s'approfondir dans l'aspect génomique des cellules hépatiques après les différents traitements, de ce fait une étude moléculaire par l'hybridation in situ est intéressante.
- Il s'avère important de suivre les résidus de l'insecticide dans le tissu hépatique par les méthodes chromatographiques.
- Enfin, il convient de tester l'activité antioxydante des autres substances telles que les huiles essentielles.

En conclusion, bien que l'utilisation d'insecticides ait été une réponse temporaire à la demande croissante de denrées alimentaires, il est impératif de réévaluer nos pratiques agricoles et de promouvoir des approches plus durables pour la protection des cultures. Cela garantira non seulement la sécurité alimentaire à long terme, mais aussi la préservation de la santé humaine et de l'environnement.

---

# Références bibliographiques

---

## A

- Abdel-Mobdy, Y. E., Moustafa, M. A. M., Nahas, A. H. A., & Abdel-Rahman, H. R. (2017). *Journal of Plant Protection and Pathology*, 8(6), 297–303.
- Abdi, H., Lee, J., Ellison, G., Lai, G., & Lam, T. (2017). Abstract 2300: Pesticides and primary liver cancer: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Research*, 77(13\_Supplement), 2300. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2017-2300>
- Abdul-Hamid, M., Mohamed, H. M., Abd El-Twab, S. M., & Zaid, K. (2020). Histological, ultrastructural, and biochemical study on the possible role of Panax ginseng in ameliorating liver injury induced by Lambda cyhalothrin. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 9(1), 52. <https://doi.org/10.1186/s43088-020-00076-6>
- Adam, M. T. M., Justin, K., Narcisse, V. B., Momo, C. M. M., Hervé, T., Nadège, D. M., & Arius, D. N. (2019). *Effects of Lambda cyhalothrin on Reproductive Characteristics in Pregnant Rabbit doe (Oryctolagus cuniculus)*.
- Al Malahi, N. M., Al Jumaily, M. M., Al-shaibani, E. A. S., Alajmi, R. A., Alkhuriji, A. F., Al-Tamimi, J., & Alhimaidi, A. R. (2022). Ameliorative effect of L-carnitine on lambda-cyhalothrin-induced anatomical and reproductive aberrations in albino mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(9), 103373. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103373>
- Al-Amoudi, W. M. (2018). Toxic effects of Lambda-cyhalothrin, on the rat thyroid: Involvement of oxidative stress and ameliorative effect of ginger extract. *Toxicology Reports*, 5, 728–736. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.06.005>
- Alengebawy, A., Abdelkhalek, S. T., Qureshi, S. R., & Wang, M.-Q. (2021). Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: Ecological risks and human health implications. *Toxics*, 9(3), 42.
- Al-Hamdany, M. Z. (2019). Comparative anatomical, histological, and histochemical study of liver in human and domestic rabbit. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 33(2), 437–446.
- Ali, W. A., Moselhy, W. A., Ibrahim, M. A., Amin, M. M., Kamel, S., & Eldomany, E. B. (2022). Protective effect of rutin and  $\beta$ -cyclodextrin against hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by lambda-cyhalothrin in Wistar rats: Biochemical, pathological indices and molecular analysis. *Biomarkers*, 0(0), 1–12. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2022.2087003>
- Ali, Z. Y. (2012). Neurotoxic effect of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide: Involvement of oxidative stress and protective role of antioxidant mixture. *New York Sci J*, 5, 93–103.

- Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S., Richmond, W., & Fu, P. C. (1974). Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical Chemistry*, 20(4), 470–475.
- Allard, J. (2020). *Mise en évidence de l'implication de différents mécanismes dans la survenue de la stéatose hépatique d'origine médicamenteuse en absence de dysfonction mitochondriale sévère* [PhD Thesis]. Rennes 1.
- Ambali, S., Akanbi, D., Igbokwe, N., Shittu, M., Kawu, M., & Ayo, J. (2007). Evaluation of subchronic chlorpyrifos poisoning on hematological and serum biochemical changes in mice and protective effect of vitamin C. *The Journal of Toxicological Sciences*, 32(2), 111–120.
- Anthony, L. M. (2013). *Junqueira's basic histology: Text and atlas*. LANGE Series, McGraw-Hill Medical.
- Aoiadni, N., Chiab, N., Jdidi, H., Gargouri Bouzid, R., El Feki, A., Fetoui, H., & Ghorbel Koubaa, F. (2022). The pyrethroid insecticide permethrin confers hepatotoxicity through DNA damage and mitochondria-associated apoptosis induction in rat: Palliative benefits of *Fumaria officinalis*. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 36(10), e23172.
- Aouey, B., Derbali, M., Chtourou, Y., Bouchard, M., Khabir, A., & Fetoui, H. (2017). Pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin and its metabolites induce liver injury through the activation of oxidative stress and proinflammatory gene expression in rats following acute and subchronic exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(6), 5841–5856.
- Arapović, A., Vukojević, K., Durdov, M. G., Benzon, B., Šolić, I., Racetin, A., Jurić, M., Čujić, T., Kosović, I., & Lozić, M. (2021). Expression of renal vitamin D receptors and metabolizing enzymes in IgA nephropathy. *Acta Histochemica*, 123(5), 151740.
- Araújo, M. F., Castanheira, E. M. S., & Sousa, S. F. (2023). The Buzz on Insecticides: A Review of Uses, Molecular Structures, Targets, Adverse Effects, and Alternatives. *Molecules*, 28(8), 8. <https://doi.org/10.3390/molecules28083641>
- Ayed, D. B., Khabir, A., Abid, M., Bayrouiti, M. I., Gargouri, A., Sellami-Boudawara, T., & Mokdad-Gargouri, R. (2014). Clinicopathological and prognostic significance of p53, Ki-67, and Bcl-2 expression in Tunisian gastric adenocarcinomas. *Acta Histochemica*, 116(8), 1244–1250.
- Ayisha Banu, C., & Manogem, E. M. (2022). Anti-proliferative and apoptosis-inducing effects of juvenile hormone analogue, fenoxycarb in the Sf21cell line. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 187, 105182. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105182>

## B

- Badwei, N. (2023). Hepatocellular Carcinoma's Molecular Markers: The New Trend as Diagnostic/Prognostic Markers! *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 0(0). <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2023.01.007>
- Balmer, M. L., Slack, E., De Gottardi, A., Lawson, M. A., Hapfelmeier, S., Miele, L., Grieco, A., Van Vlierberghe, H., Fahrner, R., & Patuto, N. (2014). The liver may act as a firewall mediating mutualism between the host and its gut commensal microbiota. *Science Translational Medicine*, 6(237), 237ra66-237ra66.
- Basir, A., Khan, A., Mustafa, R., Zargham Khan, M., Rizvi, F., Mahmood, F., & Yousaf, A. (2011). Toxicopathological effects of lambda-cyhalothrin in female rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Human & Experimental Toxicology*, 30(7), 591–602.
- Baudin, B. (2017). Exploration biochimique du foie en 2017. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2017(490), 25–33.
- Behne, T., & Copur, M. S. (2012). Biomarkers for hepatocellular carcinoma. *International Journal of Hepatology*, 2012, 859076. <https://doi.org/10.1155/2012/859076>
- Ben Abdallah, F., Fetoui, H., Zribi, N., Fakhfakh, F., & Keskes, L. (2013). Quercetin attenuates lambda cyhalothrin-induced reproductive toxicity in male rats. *Environmental Toxicology*, 28(12), 673–680.
- Bentley, K. S., Fletcher, J. L., & Woodward, M. D. (2010). Chapter 102 - Chlorantraniliprole: An Insecticide of the Anthranilic Diamide Class. In R. Krieger (Ed.), *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology (Third Edition)* (pp. 2231–2242). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374367-1.00102-6>
- Bequet, D. (2018). Mécanismes de la toxicité des xénobiotiques. *Revue Neurologique*, 174, S160.
- Bergmeyer, H. U., Scheibe, P., & Wahlefeld, A. W. (1978). Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. *Clinical Chemistry*, 24(1), 58–73.
- Berthélémy, S. (2015). Le bilan hépatique. *Actualités Pharmaceutiques*, 54(544), 59–61.
- Blaner, W. S. (2019). Vitamin A signaling and homeostasis in obesity, diabetes, and metabolic disorders. *Pharmacology & Therapeutics*, 197, 153–178.
- Bleys, J., Miller III, E. R., Pastor-Barriuso, R., Appel, L. J., & Guallar, E. (2006). Vitamin-mineral supplementation and the progression of atherosclerosis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(4), 880–887.
- Bokreta, S., Hassina, K.-O., Amine, F. M., Makhlof, C., & Nacira, D.-Z. (2021). Protective Effects of Thymus vulgaris Essential Oil Against Voliam Targo® Induced Kidney and Brain Toxicity in Male Rabbits. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, D. Histology & Histochemistry*, 13(1), 79–95.
- Boumezrag, A., HEMIDA, H., BOUMEZRAG, F. A., SMAIL, F., & CISSE, S. (2021). Pathological and biological effects of treatments with lambda-cyhalothrin in rabbits. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 35(3), 443–450.
- Bourdon, J.-C. (2007). P53 and its isoforms in cancer. *British Journal of Cancer*, 97(3), 277–282.
- Bowry, V. W., Ingold, K. U., & Stocker, R. (1992). Vitamin E in human low-density lipoprotein. When and how this antioxidant becomes a pro-oxidant. *Biochemical Journal*, 288(2), 341–344.

- Buonomo, A. R., Scotto, R., Zappulo, E., Nerilli, M., Pinchera, B., Perruolo, G., Formisano, P., Nappa, S., & Gentile, I. (2019). Severe Vitamin D Deficiency Increases Mortality Among Patients With Liver Cirrhosis Regardless of the Presence of HCC. *In Vivo*, *33*(1), 177–182. <https://doi.org/10.21873/invivo.11456>
- Burandt, E., Lübbersmeyer, F., Gorbokon, N., Büscheck, F., Luebke, A. M., Menz, A., Kluth, M., Hube-Magg, C., Hinsch, A., & Höflmayer, D. (2021). E-Cadherin expression in human tumors: A tissue microarray study on 10,851 tumors. *Biomarker Research*, *9*(1), 44.
- Bürgisser, G. M., Evrova, O., Heuberger, D. M., Rieber, J., Giovanoli, P., Calcagni, M., & Buschmann, J. (2021). Delineation of the healthy rabbit liver by immunohistochemistry – A technical note. *Acta Histochemica*, *123*(7), 151795. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2021.151795>

## C

- Carter, B. Z., Mak, P. Y., Tao, W., Ayoub, E., Ostermann, L. B., Huang, X., Loghavi, S., Boettcher, S., Nishida, Y., & Ruvolo, V. (2023). Combined inhibition of BCL-2 and MCL-1 overcomes BAX deficiency-mediated resistance of TP53-mutant acute myeloid leukemia to individual BH3 mimetics. *Blood Cancer Journal*, *13*(1), 57.
- Chahrazed, M., Hassina, K. O., Soumya, B., Dalila, T., Asma, B., Meriem, B., & Nacira, D. Z. (2021). Beneficial effects of ascorbic acid on ivermectin repeated high-dose therapy in rabbits: Biochemical and histopathological investigations. *European Journal of Biological Research*, *11*(1), 1–13.
- Chen, Y., Yu, W., Zhang, L., Cao, L., Ling, J., Liao, K., Shen, G., Du, W., Chen, K., & Zhao, M. (2023). First evidence of neonicotinoid insecticides in human bile and associated hepatotoxicity risk. *Journal of Hazardous Materials*, 130715.
- Christofori, G., & Semb, H. (1999). The role of the cell-adhesion molecule E-cadherin as a tumour-suppressor gene. *Trends in Biochemical Sciences*, *24*(2), 73–76.
- Cohen, J. C., Horton, J. D., & Hobbs, H. H. (2011). Human Fatty Liver Disease: Old Questions and New Insights. *Science (New York, N.Y.)*, *332*(6037), 1519–1523. <https://doi.org/10.1126/science.1204265>
- Combs, Jr., Gerald F., & McClung, J. P. (Eds.). (2022). Front Matter. In *The Vitamins (Sixth Edition)* (p. iii). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90473-5.01001-6>
- Contreras-Zentella, M. L., & Hernández-Muñoz, R. (2016). Is liver enzyme release really associated with cell necrosis induced by oxidant stress? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016.
- Cordova, D., Benner, E. A., Sacher, M. D., Rauh, J. J., Sopa, J. S., Lahm, G. P., Selby, T. P., Stevenson, T. M., Flexner, L., Gutteridge, S., Rhoades, D. F., Wu, L., Smith, R. M., & Tao, Y. (2006). Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *84*(3), 196–214. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2005.07.005>
- Corso, G., Figueiredo, J., De Angelis, S. P., Corso, F., Girardi, A., Pereira, J., Seruca, R., Bonanni, B., Carneiro, P., & Pravettoni, G. (2020). E-cadherin deregulation in breast cancer. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *24*(11), 5930–5936.

Costa, L. G. (2008). Toxic effects of pesticides. *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*, 8, 883–930.

## D

Damalas, C. A., & Eleftherohorinos, I. G. (2011). Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8(5), 1402–1419.

Discov, N. R. D., & Consortium, I. T. (2010). Membrane transporters in drug development. *Nat Rev Drug Discov*, 9(3), 215–236.

Djahra, A. B., Benkaddour, M., Benkherara, S., & Ouahiba, B. (2020). Antioxidant and hepatoprotective Potential of *Coriandrum sativum* L. against hepatic injury by Lambda-cyhalothrin insecticide. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(3-s), 182–188.

Doumas, B. T., Bayse, D. D., Carter, R. J., Peters Jr, T., & Schaffer, R. (1981). A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clinical Chemistry*, 27(10), 1642–1650.

Dubuquoy, C. (2012). *Expression et fonction de l'adiponutrine/PNPLA3 dans le foie: Relation entre la voie Wnt/ $\beta$ -caténine, la sensibilité à l'insuline et la stéatose hépatique* [PhD Thesis]. Paris 5.

## E

El-Bialy, B. E., Abd Eldaim, M. A., Hassan, A., & Abdel-Daim, M. M. (2020). Ginseng aqueous extract ameliorates lambda-cyhalothrin-acetamiprid insecticide mixture for hepatorenal toxicity in rats: Role of oxidative stress-mediated proinflammatory and proapoptotic protein expressions. *Environmental Toxicology*, 35(2), 124–135.

El-Demerdash, F. M. (2007). Lambda-cyhalothrin-induced changes in oxidative stress biomarkers in rabbit erythrocytes and alleviation effect of some antioxidants. *Toxicology in Vitro*, 21(3), 392–397.

Elhalwagy, M. E., Abd-Alrahman, S. H., Nahas, A., Ziada, R. M., & Mohamady, A. H. (2015). Hepatopancreatic intoxication of lambda cyhalothrin insecticide on albino rats. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(5), 7297–7305.

El-Hossary, G. G., El-Gohary, A. A., Ahmed, N. S., Mohamed, A. S., & Mansour, S. M. (2009). Amelioration of chlorpyrifos induced retinal and renal toxicity by Vitamin D. *Aust J Basic Appl Sci*, 3(3), 2304–2314.

El-Saad, A. M. A., & Abdel-Wahab, W. M. (2020). Naringenin Attenuates Toxicity and Oxidative Stress Induced by Lambda-cyhalothrin in Liver of Male Rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 23(4), 510–517.

Eslam, M., Sanyal, A. J., George, J., Sanyal, A., Neuschwander-Tetri, B., Tiribelli, C., Kleiner, D. E., Brunt, E., Bugianesi, E., Yki-Järvinen, H., Grønbaek, H., Cortez-Pinto, H., George, J., Fan, J., Valenti, L., Abdelmalek, M., Romero-Gomez, M., Rinella, M., Arrese, M., ... Younossi, Z. (2020). MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*, 158(7), 1999-2014.e1. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.11.312>

Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., & Jürgens, G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine*, 13(4), 341–390

## F

Faratian, D., Munro, A., Twelves, C., & Bartlett, J. M. (2009). Membranous and cytoplasmic staining of Ki67 is associated with HER2 and ER status in invasive breast carcinoma. *Histopathology*, 54(2), 254–257.

Favarin, J. C., Basotti, A., Baptistella, A. R., Mantovani, A., Cordeiro, M. F., de Carvalho, D., & Remor, A. P. (2023). Neuroprotective Effect of Vitamin D on Behavioral and Oxidative Parameters of Male and Female Adult Wistar Rats Exposed to Mancozeb (manganese/zinc ethylene bis-dithiocarbamate). *Molecular Neurobiology*, 1–17.

Febvre-James, M. (2019). *Effets régulateurs du ruxolitinib sur l'expression de marqueurs de l'inflammation et de protéines de détoxification des médicaments* [PhD Thesis]. Université Rennes 1.

Ferrada, L., Magdalena, R., Barahona, M. J., Ramírez, E., Sanzana, C., Gutiérrez, J., & Nualart, F. (2021). Two Distinct Faces of Vitamin C: AA vs. DHA. *Antioxidants*, 10(2), 2. <https://doi.org/10.3390/antiox10020215>

Fetoui, H., Garoui, E. M., Makni-ayadi, F., & Zeghal, N. (2008). Oxidative stress induced by lambda-cyhalothrin (LTC) in rat erythrocytes and brain: Attenuation by vitamin C. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26(2), 225–231.

Fetoui, H., Garoui, E. M., & Zeghal, N. (2009). Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: Ameliorative effect of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61(3), 189–196.

Fetoui, H., Makni, M., Garoui, E. M., & Zeghal, N. (2010). Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: Involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(6), 593–599.

Filipović, N., Bočina, I., Restović, I., Grobe, M., Kretzschmar, G., Kević, N., Mašek, T., Uljević, M. V., Jurić, M., & Vukojević, K. (2020). Ultrastructural characterization of vitamin D receptors and metabolizing enzymes in the lipid droplets of the fatty liver in rat. *Acta Histochemica*, 122(2), 151502.

Fischer, K. D., Hall, S. C., & Agrawal, D. K. (2016). Vitamin D Supplementation Reduces Induction of Epithelial-Mesenchymal Transition in Allergen Sensitized and Challenged Mice. *PLOS ONE*, 11(2), e0149180. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149180>

Fisher-Wellman, K., & Bloomer, R. J. (2009). Acute exercise and oxidative stress: A 30 year history. *Dynamic Medicine*, 8(1), 1–25.

Fontem, N. A. (2022). *Développement de nouvelles méthodes pour la préservation ex vivo du foie au cours de la transplantation* [PhD Thesis]. Université Paris-Saclay.

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

## G

- Galle, P. R., Foerster, F., Kudo, M., Chan, S. L., Llovet, J. M., Qin, S., Schelman, W. R., Chintharlapalli, S., Abada, P. B., & Sherman, M. (2019). Biology and significance of alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma. *Liver International*, 39(12), 2214–2229.
- García-Sáez, A. J. (2012). The secrets of the Bcl-2 family. *Cell Death & Differentiation*, 19(11), 1733–1740.
- Ghramh, H. A., Sadiq, N., Naqqash, M. N., Abid, A. D., Shahzad, S., Saeed, S., Iqbal, N., & Khan, K. A. (2022). Transgenerational effects of lambda-cyhalothrin on *Musca domestica* L.(Diptera: Muscidae). *Scientific Reports*, 12(1), 19228.
- Gidenne, T. (2015). *Le lapin: De la biologie à l'élevage*. Quae.
- Głowska-Ciemny, J., Szymański, M., Kuszerska, A., Malewski, Z., von Kaisenberg, C., & Kocylowski, R. (2023). The Role of Alpha-Fetoprotein (AFP) in Contemporary Oncology: The Path from a Diagnostic Biomarker to an Anticancer Drug. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2539. <https://doi.org/10.3390/ijms24032539>
- Godswill, A. G., Somtochukwu, I. V., Ikechukwu, A. O., & Kate, E. C. (2020). Health benefits of micronutrients (vitamins and minerals) and their associated deficiency diseases: A systematic review. *International Journal of Food Sciences*, 3(1), 1–32.
- Gokcimen, A., Gulle, K., Demirin, H., Bayram, D., Kocak, A., & Altuntas, I. (2007). Effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87(2), 103–108.
- Gonzalez-Sanchez, E., Vaquero, J., Fouassier, L., & Chignard, N. (2015). E-cadherin, guardian of liver physiology. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 39(1), 3–6.
- Greenshields, M. W., Rodrigues, R., de Souza, M. T., Coville, N. J., Zawadneak, M. A., & Hümmelgen, I. A. (2016). Distinguishing Between Organic and Pesticide Treated Strawberries Using a Chemical Sensor Array. *Int. J. Electroactive Mater*, 4, 27–32.
- Guan, X.-J., Arhin, G., Leung, J., & Tilghman, S. M. (1996). Linkage between vitamin D-binding protein and  $\alpha$ -fetoprotein in the mouse. *Mammalian Genome*, 7(2), 103–106. <https://doi.org/10.1007/s003359900028>
- Gulati, K., Reshi, M. R., Rai, N., & Ray, A. (2018). Hepatotoxicity: Its mechanisms, experimental evaluation and protective strategies. *Am J Pharmacol*. 2018; 1 (1), 1004.
- Gupta, R. C., Mukherjee, I. R. M., Malik, J. K., Doss, R. B., Dettbarn, W.-D., & Milatovic, D. (2019). Insecticides. In *Biomarkers in toxicology* (pp. 455–475).

## H

- Halliwell, B. (2011). Free radicals and antioxidants – quo vadis? *Trends in Pharmacological Sciences*, 32(3), 125–130.  
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2010.12.002>
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.
- Hamilton, P. W., & Allen, D. C. (1995). Morphometry in histopathology. *The Journal of Pathology*, 175(4), 369–379.
- Hannig, G. T., Ziegler, M., & Marcon, P. G. (2009). Feeding cessation effects of chlorantraniliprole, a new anthranilic diamide insecticide, in comparison with several insecticides in distinct chemical classes and mode-of-action groups. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 65(9), 969–974.
- Hassaan, M. A., & El Nemr, A. (2020). Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(3), 207–220. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.08.007>
- Hassan, H. F., Mohammed, H. S., & Meligi, N. M. (2021). Potential impact of marjoram on coragen-induced physiological and histological alterations in male albino rats. *Egyptian Journal of Zoology*, 75(75), 25–38.
- Hata, A. N., Engelman, J. A., & Faber, A. C. (2015). The BCL2 Family: Key Mediators of the Apoptotic Response to Targeted Anticancer Therapeutics BCL2 Family and Targeted Therapies. *Cancer Discovery*, 5(5), 475–487.
- He, L.-M., Troiano, J., Wang, A., & Goh, K. (2008). Environmental chemistry, ecotoxicity, and fate of lambda-cyhalothrin. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 71–91.
- Henry, R. J., Chiamori, N., Golub, O. J., & Berkman, S. (1960). Revised spectrophotometric methods for the determination of glutamic-oxalacetic transaminase, glutamic-pyruvic transaminase, and lactic acid dehydrogenase. *American Journal of Clinical Pathology*, 34(4-ts), 381–398.
- Hientz, K., Mohr, A., Bhakta-Guha, D., & Efferth, T. (2017). The role of p53 in cancer drug resistance and targeted chemotherapy. *Oncotarget*, 8(5), 8921.
- Houlot, R. (1984). Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. *Ed Maloine*, 19, 225–227.
- Hu, G., Yan, C., Xie, P., Cao, Y., Shao, J., & Ge, J. (2020). PRMT2 accelerates tumorigenesis of hepatocellular carcinoma by activating Bcl2 via histone H3R8 methylation. *Experimental Cell Research*, 394(2), 112152.
- Hu, X., Chen, R., Wei, Q., & Xu, X. (2022). The Landscape of alpha fetoprotein in hepatocellular carcinoma: Where are we? *International Journal of Biological Sciences*, 18(2), 536.
- Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., & Rahu, N. (2016). Oxidative stress and inflammation: What polyphenols can do for us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016.

## I

IRAC. (2010). *The Mode Of Action of Diamides and Other Lepidopteran Insecticides and General Rotation Recommendations*. <https://irac-online.org/documents/diamide-moa-rotation/>

## J

Jaeschke, H. (2008). Toxic responses of the liver. *Casarett's & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisoning*, 557–582.

Jebur, A. B., El-Sayed, R. A., & El-Demerdash, F. M. (2021). Ocimum basilicum essential oil modulates hematotoxicity, oxidative stress, DNA damage, and cell cycle arrest induced by  $\beta$ -cyfluthrin in rat liver. *Frontiers in Pharmacology*, 12.

Jensen-Cody, S. O., & Potthoff, M. J. (2021). Hepatokines and metabolism: Deciphering communication from the liver. *Molecular Metabolism*, 44, 101138.

Jin, L., Yan, S., Shi, B., Bao, H., Gong, J., Guo, X., & Li, J. (2014). Effects of vitamin A on the milk performance, antioxidant functions and immune functions of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 192, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2014.03.003>

## K

Kalender, S., Kalender, Y., Durak, D., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Cevrimli, B. S., & Yildirim, M. (2007). Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88(2), 213–218.

Kalender, S., Uzun, F. G., Durak, D., Demir, F., & Kalender, Y. (2010). Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), 633–638.

Kaloni, D., Diepstraten, S. T., Strasser, A., & Kelly, G. L. (2023). BCL-2 protein family: Attractive targets for cancer therapy. *Apoptosis*, 28(1), 20–38. <https://doi.org/10.1007/s10495-022-01780-7>

Karami, S., Andreotti, G., Koutros, S., Barry, K. H., Moore, L. E., Han, S., Hoppin, J. A., Sandler, D. P., Lubin, J. H., & Burdette, L. A. (2013). Pesticide exposure and inherited variants in vitamin D pathway genes in relation to prostate cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 22(9), 1557–1566.

Kasim Baltaci, A., Ozyurek, K., Mogulkoc, R., Kurtoglu, E., Ozkan, Y., & Celik, I. (2003). Effects of zinc deficiency and supplementation on the glycogen contents of liver and plasma lactate and leptin levels of rats performing acute exercise. *Biological Trace Element Research*, 96, 227–236.

Kastenhuber, E. R., & Lowe, S. W. (2017). Putting p53 in Context. *Cell*, 170(6), 1062–1078. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.08.028>

- Keles, H., Yalcin, A., & Aydin, H. (2022). Protective effect of vitamin D on imidacloprid-induced testicular injury in rats. *Archives of Medical Science*, 18(6), 1659–1665.
- Khaldoun Oularbi, H. (2014). Biochemical and Histopathological Changes in the Kidney and Adrenal Gland of Rats Following Repeated Exposure to Lambda-Cyhalothrin. *Journal of Xenobiotics*, 4(1), 2240.
- Khaldoun Oularbi, H., Richeval, C., Lebaili, N., Zerrouki-Daoudi, N., Baha, M., Djennas, N., & Allorge, D. (2017). Ameliorative effect of vitamin C against hepatotoxicity induced by emamectin benzoate in rats. *Human & Experimental Toxicology*, 36(7), 709–717.
- Khaldoun-Oularbi, H., Allorge, D., Zerrouki-Daoudid, N., Richeval, C., Aissania, H., Djennase, N., & Bahaf, M. (2015). Subacute toxicological effects of emamectin benzoate on Wistar rat testes: Histopathological changes, determination of emamectin benzoate residues by Uplc-Ms/Ms And protective effect of vitamin C. *Agricul Food*, 3, 365–374.
- Khaldoun-Oularbi, H., Richeval, C., Djenas, N., Lhermitte, M., Humbert, L., & Baz, A. (2013). Effect of sub-acute exposure to abamectin “insecticide” on liver rats (*Rattus norvegicus*). *Annales de Toxicologie Analytique*, 25(2), 63–70.
- Khan, H. A. A., Akram, W., Shad, S. A., & Lee, J.-J. (2013). Insecticide mixtures could enhance the toxicity of insecticides in a resistant dairy population of *Musca domestica* L. *PloS One*, 8(4), e60929.
- Kietzmann, T. (2017). Metabolic zonation of the liver: The oxygen gradient revisited. *Redox Biology*, 11, 622–630.
- Kilimci, F. S. (2020). Rabbit liver lobes: An anatomical study of experimental surgical approaches. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(2), 103–108.
- Kim, D., Moon, J., & Chun, B. (2015). The Initial Hyperglycemia in Acute Type II Pyrethroid Poisoning. *Journal of Korean Medical Science*, 30(4), 365–370. <https://doi.org/10.3346/jkms.2015.30.4.365>
- King, K. L., Hwang, J. J., Chau, G. Y., Tsay, S. H., Chi, C. W., Lee, T. G., Wu, L. H., Wu, C. W., & Lui, W. Y. (1998). Ki-67 expression as a prognostic marker in patients with hepatocellular carcinoma. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 13(3), 273–279. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.1998.01555.x>
- Köck, K., & Brouwer, K. L. R. (2012). A perspective on efflux transport proteins in the liver. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 92(5), 599–612.
- Kontogiorgos, V. (2021). *Introduction to food chemistry*. Springer Nature.
- Króliczewska, B., Miśta, D., Ziarnik, A., Żuk, M., Szopa, J., Pecka-Kiełb, E., Zawadzki, W., & Króliczewski, J. (2018). The effects of seed from *Linum usitatissimum* cultivar with increased phenylpropanoid compounds and hydrolysable tannin in a high cholesterol-fed rabbit. *Lipids in Health and Disease*, 17(1), 1–14.
- Kumar, A., Dutta, K., Najam, A., Nath, A., Singh, J. K., Ali, M., & Kumar, R. (2013). Coragen cause haematological alterations in Charles foster rats. *Eur. J. Toxicol. Sci*, 4, 1–7.

## L

- Landrier, J.-F. (2011). Vitamine E et physiologie du tissu adipeux. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 18(2), 83–87.
- Lane, D. P. (1992). P53, guardian of the genome. *Nature*, 358(6381), 15–16.
- Lashen, A. G., Toss, M. S., Ghannam, S. F., Makhoulf, S., Green, A., Mongan, N. P., & Rakha, E. (2023). Expression, assessment and significance of Ki67 expression in breast cancer: An update. *Journal of Clinical Pathology*, 76(6), 357–364.
- Lee, G. Y., & Han, S. N. (2018). The role of vitamin E in immunity. *Nutrients*, 10(11), 1614.
- Lee, W. J. (2019). *Vitamin c in human health and disease: Effects, mechanisms of action, and new guidance on intake*. Springer.
- Lee, Y. A., & Friedman, S. L. (2020). Stellate cells and fibrosis. *The Liver: Biology and Pathobiology*, 444–454.
- Li, L. T., Jiang, G., Chen, Q., & Zheng, J. N. (2015). Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer (review). *Molecular Medicine Reports*, 11(3), 1566–1572. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2914>
- Li, X., Tu, M., Yang, B., Zhang, Q., Li, H., & Ma, W. (2022). Chlorantraniliprole in foods: Determination, dissipation and decontamination. *Food Chemistry*, 135030.
- Li, Z., Yin, S., Zhang, L., Liu, W., & Chen, B. (2017). Prognostic value of reduced E-cadherin expression in breast cancer: A meta-analysis. *Oncotarget*, 8(10), 16445.
- Lim, Y.-S., Lee, H. C., & Lee, H.-S. (2007). Switch of cadherin expression from E-to N-type during the activation of rat hepatic stellate cells. *Histochemistry and Cell Biology*, 127, 149–160.
- Liu, X., Huang, H., Remmers, N., & Hollingsworth, M. A. (2014). Loss of E-cadherin and epithelial to mesenchymal transition is not required for cell motility in tissues or for metastasis. *Tissue Barriers*, 2(4), e969112.
- Liu, Y., Hyde, A. S., Simpson, M. A., & Barycki, J. J. (2014). Emerging regulatory paradigms in glutathione metabolism. *Advances in Cancer Research*, 122, 69–101.
- Liu, Y., Zhang, Z., Xia, B., Wang, L., Zhang, H., Zhu, Y., Liu, C., & Song, B. (2020). Relationship between the non-HDLc-to-HDLc ratio and carotid plaques in a high stroke risk population: A cross-sectional study in China. *Lipids in Health and Disease*, 19(1), 168. <https://doi.org/10.1186/s12944-020-01344-1>
- Lopez-Torres, B., Ares, I., Martínez, M., Maximiliano, J.-E., Martínez-Larrañaga, M.-R., Anadón, A., & Martínez, M.-A. (2022). Neurotoxicity induced by the pyrethroid lambda-cyhalothrin: Alterations in monoaminergic systems and dopaminergic and serotonergic pathways in the rat brain. *Food and Chemical Toxicology*, 169, 113434.
- Lozano-Paniagua, D., Parrón, T., Alarcón, R., Requena, M., López-Guarnido, O., Lacasaña, M., & Hernández, A. F. (2021). Evaluation of conventional and non-conventional biomarkers of liver toxicity in greenhouse workers occupationally exposed to pesticides. *Food and Chemical Toxicology*, 151, 112127. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112127>
- Lucidarme, O. (2017). Chapitre 1—Le foie normal. In O. Lucidarme (Ed.), *Echographie en pathologie digestive* (pp. 3–27). Elsevier Masson. <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-73413-7.00001-7>

Luo, J., Yang, H., & Song, B.-L. (2020). Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(4), 225–245.

Luo, Y., Ren, F., Liu, Y., Shi, Z., Tan, Z., Xiong, H., Dang, Y., & Chen, G. (2015). Clinicopathological and prognostic significance of high Ki-67 labeling index in hepatocellular carcinoma patients: A meta-analysis. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(7), 10235–10247.

## M

MacFarlane, E., Carey, R., Keegel, T., El-Zaemay, S., & Fritschi, L. (2013). Dermal exposure associated with occupational end use of pesticides and the role of protective measures. *Safety and Health at Work*, 4(3), 136–141.

Magdy, B. W., Mohamed, F. E., Amin, A. S., & Rana, S. S. (2016). Ameliorative effect of antioxidants (vitamins C and E) against abamectin toxicity in liver, kidney and testis of male albino rats. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 77, 69–82.

Mantovani, F., Collavin, L., & Del Sal, G. (2019). Mutant p53 as a guardian of the cancer cell. *Cell Death & Differentiation*, 26(2), 199–212.

Maqbool, M. A., Aslam, M., Akbar, W., & Iqbal, Z. (2017). Biological importance of vitamins for human health: A review. *J. Agric. Basic Sci*, 2(3), 50–58.

Marrs, T. C. (2012). *Mammalian Toxicology of Insecticides*. Royal Society of Chemistry.

McManus, J. F. A. (1948). Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, 23(3), 99–108.

Meligi, N. M., & Hassan, H. F. (2017). Protective effects of *Eruca sativa* (rocket) on abamectin insecticide toxicity in male albino rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 9702–9712.

Michael, B., Yano, B., Sellers, R. S., Perry, R., Morton, D., Roome, N., Johnson, J. K., & Schafer, K. (2007). Evaluation of organ weights for rodent and non-rodent toxicity studies: A review of regulatory guidelines and a survey of current practices. *Toxicologic Pathology*, 35(5), 742–750.

Mishra, V., & Srivastava, N. (2015). Organophosphate pesticides-induced changes in the redox status of rat tissues and protective effects of antioxidant vitamins. *Environmental Toxicology*, 30(4), 472–482.

Mizejewski, G. J. (2001). Alpha-fetoprotein structure and function: Relevance to isoforms, epitopes, and conformational variants. *Experimental Biology and Medicine*, 226(5), 377–408.

Mohamed, I. A., Hamed, M., Abdel-Tawab, H. S., Mansour, S., Soliman, H. A., Lee, J.-S., & Sayed, A. E.-D. H. (2022). Multi-biomarkers approach to assess the toxicity of novel insecticide (Voliam flexi®) on *Clarias gariepinus*: From behavior to immunotoxicity. *Fish & Shellfish Immunology*, 125, 54–64.

Mossa, A.-T. H., Refaie, A. A., Ramadan, A., & Bouajila, J. (2013). Amelioration of prallethrin-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rat by the administration of *Origanum majorana* essential oil. *BioMed Research International*, 2013.

- Moustafa, G. G., & Hussein, M. (2016). Lambda cyhalothrin toxicity induces alterations in lipogenic genes and inflammatory factors in rat liver. *Japanese Journal of Veterinary Research*, *64*(1), 25–38.
- Mowry, R. W. (1956). Alcian blue technics for the histochemical study of acidic carbohydrates. *J Histochem Cytochem*, *4*, 407.
- Munson, P. V., Adamik, J., & Butterfield, L. H. (2022). Immunomodulatory impact of  $\alpha$ -fetoprotein. *Trends in Immunology*, *43*(6), 438–448. <https://doi.org/10.1016/j.it.2022.04.001>

## N

- Nabar, N. R., Shi, C.-S., & Kehrl, J. H. (2018). Chapter 6 - Signaling by the Toll-Like Receptors Induces Autophagy Through Modification of Beclin 1: Molecular Mechanism. In M. A. Hayat (Ed.), *Immunology* (pp. 75–84). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809819-6.00006-X>
- Nantia, E. A., Kada, A. S., Manfo, F. P., Tangu, N. N., Mbifung, K. M., Mbouobda, D. H., & Kenfack, A. (2018). Parastar insecticide induced changes in reproductive parameters and testicular oxidative stress biomarkers in Wistar male rats. *Toxicology and Industrial Health*, *34*(7), 499–506.
- Napoli, J. L. (2017). Cellular retinoid binding-proteins, CRBP, CRABP, FABP5: Effects on retinoid metabolism, function and related diseases. *Pharmacology & Therapeutics*, *173*, 19–33.
- Nemes, K., Åberg, F., Gylling, H., & Isoniemi, H. (2016). Cholesterol metabolism in cholestatic liver disease and liver transplantation: From molecular mechanisms to clinical implications. *World Journal of Hepatology*, *8*(22), 924.
- Ngegba, P. M., Cui, G., Li, Y., & Zhong, G. (2023). Synergistic effects of chlorantraniliprole and camptothecin on physiological impairments, histopathological, biochemical changes, and genes responses in the larvae midgut of *Spodoptera frugiperda*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *191*, 105363. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105363>
- Ngo-Samnack, E. L., & Fournier, S. (2015). Agriculture durable et sécurité alimentaire: Défis du 21ème siècle. *Liaison Energie Francophonie*, *100*, 81–86.
- Niknami, Z., Muhammadnejad, A., Ebrahimi, A., Harsani, Z., & Shirkoohi, R. (2020). Significance of E-cadherin and Vimentin as epithelial-mesenchymal transition markers in colorectal carcinoma prognosis. *EXCLI Journal*, *19*, 917.
- Nogueira, C. R., Ramalho, A., Lameu, E., Franca, C. D. S., David, C., & Accioly, E. (2009). Serum concentrations of vitamin A and oxidative stress in critically ill patients with sepsis. *Nutricion Hospitalaria*, *24*(3), 312–317.

## O

- Oberemok, V. V., Laikova, K. V., Gninenko, Y. I., Zaitsev, A. S., Nyadar, P. M., & Adeyemi, T. A. (2015). A short history of insecticides. *Journal of Plant Protection Research*, *55*(3).
- Oh, C., Kim, H. J., & Kim, H.-M. (2019). Vitamin D maintains E-cadherin intercellular junctions by downregulating MMP-9 production in human gingival keratinocytes treated by TNF- $\alpha$ . *Journal of Periodontal & Implant Science*, *49*(5), 270–286. <https://doi.org/10.5051/jpis.2019.49.5.270>

- Ojha, A., & Srivastava, N. (2012). Redox imbalance in rat tissues exposed with organophosphate pesticides and therapeutic potential of antioxidant vitamins. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 75, 230–241.
- Oladele, J., Adewale, O., Oyewole, O., Gbolagbade, A., & Oyeleke, M. (2020). Assessment of the Protective Effects of Vitamin C and E on Cypermethrin-induced Nephrotoxicity and Electrolyte Imbalance in Wistar Rats. *Journal of Basic and Applied Research in Biomedicine*, 6(1), 1–6.
- Oliveira, C. M., Auad, A. M., Mendes, S. M., & Frizzas, M. R. (2014). Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. *Crop Protection*, 56, 50–54. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.10.022>
- Oliviero, F. (2021). *Rôle du récepteur nucléaire CAR dans la pathogénèse dimorphique de la NAFLD (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease), induite par un régime gras ou par l'exposition à des contaminants alimentaires* [PhD Thesis]. Université Paul Sabatier-Toulouse III.
- Omar, A. R., Emam Dakrory, A., Abdelaal, M. M., & Bassiony, H. (2022). Impact of intrauterine exposure to the insecticide coragen on the developmental and genetic toxicity in female albino rats. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 9(1), 23–42. <https://doi.org/10.1080/2314808X.2021.2013623>
- Omran, E.-S. E., & Negm, A. (2020). Impacts of Pesticides on Soil and Water Resources in Algeria. In A. M. Negm, A. Bouderbala, H. Chenchouni, & D. Barceló (Eds.), *Water Resources in Algeria—Part I: Assessment of Surface and Groundwater Resources* (pp. 69–91). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978\\_2020\\_468](https://doi.org/10.1007/978_2020_468)
- OMS. (2019). *Classification OMS recommandée des pesticides en fonction des dangers qu'ils présentent et Lignes directrices pour la classification*. <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1304360/retrieve>
- Onofrio, F. Q., & Hirschfield, G. M. (2020). The pathophysiology of cholestasis and its relevance to clinical practice. *Clinical Liver Disease*, 15(3), 110.

## P

- Pan, R., Ruvolo, V., Mu, H., Levenson, J. D., Nichols, G., Reed, J. C., Konopleva, M., & Andreeff, M. (2017). Synthetic lethality of combined Bcl-2 inhibition and p53 activation in AML: Mechanisms and superior antileukemic efficacy. *Cancer Cell*, 32(6), 748–760.
- Petersen, M. C., Vatner, D. F., & Shulman, G. I. (2017). Regulation of hepatic glucose metabolism in health and disease. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(10), 572–587.
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I. (2021). Oxidative stress mitigation by antioxidants—An overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112891. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112891>
- Pussemier, L., & Steurbaut, W. (2004). Instruments de mesure de l'utilisation de produits phytosanitaires dans un contexte de développement durable. *BASE*.

## R

- Radic, I., Mijovic, M., Tatalovic, N., Mitic, M., Lukic, V., Joksimovic, B., Petrovic, Z., Ristic, S., Velickovic, S., & Nestorovic, V. (2019). Protective effects of whey on rat liver damage induced by chronic alcohol intake. *Human & Experimental Toxicology*, 38(6), 632–645.
- Rajak, P., Roy, S., Ganguly, A., Mandi, M., Dutta, A., Das, K., Nanda, S., Sarkar, S., Khatun, S., & Ghanty, S. (2022). Protective potential of vitamin C and E against organophosphate toxicity: Current status and perspective. *Journal of Ecophysiology and Occupational Health*, 141–154.
- Ramaiah, S. K. (2007). A toxicologist guide to the diagnostic interpretation of hepatic biochemical parameters. *Food and Chemical Toxicology*, 45(9), 1551–1557.
- Raszewski, G., Lemieszek, M. K., Łukawski, K., Juszcak, M., & Rzeski, W. (2015). Chlorpyrifos and Cypermethrin Induce Apoptosis in Human Neuroblastoma Cell Line SH-SY5Y. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 116(2), 158–167. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12285>
- Ray, P. D., Huang, B.-W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling*, 24(5), 981–990.
- Reddy, V. G., Khanna, N., & Singh, N. (2001). Vitamin C Augments Chemotherapeutic Response of Cervical Carcinoma HeLa Cells by Stabilizing P53. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 282(2), 409–415. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.4593>
- Rosalki, S. B., Foo, A. Y., Burlina, A., Prellwitz, W., Stieber, P., Neumeier, D., Klein, G., Poppe, W. A., & Bodenmüller, H. (1993). Multicenter evaluation of Iso-ALP test kit for measurement of bone alkaline phosphatase activity in serum and plasma. *Clinical Chemistry*, 39(4), 648–652.
- Roth, A. D., & Lee, M.-Y. (2017). Idiosyncratic drug-induced liver injury (IDILI): Potential mechanisms and predictive assays. *Biomed Research International*, 2017.
- Rouault, T. A., Gordeuk, V. R., & Anderson, G. J. (2020). The central role of the liver in iron storage and regulation of systemic iron homeostasis. *The Liver: Biology and Pathobiology*, 215–228.
- Rui, L. (2014). Energy metabolism in the liver. *Comprehensive Physiology*, 4(1), 177.

## S

- Sarwar, M. (2015). The dangers of pesticides associated with public health and preventing of the risks. *International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering*, 1(2), 130–136.
- Scholzen, T., & Gerdes, J. (2000). The Ki-67 protein: From the known and the unknown. *Journal of Cellular Physiology*, 182(3), 311–322.
- Schulze, R. J., Schott, M. B., Casey, C. A., Tuma, P. L., & McNiven, M. A. (2019). The cell biology of the hepatocyte: A membrane trafficking machine. *Journal of Cell Biology*, 218(7), 2096–2112.
- Scudder, G. G. (2017). The importance of insects. *Insect Biodiversity: Science and Society*, 9–43.

- Sendensky, A., & Dufour, J.-F. (2011). Liver physiology. *Chronic Liver Failure: Mechanisms and Management*, 33–45.
- Shakoori, A. R., Ali, S. S., & Saleem, M. A. (1988). Short communication effects of six months' feeding of cypermethrin on the blood and liver of albino rats. *Journal of Biochemical Toxicology*, 3(1), 59–71.
- Shakoori, A. R., Aslam, F., Sabir, M., & Ali, S. S. (1992). Effect of prolonged administration of insecticide (cyhalothrin/karate) on the blood and liver of rabbits. *Folia Biol*, 40, 91–99.
- Shao, B., Wang, M., Chen, A., Zhang, C., Lin, L., Zhang, Z., & Chen, A. (2020). Protective effect of caffeic acid phenethyl ester against imidacloprid-induced hepatotoxicity by attenuating oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, inflammation and apoptosis. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 164, 122–129.
- Shokrzhadeh, M., Shobi, S., Attar, H., Shayegan, S., Payam, S. S., & Ghorbani, F. (2012). Effect of vitamins A, E and C on liver enzyme activity in rats exposed to organophosphate pesticide diazinon. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 15(19), 936–941.
- Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86, 715–748.
- Silva, A. M., Martins-Gomes, C., Ferreira, S. S., Souto, E. B., & Andreani, T. (2022). Molecular Physicochemical Properties of Selected Pesticides as Predictive Factors for Oxidative Stress and Apoptosis-Dependent Cell Death in Caco-2 and HepG2 Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 15. <https://doi.org/10.3390/ijms23158107>
- Skřivan, M., Marounek, M., Englmaierová, M., & Skřivanová, E. (2012). Influence of dietary vitamin C and selenium, alone and in combination, on the composition and oxidative stability of meat of broilers. *Food Chemistry*, 130(3), 660–664.
- Sparks, T. C., & Nauen, R. (2015). IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.11.014>
- Stahl, W. (2000). Lipid oxidation and antioxidants. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 3(2), 121–126.
- Starley, B. Q., Calcagno, C. J., & Harrison, S. A. (2010). Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: A weighty connection. *Hepatology*, 51(5), 1820–1832.
- Stenersen, J. (2004). *Chemical pesticides mode of action and toxicology*. CRC press.
- Sule, R. O., Condon, L., & Gomes, A. V. (2022). A common feature of pesticides: Oxidative stress—the role of oxidative stress in pesticide-induced toxicity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022.
- Sun, S., Hu, R., & Zhang, C. (2021). Pest control practices, information sources, and correct pesticide use: Evidence from rice production in China. *Ecological Indicators*, 129, 107895.
- Syngenta. (2019). *Fiche technique de l'insecticide Ampligo 150 ZC*. <https://www.adama.com/israel-mcw/he/media/696/download?attachment>
- Szasz, G. (1969). A kinetic photometric method for serum  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase. *Clinical Chemistry*, 15(2), 124–136.

## T

- Tkach, V. V., Kushnir, M. V., de Oliveira, S. C., Salomova, H. Z., Razhabova, D. B., Musayeva, D. M., Niyazov, L. N., Ivanushko, Y. G., Mytchenok, M. P., & Ahafonova, O. V. (2021). The Theoretical Description for Chlorantraniliprole Electrochemical Determination, Assisted by Squaraine Dye–Nano-CuS Composite. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry*, 200–204.
- Torres, M. A., Jones, J. D., & Dangl, J. L. (2006). Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. *Plant Physiology*, 141(2), 373–378.
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. H. (2018). *Principles of anatomy and physiology*. John Wiley & Sons.
- Traber, M. G., & Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(1), 4–15.
- Trinder, P. (1969). Enzymatic methods for glucose determination. *Ann Clin Biochem*, 6, 24–26.

## U

- Ullah, R., Rauf, N., Nabi, G., Ullah, H., Shen, Y., Zhou, Y.-D., & Fu, J. (2019). Role of nutrition in the pathogenesis and prevention of non-alcoholic fatty liver disease: Recent updates. *International Journal of Biological Sciences*, 15(2), 265.
- Urushima, H., Yuasa, H., Matsubara, T., Kuroda, N., Hara, Y., Inoue, K., Wake, K., Sato, T., Friedman, S. L., & Ikeda, K. (2021). Activation of Hepatic Stellate Cells Requires Dissociation of E-Cadherin–Containing Adherens Junctions with Hepatocytes. *The American Journal of Pathology*, 191(3), 438–453. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2020.12.007>
- Uzunhisarcikli, M., Kalender, Y., Dirican, K., Kalender, S., Ogutcu, A., & Buyukkomurcu, F. (2007). Acute, subacute and subchronic administration of methyl parathion-induced testicular damage in male rats and protective role of vitamins C and E. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87(2), 115–122.

## V

- Van Roy, F. (2014). Beyond E-cadherin: Roles of other cadherin superfamily members in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 14(2), 121–134.
- Van Roy, F., & Berx, G. (2008). The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65, 3756–3788.
- Verkaik-Kloosterman, J., Seves, S. M., & Ocké, M. C. (2017). Vitamin D concentrations in fortified foods and dietary supplements intended for infants: Implications for vitamin D intake. *Food Chemistry*, 221, 629–635. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.128>
- Verma, R. S., Mehta, A., & Srivastava, N. (2007). In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88(2), 191–196.

## W

- Walters, M. I., & Gerarde, H. W. (1970). An ultramicromethod for the determination of conjugated and total bilirubin in serum or plasma. *Microchemical Journal*, *15*(2), 231–243.
- Wanamaker, R., & Grimm, I. (2004). Encyclopedia of gastroenterology. *Gastroenterology*, *127*(4), 1274–1275.
- Wang, S., Zhang, C., Yang, G., & Yang, Y. (2014). Biological properties of 6-gingerol: A brief review. *Natural Product Communications*, *9*(7), 1934578X1400900736.
- Wang, T., Ma, M., Chen, C., Yang, X., & Qian, Y. (2021). Three widely used pesticides and their mixtures induced cytotoxicity and apoptosis through the ROS-related caspase pathway in HepG2 cells. *Food and Chemical Toxicology*, *152*, 112162. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112162>
- Wang, X., Lu, Q., Guo, J., Ares, I., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M.-R., Wang, X., Anadón, A., & Martínez, M.-A. (2022). Oxidative stress and metabolism: A mechanistic insight for glyphosate toxicology. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *62*, 617–639.
- Wang, X., & Wang, Q. (2018). Alpha-fetoprotein and hepatocellular carcinoma immunity. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, *2018*.
- Wang, X., & Wu, Y. (2012). High Levels of Resistance to Chlorantraniliprole Evolved in Field Populations of *Plutella xylostella*. *Journal of Economic Entomology*, *105*(3), 1019–1023. <https://doi.org/10.1603/EC12059>
- Wimalawansa, S. J. (2019). Vitamin D Deficiency: Effects on Oxidative Stress, Epigenetics, Gene Regulation, and Aging. *Biology*, *8*(2), 2. <https://doi.org/10.3390/biology8020030>

## X

- Xiao, S., Liu, L., Lu, X., Long, J., Zhou, X., & Fang, M. (2015). The prognostic significance of bromodomain PHD-finger transcription factor in colorectal carcinoma and association with vimentin and E-cadherin. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, *141*, 1465–1474.
- Xu, Y., Guo, Q., & Wei, L. (2021). The Emerging Influences of Alpha-Fetoprotein in the Tumorigenesis and Progression of Hepatocellular Carcinoma. *Cancers*, *13*(20), 5096. <https://doi.org/10.3390/cancers13205096>

## Y

- Yang, D., Sun, X., Wei, X., Zhang, B., Fan, X., Du, H., Zhu, R., Oh, Y., & Gu, N. (2023). Lambda-cyhalothrin induces lipid accumulation in mouse liver is associated with AMPK inactivation. *Food and Chemical Toxicology*, *172*, 113563. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113563>
- Yang, J.-H., Lee, Y.-M., Bae, S.-G., Jacobs, D. R., & Lee, D.-H. (2012). Associations between organochlorine pesticides and vitamin D deficiency in the U.S. population. *PLoS One*, *7*(1), e30093. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030093>
- Yaribeygi, H., Sathyapalan, T., Atkin, S. L., & Sahebkar, A. (2020). Molecular mechanisms linking oxidative stress and diabetes mellitus. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2020*.

- Yousef, M. I. (2010). Vitamin E modulates reproductive toxicity of pyrethroid lambda-cyhalothrin in male rabbits. *Food and Chemical Toxicology*, 48(5), 1152–1159.
- Yousef, M. I., Awad, T. I., & Mohamed, E. H. (2006). Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by Vitamin E. *Toxicology*, 227(3), 240–247.
- Youssef, M. I., Maghraby, H., Youssef, E. A., & El Sayed, M. M. (2012). Expression of Ki 67 in hepatocellular carcinoma induced by diethylnitrosamine in mice and its correlation with histopathological alterations. *Journal of Applied Pharmaceutical Science, Issue*, 52–59.
- Yu, S. J. (2014). *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides*. CRC Press.

## Z

- Zali, M. R., Moaven, O., Asadzadeh Aghdaee, H., Ghafarzadegan, K., Ahmadi, K. J., Farzadnia, M., Arabi, A., & Abbaszadegan, M. R. (2009). Clinicopathological significance of E-cadherin,  $\beta$ -catenin and p53 expression in gastric adenocarcinoma. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 14(4), 239–247.
- Zhu, J., & Thompson, C. B. (2019). Metabolic regulation of cell growth and proliferation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 20(7), 436–450.